

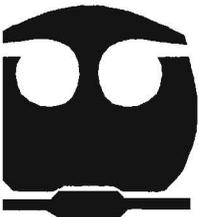


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN
PACIENTES CON DERMATITIS ATÓPICA (DA) TRATADOS
CON EXTRACTOS DIALIZABLES LEUCOCITARIOS (DLE)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A :
CATANA RAMÍREZ CARLOS



MEXICO D.F.

**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA**

2005

m. 345616



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Catana Ramirez Carlos

Jurado asignado:

FECHA: 20 Junio / 05

FIRMA: Catana

Presidente Prof. Misael González Ibarra
Vocal Prof. Mónica Berenice Heras Chavarría
Secretario Prof. Sonia Mayra Pérez Tapia
1er Suplente Prof. Rocio Hernández Alanís
2º Suplente Prof. Marco Velasco Velázquez

Sitio en donde se desarrollo el tema:

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) del Instituto Politécnico Nacional (IPN).
Departamento de Inmunología. Laboratorio de Inmunología Molecular II.



M. en C. Sonia Mayra Pérez Tapia
Asesor del Tema



Carlos Catana Ramirez
Sustentante

Agradecimientos:

A Dios:

Por permitirme cumplir con una meta mas en mi vida; por las bendiciones recibidas durante toda mi etapa académica y sobre todo por llenar mi vida de salud y fe para seguir adelante con mis objetivos y anhelos.

A mis padres:

A quienes no tengo palabras para agradecerles todos los cariños, regaños, enseñanzas y ejemplos que me han brindado durante toda mi vida y reconocer que mi mayor deuda es con ellos. Por que gracias a ustedes veo materializado una de mis grandes ilusiones, concluir con una carrera profesional.

A mi Papá:

Por estar siempre a mi lado, por sus consejos y motivaciones, por enseñarme a ser disciplinado, y más que ser un padre, ser mi amigo.
Gracias por tu confianza.

A mi Mamá:

Por ser un pilar en mi vida por sus experiencias y consejos transmitidos, por todo su amor y cariño recibido, por sus alegrías transmitidas y por ser un ejemplo de vida. Gracias por ser mi mamá. Una mamá excepcional.

A mis Hermanas Diana y Juana:

Por ser una parte de mi corazón, por todas las cosas que hemos vivido juntos, por sus consejos y motivaciones. Por su apoyo incondicional en cualquier momento. Por que este objetivo alcanzado, es un triunfo de los tres y no solo mío. Sobran las palabras para expresar mis sentimientos hacia ustedes saben que las QUIERO MUCHO.

A toda mi familia:

A mis abuelitos, tíos y primos que a pesar de no poder convivir o estar juntos, como quisiera, sus palabras de aliento en los momentos difíciles y toda su ayuda brindada, han sido un soporte fundamental en mi vida.

A Hayde:

Gracias por estar a mi lado, por comprenderme y por ser una parte especial en mi vida. Por todo el cariño, comprensión y los grandes momentos que hemos vivido juntos. Te quiero.

A Mary Carmen Camacho Valenzuela y su tía Ma. Concepción Valenzuela Guerrero. Gracias por sus palabras de aliento, por ayudarme a alcanzar un objetivo más en mi vida y por su espléndida hospitalidad. Mary, gracias por compartir tu espíritu científico innato, por ser una fuente de motivación y a quien considero un ejemplo de dedicación. Gracias por las largas horas de trabajo y de desvelo. Recuerda que más que ser mi amiga eres una parte de mi familia.

A Roberto Razo Paredes y familia:

Gracias Roberto por ser un gran amigo, por estar presente en cualquier momento, por tus consejos, críticas y regaños. Por tu apoyo incondicional y por la ayuda recibida en la elaboración de esta tesis.

Al Jazmín Club:

Belinda, Claudia, Alma, Anahí, Carlos Lugo, Adriana, Ángel, Cinthia, Norma y por supuesto a Jazmín.

Gracias amigos por estar conmigo siempre, por soportarme durante toda la carrera y por permitirme compartir con ustedes experiencias inolvidables. Solo nosotros sabemos lo mucho que nos queremos y el gran valor que le tenemos a la amistad.

A mis amigas y amigos:

Que han sido tan numerosos a lo largo de mi vida que corro el riesgo de olvidar a algunos, por lo que pido disculpas por adelantado. Marcela, Yolanda, Nayali, Juan Carlos, Manuel, Paola, Jay, Lorena, Marisol, Claudia Presas. Gracias por contagiarme de sus alegrías, triunfos y dejarme compartir mis experiencias con ustedes.

A la M. en C. Sonia Mayra Pérez Tapia:

Quien aceptó dirigir la presente tesis, por sus apreciables comentarios e implacables críticas. Por aguantarme cuando la depresión y el desánimo hacían mella en mí y me desaparecía por un buen rato. Por adentrarme al fascinante mundo de la inmunología y el FT. Y por ser ante todo mi amiga.

A la Dra. Iris Estrada y a todo su equipo de trabajo por el apoyo otorgado durante la realización de esta tesis. Por las facilidades recibidas durante mi estancia en su laboratorio.

A la M en C Mónica Heras Chavarría:

Por sus enseñanzas y consejos para mejorar el trabajo de tesis. Y por brindarme su amistad y motivarme con palabras de aliento en los momentos de desánimo

CONTENIDO

	Página
CONTENIDO	III
ABREVIATURAS	V
RESUMEN	VI
1. INTRODUCCIÓN	
1.1 La Piel.	
1.1.1 Aspectos Generales	1
1.1.2 Datos Histológicos	1
1.1.3 Funciones	2
1.2 Dermatitis Atópica (DA)	
1.2.1 Definición	3
1.2.2 Epidemiología	3
1.2.3 Etiología	4
1.2.4 Fisiopatología	4
1.2.5 Manifestaciones Clínicas	5
1.2.6 Mecanismos Celulares e Inmunológicos	6
1.2.7 Variantes Clínicas	7
1.2.8 Asociación con otros padecimientos	8
1.2.9 Diagnostico Diferencial	8
1.2.10 Tratamiento	10
1.2.11 Medidas Generales	10
1.2.12 Tratamiento Tópico	10
1.2.13 Tratamiento Sistémico	11
1.2.14 Tratamientos Alternativos	11
1.3 Extractos Dializables Leucocitarios y Factor de Transferencia	
1.3.1 Reseña Histórica	12
1.3.2 Características generales de los DLE's	14
1.3.3 Características generales del FT	15
1.3.4 Inmunoterapia con DLE y FT	16
1.3.5 Preparación de los DLE's	16
1.3.6 Estructura Química del FT	17
1.3.7 Especificidad del Factor de Transferencia	18
1.3.8 Mecanismo de Acción	18
1.3.9 Fuentes del FT	19
1.3.10 Resultados en la terapia con DLE conteniendo FT	19

Paginas

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	21
3. OBJETIVO GENERAL	23
4. OBJETIVOS PARTICULARES	24
5. HIPÓTESIS	25
6. MATERIAL Y MÉTODOS	26
7. SECCIÓN DE PROTOCOLOS	31
8. RESULTADOS	36
9. DISCUSIÓN	70
10. CONCLUSIONES	89
11. BIBLIOGRAFÍA	91

ABREVIATURAS

Ag .- Antígeno

CDR.- Determinantes de Complementaridad

DA.- Dermatitis Atópica

DLE.- Extractos Dializables Leucocitarios siglas en ingles Dialyzable Leukocyte Extract

DTH.- Prueba de Hipersensibilidad tardía

FT.- Factor de Transferencia

GMCSF.- Factor estimulante el crecimiento de granulocitos macrófagos

Ig .- Inmunoglobulina

IgE .- Inmunoglobulina E

IL .- Interleucina

INF γ .- Interferón gamma

MHCII .- Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II

RIC .- Respuesta inmune celular

TCR .- Receptor de linfocitos T

Th .- Linfocitos T cooperadores

RESUMEN

En la actualidad y como consecuencia del agitado ritmo de vida, que en ocasiones se presenta en las grandes ciudades, numerosas enfermedades o desórdenes relacionados con la piel se presentan e incrementan día con día.

Esto es el resultado de un cuidado nulo de la piel y al desconocimiento de las funciones importantes que desempeña en el organismo.

Sumando a la obvia propiedad de recubrir el cuerpo humano, la piel tiene una gran variedad de funciones incluyendo protección, termorregulación, impermeabilización, conservación de fluidos, como barrera frente a microorganismos y en la detección de estímulos sensoriales.

Es así, que los trastornos que se manifiestan en la piel, pueden ser de suma importancia para el individuo y si no son bien atendidos o tratados adecuadamente, pueden llegar a poner en peligro la vida de la persona, por dejarlo susceptible a diversos contaminantes, además de que el paciente se ve afectado también en su ámbito psicológico y social.

Las enfermedades inmuno-alérgicas son un conjunto muy importante de trastornos que por definición son sistemáticos, de evolución crónica y que se presentan desde edades muy tempranas. La Dermatitis Atópica (DA) es una de las más representativas junto con el asma y rinitis alérgica. Y es un ejemplo clásico de lo señalado anteriormente.

La importancia de la DA puede ser evaluada desde muchos puntos de vista, uno de ellos sería el epidemiológico, ya que se observa un incremento en su prevalencia en el ámbito mundial y nacional lo que presenta de manera global una asignación del gasto en salud de un país.

Otro aspecto, es el clínico, que no va separado con el punto anterior, ya que al ser mal diagnosticado incrementa las complicaciones y por ende la desviación de recursos para la atención de un sujeto o población.

La DA ha sido objeto de innumerables intentos de tratamiento, no solo por sus manifestaciones dermatológicas, sino también por sus repercusiones desde el punto de vista biológico en el sistema inmune, tegumentario y respiratorio entre otros.

Resaltando las alteraciones producidas en el sistema inmunológico en pacientes con DA y en busca de nuevos tratamientos para este grupo de enfermos, se han empleado los Extractos Dializables Leucocitarios (DLE) de forma eficaz para tratar este padecimiento, sin embargo los mecanismos efectores se desconocen. Por lo anterior, la finalidad del presente trabajo, fue evaluar la respuesta terapéutica e inmunológica en pacientes con DA tratados con Factor de Transferencia (TRANSFERON), comparándolos con pacientes tratados con tratamiento convencional (HIDROXICINA).

1. INTRODUCCIÓN

1.1 La Piel

1.1.1 Aspectos Generales:

La piel es el órgano más extenso del cuerpo humano. Entre las diversas funciones que desempeña se encuentra la de proteger a los órganos y tejidos del cuerpo de los efectos adversos del medio ambiente y está expuesta también a las agresiones que viene del interior del mismo.

En términos inmunológicos es en la piel donde se llevan a cabo los primeros contactos con antígenos externos, por ser la primera barrera mecánica con la que cuenta el hombre para su protección.

La piel se deriva del ectodermo y mesodermo, el primero da origen a la epidermis, folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas, uñas, melanocitos y células de Langerhans, el mesodermo origina tejido conjuntivo, músculo piloerector, vasos y células de dermis (Arenas 1995).

1.1.2 Datos Histológicos:

En la piel se pueden distinguir tres estratos o capas constitutivas, estas son la epidermis, dermis e hipodermis, cada una diferente a la otra en constitución y funciones.

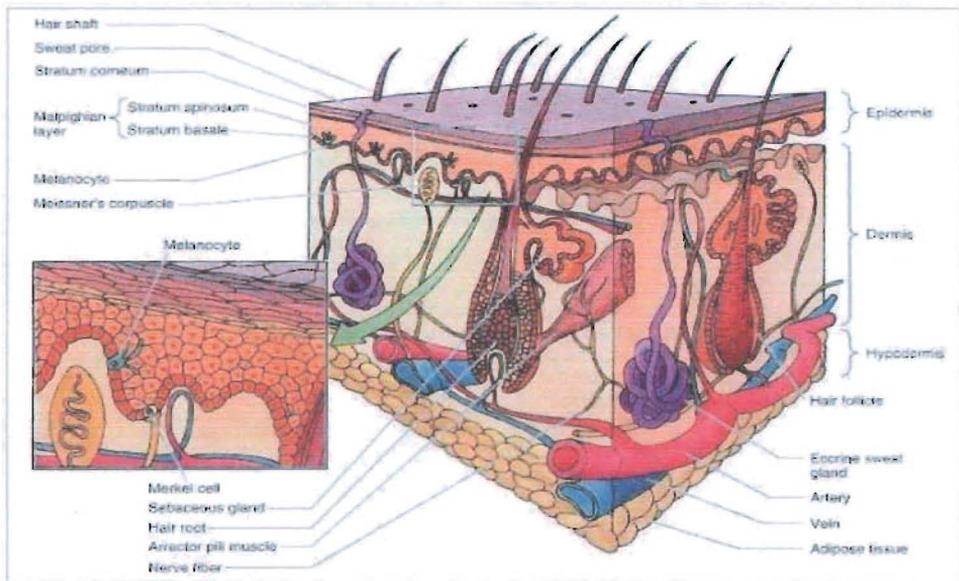
La epidermis está formada (del interior hacia la superficie) por varias capas. La primera es la basal o germinativa, constituida por una sola hilera de células cilíndricas basófilas: los queratinocitos, cada cinco a diez de éstos se intercalan células dendríticas, melanocitos y células de Langerhans (Anthony 1990, Arenas 1995).

La segunda capa es el estrato espinoso o de Malpighi, formado por varias capas de célula poliédricas unidas entre sí por puentes intercelulares o desmosomas. La siguiente es el estrato granuloso, constituido por células con granulaciones hematoxilínicas.

La última es el estrato córneo, muy grueso en las plantas y palmas, formado por células muertas aplanadas sin núcleo (Arenas 1995).

La dermis esta constituida por tejido conjuntivo, vasos, nervios y anexos cutáneos. Hay tres clases de fibras: colágenas, reticulares y elásticas. Se divide en superficial o papilar, media o reticular y profunda.

La hipodermis o tejido celular subcutáneo está formado por adipositos y tabique de tejido conjuntivo (Anthony 1990, Arenas 1995).



1.1.3 Funciones de la piel:

Queratínica, produce queratina
Melánica, sintetiza melanina
Sebácea, formadora de sebo
Sudoral, productora del sudor y otros solventes
Sensorial, perceptiva
Interviene en la regulación térmica, el control hídroelectrolítico y el metabolismo en general
Inmunológica

1.2 Dermatitis Atópica

1.2.1 Definición:

Es una enfermedad inflamatoria crónica y recidivante, manifestada por lesiones cutáneas con morfología y distribución típicas, de etiología multifactorial.

Se caracteriza por piel seca, prurito intenso, eccema y xerosis e historial personal o familiar de atopia (Asociación Mexicana de Pediatría 2001, Beirana 1999, Cazarín B 2001, Estrada P. 2002, Navarro C 1996).

1.2.2 Epidemiología:

La prevalencia de la dermatitis atópica (DA) ha tenido un incremento importante en los últimos años. En la población mundial pediátrica se reporta una prevalencia de 5 a 20% en sujetos de 6 a 14 años de edad. En México, no se cuenta con datos epidemiológicos de corte nacional. Sin embargo, en estudios locales realizados en el sur de la Ciudad de México y Cuernavaca se reporta una prevalencia del 16% en niños.

La DA representa el 20% de las consultas del dermatólogo pediatra y el 1% del pediatra general. En el 60% de los casos, la DA inicia antes del año de edad, principalmente en los 2 o 3 primeros meses de vida, y es así que el 90% ya se presenta antes de los 5 años de edad (Asociación Mexicana de Pediatría 2001).

La DA afecta de manera similar a ambos sexos y a todas las razas, pero es mas frecuente en la raza negra.

La DA se asocia en más del 50% de lo casos a otras enfermedades alérgicas como la rinitis alérgica o el asma. (Asociación Mexicana de Pediatría 2001).

1.2.3 Etiología:

La etiología de la DA es multifactorial y existen múltiples teorías que tratan de explicar las causas. Entre las más importantes están la genética, la inmunológica, y la metabólica, entre otras.

La DA puede exacerbarse por infecciones, alteraciones emocionales, exposición a alérgenos y factores fisicoquímicos que irritan la piel. Ver la siguiente tabla:

Factores desencadenantes en Dermatitis Atópica
Irritantes de contacto (irritación mecánica, jabones, solventes, conservadores, detergentes, lana)
Clima (especialmente de invierno y regiones con humedad baja)
Sudoración
Aeroalérgenos (ácaros del polvo casero, hongos, pólenes, epitelios de animales)
Infecciones (Staphylococcus aureus, Pityrosporum ovale, Candida y Tricophyton)
Alimentos (huevo, leche, soya, nueces, pescado, camarón y trigo)
Estrés y factores psicológicos

1.2.4 Fisiopatología de la DA

Considerando los factores genéticos, se ha observado antecedentes de atopia personal y/o familiar en el 50% a 70% de los casos. Hasta el momento no se conocen los genes que codifican su aparición, sin embargo, el fenotipo de los pacientes atópicos se asocia con los cambios en los cromosomas 11q13 y 5q31-33 (Beirana 1999). El primero codifica para un tipo de receptor de IgE ubicado en células dendríticas que tienen mayor afinidad por este anticuerpo. El segundo codifica la síntesis de interleucinas IL-4, IL-5, IL-13 y factor estimulante del crecimiento de granulocitos macrófagos, GM-CSF (Beirana 1999, Tofte S 2001).

1.2.5 Manifestaciones clínicas de la Dermatitis Atópica

El diagnóstico de la DA es básicamente de carácter clínico, sin embargo, las lesiones cutáneas varían ampliamente por lo que se han establecido criterios para su diagnóstico que se dividen en Mayores y Menores.

CRITERIOS MAYORES
1. Prurito
2. Topografía y morfología típicas
3. Dermatitis crónica y recurrente
4. Historial personal o familiar de atopía
CRITERIOS MENORES
1. Xerosis
2. Pruebas cutáneas positivas
3. IgE sérica elevada
4. Inicio en edad temprana
5. Tendencia a infecciones cutáneas
6. Dermatitis de la mano y de lo pies
7. Eccema del pezón
8. Conjuntivitis
9. Pliegue de Dennie Morgan
10. Queratocono
11. Catarata subcapular anterior
12. Oscurecimiento orbital
13. Eritema o palidez facial
14. Pityriasis alba
15. Pliegues anteriores del cuello
16. Prurito en la sudoración
17. Intolerancia a la lana, detergentes
18. Queratosis Pilar
19. Alergia a los alimentos
20. Curso influenciado por factores ambientales

Diversos autores han considerado que 3 o más criterios mayores y 3 o más criterios menores son necesarios para el diagnóstico. Sin embargo la presencia de los criterios mayores establece por sí misma el diagnóstico clínico de la DA.

La DA se caracteriza por una evolución crónica que cursa con exacerbaciones y remisiones. De acuerdo a la morfología de las lesiones se consideran 3 fases (Asociación Mexicana de Pediatría 2001):

- a) **Aguda:** Es la presencia de eccema que se caracteriza por eritema, vesículas, costras melicéricas y exudado seroso.
- b) **Subaguda:** Se caracteriza por placas eritemato-papulosas con descamación.
- c) **Crónica:** Cursa con liquenificación y costras hemáticas.

