



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

**“EVALUACIÓN DE POBLACIONES CELULARES EN  
PACIENTES VIH-POSITIVOS CON UVEÍTIS”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN:  
**CIRUJANO OFTALMÓLOGO**

PRESENTA

**DRA. MARÍA DANIELA SÁNCHEZ PEREDA**

**ASESORES DE TESIS**

**DRA. STEPHANIE VOORDUIN RAMOS**

**M.C. ATZÍN ROBLES CONTRERAS**



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.

---

DR. ALEJANDRO BABAYÁN SOSA  
PROFESOR TITULAR

---

DR. OSCAR BACA LOZADA  
PROFESOR ADJUNTO

---

DRA. ADRIANA SAUCEDO CASTILLO  
PROFESOR ADJUNTO / JEFA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

---

DRA. STEPHANIE VOORDUIN RAMOS  
SUBJEFA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE ENFERMEDADES INFLAMATORIAS  
OCULARES  
ASESOR DE TESIS

---

DR. JAIME LOZANO ALCÁZAR  
DIRECTOR MÉDICO

---

M.C. ATZÍN ROBLES CONTRERAS  
ASESOR DE TESIS

## ÍNDICE

Introducción .....	5
Marco teórico.....	6
Planteamiento del problema.....	8
Justificación .....	8
Pregunta de investigación .....	8
Hipótesis.....	9
Objetivos .....	10
• General	
• Específicos	
Material y métodos .....	11
• Universo de trabajo .....	11
• Tipo de estudio .....	11
• Descripción de variables .....	11
• Tamaño de la muestra.....	11
• Criterios de inclusión .....	11
• Criterios de exclusión .....	11
• Criterios de eliminación .....	12
• Toma de muestra sanguínea.....	12
• Tinción de poblaciones celulares .....	12
• Análisis de datos .....	12
Recursos financieros y de factibilidad .....	14
Resultados .....	15
Discusión .....	19
Conclusiones .....	21
Bibliografía .....	22

## Introducción

---

Se define a la uveítis como cualquier inflamación intraocular, su incidencia es de 17-52 por 100,000 habitantes al año y la prevalencia oscila entre 38-714 por 100,000 habitantes <sup>(1,2)</sup>. Dichos datos tendrán variaciones según el grado de desarrollo del país, nivel de medios diagnósticos y tipo de centro en el que se recojan los datos, puede presentarse a cualquier edad, siendo más frecuente de los 16 a los 40 años de edad <sup>(2)</sup>. El grupo internacional de estudio en uveítis (SUN) por sus siglas en inglés, clasifica a la uveítis en 3 grupos uveítis infecciosas, no infecciosas y síndromes mascarada <sup>(3)</sup>. La uveítis endógena es una enfermedad intraocular que puede conducir a la ceguera en muchos casos, se piensa que la mayoría de las entidades causantes de uveítis son similares inmunohistológicamente y se caracterizan por infiltración principalmente de células T <sup>(1)</sup>.

Dentro de las causas más frecuentes de uveítis se tienen que citar las causas infecciosas de las cuales se ha reportado una incidencia de hasta 15 a 20% en Estados Unidos. En la etiología pueden estar involucrados tanto virus, bacterias, hongos o parásitos, en el grupo de los virus los más comunes son los herpes virus tipo 1, tipo 2 y virus varicela zoster (VVZ) así como el citomegalovirus que a pesar de que aproximadamente el 80-85% de la población mayor de 40 años son seropositivos para este virus únicamente se manifiesta la infección en pacientes inmunocomprometidos mientras tanto la bacteria que más frecuentemente se asocia con uveítis en pacientes con VIH, pertenece al grupo de las espiroquetas y es el *Treponema pallidum* <sup>(4)</sup>. Dentro de las causas más importantes cabe mencionar al *Toxoplasma gondii* que es un parásito intracelular obligado que en los pacientes VIH positivos puede desencadenar cuadros importantes de retinocoroiditis con mayor presentación de hemorragias intraretinianas difusas y que no siempre se asocia con cicatrices retinocoroideas previas. Por todo lo mencionado previamente es muy importante descartar, en todo paciente con uveítis causas infecciosas principalmente en asociación con VIH <sup>(5)</sup>.

