DIAGNÒSTIC DELS DÈFICITS IMMUNITARIS

NÚRIA MATAMOROS FLORI

Secció Immunologia. Hospital Son Dureta

Introducció

L'avanç en el coneixement dels mecanismes de la resposta immunitària, aconseguit parcialment a partir del mateix estudi de les distintes immunodeficiències i de l'aplicació de noves tecnologies com els anticossos monoclonals, ha fet que el nombre d'immunodeficiències primàries recollides per l'OMS, l'any 1983 (WHO Scientific Group on Immunodeficiency, 1983) hagi augmentat considerablement i la seva descripció sigui molt més precisa que la feta amb anterioritat (WHO Technical Report, 1978).

En aquest sentit, ha estat un pas important, que es reflecteix en aquesta classificació, el coneixement que avui es té del desenvolupament a partir d'una cèl·lula multipotent de les poblacions limfocitàries T i B.

La sospita d'immunodeficiència la fa en primer lloc el metge que visita el malalt i la causa més comuna de consulta són les infeccions de repetició de major o menor importància; l'espectre clínic de presentació dels dèficits immunitaris és idèntic a les immunodeficiències primàries i secundàries.

El diagnòstic de laboratori de les immunodeficiències ve orientat moltes vegades per la història clínica, encara que a nivell pràctic es sol seguir un estudi bàsic, que pot servir per a orientar en un sentit o en un altre, segons el seus resultats, l'estudi posterior.

Estudi de la resposta específica humoral

Els anticossos, que són la peça fonamental de la resposta humoral, són sintetitzats per la cèl·lula plasmàtica que és la cèl·lula terminal del limfòcit B; els dèficits d'anticossos són conseqüència d'alteracions que afecten directament o indirectament el limfòcit B.

Descriurem a continuació les proves que més s'utilitzen per a avaluar la immunitat humoral.

La dosificació d'immunoglobulines sèriques és una de les tècniques rutinàries d'un primer estudi; hi ha distintes formes de dosificar aquestes proteïnes; entre les més habituals tenim les d'ELISA, immunodifusió radial i nefelometría. En alguns casos és important

dosificar-les en altres secrecions distintes del sèrum com pot ser la saliva, per exemple, en el dèficit d'IgA. Les concentracions d'immunoglobulines varien segons l'edat i, en certa mesura, són influïdes per l'ambient; per si sol, aquest paràmetre no pot servir com a criteri d'immunodeficiència.

Mencionarem ací la necessitat d'estudiar les subclasses d'algunes immunoglobulines, com són la IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, i la IgA1 i IgA2, el dèficit d'alguna de les quals coexisteix amb valors totals normals de les respectives immunoglobulines. (Schur PH, 1987).

Per tant, valors normals d'immunoglobulines no exclouen una deficiència en anticossos i, si aquesta se sospita, s'ha de valorar la resposta obtinguda després d'una estimulació antigènica. Aquesta resposta es pot estudiar enfront d'antígens als quals s'està exposat comunament o després d'una immunització activa.

Dins del primer grup normalment es determina el títol d'isohemaglutinines A i B i antistreptolisines.

En el segon grup s'estudien els anticossos de resposta a les vaccinacions obligatòries habituals com són l'anti-tetànica o poliomielítica. Hem de recordar ací la contraindicació absoluta d'administrar vaccins de gèrmens vius sempre que se sospiti una immunodeficiència.

Es poden realitzar altres tipus d'immunitzacions actives i mesurar els anticossos produïts. Entre les més utilitzades tenim el Bacteriophage X 174 i el Pneumococcal polysacharide. (Fauci A.S., Pratt KR, 1979).

És important, en estudiar la immunitat humoral, incloure un tipatge cel·lular, en aquest cas buscant la presència dels limfòcits B. Aquestes cel·lules poden obtenir-se de la sang perifèrica i la tècnica més utilitzada per a identificar-les és la detecció de les immunoglobulines que porten a la membrana; actualment, hi ha diversos anticossos monoclonals que reconeixen antígens específics d'estirp B.

Les cèl·lules B immadures tenen immunoglobulines dins del citoplasma del tipus IgM i no les presenten a la membrana.

