



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**“PERFIL INMUNOLÓGICO DE PACIENTES CON DELECIÓN 22q11.2 CON
TIMO Y SIN TIMO POR RESECCIÓN QUIRÚRGICA Y SU RELACIÓN CON LA
FRECUENCIA DE PROCESOS INFECCIOSOS.”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

ELSY MAUREEN NAVARRETE RODRÍGUEZ

TUTOR

**DR. JUAN GARDUÑO ESPINOSA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX JULIO 2021



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.

INDICE

I	Resumen	2
II	Marco Teórico	
	Síndrome de del22q11.2	3
	El timo en el síndrome de del22q11.2	5
	Alteraciones Inmunológicas en pacientes con síndrome de del22q11.2	9
	Estudio de la función linfocitaria en pacientes con del22q11.2	12
	Timectomía incidental	15
	Timectomía incidental en pacientes con del22q11.2	19
III	Planteamiento del Problema	20
IV	Pregunta de Investigación	20
V	Justificación	20
VI	Objetivos	21
VII	Hipótesis	22
VIII	Diseño del Estudio	22
IX	Población	22
X	Variables	23
XI	Sitio	30
XII	Calculo del Tamaño de la Muestra	30
XIII	Muestreo	30
XIV	Logística de la Intervención	31
XV	Plan de análisis de Datos	33
XVI	Resultados	37
XVII	Discusión	47
XVIII	Conclusiones	52
XIX	Consideraciones Éticas	52
XX	Productos obtenidos al momento del protocolo	52
XXI	Referencias	53
XXII	Anexos	58

I. RESUMEN

Antecedentes.- El síndrome de delección 22q11.2 es el síndrome de microdelección más frecuente en el mundo; a pesar de tener un fenotipo muy variable, los pacientes con esta delección comparten una característica en común que es la hipoplasia tímica; el timo participa en la capacitación linfocitaria y las alteraciones en el desarrollo de este órgano, confieren cierta variación del funcionamiento de linfocitos T; aunado a ésto, hasta el 75% de los pacientes presentan algún tipo de cardiopatía y frecuentemente a estos pacientes se les somete a timectomía parcial o completa durante la corrección de su cardiopatía de base.

En el seguimiento de los pacientes con del22q11.2 encontramos claras diferencias en la frecuencia de procesos infecciosos, pero desconocemos cual o cuáles son los factores que pudieran contribuir a estas diferencias; conocemos los efectos deletéreos que conlleva la timectomía en pacientes con cardiopatía por lo demás sanos, sin embargo hay muy pocos reportes del efecto que esta intervención podría tener en pacientes con de22q11.2 que cuentan con una alteración inmunológica basal y si este factor podría explicar las diferencias clínicas que observamos en ellos.

Los objetivos del estudio son comparar la función linfocitaria de pacientes con delección 22q11.2 con evidencia de timo por ultrasonido y sin timo por resección quirúrgica y comparar la historia de procesos infecciosos.

Material y métodos.- Estudio transversal comparativo, se incluyeron pacientes de 1 a 16 años con del22q11.2 diagnosticado mediante FISH+ y en seguimiento por el Departamento de Genética del Hospital Infantil de México Federico Gómez, se obtuvieron del expediente clínico datos sobre diagnóstico de cardiopatía, antecedentes quirúrgicos y resección o no de timo; se realizó a todos los pacientes biometría hemática completa, medición de inmunoglobulinas, citometría de flujo y cuantificación de TRECs, y se registraron el número de hospitalizaciones y de infecciones de vías respiratorias en el último año.

Se calculó z scores para la comparación de los índices linfocitarios entre las distintas edades posterior a lo cual se realizó análisis bivariado mediante la comparación de los índices linfocitarios así como función linfocitaria en ambos grupos utilizando U de Mann-Whitney o t de student según el caso.

Resultados. Se incluyeron un total de 39 pacientes con una mediana de 7 años, 12 de los cuales se habían sometido a timectomía parcial o total. El grupo con timectomía tuvo una tendencia a una menor cuenta de linfocitos, tanto en número total como al comparar Z scores ajustados por edad; además se observó una tendencia hacia un menor número de linfocitos T CD3+, CD4+ y CD8+ en este grupo, presentando los menores niveles aquellos que habían sido sometidos a cirugía durante el primer año de vida. La media de niveles de TRECs fue de 25.2/uL vs 17.4/uL uL en el grupo con y sin timo respectivamente ($p=0.36$). No encontramos diferencias en los niveles de inmunoglobulinas o eventos de infecciones en el último año.

Conclusión. Los pacientes con delección 22q11.2 sometidos a resección quirúrgica del timo presentaron una tendencia hacia una menor cuenta de linfocitos y TRECs comparados con los pacientes sin resección. Esta situación puede estar influenciada por la edad de la cirugía y el tiempo transcurrido desde el procedimiento

II. MARCO TEÓRICO

SÍNDROME DE DELECIÓN 22q11.2

El síndrome de delección 22q11.2 es un término que se emplea en pacientes que tienen una delección hemicigota de la región cromosómica 22q11.2.¹

La delección 22q11.2 es el síndrome de microdelección más común en el mundo, con una incidencia estimada de 1/3,000 a 1/4,000 recién nacidos en población Europea ² 1/6,000 en reportes de Estados Unidos y 1/3,800 en población hispana.³

En América Latina no se cuenta con información derivada de estudios epidemiológicos que confirmen si existe una incidencia parecida de dicho síndrome.

La delección 22q11.2 ocurre como consecuencia de una recombinación homóloga no alélica durante la meiosis, proceso favorecido por fragmentos repetitivos que flanquean esta región y que favorecen la delección de la misma. La mayoría de dichas delecciones son de novo (>90%)⁴ sin embargo, hasta en el 10% de los individuos, se identifica la delección en el padre o la madre.⁵

El 85-90% de los pacientes tienen una delección de ~2.5Mb, conteniendo aproximadamente 90 genes, asimismo existe una delección de 1.5Mb que es la segunda en frecuencia (Figura 1).⁶

TUBA8
TUBA7
DGC86
DGC85
PRODH
DGC85
DGC89
DGC82
DGC81
DGC811
LOC100129262
DGC814
TSSK2
GSC2
LINCO1311
CTCF
RPL34P35
DVAL1P1
MIR18P2
MIR140
C22orf39
UFD1L
CLUN5
LINCO0895
LOC100129254
LOC100420103
SEPT5.GP1BB
GPIBB
MIR147P70
GNB1L
C22orf29
TXNRD2
MIR15
COWI1
MIR4761
ARVCF
ANG2
MIR88
DGC88
MIR3618
MIR1306
TRMT2A
MIR1616
RANBP1
ZDHHC8
LOC388849
LOC1000896
LINCO0896
RTN4R
MIR1286
MIR1285
DGC86L
USP41
LOC101927859
SCARF2
KLHL22
LOC100420177
MIR101
LOC101928824
MED15
SCG10096538
IGLL4P1
LOC100921121
MIR101P1
ABHD17A4
POM121L4P
BCRP5
TIME1060025
PI4KA
SERPIND1
CRK1P29
LZTR1
AIFM3
THAP7
MIR101P2
TUBA3A
P2RX6
P2RX7
SLC7A4
MIR89
P2RX6P
LRRF74B
TUBA3GP
MIR101P1
POM121L8P
RIMBP3B
HIC2

Figura 1. Genes comúnmente deletados en la región del cromosoma 22.

