



5ª Reunión de Investigación Pediátrica, 2ª Reunión de Investigación en Enfermería Pediátrica Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes Jueves 29 de septiembre de 2011

201 Asociación de la expresión de CD133 (PROMI-NIN-1) con el pronóstico de astrocitomas en población pediátrica

Arellano-Llamas,¹ López-Aguilar E,² Félix I,³ Sepúlveda-Vildosola AC⁴

¹Residente de Pediatría Médica, ²Oncología Médica, ⁴Dirección de Educación e Investigación. UMAE HP CMN S XXI, IMSS

Introducción: El cáncer cerebral en la edad pediátrica ocupa el primer lugar de todas las tumoraciones sólidas; los astrocitomas representan el 60% de los casos. El cáncer se origina de células troncales que se marcan positivamente con CD133, y su expresión se ha asociado con mal pronóstico en el glioma de los adultos; sin embargo, el comportamiento molecular de los gliomas de los adultos y niños es diferente y no existen reportes de la asociación de CD133 con el pronóstico de esta tumoración en pacientes pediátricos. Por otro lado, CD133 se ha relacionado con la angiogénesis tumoral. **Material y métodos:** Realizamos un estudio ambispectivo, observacional, longitudinal y comparativo. Se incluyeron casos con diagnóstico de astrocitoma de cualquier grado entre 1995 y 2008, que recibieron tratamiento estándar, se recopiló información clínica y se obtuvieron muestras tumorales previo al tratamiento de bloques de parafina para fines diagnósticos de los cuales se tomó una muestra y se realizó inmunohistoquímica (CD133 Cell Signaling clona C24B9). **Resultados y conclusiones:** Se encontraron 30 casos que cumplieron con los criterios de inclusión, hombres 50% de la muestra, mediana de edad 78.8 meses (rango 16-192), menores de tres años 10%, histología: bajo grado 70%, astrocitoma anaplásico 20%, glioblastoma multiforme 10%; inmunohistoquímica positiva para CD133, 14 casos con tinción membranar y citoplasmática. Los tumores de alto grado fueron positivos para CD133 en 66.6% de los casos mientras que los de bajo grado 52% ($p = 0.240$). La sobrevivencia del grupo CD133

positivo fue 22.5% menor que la del grupo CD133 negativo (Log Rank Test 0.2749). Los astrocitomas en niños que muestran expresión de CD133 tuvieron menor sobrevivencia aunque no hubo significancia estadística debido a la heterogeneidad de la muestra; se observan diferencias de la expresión de CD133 en los diversos grados de los tumores, siendo mayor en los de alto grado. Los tumores CD133 positivos deberían recibir tratamientos más agresivos que incluyan antiangiogénicos.

202 Perfil de expresión de microRNAs en astrocitomas pediátricos

Eguía-Aguilar Pilar,¹ Pérezpeña-Díazconti Mario,¹ Toro-Guerrero Jair,¹ Sadowinski-Pine Stanislaw,¹ Chico-Ponce de León,² Arenas-Huertero Francisco¹

¹Departamento de Patología, ²Departamento Neurocirugía, Hospital Infantil de México Federico Gómez. México, D.F. HIM/044/2010

Introducción: La OMS clasifica a los astrocitomas en cuatro grados: grado I astrocitoma pilocítico, grado II astrocitoma difuso, grado III astrocitoma anaplásico y grado IV glioblastoma multiforme (GBM). Los miRNAs son moléculas de RNA pequeñas que regulan la expresión de genes post-transcripcionalmente. **Objetivo:** Determinar el perfil de expresión de miRNAs en astrocitomas de bajo y alto grado en población pediátrica. **Material y métodos:** Se utilizaron muestras de los cuatro grados de astrocitoma. Se realizó extracción de RNA y RT-PCR semicuantitativa. Las muestras fueron tomadas del Banco de Biopsias del Departamento de Patología del HIM. Se analizó la expresión de ocho miRNAs, miR-9, miR-15b, miR-21, miR-221, miR-124, miR-128, miR-137 y miR-181a en astrocitomas GI y GIV; a partir de estos resultados se eligieron tres microRNAs, miR-124, -128 y -221, en los que se determinó su expresión en astrocitomas GII y GIII. Datos clínicos de los pacientes fueron correlacionados con la expresión de los microRNAs. El análisis se realizó con

t-Student y $p < 0.05$. **Resultados y conclusiones:** En el grupo de cerebro normal contra GI los miRNAs que tuvieron un valor significativo ($p < .05$) fueron miR-9, -15b, -21, -124, -128 y -137. En el grupo cerebro normal contra GIV tuvieron valor significativo miR-9, -124 y -221. Comparando GI contra GIV las diferencias de expresión fueron significativas para miR-124, siendo mayor el aumento en grado I. En relación con los parámetros clínicos, la expresión de miR-124 y miR-128 es mayor en los tumores de bajo grado al igual que en los pacientes con astrocitomas de bajo grado vivos. En los casos recurrentes, que fallecieron, y en los de bajo grado que recurrieron, los miR-124 y miR-128 siempre disminuyeron su expresión con respecto a los niveles observados en los que no recurrieron, que siguen vivos y en los de bajo grado sin recurrencia ($p < 0.05$). MiR-124 y miR-128 son marcadores potenciales en este tipo de tumor.

203 Diferenciación de gonocitos en niños con criptorquidia y su asociación con el carcinoma *in situ* testicular

Cortés-Trujillo Lucero, Viguera-Villaseñor Rosa María, Rojas-Castañeda Julio César, Chávez-Saldaña Margarita, Gutiérrez-Pérez Óscar, Carrasco-Daza Daniel, García-Vázquez Francisco

Laboratorio de Biología de la Reproducción, Dpto. de Patología; Instituto Nacional de Pediatría

Introducción: La criptorquidia representa el principal factor de riesgo para desarrollar cáncer testicular en la edad adulta y no se conocen los mecanismos que conducen a esta malignidad. Se ha reportado que el carcinoma *in situ* testicular (CIST) precede al seminoma. Es probable que el inicio de la transformación maligna se lleve a cabo en el útero durante el desarrollo de los gonocitos que se mantienen expresando proteínas de células indiferenciadas (PLAP) y de pluripotencialidad (OCT3/4). Esta hipótesis se basa en la semejanza morfológica entre las células CIST y los gonocitos. **Objetivo:** Determinar si en pacientes con criptorquidia los gonocitos conservan su pluripotencialidad y no se diferencian. **Material y métodos:** Se analizaron 80 tejidos de biopsias y autopsias de niños con y sin criptorquidia y empleando la técnica de inmunohistoquímica se determinaron marcadores de pluripotencialidad (OCT3/4) y de células indiferenciadas (PLAP) así como la determinación del área y población de células germinales. La comparación de las medias se realizó con una *t* de Student para grupos independientes ($p < 0.05$). **Resultados y conclusiones:** En los niños control la inmunorreactividad a OCT3/4 y PLAP se reguló a la baja, y al año de edad hay ausencia total de reacción a éstas. En los niños con criptorquidia el área y la población de células germinales se observó significativamente reducida y asociada a la presencia de positividad a OCT3/4. Es el primer reporte que busca marcadores de pluripotencialidad y de células indiferenciadas en niños

con criptorquidia. Aunque se requiere la búsqueda de más marcadores, estos resultados pueden apoyar la teoría del origen del CIST a partir de los gonocitos indiferenciados. Financiado por Recurso Federal 064/2010.

204 Expresión de las isoformas de *RUNX1* y su influencia en la expresión del gen blanco *BLK* en pacientes pediátricos con leucemia aguda linfoblástica (LAL)

Pérez-Vera P,¹ Montero-Ruiz O,^{1,3} Alcántara MA,² Betancourt M,⁴ Juárez-Velázquez R,¹ González-Márquez H⁴ Laboratorios de Cultivo de Tejidos¹ y de Biología Molecular;² Instituto Nacional de Pediatría; Postgrado en Biología Experimental³ y Laboratorio de Biología Celular;⁴ Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Introducción: *RUNX1* codifica un factor de transcripción indispensable en la hematopoyesis definitiva, algunas isoformas conllevan al desarrollo de LAL. La sobre-expresión de *RUNX1a* carente del dominio de transactivación, reprime la expresión de genes subordinados al competir por la unión al DNA con las isoformas funcionales (*RUNX1b/RUNX1c*); esto ocurre a través del dominio RUNT. En este trabajo se analizaron las isoformas individuales de *RUNX1* en niños con LAL; los patrones de expresión obtenidos se asociaron con alteraciones cromosómicas/génicas y con la expresión del gen subordinado *BLK*. **Material y métodos:** Se estudió médula ósea de 30 pacientes con LAL, se detectaron alteraciones mediante citogenética convencional/FISH. Se determinó la expresión de cada isoforma de *RUNX1* por RT-PCR, secuenciación y Western-blot. Se cuantificaron mediante q-PCR los transcritos de *RUNX1c3* (isoforma más frecuente), *RUNX1a*, el total de isoformas con dominio RUNT y *BLK*. **Resultados y conclusiones:** Se detectaron las tres isoformas esperadas (*RUNX1a/RUNX1b/RUNX1c*) y cinco productos variantes de a y c. *RUNX1c3* se expresó mayormente con respecto a *RUNX1a*. Las isoformas específicas no mostraron asociación con las alteraciones genéticas; sin embargo, las isoformas con dominio RUNT presentaron alta expresión en pacientes con: t(4;11), incremento de copias de *RUNX1* y fusión *ETV6-RUNX1*. Se observó correlación entre la expresión de las isoformas con dominio RUNT vs *BLK* y no así entre la expresión de *BLK* y *RUNX1a* o *RUNX1c3*. Se ha referido incremento de expresión de *RUNX1a* en pacientes con LAL; sin embargo, el análisis cuantitativo de isoformas individuales demostró que su expresión no es predominante. Tampoco se observó efecto represor de *RUNX1a* respecto a la expresión de *BLK*. La función antagónica de *RUNX1a* como competidor de las isoformas funcionales y regulador negativo de sus genes blanco es parte de un proceso complejo, por lo que se debe complementar con el estudio de otros factores de transcripción.

205 Análisis de la expresión de las variantes de Ikaros y de los genes CASP8AP2 y H2AFZ en pacientes pediátricos con leucemia aguda linfoblástica (LAL)

Reyes-León Adriana,¹ Juárez-Velázquez Rocío,¹ Medrano Hernández Alma,¹ Salas-Labadía Consuelo,¹ Cuenca-Roldán Teresa,¹ Paredes-Aguilera Rogelio,² Cárdenas-Cardós Rocío,³ López-Hernández Gerardo,⁴ Rivera-Luna Roberto,³ Pérez-Vera Patricia¹

¹Laboratorio de Cultivo de Tejidos, ²Servicio de Hematología, ³Servicio de Oncología, Instituto Nacional de Pediatría, ⁴Hospital del Niño Poblano

Introducción: La LAL es el cáncer más común en población pediátrica; actualmente el 30% de los pacientes aún recae con una enfermedad altamente refractaria al tratamiento. Recientemente se han identificado marcadores de expresión asociados con incremento en el índice de recaída, como las isoformas de Ikaros (Ik-6, Ik-8) y los niveles de expresión bajos de los genes CASP8AP2 y H2AFZ. Con el objetivo de conocer el impacto de estos marcadores en nuestro medio, se analizaron 59 aspirados de médula ósea de pacientes pediátricos con LAL al diagnóstico. **Material y métodos:** Se extrajo RNA total y se realizó RT-PCR anidado para la expresión de isoformas de Ikaros y q-PCR para los niveles de expresión de CASP8AP2, H2AFZ y ABL1 (control endógeno). **Resultados y conclusiones:** De los 59 pacientes, 52 presentaron LAL-B, 18 revelaron factores convencionales de riesgo (edad > 10 años, cuenta de leucocitos > 50 x 10³/μL, fusión génica BCR-ABL+), y 45 presentaron Ik-6 y/o baja expresión de CASP8AP2 y/o H2AFZ, siete de ellos fallecieron y tres tuvieron recaída. 7/59 pacientes presentaron LAL-T, cuatro con alto riesgo y todos presentaron Ik-8 y/o baja expresión de CASP8AP2 y/o H2AFZ; tres de éstos recayeron y fallecieron. De los 13/59 pacientes que recayeron/fallecieron en un periodo de seguimiento a corto plazo (2.5 años), 2/13 mostraron los tres factores de expresión de riesgo de recaída (con LAL-B y T cada uno). En contraste, esta misma característica se observó en 2/46 pacientes que no presentaron eventos adversos; ambos pacientes presentaron LAL-T. Adicionalmente, todos los pacientes con LAL-T mostraron niveles bajos de H2AFZ. Hasta el momento, la presencia de los tres marcadores de expresión adversos se han detectado en el grupo con LAL-T, en pacientes con recaída/muerte. En LAL-B será necesario realizar un estudio de supervivencia a largo plazo para determinar el impacto de estos marcadores.