1.2.6 Mecanismos celulares e Inmunológicos de la DA

La patogenia de esta enfermedad y los mecanismos inmunológicos que la regulan aún no han sido completamente esclarecidos. Aunque diversos estudios han demostrado que en dicho padecimiento, los pacientes cursan con un perfil de citocinas tipo Th2, el cual se caracteriza por el incremento en la producción de IL-4 y disminución en la producción de INF gamma, por consiguiente los pacientes presentan un nivel elevado de IgE sérico y eosinofilia (Grewe M. 1998, Leung D. 2001).

Los componentes inmunológicos son múltiples y complejos. Llama la atención el desequilibrio entre los linfocitos T cooperadores (Th), observándose un predominio en la secreción de citocinas Th2 sobre Th1 (Ferry B, 1997).

Por otro lado, la eosinofilia es un marcador de la inflamación en las enfermedades atópicas. Se observa principalmente en la fase tardía de la respuesta alérgica cuando los pacientes se exponen en forma repetida a alérgeno. Liberan múltiples enzimas que producen daño tisular. (Rojas E. 2001).

El aumento en la degranulación de basófilos y mastocitos se estimula por factores inmunológicos (IgE) y no inmunológicos (opiáceos antiinflamatorios no esteroideos), al igual que la exposición a diferentes alérgenos ambientales (ácaros de polvo casero, pólenes, mohos y alimentos) estimula la producción de grandes cantidades de IgE específica, la cual se adhiere a mastocitos y basófilos que al reaccionar con alérgenos desencadenan su degranulación dando inicio al proceso inflamatorio alérgico.

Los pacientes con DA tienen una marcada tendencia para desarrollar infecciones bacterianas, virales y micóticas en la piel (Leung D. 2001, Rojas E. 2001).

Estudios recientes, en donde se han evaluado las alteraciones que presentan los pacientes que cursan con DA en sus poblaciones leucocitarias, se han encontrado diferencias significativas en las poblaciones celulares de linfocitos B CD19+, linfocitos T CD4+, eosinófilos y basófilos; los cuales reportan cifras elevadas al ser comparadas con un grupo testigo o control sano (Rodríguez F 2000, 2002).

Con respecto a la inmunoglobulina IgE, se ha observado que los niveles de IgE total se mantienen constantemente elevados en la etapa severa de la enfermedad; así como también en los estadios de remisión (Leung D. 2001)

1.2.7 Variantes clínicas de la DA

La DA de acuerdo a su localización puede manifestarse de diferentes formas:

- Localizada: párpado, peribucal, escroto, pezón.
- Diseminada: Invertida, fotosensible.

De acuerdo a su morfología se puede manifestar en formas especiales, como liquen simple crónico (dermatitis atópica localizada), eccema numular (dermatitis microbiana), dermatitis plantar seca o juvenil (Asociación Mexicana de Pediatría 2001).

1.2.8 Asociación con otros padecimientos

Es importante mencionar que la DA puede estar asociada con inmunodeficiencias (agammaglobulinemia ligada al sexo, síndrome de Wiskott Aldrich) enfermedades metabólicas (fenilcetonuria, enteropatía por gluten) entre otras.

La DA es una enfermedad benigna aunque por su evolución suele alterar la calidad de vida del paciente y sus familiares. Tiende a desaparecer en el 50% de los casos hacia el quinto año de vida y hasta en el 90% en la adolescencia. Sin embargo, en aquellos pacientes en los que la superficie afectada es mayor al 20% y en los que la respuesta al tratamiento es pobre, debe considerarse como una forma grave que amerita identificación y tratamiento especializado (Asociación Mexicana de Pediatría 2001, Beirana 1999).

Debe considerarse que en el 50% de los pacientes con DA pueden desarrollar en algún momento de su evolución otra manifestación de atopía como rinitis, conjuntivitis y asma alérgicas (Beirana 1999).

1.2.9 Diagnóstico diferencial

En vista de que en la DA se presenta la mayoría de las lesiones dermatológicas (xerosis, pápulas, placas eccematosas liquenificadas, escoriaciones, costras), el diagnóstico diferencial de la DA es extenso y se resume en la siguiente tabla:

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE DERMATITIS ATÓPICA

DERMATOSIS CRÓNICAS INFLAMATORIAS

- Dermatitis Seborreica
- Dermatitis por contacto
- Psoriasis

INFECCIOSA O INFESTACIONES

- Escabiosis
- Dermatofitosis
- Dermatitis asociada a infección por HIV

CONGÉNITAS

- Ictiosis
- Síndrome de Netherton

NEOPLÁSICAS

- Linfoma cutáneo de células T
- Histitosis X

INMUNODEFICIENCIAS

- Inmunodeficiencia de IgA
- Síndrome de Wiskot-Aldrich
- Digeorge, Inmunodeficiencia severa combinada
- Agamaglobulinemia
- Síndrome de Hiper IgE (Job's)
- Ataxia telangiectasia

DESÓRDENES METABÓLICOS

- Deficiencia de Zinc (dermatitis enteropática)
- Deficiencia de piridoxina (B6 y niacina) de carboxilasa y fenilcetonuria

1.2.10 Tratamiento de la DA

Al ser la DA un padecimiento multifactorial, antes de establecer un tratamiento adecuado; ya sea este de origen tópico o sistémico, es recomendable tomar en cuenta las siguientes consideraciones.

RECOMENDACIONES
EXPLICACIÓN DEL PADECIMIENTO
HIDRATACIÓN
LUBRICACIÓN
EVITAR ALÉRGENOS DESENCADENANTES

1.2.11 Medidas Generales

Por el carácter multifactorial de la DA, el tratamiento es motivo de grandes controversias, ya que en la actualidad no se tiene un tratamiento específico para tal padecimiento, en general, la terapéutica varía según la edad y el grado de afección.

La finalidad del tratamiento es controlar la aparición de brotes y actuar sobre factores etiológicos desencadenantes. Aunque el principio básico de cualquier tratamiento es prevenir el prurito, la sequedad y la inflamación.

Por ello se dice que el manejo de la DA hasta el día de hoy es sintomático, ya que ningún tratamiento conocido es curativo y las decisiones terapéuticas dependen, en un momento dado, de los hallazgos cutáneos.

1.2.12 Tratamiento Tópico

El principal objetivo de la terapia tópica es la protección de la piel del rascado y de los factores ambientales así como evitar o suprimir las lesiones inflamatorias y las infecciones secundarias si es que existen.

Forman parte el tratamiento tópico:

TRATAMIENTO TÓPICO
Emolientes
Agentes Queratolíticos
Astringentes y Antisépticos
Corticoides Tópicos
Antibióticos Tópicos

1.2.13 Tratamiento Sistémico

Algunas alternativas de tratamiento sistémico de la DA son mencionados en la siguiente tabla:

TRATAMIENTO SISTÉMICO
Antihistamínicos
Cromoglicato de sodio
Ciclosporina A
PUVA (Psoraleno+UVA)
Levamisol
Talidomida
Antibióticos sistémicos
Timopentina
Antivirales

1.2.14 Tratamientos alternativos

Aunque la mayoría de los pacientes responden a la terapia convencional, nuevas modalidades de tratamiento se han desarrollado, basadas en el conocimiento del proceso inflamatorio dirigidas principalmente al paciente de difícil control. Algunos de estos nuevos tratamientos son mencionados a continuación:

TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS
Inmunoterapia
Ascomicina
Tacrolimus
Anticuerpos Monoclonales
Modificadores de Leucotrienos
Ácido micofenólico y Mofetil Micofenolato
Interferon Gamma
Inhibidores de Fosfodiesterasa

1.3 Extractos Dializables Leucocitarios (DLEs) y Factor de Transferencia (FT)

1.3.1 Reseña Histórica

En los años cuarenta, estudios realizados por Landsteiner y Chase describieron por primera vez la transferencia de la respuesta inmune celular (RIC), de un donador inmune a uno no inmune, utilizando para ello células de exudado peritoneal de cobayos sensibilizados a tuberculina, para lo cual, las células de los animales sensibilizados eran transferidas a los receptores no sensibilizados, adquiriendo estos últimos la capacidad de expresar la RIC de los donadores (Landsteiner and Chase 1940).

A finales de los años cincuenta Lawrence demostró que la transferencia celular también era posible en humanos. Inicialmente utilizó linfocitos viables intactos de un individuo normal con una intradermoreacción (i.d) positiva a la tuberculina y las inyectó a un individuo con una i.d negativa a la tuberculina, ocasionando que este segundo individuo, presentara una respuesta intradérmica positiva. Aunque este descubrimiento no causó gran impacto en la comunidad científica de esa época; ya que en esos tiempos, los linfocitos eran estudiados desde un punto de vista hematológico, más que inmunológico (Lawrence 1949, Cabezas Q 1996).

En 1955 Lawrence y col. demostraron que la hipersensibilidad cutánea tardía o DTH, podía ser transferida utilizando extractos solubles de leucocitos provenientes de 20 ml de sangre total. Al componente activo de estos extractos celulares le nombraron "factor de transferencia" (FT). Para la realización de estos experimentos Lawrence utilizó donadores positivos para las i.d de antígenos tales como: coccidiolina, toxóide diftérico, proteína M de del estreptococos y PPD. En todos los casos los receptores eran individuos con i.d negativa, para estos antígenos; 24 horas después de haber recibido el FT, los receptores eran capaces de presentar reacciones de DTH positivas a los antígenos que eran reconocidos por los donadores y el efecto observado parecía ser antígeno específico.

En ese mismo año Lawrence dio a conocer que el FT podía pasar a través de una membrana de diálisis con un corte molecular de 20,000 Da sin perder su capacidad biológica, con lo cual se descartó la posibilidad de que los efectos atribuidos a el FT, fueran causados por anticuerpos. Y complicó más el entendimiento del posible mecanismo de transferencia. Lawrence creyó que estos dializados solo contenían una especie molecular. Actualmente se conoce que la preparación que originalmente se llamo FT, es un conjunto de moléculas llamadas extractos dializables leucocitarios o DLE's de su siglas en inglés Dyalizable Leukocyte Extracts.

En 1970 Levin y colaboradores reportaron la administración de un dializado leucocitario, que contenía Factor de Transferencia, mejorando la respuesta inmune celular y proveía de beneficios clínicos a pacientes con el síndrome de Wiskott-Aldrich.

Similares efectos han sido observados en pacientes con candidiasis mucocutanea crónica (un desorden con deterioro en la producción de citocinas) (Fudenberg and Pizza 1994).

Estudios recientes en ratones, han mostrado que la administración *in vivo* de FT, dota a los receptores murinos, la propiedad de responder a el correspondiente antígeno, con la secreción de IFN γ . La producción de IL-2, IL-

4 e IL-10, también fueron medidas, observándose que el tratamiento con el FT no afecta su producción (Kirkpatrick 2000).

El FT ha demostrado ser un medio efectivo para la corrección de las deficiencias de la inmunidad celular, en pacientes con enfermedades oportunistas. Tal como el recurrentemente Herpes Simple y suministrar profilácticamente inmunidad contra Varicela Zoster en pacientes con leucemias agudas (Fudenberg and Pizza 1994).

El mecanismo de acción y la estructura completa del FT aun no han sido determinados. Sin embargo, actualmente un modelo de la estructura funcional del FT, sugiere o describe una región constante, que sirve como sitio de enlace para las primeras células blanco o sitios de acción del FT (Kirkpatrick 2000).

Diferentes regiones de las moléculas del FT son hipotéticas, pero se cree que tienen una región variable con una secuencia de aminoácidos, que determina el epítoto específico del FT individual.

El bajo peso molecular del FT (aprox. 5000 Da) lo hace totalmente diferente de moléculas, tales como Inmunoglobulinas, moléculas del MHC y de los receptores de los linfocitos T. Esta aclaración se hace, por si se quisiera relacionar los efectos del FT con algunas de las moléculas ya mencionadas.

Es así, que en la actualidad se llevan a cabo numerosos estudios clínicos del efecto de los DLE en diversos padecimientos, observándose en la mayoría de ellos efectos benéficos. Pero también, una gran parte de la investigación realizada, esta enfocada en el estudio sobre el FT contenido en los DLE's, para encontrar su estructura química y posible mecanismo de acción.

1.3.2 Características generales de los extractos dializables leucocitarios (DLE's)

El DLE se obtiene como resultado del rompimiento del paquete celular o buffy coat de células linfoides, provenientes de una pinta de sangre (450 ml) o del bazo, seguido de una diálisis, obteniendo fracciones de bajo peso molecular. En el caso del DLE producido en la Escuela Nacional de Ciencias

Biológicas del IPN (TRANSFERON), las moléculas contenidas en el DLE están comprendidas en un rango de 1,000 a 12,000 Da.

Estos extractos contienen más de 200 distintas especies moleculares, de las cuales se han identificado moléculas como: Timiosina, prostaglandinas, hipoxantina y nicotínica (Fudenberg 1994).

1.3.3 Características Generales del Factor de Transferencia

1.- Son pequeñas moléculas con un peso aproximado entre los 3500 y 6000 Da.

2.- Son lábiles al calor.

3.- Son muy estables al frío (la actividad biológica del FT puede conservarse varios años a temperaturas de -20 a -70°C).

El Factor de Transferencia (FT), son pequeños péptidos, que "transfieren" la capacidad de contar con células mediadoras o transmisoras de la inmunidad celular de donadores inmunes a receptores no inmunes, además de contar con un papel inmunorregulador (Cabezas Q. 1996).

El término de Factor de Transferencia (FT), se ha reservado para los componentes del DLE que transfieren la respuesta de los linfocitos T, de manera antígeno dependiente y que tienen un peso molecular comprendido entre 3,500 y 5,000 Da. Esta fracción contiene una multitud de FTs que corresponden a la suma de las experiencias inmunológicas del individuo (Pérez T. 2001).

En el 2000 Kirkpatrick inmunizó ratones y vacas con ovoalbúmina, glicoproteína D del virus de herpes simples y transferrina, y a partir de bazos murinos o de leucocitos bovinos, logró purificar factores de transferencia específicos (TFe) para cada proteína. Estos TFe demostraron tener la capacidad de transferir en forma específica la DTH, y al analizar secuencias parciales de estas proteínas, se encontró una secuencia consenso: MXLLYAQDL/VEDN. Al probar el efecto biológico de esta secuencia (sintética), no fue capaz de transferir la DTH de forma específica, pero previno la transferencia con los TFe, por lo que se cree que se une al receptor del FT (Estrada P. 2002, Kirkpatrick 2000).

1.3.4 Inmunoterapia con DLE y FT

Los criterios de selección para los candidatos compatibles para dicha terapia, depende en muchos casos del grado y la naturaleza de la enfermedad en cuestión.

El tratamiento con DLE es utilizado en pacientes con defectos en su respuesta inmune, o bien en enfermedades neoplásicas intratables con otras terapias (por ejemplo, en un osteosarcoma).

Por lo tanto el uso hasta ahora del DLE, es solo en pacientes con enfermedades no susceptibles a un tratamiento convencional, en pacientes con respuestas fallidas a tratamientos previos o en donde el paciente puede llegar a desarrollar una alta toxicidad a los medicamentos dados.

DLE es usualmente administrado vía subcutánea o intramuscular, con ayuda de una inyección, sin embargo la administración oral es igualmente efectiva, puede ser dado en supositorios e incorporado en liposomas, persistiendo la actividad biológica por un largo periodo. Pero si se requiere de una rápida acción, este puede administrarse intravenosamente (Fudenberg, Pizza 1994).

Hasta la fecha los DLE no han reportado efectos adversos a su administración. Cuando es administrado intramuscularmente o subcutáneamente, puede haber la presencia de un ligero dolor en el sitio de la inyección de 10 a 20 min. Transitoriamente un grado de pirexia bajo puede ocurrir. Pero hasta la fecha no ha habido reporte alguno de reacciones de hipersensibilidad o de efectos adversos prolongados.

1.3.5 Preparación de los extractos dializables leucocitarios (DLE)

Usualmente se parte de células leucocitarias de pacientes sanos (de un grupo de 1000 personas). Las células obtenidas son lisadas por congelamiento y descongelamiento.

Los leucocitos lisados son subsecuentemente dializados a través de membranas con un corte de 12 KD. Posteriormente es liofilizado.

Una unidad internacional (I.U) de DLE ha sido definida como la cantidad de extracto derivado de 5×10^8 leucocitos, y es usualmente colocado en un vial de 5 ml aproximadamente.

1.3.6 Estructura química del FT

La mayoría de los estudios indican que el FT contiene ribonucleótidos unidos a pequeños péptidos, originando una estructura de oligoribonucleopéptido. Hubo cierta discrepancia entre diversos investigadores de todo el mundo en lo que se refería a esta estructura, llegándose a la conclusión de que todo dependía de la forma en la que se obtuviese el FT. Tal parece que el péptido y el oligoribonucleótido se unen *in vivo* y el rompimiento de esta unión destruye su actividad biológica (Fudenberg 1994).

El consenso general es que el FT pesa entre 3,500 y 6,000 Da. Si en realidad existe un FT único para cada antígeno, entonces es posible que los factores de transferencia varíen estructuralmente de una manera muy similar a como lo hacen las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de las regiones hipervariables de las inmunoglobulinas (Ig's) o del receptor de la célula T (TCR) (Pérez T. 2001).

Considerando el peso molecular y la composición de los diferentes FT's aislados hasta el momento, es factible que cada factor contenga por lo menos ocho aminoácidos; por lo tanto, si consideramos las posibles combinaciones con los 20 aminoácidos conocidos (aunque cabe mencionar que solo se han encontrado 18 de los 20, en FT's purificados) entonces deben existir varios millones de variaciones en la estructura primaria (818), y por lo tanto varios millones de FT's específicos para todos los diversos antígenos existentes (Kirkpatrick 1993).

1.3.7 Especificidad del Factor de Transferencia

Posiblemente una de las características más importantes y controvertidas del FT, sea que muestra especificidad, y ésta está dada por los antígenos utilizados para inmunizar al donador, o en forma más general, por los antígenos con los que ha tenido contacto. Lo anterior fue propuesto posterior a la realización de experimentos con antígenos sintéticos y microbianos (Fudenberg, Pizza 1994, Pérez T 2001).

Petersen en 1981 trabajando con ratones describe que la mayoría de los receptores no inmunes, adquieren RIC demostrable por DTH a la mayoría de los antígenos a los cuales los donadores responden, pero hay algunos antígenos a los que no responden. Después de 24h los animales receptores fueron retados con los diferentes antígenos empleados. Los ratones receptores solo reaccionaron a los antígenos con los que el donador había sido previamente inmunizado. Los controles utilizados en estos experimentos eran ratones que recibieron FT provenientes de animales no inmunes, estos animales no presentaron DTH para ningún antígeno, por lo que quedó descartada una actividad de adyuvante en el FT.

1.3.8 Mecanismo de acción

Aunque el mecanismo de acción exacto no se conoce, se han propuesto varias hipótesis para explicarlo: una de ellas es que el FT forma parte del TCR, si esto es cierto entonces el FT sería necesario para la activación de los Th, ya que la activación se efectúa al unirse el Ag a las MHCII de las células presentadoras de antígeno (APC). Esto se apoya en que el FT específico para PPD se une exclusivamente a PPD (Kirkpatrick 1993).