El gen *TBX1* localizado en la parte comúnmente deletada, es uno de los genes más estudiados en esta patología, y es, junto con todo el conjunto de genes deletados, el principal responsable implicado en las características fenotípicas de síndrome de delección 22q11.2.^{7,8}

El cuadro clínico descrito en los individuos afectados con esta delección es muy variado, en la tabla 1 se muestran los hallazgos comúnmente descritos. Las características clínicas que pueden llevar a un médico a sospechar una delección

22q11.2 y por lo tanto a solicitar un estudio cromosómico confirmatorio varían dependiendo de la edad del pacientes, sin embargo, normalmente incluyen 2 o más de los siguientes hallazgos: alteraciones en el desarrollo, alteraciones en el aprendizaje o ambos, anomalías cardíacas conotruncales, defectos del paladar, regurgitación nasal, habla hipernasal, problemas de comportamiento, enfermedad psiquiátrica, inmunodeficiencia, hipocalcemia y rasgos faciales característicos (frente corta, párpados caídos con fisuras palpebrales superiores, nariz bulbosa, hipoplasia de las alas de la nariz y pabellones auriculares prominentes).⁹

Tabla 1 Hallazgos característicos de Síndrome de Deleción 22q11.2
Generales <ul style="list-style-type: none"> • Dismorfias faciales (>90%) • Alteraciones del aprendizaje/habla/retraso del crecimiento (90%) • Polihidramnios (16%)
Cardiovasculares <ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia general (50-75%) • Tetralogía de Fallot (17-22%) • Interrupción del arco aórtico (14-15%) • Defecto del septum ventricular (13-14%) • Tronco arterioso (7-9%)
Paladar y relacionados (75%) <ul style="list-style-type: none"> • Habla hipernasal (>90%) • Insuficiencia velofaríngea +- paladar submucoso • Otitis media crónica • Pérdida audición sensorial y/o conductiva (30-50%)
Inmunológicos <ul style="list-style-type: none"> • Infecciones recurrentes (35-40%) • Disminución de células T o disfunción • Enfermedades autoinmunes • Hipoplasia Tímica
Endócrinas <ul style="list-style-type: none"> • Hipocalcemia y/o hipoparatiroidismo (>60%) • Hipotiroidismo (20%) hipertiroidismo (5%) • Obesidad (35% adultos)
Gastrointestinales <ul style="list-style-type: none"> • Reflujo gastroesofágico • Dismotilidad/disfagia (35%) • Constipación • Colelitiasis (20%) • Hernia umbilical/inguinal
Genitourinarias <ul style="list-style-type: none"> • Anomalía estructura de tracto urinario (31%) • Disfunción miccional (11%) • Agenesia renal unilateral (10%) • Displasia multiquística renal (10%)
Oftalmológicas <ul style="list-style-type: none"> • Estrabismo (15%) • Errores de refracción • Embriotoxón posterior
Esqueléticas

<ul style="list-style-type: none"> • Escoliosis (45%, 6% requieren cirugía) • Anomalías de vértebras cervicales/torácicas, vértebras en mariposa) • Dolor en extremidades inferiores idiopático
Hematológicas/Oncológicas <ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia (30%) • Esplenomegalia (5%)
Neurológicas <ul style="list-style-type: none"> • Convulsiones recurrentes (a menudo por hipocalcemia (40% adultos) • Epilepsia (5%)
Crecimiento y desarrollo <ul style="list-style-type: none"> • Falla de medro • Alteración motora o retraso del lenguaje (>90%) • Alteraciones del aprendizaje (>90%) retraso mental (35%) • Talla baja (20%)
Desórdenes neuropsiquiátricos <ul style="list-style-type: none"> • Desórdenes neuropsiquiátricos (60% adultos) • Desórdenes en la infancia (déficit de atención, espectro autista) • Ansiedad y depresión • Esquizofrenia y otras alteraciones psicóticas (>20%)
Otros <ul style="list-style-type: none"> • Enfermedades no infecciosas respiratorias (10-20%) • Dermatitis seborreica (35%) acné grave (25%) • Dislocación patelar (10%) • Problemas dentales • Venas varicosas (10%)
Modificado de: Bassett AS ⁹ y Sullivan K. ¹⁰

El diagnóstico se puede realizar mediante el método de fluorescencia por hibridación in situ FISH,¹¹ el cual permite la identificación del 95% de los pacientes y la caracterización de su defecto genético, sin embargo tiene limitada competencia en deleciones atípicas o duplicaciones, en cuyo caso se pueden utilizar microarreglos, o MLPA (multiplex ligation probe amplification).

EL TIMO EN EL SÍNDROME DE DELECCIÓN 22q11.2

En el síndrome de deleción 22q11.2 el defecto del timo, de paratiroides y de las regiones conotruncuales del corazón son hallazgos comunes y se cree que son originados por la ausencia de un grupo de genes entre los que se encuentra el gen *TBX1*; la proteína que produce este gen corresponde a una familia de factores de transcripción que contiene un dominio “T-box”; y activa directamente el factor mieloide 5 (MYF5), el factor de diferenciación miogénica 1 (MYOD1) y los factores de crecimiento de fibroblastos 8 y 10 (FGF8, FGF10); los cuales se han visto implicados en el desarrollo de la glándula tímica y juegan un papel crucial en su migración.⁶ En modelos murinos, la haploinsuficiencia de *TBX1* provoca estructuras precursoras más pequeñas o proliferación disminuida de las células endodérmicas en los arcos braquiales, provocando un desarrollo alterado de elementos faciales, paratiroides y del timo.

El timo durante su desarrollo embrionario migra desde el cuello hacia la parte superior del mediastino (semana 8 de gestación), siendo capaz de albergar células linfoides a partir de la semana 10 de la embriogénesis.^{12,13}

Los pacientes con del22q11.2 pueden tener un amplio espectro de anomalías tímicas; la mayor parte de los pacientes se presenta con hipoplasia del órgano que por lo demás está en su posición habitual, otro grupo se caracteriza por la presencia de tejido tímico ectópico (más comúnmente en el cuello) y cerca del 0.5% tiene aplasia total del órgano lo que condiciona una grave inmunodeficiencia.

Funciones inmunológicas del timo

El timo es uno de los órganos más complejos del ser humano, corresponde a un tejido linfoide primario con una importante función endócrina; su principal función es la protección contra células tumorales, parásitos intracelulares y virus; dentro de él, se lleva a cabo la proliferación y maduración de los linfocitos T responsables de la inmunidad celular.

Los linfocitos T originalmente se desarrollan a partir de un progenitor linfoide común en la médula ósea y migran hacia el timo para su capacitación.

