

ARTÍCULOS ORIGINALES

Respuesta inmune humoral y manifestaciones clínicas de disregulación inmune en pacientes pediátricos con Neurofibromatosis Tipo 1

Humoral immune response and clinical manifestations of immune dysregulation in patients with Type 1 Neurofibromatosis

Bárbara Torres Rives,^I Goitybell Martínez Téllez,^{II} Paulina Araceli Lantigua Cruz,^{III} Yaima Zúñiga Rosales,^{IV} Denia Tassé Vila,^V Jacqueline Pérez Rodríguez,^{VI} Ciria Rodríguez Pelier.^{VII}

Resumen

Los anticuerpos son indispensables para una respuesta inmune efectiva contra patógenos. En las RASopatías, como la neurofibromatosis tipo 1, las proteínas mutadas tienen importantes funciones en la regulación del sistema inmune. Este trabajo tiene como objetivo identificar las manifestaciones clínicas de disregulación inmune y alteraciones de la respuesta inmune humoral en pacientes con Neurofibromatosis tipo 1. Se realizó un estudio descriptivo de serie de casos. Se estudiaron 8 pacientes pediátricos con diagnóstico clínico de neurofibromatosis tipo 1 procedentes de la consulta de Genética Médica del Hospital “Juan Manuel Márquez”. Se realizó cuantificación de inmunoglobulinas y de subclases de inmunoglobulinas G séricas, así como la determinación de la respuesta al toxoide tetánico y diftérico. Las infecciones recurrentes respiratorias fueron las manifestaciones clínicas de sospecha de disregulación inmune más frecuentes. El 50,0% de los pacientes presentaron una disminución de inmunoglobulinas séricas, solo el 25,5% y 12,5% presentaron para una protección confiable de larga duración frente a los toxoides tetánico y diftérico, respectivamente. Los resultados obtenidos evidenciaron alteraciones de la respuesta inmune humoral y manifestaciones clínicas de disregulación inmune en pacientes con neurofibromatosis tipo 1, que justifican la necesidad de su evaluación por un especialista en inmunología.

Palabras clave: Anticuerpos, neurofibromatosis tipo 1, respuesta inmune humoral.

Abstract

Antibodies are indispensable for an effective immune response against pathogens. In the RASopathies as type 1 neurofibromatosis, mutated proteins have important functions in the regulation of the immune system. We aimed to identify the clinical manifestations of immune dysregulation and alterations of the humoral immune response in patients with type 1 Neurofibromatosis. A descriptive study of cases series was carried out. We studied 8 pediatric patients with clinical diagnosis of type 1 neurofibromatosis from the Medical Genetics clinic of the Hospital “Juan Manuel Márquez”. Total serum immunoglobulin levels and subclasses of G immunoglobulin were measured, as well as the determination of the response to tetanus and diphtheria toxoid. Recurrent respiratory infections were the main clinical manifestations to suspect immune dysregulation. The 50.0% of the patients presented a decrease in serum immunoglobulins. Only the 25.5% and 12.5% presented a reliable long-term protection against tetanus and diphtheria toxoids, respectively. The obtained results showed alterations on humoral immune response and clinical manifestations of immune dysregulation in patients with type 1 Neurofibromatosis, that justified the need of its evaluation by an immunologist.

Keywords: Antibodies, neurofibromatosis type 1, humoral immune response.

^I Médico especialista de Primer y Segundo Grado en Inmunología. Máster en Genética Médica. Profesor e investigador Auxiliar. Centro Nacional de Genética Médica. Universidad de Ciencias Médicas. La Habana. Cuba. E-mail: barbara.torres@infomed.sld.cu.

^{II} Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Máster en Ciencias en Química Farmacéutica. Profesor Instructor. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba.

^{III} Doctora en Ciencias Médicas. Especialista Segundo Grado en Genética Médica. Profesora Titular. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba.

^{IV} Médico especialista de Primer Grado en Inmunología. Profesor asistente. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba.

