



Rol de los Macrófagos Intestinales en EII MEDIANTE CITOMETRIA FLUJO 1997-2006

UNIDAD GASTROENTEROLOGIA HOSPITAL TRABAJADOR. DPTO MEDICINA INTERNA, DPTO PEDIATRIA, DPTO ANATOMIA PATOLOGICA, UNIDAD CITOMETRIA FLUJO Y CENTRO DE ESTUDIOS BIOARRAYANES.

AUTORES: F. KAWAGUCHI MD PhD, C. BRICEÑO MD, F. F. RIQUELME MD, O. VENEGAS MD, G. VENEGAS MD, JL CASTILLO CITOMETRIA FLUJO, I ALFARO MD, J. MADARIAGA MD, T PEREZ AL, C LEFFER AL, CG YAÑEZ MD, V VERA MD, G ZULOAGA MD, R LOAIZA MD, A. HEISSER EU, E. VEGA EU, L RUIZ EU, R ABRIGO MD, N PEREZ LYNCH MD.



RESUMEN:

Se define como enfermedad inflamatoria intestinal (EII) a un grupo de enfermedades inflamatorias crónicas, de etiología desconocida, de curso crónico y recurrente, que afectan al tubo digestivo(15,20). Los dos principales exponentes de la EII, son la Colitis Ulcerosa (CU) y la Enfermedad de Crohn (EC). Los patrones endoscópicos e histopatológicos característicos (aunque no patognomónicos)(9,20,42), son la base diagnóstica de la EII, previa exclusión de otras causas de inflamación intestinal (infecciosas, alérgicas, etc.)(5,20,42,50). Aunque la etiología precisa permanece desconocida, existe creciente evidencia de una alteración en la regulación del sistema inmune de mucosas, en la cual influyen: 1) antígenos luminales que actuarían como gatillantes (microorganismos patógenos exógenos, antígenos dietarios y, en especial, la flora intestinal)(51); 2) el epitelio intestinal, que presenta una permeabilidad aumentada, secreta citoquinas y actúa como células presentadoras de antígenos(15,41,51,61); 3) las células inmunes de la lámina propia, las cuales inician y perpetúan el proceso inflamatorio, al no responder a los mecanismos reguladores inhibitorios fisiológicos, que modulan la respuesta inmune de la mucosa digestiva, todo esto en el contexto de un huésped genéticamente predispuesto(15,41,42,51,61). Recientemente se han descrito alteraciones en el inmunofenotipo de algunas células del infiltrado inflamatorio en EII(21,25,43,44,45,48,61), en especial en los macrófagos de la lámina propia de la mucosa intestinal, los cuales en mucosa normal expresan un fenotipo único con funciones inmunes atenuadas (CD33+, CD44+, HLA-DR bajo, CD14-, CD16-, CD11b-, CD11c-, CD80-, CD86-)(49). En EII, los macrófagos de la lámina propia expresan fenotipos inmunológicamente más activos (mayor presentación antigénica, producción de citoquinas proinflamatorias y actividad migratoria)(2,33,41,47,61). Entre estos fenotipos se describen HLA-DR alto, CD11b+, CD11c+, CD16+, CD14+, CD80+, CD86+(2,41,47,48).

INTRODUCCION:

"La estimulación del sistema inmunológico mejora los síntomas de crohn" dm. Nueva York. 08 de noviembre de 2002
Un nuevo estudio señala que la estimulación del sistema inmunológico puede producir mejoras en los síntomas de la enfermedad de Crohn en un 80 por ciento de los casos que se desarrollan con formas moderadas o severas de esta enfermedad inflamatoria intestinal.

Brian Dieckgraefe, de la Facultad de Medicina de la Universidad de San Luis, en Washington, y uno de los autores del estudio que se ha publicado en la revista «The Lancet».

Los investigadores encontraron que varias alteraciones genéticas caracterizadas por un sistema inmune dañado se asociaban también a problemas como la enfermedad de Crohn. Aquellos que padecen la patología de Crohn se suelen tratar con fármacos que estimulan la respuesta inmunológica del organismo. Uno de los fármacos es una versión recombinada de una proteína producida por el organismo para reforzar la respuesta inmunológica aumentando la cantidad y la función de los leucocitos. El factor de estimulación de colonias de macrófagos no sólo contribuye al tratamiento de los primeros síntomas, sino que también ayuda a eliminar los correspondientes a la enfermedad de Crohn. Debido a la relación que existe entre las alteraciones del sistema inmunológico y la enfermedad de Crohn, Dieckgraefe y su colega Joshua R. Korzenik, de la misma universidad, probaron el fármaco en 15 pacientes que padecían la patología de Crohn en su forma moderada o severa.