Las células T atraviesan el timo y durante este proceso se someten a dos etapas de selección simultáneas a su maduración. A su entrada al timo, los linfocitos T son doblemente negativos (CD4-CD8-) y carecen de TCR (receptor de células T); al pasar a través de la zona subcapsular se diferencian en células dobles positivas (CD4+CD8+) expresando TCR. Estas células entran a la corteza tímica y son sometidas a selección positiva, en donde sólo los linfocitos T que reconozcan el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) sobreviven. En el siguiente paso, una de las moléculas CD4 o CD8 se pierde y las células autorreactivas se eliminan en el proceso conocido como selección negativa. La combinación de todos estos pasos da lugar a linfocitos T maduros que dejan el timo a través de la zona medular.¹⁴

El proceso de maduración de linfocitos T en el timo permite obtener células funcionales capaces de reaccionar ante agentes extraños y evita la autorreactividad de las mismas.^{13,15,16}

La aplasia, hipoplasia o migración patológica del timo causa un deterioro de la maduración tímica, la diferenciación y selección de los linfocitos T.¹⁴

La falta congénita del timo, se caracteriza por un número bajo de linfocitos T maduros en la circulación y en los tejidos linfoides periféricos y deficiencias graves de la inmunidad mediada por linfocitos T. Si se extirpa el timo a un ratón recién nacido, este animal no producirá linfocitos T maduros.

El ambiente tímico proporciona estímulos necesarios para la proliferación y maduración de los timocitos; muchos de estos estímulos proceden de células

tímicas diferentes de linfocitos T en maduración. Dentro de la corteza, las células epiteliales corticales tímicas forman una red de procesos citoplasmáticos largos, alrededor de los cuales deben pasar los timocitos hasta alcanzar la médula. También hay en la médula células epiteliales de un tipo distinto, conocidas como células epiteliales tímicas medulares que pueden realizar una función única en la presentación de antígenos propios para la selección negativa de los linfocitos T en desarrollo. Las células epiteliales y dendríticas en el timo expresan moléculas de clase I y II del Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Las interacciones de los timocitos en maduración con estas moléculas del MHC son esenciales para seleccionar el repertorio de linfocitos maduros.

Otras características del timo

El tamaño tímico varía de acuerdo a la edad y se ha visto, que es el órgano que mayor involución tiene con el paso de los años.¹⁷

La principal característica de esta involución es la disminución de las células epiteliales, la cual comienza al primer año de vida y se acelera durante la adultez temprana a un ritmo de 3% por año. La involución del timo relacionada con la edad produce la reducción de la timopoyesis que predice la incompetencia inmune manifestada en la vejez.

Actualmente no existen valores de normalidad del tamaño del timo, el estudio más grande realizado para valorar el tamaño de este órgano se realizó por Francis y colaboradores en donde se estudió un grupo de 309 pacientes de entre 6 semanas y 81 años en la Universidad de Michigan a quienes se les había realizado tomografía de tórax y en donde un análisis posterior valoró el tamaño del timo. Se muestran los

Tabla 2 Medidas del timo en cm pacientes con glándulas normales					
Grupo de edad	No. de Pacientes	Espesor cm (DE)	Anteroposterior cm (DE)	Craneocaudal cm (DE)	Transversal cm (DE)
0 a 10 años	23	1.50 (0.46)	2.52 (0.82)	3.53 (0.99)	3.13 (0.85)
10 a 20 años	31	1.05 (0.36)	2.56 (1.25)	4.99 (1.25)	3.05 (1.17)
20 a 30 años	13	0.89 (0.16)	2.38 (0.72)	5.38 (1.80)	2.87 (0.86)
30 a 40 años	8	0.99 (0.34)	2.48 (0.86)	5.00 (1.12)	3.38 (1.37)
40 a 50 años	3	0.93 (0.58)	2.23 (0.93)	6.67 (2.08)	3.17 (0.76)
50 a 60 años	4	0.58 (0.33)	0.58 (0.33)	2.00 (1.15)	1.43 (0.48)
Modificada de: Francis I. ¹⁸					

resultados de dicho estudio en la tabla 2.

En población Mexicana, el único estudio en el que se evaluó el tamaño tímico en niños sanos se realizó en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en 2010 con una población de 87 niños de 6 meses a 16 años y cuyo objetivo fue determinar el tamaño y las características sonográficas del timo en esta población según rango

de edad; en los resultados se observó que existían cambios mínimos en las medidas promedio del timo en sus ejes longitudinal, anteroposterior y transversal durante los primeros años de vida, evidenciándose su involución sólo en los mayores de 12 años.¹⁹

En la tabla 3 se muestran las medidas promedio del timo por grupo de edad obtenidas en este estudio.

Tabla 3 Medidas promedio del timo (en milímetros) por grupo de edad, en los ejes longitudinal, anteroposterior y transversal			
Grupo de edad	Longitudinal	Anteroposterior	Transversal
<1 año	27.8	13.27	23.75
1-3 años	20.62	10.98	21.63
4-6 años	18.91	9.58	20.06
7-9 años	20.65	10.60	19.04
10-12 años	19.41	8.88	17.43
>13 años	16.03	6.71	16.41

Modificada de Moguel-Molina N.¹⁹

El entorno posnatal inevitablemente juegan un papel en las variaciones del tamaño del timo, en casos de estrés inmunológico mayor se puede presentar una regresión tímica transitoria que se caracteriza por un incremento en la muerte de timocitos con la capacidad de recuperarse posterior a que se elimine el estímulo negativo.²⁰ Algunos de los estímulos más importantes que interfieren con el tamaño son:

- Hospitalización
- Quemaduras de por lo menos 2º grado con una afectación de más del 10% de superficie corporal
- Cirugía
- Uso de esteroide sistémico

A pesar de las influencias que pueda tener la edad así como el entorno posnatal, el timo es visible durante toda la vida, variando sólo el tamaño que presenta.

Formas de valorar el tamaño tímico

El tamaño tímico puede ser evaluado mediante diversos estudios de imagen; en un inicio, la radiografía de tórax era usada para describir el tamaño de este órgano, sin embargo este método se ha remplazado gradualmente por estudios más fidedignos como el ultrasonido, la tomografía y la resonancia magnética.

Si bien las imágenes por resonancia magnética o por tomografía computarizada proporcionan medidas más exactas, éstas requieren muchas veces de anestesia general en niños pequeños y conllevan la exposición a rayos X, lo que las coloca en una amplia desventaja si las comparamos con procedimientos más “innocuos”,

menos costosos y de más fácil acceso como el ultrasonido, método que actualmente se reconoce como la técnica más utilizada para la caracterización del timo.^{21,22,23,24}

El tejido tímico tienen un apariencia característica en el US, que corresponde con una textura granular fina con una ecogenicidad comparable a la del hígado. Para la valoración de su tamaño se puede utilizar dos índices, el índice tímico, obtenido de la multiplicación de los dos ejes más grandes (el sagital y el transversal) y el volumen tímico obtenido de la multiplicación de sus 6 ejes. Múltiples autores han analizado estas dos formas de evaluar el tamaño del timo concluyendo que existe una alta correlación entre ambas.²⁵

Se pueden utilizar una gran variedad de abordajes para la toma del ultrasonido, incluyendo ventana subxifoidea, paraesternal, supraesternal, y transcostal²² sin embargo, debido a la osificación progresiva del manubrio del esternón, el enfoque suprasternal ofrece la mejor ventana acústica.

