

CUANTIFICACION DE LINFOCITOS T EN NIÑOS CON GIARDIASIS

INSTITUTO NACIONAL DE ONCOLOGIA Y RADIOBIOLOGIA
LABORATORIO DE INMUNOLOGIA DEL CENIC

Lic. Ana M. Vázquez*, Dr. Carlos A. García**, Dra. Ursula Janicka***, Dr. Antonio de Armas**** y
Dra. Xiomara Rodríguez*****

Vázquez, A. M. y otros: *Cuantificación de linfocitos T en niños con giardiasis.*

Se ha informado que en la defensa del organismo contra la *Giardia lamblia* pueden intervenir los mecanismos de inmunidad humoral y celular; han sido estos últimos los menos estudiados. Se estudia, como objetivo de nuestro trabajo, si existe alteración en la proporción de la población de linfocitos T en un grupo de niños con giardiasis, con el propósito de detectar una posible inmunodeficiencia celular en éstos. Para la cuantificación de los linfocitos T se utilizó la técnica de rosetas E en muestras de sangre total de 23 niños con giardiasis y 11 sanos. En los niños con giardiasis el porcentaje de linfocitos T fue del 69,3 % y en los niños sanos fue del 68,5 %. No se detectaron diferencias significativas al comparar los resultados obtenidos en ambos grupos. Se sugiere una profundización en el estudio de la inmunidad local en esta enfermedad.

INTRODUCCION

La *Giardia lamblia* es el protozoo flagelado causante de la enfermedad conocida como giardiasis, cuyo estudio es de gran importancia en nuestro medio.

Ha sido de interés para muchos investigadores conocer la función que desempeña el sistema inmune en esta enfermedad y las alteraciones que puede causar la infestación por giardia en el mismo. Con este propósito, se han realizado estudios de las respuestas inmunitarias humoral¹⁻⁹ y celular^{1, 10-12} en la giardiasis; ésta última es la menos estudiada.

El objetivo de nuestro estudio fue cuantificar la población de linfocitos T mediante la técnica de rosetas E en un grupo de niños con giardiasis, con el propósito de detectar una posible inmunodeficiencia celular en los mismos.

MATERIAL Y METODO

Para la cuantificación de los linfocitos T se utilizaron muestras de sangre total de 23 niños diagnosticados con giardiasis por examen de las heces fecales o por intubación duodenal en el Hospital Infantil "Pedro Borrás Astorga", de los cuales uno tenía malnutrición

* Licenciada en Biología. Investigadora Agregada. Laboratorio de Inmunología del INOR.

** Especialista de I Grado en Inmunología. Laboratorio de Inmunología del INOR.

*** Doctora en Ciencias. Escuela de Medicina Poznan, Polonia.

**** Especialista de I Grado en Pediatría. Hospital Infantil "Pedro Borrás".

***** Especialista de I Grado en Pediatría. Hospital "Fructuoso Rodríguez".

aguda ligera y otro malnutrición aguda moderada, el resto de los niños eran eutróficos. El grupo control estuvo compuesto por 11 niños sanos eutróficos del Hospital "Fructuoso Rodríguez", cuyos exámenes de heces fecales fueron negativos. A cada niño se le extrajeron 5 ml de sangre venosa. Las células linfomonocitarias se purificaron con el método de centrifugación con gradiente de urografín (metilglucamina del ácido diacetilaminotriyodo benzoico) con densidad específica de 1,077.¹³ Las células así purificadas se lavaron 3 veces a 4 °C durante 10 minutos a 250 x gravedades en solución salina balanceada de Hanks (SSBH), pH 7,2. La concentración celular se ajustó a 2×10^6 células viables/ml¹.

La técnica de rosetas E se realizó según lo informado por Schafer et al.¹⁴ Se tomaron 0,2 ml de la suspensión linfomonocitaria y se mezclaron con 0,2 ml de glóbulos rojos de carnero (GRC) desfibrinados al 0,25 % (40×10^6 GRC/ml¹). Esta mezcla se incubó a 37 °C durante 5 minutos, se centrifugó a 50 x gravedades durante 5 minutos a temperatura ambiente y se incubó durante 1 hora en baño de hielo. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante y se le añadió al tubo una mezcla fría de glutaraldehído al 2,5 % en 5 partes de SSBH. Se incubó 5 minutos en un baño de hielo y se resuspendió muy suavemente. Se colocaron varias gotas de la suspensión sobre un portaobjetos y se secaron a 4 °C, después se fijaron con metanol 5 minutos y se colorearon con Giemsa.