## Marco Teórico

---

Desde la primera descripción en 1982 del involucro ocular en pacientes con VIH, se han estudiado las posibles etiologías en estos pacientes la cuales involucran tanto etiologías infecciosas como no infecciosas, a pesar de estos estudios determinar la causa de la uveítis en pacientes con VIH puede ser todo un reto debido a las alteraciones en el curso de las enfermedades así como las manifestaciones atípicas <sup>(5)</sup>.

La mayoría de los estudios de investigación realizados en uveítis se han enfocado en el estudio de los mediadores de inflamación intraocular como las citocinas. La citología es considerada el gold standard para la identificación de tipos celulares, la mayoría de los estudios realizados han sido con el fin de determinar linfocitos B y T <sup>(6)</sup>. También se han podido determinar las células natural Killer (NK) por sus siglas en inglés que son poblaciones de células T heterogéneas que se caracterizan por la expresión de varios receptores NK incluyendo CD16, CD56, CD161, CD94, CD158a y CD158b. Se ha considerado a las células NK como reguladoras de respuestas autoinmunes y adaptativas, aunque existe cierta controversia del papel funcional de las células NK en diferentes sitios inflamatorios<sup>(7,8,9)</sup>.

La mayoría de las veces se determina la causa de uveítis a través de la clínica, y estudios paraclínicos ya sean de laboratorio o gabinete. Sin embargo, actualmente se cuenta con otros métodos como lo es la citometría de flujo ampliamente utilizada por otras especialidades que es capaz de determinar células inflamatorias o neoplásicas con muestras pequeñas y alta fiabilidad, para la identificación del tipo de respuesta celular <sup>(10)</sup>. Finalmente podemos considerar a la citometría de flujo una técnica alternativa que permite obtener mayor información de las poblaciones celulares por medio de anticuerpos específicos contra marcadores celulares de superficie, puede detectar múltiples marcadores celulares simultáneamente y permite realizar con precisión análisis estadístico<sup>(5)</sup>. Aplicada al

estudio de uveítis es capaz de identificar la respuesta celular presente en humor acuoso y vítreo de una forma rápida y precisa <sup>(8,10)</sup>.



## Planteamiento del Problema

---

Debido al aumento en la prevalencia de pacientes con enfermedades inflamatorias asociadas a VIH y la modificación que esta condición atribuye al curso de la enfermedad es importante conocer la población celular en estos pacientes y de esta forma identificar de forma temprana pacientes con actividad inflamatoria ocular y puedan recibir el tratamiento adecuado.

## Justificación

---

Establecer el diagnóstico diferencial entre la etiología infecciosa o autoinmune es difícil sobre todo en casos de panuveítis, endoftalmitis crónicas o endógenas. La citometría de flujo junto con la citología puede ayudar al ser una prueba más rápida que los cultivos clásicos.

Se necesitan aumentar el número de casos y profundizar más en los resultados de esta técnica para poder incorporarla plenamente al catálogo de las pruebas en el diagnóstico de uveítis.

## Pregunta de Investigación

---

¿Cuáles son las poblaciones celulares en pacientes VIH positivos con uveítis activa y en pacientes con uveítis sin actividad?

## Hipótesis de trabajo

---

En pacientes con uveítis activa asociada a VIH se encontrará mayor proporción de células CD4+, CD8+, Células NK con respecto a pacientes con uveítis inactiva asociada a VIH.

## Objetivos

---

### Objetivo general

- Conocer la distribución de las diferentes poblaciones celulares en pacientes con uveítis activa y no activa asociadas a VIH.

### Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de poblaciones CD3 (Linfocitos T), CD4 (Linfocitos T cooperadores), CD8 (Linfocitos T citotóxicos), CD19 (Linfocitos B) y CD56 (Células NK) en pacientes VIH+ con uveítis activa.
- Determinar el porcentaje de poblaciones CD3 (Linfocitos T), CD4 (Linfocitos T cooperadores), CD8 (Linfocitos T citotóxicos), CD19 (Linfocitos B) y CD56 (Células NK) en pacientes VIH+ con uveítis inactiva.
- Determinar la carga viral (número de copias del virus en un mililitro de sangre) en pacientes con uveítis activa.
- Determinar la carga viral (número de copias del virus en un mililitro de sangre) en pacientes con uveítis inactiva.