206 Evaluación de la expresión y la interacción biológica del factor de transcripción YIN-YANG 1 (YY1) y el GEN MDR1 en la leucemia linfoblástica aguda infantil

Antonio-Andrés Gabriela,¹ Aquino-Jarquín Guillermo,¹ Tirado-Rodríguez Ana Belen,¹ Rangel-Santiago

Jesús,¹ Dorantes-Acosta Elisa,² Medina-Sanson Aurora,² Torres-Nava José,³ Álvarez-Rodríguez Francisco,³ Jiménez-Hernández Elva,³ Huerta-Yépez Sara¹
¹UIEO, Hospital Infantil de México, Federico Gómez, ²Servicio de Hemato-Oncología, Hospital Infantil de México, Federico Gómez, ³Oncología Pediátrica, Hospital Pediátrico Moctezuma

Introducción: En México, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la primera causa de padecimiento oncológico en la edad pediátrica, a pesar de un aumento en el éxito en la terapia antitumoral, cerca del 25% de los pacientes desarrolla resistencia a la quimioterapia y está dada principalmente por la sobreexpresión de la glicoproteína p (gp-170), la cual es codificada por el gen MDR1. Previamente determinamos que el factor de transcripción Ying Yang 1 (YY1) posee cuatro sitios de unión para el promotor de MDR1 y de manera *in vitro* regula su expresión, sin embargo no se ha determinado si existe una interacción entre el promotor de MDR1 y YY1 en células leucémicas. El objetivo planteado fue evaluar la interacción del factor de transcripción YY1 y el promotor del gen de MDR1 y la expresión de estas proteínas en la LLA infantil. **Material y métodos:** Se realizó inmunoprecipitación de la cromatina de células RS4, utilizando el anticuerpo para YY1 y se evaluó su asociación con los cuatro sitios de unión al promotor del gen MDR1 mediante PCR de los segmentos inmunoprecipitados. Se determinó la expresión por inmunocitoquímica de MDR1 y YY1 de células mononucleares de 88 muestras de sangre periférica de pacientes pediátricos con LLA y 53 controles sanos y se cuantificaron las células. **Resultados y conclusiones:** Se muestra que YY1 interacciona con los cuatro sitios de unión al promotor del gen de MDR1. Se encontró que la expresión de YY1 y MDR1 está aumentada en las células de pacientes con LLA, en comparación con los controles; esta expresión es directamente proporcional. Existe un aumento en la expresión de YY1 y MDR1 en pacientes con LLA comparado con controles sanos, además YY1 interacciona con el promotor del gen MDR1, con lo que se demuestra su participación en la fisiopatogenia de la enfermedad.

207 Regulación de la expresión de la proteína de multirresistencia a fármacos GP-170, en células de leucemia linfoblástica aguda, después del tratamiento con doxorubicina: efecto del papel transcripcional YY1

Aquino-Jarquín Guillermo,¹ Méndez-Maldonado Karla,¹ Antonio-Andrés Gabriela,¹ Hernández-Flores Rocío,¹ Huerta-Yépez Sara¹
¹Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, Hospital Infantil de México, Federico Gómez

Introducción: La leucemia linfoblástica aguda (LLA), constituye el 34.4% de todos los casos de cáncer tratados en nuestra institución. Unos de los mecanismos que están implicados en la resistencia de las células tumorales a agentes antineoplásicos, es a través de la sobre-expresión de la proteína transmembranal de multirresistencia a fármacos gp-170. Se sabe que el promotor de esta proteína presenta sitios de unión para algunos factores de transcripción, como NF- κ B, que regulan la actividad de gp-170 después del tratamiento con doxorubicina. Recientemente, nuestro grupo demostró que el factor transcripcional YY1 regula directamente la expresión de esta proteína transmembranal. Sin embargo, hasta el momento no existen reportes que involucren la participación de agentes antineoplásicos en el desarrollo de la quimiorresistencia, a través de YY1. Nuestro interés se centra en evaluar los mecanismos implicados en la regulación de gp-170, vía la activación de YY1, en células de LLA tratadas con doxorubicina. **Material y métodos:** Para evaluar la expresión de YY1 se hicieron ensayos de inmunocitoquímicas, citometría de flujo y Western blot, utilizando anticuerpos anti-YY1 y anti-gp-170. Posteriormente se hizo un análisis densitométrico computarizado para determinar la expresión. **Resultados y conclusiones:** El tratamiento con doxorubicina (0.25 μ M) induce una mayor expresión del factor de transcripción YY1 y de la proteína gp-170, en la línea celular RS4;11 a las 8 y 24 horas, comparado con las células sin tratar. Estos resultados sugieren que existe una regulación positiva entre YY1 y la proteína de multirresistencia gp-170 después del tratamiento con este fármaco. Se están llevando a cabo experimentos adicionales para determinar cómo la doxorubicina regula a YY1.

208 Modulación diferencial de citocromos P450 por hipoxia en células tumorales

Dávila-Borja Víctor M,¹ Vences-Mejía Araceli,¹ Mandujano-Tinoco Edna,² Gallardo-Pérez Juan Carlos,² Rodríguez-Enríquez Sara²

¹Laboratorio de Toxicología Genética. Instituto Nacional de Pediatría, ²Departamento de Bioquímica. Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

Introducción: La hipoxia (baja concentración de oxígeno) es una característica común en tumores sólidos que se relaciona con resistencia a quimioterapia; dicha resistencia podía deberse a cambios en la expresión de enzimas metabolizadoras de fármacos, como los citocromos P450 (CYP). Existe poca información sobre los mecanismos por los cuales la hipoxia podría modular la expresión de los distintos CYP en células tumorales, así como de sus implicaciones en el metabolismo de fármacos antineoplásicos y su posible asociación con mecanismos de resistencia. El objetivo principal del presente trabajo es determinar los efectos que tiene la hipoxia en la regulación de la expresión de CYP

en distintas células tumorales. **Material y métodos:** El presente trabajo se enfoca en el estudio con líneas celulares de meduloblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de mama y cérvix. Estudios preliminares se realizaron con cultivos de células HeLa (cérvix), mantenidos en condiciones de normoxia (21% de O₂) e hipoxia (0.1%). Cambios en los niveles de proteína de las isoformas CYP1A1, CYP1B1, CYP3A4 y CYP3A5 fueron analizados por Western blot. Niveles de proteína del factor de transcripción de respuesta celular a hipoxia HIF1-subunidad alfa, también fueron determinados. **Resultados y conclusiones:** En resultados obtenidos hasta el momento, se observaron disminuciones en los niveles de proteína de CYP1A1 en los cultivos sometidos a hipoxia (0.1% de O₂), en comparación con las mantenidas en normoxia. No se observaron cambios en los niveles de proteína de CYP3A4. La inhibición en la expresión de CYP1A1 por hipoxia, se mantuvo aún en presencia del inductor clásico de CYP1A1 benzo(a)pireno 50 mM (IC₅₀ > 200 mM). Nuestros resultados sugieren que la hipoxia podría estar modulando de manera diferencial la expresión de isoformas de CYP en células tumorales, lo que podría tener relevancia en fenómenos de quimiorresistencia porque ambas enzimas metabolizan el fármaco AQ4N. **Proyecto INP No. 39/2010.** Financiado en la Convocatoria para la Adjudicación de Fondos Federales para la Investigación en Salud (2010-2011).

209 Disfunción tiroidea por I131-metaiodobenzilguanidina en pacientes con neuroblastoma

Zurita-Cruz J, Garrido-Magaña E

Hospital de Pediatría, Centro Médico SXXI, IMSS

Introducción: El neuroblastoma es el tumor sólido extracranial más frecuente en pediatría. El tratamiento incluye quimioterapia, cirugía y radioterapia con I131-MetaIodoBenzilGuanidina (I131-MIBG) con la administración profiláctica de altas dosis de yodo en estadios avanzados. Con este último, la disfunción tiroidea se reporta en un 12 a 85%. **Objetivo:** Identificar la frecuencia de disfunción tiroidea en casos de neuroblastoma tratados con I131-MIBG. **Material y métodos:** Se incluyeron todos los casos con diagnóstico de neuroblastoma que recibieron I131-MIBG en el periodo de 2002-2010. El protocolo de tratamiento en estos pacientes fue a base de quimioterapia (ciclofosfamida y epirrubina) alternando con cisplatino, ifosfamida y etopósido) cada tres semanas por un periodo de 12 meses y dosis terapéutica de I131-MIBG a partir del sexto ciclo, previa administración de yoduro de potasio a dosis de 2 mg/kg/día por cinco días. **Resultados y conclusiones:** Se identificó un total de 27 pacientes en estadio III (9) y IV (18), de los cuales fallecieron 11 (40%), seis en el primer año de diagnóstico y cinco entre los tres-cuatro años de evolución. De los 16 casos sobrevivientes, nueve (56%) presentaron disfunción tiroidea: dos casos con hipotiroidismo subclínico (12.5%) y siete casos

con hipotiroidismo clínico (43.75%), la cual se presentó a los 16.1 meses (1.2-66.3) de recibir el radiofármaco, a una dosis acumulada de 142 mCi (96-391.5). No se logró evidenciar diferencias entre los casos con o sin disfunción tiroidea. Siete casos fueron enviados a consulta de endocrinología (tres casos por retraso en el desarrollo y cuatro por desaceleración del crecimiento). La frecuencia de hipotiroidismo posterior a I131-MIBG fue similar a lo reportado. La mayoría de los casos fueron referidos a endocrinología hasta presentar datos clínicos evidentes. Es necesario reforzar la necesidad de seguimiento con determinaciones de TSH semestrales en todos los casos tratados con I131 MIBG en los primeros tres años de tratamiento, sobre todo por la edad de presentación de esta enfermedad.

210 Factores asociados a la presencia de nódulos tiroideos en pacientes pediátricos con tiroiditis de Hashimoto

Valenzuela-Montoya Julio César,¹ Medina-Bravo Patricia,¹ Valadez-Reyes María Teresa,² Klünder-Klünder Miguel,³ García-Morales Leticia¹

¹Hospital Infantil de México Federico Gómez. Departamentos de Endocrinología, Radiología² e Investigación en Salud Comunitaria³

Introducción: La tiroiditis de Hashimoto (TH) es la principal causa de hipotiroidismo adquirido en la edad pediátrica. Estudios recientes en población adulta han documentado mayor incidencia de nódulos tiroideos en pacientes con TH. En pacientes pediátricos con esta patología, la prevalencia varía de 31.5 a 69.4%, pero existe escasa información sobre factores asociados a la presencia de nódulos tiroideos en niños con TH. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar factores asociados a la presencia de nódulos tiroideos en pacientes pediátricos con TH. **Material y métodos:** Estudio transversal, comparativo. Se incluyeron 72 pacientes con diagnóstico de TH. Se les realizó ultrasonido para evaluar el tamaño de la glándula tiroidea, así como presencia de nódulos tiroideos y sus características. Posteriormente se dividieron en dos grupos, de acuerdo a la presencia o ausencia de nódulos. Para evaluar la asociación entre la presencia de nódulos tiroideos y diversos factores, se realizó análisis de regresión logística multivariada. **Resultados y conclusiones:** Se incluyeron 72 pacientes de los cuales el 90.3% eran del sexo femenino. La media de edad fue de 12.9 ± 2.9 años. Los nódulos tiroideos fueron detectados por ecografía en 69.4% (n = 50). En el 60% de los pacientes con nódulos tiroideos (n = 30) se observó multinodularidad. Al evaluar los factores asociados a la presencia de nódulos se observó que el bocio (OR = 3.96, IC 1.21-12.89) y las dosis altas de levotiroxina (mayor a $1.7 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) [OR = 5.64, IC 95% 1.02-31.15] se relacionaron con la presencia de éstos, independientemente de la edad, sexo, estadio puberal y niveles de anticuerpos antitiroglobulina y antiperoxidasa

tiroidea. En pacientes pediátricos con TH, las dosis altas de levotiroxina ($\geq 1.7 \text{ mg}/\text{kg}/\text{día}$) y la presencia de bocio se asociaron a la presencia de nódulos tiroideos.

211 Detección de enfermedad mínima residual en tumores embrionarios cerebrales mediante citometría de flujo

López-Aguilar Enrique, Sepúlveda-Vildósola Ana Carolina, Siordia-Reyes Alicia Georgina, Ramírez-Reyes Alma Griselda, Rioscovian-Soto Ana Paulina, Figueroa-Rosas Leticia, Galván-Luna María Soledad
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Introducción: Los tumores del sistema nervioso central son los tumores sólidos más comunes en los niños, siendo responsables de más de 500 casos nuevos por año en México. La citometría de flujo se utiliza para analizar y definir el perfil inmunofenotípico de las células neoplásicas a través de la aplicación de anticuerpos monoclonales específicos, y establecer la presencia de fenotipos aberrantes. La respuesta tumoral y la evolución de los pacientes con un tumor cerebral se evalúan mediante resonancia magnética y un citomorfológico de LCR. Existen dudas razonables de la persistencia de enfermedad microscópica a pesar de que los estudios referidos no revelen positividad. **Objetivo:** Cuantificar la respuesta microscópica al tratamiento mediante detección de enfermedad mínima residual por citometría de flujo en paciente con meduloblastomas, ependimomas, pineoblastomas y tumores germinales de la región pineal. **Material y métodos:** Pacientes de ambos sexos entre uno y 17 años de edad con tumores embrionarios cerebrales. Después del diagnóstico histopatológico del tumor, se realizó punción lumbar y se determinó la enfermedad residual por citometría de flujo; recibieron esquema de quimioterapia de acuerdo al tipo de tumor cada 28 días, y previo a cada curso se realizó punción lumbar. Se obtuvo 1 mL en cada punción y se procesó la muestra por citometría de flujo para determinación cuántica de células malignas, con anticuerpos anti *Bcl-2*. **Resultados y conclusiones:** Se incluyó un total de 20 pacientes, de los cuales cinco fueron eliminados por no contar con los valores completos posterior al segundo y cuarto curso de quimioterapia. De los 15 pacientes restantes, nueve fueron masculinos (60%) y seis femeninos (40%) con una relación M:F de 1.5:1. La mediana de edad fue de 105.5 meses. De los tipos de tumores embrionarios de SNC el 33.33% fueron ependimomas, 33.33% meduloblastomas, y 33.33% tumores germinales mixtos. Los resultados de la citometría de flujo mostraron en la determinación inicial que 11 pacientes (73%) no presentaron células neoplásicas, mientras que en la segunda determinación sólo cinco pacientes (33%) fueron negativos. En la tercera determinación cuatro pacientes (26%) fueron negativos. Hasta el momento, sólo cinco pacientes cuentan con celularidad normal por citometría. Respecto

a los resultados del citomorfológico, en la determinación inicial, 13 pacientes fueron reportados como negativos (87%), 14 fueron negativos en las segunda y tercera determinaciones (93% respectivamente). La concordancia para ambos métodos para determinar positividad en LCR, de los 15 pacientes, fue de 13 determinaciones en el estudio basal (concordaron 86%, exacta de Fisher $p = 0.057$). En la segunda determinación, 6/15 (40%, exacta de Fisher $p = 0.667$). En la tercera determinación 5/15 concordaron (33%, exacta de Fisher $p = 0.733$). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la media de los rangos de las tres determinaciones (Friedman $p = 0.011$), encontrando que la diferencia se encuentra entre las determinaciones de la fase basal y posterior al cuarto curso de quimioterapia (Wilcoxon $p = 0.022$). En 11 pacientes, se encontró incremento en la determinación de células neoplásicas por citometría de flujo, correlacionando con la imagen por RMN en ocho pacientes (72%). Se encontró aumento significativo en la celularidad neoplásica posterior a seis cursos de quimioterapia. Se debe vigilar a los pacientes que tenga positividad en citometría, a pesar que de que tanto en el citomorfológico de LCR como en los estudios de neuroimagen no se detecte actividad tumoral.