Aquestes tècniques de reconeixement utilitzen normalment anticossos marcats amb fluoresceïna i posterior lectura amb microscopi de fluorescència; actualment hi ha aparells automàtics de lectura de cèl·lules. Finalment, podem estudiar funcionalment els limfòcits B, mitjançant la producció d'immunoglobulines "in vitro", en cultivar-los enfront de mitògens o antígens.

TAULA I. Estudi de la resposta immunitària humoral

Dosificació Immunoglobulines
Títol anticossos naturals
Títol anticossos post-vaccinació
% Limfòcits B
Producció immunoglobulines "in vitro"

Estudi de la resposta específica cel·lular

Per valorar la immunitat cel·lular ens centrem fonamentalment en l'estudi dels limfòcits T i les seves subpoblacions; aquest és un dels camps que més ha avançat en els últims anys amb l'aparició dels anticossos monoclonals.

Són diverses les tècniques utilitzades per a estudiar aquest tipus de resposta immunitària i parlarem de les més habituals.

En primer lloc, descriurem les proves cutànies per a mesurar la resposta d'hipersensibilitat retardada mitjana en una subpoblació de limfòcits T.

Els antígens normalment utilizats són el PPD, la càndida, el trichophyton, l'estreptoquinasa-estretodornasa, el toxoide tetànic i el de la diftèria. La prova es realitza per mitjà d'una injecció intradèrmica de cada antigen i es valora la manifestació cutània per lectura dels diàmetres al cap de 48-72 hores.

Els limfòcits T es poden obtenir de sang perifèrica i actualment s'identifiquen per mitjà d'anticossos monoclonals, que reconeixen diferents antígens a la membrana limfocitària; aquests antígens poden definir un estat maduratiu o bé una característica funcional (Kung, DC, Golstein G et al., 1979).

Els més utilitzats dins de l'apartat maduratiu són els monoclonals, que reconeixen les poblacions CD1, CD2, CD3 i en el segon els que reconeixen la població CD4, a la qual en termes amplis s'atribueixen funcions cooperadores/inductores, i la població CD8, coneguda com a supressora/citotòxica.

Els limfòcits T poden ser estudiats "in vitro" valorant la seva resposta a diferents mitògens o antígens, i també per la seva transformació enfront de cèl·lules al·logèniques.

Els mitògens més utilitzats són la fitohemaglutinina (PHA) i la concanavalina A (con A). Els antígens a utilitzar poden ser múltiples, però habitualment s'utilitzen el PPD, la candidina, el toxoide tetànic i de la diftèria, antígens als quals el malalt ja s'ha enfrontat prèviament.

En estudiar malalts amb defectes predominantment cel·lulars, hem de descartar la possible presència del dèficit de dos enzims del metabolisme de les purines: la purina-nucléosid-fosforilasa (PNP) i l'adenosina-desaminasa (ADA). La manca d'aquests enzims produeix un trencament del cicle metabòlic purínic, vital per a la cèl·lula, i l'acumulació de metabòlits tòxics que en el cas de la PNP afecten el sistema T i en el de l'ADA els sistemas T i B. Aquests enzims s'estudien en el sobresurant de cèl·lules, principalment hematies, a causa de la limfopènia d'aquests malalts (Matamoros N., 1986).

TAULA II. Estudi de la resposta immunitària cel·lular

Proves cutànies per immunitat retardada
% de limfòcits T totals i les seves subpoblacions
Estimulació enfront de mitògens (PHA)

Abans de passar a les proves diagnòstiques dels dèficits immunitaris de la resposta no específica, citarem breument les determinacions que poden completar el diagnòstic d'algunes immunodeficiències associades a altres defectes importants.

La determinació de l'àcid B-hidroxipropiònic a l'orina dels malalts confirma el dèficit de biotina-carboxilasa dependent i indica la utilitat de tractar aquests malalts amb Biotina, ja que s'hi aconsegueixen millores clíniques i bioquímiques importants.

Una taxa molt alta d'IgE sèrica, amb una supressió T anormal de la resposta en IgE, confirmen la síndrome d'hiperIgE o malaltia de Job.

No hem d'oblidar tampoc la possible associació d'immunodeficiències amb manifestacions d'autoimmunitat i al·lèrgia, ja que en aquestes ocasions la recerca d'autoanticossos o al·lèrgens, segons el cas, ajudaran a completar el diagnòstic del malalt immunodeficient (Asherson GL, Webster ADB, 1980).

Estudi de la resposta inespecífica.