Introducción

Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Igs) son indispensables para una respuesta inmune adaptativa contra una amplia variedad de patógenos. La deficiencia de anticuerpos es el tipo de inmunodeficiencia más frecuente reportada. Un defecto en la producción de estos resulta en infecciones recurrentes muchas veces graves, además de una mayor probabilidad de procesos autoinmunes, linfoproliferativos, granulomatosos, atopia y malignidad.¹

La neurofibromatosis tipo 1 o enfermedad de Von Recklinghausen (NF1, OMIM # 162200) es considerada una de las enfermedades genéticas más frecuentes (1 de 2500-3000 nacidos vivos). En el 50% de los casos aparece de *novo* y es un trastorno autosómico dominante con expresión fenotípica muy variable.²

La NF1 es causada por una mutación en el gen de la neurofibromina, el cual tiene 61 exones y se localiza en el cromosoma 17q11.2. El gen actúa como supresor tumoral con efecto regulador negativo en la vía RAS/MAPK (proteína activa en sarcoma de rata del inglés *active rat sarcoma* / proteína quinasas activadas por mitógenos del inglés *mitogen-activated protein kinase*).³

La NF1 es la primera RASopatía descrita de las muchas que existen, estas son causadas por mutaciones en la línea germinal de genes que codifican proteínas componentes de la vía RAS/MAPK, la cual juega un importante papel en la progresión del ciclo celular, apoptosis, motilidad del citoesqueleto, en el proceso de tolerancia de las células B y procesos autoinmunes y autoinflamatorios.^{3,4}

Este trabajo tiene como objetivo describir las manifestaciones clínicas de disregulación inmune y alteraciones de la respuesta inmune humoral de pacientes con diagnóstico clínico de Neurofibromatosis tipo 1.

Métodos

Se realizó un estudio descriptivo en una serie de casos, donde se estudiaron 8 pacientes con diagnóstico clínico de Neurofibromatosis tipo I que asistieron a la consulta de Genética Médica del Hospital “Juan Manuel Márquez” de La Habana, Cuba, en el período de 2014-2016.

Se realizó la caracterización de la respuesta

inmune humoral mediante la determinación de las inmunoglobulinas (Igs) séricas G, A y M (realizada por inmunoturbidimetría) según Soldin y colaboradores.⁵ Las subclases de inmunoglobulinas G (IgG) 1, IgG2, IgG3 e IgG4 fueron cuantificadas mediante inmunodifusión radial simple (Binding Site, Birmingham, U.K.).⁶

Se realizó además la cuantificación de anticuerpos de clase IgG (antitoxina) contra el toxoide tetánico y diftérico mediante ELISA según los procedimientos establecidos en el laboratorio de Inmunología del Centro Nacional de Genética Médica.⁷

Los resultados de ambas determinaciones fueron clasificados según el nivel de antitoxina del paciente⁸ como se muestra a continuación:

- Niveles de antitoxina no adecuados para conferir protección: < 0,1 UI/mL
- Niveles de antitoxina para una protección confiable: 0,1-1,0 UI/mL
- Niveles de antitoxina para una protección confiable de larga duración: >1,0 UI/mL.⁸

Para el desarrollo de la investigación se cumplieron los principios enunciados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, que establece los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos.⁹ El presente trabajo forma parte de un proyecto de investigación aprobado por el comité de ética del Centro Nacional de Genética Médica. Se obtuvo el consentimiento informado de los tutores para incluir los pacientes en el estudio.

Resultados

La edad media de los pacientes fue de 6,8 años con un rango de edad de 2 meses a 14 años, el 75,0% de los pacientes tuvo 5 o más años de edad y el 62,5% (5/8) fueron del sexo femenino.

Las infecciones recurrentes respiratorias fue la manifestación clínica de sospecha de disregulación inmune más frecuente presentada por los pacientes del estudio (Figura1).

De los pacientes estudiados ninguno presentó aumento de las Igs (Figura 2). En cambio, el 50% presentó una disminución de al menos un isotipo de Igs séricas, siendo el déficit de IgG el más frecuente. Ningún paciente presentó déficit de IgA. De los pacientes estudiados solo 2 presentaron disminución de subclases de IgG.

