

Gammapatía oligoclonal en niños con infección por VIH

Palabras clave: VIH en niños, electroforesis.

Key words: HIV seropositivity in children, electrophoresis, cellulose acetate.

Recibido: 08/11/99
Aceptado: 25/11/99

Isabel V Desimone,* Mónica N Lencina,** Raquel Osatinsky,****
Antonio L Quian***

* Unidad de Inmunoserología, Servicio de Laboratorio.
** Consultorio de Infectología Pediátrica, Servicio de Pediatría.
*** Sección SIDA, Servicio de Patología, Hospital "Evita" de Lanús
**** Centro de Estudios de Proteínas Dra. Osatinsky

Correspondencia:
Desimone Isabel V
Río de Janeiro 1910 (1854) Lanús. Buenos Aires, Argentina.

Resumen

Es estudiado el componente oligoclonal en soporte de acetato de celulosa en sueros de niños nacidos de madres con serología VIH+, observando su constante aparición en tales sueros. Con el fin de caracterizar la patente con mayor precisión y describir las características del componente oligoclonal en la utilización de los diferentes métodos se evalúa una muestra de estos mismos sueros en soportes de agarosa, agarosa de alta resolución e inmunofijación en agarosa. Se evaluaron proteinogramas de 12 sueros correspondientes a niños nacidos de madres VIH+, (uno con negativización serológica y 11 con infección por VIH). Se observa la patente en diferentes soportes. De los resultados obtenidos se concluye que la patente de oligoclonalidad es diferente a las de mono y policlonalidad cualquiera que sea la técnica y el soporte empleados. Por inmunofijación se confirma que la patente de oligoclonalidad depende de la activación de más de un clon de células inmunocompetentes, si bien no se expresa como banda policlonal. Todos los sueros VIH+ presentan carácter oligoclonal pero las patentes difieren entre los distintos sueros en condensación, cantidad de bandas y amplitud de las mismas.

Introducción

En la actualidad puede reconocerse en el proteinograma una patente de oligoclonalidad, debida a la producción aumentada de inmunoglobulinas por más de uno y menos de ocho clones de células inmunocompetentes, o a la presencia

Summary

The oligoclonal component in cellulose acetate in serum of children whose mothers had serology HIV+, observing its constant appearance in such serums, is studied here. In order to characterize the patent more precisely and to describe the characteristics of the oligoclonal component in the usage of the different methods, a sample of these serums is studied in agarose supports, in high resolution agarose and in immunofixed substances in agarose. Proteingrams of 12 serums corresponding to children born of HIV+ mothers were evaluated (one, with serologic negativization and 11, with HIV infection). The patent is observed in different supports. From the obtained results, we conclude that the patent of oligoclonity is different from the ones of mono and policlony, whatever it is the technique and support used. By immunofixed substances we can confirm that the patent of oligoclonity depends on the activation of more than one clone of immunocompetent cells, if it is not expressed as a policlonal band. All the HIV+ serums have an oligoclonal character, but the patents differ among the different serums in condensation, amount of bands, and amplitude of them.

de inmunocomplejos circulantes. Hemos definido *patente proteica de oligoclonalidad en soporte de acetato de celulosa*, una banda de condensación homogénea en la zona gamma del proteinograma, diferente en amplitud y condensación de la patente de monoclonalidad.

Esta patente de oligoclonalidad es observable en sueros de pacientes que cursan patologías de causa infecciosa, incluida la infección por VIH.

La oligoclonalidad fue caracterizada al estudiar líquido cefalorraquídeo en enfermedades desmielinizantes. Con la aparición del isoelectroenfoque y coloraciones de plata sin concentración, dicha patente permitió diagnosticar con más facilidad los pacientes con esas patologías. Estos hallazgos llevaron a buscar su aparición en suero lo que llevó a Kelly, Hardy y Schaa en 1985 a evaluar su casuística con agarosa de alta resolución comprobando la presencia de complejos inmunocirculantes.

Cabe aclarar que la denominación de patente proteica de oligoclonalidad se refiere a la presencia de la banda descrita en el proteinograma electroforético, independientemente del estado funcional del sistema B. En la práctica clínica esta patente proteica de oligoclonalidad es definida y diferente de la mono y de la policlonal, su aparición tiene implicaciones diagnósticas y pronósticas en diversas patologías. En nuestro laboratorio se informa rutinariamente su observación en los proteinogramas realizados en acetato de celulosa, habiendo sido observada la constante presencia de esta característica del proteinograma en los niños hijos de madre VIH positiva que no seroconvirtieron, y la ausencia de dicha patente en la mayoría de los niños que negativizaron su serología, lo que nos indujo al estudio de evaluación del proteinograma como método de valor pronóstico, obteniendo resultados altamente predictivos.