En los años 90 mucho se especulaba sobre la capacidad del ultrasonido de medir el tamaño tímico, Hasselbalch y colaboradores fueron algunos de los pioneros en abordar esta interrogante, realizaron un estudio en 1996 en 10 niños menores de 1 año con el objetivo de comparar el denominado índice tímico medido por ultrasonido con el volumen del timo postmortem, los resultados reportaron una buena concordancia entre el diámetro transversal del timo por US y en autopsia ($R^2=0.87$ $p=0.0001$), entre el índice tímico y el peso en autopsia ($R^2=0.77$ $p=0.0009$) y entre el índice tímico y el volumen en autopsia ($R^2=0.65$ $p=0.02$).²⁶

Adam EJ et al. demostró que el timo es clara y fácilmente visualizado mediante ultrasonido en 50 niños de hasta 8 años de edad, y que el tamaño del mismo cambió poco con la edad; sin embargo, el número de pacientes estudiados fue pequeño.²⁷

ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS EN PACIENTES CON SINDROME DE DELECIÓN 22q11.2

Se ha descrito una propensión a las infecciones principalmente de vías respiratorias superiores en pacientes con síndrome de del22q11.2, el número, gravedad y características de las infecciones son muy variables.

Desde el punto de vista de la afectación tímica, los pacientes con del 22q11.2 se pueden dividir en dos grupos:

- 1- del22q11.2 con agenesia de timo en el que hay una ausencia total de tejido tímico y que se caracteriza por una profunda inmunodeficiencia fatal en el primer año de vida sin tratamiento (menos del 1%)
- 2- del22q11.2 con hipoplasia de timo que describe a la mayoría de los pacientes y que tienen defectos inmunológicos variables desde leves hasta relativamente graves. Se ha descrito que hasta el 20% pueden no cursar con

inmunodeficiencia.²⁸ Para cuestiones de los objetivos de este protocolo, nos centraremos en este grupo de pacientes.

En varios estudios se ha valorado el perfil inmunológico de pacientes con 22q11.2 dentro de los principales marcadores estudiados son:

Estudio de subpoblaciones linfocitarias en pacientes con del22q11.2

El linfocito T (CD3+) durante su maduración tímica se diferencia principalmente en linfocitos T cooperadores (CD4+) y linfocitos T citotóxicos (CD8+) los cuales reconocen moléculas del MHC diferentes (CD4+ para MHC II y CD8+ para MHC I)

Diversos estudios, han mostrado que los pacientes presentan una reducción en el porcentaje y número absoluto de células T (CD3+) y células T cooperadoras (CD3+CD4+) en comparación con sujetos control pareados por edad. En las tablas 4,5 y 6 se muestran los resultados de estos estudios. En el anexo 1 se muestran los valores de normalidad de las diferentes subpoblaciones por edad.

Tabla 4. Resultados de las mediciones de linfocitos T (CD3+) en pacientes con síndrome de delección 22q11.2			
Autor y año	Población	Resultados	Resultados
Mc.Lean 2008²⁹	27 pacientes y 54 controles (3 meses a 16 años)	3-9 meses promedio 3010 cel/uL vs 3834 controles	Ajustado por edad p<.001 Velocidad de disminución de CD3 153 cel/uL/año en controles vs 79 cel/uL/y en pacientes
		9-24 meses promedio 1784 cel/uL vs 3160 controles	
		2-5 años promedio 1533 cel/uL vs 2598 controles	
		5-10 años promedio 1452 cel/uL vs 1944 controles	
		10-16 años promedio 838 cel/uL vs 1559 controles	
Lima K. 2010³⁰	43 pacientes y 24 controles (1- 54 años)	Reducción de las subpoblaciones celulares conforme aumentaba la edad, esta reducción afectó más a pacientes que a controles	No datos duros p<0.001 en edad
Sediva A 2005³¹	34 pacientes (4 días a 19 años)	Número total de CD3 gravemente disminuido en pacientes con 22q11.2 comparado con "normalidad" p>0.001	CD3 incrementaban gradualmente con la edad para normalizarse entre los 24-36 meses. Bajo CD3=IVR de repetición
Piliro L. 2004³²	409 pacientes 103 controles	0-12 meses promedio 1996cells/mm3 vs 3889 controles 85% debajo de los límites de normalidad	La gran mayoría de los menores de 2 años tienen cuentas debajo de los límites de normalidad para la edad. No valores crudos, no p.
		18-50 años promedio 1288 cells/mm3 vs 1497 controles 47% debajo de los límites de normalidad	

Chinen J. 2003³³	30 pacientes	Reporte por edades. El promedio de los porcentajes de CD3 de todos los pacientes están por debajo del rango normal para la edad	6 de los 11 pacientes con IVR de repetición CD3 bajas. 2 pacientes con CD3 normales, 3 inicialmente CD3 bajos y posteriormente se normalizaron
------------------------------------	--------------	---	--

Tabla 5. Resultados de las mediciones de linfocitos T CD4+ en pacientes con síndrome de delección 22q11.2

Autor y año	Población	Resultados	Resultados
Mc.Lean 2008²⁹	27 pacientes y 54 controles (3 meses a 16 años)	3-9 meses promedio 1840 cel/uL vs 2867 controles	Ajustado por edad $p=0.023$ Velocidad de disminución de CD4+ 117 cel/uL/año en controles vs 55 cel/uL/año en pacientes
		9-24 meses promedio 1135 cel/uL vs 1962 controles	
		2-5 años promedio 897 cel/uL vs 1504 controles	
		5-10 años promedio 803 cel/uL vs 889 controles	
		10-16 años promedio 482 cel/uL vs 843 controles	
Lima K. 2010³⁰	43 pacientes y 24 controles (1- 54a)	Reducción de las subpoblaciones celulares conforme aumentaba la edad, esta reducción afectó más a pacientes que a controles	No datos duros $p<0.001$ en edad
Piliero L. 2004³²	409 pacientes 103 controles	0-12 meses promedio 1380 cel/mm ³ vs 2781 controles. 88% debajo de los límites de normalidad	La gran mayoría de los menores de 2 años tienen cuentas debajo de los límites de normalidad para la edad. No valores crudos, no p.
		18-50 años promedio 765 cel/mm ³ vs 945 controles. 47% debajo de los límites de normalidad	
Chinen J. 2003³³	30 pacientes	Reporte por edades. El promedio de los porcentajes de CD4+ esta entre 15 a 35%. Sólo 6 pacientes tenían cuentas normales de CD4+	

Tabla 6. Resultados de las mediciones de linfocitos T CD8+ en pacientes con síndrome de delección 22q11.2			
Autor y año	Población	Resultados	Resultados
Mc.Lean 2008²⁹	27 pacientes y 54 controles (3 meses a 16 años)	3-9 meses promedio 637 cel/uL vs 841 controles	Ajustado por edad p<0.001 Velocidad de disminución de CD4+ 35 cel/uL/y en controles vs 21 cel/uL/y en pacientes
		9-24 meses promedio 577 cel/uL vs 1071 controles	
		2-5 años promedio 613 cel/uL vs 953 controles	
		5-10 años promedio 528 cel/uL vs 806 controles	
		10-16 años promedio 307 cel/uL vs 593 controles	
Lima K. 2010³⁰	43 pacientes y 24 controles (1- 54 años)	Reducción de las subpoblaciones celulares conforme aumentaba la edad, esta reducción afectó más a pacientes que a controles	No datos duros p<0.008 en edad
Piliro L. 2004³²	409 pacientes 103 controles	0-12 meses promedio 550 cel/mm ³ vs 993 controles. 91% debajo de los límites de normalidad	La gran mayoría de los menores de 2 años tienen cuentas debajo de los límites de normalidad para la edad. No valores crudos, no p.
		18-50 años promedio 467 cel/mm ³ vs 512 controles. 50% debajo de los límites de normalidad	
Chinen J. 2003³³	30 pacientes	Reporte por edades. El promedio de los porcentajes de CD8 esta entre 5 a 25%. normales de CD4+. Menores que en controles	