## Material y Métodos

---

### Universo de trabajo

Pacientes del departamento de Enfermedades Inflamatorias Oculares de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz con diagnóstico de uveítis asociada a VIH.

### Tipo de estudio

Prospectivo, transversal, observacional.

### Descripción de variables.

- *Edad*
- *Sexo*
- *Tiempo con el diagnóstico*
- *Actividad de la enfermedad*
- *Poblaciones celulares*

### Tamaño de la muestra

Se incluirán pacientes con diagnóstico de VIH y uveítis activa y no activa del periodo comprendido entre mayo 2016-2017. Al año se otorgan aproximadamente 25 consultas a pacientes con VIH y uveítis activa, se realizará un cálculo de la muestra con intervalo de confianza del 95% y con un error del 5%.

### Criterios de inclusión

1. Pacientes con uveítis activa y VIH.
2. Pacientes con uveítis inactiva y VIH
3. Pacientes que acepten participar en el estudio con firma de consentimiento informado.

### Criterios de exclusión.

1. Pacientes con uveítis sin asociación a VIH.
2. Pacientes con VIH sin uveítis

### Criterios de eliminación.

1. Pacientes que retiren su consentimiento de participar en el estudio.
2. Pacientes con hipertensión, diabéticos y con otras patologías inflamatorias oculares.

### Toma de muestra sanguínea

La sangre se extrae de una vena usualmente de la parte interior del codo o del dorso de la mano. El sitio de punción se limpia con un antiséptico y luego se coloca una banda elástica o un brazalete de presión alrededor del antebrazo con el fin de ejercer presión y restringir el flujo sanguíneo a través de la vena, lo cual hace que las venas bajo la banda se dilaten, y hace más fácil que la aguja alcance alguno de los vasos sanguíneos.

Inmediatamente después, se introduce una aguja en la vena y se recoge la sangre en un tubo morado. Durante el procedimiento, se retira la banda para restablecer la circulación y, una vez que se ha recogido la sangre, se retira la aguja y se cubre el sitio de punción para detener cualquier sangrado.

### Tinción de poblaciones celulares

Las células obtenidas fueron marcadas con anticuerpos monoclonales conjugados a un fluorocromo. Se realizaron incubaciones con anticuerpos dirigidos contra CD3, CD4, CD8, CD56 y CD19. Una vez marcadas las células se procedió a leerlas en un citómetro de flujo FACS Canto II, se adquirirán 5000 eventos evaluando las características fenotípicas en una ventana de tamaño vs. Granularidad celular, presentando los resultados en imágenes con el software FACS DIVA. Los resultados se expresaron en porcentajes.

### Análisis estadístico

Los resultados serán analizados por estadística descriptiva y posteriormente serán sometidos a un análisis de normalidad. Las comparaciones entre los diferentes grupos de estudio serán analizadas con la prueba ANOVA de una vía. Se

considerara una diferencia estadísticamente significativa cuando se obtenga una  $p < 0.05$ .

## Recursos financieros y de factibilidad

---

### Recursos humanos

Autor: Dra. María Daniela Sánchez Pereda.

Asesores: M.C Atzin Robles Contreras, Dra. Stephanie Voorduin Ramos.

### Recursos materiales

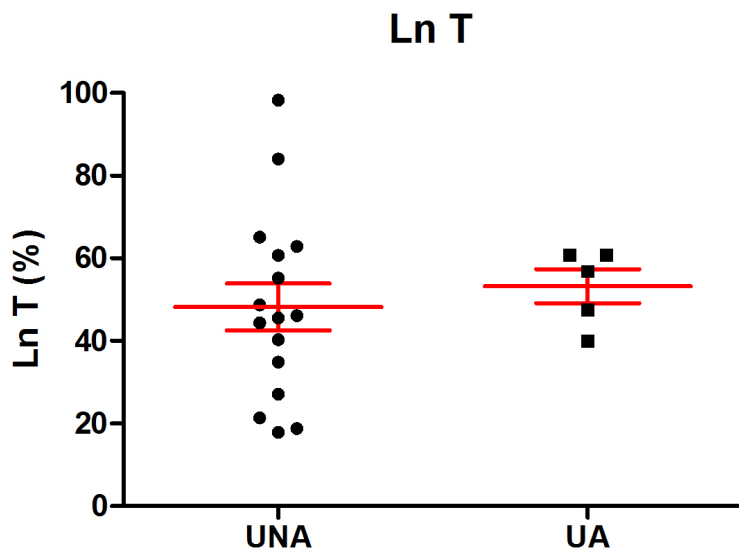
- Bienes
  - Expediente clínico
  - Programa Microsoft Excel
  - Impresora
- Servicios
  - Biblioteca de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz
  - Acceso a revistas especializadas
  - Muestras de sangre periférica
  - Citometría de flujo