El sistema del complement constitueix el component més important de la resposta immunitària no especifica. La seva activació pot tenir lloc per dues vies, anomenades clàssica i alternativa.

La via clàssica és constituïda per nou proteïnes, reconegudes per la lletra C seguida d'un nombre fins a nou; per exemple: C3, C4, etc. A la via alternativa són reconegudes com a factor B, factor D i properdina (P); hi ha també proteïnes reguladores, cada una amb un nom.

L'estudi dels dèficits del complement es realitza valorant primerament la seva activitat de manera global, ja que el defecte d'un dels components de la cadena afectarà greument l'activitat del conjunt; després es passaran a estudiar les distintes proteïnes per trobar-ne la defectuosa.

La tècnica d'estudi de la via clàssica d'activació es coneix com CH-50 o capacitat hemolítica 50, mentre que la tècnica que estudia l'estat de la via alternativa es denomina AP-50 (Rynes R, Pickering RJ, 1985).

L'altra branca de la resposta immunitària no específica és constituïda pel sistema mononuclear-fagocitari. La funció del neutròfil depèn de la seva mobilitat enfront d'estímuls, de l'adherència i de la ingestió i posterior destrucció de les partícules ingerides i de l'existència d'un sistema metabòlic correcte.

Les tècniques de laboratori per valorar la mobilitat i l'adherència dels neutròfils tenen encara avui dificultats d'estandardització. Un dels sistemes més utilitzats per a valorar la mobilitat espontània i induïda per atactants és el de les cambres de Boyden.

Per a valorar la ingestió i destrucció de partícules s'han utiltzat les de làtex i colònies d'estafilococs, també amb dificultats d'estandardització. Sí que es considera tècnica de referència la reducció del nitroblau de tetrazòlium (NBT) com a mesura de l'activitat respiratòria cel·lular.

Valorar la implicació dels resultats d'aquestes técniques en el context d'una immunodeficiència és tal vegada difícil ja que els processos infecciosos actuen sobre els neutròfils i n'alteren les funcions. No queda clar, doncs, moltes vegades, si aquestes alteracions són causa o conseqüència de la mateixa infecció (Cates Lynn K, 1981), (Segal AW, 1981).

Conclusions

Com hem dit a l'inici d'aquest treball, el diagnòstic de laboratori de les immunodeficiències ha avançat molt en els últims anys, cosa que ha permès ampliar-ne i definir-ne millor la

classificació, però és molt important no oblidar que el metge que visita el malalt és el primer que pot sospitar la malaltia i que en pot proposar l'estudi analític ràpid.

Això permetrà concretar el diagnòstic i iniciar, segons el cas, una terapèutica adequada, camp aquest el de la teràpia de les immunodeficiències,que també ha sofert un gran avanç én els últims anys.

Bibliografia

1. ASHERSON GL, WEBSTER ADB. (1980). Diagnosis and treatment of immunodeficiency diseases. London, Blackwell Scientific Publ.
2. FAUCI A.S., BALLIEUX RE. (1979). In vitro Induction and Measurements of Antibody Synthesis in Man. New York: Academic Press.
3. KUNG PC, GOLDSTEIN G, REINHERZ EL, SCHLOSSMAN SP. (1979). Monoclonal Antibodies defining distinctive human T-cell surface antigens. Science, 206, 347-349.
4. LYNN CATES K. (1981). Defects in neutrophil chemotaxis. Clinics in Immunology and Allergy; vol 1: 603-629.
5. MATAMOROS N. (1986). Alteraciones metabólicas en las inmunodeficiencias. Med Clin; vol 86: 10-11.
6. SCHUR PH. (1987). IgG subclasses. A Review. Annals of Allergy; vol. 58: 89-100.
7. SEGAL AW. 1981. Phagocytic and bactericidal defects in neutrophils. Clinics in Immunology and Allergy; vol 1: 581-602.
8. RYNES R, PICKERING RJ. 1985.Inherited complement component deficiencies in man. Methods in complement for clinical immunologists. Churchill Livingstone Ed. 292-321.
9. WHO Technical Report Series 630. (1978). Immunodeficiency. p. 11. Geneva: World Health Organization.
10. WHO Scientific group on Immunodeficiency. (1986). Primary Immunodeficiency diseases. Clin Immunol Immunopathol; 28: 450-475.