Otra hipótesis señala que el FT puede desbloquear o desreprimir poblaciones de linfocitos T, responsables de la inmunidad celular, y por lo tanto modular la misma. Ambas hipótesis aún no han sido comprobadas, haciendo falta más experimentos, ya que queda por explicar de qué manera se puede transferir la inmunidad a un receptor previamente no respondedor, en una forma totalmente específica (Pérez T. 2001)

1.3.9 Fuentes del FT

Los DLEs se pueden obtener de: linfocitos de sangre periférica, nodos linfáticos, bazo y placenta de varias especies. Como de gallina, pato, ratón, rata, conejo, vaca, cabra, caballo, de algunos primates y muchas otras especies incluyendo al hombre.

Además puede existir un entre cruzamiento lineal de especies, es decir, de cabra a gallina, de ratón a humano, de humano a cobayo y de ratón a rata, etc. Sin observarse efectos adversos o pérdida de la potencia.

1.3.10 Resultados en la Terapia con DLE conteniendo FT

En la siguiente tabla se mencionan algunos padecimientos donde las FT han tenido éxito terapéutico.

PADECIMIENTOS TRATADOS CON FT

I.- Inmunodeficiencias severas
A.- Defectos congénitos <ul style="list-style-type: none">• Síndrome de Wiskott-Aldrich• Ataxia telangiectásia• Síndrome de inmunodeficiencia severa combinada• Síndrome parcial de Di George• Disgamaglobulinemia con defectos en inmunidad celular

II.- Enfermedades Infecciosas

A.- Hongos

- Candidiasis mucocutánea crónica
- Histoplasmosis diseminada
- Coccidioidomicosis diseminada

B.- Virus

- Citomegalovirus
- Herpes zoster
- Sarampión
- Hepatitis
- VIH
- Otros

C.- Micobacterias

- Tuberculosis
- Lepra
- Mycobacterium fortuitum

D.- Protozoarios

- Leishmaniasis cutánea

E.- Cáncer (principalmente cuando tiene etiología viral)

- Osteosarcoma
- Hipemefroma
- Cáncer de mama
- Carcinoma nasofaríngeo

III.- Enfermedades Autoinmunes

A.- Enfermedades autoinmunes no órgano específico

- Lupus eritematoso crónico discoide
- Síndrome de Behcet

2.-JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

En los últimos años se ha observado un incremento en las enfermedades o alteraciones que sufre la piel; como resultado de un cambiante ritmo de vida, al que se ven sujetos la gran mayoría de las personas que habitan en las grandes ciudades y zonas conurbadas; aunado a esto la gran cantidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos con los que están en contacto.

Las enfermedades inmuno-alérgicas son un conjunto muy importante de trastornos que por definición son sistemáticos, de evolución crónica y que se presentan desde edades muy tempranas, la DA es una enfermedad representativa de este grupo. Es un padecimiento de etiología multifactorial por lo cual ha sido objeto de innumerables intentos de tratamiento; no solo por sus manifestaciones dermatológicas eminentes, sino también por sus repercusiones en el sistema inmunológico, tegumentario y respiratorio.

Los diferentes esquemas de manejo para dicho padecimiento son muy variados; siendo algunos de ellos de poca eficacia y con esquemas de tratamiento muy largos y de alto costo para el paciente.

Por lo que en la actualidad se trata de buscar un manejo integral de la enfermedad y no esquemas exclusivos de tratamiento.

Buscando alternativas nuevas para el manejo adecuado de la DA los Extractos Dializables Leucocitarios (DLE) se han utilizado con gran eficacia para el tratamiento de dichos pacientes. Los DLE son obtenidos a partir de donadores inmunes, teniendo la capacidad de transferir una repuesta inmune celular de forma antígeno (Ag) específica a personas no reactoras.

Aunque la naturaleza química y el mecanismo de acción de los DLE's aun no son plenamente identificados, se han utilizado desde hace varios años en el área clínica, ya que al transferir una respuesta inmune de tipo celular a personas con una inmunidad celular deficiente, se obtienen resultados muy favorables en el individuo ya sea de forma terapéutica y/o profiláctica.

A pesar de que los resultados obtenidos con los DLE's en el tratamiento de la DA son eminentes y que su uso en los últimos años se ha incrementado

en nuestro país; aun no es aceptado por los médicos como alternativa de tratamiento. Es por ello que en este trabajo experimental se propone el estudio de células linfocitarias de pacientes con DA, tratados con DLE. Producido en el Departamento de Inmunología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, para evaluar el efecto terapéutico e inmunológico que éste tiene sobre los pacientes, haciendo una comparación y evaluación con individuos con el mismo padecimiento, pero tratados convencionalmente.

3.- OBJETIVO GENERAL

Estudiar las subpoblaciones linfocitarias en células de sangre periférica, obtenida de pacientes que cursan con un cuadro de Dermatitis Atópica. Tratados con DLE's, específicamente con la preparación llamada TRANSFERON producida en la ENCB / IPN.

4.- OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el estado inmunológico del paciente antes y después del tratamiento recibido, mediante la realización de un perfil celular (Cuenta de Leucocitos Totales y Cuenta Diferencial).
- Evaluar y comparar como se modifican los parámetros inmunológicos de pacientes con DA tratados con TRANSFERON y pacientes tratados con un tratamiento convencional. Realizando estudios de subpoblaciones linfocitarias (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ y CD56+), analizados mediante la técnica de citometría de flujo.
- Comparar los resultados clínicos que ofrece el FT, contra los resultados obtenidos en pacientes con DA tratados convencionalmente.
- Probar que el TRANSFERON es funcional para el tratamiento de la DA y puede ser utilizado para formar parte de un esquema integral para el tratamiento de este padecimiento.

5. HIPÓTESIS

La DA es un padecimiento en donde los pacientes cursan con diversas alteraciones en sus poblaciones leucocitarias y subpoblaciones linfocitarias. Los pacientes al ser tratados con FT (inmunomodulador), presentarán una normalización de dichas estirpes celulares, las cuales podrán ser evaluadas y estudiadas al inicio y término del tratamiento.

Al comparar pacientes que cursan con DA tratados convencionalmente y tratados con FT se espera que la regularización y normalización de dichos parámetros inmunológicos sea mejor en los pacientes tratados con FT que los tratados convencionalmente.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

El presente estudio se realizó con 18 pacientes que presentaban DA de moderada a severa.

Los pacientes seleccionados con diagnóstico de DA de severa a moderada, fueron elegidos en el Departamento de Alergia del Hospital "Lic. Adolfo López Mateos" del ISSSTE.

A 9 de ellos se les aplicó FT (TRANSFERON) oral y a los otros 9 se les aplicó tratamiento convencional (HIDROXICINA).

Se seleccionaron otras 10 personas, como controles o testigos sanos, estos fueron individuos sanos que no tuvieran antecedentes de DA y que al momento de la toma de muestra no tuvieran ninguna enfermedad.

Grupos de estudio

Grupo I: Tratamiento con FT oral, de ellos 4 hombres y 5 mujeres en edades comprendidas entre 8 y 46 años.

FT1.- Tratamiento FT primera toma (antes del tratamiento).

FT2.- Tratamiento FT segunda toma (término del tratamiento).

Grupo II: Tratamiento Convencional, de ellos 1 hombre y 8 mujeres con edades de 4 a 22 años.

TC1.- Tratamiento convencional primera toma.

TC2.- Tratamiento convencional segunda toma.

Grupo III: Control Sano, 3 hombres y 7 mujeres entre edades de 20 a 29 años.

Tratamiento

Grupo I: Tratamiento con FT oral (TRANSFERON): 10 unidades totales, más hidratación, lubricación y cuidados generales.

Grupo II: Tratamiento con antihistamínicos (HIDROXICINA), 10 mg/24 hrs en > de 12 años, en menores 5 mg/24 hrs. Lubricación e hidratación y cuidados generales. Más placebo (frasco idéntico al DLE's sin principio activo).

Grupo III: Sin tratamiento.

Muestras Biológicas:

- Se recolectó sangre periférica antes (tiempo 0) y después del tratamiento (T1) del Grupo I y Grupo II.
- Al Grupo III solo se recolectó una muestra. Control.
- Recepción de sangre periférica (10 ml con heparina como anticoagulante) en pacientes con DA moderada, severa y de los controles sanos.

Parámetros a analizar

Estudios de laboratorio a realizar en el Hospital López Mateos:

- 1.- Coproparasitoscópicos.
- 2.- IgE total.
- 3.- Pruebas cutáneas.

Estudios a realizar en la ENCB/IPN:

- 1.- Perfil Celular.

Incluye:

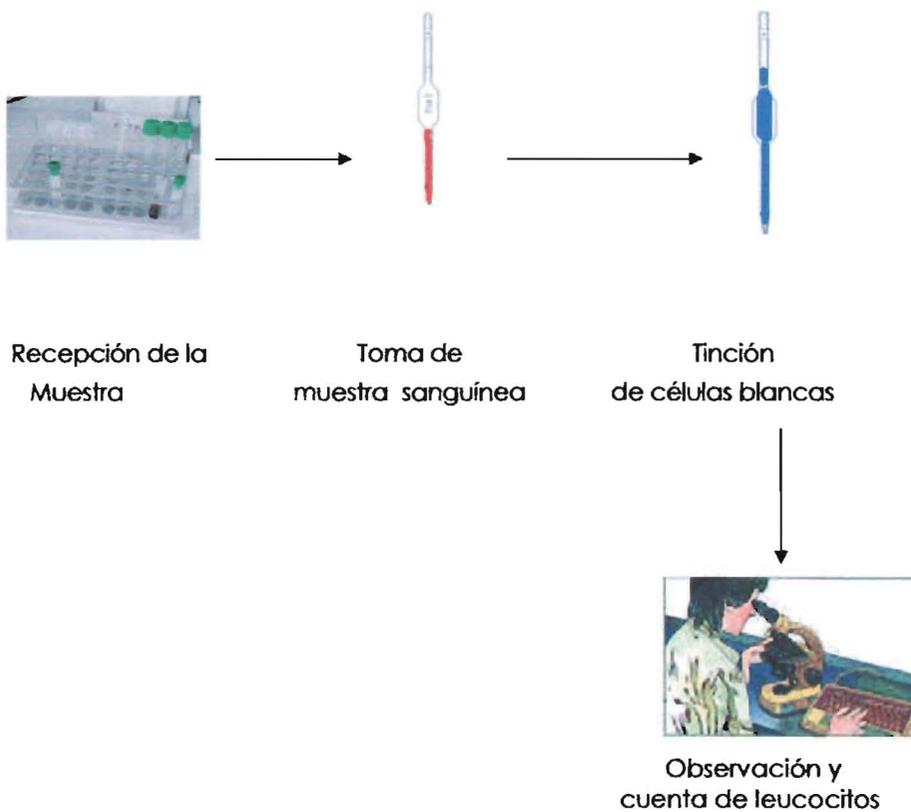
- Cuenta de leucocitos totales
- Cuenta Diferencial.
- Linfocitos Totales
- Porcentaje de células CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ y CD56+ (por citometría).

Perfil Celular

Partiendo de 10 ml de sangre periférica total de individuos sanos o con DA en diversos estadios (según el grupo de trabajo) y empleando heparina como anticoagulante, se llevo a cabo el perfil celular de cada muestra.

Cuenta de leucocitos totales

Diagrama de trabajo:



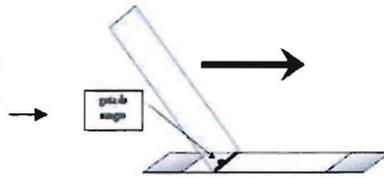
Dicha técnica se describe con mayor detalle en la sección de protocolos.

Cuenta Diferencial y Linfocitos Totales

Diagrama de trabajo:



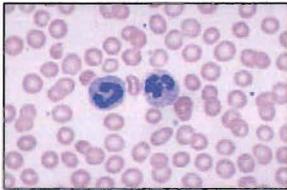
Recepción de la Muestra



Realización del extendido sanguíneo (FROTIS)



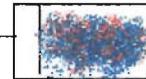
Dejar secar el Frotis



Cuenta Diferencial



Observación Morfológica de leucocitos (100x)



Tinción del frotis (Wright)



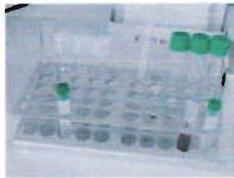
Ajuste matemático

LINFOCITOS TOTALES

La técnica se describe con mayor detalle en la sección de protocolos

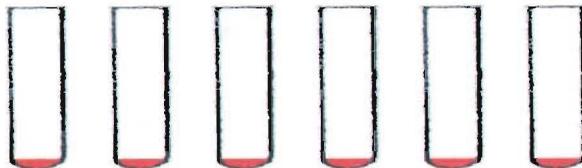
Tinción de células para citometría de flujo

Diagrama de trabajo:



Recolección de muestra

Colocar 30 μ l de sangre en cada tubo, que contienen 5 μ l de la mezcla de anticuerpo correspondiente



Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6
Testigo	LcT y LcB	LcTCD4	LcTCD8	NK	Testigo
IgG ₁ /IgG ₂	CD3/CD19	CD3/CD4	CD3/CD8	CD3/CD16	CD45/CD14

Incubar los tubos durante 20 min en oscuridad

Adicionar 500 μ l de la solución de lisis. Incubar nuevamente durante 12 min en oscuridad.

Centrifugar los tubos a 1800 rpm durante 5 min. Decantar. Adicionar 500 μ l de PBS 1X y centrifugar nuevamente a 1880 rpm 5min.

Decantar el sobrenadante y adicionar 500 μ l de paraformaldehído.

Guardar en refrigeración hasta su lectura

Leer en el citómetro de flujo

La técnica se describe con mayor detalle en la sección de protocolos.

7.- SECCIÓN DE PROTOCOLOS

Cuenta de leucocitos:

- Partiendo de 10 ml de sangre periférica con anticoagulante.
- Homogenizar perfectamente bien la sangre.
- Con una pipeta de Thoma para glóbulos blancos, aspirar sangre hasta la marca de 0.5 (dilución 1:50); secar cuidadosamente la parte exterior de la punta de la pipeta.
- Completar con líquido de Turk (sol. Hipotónica de ácido acético glacial más un colorante como medio de contraste) hasta la marca de 11
- Agitar 2 min.
- Desechar las primeras 4 ó 5 gotas y cargar la cámara de Neubauer,
- Observar con el microscopio utilizando el objetivo de 10x.
- Se cuentan los leucocitos en cada uno de los cuatro cuadrantes de 1mm² de las esquinas de la cuadrícula de la cámara de Neubauer.

Cuenta Diferencial y Linfocitos Totales

Preparación del frotis de sangre periférica (método del porta objetos)

Se coloca una gota de sangre anticoagulada en uno de los extremos en un porta objetos, se sujeta colocando los dedos pulgar e índice en extremos opuestos, con un segundo portaobjetos se toca la gota de sangre y por capilaridad difunde: en un ángulo de 30° se desliza rápida y firmemente en dirección opuesta.

TINCIÓN DE WRIGHT

En una charola de tinción, proporcionada de varillas dispuestas en forma paralela, se colocan los frotis en posición horizontal.

Se añade colorante de Wright sobre el frotis de manera que quede totalmente cubierta la superficie de éste; se deja actuar el colorante de 2 a 5 min (el tiempo puede variar según la "madurez del colorante").

Agregar con una piseta solución amortiguadora (si no se cuenta con ella se puede utilizar agua destilada) de manera que se forme una superficie metálica; teniendo cuidado de no sobrepasar el efecto de tensión superficial; con una pipeta soplar suavemente sobre el frotis, para que la mezcla sea uniforme, se deja la mezcla de 3 a 6 min (depende del lote de cada colorante).

Se lava la tinción con agua corriente, debe evitarse la precipitación en la superficie del frotis, las extensiones se dejan secar al aire.

EXAMEN DEL FROTIS

Se efectúa primero con el objetivo de 40x con el fin de observar la distribución celular, así como las características de la tinción; se selecciona un área donde exista una monocapa de células uniforme (donde los eritrocitos apenas se tocan).

Empleando ahora el objetivo de inmersión (100x) se realiza el examen del frotis. Se observan los leucocitos, determinando si el número esta normal, aumentado o disminuido, posteriormente se efectúa la cuenta diferencial evitando contar dos veces la misma área; para ello se sigue una rutina en greca de izquierda a derecha, bajar el campo y luego de derecha a izquierda, etc.

Se cuenta un mínimo de 100 leucocitos y si se llega a detectar alguna alteración morfológica en los leucocitos también deben ser reportadas.

El informe cuantitativo, morfológico, así como la cuenta diferencial leucocitaria se reporta en valores porcentuales (relativos).

Tinción de Células para Citometría de Flujo

- Obtener 10 ml de sangre utilizando heparina como anticoagulante.
 - En tubos Falcon (6 tubos identificados adecuadamente), agregar 3 μ l de la mezcla de anticuerpos
 - Tubo 1: IgG₁/ IgG₂ (Testigo, tinción negativa).
 - Tubo 2: CD3+/ CD19+ (Linfocitos T y Linfocitos B).
 - Tubo 3: CD3+/ CD4+ (Linfocitos T cooperadores)
 - Tubo 4: CD3+/ CD8+ (Linfocitos T citotóxicos).
 - Tubo 5: CD3/ CD16+CD56 (NK).
 - Tubo 6: CD45/ CD14 (Testigo).
- Y posteriormente depositar 30 μ l de sangre heparinizada.
- Incubar los tubos en oscuridad durante 20 min.
 - Transcurrida la incubación, adicionar a cada tubo 500 μ l de la solución de lisis 1x y agitar en el Vórtex durante 30 seg.
 - Volver a incubar en oscuridad durante 12 min.
 - Terminada la segunda incubación. Centrifugar los tubos a 1800 rpm durante 5 min.
 - Decantar el sobrenadante y resuspender el botón celular en 500 μ l de PBS 1x.
 - Agitar en el Vórtex durante 30 seg. y centrifugar nuevamente a 1800 rpm durante 5 min. Repetir este paso dos veces.
 - Decantar nuevamente el sobrenadante y resuspender el botón celular en 500 μ l de Paraformaldehido y se almacenan en refrigeración por no más de 7 días, para su análisis posterior.
 - Las muestras fueron adquiridas en el citómetro de flujo (FACSCalibur) y analizadas utilizando el software CellQuest Pro integrado al mismo equipo.

La citometría de flujo es una técnica que permite el análisis de diferentes características de una célula de manera simultánea, en donde dichas características son relativas y no absolutas; es decir, el tamaño (FSC) la granularidad o complejidad interna (SSC) así como también la intensidad de fluorescencia (FL1, FL2), no se miden en unidades de medición, por lo que no se les asigna un valor como tal, sino que se lleva a cabo una comparación de una célula con otras. Esto por medio de las detecciones de señales de la dispersión de la luz láser y de la emisión de fluorescencia.