HLA-DR & CD16 Y MACRÓFAGOS INTESTINALES

La expresión de molécula HLA-DR, refleja la presentación de antígenos a las células T por los macrófagos de la lámina propia intestinal. Esta presentación antigénica, se encuentra crónicamente elevada en EII(42). La descripción de este fenotipo (elevada expresión de HLA-DR), evidencia la gran capacidad de presentar antígenos que muestran los MI de los pacientes con EII, en comparación con los pacientes con mucosa intestinal normal, en los cuales, los MI presentan una baja expresión de HLA-DR. Lo anterior refleja la baja capacidad que tiene los MI de la mucosa normal, de activar células T, mediante presentación antigénica, lo que es muy importante dentro del equilibrio en el que se encuentra la mucosa. Esto ha sido demostrado por otros autores en estudios similares, señalando el elevado aumento de la expresión de la molécula HLA-DR en MI de pacientes con EII y la baja expresión de ésta en mucosa intestinal normal(16,18). Al respecto, en el Hospital del Trabajador de Concepción, hemos estudiado la expresión de HLA-DR y CD16 en macrófagos intestinales de pacientes con sospecha de EII, encontrando una mayor expresión de HLA-DR en los MI de pacientes con EII que en el grupo de referencia, diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Es así como la especificidad, la sensibilidad y el VPP del estudio fenotípico de MI, mediante citometría de flujo, con marcador para HLA-DR en pacientes con EII, sugiere su utilidad para apoyar el diagnóstico de EII, cuando el resultado es positivo, no así cuando éste es negativo (bajo VPN). A nuestro juicio, el mayor aporte de este estudio para el clínico, estaría dado en aquellos pacientes con cuadro clínico característico, endoscopia sugerente de EII y que sin embargo, la histología no es concluyente.

(The Lancet 2002;360: 1.478-1.481). El factor de estimulación de colonias de macrófagos-granulocíticos (GM-CSF) no sólo contribuye al tratamiento de los primeros síntomas, sino que también ayuda a eliminar los correspondientes a la enfermedad de Crohn.

Los pacientes con Enf Crohn recibieron diariamente inyecciones de GM-CSF durante ocho semanas. El estudio evaluó tanto la severidad de la enfermedad, utilizando como instrumento un índice de la actividad de la enfermedad de Crohn, como la calidad de vida, con un cuestionario de enfermedades inflamatorias intestinales. De los 15 pacientes que recibieron GM-CSF, 12 mejoraron significativamente durante el estudio y 8 consideraron que experimentaban una remisión clínica con el seguimiento del tratamiento. Los resultados del índice señalaron un descenso importante de los síntomas de la enfermedad, y los del cuestionario indicaron mejoras en la calidad de vida de los pacientes. Los investigadores continuaron el seguimiento de 15 pacientes del estudio y observaron que cuando detenían el tratamiento los síntomas se manifestaban nuevamente, y que cuando se retomaba, los síntomas mejoraban.

«Los resultados nos hacen ser optimistas sobre la repercusión que este nuevo avance puede suponer en todos los pacientes que en la actualidad no responden al tratamiento de la enfermedad», señala Korzenik. «Sin embargo, necesitamos probar los resultados obtenidos en otra muestra aún mayor».

MATERIAL Y METODOS:

Se analizaron durante un período de 5 años un número de 65 pacientes que fueron sometidos a exámen de colonoscopia en la Unidad de Gastroenterología del Hospital del Trabajador de Concepción, bajo consentimiento informado por parte del paciente, se tomaron muestras para el análisis de CD19,CD33,CD16 y HLA-DR, complementando este estudio con inmunofenotipo que incluían CD4 CD8, además de p53,PCNA, ciclo celular y células NK en aquellos casos que el análisis citométrico lo justificaba, encontrando una correlación de un 83% en la correlación inicial entre los macrófagos intestinales activados tomados desde muestras de mucosa en tejido fresco y la severidad clínica de la patología inflamatoria. La correlación durante el primer episodio entre los hallazgos clínicos y la histología se logró solo en un 14%. Un 26% de estos pacientes presentaban hemorragia digestiva baja por primera vez, agregándose diarrea, mucosidades y pujo-tenesmo al momento de la colonoscopia. La correlación entre la histología y la clínica en la segunda crisis (Según Criterios de Truelove y Witts en estos 26%(17 pacientes) mejoró en un 73%(12 pacientes). Lográndose un 96% de correlación entre HLA-DR, CD-16

NOTA: Se Denomina segundo episodio, a la segunda consulta que el paciente realiza en la Unidad de Gastroenterología del hospital del Trabajador de Concepción(Intervalo que varió entre 2 semanas a 1 año) según la Tabla 1 de Valoración Severidad de C.U.(colitis ulcerosa) mediante el:

ÍNDICE DE TRUELOVE Y WITTS MODIFICADO:

Variables	Leve	Severa
Número de deposiciones	< 4/día	> 6/días
Sangre en heces	+/-	+++
Temperatura	Sin fiebre	37.5°C
Pulso	Sin taquicardia	> 90 x'
Hemoglobina	Leve	Hb <75%
VHS	< 30	> 30

INDICE DE ACTIVIDAD UTILIZANDO EL CRITERIO ENDOSCÓPICO:

Sigmoidoscopia

Grado Aspecto macroscópico

0: Normal. Patrón vascular claramente visible.

