

ARTICULO ORIGINAL

Evaluación de la respuesta inmunitaria en niños con Quemaduras*Picagua¹, Mora C², Cabello A¹¹Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. UNA. ²Centro Nacional del Quemado.**RESUMEN**

En el paciente quemado se reúnen una serie de factores que favorecen la aparición de un desbalance en su respuesta inmunitaria que incrementan la susceptibilidad de los mismos a las infecciones. Las personas con quemaduras, sobretodo los niños, que presentan una mayor alteración inmunológica son aquellos con peor pronóstico y con mayores posibilidades de presentar complicaciones. El objetivo del presente trabajo es evaluar la utilidad de la respuesta proliferativa con mitógenos de los linfocitos en niños con quemaduras como un marcador pronóstico. Fueron estudiados 11 niños con quemaduras desde enero a marzo del 2004, de ambos sexos, provenientes del área rural, sin complicaciones infecciosas. Como controles se estudiaron 9 niños aparentemente sanos. Todos fueron estudiados luego de obtenerse el consentimiento informado de sus padres. Se utilizó sangre periférica, obtenida en forma estéril con heparina. Las células mononucleares fueron separadas sobre gradiente de Ficoll-Hypaque. Las células mononucleares ($2,5 \times 10^6$ células/ml) fueron cultivadas en medio RPMI 1640 con 10% de suero fetal bovino (FBS), en triplicado a 37°C y 5% CO₂ estimuladas con fitohemaglutinina-M (PHA-M). Como controles se utilizaron células mononucleares no estimuladas con PHA-M. La proliferación celular se midió utilizando un método colorimétrico MTT [3-(4.5 dimethylthiazol-2-yl)-2.5 diphenyl tetrazolium bromide]. De nueve niños (82%) fueron masculinos y 2 (18%) fueron femeninos. La edad media de los niños quemados fue de $4,03 \pm 4,19$ años y la de los niños controles $3,26 \pm 5,62$ años. En el grupo estudiado se observó en la proliferación celular una respuesta de los linfocitos disminuida en relación a los controles. ($1,16 \pm 0,31$ versus $2,66 \pm 0,37$, $p < 0,01$). Esto pone en evidencia una disminución significativa de la inmunidad celular en los niños, secundaria a las quemaduras. La elevada incidencia de las quemaduras en la edad pediátrica, su gravedad, la complejidad del mecanismo fisiopatológico y la enorme mortalidad que conllevan hace que sea importante la evaluación de la inmunosupresión en el niño quemado y de esta manera contribuir a la búsqueda de nuevas y mejores opciones para estos lesionados.

Palabras Claves: PHA-M, Células mononucleares, proliferación celular.**Evaluation of the immunity response in children with burns****ABSTRACT**

Burnt patients have several factors favoring the appearance of an imbalance in their immune response, increasing their susceptibility to infections. People with burns, especially children, presenting greater immunological alterations are those with worse prognosis and more possibilities of having complications. The aim of the present work is to evaluate the proliferative response of the lymphocytes in children with burns as a prognosis marker. Eleven boys and girls with burns were studied from January to March, 2004. They were from rural areas and did not have infectious complications. Nine apparently healthy children were included as controls. The children were included in the study with previous consent of their parents. Peripheral blood obtained in sterile form with heparin was used. The mononuclear cells were separated on Ficoll-Hypaque gradient and the cells ($2,5 \times 10^6$ cell/ml) were cultivated in RPMI 1640 with 10% of fetal bovine serum (FBS), in triplicate at 37°C, 5% CO₂ stimulated with phytohemagglutinin-M (PHA-M). Non-stimulated mononuclear were used as control. The cellular proliferation was measured using a colorimetric method with MTT [3-(4.5 dimethylthiazol-2-yl)-2.5 diphenyl tetrazolium bromide]. Nine (82%) were male and 2 (18%) was female. The mean age of the burnt children was of $4,03 \pm 4,19$ years and that of the children control was $3,26 \pm 5,62$ years. In the studied group, the cellular proliferation showed a decreased response of the lymphocytes in relation to the controls. ($1,16 \pm 0,31$ versus $2,66 \pm 0,37$, $p < 0,01$). This shows a significant decrease of the cellular immunity in

* Correspondencia: icelular@iics.una.py

these children, secondary to the burns. The high incidence of burns in paediatric age, seriousness of the lesions, complexity of the physiopathological mechanism and enormous mortality they have make very important the evaluation of the immunosuppression in the burnt child and hereby to contribute to the search of new and better options for these patients.