Los reactivos utilizados para dicha técnica son:

- PBS 0.1 M pH 7.4, el cual es utilizado para lavar residuos celulares.
- Solución de lisis 1X de Becton Dickinson (dietilenglicol y formaldehído), el cual provoca la lisis celular de los glóbulos rojos para eliminarlos posteriormente.
- Paraformaldehído al 1% pH 7.4, el cual detiene el metabolismo celular permitiendo sostener la marca (fluorocromo).
- El kit contiene anticuerpo monoclonal murino con marca directa para determinar antígeno celular de superficie en solución de lisis, el cual se utiliza para detectar poblaciones linfocitarias en sangre. Dichos reactivos pertenecen al "Simultest IMK-Lymphocyte" de Becton Dickinson.
- Tubo 1: IgG₁/ IgG₂ (IgG₁ FITC/ IgG₂ PE) (Testigo, tinción negativa, define la población de linfocitos sin teñir).
- Tubo 2: CD3/ CD19 (CD3-FITC/ CD19-PE) (Linfocitos T y Linfocitos B).
- Tubo 3: CD3/ CD4 (CD3-FITC/ CD4-PE) (Linfocitos T cooperadores)
- Tubo 4: CD3/ CD8 (CD3- FITC/ CD8-PE) (Linfocitos T citotóxicos).
- Tubo 5: CD3/ CD16+CD56 (CD3-FITC/ CD56-PE) (NK).
- Tubo 6: CD45/ CD14 (CD45-FITC/ CD14-PE) (Testigo, distingue los linfocitos de los granulocitos, los monocitos y los glóbulos rojos nucleados o sin lisar).

De tal forma la muestra teñida se introduce en el citómetro de flujo y pasa en forma de flujo frente al haz de láser. Las células teñidas emiten fluorescencia cuando son excitadas por el haz del láser y la luz emitida es detectada y procesada por el citómetro de flujo. El uso de dos fluorocromos permite el análisis simultáneo a dos colores porque cada fluorocromo emite luz a una longitud de onda diferente cuando es excitado a 480nm por un láser de ion argón.

Los linfocitos teñidos con isotiocianato de fluoresceína (**FITC**), emiten una luz verde- amarilla (máxima emisión a 515 nm aproximadamente).

Los linfocitos teñidos con ficoeritrina (**PE**), emiten una luz roja-anaranjada (con un máximo de emisión de 580 nm).

8.- RESULTADOS

En las siguientes tablas se reportan los valores obtenidos para cada grupo de trabajo (Grupo I y Grupo II) así como también para el Grupo III (Control Sano) antes y después del tratamiento recibido.

Los valores son reportados en dos unidades diferentes:

a) Porcentaje del número de células con excepción del número de leucocitos totales ya que éstos son reportados tal y como se obtienen después de la lectura en la cámara de Neubauer (no. de células).

b) No. de células/mm³ que refleja los niveles de leucocitos, así como también los niveles de las subpoblaciones linfocitarias presentes en circulación.

Los resultados se reportan a partir del orden de los experimentos realizados, para todos los grupos de trabajo, se aplicó el siguiente esquema:

- a) Cuenta de leucocitos (cámara de Neubauer).
- b) Cuenta Diferencial (tinción de Wright).
- c) Análisis de subpoblaciones linfocitarias (Citometría de flujo)

Grupo I (Tratamiento con FT) Valores Porcentuales
Primera Toma

No.Paciente	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	26	2	8	1	0	63	66.61	16.38	45.64	23.38	7.82	1.95
2	63	1	7	1	1	27	64.15	17.53	41.94	24.33	10.18	1.72
3	35	2	1	0	0	62	55.93	21.56	22.15	23.52	21.51	0.94
4	20	6	9	3	0	62	53.12	35.19	27.81	19.77	8.56	1.41
5	24	4	4	1	0	67	60.96	7.33	34.06	31.37	22.81	1.09
6	36	4	5	2	0	53	69.7	9.26	24.63	46.96	15.52	0.52
7	74	4	0	1	0	21	59	13.97	34.42	22.09	7.71	1.56
8	13	2	0	0	0	85	67.63	17.85	47	19.69	14.16	2.39
9	38	3	0	3	0	56	55.9	9.12	26.01	22.97	15.64	1.13
Promedio	36.56	3.11	3.78	1.33	0.11	55.1	61.44	16.47	33.74	26.01	13.77	1.41

Segunda Toma

No.Paciente	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	36	1	0	0	0	63	63.92	14.27	37.5	26.61	10.16	1.41
2	39	5	0	0	0	56	63.62	6.02	20.12	17.3	29.36	1.16
3	45	2	4	1	0	48	47.77	25.6	24.07	14.58	22.49	1.65
4	28	2	3	2	0	65	69.69	22.36	40.92	27.96	3.52	1.46
5	59	0	0	0	0	41	43.38	10.12	23.47	19.51	16.05	1.2
6	56	1	1	1	0	41	65.3	9.25	26.93	10.52	20.8	2.56
7	50	4	3	1	0	42	79.82	15.23	27.44	50.38	4.95	0.54
8	4	1	0	0	0	95	67.21	6.87	41.11	17.11	19.33	2.4
9	8	5	1	0	0	86	69.81	7.86	19.71	22.72	31.9	0.87
Promedio	36.11	2.33	1.33	0.56	0	59.7	63.39	13.06	29.03	22.97	17.62	1.47

Grupo I (Tratamiento con FT) Valores cel/mm³
Primera Toma

No.Paciente	Lc Totales	Cuenta diferencial						Cítometría de Flujo					
	Lc	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	7900	2054	158	632	79	0	4977	3315.2	815.23	1513.1	775.09	389.2	1.95
2	7750	4882.5	77.5	542.5	77.5	77.5	2092.5	1342.3	366.82	562.98	326.59	213.02	1.72
3	8700	3045	174	87	0	0	5394	3016.9	455.25	668.24	709.57	1160.3	0.94
4	7500	1500	450	675	225	0	4650	2470.1	1636.3	686.93	488.33	398.04	1.41
5	2150	516	86	86	21.5	0	1440.5	878.13	105.59	299.09	275.47	328.58	1.09
6	8900	3204	356	445	178	0	4717	3287.8	436.79	189.2	1543.9	732.08	0.12
7	6200	4588	248	0	62	0	1302	768.18	181.89	264.41	169.69	100.38	1.56
8	5100	663	102	0	0	0	4335	2931.8	773.8	1377.9	577.26	613.84	2.39
9	6850	2603	205.5	0	205.5	0	3836	2144.3	349.84	557.74	492.55	599.95	1.13
Promedio	6783.33	2561.7	206.33	274.17	94.28	8.61	3638.2	2239.4	569.06	679.95	595.39	503.93	1.37

Segunda Toma

No.Paciente	Lc Totales	Cuenta diferencial						Cítometría de Flujo					
	Lc	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	4800	1728	48	0	0	0	3024	1932.9	431.52	724.85	514.36	307.24	1.41
2	5550	2164.5	277.5	0	0	0	3108	1186	187.1	238.63	205.18	912.51	1.16
3	9050	4072.5	181	362	90.5	0	4344	2075.1	9.99	499.48	302.55	976.97	1.65
4	6000	1680	120	180	120	0	3900	2717.9	872.04	1112.2	759.93	137.28	1.46
5	10200	6018	0	0	0	0	4182	1814.2	423.22	425.78	353.94	671.21	1.2
6	7250	4060	72.5	72.5	72.5	0	2972.5	1342.7	148.63	361.58	141.25	209.56	2.56
7	6650	3325	266	199.5	66.5	0	2793	2229.4	425.37	611.74	1123.2	463.71	0.54
8	6250	250	62.5	0	0	0	5937.5	3990.6	407.91	1640.5	682.79	1147.7	2.4
9	4750	380	237.5	47.5	0	0	4085	2851.7	321.08	562.08	647.91	1303.1	0.87
Promedio	6050	2630.9	140.56	95.72	38.83	0	3750.3	2258.2	402.11	709.67	472.19	669.8	1.47

38

Lc = leucocitos, Nf = neutrófilos, Mn = monocitos, Eo = eosinófilos, Bs = basófilos, NB = neutrófilos banda, Lf = linfocitos T, T = linfocitos T, B = linfocitos B, CD4 = linfocitos T cooperadores, CD8 = linfocitos T citotóxicos, NK = linfocitos NK

Grupo II (Tratamiento con FT) Valores Porcentuales
Primera Toma

No.Paciente	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	41	2	4	0	2	51	54.01	35.45	29.25	21.52	9	1.36
2	31	2	2	4	0	61	68.94	18.57	39.28	25.42	8.32	1.55
3	28	1	0	0	0	71	61.8	13.97	43.42	20.89	7.51	2.08
4	43	3	2	0	0	52	59.57	15.9	27.59	21.1	8.97	1.31
5	24	1	2	0	0	73	63.02	18.03	39.67	20.12	6.87	1.97
6	56	2	1	1	0	40	40.89	11.42	22.14	7.91	31.33	2.8
7	66	1	0	0	0	33	80	12.34	40.27	42.52	3.22	0.95
8	30	6	0	0	0	64	57.27	25.24	37.6	16.38	4.69	2.3
9	23	4	3	1	0	69	64.6	18.08	42.54	25.05	10.74	1.7
Promedio	38	2.44	1.56	0.67	0.22	57.1	61.12	18.78	35.75	22.32	10.07	1.78

Segunda Toma

No.Paciente	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	49	2	1	0	0	50	42.76	13.08	25.12	13.98	11.73	1.8
2	41	2	0	0	0	57	74.24	4.11	34.91	30.22	17.53	1.16
3	16	1	0	0	0	83	45.52	7.59	37.63	12.35	27.81	3.05
4	34	2	0	1	0	63	61.88	19.01	39.44	25.26	7.18	1.56
5	32	3	1	1	0	63	44.32	12.56	23.57	14.78	7.01	1.59
6	43	3	2	0	0	52	38.85	6.06	24.22	8.58	1.82	2.82
7	28	2	3	2	0	65	48.49	14.88	15.01	14.53	7.88	1.03
8	19	7	0	0	0	74	46.23	5.84	41.58	11.68	29.97	3.56
9	47	5	2	1	0	45	47.36	21.64	59.96	21.66	3.31	2.77
Promedio	34.33	3	1	0.56	0	61.3	49.96	11.64	33.49	17	12.69	2.15

Lc = leucocitos, Nf = neutrófilos, Mn = monocitos, Eo = eosnófilos, Bs = basófilos, NB = neutrófilos banda, Lf = linfocitos T, B = linfocitos B, CD4 = linfocitos T cooperadores, CD8 = linfocitos T citotóxicos, NK = linfocitos NK

Grupo II (Tratamiento con FT) Valores No. de cel/mm³
Primera Toma

No. Paciente	Lc Totales	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Lc	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CDB	NK	CD4/CDB
1	7950	3259.5	159	318	0	159	4054.5	2190	1437.3	640.59	471.3	364.91	1.36
2	5100	1581	102	102	204	0	3111	2144.7	577.71	842.45	545.19	258.84	1.55
3	6900	1932	69	0	0	0	4899	3027.6	684.39	1314.6	632.46	367.91	2.08
4	6400	2752	192	128	0	0	3328	1982.5	529.15	546.97	418.31	298.52	1.31
5	4350	1044	43.5	87	0	0	3175.5	2001.2	572.54	793.88	402.64	218.16	1.97
6	6750	3780	135	67.5	67.5	0	2700	1104	308.34	244.43	87.33	845.91	2.8
7	9250	6105	92.5	0	0	0	3052.5	2442	376.68	983.39	1038.3	98.29	0.95
8	3500	1050	210	0	0	0	2240	1282.9	565.38	482.35	210.13	105.06	2.3
9	4200	966	168	126	42	0	2898	1872.1	523.96	796.39	468.96	311.25	1.7
Promedio	6044.44	2496.6	130.11	92.06	34.83	17.67	3273.2	2005.2	619.5	738.34	474.96	318.76	1.78

Segunda Toma

No. Paciente	Lc Totales	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Lc	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CDB	NK	CD4/CDB
1	5200	2548	104	52	0	0	2600	1111.8	340.08	279.27	155.42	304.98	1.8
2	6050	2480.5	121	0	0	0	3448.5	2560.2	141.73	893.75	773.68	604.52	1.16
3	10450	1672	104.5	0	0	0	8673.5	3948.2	658.32	1485.7	487.6	2412.1	3.05
4	7250	2465	145	0	72.5	0	4567.5	2826.4	868.28	1114.7	713.94	327.95	1.56
5	6150	1968	184.5	61.5	61.5	0	3874.5	1717.2	486.64	404.74	253.8	271.6	1.59
6	6750	2902.5	202.5	135	0	0	3510	1363.6	212.71	330.27	117	63.88	2.82
7	10300	2884	206	309	206	0	6695	3246.4	996.22	487.29	471.7	527.57	1.03
8	6350	1206.5	444.5	0	0	0	4699	2172.4	274.42	903.26	253.73	1408.3	3.56
9	5900	2773	295	118	59	0	2655	1257.4	574.54	753.94	272.35	87.88	2.77
Promedio	7155.56	2322.2	200.78	75.056	44.33	0	4324.2	2244.2	505.88	739.22	389.8	647.64	2.13

Lc = leucocitos, Nf = neutrófilos, Mn = monocitos, Eo = eosinófilos, Bs = basófilos, NB = neutrófilos banda, Lf = linfocitos T, T = linfocitos T, B = linfocitos B, CD4 = linfocitos T cooperadores, CDB = linfocitos T citotóxicos, NK = linfocitos NK

Grupo III (Grupo Sano) Valores Porcentuales

No.Paciente	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	46	1	2	0	0	51	53.42	16.16	33.41	16.07	17.09	2.08
2	44	3	0	1	0	52	57.24	10.97	34.54	26.13	21.9	1.32
3	37	0	0	0	0	63	56.75	11.8	34.44	20.17	26.24	1.71
4	33	1	1	0	0	65	69.08	12.75	39.15	21.47	10.81	1.82
5	53	2	0	0	0	45	40.48	8.2	13.11	16.52	1.48	0.79
6	47	5	7	5	0	36	69.43	5.47	27.38	23.77	10.11	1.15
7	38	3	2	0	0	57	42.89	11.54	25.61	17.36	24.05	1.48
8	49	0	1	0	0	50	35.8	10.51	32.7	12.19	3.41	2.68
9	35	2	0	1	0	62	48.43	12.68	23.64	19.75	19.37	1.2
10	48	2	1	0	0	49	56.13	12.09	35.69	15.32	6.84	2.33
Promedio	43	1.9	1.4	0.7	0	53	52.97	11.22	29.97	18.88	14.13	1.61

Grupo III (Grupo Sano) Valores No. de cel/mm³

No.Paciente	Lc Totales	Cuenta diferencial						Citometría de Flujo					
	Lc	Nf	Mn	Eo	Bs	NB	Lf	T	B	CD4	CD8	NK	CD4/CD8
1	13650	6279	136.5	273	0	0	6961.5	3718.8	1125	1242.5	597.62	1189.7	2.079
2	11900	5236	357	0	119	0	6188	3542	678.82	1223.4	925.53	1355.2	1.321
3	8300	3071	0	0	0	0	5229	2967.5	617.02	1022	598.54	1372.1	1.707
4	10250	3382.5	102.5	102.5	0	0	6662.5	4602.5	849.47	1801.9	988.15	720.22	1.823
5	14650	7764.5	293	0	0	0	6592.5	2668.6	540.59	349.86	440.86	97.57	0.793
6	14300	6721	715	1001	715	0	5148	3574.3	281.6	978.63	849.6	520.46	1.151
7	10550	4009	316.5	211	0	0	6013.5	2579.2	693.96	660.53	447.75	1446.3	1.475
8	9050	4434.5	0	90.5	0	0	4525	1620	475.58	529.72	197.47	154.3	2.682
9	9950	3482.5	199	0	99.5	0	6169	2987.7	782.23	706.28	590.06	1194.9	1.196
10	8750	4200	175	87.5	0	0	4287.5	2406.6	518.36	858.91	368.69	293.27	2.329
Promedio	11135	4858	229.45	176.55	93.35	0	5777.7	3066.7	656.26	937.37	600.43	834.4	1.609

Lc = leucocitos, Nf = neutrófilos, Mn = monocitos, Eo = eosinófilos, Bs = basófilos, NB = neutrófilos banda, Lf = linfocitos T, T = linfocitos T, B = linfocitos B, CD4 = linfocitos T cooperadores, CD8 = linfocitos T citotóxicos, NK = linfocitos NK

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos experimentalmente, se utilizó el programa de estadística Sigma Stat y las gráficas realizadas se hicieron con la ayuda del programa estadístico Sigma Plot.

Al tratar con una población heterogénea, tanto en nuestros pacientes como en nuestros controles sanos (diferentes edades, diferentes sexos, diferentes estadios de enfermedad) se encontró una gran variabilidad en dichos valores, por lo cual se realizaron las pruebas estadísticas de ANOVA, t-pareada y t-student; las cuales nos permitieron hacer una comparación entre grupos de trabajo y tratamiento.

Todos los resultados reportados anteriormente pueden ser visualizados en las siguientes gráficas. En cada gráfica se muestran los valores obtenidos para cada grupo de trabajo: Grupo I (Tratamiento con FT), Grupo II (Tratamiento Convencional) y Grupo III (Control Sano) antes y después del tratamiento. También se reportan los valores de p obtenidos de las pruebas estadísticas realizadas (t-student, t-pareada, ANOVA).

La prueba estadística de t-student, se realizó como una prueba que nos permite comparar el Grupo III, con los pacientes que cursan con DA (independientemente del tratamiento recibido) como un parámetro de salud-enfermedad.

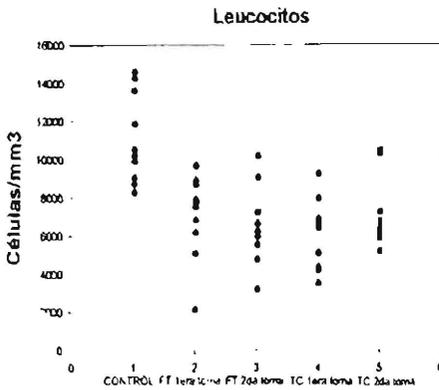
La prueba estadística de t-pareada nos permite la comparación de los valores obtenidos antes del tratamiento (primera toma) y después del tratamiento (segunda toma) por grupo de trabajo. Primera y segunda toma del Grupo I y primera y segunda toma del Grupo II.

La prueba estadística de ANOVA (análisis de varianza) nos permitió la comparación entre los grupos de trabajo Grupo I y Grupo II. Analizando los parámetros de Tratamiento (tratamiento con FT y tratamiento convencional) y Tiempo (primera toma y segunda toma).

Solo se reportan los valores de p de las pruebas estadísticas en donde se presenta una diferencia significativa.

Leucocitos Totales

Grafica 1



FT = Tratamiento Factor de Transferencia

TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	<p>Tra p = estadísticamente no significativo</p> <p>t p = estadísticamente no significativo</p>
t-pareada	<p>FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
t-student	<p>Grupo III vs FT1 p = 0.001</p> <p>Grupo III vs FT2 p = 0.001</p> <p>Grupo III vs TC1 p = 0.001</p> <p>Grupo III vs TC2 p = 0.001</p>
<p>Tra = Tratamiento</p> <p>t = tiempo</p> <p>FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma</p> <p>FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma</p> <p>TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma</p> <p>TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma</p>	

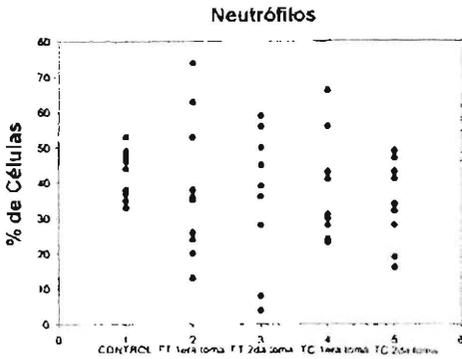
a) Gráficamente se observa, que los pacientes que cursan con DA (independientemente del tratamiento) presentan una cuenta leucocitaria por debajo de los valores reportados para el grupo control. Dicha diferencia es estadísticamente significativa.

b) Al comparar las dos tomas de muestra realizadas por grupo de estudio. Se observa gráficamente que para los dos grupos de trabajo podría existir un ligero aumento en el número de leucocitos al término del tratamiento; pero este incremento no es estadísticamente significativo.

c) Con respecto al análisis entre los dos tratamientos (FT y convencional) estadísticamente se obtienen valores no significativos. Por lo que no existe diferencia entre dichos tratamientos para esta población celular.