Con el fin de definir el perfil de la patente de oligoclonalidad en niños nacidos de madres infectadas por VIH se evalúan muestras de sueros tomados al azar en soportes de agarosa, agarosa de alta resolución e inmunofijación en agarosa y se comparan los resultados obtenidos con sueros de características poli y monoclonal.

Material y métodos

De 764 historias clínicas, emitidas entre enero de 1989 y marzo de 1998 por el consultorio de

Infectología Pediátrica del Hospital Evita, pertenecientes a niños nacidos de madres con serología positiva, —para el estudio de la patente de oligoclonalidad en el proteinograma en soportes de agarosa, en agarosa de alta resolución e inmunofijación en agarosa— se eligieron en forma aleatoria 12 muestras de suero de niños que cumplen con los siguientes criterios de inclusión:

- Hijo de madre con serología positiva para HIV por ELISA y Western Blot.
- Niño sin patología infecciosa asociada al momento de la obtención de la muestra de sangre.
- Todos los estudios realizados de la misma muestra de sangre y evaluados por el mismo operador.

Criterios de exclusión: No se admitieron en el estudio los sueros provenientes de:

- Hijos de madre con ELISA positivo y Western Blot negativo o indeterminado.
- Niños con patología infecciosa al momento de la toma de la muestra.
- Niños con inmunoglobulinopatía no relacionada con la infección HIV

Correspondieron 11 a sueros positivos para HIV, y uno, negativo. En todos los casos la sangre se obtuvo por venopunción, procesándose dentro de las seis horas posteriores a la extracción.

Los estudios en diferentes soportes dieron los siguientes resultados:

Para el proteinograma electroforético se sembró con sembrador calibrado en soporte de acetato de celulosa con buffer de veronal sódico al 8.24% y pH de 8.6. Se dejó correr durante 20 minutos con corriente de 220V y 5mA por banda ancha. Se coloreó con rojo Ponsau 10 minutos. Se decoloró con ácido acético al 5%. Se observó en fresco para evaluar la presencia de banda de oligoclonalidad. Se transparentó en metanol, ácido acético y agua y se reobservó. La presencia de componente de oligoclonalidad se define por la observación de una banda de condensación homogénea en la zona gamma.

Para el proteinograma electroforético en gel de agarosa se usó el equipo de Sebia (Hydragel Proteine). Se sembraron 5 mL de suero diluido 1/5, en soporte de agarosa, con buffer tris-barbital-barbital sódico-azida. Se dejó correr durante 30 minutos a 120 voltios. Se colocó 15 minutos en solución de fijación. Se secó con corriente de aire caliente. Se coloreó con una solución de amidoschwarz, ácido acético y agua destilada, durante cinco minutos. Se decoloró en solución de etanol, ácido acético y agua destilada.

Para el proteinograma electroforético en gel de agarosa de alta resolución se usó el equipo de Helena (Titan Gel HR). Se sembraron 5 mL de suero diluido, en soporte de agarosa, con buffer barbital-barbital sódico y pH de 8, 4-8, 8. Se dejó correr durante 25 minutos a 80 voltios. Se colocó 15 minutos en solución de fijación. Se secó con corriente de aire caliente. Se coloreó con una solución de amidoschwarz, durante cinco minutos. Se decoloró en solución de etanol, ácido acético y agua destilada.

Para la inmunofijación en gel de agarosa se usó equipo de Sebia (Hydragel Double IF). Se sembraron 5 mL de la dilución adecuada para cada

antisuero, en soporte de agarosa, con buffer tris-barbital. Se corrió durante 30 minutos a 80 voltios. Se colocaron los antisueros correspondientes (solución fijadora-anti IgG-anti IgA-Anti IgM-Anti k-Anti l), se dejó incubar cinco minutos. Se secó, lavó, coloreó, durante 10 minutos, en solución de violeta ácido, y se decoloró en la solución decolorante.

Para la evaluación de la inmunofijación se consideró: *patente de monoclonalidad*, *patente de policlonalidad* y *patente de oligoclonalidad*: intensa, moderada o débil.

Con el fin de evitar distorsiones de subjetividad en la observación, la totalidad de los estudios de dosaje y de los proteinogramas fueron evaluados por el mismo observador, según lo recomendado por la Sociedad Internacional de Electroforesis.

Resultados

En los once sueros de pacientes con infección por VIH (100%), se observó la presencia del componente de oligoclonalidad; en el suero restante, no infectado con VIH, la patente proteica en la zona gamma fue la de policlonalidad.