212 HIF-1 α induce un fenotipo de resistencia a la quimioterapia a través de la regulación de Bcl-xL en una línea celular de linfoma no Hodgkin

Hernández-Luna MA, Díaz de León-Ortega R, Luria-Pérez R, Huerta-Yepez S

Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas. Hospital Infantil de México Federico Gómez

Introducción: En diferentes neoplasias, la sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas como Bcl-xL se ha asociado con la resistencia a la quimioterapia. Entender el mecanismo de regulación de Bcl-xL puede ayudar a desarrollar estrategias que permitan sensibilizar a la célula tumoral a morir por apoptosis. En este contexto, se ha reportado en líneas celulares de cáncer de próstata que la expresión de Bcl-xL es regulada por el factor transcripcional HIF-1 α , en donde su inhibición resulta en la disminución de Bcl-xL y la sensibilización de las células tumorales a morir por apoptosis. Adicionalmente se ha reportado que HIF-1 α se encuentra sobreexpresado en diversas neoplasias incluyendo linfoma no Hodgkin (LNH), sugiriendo que HIF-1 α , podría estar participando en la regulación de Bcl-xL en esta neoplasia resultando en la resistencia a la quimioterapia. El objetivo planteado fue evaluar la participación de HIF-1 α en la resistencia a la quimioterapia mediada por Bcl-xL en una línea celular de linfoma. **Material y métodos:** Las células Ramos (LNH) se trataron con Etil 2,4-dihidroxibenzoato (EDHB) para inducir el incremento de HIF-1 α y Bcl-xL. La determinación de ambas proteínas se realizó por Western Blot e inmunohistoquímica. Evaluación de

apoptosis. Las células Ramos sin tratar, tratadas con EDHB o el vehículo (DMSO), se incubaron con cisplatino por 18 horas. Posteriormente se determinó apoptosis mediante caspasa-3 activa por citometría de flujo. **Resultados y conclusiones:** El tratamiento de las células Ramos con EDHB aumenta la expresión de HIF-1 α y correlaciona con el aumento de Bcl-xL. Adicionalmente las células tratadas con EDHB presentan el menor porcentaje de células en apoptosis (37.2%), en comparación a las células sin tratamiento (65.2%) o tratadas con el vehículo (66%), después del tratamiento con cisplatino. Estos datos sugieren que HIF-1 α puede estar regulando la expresión de Bcl-xL, que tendría como consecuencia la inducción de un fenotipo de resistencia al fármaco cisplatino.

213 La apoptosis no es el principal proceso morfo-genético en el desarrollo de las cámaras de salida ventriculares

Sánchez-Gómez Concepción,¹ Lazzarini-Lechuga Roberto,^{*2} Ortega-Espinosa Paola,³ Fierro Reyna,² Contreras-Ramos Alejandra¹

¹Laboratorio de Investigación en Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental, HIMFG, ²Universidad Autónoma Metropolitana, ³Universidad Tecnológica de Tecámac. HIM2010/008, *CoNaCyT 233312

Introducción: Defectos en el desarrollo del cono, tronco y/o saco aórtico provocan cardiopatías congénitas tronco-conales, causa frecuente de mortalidad y morbilidad perinatal. La información sobre los procesos morfo-genéticos involucrados en la transformación del cono en los tractos de salida es controversial. La mayoría menciona la apoptosis, otros señalan la proliferación miocárdica. **Objetivo:** Correlacionar los patrones espacio-temporales de focos apoptóticos con cambios morfohistológicos y tamaño del cono durante su transformación en las cámaras de salida ventriculares. **Material y métodos:** En condiciones *in ovo*, se delimitó el cono del corazón de embriones de pollo de cuatro días, colocando dos marcas (inferior, límite cono/ventrículo y superior, límite cono/tronco); se rastrearon progresivamente hasta corazón maduro (nueve días), toma de fotografías al inicio y final. Se estudiaron características morfohistológicas del corazón y se midió la distancia entre las marcas a lo largo del proceso; tres corazones de cada estadio se analizaron para apoptosis con LTR. **Resultados y conclusiones:** La distancia entre las marcas se incrementó paulatinamente a través del tiempo; inicialmente (cuatro días) el valor promedio fue 0.45 mm con una desviación estándar de 0.129; el día nueve, la distancia promedio fue 0.763 y la desviación estándar 0.243. Los focos apoptóticos mayores no aparecieron en el cono sino en el tronco, adyacentes a la marca superior, lugar donde se desarrollan las válvulas arteriales. La apoptosis no es el proceso morfo-genético dominante en el desarrollo de las cámaras de salida

ventriculares, pero si participa de manera significativa en la remodelación de las válvulas ventriculoarteriales.

214 Evaluación clínico-patológica de apoptosis como herramienta diagnóstica en enfermedad injerto contra huésped aguda

Serrano-Pacheco C,¹ Sáez-de-Ocariz M,¹ Carrasco-Daza D,² Olaya-Vargas,³ Murata-C⁴

¹Dermatología, ²Patología, ³Oncología, ⁴Metodología de la Investigación del Instituto Nacional de Pediatría

Introducción: Las manifestaciones cutáneas de EICH aguda pueden ser indistinguibles de las de una farmacodermia, especialmente en pacientes sometidos a transfusiones o trasplantes. Los hallazgos histopatológicos pueden ayudar a distinguir entre ambos cuadros cuando las características son típicas, pero esto no siempre es fácil. **Objetivo:** Evaluar la utilidad de la determinación de apoptosis en el diagnóstico certero y temprano de EICH aguda en pacientes con transfusiones o trasplantes. **Material y métodos:** Estudio observacional, retrospectivo, transversal y comparativo en el cual se incluyeron pacientes pediátricos con diagnóstico clínico de EICH o farmacodermia con antecedente de transfusión o trasplante que contaran con biopsia de piel. Se valoró edad, sexo, aspectos dermatológicos, compromiso gastrointestinal y hepático y evolución, para así definir diagnóstico clínico. Se revisó el estudio histopatológico de los casos de EICH y farmacodermia. La información se complementó con la realización de técnicas moleculares y de inmunohistoquímica para evaluar apoptosis (TUNEL, bcl-2 y caspasas). La asociación de todas las variables con los dos grupos de interés se determinó por χ^2 . El cambio de la probabilidad de presentarse EICH o farmacodermia en relación a número de cuerpos apoptóticos y de caspasas fue determinado por un modelo de regresión logística. Para todas las pruebas estadísticas $\alpha < 0.05$ fue considerada estadísticamente significativa. **Resultados y conclusiones:** Se estudiaron 43 casos, 32 de EICH y 11 de farmacodermia. A nivel clínico, la única diferencia significativa entre ambos grupos fue el género de los pacientes. A nivel histopatológico, solamente el número de cuerpos apoptóticos mostró una asociación estadísticamente significativa con los casos de EICH, y la expresión de caspasas es marginal para dicha asociación. No existe una forma clara ni clínica ni histopatológica de distinguir la EICH aguda y la farmacodermia en forma temprana. La determinación de apoptosis no es definitiva para distinguir entre ambas.

215 El reto alérgico incrementa la expresión de HIF-1, VEGF, CCL2 y CXCL12 en pacientes asmáticos

Guillermína Baay-Guzmán,¹ Rogelio Hernández-Pando,² Oliver Hankinson,³ Don Tashkin,⁴ Marc Riedl,⁴ Michelle Zeidler,⁴ Eric Kleerup,⁴ Sara Huerta-Yepetz¹

¹Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, Hospital Infantil de México Federico Gómez, ²Dpto. de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán", ³Departments of Pathology and Laboratory Medicine and Molecular Toxicology Interdepartmental Program, David Geffen School of Medicine at UCLA. USA, ⁴Pulmonary and Critical Care Medicine, David Geffen School of Medicine, UCLA. USA.

Introducción: El asma alérgica es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por cambios en el tejido pulmonar en el que existe producción de moco, obstrucción del flujo de aire, hiperreactividad aérea. En los últimos años se ha reportado la participación del factor inducible en hipoxia 1 (HIF-1) en este proceso, y en nuestro grupo de trabajo hemos reportado que este factor tiene un papel central en la fisiopatogenia en un modelo murino de inflamación alérgica pulmonar. Al modular su expresión se modifica la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), CCL2 y CXCL12, las cuales participan de forma importante en el asma y son reguladas transcripcionalmente por HIF-1. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la expresión de HIF-1, VEGF, CCL2 y CXCL12 en pacientes asmáticos antes y después del reto alérgico. **Material y métodos:** Mediante tinciones de inmunohistoquímicas se evaluó la expresión de HIF-1 α , VEGF, CCL2 y CXCL12 en tejido pulmonar y lavados bronquioalveolares (LBA) de pacientes con asma pre y post reto alérgico. Las células fueron cuantificadas utilizando un analizador de patología digital (Aperio). **Resultados y conclusiones:** Observamos que la expresión de las proteínas HIF-1, VEGF, CCL2 y CXCL12 se encuentran elevadas en los pacientes alérgicos y que éstas incrementan significativamente después del reto alérgico, tanto en células de LBA como en tejido pulmonar. Los resultados obtenidos muestran por primera vez, que el reto alérgico induce un incremento en la expresión de las proteínas reguladas de manera transcripcional por HIF-1; VEGF, CCL2 y CXCL12 en pacientes alérgicos tanto en LBA como en tejido pulmonar. Estos datos corroboran los resultados obtenidos en el modelo murino de inflamación alérgica pulmonar.

216 Valor diagnóstico en sepsis neonatal temprana de la expresión de receptores TLR2 y TLR4 en células CD14+ de sangre periférica de recién nacidos pretérmino

Nava-Castro K, Galindo-Sevilla N, Segura-Cervantes E, Lara-Sánchez J, García M, García-Mendoza AZ, Mancilla-Ramírez J

Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

Introducción: La sepsis neonatal es una infección sistémica con una letalidad de 25% de los neonatos infectados. Esta enfermedad se clasifica en dos subtipos dependiendo del tiempo en el que se presentan los primeros síntomas: sepsis temprana (< 72 h) y sepsis tardía (> 72 h). La sepsis neonatal tiene mayor riesgo en neonatos pre-término que en neonatos a término, por lo que un diagnóstico temprano es crucial para hacer un diagnóstico efectivo. Entre las pruebas de rutina para el diagnóstico de sepsis se encuentran los cultivos microbiológicos, cuantificación hematológica, determinación de niveles de citocinas (IL-6, IL-8), Proteína C reactiva y procalcitonina. Sin embargo, estas pruebas poseen algunas limitaciones como son variación, baja sensibilidad, o largos periodos de tiempo; lo que repercute en un diagnóstico tardío de la enfermedad. Los receptores TLR (Toll-like receptors), expresados por células de la respuesta inmune innata, están involucrados en el reconocimiento y estimulación de mecanismos inmunológicos antimicrobianos, como los anteriormente descritos. **Objetivo:** En este trabajo se evaluó la expresión de los receptores TLR2 y TLR4 en células CD14^{int} y CD14^{alta} derivadas de sangre periférica de neonatos pretérmino con sospecha de sepsis. **Resultados y conclusiones:** Nuestros resultados sugieren que existe un incremento en el porcentaje de células tanto CD14^{int} como CD14^{alta} en neonatos con sepsis mientras que existe una disminución en la expresión de TLR2 y TLR4 en las células CD14^{int}. Los valores de ambos receptores son similares en pacientes con sepsis como controles en la subpoblación CD14^{alta}.

217 Efecto de la gammaglobulina IV administrada en recién nacidos pretérmino con sepsis, sobre la cuenta leucocitaria

Lizbeth Guadalupe Uribe-Salgado, Sandra Carrera-Muñoz, Raúl Villegas-Silva
Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

Introducción: La inmunoglobulina IV se ha considerado desde hace muchos años como parte del tratamiento de la sepsis en niños pretérmino, por el efecto inmunomodulador se considera posible que afecte la cantidad de leucocitos en sangre. Nuestro objetivo del estudio fue conocer el efecto de la gammaglobulina sobre la cuenta leucocitaria en el recién nacido pretérmino < 34 semanas de gestación, con peso < 1,500 g y sepsis. **Material y métodos:** Estudio transversal analítico. Se tomó una muestra de recién nacidos pretérmino que nacieron en el INPer durante el periodo de enero- 2010 a enero 2011, con menos de 34 semanas de gestación y con peso menor a 1,500 g que cursaron con sepsis y fueron tratados en la UCIN. Se dividieron en dos grupos, según hubiesen recibido o no gammaglobulina IV, de acuerdo al criterio de cada médico tratante. Se analizaron las características de los pacientes, el tipo de infección y

otros datos de evolución por medio de frecuencias simples y medidas de tendencia central. Como variable de desenlace se consideró la cuenta de leucocitos reportada en la BH a las 24 h de haberse realizado la administración de la inmunoglobulina, así como la BH reportada en el día 15 de evolución. Se usó la prueba t de Student. **Resultados y conclusiones:** No se encontraron diferencias significativas entre las características de estos grupos, ni entre la cuenta leucocitaria entre ambos grupos a las 24 horas de vida, y a los 15 días de vida. Con una $p > 0.05$. La inmunoglobulina IV administrada en niños pretérmino con sepsis no afectó la cuenta de leucocitos a los 15 días de tratamiento, comparada con niños con sepsis que no se les había administrado este tratamiento.

