

11220
2ej. 10



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

*Facultad de Medicina
División de Estudios Superiores
Instituto Mexicano del Seguro Social
Hospital de Especialidades
Centro Medico Nacional*

**DESGRANULACION DE BASOFILOS:
USOS CLINICOS**

Tesis Recepcional

*Que presenta para obtener el Título de la
Especialidad en Alergia e Inmunología Clínica*

Dra. Nora Hilda Segura Méndez

México, D.F. Febrero de 1989
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Concluyó entonces, que esta prueba es la respuesta -- específica del basófilo a un antígeno específico, y puede usarse como prueba de la presencia de anticuerpos circulantes en -- una reacción de hipersensibilidad inmediata.

Middleton en 1960 estudió los aspectos cuantitativos de la liberación de histamina por los leucocitos en pacientes -- atópicos, encontrando que su liberación puede ser inducida por concentraciones de polenes tan pequeñas como 0.01 ug/PUN/L, --- pero cuando la cantidad de antígeno es excesiva, la liberación de histamina es inhibida, mostró también que la fenilbutazona y otros antipiréticos como los salicilatos y benzoatos inhiben -- esta liberación a concentraciones de 1.5×10^2 (1).

Friedlaender en 1961 muestra que la desgranulación de basófilos puede ser un indicador de la reacción antígeno anticuerpo, y puede ser mayor con algunas porciones del antígeno, -- como es el caso de la ambrosía con la fracción C de su antígeno, realizó estudios donde demuestra que la administración IV -- del antígeno, es capaz de producir shock anafiláctico que se -- asocia a basopenia periférica con reposición gradual días después. El autor al igual que Shelley sugiere que el sistema mastocito/basófilo tiene respuestas paralelas y propone que ambas -- células liberan el complejo histamina-heparina en una reacción -- alérgica, mostrando que los esteroides y los antihistamínicos -- pueden inhibir el fenómeno de desgranulación. Por otra parte la desgranulación de basófilos puede ser observada en individuos -- normales por manipulación y tinción de éstas células. (3).

Estudios posteriores de Shelley muestran que en estados alérgicos agudos los basófilos presentan desgranulación in vivo e in vitro.

La desgranulación de basófilos puede ser alterada por

múltiples factores como la lipemia, que es capaz de inducir --- cambios en su interior. La ingesta de mantequilla y margarina - en cantidad de 4mg/kg son igualmente efectivas para inducir desgranulación de basófilos, persistiendo sus efectos seis horas - después de su ingesta, niveles sanguíneos de 8mEq/L de triglicéridos se asocian a desgranulación de basófilos en el 75% de los sujetos. no existe sin embargo correlación entre los niveles -- sanguíneos de fosfolípidos y colesterol con el porcentaje de -- desgranulación, existe en cambio correlación entre el porcentaje de desgranulación y el nivel sanguíneo de ácidos grasos.(4).

La penicilina constituye una causa frecuente de hiper sensibilidad a medicamentos, presente en más del 10% de los pacientes, Shelley en 1963 utilizó la desgranulación de basófilos para la confirmación del diagnóstico de alergia a la misma. Estudió 275 pacientes con historia clínica de reacción a penicilina, por técnica directa e indirecta de desgranulación siendo -- negativa en 66 de 77 pacientes con reacción reciente y positiva en 38 de 77 esta última POR MÉTODO DIRECTO. La desgranulación - de basófilos fué negativa cuando se realizó en tiempo menor a - dos semanas después de la presentación del cuadro clínico o más de 2 años.(6).

La prueba de hipersensibilidad cruzada fué positiva - con oxacilina, penicilina G potásica o sódica, confirmando que la adición de clorofeniramina o prednisona previa al exámen --- puede bloquear la libre ración de gránulos. Concluye que una -- prueba negativa indica sólo ausencia de anticuerpos el día de - la prueba, pero no predice el potencial alérgico del paciente, - además el uso de oxalato como anticoagulante altera el resultado ya qu se requiere la presencia de calcio para la realización de la prueba.