^V Licenciada en Enfermería. Máster en Asesoramiento Genético. Profesor Instructor. Hospital Pediátrico Juan Manuel Márquez.

^{VI} Licenciada en Tecnología de la Salud. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba.

^{VII} Licenciada en Bioquímica. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana. Cuba.

Figura 1. Manifestaciones clínicas de sospecha de disregulación de la respuesta inmune en pacientes pediátricos cubanos con neurofibromatosis tipo 1.

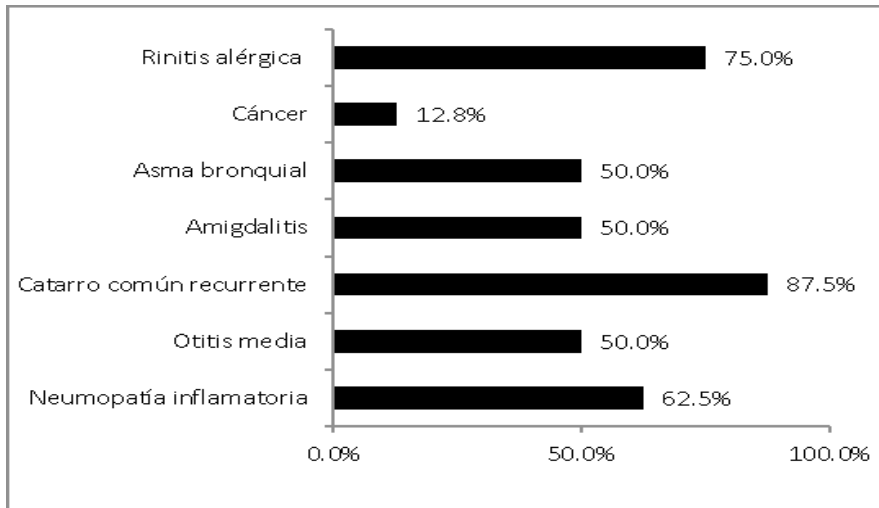
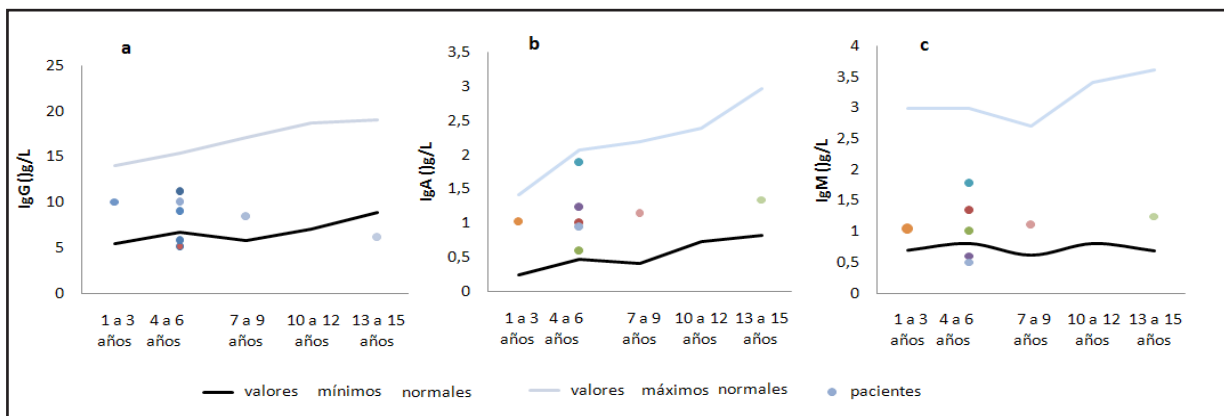
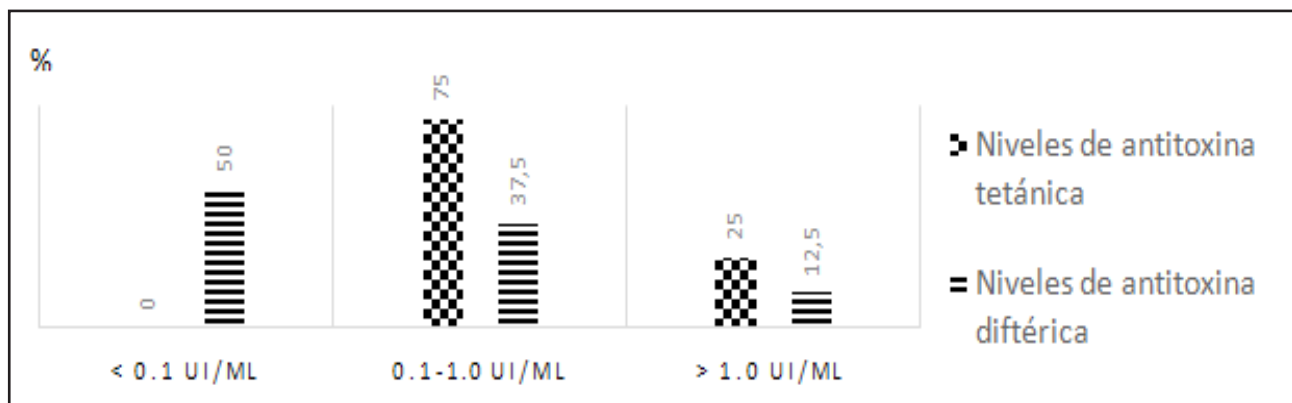