Cuenta Diferencial

Gráfica 2



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	<p>Tra p = estadísticamente no significativo</p> <p>T p = estadísticamente no significativo</p>
t-pareado	<p>FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
t-student	<p>Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>

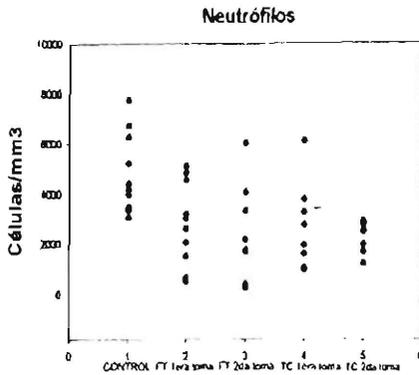
Tra = Tratamiento
 T = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma

a) Gráficamente se observa un incremento en el número de neutrófilos en los pacientes que cursan con DA al inicio y termino de sus tratamientos, al ser comparados con el grupo control. Aunque esta diferencia es estadísticamente no significativa.

b) Al comparar gráficamente las dos tomas de muestra realizadas se observa que en ambos grupos tienden a disminuir sus valores en las segundas tomas de muestra realizadas.

c) Con respecto al análisis de los tratamientos recibidos no se encuentran cambios estadísticamente significativos.

Gráfica 2'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA

- Tra p = estadísticamente no significativo
- t p = estadísticamente no significativo

t-pareada

- FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo
- TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo

t-student

- Grupo III vs FT1 p = 0.005
- Grupo III vs FT2 p = 0.013
- Grupo III vs TC1 p = 0.006
- Grupo III vs TC2 p = 0.001

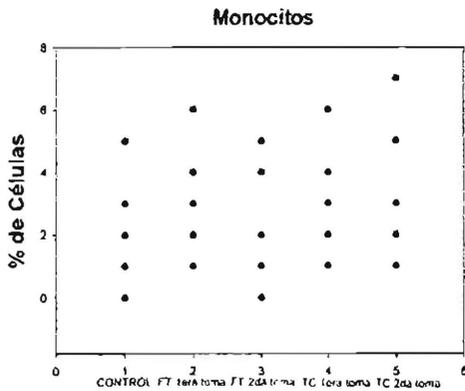
Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1°. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2°. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1°. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2°. toma

a) Al convertir los valores porcentuales en cel/mm³. Observamos que nuestro grupo control presenta un incremento en el número de neutrófilos al compararlo con pacientes que cursan con DA al inicio y al término de sus tratamientos respectivos. Siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

b) Al comparar la primera toma de muestra con la segunda toma por grupo de trabajo, se observa gráficamente que para ambos grupos existe una disminución en los valores de neutrófilos al finalizar su tratamiento. Aunque dicha disminución es estadísticamente no significativa.

c) Al comparar los tratamientos recibidos (FT y Convencional) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Gráfica 3



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo

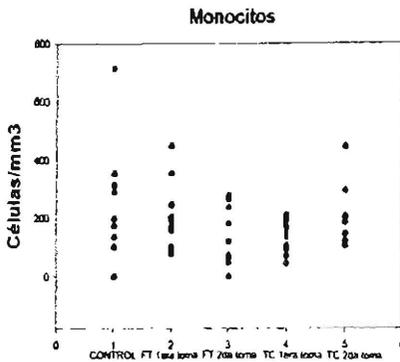
Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1°. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2°. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1°. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2°. toma

a) Para la población de monocitos, gráficamente se observa que los pacientes que cursan con DA presentan una ligera tendencia a incrementar los niveles de monocitos al compararlos con el control sano. Sin embargo, dicha tendencia no es estadísticamente significativa.

b) Para los pacientes del Grupo I al comparar sus dos tomas de muestra se observa una disminución en los niveles de monocitos al término del tratamiento con FT. En el Grupo II la elevación de esta población celular se presenta después del término del tratamiento al cual fueron sometidos. Ambas comparaciones son estadísticamente no significativas.

c) Con respecto a los tratamientos administrados estadísticamente no se encuentran valores significativos.

Gráfica 3'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo

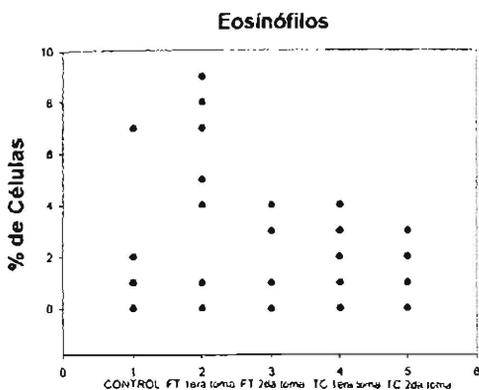
Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1°. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2°. toma

a) Al comparar los pacientes que cursan con DA con el control sano, gráficamente se observa que los pacientes que cursan con DA presentan una disminución en sus niveles de monocitos con excepción de los pacientes del Grupo I quienes presentan un incremento en dicha estirpe celular al ser comparadas con el control sano. Dichas comparaciones son estadísticamente no significativas.

b) Comparando las dos tomas de muestra realizadas por grupo de trabajo en el Grupo I se observa una disminución en los niveles de monocitos al término de su tratamiento con FT. Para los pacientes tratados convencionalmente se observa un ligero incremento en el número de monocitos al término de su tratamiento. Estas variaciones son estadísticamente no significativas.

c) Con respecto a los tratamientos administrados tampoco se encontraron valores estadísticamente significativos.

Gráfica 4



ANOVA	<ul style="list-style-type: none"> Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	<ul style="list-style-type: none"> FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	<ul style="list-style-type: none"> Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
<p>Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1º. toma FT2 = Factor de Transferencia 2º. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1º. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2º. toma</p>	

FT = Tratamiento Factor de Transferencia
TC = Tratamiento Convencional

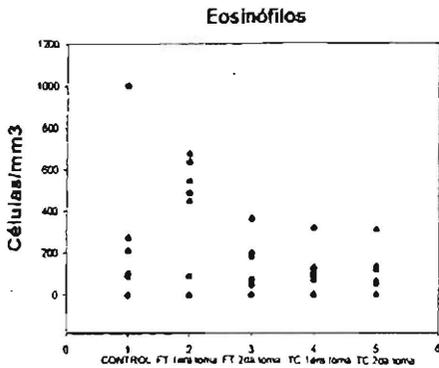
Gráficamente se observa que en el Grupo III existe un valor que se encuentra por demás valores reportados para dicho grupo. Al ser solo un valor quien presenta esta tendencia no es considerado para el análisis gráfico.

a) Al comparar los pacientes que cursan con DA con el grupo control se observa un incremento en el porcentaje de eosinófilos al inicio y término de sus tratamientos. Dicho incremento es estadísticamente no significativo.

b) Tomando en cuenta las dos tomas de muestra realizadas por grupo de trabajo. Para el Grupo I al término del tratamiento se observa una disminución en los valores de eosinófilos. Para el Grupo II los valores de eosinófilos permanecen sin cambio al inicio y término de su tratamiento. Las variaciones observadas son estadísticamente no significativas.

c) Considerando los tratamientos recibidos (FT y convencional) por grupo de pacientes no se observan cambios estadísticamente significativos.

Gráfica 4'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1º. toma FT2 = Factor de Transferencia 2º. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1º. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2º. toma	

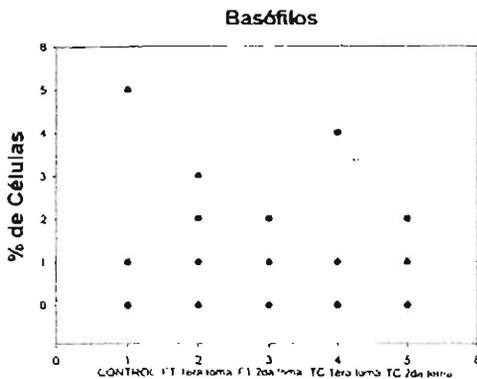
Gráficamente se observa que en el grupo control existe un valor que se encuentra por arriba de los demás valores reportados para este grupo. Por lo cual dicho valor no es considerado para el análisis gráfico de esta población.

a) Al comparar los pacientes que cursan con DA con el control sano gráficamente no se observan cambios significativos; con excepción del Grupo I en su primera toma de muestra en donde sus valores de eosinófilos se encuentran por encima de los reportados para el grupo control. Estas diferencias no son estadísticamente significativas.

b) Comparando la primera toma de muestra con la segunda toma realizada por grupo de trabajo. Para el Grupo I al término del tratamiento se observa que existe una tendencia a disminuir los valores de dicha stirpe celular. Para el Grupo II no existe un cambio considerable en sus valores de eosinófilos al inicio y término de su tratamiento. Dichas variaciones no son estadísticamente significativas.

c) Al comparar ambos tratamientos (FT y convencional) no existen cambios estadísticamente significativos.

Gráfica 5



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	<ul style="list-style-type: none"> Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	<ul style="list-style-type: none"> FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	<ul style="list-style-type: none"> Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo

Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1º. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2º. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1º. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2º. toma

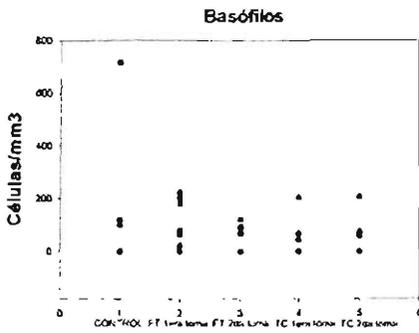
Gráficamente se observa en el grupo control y en el Grupo II, en su primera toma de muestra, que existe en cada uno, un valor por encima de los demás valores reportados para dichos grupos. Al ser solo un valor quien presenta esta tendencia no es considerado para el siguiente análisis.

a) Al comparar los pacientes que cursan con DA con el grupo control se observa que el número de basófilos se encuentra elevado en la mayoría de ellos con excepción del Grupo II en su primer toma en donde sus valores son similares a los del grupo control. Estas diferencias son estadísticamente no significativas.

b) Al comparar las dos tomas de muestra por grupo de trabajo se puede observar que en el Grupo I al término del tratamiento existe una disminución en los niveles de basófilos. Para el Grupo II el aumento en el número de basófilos se presenta al término del tratamiento. Dichas diferencias son estadísticamente no son significativas.

c) Al comparar los tratamientos (FT y convencional) no se aprecian cambios estadísticamente significativos.

Gráfica 5'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

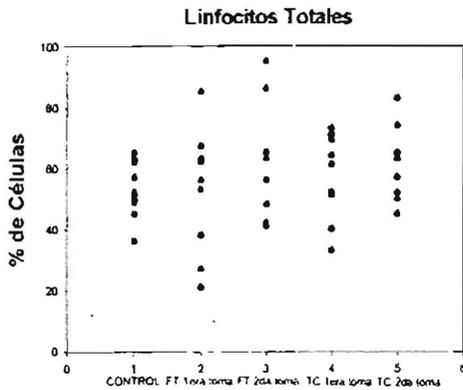
ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma	

a) Al comparar los Grupos I y II con el grupo control no se observan cambios significativos en la población de basófilos en los pacientes que cursan con DA. Esta diferencia es estadísticamente no significativa.

b) Al comparar la primera toma de muestra con la segunda toma realizada por grupo de trabajo en el Grupo I se observa una ligera disminución en los valores de basófilos al término de su tratamiento. Para el Grupo II sus niveles de basófilos permanecen constantes al inicio y al término del tratamiento. Dichas variaciones son estadísticamente no significativas.

c) Con respecto a los tratamientos recibidos (FT y Convencional) al compararlos se obtiene valores estadísticamente no significativos.

Gráfica 6

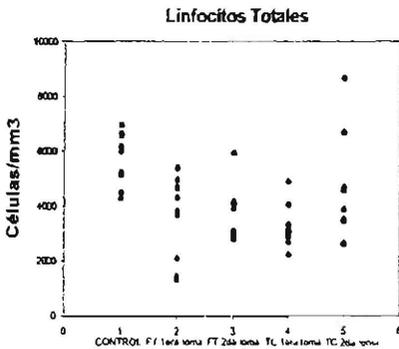


FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma	

Para la población de linfocitos totales gráficamente y estadísticamente no se encuentran cambios significativos al comparar los pacientes que cursan con DA con el grupo control; tampoco se encuentran diferencias al comparar las dos tomas de muestra realizadas, así mismo no hay diferencia al realizar la comparación entre tratamientos.

Gráfica 6'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia

TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	<p>Tra p = estadísticamente no significativo</p> <p>t p = estadísticamente no significativo</p>
t-pareada	<p>FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
t-student	<p>Grupo III vs FT1 p = 0.002</p> <p>Grupo III vs FT2 p = 0.001</p> <p>Grupo III vs TC1 p = 0.001</p> <p>Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
<p>Tra = Tratamiento</p> <p>t = tiempo</p> <p>FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma</p> <p>FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma</p> <p>TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma</p> <p>TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma</p>	

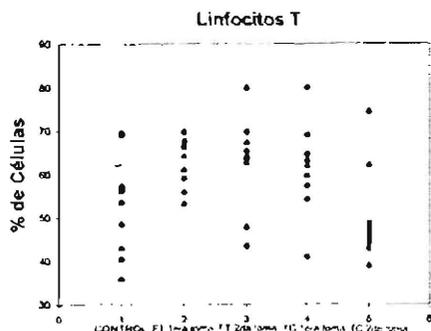
a) Al realizar la conversión de porcentajes a No. de cel/mm³ gráficamente se observa que existe una ligera disminución en la población de linfocitos totales en pacientes que cursan con DA con la excepción de la segunda toma de muestra del Grupo II en donde existe un incremento en dichos valores al ser comparados con el control sano. Dichas variaciones son estadísticamente significativas excluyendo la última comparación.

b) Al comparar las tomas de muestra por grupo de trabajo gráficamente se observa que existe una disminución en los valores al término del tratamiento en el Grupo I. Para el Grupo II la elevación en el número de linfocitos totales se presenta hasta la segunda toma de muestra. Estas diferencias son estadísticamente no significativas.

c) Al comparar tratamientos (FT y convencional) se encuentran valores estadísticamente no significativos.

Subpoblaciones Linfocitarias (Citometría de Flujo)

Gráfica 7



ANOVA	Tra p = 0.001 t p = 0.001
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = 0.020
t-student	Grupo III vs FT1 p = 0.038 Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma	

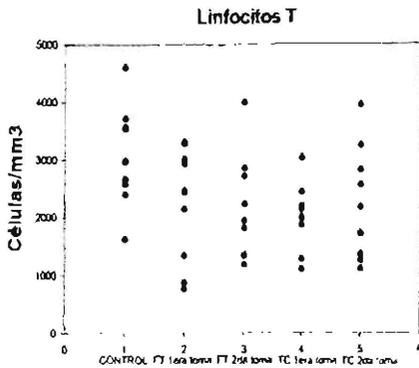
FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

a) Al comparar los pacientes que cursan con DA con el control sano, se observa que los pacientes con DA tienen valores elevados de linfocitos T (CD3+) al inicio y al término de sus tratamientos correspondientes. Cuyo incremento es estadísticamente significativo en el caso del Grupo I en su primer toma de muestra.

b) Al comparar las dos tomas de muestra por grupo de trabajo. En el Grupo I no se observan cambios significativos en dicha población celular. Para el Grupo II se observa una ligera disminución de linfocitos T (CD3+) al término del tratamiento convencional. Dicha disminución es estadísticamente significativa.

c) Al comparar los parámetros de tratamiento y tiempo se obtienen valores estadísticamente significativos. Por lo que en este caso el FT y el tratamiento convencional no presentan los mismos resultados sobre la población de linfocitos T.

Gráfica 7'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

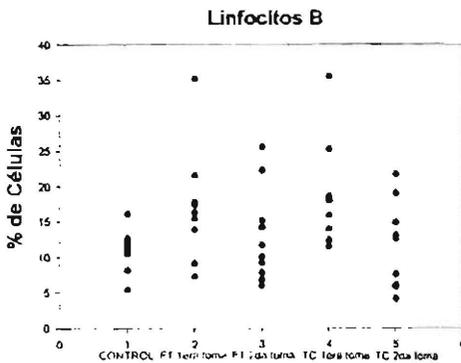
ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = 0,047 Grupo III vs TC1 p = 0,005 Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma	

a) Para la población de linfocitos T (CD3+) gráficamente se observa que los pacientes que cursan con DA presentan una disminución en los valores de dicha población celular al ser comparados con el Grupo Control. Esta disminución es estadísticamente significativa solo al comparar la segunda toma del Grupo I y la primer toma del Grupo II con el Grupo III.

b) Comparando la primer toma de muestra con la segunda toma del grupo tratado con FT, se observa que al término del tratamiento existe una disminución en los niveles de linfocitos T. Para el Grupo II se observa que los pacientes tratados convencionalmente no presentan modificaciones en el número de linfocitos T antes y después del tratamiento. Estas variaciones son estadísticamente no significativas.

c) Al comparar los tratamientos se obtiene valores estadísticamente no significativos.

Gráfica 8



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p= estadísticamente no significativo t p = 0.046
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = 0.006 Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo

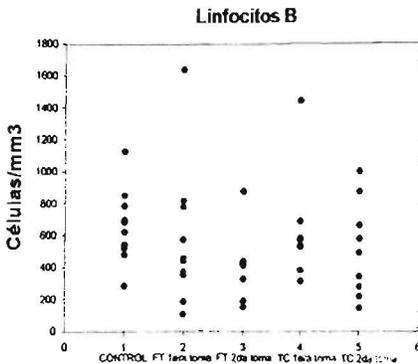
Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1º. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2º. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1º. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2º. toma

a) Para los linfocitos CD19+ o linfocitos B, gráficamente se observa un incremento en los valores obtenidos para los pacientes que cursan con DA al ser comparados con el grupo control al inicio y término de sus tratamientos. Dicho incremento es estadísticamente significativo sólo al comparar la primer toma del tratamiento convencional con el grupo control.

b) Al comparar las tomas de muestra realizadas a los dos grupos de estudio, observamos una tendencia a disminuir el porcentaje de linfocitos B al término de ambos tratamientos. Estas comparaciones no son estadísticamente significativas.

c) No se encuentran diferencias estadísticamente significativamente al comparar tratamientos.