Se observó además que frecuentemente la prueba es ne-

gativa por depresión de anticuerpos una a dos semanas después - de la presencia de shock anafiláctico pero este estado anérgico es temporal, concluyendo entonces que la desgranulación de basófilos es tiempo-dependiente y útil como índice de hipersensibilidad para medicamentos.(8).

Braumen y Forbes estudiaron 112 pacientes con reacción alérgica a salicilatos y la prueba de desgranulación de basófilos fué positiva en 75 de ellos. Es conveniente agregar -- además que esta pruebas requiere de un buen citólogo y memoria visual. Estos autores encontraron también que es frecuente el antecedente de padres con alergia a drogas en pacientes con hipersensibilidad a medicamentos.

Otra aplicación de la prueba de desgranulación de basófilos es el diagnóstico de hipersensibilidad a insectos, en 1965 Shilley realizó estudios con 20 pacientes con reacción de hipersensibilidad a veneno de abeja encontrando que el 60% de los pacientes mostraban desgranulación positiva.(9).

La desgranulación de basófilos es sólo un criterio de hipersensibilidad inmediata y puede ocurrir en condiciones no alérgicas, 11 pacientes portadores de urticaria con pruebas cutáneas negativas y antígenos negativos presentaron desgranulación en rangos de 21-25%.(11).

Lichtenstein y Osler postulan que la desgranulación es una reacción citotóxica que involucra una lesión delular inicial por imbalance osmótico pero se ignora si la liberación de histamina puede ocurrir sin desgranulación, aunque obtuvieron en la desgranulación anticuerpos reaginicos y hemaglutinantes con un mínimo de dos inmunoglobulinas involucradas aunque ignoran su tipo.(12).

En 1971 Ishizaka demostró que la IgE causa desgranulación de basófilos y que no se encuentra de manera específica en otras células, mostrando que la concentración óptima de anti -- IgE capaz de desgranular basófilos a máximo nivel correlaciona con la concentración de histamina siendo ambos inhibidos por -- EDTA, teofilina o AMPc lo que sugiere que tienen vías enzimáticas comunes.

El porcentaje de desgranulación es generalmente menor al porcentaje de histamina liberada y ésta no es cuantitativamente paralela a la liberación de histamina.(14).

Se han realizado estudios mostrando la correlación entre la desgranulación de basófilos por método directo y pruebas cutáneas usando extractos de alimentos con los siguientes resultados; la correlación entre pruebas cutáneas positivas y una historia clínica sugestiva son de menos de 90%, la correlación entre desgranulación positiva e historia clínica sugestiva es de 86% y la correlación entre historia clínica sugestiva, -- pruebas cutáneas y desgranulación positiva fué de 92%. Solfer concluye que la desgranulación de basófilos es útil en el diagnóstico de alergia a medicamentos sin el peligro de las pruebas de provocación.(17).

Conviene tomar en cuenta sin embargo que la antigenicidad de los alimentos parece ser menor que la de los polenes -- ya que a concentraciones iguales la desgranulación es menor para alimentos, además de que aún no existen métodos que garanticen una correcta extracción del antígeno en alimentos.(18).

Mumcough en 1980 realizó estudios en pacientes sensibles a piquete de insecto mostrando una correlación del 60% entre Rast y desgranulación de basófilos positiva con una desviación estandar de 1.74, recordemos sin embargo que los extractos

para rast pueden no ser los mismos que se requieran para rea--
lizar una desgranulación y existen muchos factores inespecífi--
cos capaces de causar desgranulación de basófilos.(19).

Se ha pretendido además utilizar un contador automá--
tico de basófilos para estandarizar mejor los resultados e la--
desgranulación de basófilos pero se ha comprobado que el ojo de
un buen citólogo es mejor(19).

Una aplicación reciente de la desgranulación de basófil
os ha sido en los estudios farmacológicos de diversas sustan--
cias y la estandarización de alergenos basados en el método de
Possoné ya que puede proporcionar información valiosa a cerca -
de la actividad de los extractos alérgicos que no puede obtener
se con una prueba serológica como el rast.(21).