ESTUDIO DE FUNCIÓN LINFOCITARIA EN PACIENTES CON del22q11.2

La función tímica, ha sido evaluada mediante:

- Medición de los niveles de los círculos de escisión del receptor de células T (TREC)

- Medición emigrantes tímicos tempranos (RTE, por sus siglas en inglés), es decir, las células T que recién abandonan el timo y aún no han sido activadas con el antígeno para el que codifica su TCR^{34,35}
- Medición de los porcentajes de linfocitos T que proliferan posterior a un estímulo mitógeno.²⁸
- Medición de respuestas a Antígenos Polisacáridos

TRECs Círculos de escisión de linfocito T

Las células T maduras se caracterizan por que su receptor de superficie (TCR, por sus siglas en inglés) es capaz de reconocer péptidos específicos presentados por las moléculas del MHC de clase I y II de las células presentadoras de antígenos. Bajo la necesidad de responder a cualquier antígeno que pueda encontrar, la población de células T debe ser altamente diversa, en términos de su TCR. Dicha diversidad, la cual no es codificada en línea germinal, es generada durante la diferenciación de las células T en el timo. El linfocito T durante su maduración en el timo sufre una serie de re-arreglos genéticos a nivel del TCR que permite su amplia diversidad. Durante los eventos de re-arreglo, el ADN que se escinde se “circulariza”, lo que resulta en la formación de un producto de escisión circular extra-cromosomal (TRECs, por sus siglas en inglés).

Los TRECs se pueden detectar en sangre periférica durante toda la vida, no se duplican y por lo tanto se diluyen con la replicación de células T periféricas³⁶, los máximos niveles se encuentran al año de edad para después disminuir. Figura 1³⁷.

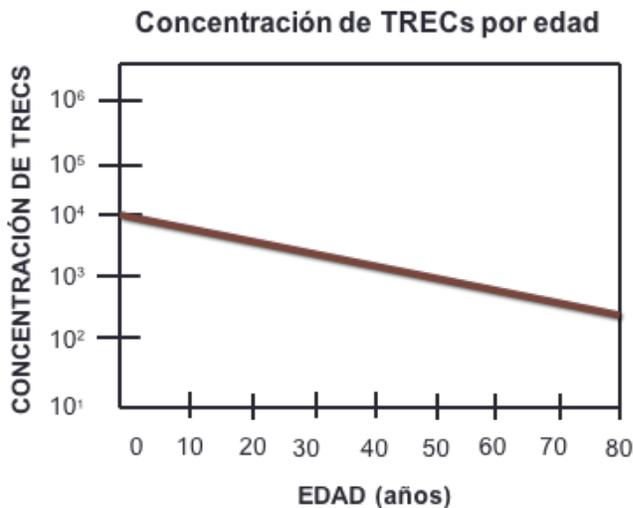


Fig 1. Número de TRECS de acuerdo a la edad. (Modificado de Ping Ye 2002).

En contraste con la creencia común, la generación de nuevas células T se puede encontrar aún en personas de más de 70 años, y se ha visto que su número se ve influenciado por la cantidad de tejido tímico presente.³⁸ La generación de esta cantidad menor de células T funcionales se ha visto que sigue siendo importante

para las funciones del sistema inmunológico evidenciándose que se puede alcanzar una recuperación completa en el número de células T periféricas después del tratamiento antirretroviral en pacientes con VIH.³⁹

La medición de TRECs se ha utilizado ampliamente para el tamizaje de inmunodeficiencia celular en edad neonatal, en este caso, los valores de corte utilizados son 25 TRECs por microlitro⁴⁰; posterior a esta edad no se cuenta con valores de corte que definan a la población de riesgo.

Los niveles de TRECs se han encontrado significativamente bajos en los pacientes cardiopatas sometidos a timectomía, y esto mismo se percibe en aquellos que han sido sometidos a timectomía parcial, aunque en menor proporción que aquellos sometidos a una timectomía total.^{41,42} Storek et al⁴³. encontró esta misma tendencia.

Actualmente se considera el Gold Standard para medir emigrantes tímicos recientes.

En la tabla 7 se muestra los resultados de los reportes de medición de TRECs en pacientes con del 22q11.2

Tabla 7. Resultados de las mediciones de TRECs en pacientes con síndrome de delección 22q11.2			
Autor y año	Población	Resultados	Resultados
Lima K. 2010³⁰	43 pacientes y 24 controles (1- 54 años)	Niveles de TRECs en pacientes significativamente menores en pacientes que en controles p=<0.001	Correlación entre TRECs y RTEr r=0.84 p<0.001 en pacientes
Piliro. 2004³²	409 pacientes 103 controles	18-30 años promedio de TRECs 7491 TRECs por microgramo vs 19,594 en controles. P=0.0017	TRECs disminuidos en todas las edades

Todo lo anterior enfatiza la importancia del timo en el desarrollo de diversas funciones de la inmunidad celular, a nivel de diversas poblaciones de los linfocitos T, particularmente en la diversidad del TCR de las células T cooperadoras (CD3⁺CD4⁺), en el número y funcionalidad de las células Treg, lo cual impacta en las funciones de vigilancia y tolerancia con el potencial desarrollo de infecciones recurrentes, de fenómenos autoinmunes y en las enfermedades alérgicas.⁴⁴

Recientemente se publicaron las guías de práctica clínica para el manejo de pacientes con síndrome de delección 22q11.2,⁴⁵ en las cuales se enfatiza la naturaleza multi-sistémica de dicha entidad y los especialistas frecuentemente vinculados a su tratamiento. Se recomienda la evaluación inmunológica de los niños

diagnosticados en la etapa neonatal, mediante una biometría hemática completa con conteo diferencial de leucocitos y citometría de flujo para identificación de población de linfocitos.⁴⁶

TIMECTOMIA INCIDENTAL

Como ya se abordó en apartados anteriores, los pacientes con delección 22q11.2 tienen entre un 50 a un 75% de defectos congénitos cardíacos con una frecuencia de cardiopatías complejas:

- Tetralogía de Fallot 17-22%
- Interrupción del arco aórtico 14-15%
- Defecto del septum ventricular 13-14%
- Tronco arterioso 7-9%¹⁰

La cirugía cardiovascular es frecuente en este grupo de pacientes y el abordaje anterior constituye la forma más común de acceder a la corrección quirúrgica de éstas. Sumados, el 60% de los pacientes con esta delección son operados de forma anterior, el momento de la cirugía depende en gran medida de la complejidad del defecto y de la repercusión hemodinámica que se presente.

La corrección de las cardiopatías complejas supone la visualización directa de estructuras mediastinales anteriores; el timo impide la adecuada visualización de estas estructuras y dificulta la reparación de las mismas, por lo que en muchos casos es retirado. Se ha estudiado el efecto deletéreo sobre subpoblaciones linfocitarias así como función celular en pacientes con timectomía por lo demás sanos. En la tabla 10 se muestran las observaciones encontradas en pacientes con resección quirúrgica del timo por lo demás sanos.