Las rosetas E se contaron con objetivo 100X. Se encontraron 200 linfocitos por paciente y sólo se consideraron rosetas cuando los linfocitos tuvieran unidos a sus superficies 3 o más GRC y donde se identificara el linfocito en el centro.

Para el análisis estadístico de los resultados mediante el estadígrafo de la t de Student, se transformaron los datos de los porcentajes de rosetas E de la expresión $2 \arccos$ no p.

RESULTADOS

Los resultados de la cuantificación de los linfocitos T se muestran en la tabla.

Tabla. Comparación de las medias de los porcentajes de rosetas E de niños con giardiasis y niños sanos

	Controles (%)	Niños con giardiasis (%)	Significación
\bar{X}^1	68,5	69,3	No significativo
$\bar{X}^2 + 2E\bar{X}$	73	72,9	
$\bar{X} - 2E\bar{X}$	63,7	65,5	

Leyenda: ¹Media. ²Error de la media.

estudio de la población de linfocitos T en sangre periférica concuerdan con los obtenidos por Naik et al.,¹ al estudiar esta población linfocitaria en pacientes adultos con giardiasis y con lo observado por un investigador de nuestro laboratorio al estudiar la respuesta de los linfocitos T a la estimulación con fitohemaglutinina, donde tampoco se observaron diferencias significativas entre los niños con giardiasis y los niños sanos. Esto sugiere que el estado inmunitario celular en los niños con giardiasis de nuestro medio es normal.

No se observó diferencia significativa entre la media de los porcentajes de rosetas E de los niños con giardiasis y la media obtenida en los niños sanos.

DISCUSION

Los resultados obtenidos por nosotros en el

No obstante, estos resultados no niegan la participación que tiene el sistema inmunitario en esta enfermedad, ya que se ha detectado la presencia de anticuerpos específicos contra la *Giardia lamblia* en el suero de pacientes con giardiasis.^{3, 8, 9} También se ha observado un aumento en el número de linfocitos interepiteliales del intestino delgado en animales con la enfermedad.¹²

Se plantea que los ratones poseen células linfoides, en particular linfocitos T, con reactividad específica a los antígenos de la *Giardia*.¹⁰ Se ha informado, utilizando un modelo de giardiasis en ratones, que los linfocitos se ponen en contacto con la *Giardia* y a la vez, ésta, por defectos en la barrera folicular linfoide, es capaz de entrar y ponerse en contacto con el tejido linfoide.¹⁵

Existen evidencias que sugieren que en la giardiasis, al nivel del intestino, ocurren respuestas inmunitarias mediadas por células que pueden contribuir al daño hístico que se observa en esta enfermedad.¹⁶

Por los resultados obtenidos en nuestra experiencia, consideramos que el estado inmunitario celular general de estos niños con giardiasis es normal, por lo que los estudios futuros deben explorar las funciones del sistema inmunitario unido al intestino, donde parece ser que se desarrollan los mecanismos de defensa específica contra la *Giardia*.

SUMMARY

Vázquez, A. M. et al.: *Quantification of T lymphocytes in children with giardiasis.*

It has been reported that humoral and cell mechanisms may be involved in the defense of the body against *Giardia lamblia*, with the latter being the least studied. As one of the objectives of our paper, we studied the potential existence of changes in the T lymphocyte population ratio in a group of children with giardiasis with the view to find any potential cell immune deficiency in them. The technique of E rosettes in whole blood samples from 23 children with giardiasis and 11 healthy controls was used for T lymphocyte quantification. T lymphocyte percentage in sick children was 69,3 % and 68,5 % in healthy controls. No significant differences were found when the results obtained in the two groups were compared. Further studies of local immunity in this disease are suggested.