218 Resultado perinatal de mujeres infectadas con VIH

Plazola-Camacho Noemí Gpe,¹ Figueroa-Damián Ricardo¹

¹*Departamento de Infectología. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes*

Introducción: El embarazo entre mujeres infectadas por VIH es común, por lo que los factores de riesgo relacionados con un resultado adverso, deben ser investigados. El objetivo de este estudio fue probar si el progreso de la infección está asociado con un riesgo elevado de morbilidad perinatal y de transmisión vertical entre mujeres infectadas con HIV. **Material y métodos:** Se realizó un estudio de casos y controles que incluyó 66 mujeres embarazadas infectadas con VIH ingresadas en forma consecutiva en el Instituto Nacional de Perinatología de enero de 2007 a junio de 2010. En este estudio, los casos se definieron como mujeres embarazadas que cumplían criterios de SIDA y los controles mujeres embarazadas sin criterios de SIDA. El resultado del embarazo fue clasificado como satisfactorio y no satisfactorio. Para el análisis de resultados se usó estadística descriptiva, prueba t Student para variables continuas y chi cuadrada o prueba exacta de Fisher para datos categóricos. El análisis estratificado fue desarrollado con prueba de Mantel Haenszel y prueba chi-cuadrada. Se calculó Odds ratio (OR) con IC 95%. El análisis estratificado se hizo con Mantel-Haenszel y prueba chi cuadrada. **Resultados y conclusiones:** La media de edad de las mujeres embarazadas fue de 26.9 ± 5.5 años. De las cuales 29 (43.9%) fueron los casos y 37 (56.1%) los controles. La mediana de edad gestacional al ingreso al instituto fue de 26 semanas (rango 8-38). Todas las mujeres recibieron tratamiento antirretroviral. Se obtuvieron 41 (62.1%) pacientes con resultado perinatal no satisfactorio, las complicaciones más frecuentemente observadas fueron: 15 (22.7%) con taquipnea transitoria del recién nacido, nueve (13.6%) mujeres tuvieron parto pretérmino, y ocho (12.1%) recién nacidos con peso bajo. De los casos 23 (79.3%) tuvieron un

resultado del embarazo no satisfactorio mientras que en los controles 18 (48.4%) presentaron complicaciones en el embarazo ($p < 0.01$, OR: 4, IC 95% 1.2-14.3). Hubo un caso de transmisión vertical. El análisis estratificado no mostró variables confusoras. Entre más avanzado es el estado de la infección por VIH se tiene cuatro veces más riesgo de tener un embarazo con resultado no satisfactorio.

219 Estudio de la infección por hepatitis B oculta (HBVO) en pacientes infectados con VIH-1+ _____

Maldonado-Rodríguez Angélica, Rojas-Montes Othón,¹ Valdez-Salazar Hilda,¹ Torres-Ibarra Rocío,² Torres Javier, Álvarez-Muñoz Ma. Teresa,³ Muñoz Onofre,³ Lira Rosalía¹

¹Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias. Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI, IMSS, ²Clínica de hepatitis, CMN La Raza, IMSS, ³Hospital Infantil de México Federico Gómez

Introducción: La hepatitis B oculta (HBVO) se caracteriza por la presencia de HBV-DNA en ausencia de HBsAg. Coinfecciones son frecuentes con VIH por compartir rutas de transmisión. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de infección oculta por el HBV en un grupo de individuos con infección crónica por el HIV-1. **Material y métodos:** Estudio transversal descriptivo. Se incluyeron 54 pacientes infectados por VIH-1 derechohabientes IMSS, sin marcadores de infección para HBV, excepto anti-HBc. Se obtuvo consentimiento informado. Se determinaron niveles de HBsAg, HBeAg, anti HBc, anti HBs e anti HBe mediante EIA, y la carga viral (CV) del HBV por Cobas Monitor Amplicor (Roche). La confirmación de infección oculta se realizó detectando HBV-DNA por ensayos de PCR tiempo real (qPCR) con SYBRgreen en equipo Lightcycler-480, en 12 muestras. Análisis de datos por estadística descriptiva.

Resultados y conclusiones: De los 54 pacientes incluidos, seis fueron positivos para HBsAg. De los 48 restantes, el 52.1% fue seropositivo para HBVO con CV indetectable. El 47.9% fueron seronegativo para HBVO. Interesantemente, de los seronegativo el 26% tuvieron CV detectable (< 200 copias/mL). Se estandarizó un ensayo de qPCR-tiempo real. Se procesaron 12 muestras (seis seropositivas y seis seronegativas para HBVO). De las seis muestras seronegativas, de las cuales tres tuvieron CV detectable por Cobas, sólo dos fueron confirmadas por qPCR, mientras que de las muestra seropositivas para HBVO con CV indetectable por cobas, 3/6 muestras fueron positivas por qPCR (50%). El resultado de la qPCR mostró 41.6% de pacientes con HBVO. En muestras de pacientes con VIH-1 se encontró un porcentaje elevado con anti-HBc (52.1%). En 12 muestras donde se realizó qPCR se obtuvo un 41.6% positivas para HBVO. La realización de ensayos de PCR tiempo real es necesaria para confirmar la alta prevalencia de HBVO en pacientes infectados por VIH-1 en México. Financiamiento: CONACYT-SALUD 2008-01-86717.

220 Implementación de un sistema de diagnóstico molecular para tuberculosis menígea _____

Hernández-González O,^{1,2} González-y-Merchand JA,² Torres-López J,¹ Maldonado-Bernal C,³ Ríos-Sarabia N¹
¹UIM en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias CMSXXI-IMSS, ²ENCB-IPN, ³Hospital Infantil de México Federico Gómez

Introducción: El 10% de los casos de tuberculosis son extrapulmonares; de éstos, la tuberculosis menígea es la más grave. Su diagnóstico es difícil, ya que la sintomatología es similar a la de otras enfermedades neurológicas, y la baciloscopia y el cultivo generalmente son negativos. Se han propuesto métodos alternativos para apoyar al diagnóstico. Sin embargo, no existe ningún estudio en México que permita utilizar esos métodos en el área clínica para ayudar al diagnóstico definitivo de la enfermedad.

Material y métodos: Se incluyeron 30 pacientes, de los cuales 17 tenían un diagnóstico presuntivo de tuberculosis menígea y 13 con otra entidad neurológica confirmada. Se obtuvo DNA de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y se realizó una PCR múltiple para identificar tres genes de *M tuberculosis* y una PCR anidada para identificar al gen especie-específico. Los productos se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. **Resultados y conclusiones:** Se estandarizó un sistema de PCR múltiple y anidada utilizando DNA de *M. tuberculosis* H37Rv. Con la PCR múltiple sólo en una de las muestras de LCR se amplificó el fragmento correspondiente al gen *mtp40*. Sin embargo, al aumentar la sensibilidad con la PCR anidada, se encontraron 17 muestras positivas para *M. tuberculosis* y 13 negativas. Se hizo análisis estadístico de 28 pacientes de los cuales 11 fueron verdaderos positivos, un falso negativo, cuatro falsos positivos y 12 verdaderos negativos. La PCR múltiple fue necesaria para tener una amplificación del DNA que sirvió como plantilla para la PCR anidada, la cual permitió amplificar el fragmento interno del gen *mtp40* que identifica a *M. tuberculosis*. La sensibilidad del sistema implementado (PCR múltiple-PCR anidada) fue de 91.6% y la especificidad del 75%.

221 La fructosa-1,6-bifosfato aldolasa de *Giardia lamblia* como un blanco factible para el diseño de fármacos anti-giardíacos _____

Méndez Sara Teresa, Hernández-Alcántara Gloria, García-Torres Ithzel, Castillo-Villanueva Adriana, Torres-Arroyo Angélica, Gómez-Manzo Saúl, Enríquez-Flores Sergio, De La Mora-De La Mora Ignacio, Reyes-Vivas Horacio, Oria-Hernández Jesús, López-Velázquez Gabriel

Laboratorio de Bioquímica-Genética, Instituto Nacional de Pediatría

La giardiasis humana, parasitosis intestinal causada por el protista *Giardia lamblia*, es una enfermedad cosmopolita con una incidencia a nivel mundial del 2 al 5%; en los países en vías de desarrollo sin embargo, la incidencia puede alcanzar hasta un 20 ó 30%. Del total de los casos reportados, alrededor del 70% ocurren en la población pediátrica; en este grupo, la infección crónica puede derivar a síndrome de malabsorción, pérdida de peso y retardo en el crecimiento. Aunque en la actualidad se cuenta con fármacos efectivos para el tratamiento de la giardiasis, los efectos secundarios asociados con el uso de éstos, la alta tasa de reinfecciones y el incremento en la aparición de cepas resistentes, indican la necesidad de desarrollar nuevas opciones terapéuticas. Con este fin, nuestro grupo está interesado en el diseño racional de fármacos; este enfoque busca identificar biomoléculas fundamentales para el organismo infeccioso y desarrollar compuestos orgánicos que interfieran de manera específica con su función. En *G. lamblia*, la obtención de energía se basa principalmente en la glucólisis, por lo que se ha propuesto a las enzimas de esta vía como potenciales blancos farmacológicos. La fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa de *G. lamblia* (G1FBPA) ocupa una posición central dentro de la glucólisis; además, debido a que no presenta relación evolutiva, estructural o funcional con su análoga humana, esta enzima representa una interesante opción como blanco farmacológico. El gen *glfbpa* se aisló a partir de DNA genómico y se clonó en un plásmido de sobreexpresión bacteriano. A partir de la proteína recombinante aislada con una pureza mayor al 95%, se probó el efecto de una biblioteca comercial de 1,000 compuestos químicos estructuralmente heterogéneos sobre la actividad de la enzima. Después de incubar a la G1FBPA durante dos horas a 25 °C con 400 µM de cada uno de los compuestos, cinco de estos inactivaron a la enzima en un intervalo del 50 al 100%. Los resultados indican que los cinco compuestos encontrados pueden utilizarse como andamios moleculares para el desarrollo de moléculas selectivas con potencial farmacológico anti-giardiasis.

222 Confirmación de un brote de bacteriemia por *Burkholderia cepacia* en una Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos mediante biología molecular

Sánchez-Hernández Genny, González-Saldaña Napoleón, Rodríguez-Muñoz Lorena, Arzate-Barbosa Patricia, Bobadilla-Del Valle Judith Miriam, Hernández-Orozco Hilda Guadalupe
Instituto Nacional de Pediatría

Introducción: Desde 1980 *Burkholderia cepacia* (*B. cepacia*) causa infecciones nosocomiales, 80% ocurren en Unidades de Cuidados Intensivos. La electroforesis en gel de campo pulsado (EGCP) de fragmentos de ADN cromosómico es el estándar de oro para tipificar genotípicamente clones de *B. cepacia* en estudios de vigilancia epidemiológica.

Material y métodos: Se realizó un estudio epidemiológico descriptivo para establecer la existencia del brote. La identificación fenotípica de *B. cepacia* se hizo con sistemas de detección microbiana automatizados Bact/ALERT y paneles comerciales de identificación y sensibilidad antimicrobiana Dade MicroScan Negative Combo Panel Type 12; Dade Behring. Para determinar los genotipos de las cepas se realizó EGCP con un sistema de mapeo CHEF (contour-clamped homogeneous electric field electrophoresis); Bio Rad. **Resultados y conclusiones:** La vigilancia epidemiológica en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos (UCIP) fue del 6 de abril al 12 de mayo del 2010 con 63 pacientes ingresados. Tres pacientes presentaron fiebre y *B. cepacia* en hemocultivos, apoyando la posibilidad de un brote de bacteriemia nosocomial con base en un canal endémico de cero casos entre el 2005 y 2009. La media y mediana de estancia hospitalaria fue mayor para los casos (33 vs 13 días y 33 vs 6 días respectivamente). El brote tuvo una tasa de ataque de 4.76% con letalidad de 33%, superando la mortalidad global de la UCIP (19%). Los aislamientos de *B. cepacia* mostraron perfiles bioquímicos y susceptibilidad antimicrobiana iguales. Los patrones de bandas de EGCP fueron compatibles con el genotipo *B. cepacia* e idénticos al restringirlos con la enzima *Spe I* indicando que se trata de una misma clona bacteriana. Este estudio demostró mediante biología molecular la transmisión nosocomial de *B. cepacia* entre los casos del brote de bacteriemia en la UCIP. Se implementaron medidas de precaución sin la aparición de nuevos casos lo que apoya la teoría de transmisión entre pacientes a través de manos.