AUTOR Y AÑO	TIPO DE ESTUDIO	POBLACIÓN	RESULTADOS				COMENTARIOS
				Casos	Controles	p	
Eysteinn dottir 2004 ⁴⁷	Casos y controles	Casos: 19 pacientes con timectomía parcial o total en promedio a los 2.6 meses de vida. Estudiados 10 años después. Controles: 19 sujetos sanos de la misma edad y sexo	Plaquetas	273 ± 59.1	322 ± 58.4	p=0.01	
			Linfocitos	1.79 ± 0.53	2.68 ± 0.73	p=0.0001	
			Neutrófilos	3.60 ± 1.37	2.58 ± 0.93	p= 0.01	
			Monocitos	0.53 ± 0.19	0.46 ± 0.13	p=0.20	
			Eosinófilos	0.25 ± 0.16	0.46 ± 0.13	p= 0.15	
			Basófilos	0.02 ± 0.04	0.03 ± 0.05	p= 0.44	

			Neu/Lin	2.0	0.96		
Halnon et al 2005 ⁴¹	Casos y controles	<u>Casos:</u> 18 pacientes con timentomía parcial con media de edad de 4.7 años (0.4 a 15 años) 11 pacientes con timentomía total con media de edad de 8.4 años (1 a 18 años) <u>Controles:</u> 26 pacientes con media de edad de 4.6 años (0.3 a 17 años)	Linfocitos totales	Mediana ~1900 en sujetos con timentomía total ~2,300 en sujetos con timentomía parcial	Mediana ~4000 en sujetos sin Qx previa vs	p= <0.001 no qx vs timentomía total p= 0.047 no qx vs timentomía parcial y p= 0.012 timentomía parcial vs timentomía total	Gráficos solamente

Tabla 9 Resultados de timentomía por corrección quirúrgica en pacientes con cardiopatía

AUTOR Y AÑO	TIPO DE ESTUDIO	POBLACIÓN	RESULTADOS				COMENTARIOS
				Casos	Controles	p	
Eystein dottir 2004 ⁴⁷	Casos y controles	<u>Casos:</u> 19 pacientes con timentomía parcial o total en promedio a los 2.6 meses de vida. Estudiados 10 años después. <u>Controles:</u> 19 sujetos sanos de la misma edad y sexo	CD3+	59.26% ± 9.85	66.74% ± 9.49	p=0.02	
			CD3+ CD4+	30.14% ± 10.26	36.55% ± 8.87	p=0.05	
			CD3+CD8+	26.70% ± 8.66	29.47% ± 6.05	p= 0.26	
			CD19+	15.27% ±10.35	11.68% ± 5.20	p=0.12	
			CD16+ CD56+	12.75 % ± 5.10	9.17% ± 3.14	p= 0.09	
Mancebo et al 2008 ⁴⁸	Cohorte. Muestras cada 6 meses y comparados con grupo control	<u>Casos:</u> 23 sujetos con timentomía en el 1er mes de vida y con seguimiento 36 meses <u>Controles:</u> 105 Sujetos sanos (0 a 42 meses)	CD3+, CD4+ y CD8 +	Después de la timentomía y durante los 3 años de seguimiento los pacientes mostraron una reducción significativa de linfocitos CD3+, CD4+ y CD8+ comparados con el grupo control. Los CD4+ son los más afectados			Gráficos solamente
			CD19+	No diferencias entre ambos grupos			
			CD16+ CD56+	No diferencias entre ambos grupos			
Van Gent ⁴⁹	Casos y controles	<u>Casos:</u> 39 pacientes timentomizados entre 2 meses y 31 años <u>Controles-</u> 102 sujetos pareados por edad y sexo	CD4+ y CD8+	Ambas subpoblaciones son menores en los primeros 5 años postimentomía comparados con controles p=0.001 para ambas. Ambas subpoblaciones disminuyen en la misma proporción. Después de los primeros 5 años los valores se normalizan y no hay diferencia con controles sanos			Gráficos solamente
Halnon et al 2005 ⁴¹	Casos y controles	<u>Casos:</u> 18 pacientes con timentomía parcial con media de edad de 4.7 años (0.4 a 15 años) 11 pacientes con timentomía total con media de edad de 8.4 años (1 a 18 años) <u>Controles:</u> 26 pacientes con	CD3+	Mediana ~700 en sujetos con timentomía total ~1,000 en sujetos con timentomía parcial	Mediana ~1,500 en sujetos sin Qx previa vs	p= <0.001 no qx vs timentomía total p= 0.046 no qx vs timentomía parcial y p= 0.030 timentomía parcial vs timentomía total	Gráficos solamente

		media de edad de 4.6 años (0.3 a 17 años)	CD4+	Mediana ~400 en sujetos con timectomía total ~600 en sujetos con timectomía parcial	Mediana ~1,200 en sujetos sin Qx previa vs	p= <0.001 no qx vs timectomía total p= 0.026 no qx vs timectomía parcial y p= 0.020 timectomia parcial vs timectomía total	
			CD8+	Mediana ~300 en sujetos con timectomía total ~550 en sujetos con timectomía parcial	Mediana ~700 en sujetos sin Qx previa vs	p= 0.002 no qx vs timectomía total p= 0.326 no qx vs timectomía parcial y p= 0.008 timectomia parcial vs timectomía total	
Sauce et al 2009 ⁵⁰	Casos y controles	<u>Casos:</u> 25 adultos sanos (18 a 26 años) operados por Transposición de grandes arterias antes de los 15 días de vida <u>Controles:</u> 3 grupos: 29 Sujetos sanos (18 a 25 años) 35 Sujetos sanos (26.4 a 55 años) mediana de 35.3 años 26 Sujetos sanos (73-93 años) mediana 82 años	Linfocitos CD4+	Disminución en linfocitos CD4+ en pacientes operados comparados con controles de los grupos 1 y 2		p<0.05	Sólo gráficas
			Linfocitos CD8+	Disminución en linfocitos CD8+ en pacientes operados comparados con controles de los grupos 1 y 2		p<0.05	Sólo gráficas
			Linfocitos CD16+,CD56+	Sin diferencia estadísticamente significativa			Sólo gráficas
Prelog 2009 ³⁶	Casos y controles	<u>Casos:</u> 101 adultos sanos (media 11.1 ± 7.8 años) operados por Transposición de grandes arterias antes de los 15 días de vida <u>Controles:</u> 81 Sujetos sanos (media 14.1 ± 8.2 años)	CD4+	Número de células x 10 ³ por microlitro. Media y DE <u>Pacientes con timectomía (<=12 años)</u> = 1.7 ± 0.6 <u>Pacientes con timectomía (>12 años)</u> = 0.7 ± 0.3	<u>Controles sanos (<=12 años)</u> = 1.8 ± 0.6 <u>Controles sanos (>12 años)</u> = 1.1 ± 0.3 S	p<0.001	e dividieron a los pacientes en menores y mayores de 12 años