Gráfica 8'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	<p>Tra p= estadísticamente no significativo</p> <p>t p = estadísticamente no significativo</p>
t-pareada	<p>FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
t-student	<p>Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs FT2 p = 0.014</p> <p>Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>

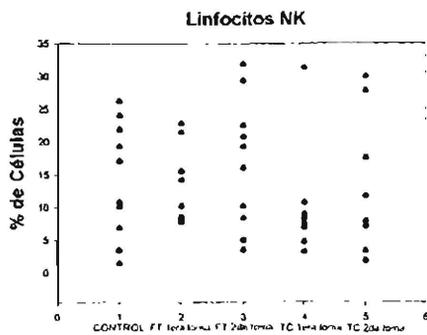
Tra = Tratamiento
 f = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma

a) Al analizar la población de linfocitos B en unidades de cel/mm³ se observa que los pacientes que cursan con DA presentan niveles de linfocitos CD19+ por debajo de los reportados para el grupo control. Esta disminución es estadísticamente significativa sólo al comparar la segunda toma del Grupo I con el grupo control.

b) Al comparar las dos tomas realizadas a los pacientes por grupo de estudio. En el Grupo I se aprecia una disminución en los valores de linfocitos B al término del tratamiento. Para el Grupo II se observa un incremento de linfocitos CD19+ al término del tratamiento correspondiente. Dichas diferencias son estadísticamente no significativas.

c) Al comparar ambos tratamientos (FT y convencional) los valores encontrados son estadísticamente no significativos.

Gráfica 9



ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma	

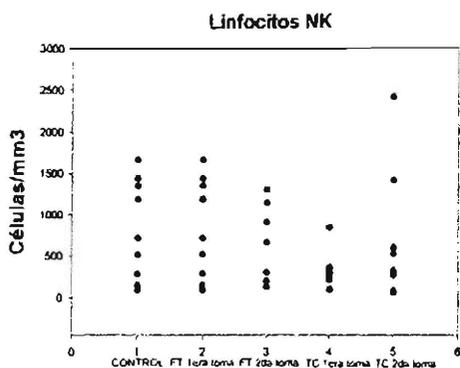
FT = Tratamiento Factor de Transferencia
TC = Tratamiento Convencional

a) Al realizar la comparación entre los grupos de trabajo (Grupo I y Grupo II) con el grupo control se observa una tendencia a incrementar el porcentaje de células NK en pacientes que cursan con DA; con excepción de la primer toma de muestra del Grupo II en donde se observa una disminución en esta estirpe celular al ser comparada con el Grupo III. Dichas diferencias son estadísticamente no significativas.

b) Al comparar las dos tomas de muestra por grupo de trabajo se aprecia que para ambos grupos de estudio, al término de su tratamiento existe un aumento en el porcentaje de células NK. Este aumento es estadísticamente no significativo.

c) Al realizar el análisis entre tratamientos (FT y convencional) se obtuvieron valores de p estadísticamente no significativos.

Gráfica 9'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
TC = Tratamiento Convencional

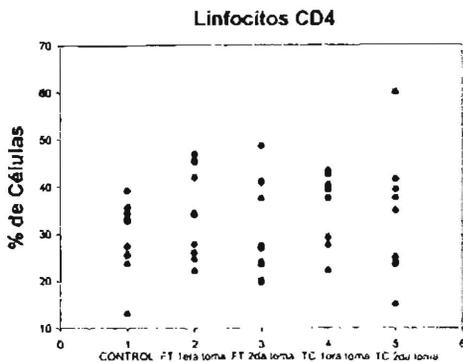
ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo f p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo
Tra = Tratamiento f = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma	

a) Al realizar la conversión de unidades a cel/mm³ para la población de linfocitos NK gráficamente no se observan cambios importantes al comparar los grupos de estudio con el grupo control. Esta comparación es estadísticamente no significativa.

b) Al comparar las tomas de muestra en el Grupo I no se observan cambios considerables al inicio y al término del tratamiento con FT. Para el Grupo II existe un incremento en la población de células NK al término de su tratamiento. Dichas variaciones no son estadísticamente significativas.

c) Al analizar los tratamientos (FT y convencional) no se encuentran diferencias importantes obteniéndose valores de p estadísticamente no significativos.

Gráfica 10



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
TC = Tratamiento Convencional

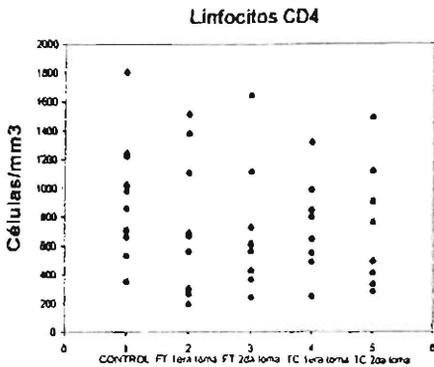
ANOVA	<p>Tra p = estadísticamente no significativo</p> <p>t p = estadísticamente no significativo</p>
t-pareada	<p>FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
t-student	<p>Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
<p>Tra = Tratamiento</p> <p>t = tiempo</p> <p>FT1 = Factor de Transferencia 1º. toma</p> <p>FT2 = Factor de Transferencia 2º. toma</p> <p>TC1 = Tratamiento Convencional 1º. toma</p> <p>TC2 = Tratamiento Convencional 2º. toma</p>	

a) Considerando la población de linfocitos T CD4+ (Th) (Cooperadores) gráficamente no se observan variaciones en los valores encontrados para las personas que cursan con DA al ser comparados con el grupo control. Esta comparación es estadísticamente no significativa.

b) Al comparar dos tomas de muestra por grupo de trabajo no se encuentran gráficamente y estadísticamente variaciones significativas.

c) Al realizar el análisis de los tratamientos (FT y convencional) no se encuentran cambios estadísticamente significativos.

Gráfica 10'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA
 Tra p = estadísticamente no significativo
 t p = estadísticamente no significativo

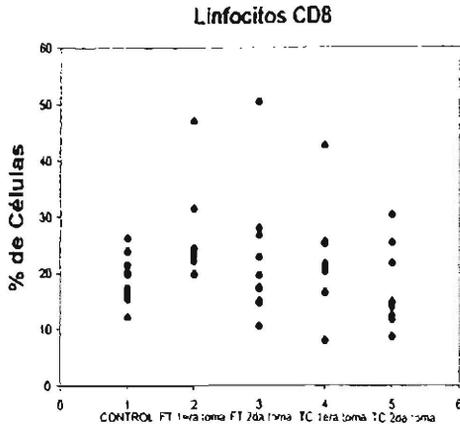
t-pareada
 FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo
 TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo

t-student
 Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo
 Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo
 Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo
 Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo

Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma

Para la población de linfocitos T CD4+ (Th) (cooperadores) gráficamente y estadísticamente no se encuentran cambios considerables al realizar las comparaciones correspondientes, obteniéndose valores de p estadísticamente no significativos en todas las pruebas realizadas.

Gráfica 11



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativa TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = 0.026 Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo

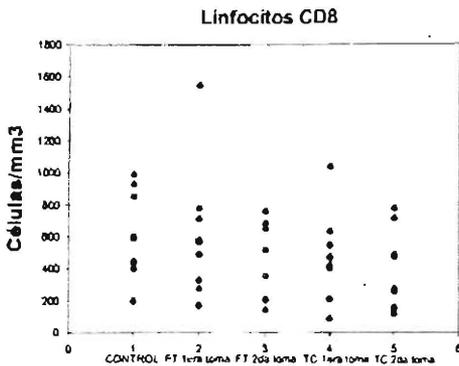
Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1^{ra} toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2^{da} toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1^{ra} toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2^{da} toma

a) Para la población de linfocitos T CD8+ (Tc) (Citotóxicos) gráficamente se observa que los pacientes que cursan con DA no presentan cambios significativos en dicha estirpe celular al ser comparados con el control sano. Con excepción del Grupo I en su primer toma de muestra. En donde reobserva un ligero incremento de dicha población celular, al ser comparado con el Grupo III. Dicho incremento es estadísticamente significativo.

b) Al comparar las tomas de muestra por grupo de trabajo se observa que en ambos grupos al término de sus tratamientos existe una ligera tendencia a incrementar sus linfocitos T CD8+. Dicha variación es estadísticamente no significativa.

c) Al comparar los tratamientos (FT y convencional) se obtienen valores estadísticamente no significativos.

Gráfica 11'



FT = Tratamiento Factor de Transferencia
 TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p = estadísticamente no significativo t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo

Tra = Tratamiento
 t = tiempo
 FT1 = Factor de Transferencia 1ª. toma
 FT2 = Factor de Transferencia 2ª. toma
 TC1 = Tratamiento Convencional 1ª. toma
 TC2 = Tratamiento Convencional 2ª. toma

a) Al realizar la comparación de los pacientes que cursan con DA con el grupo control gráficamente se observa que los pacientes con DA presentan una disminución en sus valores de linfocitos T CD8+ (Tc) (citotóxicos) al principio y término de su tratamiento. Dicha disminución es estadísticamente no significativa.

b) Comparando las tomas de muestra, en el Grupo I no se presentan cambios considerables al inicio y término del tratamiento con FT. Para el Grupo II se observa un ligero incremento en los linfocitos T CD8+ al término del tratamiento convencional. Estas variaciones no son estadísticamente significativas.

c) Con respecto a los tratamientos administrados (FT y convencional) no se encontró diferencia estadísticamente significativa.

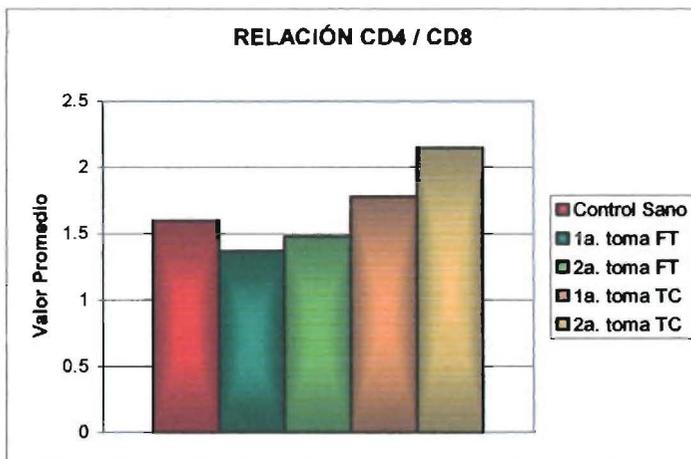
Población Celular	Valores Porcentuales				Valores cel/mm ³			
	Tratamiento con FT		Tratamiento Convencional		Tratamiento con FT		Tratamiento Convencional	
	1era Toma	2da Toma	1era Toma	2da Toma	1era Toma	2da Toma	1era Toma	2da Toma
Leucocitos Totales	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒	☒
Neutrofilos	✓	✓	✓	✓	☒	☒	☒	☒
Monocitos	✓	✓	✓	✓	✓	☒	☒	☒
Eosinófilos	✓	✓	✓	✓	✓	=	=	=
Basófilos	✓	✓	=	✓	=	=	=	=
Linfocitos Totales	=	=	=	=	x	x	x	✓
Linfocitos T	☒	✓	✓	✓	x	☒	☒	x
Linfocitos B	✓	✓	☒	✓	x	☒	x	x
Linfocitos NK	✓	✓	x	✓	=	=	=	=
Linfocitos CD4	=	=	=	=	=	=	=	=
Linfocitos CD8	☒	=	=	=	x	x	x	x

☒	Incremento estadísticamente significativo
✓	Incremento estadísticamente no significativo
☒	Disminución estadísticamente significativo
x	Disminución estadísticamente no significativo
=	No presenta cambios estadísticamente significativos

La tabla muestra el resumen de los resultados obtenidos en las gráficas anteriores, señalando las alteraciones encontradas en los grupos de trabajo (Grupo I y Grupo II) al ser comparados con el grupo control

Relación CD4 / CD8

No.Paciente	SANOS	FT1	FT2	TC1	TC2
1	2.07	1.95	1.41	1.36	1.8
2	1.32	1.72	1.16	1.55	1.16
3	1.70	0.94	1.65	2.08	3.05
4	1.82	1.41	1.46	1.31	1.56
5	0.79	1.09	1.20	1.97	1.59
6	1.15	0.12	2.56	2.80	2.82
7	1.47	1.56	0.54	0.95	1.03
8	2.68	2.39	2.40	2.30	3.56
9	1.19	1.13	0.87	1.7	2.77
10	2.32				
Promedio	1.6	1.37	1.48	1.78	2.15



ANOVA	<p>Tra p= 0.029</p> <p>t p = estadísticamente no significativo</p>
t-pareada	<p>FT1 vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
t-student	<p>Grupo III vs FT1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs FT2 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs TC1 p = estadísticamente no significativo</p> <p>Grupo III vs TC2 p = estadísticamente no significativo</p>
<p>Tra = Tratamiento</p> <p>t = tiempo</p> <p>FT1 = Factor de Transferencia 1°. toma</p> <p>FT2 = Factor de Transferencia 2°. toma</p> <p>TC1 = Tratamiento Convencional 1°. toma</p> <p>TC2 = Tratamiento Convencional 2°. toma</p>	

a) Gráficamente se observa que la relación CD4 / CD8 en los pacientes que cursan con DA se ve alterada al ser comparados con el control sano. Dicha alteración no es estadísticamente significativa.

b) Al comparar las tomas de muestra por grupo de trabajo, gráficamente se observa que al término de los tratamientos correspondientes, existe un ligero incremento en la relación CD4/CD8. Este incremento es estadísticamente no significativo.

c) Al realizar la prueba estadística de ANOVA se obtiene una diferencia significativa en el parámetro de tratamiento. Por lo que en este caso el FT y el tratamiento convencional no presentan el mismo resultado en la relación CD4/CD8.

Resultados proporcionados por el laboratorio del hospital "López Mateos"

Grupo I DA tratados con FT

No.Paciente	IgE Inicial	IgE Final	Coproparasitoscópico	Pruebas Cutáneas Positivas
1	1033.9	908	Negativo	DPT, puerco
2	475	450	Negativo	DPT, fresno
3	1100	1100	Negativo	Encino, fresno, abedul, manzana, durazno, chabacano, ácaro
4	3091	2901	Negativo	Alúñ, leche, caseína, huevo, chocolate, encino, fresno, gato, plumas
5	1345	1050	Negativo	Polvo, ácaro
6	1050	1114	Negativo	Ácaro, polvo, fresno, abedul, manzana, puerco
7	530	480	Negativo	Polvo casero, ácaro, leche
8	780	711	Negativo	Polvo, ácaro, caseína, chocolate, pera
9	1640	1440	Negativo	Gato, polvo, ácaro, abedul, leche
Promedio	1,227.21	1,128.22		

Grupo II DA tratados con TC

No.Paciente	IgE Inicial	IgE Final	Coproparasitoscópico	Pruebas Cutáneas
1	460	468	Negativo	Caseína, polvo, ácaro
2	275	258	Negativo	Fresno, tomate, camarón
3	943	1000	Negativo	Encino, polvo, ácaro, gato
4	1850	1600	Negativo	Encino, gato, perro, ajo
5	763	630	Negativo	Polvo, ácaro
6	645	600	Negativo	Fresno, encino, polvo, ácaro
7	550	300	Negativo	Pescado, naranja, polvo, ácaro, gato
8	1050	774	Negativo	Polvo, ácaro, gato, perro
9	496	345	Negativo	Ácaro, polvo, perro, fresno, abedul, ciruela, pera
Promedio	781.33	663.89		

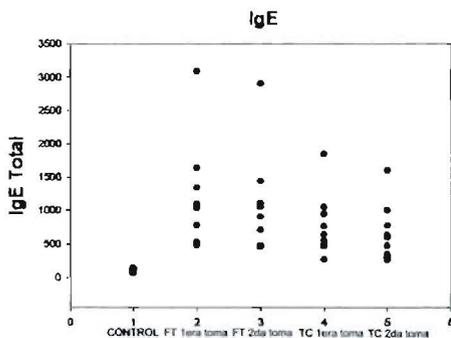
Grupo III Control Sano

No.Paciente	IgE Inicial	Coproparasitoscópico	Pruebas Cutáneas
1	138	Negativo	Negativo
2	80	Negativo	Negativo
3	120	Negativo	Negativo
4	65	Negativo	Negativo
5	83	Negativo	Negativo
6	59	Negativo	Negativo
7	146	Negativo	Negativo
8	110	Negativo	Negativo
9	79	Negativo	Negativo
10	63	Negativo	Negativo
Promedio	89.44		

Como se puede observar en todos los casos, para los pacientes que cursan con DA, independientemente del grupo de trabajo, presentan pruebas cutáneas positivas a diversos alérgenos. Esto no sucede con las personas de los controles sanos, los cuales presentan pruebas cutáneas negativas.

También se observa que para todos los grupos de estudio (Grupo I, II y III) los resultados de sus exámenes de coproparasitoscopia son negativos. Esto es muy importante ya que en infecciones parasitarias también existe un incremento en los niveles de IgE total.

IgE Total



FT = Tratamiento Factor de Transferencia

TC = Tratamiento Convencional

ANOVA	Tra p = 0.037 t p = estadísticamente no significativo
t-pareada	FT1 vs FT2 p = 0.031 TC1 vs TC2 p = estadísticamente no significativo
t-student	Grupo III vs FT1 p = 0.001 Grupo III vs FT2 p = 0.001 Grupo III vs TC1 p = 0.001 Grupo III vs TC2 p = 0.001
	Tra = Tratamiento t = tiempo FT1 = Factor de Transferencia 1º. toma FT2 = Factor de Transferencia 2º. toma TC1 = Tratamiento Convencional 1º. toma TC2 = Tratamiento Convencional 2º. toma

a) Gráficamente al comparar los pacientes que cursan con DA se observan valores muy por encima a los reportados por el grupo control. Esto se presenta antes y después del tratamiento correspondiente. Dicha variación es estadísticamente significativa.

b) Al analizar las tomas de muestra por grupo de trabajo, en el Grupo I, se observa una disminución al término del tratamiento en los valores de IgE estadísticamente significativo. Para el Grupo II también se observa una disminución en los valores de IgE en su segunda toma de muestra, aunque esta disminución no es estadísticamente significativa.

c) Al comparar los tratamientos recibidos (FT y convencional) se obtienen valores de p estadísticamente significativos. Indicándonos que los tratamientos proporcionados no tienen el mismo efecto sobre los niveles de IgE.

9. DISCUSIÓN

Es necesario aclarar que para la discusión de resultados el análisis de cada población celular en estudio se hace considerando las dos gráficas reportadas en la sección de resultados; es decir, se considera la gráfica con valores reportados en unidades de células/mm³ así como las gráficas en donde los valores se reportan como un porcentaje celular.

También es necesario mencionar que los defectos inmunológicos de las personas que cursan con DA son múltiples y complejos. Por lo que desafortunadamente en la literatura consultada solo se enumeran los hallazgos más importantes que explican en gran medida un cuadro clínico de este padecimiento.

Aun así en este trabajo experimental se consideran poblaciones celulares, que hasta el momento no se les ha prestado mucha atención, posiblemente por ser poblaciones que no presentan una gran variabilidad en sus niveles celulares.

En la primera parte de este estudio, se realizó la cuenta diferencial y leucocitos totales.

Considerando la población de leucocitos totales como un solo grupo de trabajo; se encontró una disminución en la cuenta leucocitaria en ambos grupos de trabajo (Grupo I y Grupo II) esta tendencia se conserva en dichos grupos antes y después del tratamiento recibido respectivamente. Al realizar la prueba estadística de t-student como un parámetro de salud-enfermedad, se obtienen valores de $p = 0.001$ (estadísticamente significativo). Por lo que podemos decir que esta disminución en el número de leucocitos totales es una alteración que está presente en los pacientes que cursan con DA causando un desorden general en su población leucocitaria independientemente del tratamiento posteriormente recibido.