Cuadro I. Resultados obtenidos de proteinogramas electroforéticos e inmunofijación en 11 sueros procedentes de niños seropositivos a VIH y uno negativo

Núm.	VIH	Acetato	Agarosa	HR	IgG	Inmunofijación			
						IgA	IgM	k	l
1	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I	Poli	Poli	D	D
2	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	M	Poli	Poli	M	Poli
3	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I	D	Poli	I	I
4	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I-D	Poli	Poli	I-D	D-I
5	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	D-I	Poli	D	D-I	D-I
6	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I	Poli	Poli	I	M
7	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I	D	Poli	I	I
8	Pos	Oligo	Oligo + 2	Oligo + 4	D-I-D	D	D	D-D-I	D-D-M-D
9	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I	Poli	Poli	I	I
10	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I	Poli	Poli	I	M
11	Neg	Poli	Poli	Poli	D	Poli	Poli	D	D
12	Pos	Oligo	Oligo	Oligo	I	M	Poli	I-M	M

Pos = Suero positivo por ELISA y Western Blot; Neg = Suero negativo por ELISA; Oligo = Oligoclonal; Poli = Policlonal; Oligo + N = Oligoclonal + cantidad de bandas; I = Intensa; M = Moderada; D= Débil.

La inmunofijación se observó en todos los sueros patrones diferentes con los distintos antisue-
ros, no obstante es más evidente la patente de oli-
goclonalidad en los sueros infectados con VIH que
en el no infectado. En todos los casos estudiados
la patente proteica de oligoclonalidad se corres-
pondió con la activación simultánea de más de un
clon (*Cuadro I*).

Conclusiones

De los resultados obtenidos se puede concluir que
la patente de oligoclonalidad es diferente a las de
mono y policlonalidad cualquiera que sea la téc-
nica y el soporte empleados. Por inmunofijación
se confirma que la patente de oligoclonalidad de-
pende de la activación de más de un clon de célu-
las inmunocompetentes, pero no se expresa
como banda policlonal. Si bien todos los sueros
VIH+ presentan carácter oligoclonal, las paten-
tes difieren, entre los distintos sueros, en con-
densación, cantidad de bandas y amplitud de las
mismas.

Bibliografía

- Abbas A, Lichtman A, Pober J. *Cellular and molecular immunology*: 2ª Ed.; W.B. Saunders Company 1994.
- Aguzzi F, Jayakar AD, Merlini G, Petrini C. Electrophoresis: cellulose acetate vs agarose gel visual inspection vs densitometry. *Clin Chem* 1981; 27: 1944-1945.
- Desimone I, Quián A, Lencina M. Oligoclonalidad y cuantificación de inmunoglobulinas séricas en niños nacidos de madres infectadas por HIV. *Revista ABA* 1998; 62, 1: 32-36.
- Janik B, Dane RG. High resolution electrophoresis of serum proteins on cellulosic membrane and identification of individual components by immunofixation and immunosubstraction. *J Clin Chem Clin Biochem* 1981; 27: 1944-1945.
- Keren D, DiSante AC, Bordine SL. Densitometric scanning of high-resolution electrophoresis of serum; methodology and clinical application. *Am J Clin Path* 1986; 85: 348-352.
- Keshehagian AA, Coblenz J, Lisak RP. Oligoclonal immunoglobulins in cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Clin Chem* 1980; 26: 1340-1345.
- Le Carrer D. *Serum protein electrophoresis & immunofixation*. Ed. Livres, édition communication 1994.
- Lencina M, Quián A. Efectividad de la transmisión vertical de la infección por HIV y su correlación con los factores de riesgo parentales. *Revista del Hospital Interzonal General de Agudos Evita* 1995; 4, 2: 32-34.
- Osatinsky R. Proteínas plasmáticas: perspectivas clínicas y aplicaciones de nuevas metodologías. *Revista ABA* 1987; 51: 41-48.
- Osatinsky R, Morilla S, Desimone I, Litwin N. Valores de referencia de inmunoglobulinas en donadores voluntarios de sangre de Capital Federal y Gran Buenos Aires. *Revista ABA* 1988; 52: 69-72.
- Roitt I. *Essential immunology*, 9ª ed. Blackwell Science 1998.

Hospital Infantil de México
Federico Gómez

5º Curso

**Monográfico de
Química Clínica**

29 de mayo-2 de junio de 2000

Lunes 29 mayo	Bioquímica Clínica I
Martes 30 mayo	Bioquímica Clínica II
Miércoles 31 Mayo	Microbiología
Jueves 1 junio	Hematología e Inmunología
Viernes 2 junio	Diversos (Calidad, Certificación, Bioética, Investigación)
Auditorio principal	
horario:	9: 00 - 15:30
Costo:	\$ 400.00 (Constancia del HIMFG) \$ 500.00 (Constancia del HIMFG y Reconocimiento UNAM)
Coordinadora:	Dra. Rosamaría Bernal Redondo
Profesores adjuntos:	Biol. Eliseo Ruiz Bedolla Dr. Alberto J. Treviño Mejía
Informes:	HIMFG (5) 228-99-17 Ext. 1303 Lab. Central ext. 1123 Subdirección de Enseñanza