Tabla 10 Resultados de timentomía por corrección quirúrgica en pacientes con cardiopatía							
AUTOR Y AÑO	TIPO DE ESTUDIO	POBLACIÓN	RESULTADOS				COMENTARIOS
				Casos	Controles	p	
Eystein dottir 2004 ⁴⁷	Casos y controles	Casos: 19 pacientes con timentomía parcial o total en promedio a los 2.6 meses de vida. Estudiados 10 años después. Controles: 19 sujetos sanos de la misma edad y sexo	IgM	0.93 ± 0.41g/l	1.04 ± 0.37g/l	p=0.38	
			IgA	1.16 ± 0.60 g/l	1.55 ± 0.58 g/l	p=0.05	
			IgE	20.87 ± 23.80 g/l	33.09 ± 48.14 g/l	p= 0.48	
			IgG	8.69 ± 1.81 g/l7dl	9.38 ± 2.06 g/l	p=0.28	
Mancebo et al 2008 ⁴⁸	Cohorte. Muestras cada 6 meses y comparados con grupo control	Casos: 23 sujetos con timentomía en el 1er mes de vida y con seguimiento 36 meses Controles: 105 Sujetos sanos (0 a 42 meses)	IgG	823 ± 212 mg	No diferencias con controles		Ig normales para la edad
			IgA	88 ± 46 mg/dl			Sólo valores de casos
			IgM	87 ± 31mg/dl			

Tabla 11 Resultados de timentomía por corrección quirúrgica en pacientes con cardiopatía							
AUTOR Y AÑO	TIPO DE ESTUDIO	POBLACIÓN	RESULTADOS				COMENTARIOS
Mancebo et al 2008 ⁴⁸	Cohorte. Muestras cada 6 meses y comparados con grupo control	Casos: 23 sujetos con timentomía en el 1er mes de vida y con seguimiento 36 meses Controles: 105 Sujetos sanos (0 a 42 meses)	TRE Cs	Los niveles de TRECs postimentomía eran mucho menores en pacientes que en controles sanos Se observa una disminución en las cuentas pre y postimentomía y esto es especialmente importante en el primer año post cirugía			Especialmente importante en el 1er año post
Madhok 2005 ⁴²	Cohorte.	Grupo A: 11 pacientes programados para 1ª cirugía. Grupo B: 8 pacientes post timentomía parcial Grupo C: 5 pacientes pre timentomía parcial	TRE Cs	Grupo A PreQx: 47,916 ± 30,748 PostQx 33,157 ± 28,122 p=0.014	Grupo B 30,384 ± 9,748	Grupo C 69,774 ± 33,601	No hay diferencias entre el grupo B y C
Van Gent ⁴⁹	Casos y controles	Casos: 39 pacientes timentomizados entre 2 meses y 31 años Controles.- 102 sujetos pareados por edad y sexo	TRE Cs	Los valores de TRECs en pacientes timentomizados descienden más rápidamente que los controles sanos p=0.001 durante los primeros 5 años sin embargo se normalizan después de este tiempo.			Gráficos solamente
Halnon et al 2005 ⁴¹	Casos y controles	Casos: 18 pacientes con timentomía parcial con media de edad de 4.7 años (0.4 a 15 años) 11 pacientes con timentomía total	TRE Cs	Diferencia significativa entre aquellos con timentomiatotal vs parcial vs no qx.			Gráficos solamente

		con media de edad de 8.4 años (1 a 18 años) <u>Controles:</u> 26 pacientes con media de edad de 4.6 años (0.3 a 17 años)					
Prelog 2009 ³⁶	Casos y controles	<u>Casos:</u> 101 adultos sanos (media 11.1 ± 7.8 años) operados por Transposición de grandes arterias antes de los 15 días de vida <u>Controles:</u> 81 Sujetos sanos (media 14.1 ± 8.2 años)	TRE C s	<u>Pacientes con timentomia (≤12 años)=</u> 3196±578 <u>Pacientes con timentomia (>12 años)=</u> 1662 ± 903	<u>Controles sanos (≤12 años)=</u> 9615 ± 1049 <u>Controles sanos (>12 años)=</u> 6030 ± 2952	p<0.01	En los 4 grupos se encontró una correlación negativa Entre la edad y número de TRECs Los pacientes con timentomia >12 años tuvieron 3.6 veces menos TRECs que los controles

TIMENTOMÍA INCIDENTAL EN PACIENTES CON del 22q11.2

Como ya se ha comentado con anterioridad, un porcentaje de pacientes con del22q11.2 presentan cardiopatías conotruncuales las cuales son corregidas a edades tempranas, al momento, existe una escasa información en cuanto a la repercusión que en pacientes con del22q11.2 pudiera tener la timentomía quirúrgica: en el estudio publicado por Lima et al.³⁰ el cual estudió 43 pacientes con del22q11.2 y 24 controles sanos, se hace referencia a 2 pacientes con delección y timentomía por corrección cardiopatía, el primero de 2.8 años con timentomía parcial con cuenta de TRECs 12,500 y el segundo con timentomía total con 6,300 TRECs número mas bajos que los observados en pacientes con del22q11.2 con timo.

Debido a la involución tímica, antes se creía que el timo del adulto no contribuía al remplazo de linfocitos T, sin embargo hay información que indica que el timo contribuye a la producción de nuevas células T aún en adultos.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El síndrome de delección 22q11.2 es el síndrome de microdelección más frecuente en el mundo, a pesar de tener un fenotipo muy variable, los pacientes con esta delección comparten una característica en común que es la hipoplasia tímica.

Es bien conocido el papel que juega el timo en la capacitación linfocitaria, contribuyendo en gran medida al correcto desarrollo de esta estirpe celular; las alteraciones en el desarrollo de este órgano por tanto, confieren cierta variación del funcionamiento de linfocitos T en este grupo de pacientes.

Aunado a la alteración linfocitaria que se ha reportado, hasta el 75% de estos pacientes presenta algún tipo de cardiopatía y a una gran proporción se les somete a timectomía parcial o completa durante la corrección de su cardiopatía, lo que podría conferirles un mayor riesgo de padecer alteraciones inmunitarias.

En el seguimiento de los pacientes con del22q11.2 encontramos claras diferencias en la frecuencia de procesos infecciosos presentados (incluyendo infecciones de vías respiratorias superiores, infecciones gastrointestinales y número de hospitalizaciones) y esto no sólo comparado con pacientes sanos sino también dentro del mismo grupo de pacientes; desconocemos cual o cuales son los factores que pudieran contribuir a estas diferencias; conocemos los efectos deletéreos que conlleva la timectomía en pacientes con cardiopatía por lo demás sanos, sin embargo existe muy poca información sobre efecto que esta intervención podría tener en pacientes con de22q11.2 que cuentan con una alteración inmunológica basal y si este factor podría explicar las diferencias clínicas que observamos en ellos.

IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia en el perfil inmunológico de pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica?

¿Existe diferencia en la frecuencia de procesos infecciosos en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica?

V. JUSTIFICACIÓN

Los pacientes con el síndrome de delección de la región cromosómica 22q11.2 frecuentemente presentan en la mayoría de los casos un estado de deficiencia tanto de número como de función de estas células; no conocemos la interacción que pudiera tener este fenómeno con el efecto de la timectomía en el caso de que hayan sido sometidos a corrección de su cardiopatía y si esto podría repercutir en la presencia de infecciones.

Al ser una población vulnerable, el poder caracterizar el funcionamiento linfocitario de sujetos con delección 22q11.2 con y sin timo y poder relacionar estos valores con

la frecuencia de procesos infecciosos, nos permitiría aportar datos para el entendimiento de las interacciones inmunológicas de pacientes con este padecimiento e incrementar el conocimiento de si estos cambios tendrían alguna repercusión clínica.

La práctica de timectomía incidental es común en pacientes con cardiopatías y a pesar de que una gran cantidad de autores han recomendado preservar la mayor cantidad de tejido tímico posible, al momento no existe la evidencia suficiente para incluir esta recomendación en las guías de práctica clínica pertinentes.