JUSTIFICACION

En los últimos años se ha incrementado el uso de diversos medicamentos de los cuales no es posible conocer el potencial alérgico, incrementándose el número de pacientes diagnosticados como "alérgicos a los mismos". De acuerdo a la literatura mundial el 10% de los pacientes que acuden a consulta --refieren cierto grado de hipersensibilidad a medicamentos, --principalmente analgésicos y antimicrobianos, nuestro hospital y especialmente el servicio de Alergia e Inmunología Clínica --recibe aproximadamente 25 interconsultas mensuales para confirmar o descartar dicho diagnóstico. Siendo el diagnóstico de alergia a medicamentos un problema grave consideramos conveniente revizar nuevamente técnicas de laboratorio que puedan ser --una ayuda diagnóstica para realizar el manejo de pacientes con diagnóstico de alergia a drogas, la desgranulación de basófilos es una de ellas.

OBJETIVO

Valorar la utilidad de la desgranulación de basófilos para confirmar el diagnóstico de Alergia a Medicamentos.

-Conocer los fármacos que con mayor frecuencia causan reacciones de hipersensibilidad.

-Mostrar los cuadros clínicos más frecuentes en estos pacientes.

-Conocer el tiempo ideal para obtener resultados confiables con esta prueba.

HIPOTESIS

La desgranulación de basófilos es una prueba útil para confirmar el diagnóstico de alergia a medicamentos pero es tiempo dependiente y útil sólo cuando la hipersensibilidad al

medicamento esta mediada por IgE o algún otro anticuerpo tipo -
reagins.

MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se realizó en el Hospital de Es--pecialidades de Centro Médico Nacional, IMSS en el período com--prendido entre el 1 de mayo de 1988 y el 30 de agosto del mismo--año, es un estudio longitudinal y observacional.

Se estudiaron pacientes enviados al servicio de aler--gia e inmunología clínica con el diagnóstico de alergia a medi--camentos aplicándose los siguientes criterios de inclusión:

-Pacientes con tres o más de los siguientes criterios--de Orrer.

-La reacción no es inicial, existe exposición previa.-

-Tiene lugar a pequeñas dosis.

-La reacción se presenta en un pequeño porcentaje de--la población.

-La reacción alérgica no se parece a la farmacológica--del medicamento ni a los síntomas de la enfermedad.

-Disminución o desaparición de los síntomas 3-5 días -después de suspender el medicamento.

-Suspensión en la ingesta de esteroides y antihistamí--nicos una semana antes de su ingreso al estudio.

Criterios de no inclusión:

-Aquellos que no reúnan los criterios de inclusión.---

A su ingreso al estudio se realizaron toma de muestras -para exámenes de laboratorio que incluyen BCH, química sangui--nea, exámenes general de orina, y cultivos bacteriológicos, es--tos últimos sólo cuando existía sospecha clínica de proceso in--feccioso concomitante. Se tomaron muestras de sangre para des--

granulación de basófilos a su ingreso considerando esta muestra como 0, posteriormente a 15, 30, 45, 60, 90 y 120 días. --

Se solicitó el consentimiento de cada paciente explicando las características y objetivo del estudio.

Se utilizó la técnica de desgranulación de basófilos directa modificada. Se utilizó 20ml de sangre heparinizada de cada paciente, por centrifugación se obtuvo paquete celular de blancas, preparándose además el medicamento a diluciones de --- 1:100, 1:1000 y 1:2000 con solución fisiológica al 0.9%. Posteriormente se pusieron en contacto alicuotos de células blancas con el medicamento a diferentes diluciones, incubándose a 37°C por 20 minutos.

Realizando después frotis de células previamente teñidas con rojo neutro, ya fijadas se tiñen con azul de toluidina. Como control se usaron células blancas del mismo paciente sin administración del medicamento.

Se leen al microscopio contando 1000 células y los basófilos que en ellas se encuentran, comparando entonces el número de basófilos del control con el encontrado en el frotis -- problema.

CONTROL _ PROBLEMA
X 100
CONTROL

Se tomaron como positivas aquellas muestras de pacientes con dos o más desgranulaciones mayores del 20% respecto al control.