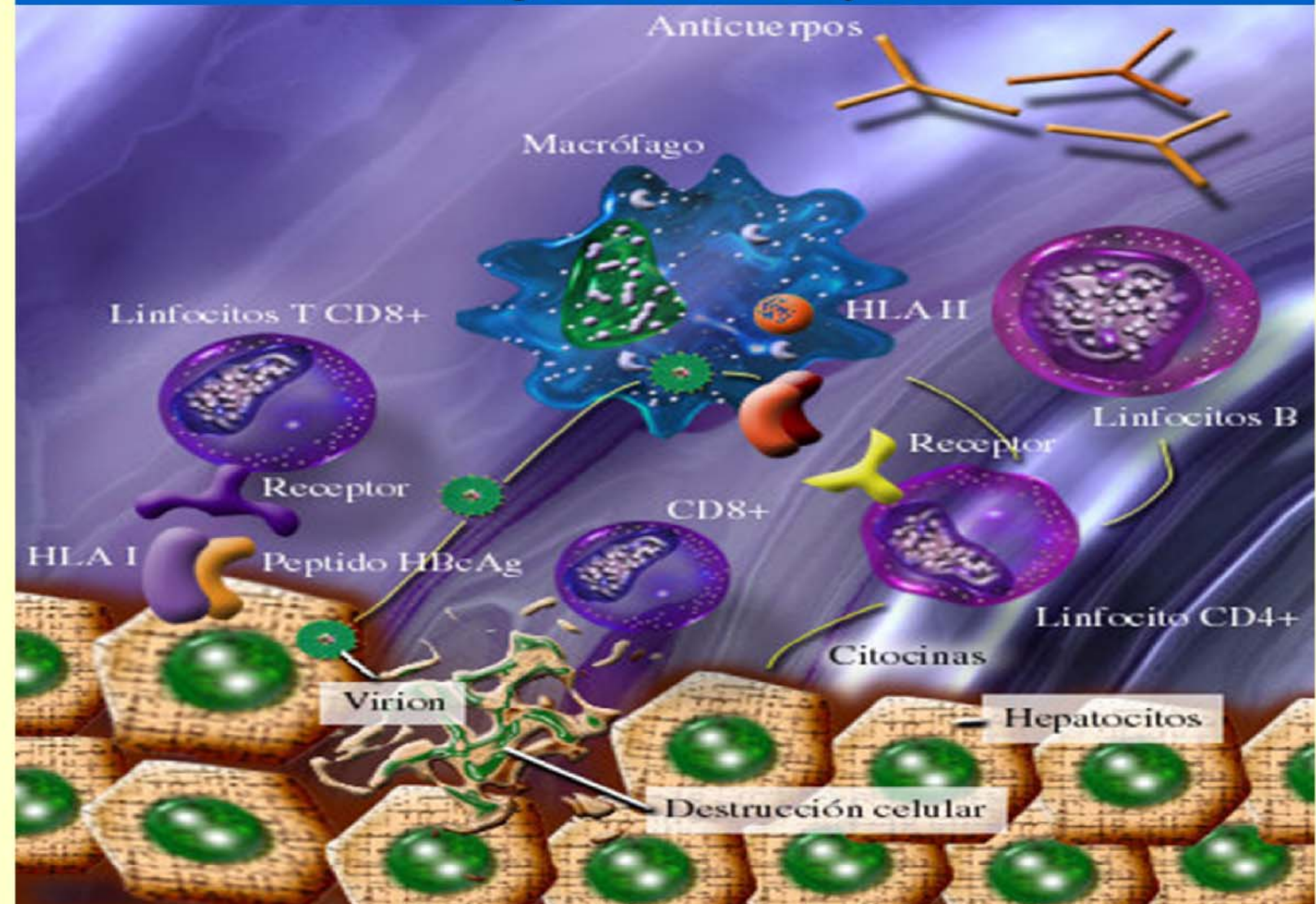
1: Eritema con pérdida del patrón vascular.

2: Eritema con pérdida patrón vascular más sangre al tacto.

3: Eritema con pérdida patrón vascular más sangrado espontáneo.

4: Eritema con pérdida del patrón vascular y ulceración evidente.

Macrófagos Intestinales y EII



CONCLUSIONES:

Si bien las aplicaciones de la citometría de flujo en Inmunoncología, podríamos continuar enumerándolas, la especificidad de cada una de ellas dependerá del modelo celular estudiado, así como de las condiciones de dicho estudio.

Es indudable que en los próximos podremos ser testigos de grandes avances tanto en la génesis, diagnóstico y tratamiento de diversas neoplasias, siendo la citometría de flujo una de las herramientas principales.