RÉSUMÉ

Vázquez, A. M. et al.: *Quantification des lymphocytes T chez des enfants avec giardiase*

On a informé que dans la défense de l'organisme contre *Giardia lamblia* peuvent intervenir les mécanismes d'immunité humorale et cellulaire; les derniers ont été les moins étudiés. On étudie s'il existe une altération dans la proportion de la population des lymphocytes T dans un groupe d'enfants avec giardiase dans le but de détecter une possible immunodéficience cellulaire chez eux. Pour la quantification des lymphocytes T on a utilisé la technique de rosettes E dans des échantillons de sang total de 23 enfants avec giardiase et 11 enfants sains. Chez les enfants avec giardiase le pourcentage de lymphocytes T est de 69,3 % et chez les enfants sains est de 68,5 %. On n'a pas détecté de différences significatives en comparant les résultats obtenus dans les deux groupes. On suggère un approfondissement dans l'étude de l'immunité locale dans cette maladie.

BIBLIOGRAFIA

1. Naik, S. R. et al.: Immunological studies in giardiasis. *Ann Trop Med Parasitol* 73: 291, 1979.
2. Ament, M. E.; C. E. Rubin: Relation of giardiasis to abnormal intestinal structure and function in gastrointestinal immunodeficiency syndromes. *Gastroenterology* 62: 216, 1972.

3. Vinayak, V. K. et al.: Demonstration of antibodies in giardiasis using the immunodiffusion technique with *Giardia* cysts as antigen. *Ann Trop Med Parasitol* 72: 582, 1978.
4. Yardley, J. H.; T. R. Hendrix: Immunologic status in patients with giardiasis. *Gastroenterology* 78: 421, 1980.
5. Thompson, A. et al.: Immunoglobulin bearing cells in giardiasis. *J Clin Pathol* 38: 292, 1977.
6. Jones, E. G.; W. R. Brown: Serum and intestinal fluid immunoglobulins in patients with giardiasis. *Dig Dis* 19: 791, 1974.
7. Gupta, J. P. et al.: Giardiasis in adults. Studies on jejunum and immunoglobulins. *Acta Gastro-Enterológica Bélgica XLII: 142, 1979.*
8. Visvevara, G. S.; G. R. Healy: Proceeding of a Symposium. Waterbone Transmission of Giardiasis. EPA, Ohio, 1979. P 52.
9. Ridley, M. J.; D. S. Ridley: Serum antibodies and jejunal histology in giardiasis associated with malabsorption. *J Clin Pathol* 29: 30, 1976.
10. Roberts-Thompson, I. C.; G. P. Mitchell: Giardiasis in mice. I. Prolonged infections in certain strings and hypothyneic (nude) mice. *Gastroenterology* 75: 42, 1978.
11. Stevens, D. P.: Proceeding of a Symposium. Waterborne Transmission of Giardiasis. EPA, Ohio, 1979. P. 82.
12. MacDonald, T. T.; A. Ferguson: Small intestinal epithelial cell kinetics and protozoal infection in mice. *Gastroenterology* 74: 496, 1978.
13. García, C. A.; C. Silva: Cultivo y estimulación de linfocitos humanos purificados con Verografín. Reporte preliminar. *Rev CENIC* 10: 199, 1979.
14. Schafer, L. A. et al.: Permanent slide preparations of T lymphocyte sheep red blood cell rosettes. *J Immunol Methods* 8: 241, 1975.
15. Owen, R. L. et al.: Ultrastructural observations on giardiasis in a murine model. I. Intestinal distributions, attachment and relationship to the immune system of *giardia muris*. *Gastroenterology* 76: 757, 1979.
16. Wright, S. G.: Giardiasis and malabsorption. *Ann Soc Belg Med Trop* 59: 343, 1979.

Recibido: 1 de agosto de 1985. Aprobado: 6 de marzo de 1986.

Lic. Ana M. Vázquez. Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. Calle 29 y E, Vedado, municipio Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana 4, Cuba.

NOTA INFORMATIVA

Le informamos que todos los artículos de las Revistas Cubanas en sus diferentes especialidades serán procesados para incluirlos en el IMLA (Index Medicus Latino-americano).

El IMLA es una bibliografía periódica producida por la Biblioteca Regional de Medicina (BIREME). En dicha bibliografía aparecen revistas que forman parte de la colección de BIREME y se irán incluyendo nuevos títulos de acuerdo con el cumplimiento de los objetivos que se ha propuesto esta institución.