Keywords: PHA-M, mononuclear cells, cellular proliferation

INTRODUCCIÓN

En el lesionado por quemaduras se reúnen una serie de factores celulares y humorales, locales y sistémicos que favorecen la aparición de un desbalance en su respuesta inmunitaria y el desarrollo de un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, que al complementarse potencian la susceptibilidad a las infecciones^{1,2}.

Los principales trastornos inmunológicos se centran en la anergia a antígenos y mitógenos, cambios en las subpoblaciones linfocitarias, deficiencias en los mecanismos de fagocitosis, alteraciones en la expresión y producción de citocinas y sus receptores, moléculas de adhesión y presentación de antígenos leucocitarios, asociados a disminución de proteínas plasmáticas como las inmunoglobulinas y factores de complemento¹⁻³.

La especificidad de la respuesta inmune se debe a los linfocitos. La activación de linfocitos en reposo por acción de mitógenos como la fitohemaglutinina (PHA) induce a la aparición de receptores de superficie y a la generación de mediadores solubles con síntesis de DNA y división de estas células¹⁻⁴. Esta respuesta se ha visto suprimida significativamente después del daño térmico¹.

Existen también elementos que colaboran en la aparición del desbalance inmunológico, como son: la elevada actividad metabólica de las células vecinas y la existencia de una toxina encontrada en la piel de estos pacientes que inhibe la proliferación normal de los linfocitos T en respuesta a mitógenos como PHA⁵⁻⁸. Las personas con quemaduras, sobretudo los niños, que presentan una mayor alteración inmunológica son aquellos con peor pronóstico y con mayores posibilidades de presentar complicaciones^{1,9,10}. El objetivo del presente trabajo es evaluar la utilidad de la respuesta proliferativa con mitógenos de los linfocitos en niños con quemaduras como un marcador pronóstico.

MATERIALES Y MÉTODOS

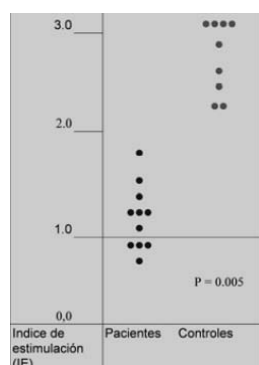
Población: Desde enero a marzo del 2004, fueron estudiados 11 niños con quemaduras, de ambos sexos, provenientes del área rural, sin complicaciones infecciosas. Como controles se estudiaron 9 niños aparentemente sanos. Todos fueron estudiados luego de obtenerse el consentimiento informado de sus padres.

Ensayo de proliferación celular: Se utilizó sangre periférica, obtenida en forma estéril con heparina. Las células mononucleares fueron separadas sobre gradiente de Ficoll-Hypaque (Sigma, USA) y 200µl ($2,5 \times 10^6$ células/ml) cultivadas en medio RPMI 1640 con 10% de Suero Fetal Bovino (FBS), a 37°C, 5% CO₂ y estimuladas con fitohemaglutinina-M (PHA-M) en triplicado. Como controles se utilizaron células mononucleares no estimuladas con PHA-M. La proliferación celular se midió utilizando un método colorimétrico MTT [3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide] (Sigma, USA).

RESULTADOS

Del total de niños estudiados 9 (82%) fueron del sexo masculino y 2 (18%) del sexo femenino. De los controles 6 (67%) fueron del sexo femenino y 3 (33%) del sexo masculino. La edad media de los niños quemados fue de $4,03 \pm 4,19$ años y la de los niños controles $3,26 \pm 5,62$ años.