### Recursos financieros

Para el análisis de poblaciones celulares se realizó la compra de anticuerpos específicos contra los marcadores moleculares, así como también la compra de consumibles con un costo de aproximado de \$25,000.00. Estos reactivos fueron comprados con recursos otorgados por la Fundación Hospital “Nuestra Señora de la Luz” I. A. P.

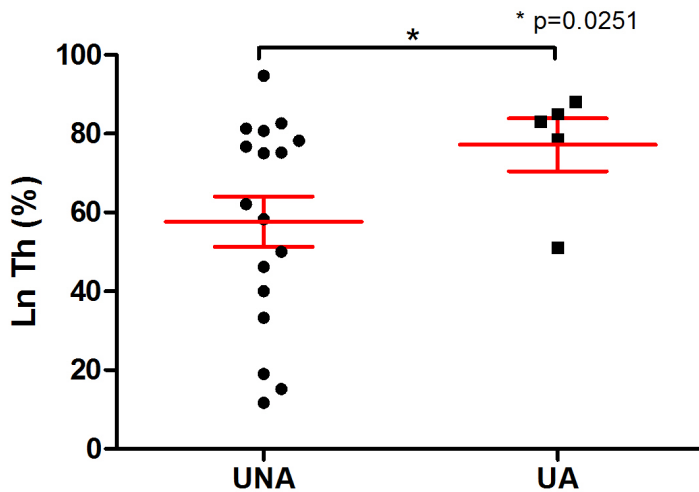






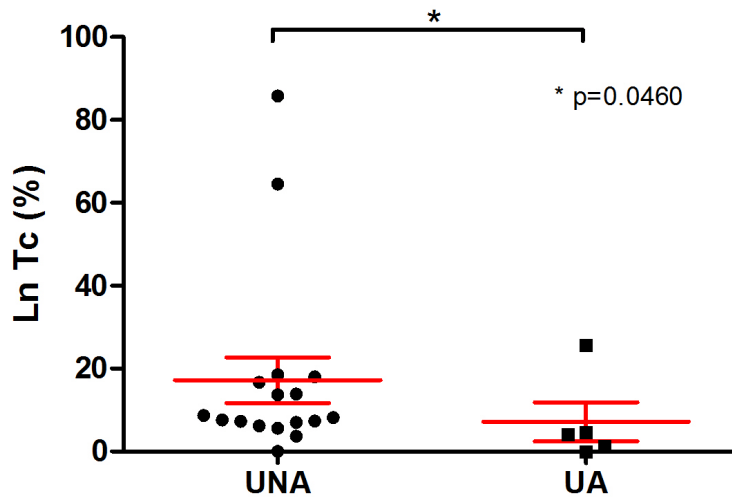
Gráfica 2. Linfocitos T

Se analizaron los linfocitos T cooperadores CD4+, encontrando mayor porcentaje en pacientes con uveítis activa al momento de la muestra lo cual fue estadísticamente significativo con una p de de 0.0251 (gráfica 3).