Figura 2. Niveles séricos individuales de Inmunoglobulinas G (a), A (b) y M (c) en pacientes pediátricos cubanos con Neurofibromatosis tipo 1 según edad.



La mayoría de los pacientes (75,0%) estudiados presentaron niveles de antitoxina tetánica para una protección confiable y solo el 25% tuvo niveles de protección confiable de larga duración (Figura 3).

Figura 3. Niveles séricos de antitoxina tetánica y diftérica en pacientes pediátricos cubanos con Neurofibromatosis tipo 1.



La respuesta de anticuerpos frente a la toxina diftérica fue deficiente, la mitad de los pacientes de este estudio presentaron niveles de antitoxina diftérica no adecuados para conferir protección frente a esta toxina y solo un reducido número de pacientes (12,5%) presentó niveles de protección de larga duración.

Discusión

Aunque no es frecuente encontrar reportes de infecciones recurrentes del sistema respiratorio en pacientes con Neurofibromatosis, hay que destacar que el 75,0 % de los niños estudiados presentaban una alteración de la respuesta inmune humoral (Figuras 2 y 3), ya sea defectos en la cuantificación de Igs séricas o subclases de IgG; y en los pacientes con déficit de estos componentes de la repuesta inmune humoral otros investigadores plantean que las infecciones respiratorias recurrentes son las principal manifestación clínica de defectos de anticuerpos.¹⁰ Bonilla FA et al.,¹¹ reportan que el 35,0% de los pacientes con defectos de anticuerpos debido a inmunodeficiencia variable común fallecen por fallo respiratorio por enfermedad pulmonar crónica.

En los casos estudiados ningún paciente presentó déficit de IgA, contrario a lo que se plantea en la literatura, pues esta es la inmunodeficiencia más frecuente encontrada.¹¹

El 83,3% (5/6) de los pacientes con déficit de algún isotipo de inmunoglobulina o subclase de IgG tenían más de 3 años de edad, lo que hace poco probable el diagnóstico de hipogamaglobulinemia transitoria de la infancia, aunque más recientemente algunos autores plantean que esta inmunodeficiencia puede prolongarse hasta los 4, 5 o incluso hasta los 6 años de edad, sin embargo no es lo frecuente.¹²

El déficit de subclase de IgG2 encontrado en dos de los pacientes estudiados se asoció a manifestaciones de infecciones y alergias respiratorias recurrentes. En la literatura, el significado clínico del déficit de subclases de IgG es controversial y el de mayor importancia clínica es el déficit de IgG2, asociado a infecciones por gérmenes encapsulados, esta alteración fue encontrado en uno de los pacientes del estudio.¹³