223 Seroprevalencia materna y frecuencia de la transmisión vertical con *T. cruzi* en dos zonas endémicas de México

Campos-Valdez Guillermina,¹ Jiménez-Cardoso Eneida,¹ Bonilla-G Edmundo,² Damián-M Pablo,² Rivera-M Carlos,³ Hernández-R María,⁴ Ruiz-Habana Joel,⁵ Yves Carlier⁶

¹Lab. Invest. Parasitol. Hospital Infantil de México Federico Gómez, ²UAM Iztapalapa, ³Hosp. Civil Fray Antonio Alcalde, ⁴Hosp. Reg. Pochutla, ⁵Hosp. Gral. Dr. Pedro Espinoza Rueda, ⁶Université Libre de Bruxelles

Introducción: La transmisión materno-fetal del *Trypanosoma cruzi* ha sido poco estudiada en México. El primer caso se publicó en 1998 y a la fecha no hay reportes. En el presente estudio, determinamos la prevalencia de infección con *T. cruzi* en 1,448 mujeres embarazadas de Oaxaca, Jalisco y el Distrito Federal, así como la frecuencia de transmisión a sus bebés durante el parto. **Material y métodos:** La prevalencia se obtuvo por la serología reactiva a las pruebas de ELISA y Chagas Stat-Pak. La frecuencia de transmisión se determinó primero por la búsqueda del ADN de *T. cruzi* en la sangre del cordón umbilical y dos

años después por la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* propios del niño, empleando dos pruebas de ELISA: una con antígeno total y otra con antígenos recombinantes. **Resultados y conclusiones:** Encontramos que la prevalencia total de la enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas fue de 7.32% (106/1,448) y por estados fue: en Oaxaca de 4.4% (35/794), en Jalisco de 12.02% (67/557) y en el Distrito Federal de 4.12% (4/97). El porcentaje de recién nacidos positivos a PCR en Oaxaca fue del 20% (7/35) y en Jalisco 11.94% (8/67), en el Distrito Federal, no se encontraron positivos. La frecuencia de transmisión en los niños con PCR positiva y evaluados por serología después de dos años en Oaxaca fue de 9.09% (3/33), y en Jalisco de 3.07% (2/65). La frecuencia total fue de 4.9% (5/102), los niños que resultaron positivos recibieron el tratamiento específico. La seroprevalencia materna fue más alta en el estado de Jalisco pero la frecuencia de transmisión fue más alta en Oaxaca. Estos resultados no presentan asociación con los datos ginecológicos de la madre y los datos antropométricos del recién nacido. Probablemente, los resultados obtenidos estuvieron asociados con la presencia de diferentes cepas del parásito presente en las regiones estudiadas.

224 Comparación de dos muestras biológicas para la detección de infección activa por citomegalovirus mediante una reacción en la cadena de la polimerasa en recién nacidos prematuros

González-Ramírez J,¹ González-Ramírez CA,¹ Casasola-Flores J,¹ Fierro-Pastrana R,² González-Márquez H,² Villanueva-García D,³ Cruz-Ramírez JL,⁴ Yalupari-Mejía JP,⁴ Justiniani-Cedeño N,⁵ Sanabria-Cordoba T,¹ Azpeitia-Mendoza H,¹ Nava-Frías M,¹ Contreras-Bucio G,¹ Arellano-Galindo J¹

¹Laboratorio de Virología, Departamento de Infectología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, ²Universidad Autónoma Metropolitana, ³Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, Departamento de Neonatología Hospital Infantil de México Federico Gómez, ⁴Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, Hospital de la Mujer; ⁵Departamento de Infectología Pediátrica, Hospital General de México

Introducción: El CMV es la causa más frecuente de infección viral congénita, afecta entre el 0.2-2.2% de los recién nacidos. En más casos cursa sin ningún tipo de sintomatología, pero del 10 al 15% puede haber enfermedad clínica y los recién nacidos prematuros (RNP) son altamente susceptibles. La detección de DNAemia usando sangre absorbida en tarjetas de Guthrie o DNA en saliva puede ser una herramienta importante para la detección de la infección activa (IA) y la toma inmediata de decisiones médicas. **Material y métodos:** Estudio observacional, prospectivo transversal, muestras de saliva y GC de RNP

del Hospital Infantil de México Federico Gómez, Hospital General de México y Hospital de la Mujer. IA se definió como la detección del CMV en cultivo de saliva, CMV-DNAemia en sangre o CMV-DNA en saliva independientemente de estar asociada a síntomas. **Resultados y conclusiones:** Se obtuvieron 586 muestras, 293 de saliva, y 293 de GC. 61/293 (20%) fueron positivas al cultivo de saliva, 47/293 (16%) fueron positivas para DNAemia y 30/293 (10.23%) fueron positivas para CMV-DNA en saliva. La sensibilidad de la DNAemia calculada frente a la prueba de referencia fue del 71.4%, la especificidad del 99.1%, valor predictivo positivo (VPP) de 95.7% y valor predictivo negativo (VPN) del 92.6%, mientras la detección de CMV-DNA en saliva tuvo una sensibilidad del 46%, especificidad del 99.6%, VPP del 96.6% y VPN del 87%. Cuando la detección de IA se analizó considerando el resultado de al menos una de las muestras estudiadas, la sensibilidad fue del 96.8%, la especificidad del 99.1%, el VPP del 96.8% y el VPN del 99.1%. La detección de IA mediante PCR utilizando GC y saliva es más rápida que el cultivo, pero la sensibilidad puede verse afectada si se utiliza sólo una de las dos muestras. Esta puede ser mejorada cuando se utilizan ambas.

225 Estudio de la regulación de la expresión de CCL5 por el factor de transcripción Yin Yang-1 durante la tuberculosis pulmonar progresiva

Rangel-Santiago JF,¹ Baay-Guzmán GJ,¹ Tirado-Rodríguez B,¹ Antonio-Andrés G,¹ Luria-Pérez R,¹ Hernández-Luna MA,¹ León-Aguilar Diana,² Hernández-Pando R,² Huerta-Yepez S*¹

¹Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, Hospital Infantil de México Federico Gómez, ²Unidad de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Introducción: Una tercera parte de la población mundial está infectada por *M. tuberculosis*, aunque sólo el 10% de la población desarrollará la fase activa de la enfermedad. La *M. tuberculosis* causa más muertes que cualquier otro agente infeccioso. Los tratamientos son largos y agresivos por lo que el índice de abandono es alto, por esta razón es necesario buscar nuevos factores pronósticos y blancos terapéuticos. La quimiocina CCL5 participa de manera activa en los procesos inflamatorios, pero poco se sabe de sus mecanismos de regulación. Mediante un análisis bioinformático del promotor de CCL5 se identificaron cuatro sitios de unión a YY1. Hasta el momento no existen estudios que muestren la participación de YY1 en la tuberculosis pulmonar. El objetivo planteado fue evaluar la participación de YY1 en la regulación transcripcional de CCL5 durante la tuberculosis pulmonar progresiva. **Material y métodos:** Se determinó la expresión de YY1 y CCL5 mediante inmunohistoquímica en el tejido pulmonar de ratones infectados

con *Mycobacterium tuberculosis*. Se clonó el promotor de CCL5 y se realizó mutación de dos sitios de unión para YY1 en dicho promotor. Mediante transfección de células PC3 se evaluó el efecto de las mutaciones en la actividad de la región promotora de CCL5. **Resultados y conclusiones:** Se observó un incremento en la expresión de CCL5 y de YY1 durante la fase activa de la enfermedad. La mutación de dos sitios de unión para YY1 disminuye la actividad del promotor de CCL5. El incremento en la expresión de CCL5 y YY1 durante la fase activa de la tuberculosis sugiere la participación de ambas proteínas en la progresión de la enfermedad. Las mutaciones sitiodirigidas sugieren que YY1 puede regular la expresión de CCL5. Sin embargo, se requiere obtener las dos mutantes restantes y realizar ensayos complementarios como inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP) para comprobar nuestra hipótesis.

226 *Helicobacter pylori* modifica la expresión de los receptores tipo-Toll independientemente del sistema de secreción tipo IV

Sánchez-Zauco Norma Angélica,^{1,2} Torres-López Javier,² Camorlinga-Ponce Margarita,² Giono-Cerezo Silvia,³ Maldonado-Bernal Carmen¹

¹Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, Hospital Infantil de México Federico Gómez, SS. México, DF, ²Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas, Hospital de Pediatría, CMN SXXI, IMSS. México, DF, ³Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. México, DF

Introducción: La infección por *H. pylori* (*Hp*) se adquiere en la infancia, con el tiempo pueden producirse distintas patologías desde gastritis hasta cáncer gástrico. Las cepas más virulentas presentan una isla de patogenicidad *cag* (*cagPAI*), la cual codifica para un sistema de secreción tipo IV (T4SS). A través del T4SS *Hp* inyecta factores de virulencia a las células del hospedero. *Hp* es reconocida por los neutrófilos a través de sus receptores tipo-Toll (TLRs) 2, 4, 5 y 9, estimulando una respuesta inflamatoria caracterizada por la atracción de más neutrófilos y otras estirpes celulares. Sin embargo, se desconoce si el T4SS modifica la expresión de dichos receptores. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del T4SS en la expresión de los TLRs de neutrófilos humanos. **Material y métodos:** Los neutrófilos se obtuvieron de sangre periférica mediante un gradiente de densidad, se resuspendieron en RPMI y se incubaron por 18 h a 37 °C, se infectaron con *Hp* *cagPAI+* y *cagPAI-*, con una MOI de 100, durante: 30 min, 1, 3, 6 y 24 h. En cada tiempo de la cinética se incluyeron controles sin infección. Para determinar la expresión de los TLRs se marcaron 500,000 neutrófilos infectados con anticuerpos anti-TLRs 2, 4, 5 y 9 acoplados a FITC o PE y su expresión se cuantificó por citometría

de flujo. **Resultados y conclusiones:** La intensidad media de fluorescencia del TLR2 y del TLR5 disminuyó durante la cinética de infección con ambos genotipos de *Hp* (*cagPAI+* y *cagPAI-*), $p < 0.05$. La expresión de TLR4 se mantuvo sin cambio, independientemente de la cepa infectante. El porcentaje de células que expresaron TLR9, se incrementó proporcionalmente al tiempo de infección, sin importar el estatus de la *cagPAI*. *H. pylori* ejerce un efecto de regulación negativa sobre la expresión de los TLRs 2 y 5 y una regulación positiva sobre la expresión del TLR9, independientemente del T4SS.

227 Morbilidad neonatal por *Chlamydia trachomatis* en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

Castro-Álvarez J, Álvarez-Peña I

Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

Introducción: Datos recopilados por la OMS reportan que 90 millones de personas presentan infección por *Chlamydia trachomatis*. CDC recomienda detección por *Chlamydia trachomatis* en las mujeres embarazadas menores de 24 años y mayores de 24 con factores de riesgo. La transmisión ocurre 50-70% durante el parto vaginal. La exposición a *Chlamydia trachomatis* puede causar conjuntivitis o neumonía dentro del primero al tercer mes de edad. La conjuntivitis ocurre en 35-50% y la neumonía en 11-20%.

Material y métodos: Tipo de estudio: observacional, transversal, retrospectivo y descriptivo. El estudio se realizó del 1º de enero de 2009 a 31 de diciembre de 2009, se incluyeron neonatos con cultivo positivo para *Chlamydia trachomatis*. Se analizaron los expedientes clínicos, para el análisis de los datos se utilizaron frecuencias y porcentajes.

Resultados y conclusiones: Se procesaron 180 cultivos, 89 fueron positivos (49.5%), descartándose 25 por expedientes incompletos, analizando 64 casos. Respecto a la edad materna, 10 fueron madres adolescentes (16.1%), de 18-24 años: 25 (40.3%), más de 24 años: 27 (43.5%). En relación al número de parejas sexuales maternas se encontraron 21 casos con una pareja sexual (32.8%) y dos o más, 43 casos (67.1%). Obtenidos vía vaginal 24 casos (37.5%) y vía abdominal 40 casos (62.5%); 15 casos (23.4%) menores de 30 semanas y mayores 30 casos (46.8%); 19 casos fueron neonatos a término (29.6%). Con dependencia de oxígeno 25 casos (39%), 11 apneas (17.1%), conjuntivitis seis (9.3%) y neumonía 22 (34.3%). En 67.1% las madres tuvieron dos o más parejas sexuales. La mayoría de los casos fueron prematuros. El mayor porcentaje presentó neumonía (34.3%) y sólo el 9.3% conjuntivitis.

228 Estudio clínico y epidemiológico de las infecciones por *Chlamydia* sp. en pacientes pediátricos en un hospital de tercer nivel

Díaz-Cadena Tanya,¹ Nava-Frías Margarita,² Nava-Ruiz Alejandra³

¹Residente 5° grado de Infectología, ²Adscrito al Servicio de Infectología, ³Jefe del Servicio de Infectología. Hospital Infantil de México Federico Gómez

Introducción: La neumonía atípica actualmente es usada para definir neumonías causadas por un grupo específico de patógenos (*M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*). Representan el 15% y causan infecciones del tracto respiratorio en niños de 5 a 15 años de edad. En el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) existe un diagnóstico sobrevalorado en neumonía por *Chlamydia pneumoniae*, abusando con ello de las solicitudes de prueba diagnóstica, así como uso y abuso del macrólido. El HIMFG gastó, durante el periodo de este estudio, \$393,529.49 en compra de claritromicina. **Objetivo:** Describir las características clínicas y epidemiológicas de las infecciones por *Chlamydia* sp. en pacientes pediátricos atendidos en un hospital de tercer nivel. **Material y métodos:** Estudio retrolectivo, descriptivo y observacional. De septiembre 2009 a abril 2011, identificamos los reportes de resultados positivos de la prueba de IFI (inmunofluorescencia indirecta) para *Chlamydia* sp. Se recopilaron del expediente clínico la información de los pacientes concerniente a las variables de interés. Se revisaron en conjunto con un experto en imagenología el archivo radiológico de cada paciente para describir los hallazgos en este estudio. **Resultados y conclusiones:** Se realizaron 218 pruebas IFI. Positivas resultaron 71 (32.5%). Número de expedientes clínicos incluidos: 67. La edad de mayor presentación de infecciones por *Chlamydia* sp. correspondió de un mes a dos años. Con dos picos máximos al año: otoño e invierno-primavera; se asoció a desnutrición e infecciones de vías respiratorias de repetición. Hubo 10% de casos de neumonía nosocomial asociados a *Chlamydia* sp. La coinfección más frecuente fue bacteriana. El diagnóstico radiológico fue discordante entre el reporte del médico tratante y el del experto. El 100% de los pacientes recibieron claritromicina. La neumonía por *Chlamydia* sp. es una etiología infrecuente en nuestra población, adquirida en la comunidad, por lo que la solicitud de pruebas diagnósticas a todo niño con síntomas respiratorios no se justifica.