Los medicamentos utilizados durante el estudio fueron

divididos por su acción terapéutica en antimicrobianos, analgésicos, hormonales y varios.

Por el tiempo de evolución los pacientes fueron divididos en cuatro grupos:

Grupo I evolución de 0-30 días, II de 31 días, grupo III más de 90 días de presentación del cuadro clínico y grupo IV control.

El grupo control se constituyó con individuos sin antecedentes de hipersensibilidad a medicamentos cuyas muestras fueron probadas con los siguientes medicamentos; xilocaína, trimetopim con sulfametoxazol, ácido acetilsalicílico y prednisona.

El análisis estadístico se realizó con la prueba de χ^2 .

RESULTADOS

Se estudiaron un total de 51 pacientes; 14 del grupo I, 7 del II, 16 del grupo III y 14 del grupo control.

La edad promedio fué de 39 años con un rango de 18-68 años. Del total de pacientes 41 fueron mujeres y 10 varones.

Los fármacos más frecuentemente involucrados en las reacciones de alergia a los mismos fueron por orden de frecuencia; ácido acetilsalicílico 14, naproxen 9, dipirona 5, fenilbutazona 4, acetaminofén 3, butilhioscina 3, clinolil 2, indometacina 2, piroxican 1 y dextropropoxifeno 1.

Las reacciones alérgicas a antimicrobianos fueron 41 casos; penicilina y derivados 15, trimetoprim con sulfametoxazol 10, eritromicina 5, cefalosporinas 2, tetraciclina 2, rifampicina 2, gentamicina 1, lincomicina 1, ácido nalidíxico, Hain 1, y etambutol 1.

Se presentaron además dos casos de reacción alérgica a hormonales; prednisona 1 e insulina 1.

Dentro del grupo de varios se agruparon fármacos que no es posible clasificar dentro de los tres grupos anteriores; xilocaína 4, D penicilamina 2, diazepam 2, ftiotepe 1, cimetidina 1 sales de aluminio y magnesio 1, furosemide 1 y complejo B1.

Los cuadros clínicos más frecuentemente asociados con alergia a medicamentos fueron; urticaria 21 casos, asma y rinitis 5, shock anafiláctico 4, necrosis epidérmica tóxica 2, dermatitis alérgica 2.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Existía el antecedente de hipersensibilidad a medicamentos en los padres en 6 casos que corresponden al 12%.

En 9 pacientes (18%) existían infecciones al presentar los pacientes el cuadro clínico, la más frecuente fué faringoamigdalitis.

La evolución clínica fué satisfactoria en el 98% de los casos con remisión del cuadro sin embargo uno persiste con urticaria y otra paciente posterior al cuadro clínico de necrolisis epidérmica tóxica desarrolló un cuadro clínico sugestivo de Lupus eritematoso sistemático y permanece en estudio.

Aplicando la prueba estadística encontramos los siguientes datos; la sensibilidad de los analgésicos para esta prueba fué de 100%, con especificidad del 62%, valor predictivo positivo de 57% y predictivo negativo del 100% con una p menor de 0.001.

La sensibilidad de la desgranulación de basófilos para antimicrobianos fué de 95%, especificidad de 53%, valor predictivo positivo de 51% predictivo negativo de 100% y p menor de 0.0001. Para hormonales la sensibilidad fué de 20%. especificidad del 23%, valor predictivo positivo de 25% y predictivo negativo del 71% con p mayor de 0.20.

En relación al grupo control de pacientes para xilocaína 13 de los 14 pacientes presentaron desgranulación de basófilos negativa y sólo 1 positiva con desgranulación del 20%, para trimetoprim con sulfametoxazol los 14 pacientes del grupo control fueron negativos, en el caso del ácido acetilsalicílico todos los pacientes presentaron desgranulación negativa, con prednisona de 14 pacientes el grupo control 3 presentaron desgranulación positiva con porcentaje promedio del 20%.

En el caso de paciente con diagnóstico clínico de alergia a xilocaína la correlación entre la historia clínica y la desgranulación de basófilos fué de 100% y la correlación entre pruebas cutáneas y desgranulación de basófilos fué de 75%.