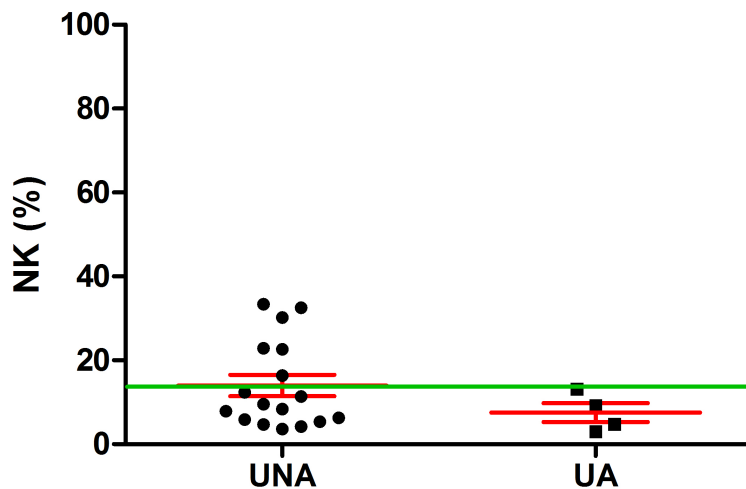
Gráfica 3. Linfocitos T CD4

Se realizó análisis de linfocitos T citotóxicos CD8+ los cuales se encontraron en niveles inferiores en pacientes activos comparado con los no activos siendo estadísticamente significativo con un valor de p de 0.0460 (gráfica 4).



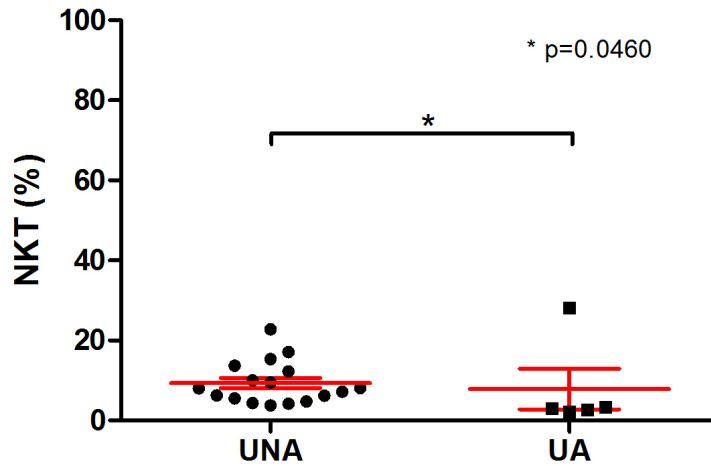
Gráfica 4. Linfocitos T CD8

Se analizaron las poblaciones de células NK en donde se observó una tendencia a la baja en los no activos sin ser estadísticamente significativo (gráfica 5).



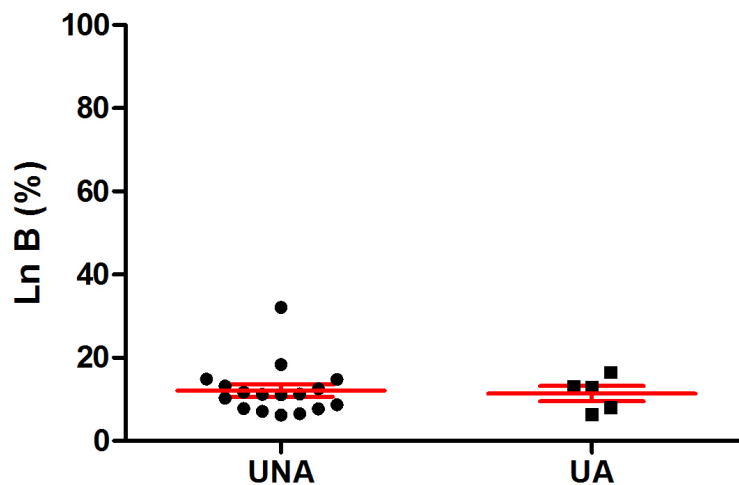
Gráfica 5. Células NK

Se analizaron las células NKT que incluyeron las CD16, CD56 y CD3 en donde se encontró menor porcentaje de estas células en los pacientes activos con una p de 0.0460 (gráfica 6).



Gráfica 6. NKT

Por último se analizaron los linfocitos B en los cuales no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos (gráfica 7).



Gráfica 7. Linfocitos B

## Discusión

---

Dentro de los resultados obtenidos, tenemos que los linfocitos T cooperadores o CD4+ se encontraron elevados en pacientes con uveítis activa, mientras que los linfocitos T citotóxicos o CD8 y las células NKT se encontraron disminuidos en pacientes sin uveítis activa.