229 Efecto de la derivación cardiopulmonar en la linfopenia y en el desarrollo de sepsis en niños con cardiopatía congénita

Jiménez-Aguilar Rosalinda,^{1,2} Sánchez-Zauco Norma,¹ González-Ramírez Ivonne,¹ Pérez-Figueroa Erandi,¹ Muñoz-Pérez Leopoldo,³ Gallardo-Casas Carlos A,⁴ Zavala J,⁵ Vera-Canelo JM,⁶ Solano-Gutiérrez A,⁶ Medina-Concepción Luz E,⁷ Maldonado-Bernal Carmen¹

¹Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas.

Hospital Infantil de México Federico Gómez, ²Unidad de Terapia Intensiva. Hospital de Pediatría del CMN SXXI. IMSS, ³Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas. Hospital de Pediatría del CMN SXXI. IMSS, ⁴Departamento de Investigación y Academia de Biología-CECyT Miguel Othón de Mendizabal-IPN, ⁵Unidad de Perfusión Cardiovascular. Hospital de Pediatría del CMN SXXI. IMSS, ⁶Cirugía Cardiovascular. Hospital de Pediatría del CMN SXXI. IMSS, ⁷Hospital de Cardiología del CMN Siglo XXI. Unidad Médica de Alta Especialidad. México, DF

Introducción: La cirugía cardíaca que requiere de derivación cardiopulmonar (DCP), conlleva una mayor morbilidad y mortalidad, ya que genera numerosas complicaciones postoperatorias como linfopenia, que puede ser consecuencia de la activación de apoptosis en células del sistema inmune. Hasta el momento no hay una explicación clara sobre el mecanismo de daño que ocasiona la DCP. Es importante determinar si la linfopenia en niños postoperados de corazón bajo DCP, está relacionada con la apoptosis y con el desenlace de sepsis. **Material y métodos:** Se realizó un estudio de cohorte prospectiva, longitudinal, comparativa y observacional durante 2010 y 2011. Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 mL antes y después de la cirugía de los pacientes operados con DCP y sin DCP. Se realizó la biometría hemática de las muestras y se determinó el número de células de las diferentes poblaciones celulares del sistema inmune. Se cuantificó la apoptosis de los linfocitos T y B mediante Anexina-IP por citometría de flujo. El desarrollo de sepsis se determinó con base en los criterios previamente establecidos. **Resultados y conclusiones:** En la biometría hemática, observamos un aumento importante de los leucocitos después de la cirugía en los pacientes operados sin DCP. Los neutrófilos incrementaron notablemente después de la cirugía con y sin DCP. Los eosinófilos y basófilos disminuyeron importantemente en ambos grupos de pacientes. No se observaron cambios significativos en la apoptosis de los linfocitos T y B después de la cirugía en ninguno de los dos grupos. En conclusión observamos que hubo linfopenia después de la cirugía cardíaca, en pacientes operados con y sin bomba y no es debido a la apoptosis de los linfocitos T y B. Es claro que la linfopenia presente en este tipo de pacientes no es secundaria a la DCP, sino a alguno de los mecanismos involucrados en la cirugía.

230 Engrosamiento de la pared celular en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes pediátricos como un efecto de la tolerancia a la vancomicina

Cázares-Domínguez Vicenta,¹ Escalona-Venegas Gerardo,¹ Rodríguez-Leviz Alejandra,² Valencia-Mayoral

Pedro,² Stanislaw-Sadowinski Pine,² Vázquez-Toledo Roberto,³ Xicohténcatl-Cortés Juan¹

¹Laboratorio de Bacteriología, ²Laboratorio de Patología. Hospital Infantil de México Federico Gómez, ³Instituto Politécnico Nacional

Introducción: El incremento en el uso de la vancomicina, ha favorecido la aparición de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SAMR) con diferentes fenotipos de resistencia a la vancomicina: resistencia intermedia a la vancomicina (VISA), resistencia heterogénea a la vancomicina (hVISA), resistencia a la vancomicina (VRSA) y tolerancia. Todas las cepas VISA obtenidas de pacientes tratados con vancomicina muestran polimorfismo del gen *agr* II y un engrosamiento en su pared celular con respecto a las cepas sensibles a vancomicina. La tolerancia a la vancomicina en *S. aureus* ha sido poco estudiada, por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar el engrosamiento de la pared celular por microscopia electrónica de transmisión y genotipificar el gen *agr* en cepas de SAMR tolerantes a la vancomicina. **Material y métodos:** Se seleccionaron 100 cepas SAMR, provenientes de muestras en pacientes pediátricos de diferentes orígenes (biopsias, sangre, LCR, piel y heridas). La identificación de cepas VISA y hVISA se llevó a cabo por análisis poblacional utilizando placas de agar BHI con concentraciones de 0 a 16 µg/mL de vancomicina. La genotipificación del gen *agr* se hizo por PCR múltiple, utilizando DNA genómico de cada cepa. El engrosamiento de la pared celular por acción de la vancomicina fue evaluada por microscopia electrónica de transmisión, después de estimular con 2 y con 8 µg/mL de vancomicina. **Resultados y conclusiones:** El 15% (15/100) de las cepas SAMR fueron tolerantes a la vancomicina y ocho de estas cepas fueron hVISA. El 33% (5/15) de las cepas SAMR tolerantes a la vancomicina, amplificaron el gen *agr* I y 66% (10/15) a *agr* II. Así mismo, todas las cepas hVISA amplificaron el gen *agr* II. Análisis de cortes transversales mostraron un incremento en el grosor de su pared celular de las cepas SAMR tolerantes a la vancomicina después de estimular con 2 y 8 µg/mL de vancomicina.

231 Genotipificación del virus de la hepatitis C (HCV) utilizando un fragmento de 241pb de la región ns5b, a partir de muestras de pacientes crónicamente infectados

Valdez-Salazar Hilda,¹ Rojas-Montes Othón,¹ Maldonado-Rodríguez Angélica,¹ Torres-Ibarra Rocío,² Álvarez-Muñoz Teresa,³ Muñoz Onofre,³ Lira Rosalía¹

¹Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias IMSS, CMN SXXI, México, ²Hospital de Infectología CMN La Raza, IMSS, México, ³Hospital Infantil de México Federico Gómez, México

Introducción: El virus de la hepatitis C (HCV) se ha clasificado en seis genotipos y varios subtipos que se asocian a una respuesta al tratamiento, epidemiología molecular, patogénesis y diagnóstico. En México, el genotipo predominante es el 1 y en menor grado el 2 y 3. **Objetivo:** Determinar el genotipo y subtipo de HCV en pacientes crónicamente infectados. **Material y métodos:** Se incluyeron 16 pacientes del Hospital de Infectología del CMN. Nueve mujeres y siete hombres de 26-70 años. Se determinó la carga viral (CV) en 16 muestras de plasma, por Cobas Amplicor HCV monitor. La extracción del RNA-HCV se realizó con el módulo de extracción de RNA del kit y se amplificó por RT-PCR, un fragmento de 241pb (genotipo 1 y 3) y de 120pb (genotipo 2), empleando los primers dirigidos a la región NS5B del virus. El análisis de las secuencias se realizó con el programa CLCbio 2009 y la determinación del genotipo con el programa *Viral Genotyping Tool*, NCBI. **Resultado y conclusiones:** Se determinó la carga viral en las nueve muestras (56.25%) con rangos de 819,000 a < 600 c/mL y en las siete muestras restantes (43.75%) fue indetectable. Se logró amplificar el fragmento de 241pb en siete muestras con carga viral (genotipo 1, 3 con el subtipo 1a y 4 con 1b. En las dos muestras restantes con CV bajas: (< 600 y 3,060 c/mL) no se amplificó el fragmento. No se obtuvo amplificación del fragmento de 120pb (genotipo 2), en ninguna de las muestras con carga viral detectable. Es posible identificar los genotipos y subtipos de HCV mediante la amplificación y secuenciación del fragmento de 241pb, en muestras de pacientes crónicos, lo cual es importante para el apoyo y manejo clínico en el tratamiento del paciente.

232 Genotipificación de cepas de *Candida albicans* y *C. parapsilosis* aisladas de manos del personal de salud y pacientes en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

Aguirre ME, Miranda NMG

UIM en Enf. Infec. y Parasitarias, UMAE HP CMN SXXI

Introducción: El género *Candida*, es uno de los más frecuentes y de mayor importancia, el cual se ha asociado a su recurrencia y a la gravedad de la infección. En las últimas dos décadas destaca la transición de especies de *Candida* como causantes de infecciones invasivas. Se tiene registrado que durante 1998, el 66% de las especies aisladas en pacientes con candidemia correspondían a *Candida albicans*, y para 2003, la frecuencia era similar para especies no-*albicans* y *albicans* (51 vs 49%). Además de los factores de riesgo que predisponen al desarrollo de la enfermedad micótica invasiva, la colonización se ha destacado como uno de los eventos más importantes y una condición previa necesaria para la presencia de infección. No se ha podido demostrar colonización en el personal de salud, o el ambiente hospitalario a pesar de frecuencias elevadas de cultivos positivos de los pacientes en las Unidades de Cuidado Intensivo (más del 70%). **Objetivo:** El

entender la epidemiología de las especies de *Candida* spp. y la relación particular entre el reservorio y el modo de transmisión es de gran importancia para el desarrollo de medidas de prevención de las candidiasis nosocomiales; es necesario comparar si el genotipo de la cepas de *Candida* spp. (*albicans* y *parapsilosis*) es idéntico para las obtenidas de las manos del personal de salud y la de los pacientes, mediante electroforesis en gel por campos pulsados. **Material y métodos:** De una colección de cepas que se obtuvieron de 98 pacientes colonizados, 89 cultivos de las manos del personal y 13 cultivos de dispositivos de julio a octubre del 2008, se seleccionaron 78 cepas para comparación, las cuales incluyeron: *Candida albicans* seis cepas de manos, 12 de pacientes y una del ambiente, y *Candida parapsilosis*, de las cuales 25 fueron de manos, 27 de pacientes y siete del ambiente. Se determinó el cariotipo de cada cepa mediante electroforesis en gel por campos pulsados (PFGE) y se estableció la relación para las muestras de los pacientes, las manos y el ambiente. Análisis estadístico: estadística descriptiva. Aspectos éticos: el protocolo corresponde a un estudio sin riesgo, fue aprobado por el Comité Local de Ética e Investigación. **Resultados y conclusiones:** Se obtuvieron 78 cepas para comparación, 59 de *C. parapsilosis* y 19 de *C. albicans*; de las cepas de *C. albicans* se encontraron dos patrones, uno predominante (A) que incluyó once cepas con cariotipo idéntico: nueve de pacientes colonizados, una de manos y una cinta métrica. Las restantes ocho cepas tuvieron cariotipos distintos. Para *C. parapsilosis* se encontró que todas las cepas de los pacientes tuvieron un cariotipo idéntico (21), de manos (20) son idénticas y del ambiente todas son iguales (7). En cuanto a *C. parapsilosis* se encontró una identidad genotípica en 48 cepas, 81% de las cuales: 44% corresponden a cepas tomadas del personal de salud, 43% de los pacientes y 13% de los dispositivos mientras que 11 cepas (19%) no mostraron relación cariotípica entre ellas. Se destaca el alto porcentaje de colonización probablemente a consecuencia de la contaminación cruzada a través de las manos del personal en el caso de *C. parapsilosis*. Esto puede modificarse al mejorar la adherencia a las medidas de higiene de manos al contacto con los pacientes y destacamos la baja relación entre las cepas de *C. albicans* las cuales tendrán un origen distinto al de la contaminación por el personal de salud.

234 Genes modulados por la prolactina en células B

Montoya-Díaz E,^{1,2} Chávez-Rueda K,¹ Chávez-Sánchez L,¹ Legorreta-Haquet MV,¹ Hernández-González R,³ Blanco-Favela F¹

¹Unidad en Investigación Médica en Inmunología, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional "Siglo XXI" Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), México DF, ²Depto. de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, ³Instituto Nacional de

Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Departamento de Investigación Experimental y Bioterrio

Introducción: La prolactina (PRL) es una hormona polipeptídica que actúa como citocina en el sistema inmune debido a que activa la ruta de señalización JAK-STAT a través de su receptor (PRL-R). Esta vía de señalización se encuentra implicada en mecanismos de diferenciación, activación y maduración celular; es por ello que en diversos trabajos se ha demostrado el papel inmunomodulador de la PRL. En modelos murinos y ensayos clínicos, la PRL se ha relacionado con lupus eritematoso sistémico (LES); además, se han reportado concentraciones séricas elevadas de PRL en pacientes con LES, las cuales correlacionan con la actividad de la enfermedad. En estudios realizados en modelos murinos que desarrollan una enfermedad similar a lupus (cepa MRL/lpr) se ha demostrado que la PRL puede exacerbar las características de la enfermedad. **Material y métodos:** Utilizando la técnica de microarreglos, se realizó un análisis de expresión de genes en célula B proveniente de ratones C57BL/6 y MRL/pr en diferentes condiciones: a) medio, b) PRL, c) Anti-CD40 y d) Anti-CD40 más PRL. **Resultados y conclusiones:** Encontramos que la PRL interviene en reprimir más genes en las células B activadas (CD40) y no activadas aisladas de la cepa C57BL/6 (B+CD40 384/556: B 359/483 genes); por otro lado, en la cepa MRL/lpr induce más genes en las células B, pero cuando la célula B se encuentra activada, la PRL reprime más genes (B+CD40 241/414: B 609/292 genes). Nuestros resultados demuestran el perfil de expresión que modula la PRL en las células B, además de los posibles blancos moleculares, los cuales nos darán una visión más amplia para poder conocer el papel que juega la prolactina en el sistema inmune.