En el caso de pacientes con diagnóstico clínico de alergia a penicilina la desgranulación fué positiva en todos los casos aunque el MIF (factor inhibitorio de la migración) fué negativo lo que se considero dudoso dada la calidad del reactivo.

Un paciente fué positiva su desgranulación a cefalosporinas a dilución de 1:200,000 con porcentaje de desgranulación del 60% que disminuyó al 20% al ser retirado de la exposición frecuente y aque laboraba en los laboratorios farmacéuticos productores de estos fármacos.

Se comprobó en un paciente cruce antigénico entre D - penicilina y penicilina procaínica.

En el caso de una paciente que presentaba reacción alérgica a la insulina la desgranulación fué inicialmente del 63% y posterior a su desensibilización este valor disminuyó al 20% con mejoría clínica notable.

En tres de cuatro pacientes que presentaron shock anafiláctico por medicamentos la desgranulación de basófilos permanecía positiva aún dos años después del cuadro clínico.

El promedio de eosinófilos en todos los pacientes fué de 3% en sangre periférica, sin datos clínicos y de laboratorio de parasitosis intestinal.

El mayor porcentaje de desgranulación positiva se obtuvo 3 semanas después de la presentación del cuadro clínico con rango de 21-90 días con 39% de negatividad en estas fechas,

sin embargo si la muestra era tomada después de un promedio de 7.2 meses el 60% de los pacientes mostraban desgranulación negativa.

CONCLUSIONES

La desgranulación de basófilos es un método útil para confirmar el diagnóstico de alergia a ciertos medicamentos especialmente en el caso de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos y antimicrobianos pero no es útil en el caso de hormonales donde la sensibilidad es de 20% y la p mayor de 0.20.

El resultado de la desgranulación de basófilos es confiable cuando se realiza 3 semanas después de la presentación del cuadro clínico y antes de 7.2 meses, después de este tiempo la desgranulación es negativa en el 60% de los pacientes.

Es útil también para valorar problemas laborales como es el caso del empleado de laboratorio que presentaba asma y rinitis al envazar cefalosporinas con desgranulación positiva del 60% a dilución de 1:200,000 que disminuyó a 20% al ser retirado el paciente de su área de trabajo con remisión de su cuadro clínico.

Se confirmó también el cruce antigénico entre penicilina y D penicilamina.

La negatividad de esta prueba no descarta el diagnóstico de alergia a medicamentos, sólo valora el mecanismo de hipersensibilidad inmediata tipo I de la clasificación de Gell y Coombs (2,4).

En caso de confirmarse el diagnóstico de alergia a medicamentos debe suspenderse la ingesta del medicamento ofensor en forma definitiva y de todos aquellos que cruzan antígenicamente con el mismo.(6).

Esta prueba requiere de una interpretación cuidadosa,

deben tomarse en cuenta factores que afectan el resultado de la misma como es la lipemia postprandial por lo que la prueba debe realizarse en ayunas, previa suspensión de la ingesta de esteroides y antihistamínicos que inhiben la liberación de histamina.(4,6,14).

Conviene tener siempre presente que la fiebre es capaz de inducir desgranulación de basófilos al parecer por efecto tóxico.(14).

Existen otros medicamentos como la teofilina que deben también ser suspendidos a fin de realizar la prueba.

Sólo es factible su realización utilizando medicamentos que sean miscibles en agua, requiere de un buen citólogo y debe interpretarse a la luz de los hallazgos clínicos.