En el grupo estudiado se observó en la proliferación celular una respuesta de los linfocitos disminuida en relación a los controles ($1,16 \pm 0,31$ versus $2,66 \pm 0,37$, $p < 0,01$). (Fig.1).

Fig 1: Respuesta proliferativa de linfocitos en niños quemados estimulados con PHA

DISCUSIÓN

En este estudio se encontró una disminución significativa de la proliferación celular frente a mitógenos en los niños quemados en comparación con los niños controles. Algunos investigadores han indicado de que esta alteración se observa después del daño térmico aunque hay datos que al mejorar el paciente y recuperarse de las quemaduras mejora esta respuesta inmune celular.

El hecho de que estos pacientes presenten una respuesta inmune celular alterada puede convertir al paciente quemado en un prototipo de enfermo inmuno comprometido.

Posiblemente esta inmunodeficiencia secundaria sea la causante de la mayor susceptibilidad a infecciones que presenta la gran mayoría de pacientes quemados. La elevada incidencia de las quemaduras en la edad pediátrica, su gravedad, la complejidad del mecanismo fisiopatológico y la enorme mortalidad que se presenta en estos pacientes, sobretudo en los primeros días post quemadura, hace que sea importante poder evaluar la respuesta inmune del paciente quemado como es el estudio de la proliferación a mitógenos.

Estudios ulteriores permitirán determinar si se producen cambios en la respuesta inmune celular a través de la evolución de los pacientes y de esta manera poder contribuir a la búsqueda de nuevas y mejores opciones para estos pacientes.

REFERENCIAS

1. Acosta RM, Plana GG. Respuesta Inmunitaria en el Paciente Quemado. Rev Cubana Med Milit 2001;30 (Supl): 56-62.
2. Deveci M, Sengencer M, Bozkurt M. Comparison of lymphocyte populations in cutaneous and electrical burns patients a clinical study. Burns 2000;26 (3):229-32.
3. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. Células T: base molecular de su actividad y del reconocimiento del antígeno. Inmunología Molecular y Celular. 2ed. Madrid:McGrawhill, Interamericana, 1995;150-83.
4. Sacase C, Prigge M, Cramer G, Pallua N, Henkel E. Association between reduced human leukocyte antigen (HLA-DR) expression on blood monocyte Zedler S, Faist E, Ostermeir B, von Donners M, Marck GH, Schilderberg FW. Postburn constitutional changes in T cell reactivity occur in CD8 rather than in CD4 cell. J Trauma 1997; 42(5):872-80.
5. Teodoreryk-Injeyan JA, Cembrynska-Nowack M, Lalani S, Ppeter NJ, Mills GB. Immune deficiency following thermal trauma is associated with apoptotic cell death. J Clin Immunol 1995; 15(%):318-2. and increased plasma level of interleukin 10 in patients with severe burns. Clin. Chem Lab Med 1990; 37(3):193-8.
6. Ellimeir W. Sawada s. Litman DR. The regulation of CD4 and CD8 correceptor gene expresion during T cell development. Ann Rev Immunol 1999,17:523-54.
7. Zedler S, Faist E. Ostermeir B. von Donners M. Marck Gll. Shilderberg FW. Postburn constitutional changes in T cell reactivity occur in CD8 rather than in CD4 celts. J Trauma 1997;42 (5):872-80
8. Hun JP. Hunter CT, Brownstein M.R. Giannopoulos A. Hltman CS, de Serres S. Et al. The effector component of t he cytotoxic T cell response has biphasic pattern after burn injury. J Surg Res 1998;80 (2):243-51.
9. Kavanagh EG. Kelly JL, Lyons A. Soberg CC, Mannick JA. Burn injury primes naive CD4 T cells for augmented T helper 1 response. Surgery 1998;124 (2): 269-76.
10. Zeddeler S. Bone RC. Bane AE. Von Donnersmarck Gll. Faist E.T cell reactivity and its predictive role in immunosupresion after burns. Crit Care Med 1999;27(1):66-72.