235 La activación de TLR4, CD14 y TLR2 por la LDL-mm induce la síntesis de citocinas proinflamatorias en monocitos

Espinosa-Luna E, Chávez-Sánchez L, Madrid-Miller A,² Chávez-Rueda K,¹ Legorreta-Haquet V,¹ Montoya-Díaz E,¹ Blanco-Favela F*¹

¹UIM en Inmunología, Hospital de Pediatría, CMN SXXI, IMSS, ²Jefatura de Investigación en Salud, Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI

Introducción: La aterosclerosis es considerada una enfermedad inflamatoria crónica. Diversos estudios han demostrado que la lipoproteína de baja densidad (LDL) oxidada contribuye en el desarrollo de la enfermedad aterosclerosa, causando una respuesta inflamatoria; esta respuesta se caracteriza por la presencia de monocitos/macrófagos, los cuales expresan receptores claves en inflamación como: receptores tipo-Toll (TLR) y CD14 entre otros. Reciente-

mente se ha demostrado la participación de TLR2 y TLR4 en el desarrollo de la aterosclerosis y existe la posibilidad de que participen en el fenómeno inflamatorio. **Objetivo:** Demostrar que los receptores CD14, TLR4 y TLR2 inducen la secreción de citocinas proinflamatorias al estímulo de la LDL mínimamente modificada (LDLmm). **Material y métodos:** Monocitos humanos fueron tratados con anticuerpos anti-CD14, anti-TLR4 o anti-TLR2 y después fueron estimulados con LDLmm. Como testigos positivos, las células fueron estimuladas con LPS y Pam3CSK4. Los niveles de IL-1 β e IL-6 fueron cuantificados por "cytometric bead array". **Resultados y conclusiones:** Nuestro estudio demuestra que el bloqueo de CD14 induce una inhibición en la secreción de IL-1 β del 72%, para IL-6 del 58%. Al bloquear el TLR4 demostramos una reducción en la síntesis de IL-1 β del 67% e IL-6 del 63% y el bloqueo de ambos receptores inhibió la producción de IL-1 β del 73% e IL-6 del 69%. El bloqueo de TLR2 provocó una inhibición de IL-1 β del 65% e IL-6 del 62% en monocitos humanos. Nuestro estudio demuestra que los receptores CD14, TLR4 y TLR2 participan en la respuesta a LDLmm, induciendo la producción de citocinas proinflamatorias en monocitos.

237 Frecuencia de infección de vías urinarias en niños con antecedente de cirugía del tracto urinario: microorganismos aislados y resistencia antimicrobiana

Romero L, Miranda-Novales MG

Pediatra Infectóloga y Unidad de Investigación en Epidemiología Hospitalaria. UMAE HP CMN SXXI, IMSS

Introducción: A nivel mundial, la resistencia antimicrobiana en uropatógenos es un problema creciente, que dificulta la elección del antimicrobiano. La vigilancia de las infecciones urinarias que se presentan en los pacientes con cirugía del tracto urinario es necesaria para proponer esquemas profilácticos y terapéuticos óptimos para el tratamiento de estos pacientes. **Objetivos:** Registrar la frecuencia de infecciones urinarias posterior a la cirugía del tracto urinario, a los antimicrobianos utilizados en la profilaxis quirúrgica, en pacientes con urocultivo positivo, identificar los microorganismos aislados y el perfil de resistencia antimicrobiana, en pacientes del Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI. **Material y métodos:** Se realizó un estudio prospectivo, observacional y descriptivo. De marzo a junio 2011, se estudiaron a 60 pacientes de cero a 16 años intervenidos de cirugía del tracto urinario. Se investigó la profilaxis antimicrobiana previa a la cirugía, el tipo de profilaxis quirúrgica administrada, se realizó seguimiento telefónico a los pacientes por un mes y en caso de presencia de catéter urinario por tres meses. Para el análisis de los datos se utilizó estadística descriptiva. **Resultados y conclusiones:** Hombres: 67%, mujeres: 33%. Predominó

el grupo de preescolares en 47%. La alteración del tracto urinario más frecuente fue hipospadias en 40%. El 27% tuvo profilaxis previa a la cirugía con: TMP/SMZ (38%), nitrofurantoína (31%), amoxicilina/ácido clavulánico (25%), y ciprofloxacino (6%). El 58% de las cirugías se clasificaron como limpias-contaminadas y el 42% como limpias. La cirugía más frecuente fue plastia de hipospadias en 30%. A 84% de pacientes se les administró profilaxis quirúrgica, la mayoría con una prescripción inadecuada; se utilizó cefalotina con mayor frecuencia (84.3%). Hubo 17 infecciones de vías urinarias (27.8%) posterior a la cirugía; de éstas, 10 pacientes tenían catéter JJ (59%). *E. coli* se aisló más frecuentemente y la mayor resistencia observada fue a TMP/SMZ. El uso adecuado de profilaxis quirúrgica se llevó a cabo en ocho pacientes (15.7%). La frecuencia de infección urinaria es similar a lo descrito en la literatura, con mayor presentación en los pacientes con catéter JJ. El número de infecciones y aislamientos no permitió establecer recomendaciones para el uso de esquemas antimicrobianos específicos en la profilaxis quirúrgica urológica.

238 Factores de riesgo asociados a infección nosocomial en una Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales de tercer nivel

García Heladia, Cruz-Castañeda Marco A

Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Objetivos: Identificar los factores de riesgo asociados a la infección nosocomial (IN) en recién nacidos en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI. **Diseño:** Casos y controles, retrospectivo. **Pacientes:** Se estudiaron 380 pacientes, 188 casos (con IN) y 192 controles (sin IN). **Material y métodos:** Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes que ingresaron a la UCIN durante el periodo 2009-2010. Se registraron las siguientes variables: edad gestacional, sexo, peso al nacer, edad al ingreso, diagnóstico de ingreso, uso de catéter venoso central (CVC), duración del CVC, desarrollo de infección nosocomial, microorganismo aislado, estancia hospitalaria, malformaciones congénitas, intervención quirúrgica, uso de nutrición parenteral, ayuno, uso de esteroide y bloqueadores H₂, sonda orogástrica, sonda torácica, cateterización vesical y hemorragia intraventricular. **Resultados y conclusiones:** Predominó el sexo masculino, la mediana del peso al nacer fue 2,007 g en los casos y de 1,775 g en los controles. El diagnóstico de ingreso más frecuente fue cardiopatía congénita. Se registraron 247 eventos de IN. El microorganismo más frecuentemente aislado en hemocultivos fue *Staphylococcus*, coagulasa negativa (37.2%). Se identificaron cuatro factores de riesgo independientes asociados a IN: catéter venoso central

(RM 8.4, IC 95% 2.7-26.6), nutrición parenteral (RM 3.2, IC 95% 1.6-6.4), administración de antiácidos (RM 2.8, IC 95% 1.5-50) y uso de esteroide postnatal (RM 2.3, IC 95% 1.2-4.0). La mortalidad general fue de 23.9% y la de los pacientes que cursaron con infección de 35.5%. Los factores de riesgo asociados a infección nosocomial encontrados en este estudio son similares a algunos que se han reportado en la literatura. La mortalidad en los niños que desarrollaron IN fue superior a la reportada en otros estudios nacionales e internacionales.

239 Análisis fenotípico y funcional de las células B en pacientes con inmunodeficiencias común variable

Berrón-Ruiz Laura,^{1,2} López-Herrera Gabriela,² Vargas-Hernández Alexander,¹ Santoyo- Sánchez Gerardo,¹ Alcántara-Montiel Julio,¹ Blancas-Galicia Lizbeth,² Mogica-Martínez Dolores,³ Espinosa-Padilla Sara,² Santos-Argumedo Leopoldo,¹ Espinosa-Rosales Francisco²

¹Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, IPN, ²Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias, Instituto Nacional de Pediatría SSA, ³Servicio de Alergia e Inmunología Clínica, Centro Médico Nacional "La Raza", IMSS

Introducción: La inmunodeficiencia común variable (CVID) es una deficiencia humoral que se caracteriza por una reducción de la concentración de anticuerpos y un número bajo o normal de células B. Se estudiaron 13 paciente diagnosticados con CVID. Se examinó el estado de maduración de las células B en pacientes mediante un análisis de expresión de células B IgD/CD27; y analizamos la diferenciación de células plasmáticas en un ensayo *in vitro*. **Material y métodos:** Se determinó número absoluto de células T, B y NK, se analizó la expresión del marcador CD27 para definir subclases de células B. Se evaluaron moléculas importantes para la proliferación y diferenciación de las células B como: TACI, ICOS, CD154, CD20, ICOS ligando y BAFF receptor; todo por citometría de flujo. Se realizaron ensayos de diferenciación de células B en células mononucleares (PMBCs) en cultivos con CpG solo o SAC Cowan, pokweed (PKW) y CpG. El análisis de la formación de plasmoblastos fue determinado siete días después. **Resultados y conclusiones:** Se observó un número reducido de células T y B en los pacientes, esta reducción era más prominente en adultos que en niños. Un grupo de ocho pacientes mostró reducción en células B de memoria IgD+ CD27+, mientras que tres pacientes tuvieron un porcentaje similar que el grupo control. En las células B IgD- CD27+ la expresión fue baja en 10 pacientes. La expresión de BAFFR receptor fue baja en tres pacientes. Por último, la diferenciación a plasmoblastos fue reducida en los

cultivos con CpG de los pacientes con una producción de 18.5% (DS = 12.5%), mientras que en los controles fue de 24% (DS = 8.3%). Los resultados sugieren un defecto combinado de células T y B en los pacientes con CVID. El análisis completo de marcadores importantes para la proliferación y diferenciación de las células B puede ser una herramienta útil para la comprensión de esta enfermedad orientando el diagnóstico.

240 Expresión de ciclofilina de *E. histolytica* en el desarrollo del absceso hepático amibiano en hámsters

Jiménez-Cardoso Enedina, Crisóstomo-Vázquez María del Pilar, Maravelez-Acosta Víctor Alberto, Aceves-Crespo Moisés, Sánchez-de-la-Luz René.

Laboratorio de Investigación en Parasitología. Hospital Infantil de México Federico Gómez. México, D.F.

Introducción: *E. histolytica* infecta alrededor de 500 millones de personas anualmente. El 1% desarrollan absceso hepático amibiano (AHA). Se ha demostrado que *E. histolytica* requiere de (linfocitos T, macrófagos y neutrófilos) para desarrollar daño hepático y esta acción quimioatrayente es llevada a cabo por la ciclofilina producida por el parásito que contiene la función de citosina. **Material y métodos:** Se formaron 12 grupos de dos hámsters cada uno. A los grupos controles (+) del uno al cuatro se inoculó por vía IH trofozoítos de *E. histolytica* HM-1: IMSS, trofozoítos de JK-MEX, medio BR respectivamente y al grupo cuatro nada. En los ocho grupos restantes se inoculó vía IH 3×10^5 trofozoítos de *E. histolytica* de pacientes; se les administró 8 mg/0.2 mL de gentamicina vía ID, cinco días postinoculación por laparotomía, se extrajo el absceso hepático y se recuperaron nuevamente los trofozoítos en medio de Robinson para determinar la expresión de ciclofilina; paralelamente se extrajo el bazo para evaluar la expresión de las citosinas IL-4, TNF- α , IFN- γ ; se extrajo RNA, se sintetizó el cDNA, se amplificó con iniciadores específicos para las citosinas y ciclofilina por medio de una RT-PCR. **Resultados y conclusiones:** Se amplificó una banda de 500 pb en los trofozoítos recién desengañados en el medio de Robinson y con los trofozoítos que desarrollaron el AHA. Se detectó expresión basal de citosinas IL-4, INF- γ y TNF- α en el bazo de hámster inoculados con las cepas control. La ciclofilina presentó una similitud con la expresión de citosinas proinflamatorias (INF- γ y TNF- α ,) en las muestras de *E. histolytica* de pacientes. La ciclofilina de *E. histolytica* se expresó en el absceso hepático amibiano, por lo que sugerimos que puede ser un factor de patogenicidad, potenciando la llegada de células inmunes (linfocitos T CD4+, macrófagos y neutrófilos) y con esto aumentar el daño en el tejido hepático.