En trabajos previos no se han observado variaciones significativas en el número de leucocitos totales. Con excepción de algunos pacientes los cuales

presentan un ligero aumento no significativo en sus niveles de leucocitos totales antes de recibir un determinado tratamiento (Rodríguez F. 2000)

Al comparar los parámetros de tratamiento y tiempo, en los pacientes que cursan con DA mediante la prueba de ANOVA se obtienen valores de p estadísticamente no significativos. Lo cual nos indica que tanto el tratamiento convencional, así como el tratamiento con FT tienen el mismo efecto en dichos pacientes. Y que el tiempo transcurrido entre las tomas de muestra no es el adecuado para observar cambios en dicha población celular.

En estudios anteriores se ha encontrado que los intervalos de tiempo entre las tomas de muestra suelen prolongarse de tres hasta seis meses (Rodríguez F. 2000, 2002. Navarro C. 1996)

Al efectuar la prueba de t-pareada también se encuentran valores de p no significativos, lo cual nos indica que los pacientes al término del tratamiento no han podido regular de manera adecuada el número de leucocitos presentes en sangre periférica.

Gráficamente y al comparar nuevamente las dos tomas de muestra por grupo de trabajo se observa una tendencia a incrementar los valores en la cuenta leucocitaria al término de sus tratamientos respectivos. Por lo que se sugiere continuar con ambos tratamientos pero con un periodo de tiempo más prolongado, permitiendo que los valores leucocitarios se regulen adecuadamente y posteriormente realizar una tercera toma de muestra para comprobar si efectivamente con el mismo tratamiento pero en un tiempo más prolongado se logra una normalización en la población de leucocitos totales.

Para la población de neutrófilos se observan cambios diferentes al comparar ambas gráficas. Ya que en la gráfica donde se manejan los porcentajes celulares no se encuentran valores de p significativos, en ninguna prueba estadística realizada; pero gráficamente se observa que los pacientes que cursan con DA tienden a incrementar sus valores en la población de neutrófilos, esto al inicio y al término de sus tratamientos.

Para la gráfica en donde los valores son reportados en unidades de No. de células/ mm³, el primer cambio estadístico que se presenta es al realizar la prueba estadística de t-student. Obteniéndose valores de p estadísticamente significativos en todos los casos. Lo cual nos indica que las variaciones en el número de neutrófilos es un parámetro celular que se ve afectado en pacientes que cursan con DA. La variación observada en esta gráfica es una disminución en el número de neutrófilos en los pacientes que cursan con DA. Dicha disminución es más perceptible al término de los tratamientos. Por lo que se podría considerar que los pacientes con DA al inicio de sus tratamientos cursan con una ligera neutrofilia. Aunque dicho incremento es estadísticamente no significativo.

En la bibliografía consultada se menciona que al comparar pacientes que cursan con DA con personas sanas no se ve afectado el nivel de neutrófilos en circulación (Yoshida T. 2002). Sin embargo, también se encontró que los pacientes que cursan con DA se observa una mayor prevalencia e incidencia de infecciones en la piel causada por bacterias, hongos y virus (Beirana P. 1999). Con esto podría justificar la disminución en el nivel de neutrófilos que se presenta en los pacientes que cursan con DA, en este trabajo experimental.

Considerando la población de monocitos en ambas gráficas se aprecia que los pacientes con DA (independientemente de su tratamiento) presentan niveles mayores de monocitos al ser comparados con el control sano. Y aunque este incremento es estadísticamente no significativo concuerda con lo reportado en la literatura.

Los pacientes con DA al presentar daño en la piel, tiene como consecuencia un aumento en el número de monocitos; ya que estos, se encuentran relacionados con procesos inflamatorios y la DA al ser un proceso inflamatorio crónico, promueve la producción de ciertos mediadores químicos, como el factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos

(GM-CSF). Ocasionando así un incremento en el número de monocitos en pacientes con DA (Beirana P 1999, Leung D 2001, Tofte S 2001).

Es así, que el aumento presente en los niveles de monocitos en los pacientes con DA antes de sus tratamientos se debe a la patología por la cual están cursando.

A pesar de que los valores estadísticos obtenidos de las pruebas t-pareada y ANOVA son no significativos. Gráficamente, al término del tratamiento con FT, los pacientes que cursan con DA ven disminuidos sus niveles de monocitos. Lo cual no sucede con los pacientes con tratamiento convencional, los cuales al término de su tratamiento incrementan los valores de esta población celular.

Por lo que nuevamente se recomendaría realizar una tercera toma de muestra o incrementar el tiempo de los tratamientos, para definir si dichas variaciones son significativas o no. De ser significativas nos daría una pauta para mencionar que los pacientes tratados con FT presentan una regulación y normalización en sus niveles de monocitos al término del tratamiento. Lo cual no sucedería con los pacientes tratados convencionalmente, si es que se sigue con la misma tendencia observada.

Considerando la prueba estadística de ANOVA, al no encontrar cambios significativos en los parámetros de tratamiento y tiempo. Se podría pensar que el tratamiento con FT y convencional tienen el mismo efecto sobre la población de monocitos y con respecto a el tiempo nos indica que las mediciones realizadas se están efectuando a destiempo. Por lo que si se desea apreciar cambios significativos es recomendable ampliar el tiempo entre las tomas de muestra realizadas.

Para la población de eosinófilos y considerando la bibliografía consultada, la cual nos menciona que los pacientes que cursan con DA presentan un aumento en los niveles de eosinófilos en sangre periférica; se realiza el siguiente análisis.

Se observa una marcada eosinofilia en los pacientes del Grupo I en su primera toma de muestra. La eosinofilia también está presente en el Grupo II de estudio (aunque la elevación de dicha población no es tan marcada como la presentada en el Grupo I) como se mencionó dicha elevación es estadísticamente no significativa. Lo cual nos indicaría que nuestros pacientes de ambos grupos (FT y convencional) no sufren una alteración en dicha estirpe celular al inicio y término de sus tratamientos correspondientes. A pesar de que gráficamente se puede observar que ambos grupos al término de sus tratamientos disminuyen sus niveles de eosinófilos al ser comparados con su primer toma de muestra.

Considerando las pruebas estadísticas de ANOVA y t-pareada, al obtener valores de p estadísticamente no significativos, nos indica, que tanto el tratamiento con FT, así como el tratamiento convencional, no presentan ningún efecto en la población de eosinófilos y estadísticamente hablando no se muestran cambios al inicio y al término del tratamiento correspondiente.

Pero al observar las gráficas, en el caso del Grupo I, la eosinofilia presente antes del tratamiento con FT y posteriormente apreciar una disminución en dichos niveles celulares al finalizar el tratamiento, nos hace suponer que si existe una regulación en los niveles de eosinófilos como un efecto producido por el FT. A diferencia de lo que sucede con el Grupo II, en donde los niveles de eosinófilos permanecen constantes al inicio y término del tratamiento. Confirmando una vez más la posible capacidad que presenta el FT para regular esta población leucocitaria, comparándolo con el tratamiento convencional.

Grewe y col. al estudiar pacientes que cursaban con DA, observaron que dichos pacientes presentan un perfil de citocinas tipo Th2, el cual se caracteriza por el incremento en la producción de IL-4 y disminución de la producción de IFN γ , como consecuencia los pacientes presentan niveles elevados de IgE y eosinofilia además de una marcada disminución de su inmunidad celular (Grewe M 1998, Jung T 1999).

Cuando las células Th2 son activadas se promueve la producción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 principalmente. La IL-5 derivada de las células cebadas y de las Th2, atraen eosinófilos y los activan incrementando sus niveles celulares. La activación de dichas células da como resultado la liberación del contenido de sus gránulos. Los mediadores liberados causan vasodilatación, broncoconstricción, obstrucción de vías aéreas y daño tisular, recordando que las respuestas de hipersensibilidad se caracteriza por un aumento en la respuesta inmune que se manifiesta al estar en constante y subsecuente contacto con el mismo alérgeno, es personal y tiene como característica principal causar daño tisular. (Beirana P. 1999).

Para la población de basófilos podemos apreciar que los pacientes que cursan con DA tienen una tendencia a incrementar los valores de dicha estirpe celular al ser comparados con el grupo control. Aunque dicha comparación es estadísticamente no significativa, aún así estos resultados son similares a los reportados en la literatura consultada ya que nos mencionan que el incremento en la población celular de basófilos es una característica común en pacientes que cursan con DA (Beirana P. 1999. Rodríguez F. 2000).

Esto se puede deber a que los pacientes atópicos al presentar niveles elevados de IgE, una inmunoglobulina que se enlaza con una gran afinidad a los receptores Fc- ϵ presentes en la superficie de las células cebadas y basófilos donde permanece por periodos prolongados de tiempo, puede estimular una sobreproducción de dichas células (basófilos y células cebadas) (Beirana 1999).

Debido a que los valores encontrados de las pruebas estadísticas realizadas fueron no significativos. Se podría pensar que dicha población no sufre alteraciones en las personas con cuadros de DA.

Pero de la misma forma que en los casos anteriores, al observar gráficamente que en el Grupo I de trabajo, al comparar la primera toma de muestra con la segunda toma de muestra realizada, y ver que al término del tratamiento existe una disminución gráfica en los niveles de basófilos, podría

pensarse que este efecto es debido al FT, el cual regula y normaliza esta población celular. Lo cual no sucede con el tratamiento convencional, en donde gráficamente sus niveles de basófilos permanecen constantes.

Para comprobar si lo anterior es cierto, se propondría continuar con ambos tratamientos (FT y convencional) y efectuar una tercera toma de muestra en ambos grupos de trabajo, pero en un periodo de tiempo más prolongado, para apreciar si realmente existe una normalización y regulación de sus poblaciones celulares.

Para terminar con el análisis de la cuenta diferencial, se considera la población de linfocitos totales, en donde solo se analiza la gráfica cuyas unidades son No. de cel/mm³. Pues en la gráfica de porcentajes celulares no se observa ninguna diferencia gráfica ni estadística.

De tal forma que en la gráfica donde los valores son reportados en unidades de No. de cel/mm³, se observa que los pacientes que cursan con DA presentan bajos niveles de linfocitos totales, al inicio y término de sus tratamientos, al ser comparados con el control sano. Obteniéndose valores de p estadísticamente significativos en todos los casos al realizar la prueba estadística de t-student, con excepción de la p encontrada al comparar el Grupo III con la segunda toma del Grupo II, en donde el valor de p es no significativo.

Referente al tratamiento recibido para cada grupo, y al observar gráficamente que en la segunda toma de muestra para el Grupo II existe un aumento en el número de linfocitos totales. Esto nos permite señalar que el FT posiblemente presenta un efecto regulador sobre el número de linfocitos totales, en pacientes que cursan con DA, efecto que el tratamiento convencional no presenta. Así pues los pacientes tratados con FT presentan un decremento en dicha población celular al término de su tratamiento, a diferencia de lo ya mencionado para el Grupo II.

Con respecto a lo encontrado en la bibliografía, nuevamente no es considerado como un solo grupo de estudio la población de linfocitos totales. Simplemente hacen referencia de que los pacientes que cursan con DA

presentan una depresión de la inmunidad celular con un aumento de la inmunidad humoral. Es así, que la población de linfocitos totales se verá afectada, pero no nos mencionan de qué forma (Beirana P. 1999. Leung D. 2001).

Nosotros, como hemos mencionado, obtuvimos una disminución en la población de linfocitos totales en los pacientes que cursan con DA.

Para la segunda parte experimental, en donde se empleó la técnica de citometría de flujo. Comenzando el análisis con la población de linfocitos T (CD3+) nuevamente se presenta una divergencia al realizar la comparación y el análisis de ambas gráficas obtenidas para esta población celular.

Analizando la gráfica en donde se reportan los porcentajes celulares, se aprecia que las personas con DA tienden a incrementar sus niveles de linfocitos T (CD3+), en comparación con el control sano. Esta comparación es estadísticamente significativa solo al comparar la primera toma de muestra del Grupo I con el Grupo III, obteniéndose una p al realizar la prueba de t -student de un valor de 0.038; mientras que en las demás comparaciones, se encontraron valores de p estadísticamente no significativas.

También se encontraron valores de p estadísticamente significativos, al realizar la prueba de ANOVA, obteniéndose una $p= 0.001$ para el parámetro de Tratamiento y tiempo. Observándose gráficamente que para el Grupo I, al término del tratamiento se observa un ligero incremento en los valores de linfocitos T (CD3+). Mientras que para el Grupo II la elevación de linfocitos CD3+ se presenta al principio del tratamiento y al término del mismo se aprecia una disminución de dichos valores.

En la prueba de t -pareada se obtuvo una p significativa igual a 0.020 solo al comparar las dos tomas de muestra para el Grupo II, lo cual nos sugiere que la población de linfocitos T (CD3+), se regula con mayor eficiencia en el grupo tratado convencionalmente, que el tratado con FT. Pues al realizar la comparación entre las dos tomas del Grupo I, los valores obtenidos son estadísticamente no significativos.

Considerando la gráfica de No. de cel/mm³, solo se obtuvieron valores estadísticamente significativos, al realizar la prueba de t-student; comparando la segunda toma del Grupo I ($p = 0.047$) con el Grupo III, y al comparar la primer toma de muestra del Grupo II ($p = 0.005$) con el grupo III.

Aun así, gráficamente se aprecia que los pacientes con DA sufren una ligera disminución en sus valores de linfocitos T CD3+ al ser comparados con el control sano.

Al realizar la comparación antes y al término del tratamiento por grupo de trabajo. Se aprecia que en el Grupo I, existe una ligera disminución en sus valores de linfocitos T CD3+ al término del tratamiento, lo cual no sucede con el Grupo II, pues al término de su tratamiento se presenta un aumento en los niveles de linfocitos T CD3+.

Se esperaba que al inicio de los tratamientos, los pacientes con DA presentarán una elevación de los linfocitos T CD3+, al ser comparados con el Grupo III, ya que los pacientes que cursan con DA presentan una elevación en el número de linfocitos TCD4+ (principalmente del tipo Th2), y al considerar en esta parte experimental la población de linfocitos T CD3+ como un solo grupo (lo cual involucra la población de linfocitos T CD3+,CD4+,CD8+). Al existir un incremento en la estirpe celular de linfocitos T CD4+ en pacientes que cursan con DA. Dicha elevación se tendría que ver reflejada también en la población de linfocitos T CD3+. Lo cual no sucede en este caso.

A pesar de no existir una elevación considerable en los pacientes que cursan con DA. Si se compara la primera toma de muestra del Grupo I, con su segunda toma, se aprecia que al término de su tratamiento los pacientes disminuyen sus valores de linfocitos T CD3+. En el caso de los pacientes del Grupo II, la elevación en los niveles de linfocitos T (CD3+), se presenta hasta su segunda toma de muestra.

Con estos resultados obtenidos y aunque estadísticamente la mayoría de ellos no son significativos, se podría decir que el FT presenta un posible efecto regulador en esta población celular, el cual no esta presente en el

tratamiento convencional, pues sus pacientes al término del tratamiento siguen presentando un desajuste en sus valores de linfocitos T CD3+.

Con esto se podría comprobar la eficiencia que presenta el FT para regular y normalizar los niveles celulares de linfocitos T, en comparación con el tratamiento convencional, esta aclaración se hace, por que en la gráfica de linfocitos T, en donde se reportan los porcentajes celulares, se pensaba que el tratamiento convencional tenía una mayor eficiencia para regular dicha población celular que el FT, pero al considerar esta última gráfica (No. de cel/mm³) se demuestra todo lo contrario.

Para la población de linfocitos B (CD19+) y considerando la gráfica de porcentajes celulares, solo se obtiene valores estadísticamente significativos de p, en la prueba de ANOVA en su parámetro de tiempo ($p = 0.046$) y al realizar la prueba de t-student, comparando la primera toma de muestra del Grupo II con el Grupo III ($p = 0.006$). Pero gráficamente se observa que los pacientes que cursan con DA al inicio y término de sus tratamientos presentan valores por encima a los reportados para el Grupo III.

Lo cual es lógico, ya que los pacientes que cursan con DA se ve favorecida la expresión de linfocitos Th2, sobre los Th1. Por lo que la respuesta de tipo humoral o de linfocitos B se vera incrementada en pacientes con DA, por la sobre expresión de los linfocitos Th2.

Al comparar las dos tomas de muestra por grupo de trabajo se observa que en ambos grupos de estudio al término de sus tratamientos correspondientes los niveles de linfocitos B CD19+ disminuyen considerablemente, permitiéndonos suponer que tanto el FT como el tratamiento convencional son capaces de regular dicha estirpe celular.

Para confirmar o refutar lo anteriormente señalado, se analizó la grafica cuyas unidades son reportadas en No. de cel/mm³, en donde estadísticamente hablando solo se encontraron valores significativos de p, al realizar la comparación de la segunda toma de muestra del Grupo I con el Grupo III ($p = 0.014$).

De tal forma, contradiciendo lo anteriormente señalado (gráfica %), en este caso los pacientes que cursan con DA, antes y al término de su tratamiento, presentan una disminución en sus valores de linfocitos B, al ser comparados con el Grupo III.

Al comparar la primera toma de muestra del Grupo I, con su segunda toma realizada, se aprecia que los pacientes tratados con FT al término de su tratamiento, disminuyen sus valores de linfocitos B CD19+. Para el Grupo II tratado convencionalmente se observa exactamente lo contrario, pues al término de su tratamiento los pacientes presentan valores por arriba de los valores encontrados en su primera toma de muestra.

Del análisis anterior se podría pensar que la disminución en los niveles de linfocitos B que se presenta en la segunda toma de muestra del Grupo I, se deba al posible efecto regulador del FT. Pero esto no es seguro, pues estadísticamente hablando no existen cambios o diferencias significativas.

Se sabe que la respuesta de tipo Th2 favorece a través de sus mediadores la respuesta inmunológica de tipo humoral o de los linfocitos B, los cuales para su activación necesitan por lo menos de dos señales; una derivada de su contacto con el antígeno y la otra derivada de su contacto con las citocinas producidas por las células T. Cuando las células Th2 son activadas promueven la producción de las citocinas IL-4, IL-6, IL-10 e IL-13 entre otras. Estas citocinas particularmente la IL-4 y la IL-13 regulan el cambio de clase o isotipo de las células B a favor de las inmunoglobulinas IgG1 a IgE (Rojas E. 2001).

Por consiguiente al existir una posible disminución en los linfocitos B de nuestro Grupo I de trabajo debe existir una disminución de la respuesta de tipo Th2 regulándose el cambio de isotipo de IgG1 a IgE. Todo esto atribuido a los posibles efectos del FT sobre los pacientes que cursan con cuadros de DA. Para el Grupo II tratado convencionalmente, al existir un incremento en sus valores de linfocitos B, al término de su tratamiento, nos permite decir que dicho tratamiento no tiene la capacidad de regular la respuesta inmunológica de los pacientes con DA.

Considerando a las células o linfocitos NK en ninguna de las gráficas realizadas se obtuvieron valores de p significativos de las pruebas estadísticas empleadas.

Pero al hacer su análisis gráfico, y tomando en cuenta la grafica de porcentajes celulares, se observa que al término de los tratamientos correspondientes (tratamiento con FT y tratamiento convencional) hay un incremento en los niveles de células NK, con respecto a los valores encontrados en su primer toma de muestra.