En la literatura revisada no se encontraron trabajos sobre la asociación de disregulación del sistema inmune como inmunodeficiencias o enfermedades autoinmunes y autoinflamatorias en pacientes con neurofibromatosis tipo 1. Sin embargo, es conocido que esta enfermedad es una RASopatía, donde las mutaciones en la línea germinal de genes que codifican proteínas componentes de esta vía interfieren con el normal proceso de progresión del ciclo celular, apoptosis, motilidad del citoesqueleto, y

en el proceso de tolerancia de las células B y procesos autoinmunes y autoinflamatorios, por lo que en estos pacientes se espera encontrar un riesgo incrementado a la autoinmunidad y malignidad.^{4,5}

En este trabajo se encontró un predominio de inmunodeficiencia mayor que un aumento de la producción de anticuerpos. Aunque en las RASopatías y enfermedades asociadas a estas, como en la enfermedad leucoproliferativa autoinmune asociada a RAS y el síndrome linfoproliferativo tipo IV, puede existir una mayor susceptibilidad a las infecciones y se describen inmunodeficiencias dentro de sus manifestaciones clínicas, lo más frecuente es encontrar linfoproliferación con aumento de linfocitos B y autoanticuerpos.^{4,14}

El déficit de anticuerpos presente en estos pacientes predispone a la infecciones, y es conocido que este factor aumenta la probabilidad de desarrollar tumores y procesos autoinmunes,¹⁵ lo que sumado a que la mutación en esta enfermedad genética afecta un gen supresor de tumor hace aún mayor esta predisposición, por lo que todos los pacientes fueron tratados intensivamente según el defecto inmunológico y de manera integral para mantener una buena salud, bienestar y potenciar la función de inmunovigilancia frente al cáncer.

Ochoa⁷ y colaboradores en un estudio en recién nacidos y niños preescolares cubanos sin enfermedad genética, encontraron que el 64,8 % de los pacientes estudiados presentaron niveles para una protección confiable de larga duración frente a esta toxina, lo que difiere de los resultados encontrados en este trabajo donde solo el 25% presentó protección de larga duración.

La respuesta de anticuerpos frente a la toxina diftérica en el 50% de los pacientes estudiados fue deficiente. En un estudio realizado en Cuba¹⁶ se reportó que el 30% de niños sin enfermedad genética presentaron niveles no protectores contra la toxina diftérica.

La defectuosa respuesta a la vacunación frente al toxoide tetánico y diftérico en los pacientes del estudio puede deberse a la deficiente respuesta inmune humoral identificada en el 75,0% de los pacientes. Algunos autores enfatizan que en neonatos o infancia temprana la inmadurez de la respuesta inmune adaptativa debe ser considerada la principal causa de defectos de la síntesis de anticuerpos pos vacunación, aunque se han identificado otros factores como la variabilidad genética del complejo principal de histocompatibilidad, y de genes de diversas citocinas como el interferón gamma, IL-4, IL-4R, IL-10, IL-10RA, IL-12B, y factor de necrosis tumoral (TNF).¹⁷

Las alteraciones encontradas en la respuesta inmune

de estos pacientes puede estar relacionada con fallos de la regulación en las vías de señalización (RAS/MAPK) que inducen alteraciones en la respuesta inmune innata y adaptativa, proliferación de células tumorales, resistencia a la insulina, desarrollo de enfermedades neurológicas, degenerativas, fallos en el control de infecciones y autoinmunidad.^{18,19}

Conclusiones

En los pacientes con neurofibromatosis tipo 1 pueden presentarse manifestaciones clínicas de disregulación inmune fundamentalmente infecciones respiratorias y manifestaciones alérgicas recurrentes. Las alteraciones de la respuesta inmune humoral encontradas fueron el déficit de anticuerpos con

predominio de la deficiencia en la respuesta frente a antígenos vacunales.

Es importante que en pacientes con neurofibromatosis tipo 1 se tenga en cuenta el riesgo incrementado de alteraciones de la respuesta inmune y por tanto la mayor predisposición al desarrollo de procesos autoinmunes, neoplásicos y linfoproliferativos. Por lo que es favorable que estos pacientes sean evaluados por un especialista en inmunología.