241 Neutropenia fisiológica del recién nacido y lactante en los primeros dos meses de edad

Baptista-González Héctor Alfredo, Trueba-Gómez Rocío, Coeto-Barona Georgina, Rosenfeld-Mann Fany, Zamorano-Jiménez Clara Aurora, Bouchán-Valencia Patricia *Hematología Perinatal. Subdirección de Investigación Clínica. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes*

Introducción: El recuento leucocitario diferencial en neonatos a término (RNT) difiere significativamente de lactantes y adultos. Los RNT presentan cifras elevadas de neutrófilos totales (NT) al nacimiento y disminuyen hacia las 72 horas de vida, para aumentar gradualmente y estabilizarse hasta el día veintiocho de vida. El objetivo es describir la incidencia de neutropenia en las primeras ocho semanas de vida en RNT de bajo riesgo perinatal. **Material y métodos:** Mediante un estudio observacional, prospectivo, longitudinal, de casos consecutivos en el último trimestre del 2010, se incluyeron a RNT con bajo riesgo perinatal, sanos. En sangre periférica, recolectada al nacimiento, cuatro y ocho semanas de vida, fueron procesadas en un citómetro mediante el principio de impedancia en triple lectura automatizada. Se definió neutropenia leve con $NT\ 1,000-1,500\ x\ mm^3$, moderada $500-999\ x\ mm^3$ y severa $< 500\ x\ mm^3$. **Resultados y conclusiones:** Se incluyeron 110 RNT. Los NT mostraron valores de $7,818\ x\ mm^3$ (6,102-10,302) al nacimiento y de 2,112 (1,516-2,814) y de 1,944 (1,328-2,346) al primero y segundo mes, respectivamente. La proporción de neutropenia severa al nacimiento fue de 0, 1.8 y 0.9% a las edades referidas. Neutropenia moderada fue 0.9, 4.5 y 12.7%; de neutropenia leve fue 0, 17.3 y 20.9% al nacimiento, primero y segundo mes, respectivamente. La neutropenia es un evento fisiológico que afecta al 0.9% de los RNT sanos de bajo riesgo perinatal e incrementa con las semanas de vida postnatales; la neutropenia fisiológica se incrementó a 23.6% en el primer mes y 34.5% en el segundo mes de edad. Estos resultados orientan a redefinir la interpretación de la neutropenia en la evaluación del recién nacido y del lactante sano.

242 Eficacia y seguridad del ácido zoledrónico en pacientes pediátricos con hemofilia y disminución de la densidad mineral ósea

Tlacuilo-Parra José Alberto, Fernández-Ceseña María Mérida, López-Barrera Jesús Pavel, Garibaldi-Covarrubias Roberto, Soto-Padilla Janet *Departamento de Hematología Pediátrica y Dirección de Educación e Investigación, UMAE Hospital de Pediatría CMNO, IMSS, Guadalajara, México*

Introducción: Los pacientes con hemofilia presentan menor densidad mineral ósea (DMO) en relación a los

controles sanos. Los bifosfonatos se han empleado recientemente para tratar enfermedades óseas pediátricas.

Objetivo: Determinar la eficacia y seguridad del ácido zoledrónico para mejorar la masa ósea en pacientes pediátricos con hemofilia y disminución de la densidad mineral ósea a nivel lumbar. **Material y métodos:** Ensayo clínico abierto fase II. Pacientes con hemofilia y DMO a nivel lumbar con puntaje-Z menor a -2 desviación estándar (DE) por debajo de la media; para la edad fueron tratados con ácido zoledrónico, definimos eficacia como el cambio en la DMO lumbar (LSBMD) a los seis meses mediante absorciometría dual de rayos X (DXA); la seguridad se evaluó mediante el registro de eventos adversos. **Resultados y conclusiones:** Se incluyeron seis pacientes con reemplazo de factor VIII a demanda, la mediana de la edad fue de 12 años, el puntaje-Z basal fue de -2.6 DE comparado con el valor del puntaje-Z a los 6 meses de -0.95 ($p = 0.027$). Esta diferencia estadísticamente significativa persistió hasta los 12 meses de seguimiento. El tratamiento fue bien tolerado, las reacciones adversas consistieron con síntomas gripales y prurito que se resolvieron sin tratamiento alguno. Nuestros resultados sugieren que el ácido zoledrónico parece ser una opción efectiva y segura para normalizar en seis meses la DMO lumbar en los niños con hemofilia; sin embargo, éste fue un estudio abierto no controlado, y se requieren estudios doble ciego, controlados con placebo para confirmar los resultados.

243 Evolución clínica de los recién nacidos con deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD)

Baptista-González Héctor Alfredo,¹ Granados-Cepeda Martha Lucía,² Trueba-Gómez Rocío,¹ Coeto-Barona Georgina,¹ Rosenfeld-Mann Fany,¹ Zamorano-Jiménez Clara Aurora,¹ Rosa-Mireles Luisa Blanca,² Meléndez-Ramírez Rocío,² Bouchán-Valencia Patricia¹

¹Hematología Perinatal. Subdirección de Investigación Clínica, ²Coordinación de Tamiz Neonatal. Subdirección de Neonatología. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

Introducción: La deficiencia de la G6PD es una enzimopatía ligada al cromosoma X, completamente expresada en recién nacidos (RN) masculinos homocigotos y femeninos homocigotos, y una proporción pequeña de femeninos heterocigotos manifiestan la enfermedad; la asociación de esta deficiencia con ictericia e hiperbilirrubinemia neonatal (HBN) depende de factores como: tipo de mutación y el nivel de actividad enzimática a nivel hepático y eritrocitario. Factores exógenos como la edad gestacional y otros incrementan la severidad de la ictericia e HBN como el tipo de alimentación (lactancia materna exclusiva), procesos infecciosos (onfalitis, sepsis). El objetivo es describir la evolución clínica de los RN con

deficiencia de G6PD. **Material y métodos:** Mediante un estudio observacional, prospectivo, retro y prolectivo se concentró la información clínica relevante de los RN con deficiencia de G6PD detectados por tamiz neonatal y confirmados por el método molecular de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR tiempo real). **Resultados y conclusiones:** Se incluyeron 25 RN con deficiencia de G6PD; 23 RN masculino y dos RN femeninos. La media de edad gestacional en semanas 37.5 ± 2.6 (29-40.6). Peso al nacimiento en gramos $2,889 \pm 759$ (800-4,105). Apgar primer minuto 8 (3-9) y minuto cinco, 9 (6-10). Edad materna en años 28 ± 7 (17-39) y promedio de estancia hospitalaria en días 10 ± 23 (1-118). Trece (52%) permanecieron en alojamiento conjunto; en Unidades de Cuidados Intermedios I y III: 24 y 20% respectivamente, un RN en Unidad de Cuidados Intensivos por prematuridad de 29 SDG. Presentaron ictericia el 60% (15/25), nueve (36%) recibieron fototerapia, duración en días 1 (1-6). Bilirrubinas séricas mg/dL 11.3 ± 3.8 (5.6-17.8). Alimentados con leche humana exclusiva 24% (5/25). Deficiencia de G6PD es la causa hereditaria más frecuente de HBN y su asociación con otros factores incrementa la severidad de HBN aún pendientes de analizar en nuestro medio.

244 Identificación de las variantes moleculares de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD) en recién nacidos detectados en el tamiz neonatal

Baptista-González Héctor Alfredo,¹ Granados-Cepeda Martha Lucía,² Trueba-Gómez Rocío,¹ Coeto-Barona Georgina,¹ Rosenfeld-Mann Fany,¹ Zamorano-Jiménez Clara Aurora,¹ Rosa-Mireles Luisa Blanca,² Meléndez-Ramírez Rocío,² Bouchán Valencia Patricia¹

¹Hematología Perinatal. Subdirección de Investigación Clínica, ²Coordinación de Tamiz Neonatal. Subdirección de Neonatología. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

Introducción: Las enfermedades candidatas a ser incluidas en el diagnóstico temprano del tamiz neonatal (TN) deben variar de acuerdo a la población blanco donde será aplicada, por lo que se requiere la validación de cada prueba en el contexto clínico. La deficiencia de G6PD, pertenece al grupo de anemias hemolíticas congénitas. Es una enfermedad cuyo mecanismo de herencia está ligado al cromosoma X y es el error innato del metabolismo más frecuente. Tiene una amplia variabilidad en su expresión clínica, desde asintomática hasta aquéllos con anemia hemolítica e hiperbilirrubinemia neonatal severa. La prevalencia de la deficiencia de G6PD en México varía del 0.39-4.09%. **Material y métodos:** A partir de febrero del 2008 se realiza la detección semicuantitativa de G6PD mediante un método colorimétrico en sangre contenida en una matriz seca (neonatal G6PD Assay.

Bio-Rad Laboratories); el punto de corte se estableció con valores menores de 2.6 U/g de hemoglobina (Hb). Los recién nacidos (RN) fueron citados para el estudio confirmatorio molecular. Se obtuvo DNA a partir de las células de descamación oral. Se incluyeron a los cuatro polimorfismos de la G6PD, dos de origen africano (G202A y A376G) y dos de origen europeo (C563T y T968C), por consenso de expertos; se empleó la metodología de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR tiempo real) para la identificación de los polimorfismos. **Resultados y conclusiones:** Se tamizaron 13,748 RN de los cuales, 25 RN se detectaron concentraciones bajas de G6PD con rango de 0.5 a 2.2 U/g de Hb; por género, 23 casos masculinos (tasa de 154.7 x 100,000 RN vivos) y dos casos femeninos (tasa de 10.3 x 100,000 RN vivos). La combinación alélica más frecuente fue G202A/A376G en doce casos, proporción 0.600, seguida A376G/T968C en tres casos con proporción de 0.150 y cinco casos con G202A proporción 0.250, y finalmente sin identificación molecular en cinco casos, proporción 0.200. La detección de RN con deficiencia de G6PD con la prueba colorimétrica y confirmada por el método molecular de PCR tiempo real, permite identificar cerca del 80% de los RN, cifras comparables en la literatura. Está pendiente definir la inclusión de la detección de la G6PD en el TN a nivel nacional.

245 Incidencia de errores innatos del metabolismo en los recién nacidos del Instituto Nacional de Perinatología (INPer) detectados mediante el tamiz neonatal semi-ampliado

Granados-Cepeda ML, Valencia-Contreras C, Ramírez-Torres MA, Baptista-González H, Arreola-Ramírez G, Mireles LBR, Meléndez-Ramírez MR

Comité del Tamiz Neonatal, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Secretaría de Salud

Introducción: Los errores innatos del metabolismo (EIM) ocasionan desequilibrio en los humanos; muchos son detectados mediante tamiz neonatal (TN). **Objetivo:** Conocer incidencias de EIM en población de recién nacidos (RN) del INPer, mediante TN semi-ampliado (TNSA). **Material y métodos:** Desde enero 2009 a diciembre 2010, se efectuó TNSA en 8,611 RN, entre 48 horas y siete días de vida por punción del talón; se realizaron pruebas confirmatorias de presuntos-positivos (PP), hipotiroidismo congénito (HC), hiperplasia suprarrenal congénita (HSC), fenilcetonuria (PKU), galactosemia (GAL), deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (DG6PD) y fibrosis quística (FQ). **Resultados y conclusiones:** Se detectaron 207 casos, 125 tamiz alterado HC (TSH $\geq 5-9.9 \mu\text{UI/mL}$), 41 confirmados, incidencia de 1:210; 82 falsos-positivos (FP), en dos pacientes no

se realizó prueba confirmatoria. Se reportaron 25 PP para HSC, diagnóstico descartado. Diecisiete probable de PKU, se confirma un caso, 14 descartados, en dos no se realizó por defunción. Ninguno PP de GAL; 18 tamiz PP para DG6PD, 15 diagnóstico confirmado, incidencia de 1:574. En 21/22 RN PP de FQ se descartó diagnóstico; en uno no se efectuó por defunción. La incidencia de HC es mayor que la del país (1:1,900 RNV), debido al reajuste del corte de TSH que diagnostica RN con hipertirotopinemia permanente. Observamos proporción alta de FP de HC por incremento en población con hipertirotopinemia transitoria. De 18 pacientes PP para DG6PD, 15 fueron confirmados; se sugieren recomendaciones en México. Los pacientes con fenilcetonuria justifican incluir patología en TN, incidencia 1:8,611. Este estudio impulsa incluir en la población general TNSA y sugiere un reajuste del corte para HC.

246 Tamiz neonatal por frotis sanguíneo en pacientes con sospecha clínica o antecedentes heredofamiliares de enfermedades lisosomales

López-Valdez Jaime Asaelm,^{1,2} Grether-González Patricia,¹ Carrillo-Farga Joaquin,³ Aguinaga-Ríos Mónica¹
¹Departamento de Genética, Instituto Nacional de Perinatología, ²Hospital Centenario Miguel Hidalgo, ³Instituto de Hematopatología, Facultad de Medicina, UNAM

Introducción: Las enfermedades lisosomales son un subgrupo de errores innatos del metabolismo que presen-

tan heterogeneidad clínica. Existe tratamiento específico para algunas, por lo que es importante su diagnóstico temprano para evitar complicaciones irreversibles. El frotis sanguíneo permite de manera rápida y económica la identificación de algunas enfermedades lisosomales.

Objetivo: Identificar enfermedades lisosomales mediante frotis de sangre periférica en pacientes perinatales con datos sugerentes de estas patologías. **Material y métodos:** Se realizó un estudio descriptivo, transversal, prospectivo, observacional de fetos, neonatos, óbitos y lactantes de marzo-octubre de 2010 con datos sugerentes de enfermedad lisosomal mediante el análisis de gránulos anormales en leucocitos de frotis de sangre periférica. En todos los casos se realizó estudio enzimático específico como medio de confirmación y revisión de serie roja y blanca del frotis.

Resultados y conclusiones: Se recabaron 18 pacientes de tres hospitales de la Ciudad de México, dos se excluyeron porque no se realizó estudio enzimático confirmatorio, uno se eliminó porque se degradó la muestra. Ninguno de los 16 pacientes incluidos presentó gránulos anormales o alteraciones enzimáticas. La revisión del frotis detectó en cinco casos (27.7%): leucemia congénita monocítica macrofágica, esferocitosis hereditaria, deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, cardiopatía congénita descompensada y datos de proceso infeccioso viral. Este es el primer estudio en México para el tamiz de enfermedades lisosomales. El frotis sanguíneo es un estudio rápido y económico que permite la identificación de varias enfermedades en el periodo perinatal. Se requieren estudios adicionales para validar esta prueba como método de tamiz neonatal en este tipo de enfermedades.