Al considerar la gráfica cuyas unidades son No. de cel/mm³ y comparar las primeras tomas de muestra con el control sano. En el Grupo I no se aprecian cambios significativos en los niveles de NK. Pero en el Grupo II gráficamente se observa que los pacientes con DA cursan con una disminución en sus valores de células NK. Al comparar las dos tomas de muestra por grupo de trabajo, en el Grupo I se observa una ligera disminución en los valores de los linfocitos NK. Para el Grupo II existe un incremento en los niveles de NK al término de su tratamiento.

Desafortunadamente en esta estirpe celular, en el caso del FT, no se presento el efecto regulador que se venia observando en las demás poblaciones celulares. Pero esto no quiere decir que su efecto inmunomodulador sea malo o no este presente, posiblemente se tendría que realizar una tercera toma de muestra en un tiempo más prolongado, para poder observar si efectivamente el FT presenta o no un efecto regulador y normalizador de esta estirpe celular.

Para los linfocitos T CD4+, en las gráficas realizadas para dicha estirpe celular se obtuvieron valores de p no significativos de las pruebas estadísticas empleadas, por lo que el análisis es solo de manera gráfica.

En ambas gráficas realizadas se observa que los pacientes que cursan con DA, presentan un incremento en el nivel de linfocitos T CD4+, al ser

comparados con el Grupo III, al inicio y término del tratamiento correspondiente.

Al comparar las tomas de muestra realizadas por grupo de trabajo, se aprecia que en ambos grupos de trabajo al término de sus tratamientos recibidos se muestra un ligero incremento en el valor de linfocitos T CD4+.

Se sabe que los pacientes que cursan con DA, se ve favorecida la estimulación de las células Th2, sobre las Th1 (ambas CD4+).

También es sabido que el FT es un inductor de $INF\gamma$, el cual es producido de forma natural por las células Th1, los linfocitos T CD8+ y células NK. El $INF\gamma$ estimula a los linfocitos T CD4+ vírgenes a diferenciarse al subtipo Th1 e induce la proliferación de Th2.

Es así, que el posible incremento mencionado anteriormente en la segunda toma de muestra para el Grupo I en las células TCD4+ , se deba a una posible regulación de las células Th2, es decir; al ser regulada las células de tipo Th2, se esperaba un decremento en los niveles de linfocitos T CD4+, pero esta disminución no es apreciable, si no que al contrario, se aprecia un ligero aumento en los niveles de linfocitos T CD4+, pero este incremento se debe a que al regular la población de linfocitos T CD4+ de tipo Th2, se estimula a la producción de células Th1 (que al principio del tratamiento por el cuadro de DA, se veían desfavorecidas en su producción por el mismo padecimiento) reflejado como un aumento de los niveles de las células T CD4+ en general.

Lo cual nos indica que el tratamiento con FT posiblemente regula la respuesta de los linfocitos Th2 sobre la Th1, tratándola de llevar a valores normales.

La explicación anterior no es aplicable para el Grupo II, pues en la literatura consultada no se le atribuyen efectos moduladores de la respuesta inmunológica al tratamiento convencional (antihistamínicos). Es así, que al existir un ligero aumento en los niveles de linfocitos TCD4+ en los pacientes del Grupo II al término de su tratamiento, nos sugiere que dichos pacientes continúan con un desajuste en su respuesta de linfocitos TCD4+.

Todo lo anterior fue analizado gráficamente, ya que estadísticamente no hay variaciones considerables en ningún grupo de trabajo.

El análisis de la subpoblación de linfocitos T CD8+ o linfocitos T citotóxicos, estadísticamente no reporta valores de p significativos. Solo al comparar la primer toma de muestra del Grupo I con el Grupo III ($P = 0.026$), en la gráfica donde se reporta el porcentaje celular.

Comparando los pacientes que cursan con DA con el Grupo III, en la gráfica de porcentajes celular, se observa que dichos pacientes antes y después de su tratamiento presentan valores elevados de linfocitos T CD8+, con respecto a los valores reportados para el grupo control, lo cual es poco lógico, por lo que se ha venido mencionando, de que los pacientes que cursan con cuadros de DA, ven favorecida la respuesta celular de tipo Th2, lo cual limitaría que existiera un incremento en la población de linfocitos T citotóxicos.

Considerando la gráfica de No. de cel/mm³, se aprecia que los pacientes que cursan con DA, presentan una disminución en sus valores de linfocitos T CD8+, al ser comparados con el Grupo III, antes y después del tratamiento recibido respectivamente.

Al analizar las dos tomas de muestra realizadas por grupo de trabajo, en el Grupo I tratado con FT, sus niveles de linfocitos T citotóxicos permanecen sin cambios al inicio y término del tratamiento. Para el Grupo II tratado convencionalmente se observa que al término del tratamiento existe un ligero aumento en el número de linfocitos T CD8+, aunque este incremento no es tan apreciable, por lo que también se podría considerar que dicha población no sufre cambios antes y después del tratamiento.

Esto nos da la pauta de decir, que aunque no existe un cambio significativo en los niveles de linfocitos T CD8+, al comparar la primera toma de muestra con la segunda toma, el FT muestra su efecto inmunomodulador de las células linfocitarias, aunque dicho efecto no es el ideal, pero esta presente. Ya que al comparar dichos valores (primera toma y segunda toma) con el

Grupo III, se muestra que dichos valores van hacia la alza. Lo anterior también es aplicable para el Grupo II de trabajo, el cual muestra el mismo comportamiento.

Aunque en este caso el tratamiento con FT y el tratamiento convencional presentan un mismo resultado, es decir, parecería que tratan de regular ambas respuesta celulares (la respuesta de tipo Th2 sobre la Th1) es solo de manera gráfica, ya que estadísticamente se encontraron valores de p no significativos. Además considerando los resultados obtenidos de las demás poblaciones celulares en estudio, el posible efecto regulador del FT en los pacientes que cursan con DA en la respuesta celular de tipo Th2 sobre la de Th1, es mucho más creíble, que el supuesto efecto regulador proporcionado por el tratamiento convencional.

El resultado obtenido de esta población celular (linfocitos T CD8+), nos permite reafirmar mucho de lo mencionado anteriormente. Retomando el caso del incremento en la subpoblación de linfocitos T CD4+ al término del tratamiento en el Grupo I se debe a que efectivamente el FT modula la expresión de las subpoblaciones linfocitarias. Pero al modularlas y de cierta forma impedir la sobre expresión de ciertos estímulos, ayuda a la estimulación y proliferación de nuevas células que se encontraban limitadas en su expresión, como lo observado en los pacientes que cursan con cuadros de DA, en donde se presentan un aumento en su respuesta de tipo Th2 sobre la Th1 (recordando que tanto Th2 como Th1 son linfocitos T CD4+). Por lo que si el FT al ser un inmunomodulador y potenciador de INF γ , ayudará a la estimulación de la respuesta de células Th1 y regulará la respuesta de Th2 (evitando su sobre expresión), y como ya se explico esto gráficamente no se puede apreciar; lo que si se observa es un aumento de las células CD4+, que en este caso se debe a una regulación de las células Th2 y un aumento de las células Th1, por el efecto regulador del FT.

Al realizar el estudio de las subpoblaciones linfocitarias, nos permitió obtener los valores correspondientes de las poblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+. Y a partir de estos valores obtener la relación CD4/CD8.

En donde gráficamente los pacientes que cursan con DA se ve alterada independientemente del tratamiento recibido, al ser comparados con el Grupo III.

Para el Grupo I tratado con FT se observa que antes del tratamiento dicha relación se encuentra por debajo de los valores reportados para el control sano. Al término del tratamiento se aprecia un ligero incremento en la relación CD4/CD8, alcanzando valores similares al Grupo III.

En el Grupo II tratado convencionalmente la relación CD4/CD8 al inicio y término del tratamiento recibido se ve incrementada al compararla con los valores del grupo control. Cabe señalar que el mayor incremento en la relación CD4/CD8 se presenta al término del tratamiento.

El análisis anterior, es realizado de manera gráfica, debido a que los valores obtenidos de p , de las pruebas estadísticas realizadas son no significativos. Con excepción de la prueba de ANOVA en su parámetro de tratamiento ($p = 0.029$), con lo cual se puede decir que existe una mejor regulación de dicha relación, en los pacientes tratados con FT, que los tratados convencionalmente.

La determinación de los porcentajes linfocitarios CD4+ y CD8+, así como la relación CD4/CD8, puede ser útil en el control del estado inmunitario de pacientes que cursan con enfermedades inmunodeficientes, enfermedades autoinmunes o reacciones inmunitarias o simplemente en personas que se sospecha que podrían desarrollar trastornos inmunitarios.

Generalmente en personas sanas la relación CD4/CD8, tiene un valor aproximado de 1.9 a 2.0.

En personas que cursan con cuadros de DA esta relación se ve afectada, en donde generalmente se ve disminuida.

Desafortunadamente esta disminución aunque se ve presente solo en los pacientes del Grupo I antes de recibir su tratamiento, estadísticamente no

es significativa al comparar los valores con el Grupo III. Por lo que se podría creer que los pacientes evaluados en este trabajo experimental (independientemente del Grupo de estudio) no sufren alteraciones en su relación CD4/CD8, en comparación con el Grupo III o control sano.

Evaluando los resultados proporcionados por el hospital "López Mateos", y considerando los estudios realizados en los pacientes que cursan con DA y controles sanos, se aprecia que en el estudio coproparasitoscopico realizado a los pacientes del Grupo I, Grupo II y Grupo III, los resultados obtenidos son negativos en todos los casos, lo cual es de suma importancia, debido a que las personas que sufren de enfermedades parasitarias presentan un incremento en sus valores de IgE total, por lo cual, en las personas que cursan con DA, el incremento en sus valores de IgE total solo se debe al padecimiento mismo ya mencionado y no a posibles enfermedades parasitarias que llegaran a presentar, al realizarse, las tomas de muestras indicadas.

Con respecto a las pruebas cutáneas realizadas a los pacientes del Grupo I y del Grupo II, se observa que en todos los casos los pacientes además de cursar con un cuadro de DA, también son hipersensibles a diferentes alérgenos, inhalados e ingeridos, ya que presentan niveles elevados de IgE alérgeno específico pegado a los mastocitos de la piel, lo cual es muy común en pacientes con DA, debido a que es un padecimiento de etiología multifactorial, la asociación con otras enfermedades alérgicas esta presente; tal es el caso de la rinitis alérgica o el asma extrínseco.

Analizando los valores de IgE total, encontramos que en la mayoría de las pruebas realizadas los valores de p reportados son significativos.

Es así, que al realizar la comparación de los pacientes que cursan con DA (antes y después del tratamiento) con el Grupo III, se aprecia que en todos los casos los pacientes con DA tienen valores muy elevados de IgE total, al ser comparados con el grupo control. La elevación en los niveles de IgE total es una característica principal en los pacientes con DA, obteniéndose valores

estadísticamente significativos en todos los casos al realizar la prueba de t-student con una $p = 0.001$, en todos los casos.

Al comparar la primera toma de muestra con la segunda toma realizada por grupo de estudio (con ayuda de la prueba estadística de t-pareada), se observa que para el Grupo I de trabajo, al término de su tratamiento presenta una disminución en sus valores de IgE total al ser comparados con los obtenidos al inicio del mismo. Obteniéndose una $p = 0.031$. Para el grupo tratado convencionalmente, también se muestra una disminución de los niveles de IgE al término de su tratamiento, al ser comparados sus valores con los obtenidos en la primera toma de muestra. Aunque dicha comparación solo es de manera gráfica, ya que estadísticamente el valor de p encontrado para dicha comparación no es significativo.

En el caso de la prueba estadística de ANOVA, solo se obtuvo un valor significativo en el parámetro de tratamiento ($p = 0.037$), con lo cual se confirma una vez mas la capacidad que presenta el FT para normalizar, regular y controlar la respuesta de tipo Th2 Sobre la Th1, recordando nuevamente que los pacientes con DA presentan un incremento en la expresión de la respuesta de tipo Th2. Cuando las células Th2 son activadas promueven la producción de ciertas citocinas, en donde encontramos la IL-4 e IL-13 que son las encargadas de regular el cambio de isotipo de las inmunoglobulinas de IgG1 a IgE.

De tal forma, el FT al regular la respuesta de tipo Th2, también regulará de una manera indirecta el cambio de isotipo mencionado, ocasionando una disminución en los niveles de IgE.

En la mayoría de los casos se ha tratado de explicar, las variaciones presentes en los leucocitos, subpoblaciones linfocitarias y niveles de IgE total en pacientes que cursan con DA, tratando de relacionar las alteraciones inmunológicas presentes, con los tratamientos recibidos en este trabajo experimental; pero es de suma importancia considerar que en aquellos pacientes que mantuvieron parámetros elevados , se debe de atribuir a la variabilidad biológica de cada paciente además de la severidad de su patología; ya que siendo seres humanos, es más difícil mantener controladas las variables externas que pueden causar modificaciones en los resultados. Pudiendo ser que estos pacientes estén sometidos a estrés o a un ambiente alérgico, lo cual favorece las manifestaciones clínicas de dicho padecimiento.

10. CONCLUSIONES

El análisis realizado en esta tesis experimental, nos permitió conocer las alteraciones que sufren los pacientes que cursan con DA, pero para poder observar cambios significativos en las estirpes celulares de estudio, independientemente del tratamiento al cual fueron sometidos (tratamiento con FT y tratamiento convencional), hubiera sido recomendable manejar tiempos mas prolongados entre las tomas de muestra o bien manejar una tercera toma de muestra, para confirmar con exactitud los efectos inmunomoduladores del FT y el tratamiento convencional (si es que lo tiene).

De acuerdo con los resultados obtenidos de los valores inmunológicos en los estudios de los pacientes con DA, tratados con FT (Grupo I), tratados convencionalmente (Grupo II) y al realizar comparaciones pertinentes, se observa que los pacientes que recibieron FT, logran una mejor normalización de sus poblaciones leucocitarias y subpoblaciones linfocitarias, así como también en sus valores de IgE total.

Resaltando que en la mayoría de los casos, dicha regulación de las poblaciones celulares en estudio, no son estadísticamente significativas.

Con esto tratamos de decir que posiblemente no se observaron cambios estadísticamente significativos, por encontramos a destiempo al realizar las evaluaciones de las poblaciones celulares ya mencionadas y analizadas en este trabajo. Pero si se encontraron tendencias que nos permiten apreciar los posibles efectos inmunomoduladores del FT.

Otro motivo por el cual no se encontraron cambios importantes, se debe a que posiblemente no se consideraron otras poblaciones celulares que también sufran cambios importantes en la DA (como son las células cebadas) por lo que se recomienda ampliar el estudio y analizar no solamente las alteraciones producidas a nivel de leucocitos, sino buscar la presencia o ausencia de intermediarios inmunológicos (como citocinas, IL4, INF γ , IL13) que puedan ser distintivos de dicha enfermedad.

A pesar de todo lo anterior, podemos decir que el FT como tratamiento único para la DA es efectivo, presentando en muchos de los casos mayores beneficios que los obtenidos por un tratamiento convencional.

Reafirmando que el FT puede ser utilizado dentro de los esquemas de trabajo para dicho padecimiento, como un tratamiento integral, contando con una gran eficacia y resultando de bajo costo al compararlo con otros muchos tratamientos que en la actualidad son proporcionados a pacientes con cuadros de DA.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Anthony du Virier. Atlas de Dermatología Clínica. MD. FRCP. México, 1990.
2. Arenas, Roberto. Atlas, Diagnóstico y tratamiento. Edit. Mc Graw-Hill. México, 1995.
3. Asociación Mexicana de Pediatría. Primer consenso sobre Diagnóstico y Tratamiento de Dermatitis Atópica. México, 2001.
4. Beirana, P. Angélica. Dermatitis Atópica. Educación Médica Continua. Revista Centro Dermatológico Pascua. Vol. 8 Num. 3, Sep.-Dic. 1999.
5. Cabezas Quiroga, R., Estrada P. Sergio. Inmunoterapia con Factor de Transferencia. Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas, Centro de Investigaciones Biológicas, Cuba y ENCB/IPN. 1996.
6. Cazarín, B. Jorge. Tacrolimus en Dermatitis atópica grave y refractaria. Su empleo en los caos y revisión de la literatura. Actas Dermatología y Dermatopatología. Publicación Oficial el Colegio Nacional de Dermatología A.C. Año.1 Vol.1 Números 1 y 2. enero-junio 2001.
7. Estrada, P. Sergio. El efecto terapéutico del factor de transferencia en el tratamiento de pacientes con dermatitis atópica grave. Alergia, Asma e inmunología Pediátricas. Vol.11 Num.1, Enero-Abril 2002.
8. Estrada, P. Sergio. Actualidades en enfermedades alérgicas 2002. III Congreso Internacional y VII Congreso Anual del Colegio de Alergia e Inmunología de Puebla A.C. Junio 2002.

9. Ferry B., Antrobus P. Intracellular cytokine expression in whole blood preparation from normals and patients with atopic dermatitis. 1997. Clin Exp Immu. 110:410-417.
10. Fudenberg, Hugh. Pizza, G. Transfer Factor 1993: New Frontiers. Progress in Drug Research. Vol.42. April. 1994.
11. Grewe M., Bruijineel-Koomen C. A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. 1998. Immunology Today. 19:359-361.
12. Jung T., Moessner R. Mechanisms of deficient interferon- γ production in atopic diseases. 1999. Clin Exp Allergy. 29:912-919.
13. Kirkpatrick, Charles. Structural Nature and Functions of Transfer Factor. . 1993. Ann NY Acad Sci 685:362.
14. Kirkpatrick, Charles. Transfer Factors: Identification of Conserved Sequences in Transfer Factor Molecules. 2000. Mol Med 6 : 332-341.
15. Landsteiner K., Chase M.W. Studies of sensitization of animals with simple chemical compounds. VII. Skin sensitization by intraperitoneal injections. 1940. J Exp Med 71:231.
16. Lawrence, H.S. The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man. 1949. Proc Soc Exp Biol Med 71:516-519.g
17. Leung, Donald Y.M., Soter, Nicholas A. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. 2001. J Am Acad Dermatol (supplement). 44:S1- 12. January.

18. Navarro, C. Cruz Serrano, M. Ernestina. Factor de Transferencia en dermatitis atópica moderada y severa. Revista Alérgica México. Vol. XLII Num. 5. septiembre-octubre 1996.
19. Pérez T. Sonia, M. Efecto de los DLE's sobre células mononucleares de sangre periférica. Tesis de Maestría en Ciencia, Especialidad de Inmunología. ENCB / IPN. México. 2001.
20. Rodríguez F. Azucena. Efecto Terapéutico del Factor de Trasterencia en el tratamiento de pacientes con Dermatitis Atópica Severa. Tesis de Licenciatura. Químico Farmacéutico Industrial. ENCB/IPN. México. 2000.
21. Rodríguez F. Azucena. El Efecto terapéutico del Factor de Trasterencia en el tratamiento de pacientes con Dermatitis Atópica Grave. Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica. Vol. 11. Num.1. Enero-Abril. 2002.
22. Rojas-Espinoza. Inmunología (de memoria). Segunda Edición. Edit. Panamericana. México. 2001.
23. Toffe, Susan. J. Current management and Therapy of atopic dermatitis. 200. J Am Acad Dermatol. 44: S13-15. January.
24. Yoshida T. CD35 expression on peripheral blood granulocytes of patients with atopic dermatitis. 2002. J Dermatol Sci. 28(1):42-7. January.