En resumen es una prueba útil para confirmar el diagnóstico de alergia a medicamentos mediada por mecanismo de hipersensibilidad tipo I que involucra la presencia de anticuerpos IgE y muy probablemente IgG, su negatividad no descarta el diagnóstico de alergia a medicamentos que es básicamente clínico y no tiene valor predictivo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Elliot Middleton; Same Biochemical Characteristics of Allergic Histamine Release From Leucocytes of Ragweed Sensitive-Subsets. J Allergy 31(5)448-453,1960.
- 2.- Sidney Friedberger; Observations of Basophil Degranulation-as an Indicator of Antigen Antibody Reaction J Allergy 36:1-370,1961.
- 3.- Walter Shilley; New Serological Test for Allergy in Man. Nature 4847;1181-1183,1962.
- 4.- Walter Shilley; Degranulation of the Basophil in Man Induced By Alimentary Lipemia. JAMA 61(116) 211-222,1962.
- 5.- Walter Shelley; Functional Cytology of the Human Basophil in Allergic Physiologic Reaction Technic and Atlas. Blood 19(2) 208-216,1962.
- 6.- Walter Shelley; Indirect Basophil Degranulation Test for -- Allergy to Penicillin and other drugs. JAMA 184(3)105-112,-1963.
- 7.- Walter Shelly; Methods of Observing the Basophil Leucocyte Degranulation Respose. Ann N.Y. Academ Sci 427-435,1964.
- 8.- Walter Shelly; Further Experiences With The Indirect Basophil Test. Arch Derm 91;165-170,1965.
- 9.- Walter Shelley; Basophil Induced By oral Poison Ivy Antigen Arch Derm 92;147-150,1955.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Elliot Middleton ; Same Biochemical Characteristics of Allergic Histamine Release From Neucocytes of Ragweed Sensitive Subjects. J Allergy 31(5)448- 453,1960.
- 2.- Sidney Friedberger: Observations of Basophil Degranulation as an Indicator of Antigen Antibody Reaction J Allergy 361-370,1961.
- 3.- Walter Shilley; New Serological Test for Allergy in Men. Nature 4847:1181-1183,1962.
- 4.- Walter Shilley; Degranulation of the Basophil in Man Induced By Alimentary Lipemia .JAMA 61(116) 211-222 1962.
- 5.- Walter Shilley : Functional Cytology of the Human Basophil in Allergic Physiologic Reaction Technic and Atlas. Blood 19(2) 208-216,1962.
- 6.- Walter Shelley: Indirect Basophil Degranulation Test for Allergy to Penicillin and other drugs. JAMA 184 (3)105- 112,1963.
- 7.- Walter Shelly ; Methods of Observing the Basophil - Leucocyte Degranulation Respose. Ann N.Y. Academ Sci 427-435,1964.
- 8.- Walter Shelley; Further Experiences With The Indirect Basophil Test. Arch Derm 91;165-170,1965.

- 10.- Kirshonam; the Basophil Degranulation Test a Review of -- Literature. Am J Med Sc 117-136,1967.
- 11.- K.R. Hays; Studies on the Degranulation of Human Basophil-Leucocytes in vitro. Br Med J 80;811-821,1968.
- 12.- T Hubscher; Role of Human reaginic and Hemagglutinating - Antibodies in the Indirect Rabbit Basophil Degranulation-Reaction. Int Arch Allergy 35;298-307,1969.
- 13.- S. Roger Hirsh; A new Method for Observing Basophil Degranulation and its Correlation with skin test. J Allergy -- Clin Immunol 45(2);115-117.
- 14.- Teruko Ishizaka; Degranulation of Human Basophil Leucocytes by anti E antibody. The J of Immunol 106(3)705-710,-1971.
- 15.- Hirsh Zastrow; Basphil Degranulation; A new Method of Observing its correlation with skin testing. J Allergy Clin-Immunol 50(6) 538-543,1972.
- 16.- Walter Shelley Spector; Rat Mast Cells Degranulation Test for Human Allergies not Recommended. JAMA 227(2)1448-1450, 1974.
- 17.- Morton Soeffer; the Direct Basophil Degranulation test -- and the Interactutanes Test. J Allergy Clin Immunologic - 56(2) 127-132,1975.
- 18.- Y Mumcoglu; Modified Basophil test in Diagnosos of Bee- and Wesp Ating Allergies. Allergy 35;335-340,1980.

- 19.- F. Leynadier; Automated Measurement of the Human Basophil - Degranulation. Allergy 36;239-244,1981.
- 20.- Sainete Landy; Standarditation of Basophil Degranulation -- for Pharmacological Studies. Immunological Methods 98;279-282,1987.