La función del privilegio inmunológico de la cámara anterior se conoce desde hace varios años, actualmente se ha estudiado el privilegio inmunológico de otras estructuras oculares y algunos factores asociados. Se ha encontrado que la mayoría de las estructuras oculares analizadas expresan complejo mayor de histocompatibilidad clase I que facilitan la citólisis de células infectadas por virus por medio de los linfocitos T citotóxicos o CD8+. Por otro lado las células NK perciben la falta de estas células del complejo mayor de histocompatibilidad clase I y las atacan evitando que se conviertan en células infectadas. Los linfocitos T CD4+ o linfocitos cooperadores son un subgrupo de linfocitos que tienen un papel muy importante en establecer y maximizar las capacidades de defensa del sistema inmunitario, están involucrados en la activación y dirección de otras células inmunitarias. La importancia de estos linfocitos puede observarse durante una infección por VIH en donde en estadios más avanzados o de mayor inmunocompromiso se ven comprometidos. Cabe mencionar que en la población sana los valores de Linfocitos T CD4+ son de 44%, los linfocitos T CD8+ de 24% y las células NK de 13%.

En nuestro estudio encontramos una cifra elevada de linfocitos T CD4+ (83.7%) en las muestras de los pacientes activos lo cual fue estadísticamente significativo. Otro grupo de células en el cual encontramos diferencia estadísticamente significativa fue en los linfocitos T citotóxicos o CD8+ (2.5%) los cuales estuvieron disminuidos en pacientes activos. La función de estas células esta relacionada con la inmunidad

celular, activando la apoptosis de las células infectadas, al estar disminuidas puede explicar que estos pacientes presentarán actividad de la uveítis.

## Conclusiones

---

Los Linfocitos T CD4+ estuvieron aumentados en pacientes con uveítis activa. Los Linfocitos T CD8+ estuvieron disminuidos en pacientes con uveítis activa. Las células NKT estuvieron disminuidas en pacientes con uveítis activa. Por último no se tiene información concreta sobre el papel que tienen estas poblaciones celulares estudiadas en pacientes con VIH y uveítis por lo que futuras perspectivas de este estudio serían investigar que pasa localmente con estos subgrupos celulares y que papel juegan las quimiocinas y sus receptores en todo este proceso.

## Referencias

---

1. Basic and Clinical Science Course. Section 9: Intraocular Inflammation and Uveitis. San Francisco, California: American Academy of Ophthalmology; 2014-2015;59-62.
2. Nussenblatt R and Whitcup S. Uveitis. Fundamentals and Clinical Practice. 4th edition. Philadelphia: Mosby; 2010;161-175.
3. Jabs DA, Nussenblatt RB & Rosenbaum JT. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the first international workshop. Am J Ophthalmol. 2005; 140 (3): 509-516.
4. Wells M. Jane, Smith R. Justine. Uveitis in Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals. International ophthalmology clinics. 2015;55(2):11-18.
5. Phoebe Lin. Infectious Uveitis. Curr Ophthalmol Rep. 2015; 3:170-183.
6. Olea José Luis, Santos Cassandra, Iglesias Julio, Ferrer Joana. Estandarización de la citometría de flujo en el estudio de las uveítis. Medicina Balear 2013;28(3);25-29.
7. Ten Berge JC, Schreurs MWJ, van Daele PLA, Rothova A. Autoimmunity in uveitis. Acta Ophthalmol. 2018 Jan 25. doi:10.1111/aus.136s2. En prensa
8. Yu H.G, Lee D.S, Seo J.M, Ahn J.K, Chung H. The number of CD8+ T cells and NKT cells increases in the aqueous humor of patients with Behçet's uveitis. Clin Exp Immunol 2004;137(2):437-443.
9. Davis L. Janet, Philip-Ruiz Jr, Shah Milan, Mandelcorn D. Efrem. Evaluation of the reactive T- cell infiltrate in uveitis and intraocular lymphoma with flow cytometry of vitreous fluid (an american ophthalmological society thesis). Trans Am Ophthalmol Soc 2012; 110:117-1.
10. Fernández-Cid R Carlos, Cruz-Martínez Juan. Las uveítis: protocolos diagnósticos. En: Fernández-Cid R Carlos, Cruz-Martínez Juan. Uveítis Protocolos Diagnósticos y Nuevas Estrategias Terapéuticas. Sociedad

española de uveítis e inflamación ocular, Grupo español multicéntrico para el estudio de la uveítis. España: Ed Panamericana; 2011; 27-89.