Recomendaciones

Se recomienda ampliar el estudio a un mayor número de casos e incorporar el estudio de la respuesta inmune celular.

Referencias bibliográficas

1. Raje N, Dinakar C. Overview of Immunodeficiency Disorders. *Immunology and allergy clinics of North America*. 2015;35(4):599-623.
2. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#162200}: [último acceso: noviembre 2017 de 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.
3. Calvo KR, Price S, Braylan RC, et al. JMML and RALD (Ras-associated autoimmune leukoproliferative disorder): common genetic etiology yet clinically distinct entities. *Blood*. 2015;125(18):2753-8.
4. Hernández-Martín A, Torrelo A. Rasopatías: trastornos del desarrollo con predisposición al cáncer y manifestaciones cutáneas. *Actas Dermosifiliogr*. 2011;102(6):402-16.
5. Soldin SJ, Bailey J, Beatey J, et al: Pediatric reference ranges for immunoglobulins G, A and M on the Behring nephelometer. *Clin Chem*. 1996; 42:S308.
6. Primary Immunodeficiency. Diagnostic Assays for the Investigation of Primary Immunodeficiency [en línea] 2011. [citado 18 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://info.thebindingsite.com/blog/?Tag=Primary+Immunodeficiency>
7. Rodríguez Pelier CV, Martínez Téllez G, Torres Rives B, Zúñiga Rosales Y, Alles Gustavo A, Martínez Perera A. Estandarización y validación de un ELISA para la cuantificación de antitoxina tetánica en suero humano. *Rev haban cienc méd*. 2013;12(4)
8. Ochoa Azze RF, Martínez Rodríguez JC, Ferriol Marchena XR, Sotolongo Padrón FT. Niveles de antitoxina tetánica y diftérica en recién nacidos y niños preescolares cubanos. *Rev Cubana Med Trop*. 2006;58(1):44-9
9. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. World Medical Association. *Clinical Review & Education* [en línea]. 2013 [citado 18 de noviembre de 2017]. Disponible en: http://www.up.ac.za/media/shared/Legacy/sitefiles/file/45/2875/declarationofhelsinki_fortaleza_brazil2013.pdf
10. McCullagh BN, Comellas AP, Ballas ZK, Newell JD, Zimmerman MB, Azar AE. Antibody deficiency in patients with frequent exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *PLoS ONE*. 2017;12(2):e0172437.
11. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(1):38-59.
12. Karaca NE, Aksu G, Gulez N, Yildiz B, Azarsiz E, Kutukculer N. New laboratory findings in Turkish patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2010;9(4):237-43.
13. Wolf HM, Thon V, Litzman J, Eibl MM. Detection of Impaired IgG Antibody Formation Facilitates the Decision on Early Immunoglobulin Replacement in Hypogammaglobulinemic Patients. *Frontiers in Immunology*. 2015;6:32.
14. Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol*. 2015;35(8):696-726.
15. Lahera ST. Conexión entre la inmunodeficiencia primaria y autoinmunidad. *Rev Cubana Hemat Inmunol y Hemot*. 2010;26(1):198-205.
16. La Rosa D, Montesino S, Bezos L, Gómez E, Valmaseda T, Alerm A, Ochoa R. Lactancia materna y respuesta humoral contra vacunas de toxoide tetánico y diftérico en niños de 2 años. *VacciMonitor*. 2011;20(3):9-13.

17. Szczawinska-Poplonyk A, Breborowicz A, Samara H, Ossowska L, Dworacki G. Impaired Antigen-Specific Immune Response to Vaccines in Children with Antibody Production Defects. Plotkin SA, ed. *Clinical and Vaccine Immunology: CVI*. 2015;22(8):875-882.
18. Soares-Silva M, Diniz FF, Gomes GN, Bahia D. The Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathway: Role in Immune Evasion by Trypanosomatids. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:183.
19. Hernández-Flores D., Valor L. Los inhibidores de las proteínas-cinasas en enfermedades autoinmunes e inflamatorias: presente y futuro de nuevas dianas terapéuticas. *Reumatol Clin*. 2016;12(2):91-9