Con este estudio no podremos emitir como tal una recomendación, sin embargo ayudaría a ampliar la información al respecto, sobre todo en una población vulnerable como lo son los pacientes con del22q11.2 que permitiría mejorar en un futuro mejorar sus condiciones inmunológicas posteriores a la corrección de su cardiopatía.

VI. OBJETIVOS

Objetivos generales:

Comparar el perfil inmunológico de pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.

Comparar la frecuencia de procesos infecciosos de pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.

Objetivos específicos:

- 1- Comparar el número de poblaciones leucocitarias en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.
- 2- Comparar el número de subpoblaciones linfocitarias en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.
- 3- Comparar niveles de inmunoglobulinas en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.
- 4- Comparar el número de TRECs (emigrantes tímicos tempranos) en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.
- 5- Comparar el número de infecciones de vías respiratorias superiores reportadas en el último año en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.
- 6- Comparar el número de hospitalizaciones por causa infecciosa en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.

VII. HIPÓTESIS

De acuerdo al objetivo general 1:

El perfil inmunológico específicamente evaluado mediante los círculos de escisión del receptor de Linfocito T será 30% mayor en pacientes con delección 22q11.2 con timo vs sin timo por resección quirúrgica.

La hipótesis se construyó con base en lo publicado por Madhok et al. en donde se observa una diferencia de 30% en el número de TRECs entre aquellos pacientes cardiopatas con timo vs sin timo por resección quirúrgica. No contamos con datos en pacientes con delección 22q11.2, sin embargo consideramos que esta relación se mantendrá sin cambios.

De acuerdo al objetivo general 2:

La frecuencia de procesos infecciosos evaluados mediante el número de infecciones de vías respiratorias superiores reportados en el último año será 20% mayor en pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.

La hipótesis se construyó con base en los reportes de un número incrementado de procesos infecciosos en pacientes con del 22q11.2 que algunos autores estiman en cercano al 20% comparado con niños sanos.

VIII. DISEÑO DEL ESTUDIO

De acuerdo a la imposición o no de una maniobra con fines de investigación es un estudio: Observacional

De acuerdo al seguimiento o no del paciente a través del tiempo es un estudio: Transversal

De acuerdo a la direccionalidad en la obtención de la información es un estudio: Retroprolectivo

De acuerdo a la búsqueda o no de asociación entre dos variables es un estudio: Comparativo

IX. POBLACION

Población Objetivo

Pacientes con síndrome de delección 22q11.2

Población Elegible

Pacientes con diagnóstico de síndrome de delección 22q11.2 tratados en la clínica del mismo nombre del Hospital Infantil de México Dr. Federico Gómez.

Criterios de Inclusión

- Cualquier género
- Pacientes entre 1 y 18 años
- Pacientes con diagnóstico de síndrome de 22q11.2, confirmado por FISH
- Pacientes a quienes sus padres autoricen participar por medio de firma de consentimiento informado y en mayores de 8 años con firma además de asentimiento informado.

Criterios de Exclusión

- Pacientes con cualquier tipo de infección aguda (gastrointestinal, vías respiratorias superiores o inferiores, etc) o en los últimos 15 días
- Pacientes hospitalizados en los últimos 9 meses por cualquier causa.
- Pacientes que hayan sido transfundidos en los últimos 9 meses previos a la toma de muestra para este estudio.
- Pacientes con uso de esteroide sistémico en los últimos 9 meses por cualquier causa
- Pacientes con enfermedad neoplásica o degenerativa concomitante
- Pacientes con cualquier contraindicación para la toma de la muestra por enfermedad de base.

Criterios de Eliminación

Se eliminaron aquellos pacientes en los cuales no se realizaron todos los estudios de laboratorio contemplados debido a problemas con el manejo o procesamiento de las muestras. (Muestra coagulada, muestra insuficiente)

X. VARIABLES

Variables Independientes:

1. Evidencia de la presencia de timo
2. Resección quirúrgica del timo

Variables Dependientes:

1. Perfil inmunológico
 - a. Número de poblaciones leucocitarias

- b. Número de subpoblaciones linfocitarias
- c. Niveles de Inmunoglobulinas
- d. Numero de TRECs
- 2. Frecuencia de procesos infecciosos
 - a. Número de infecciones de vías respiratorias superiores
 - b. Número de hospitalizaciones por causa infecciosa

VARIABLES CONFUSORAS

- 1- Tipo de cardiopatía
- 2- Tiempo desde la resección del timo
- 3- Edad de resección del timo

VARIABLES DEMOGRÁFICAS

- 1. Sexo
- 2. Edad en meses
- 3. Peso en kg
- 4. Talla en m

DESCRIPCIÓN DE ENFERMEDAD

SÍNDROME DE DELECIÓN 22q11.2.

Definición conceptual.- Término que se emplea en pacientes que tienen una delección hemicigota del cromosoma 22q11.2 detectado por FISH o MLPA.

Definición operacional.- Pacientes que tienen una delección hemicigota del cromosoma 22q11.2 detectado por FISH y que cuenten con reporte escrito en expediente clínico.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

EVIDENCIA DE LA PRESENCIA DE TIMO

Definición conceptual.- Visualización del timo en situación habitual.

Definición operacional.- Visualización del timo mediante ultrasonido transtorácico con ventana supraesternal, con transductor lineal de 10.4-MHz y equipo Siemens®, modelo Antares, con el paciente en posición supina, utilizando una almohadilla por detrás de los hombros.

Tipo de variable.- Cualitativa, nominal, dicotómica

Escala de medición.- Presencia de timo por ultrasonido, ausencia de timo por ultrasonido.

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- Dra Nora Isela Moguel Molina, radióloga certificada y adscrita al Departamento de Radiología e Imagen del HIMFG

RESECCIÓN QUIRÚRGICA DE TIMO

Definición conceptual.- Resección quirúrgica del timo durante la corrección de la cardiopatía de base.

Definición operacional.- Resección quirúrgica del timo durante la corrección de la cardiopatía de base, evidenciado por escrito en la hoja quirúrgica.

Tipo de variable.- Cualitativa, nominal, dicotómica.

Escala de Medición.- Resección quirúrgica de timo, sin resección quirúrgica del timo.

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto será el encargado de analizar la hoja quirúrgica de pacientes sometidos a corrección de cardiopatía para constatar la resección quirúrgica o no de dicho órgano.

Perfil inmunológico

El perfil inmunológico se constituyó por 4 variables que se analizaron por separado: Número de poblaciones leucocitarias, número de subpoblaciones linfocitarias, niveles de Inmunoglobulinas y número de TRECs.

Número de poblaciones leucocitarias

Definición conceptual y operacional.- Estuvo determinada por 3 variables:

- a) Número de leucocitos totales
- b) Número de linfocitos totales
- c) Número de neutrófilos totales

Nota: Cada una de las variables que conforman las poblaciones leucocitarias se midió de forma independiente y cada una se analizó por separado.

a) Número de leucocitos totales

Definición conceptual y operacional.- Número total de leucocitos en sangre periférica.

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número de células/uL

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Q.F.B. Noemí Nájera Martínez adscrito al Laboratorio Central del HIMFG.

b) Número de linfocitos totales

Definición conceptual y operacional.- Número total de linfocitos en sangre periférica.

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número de células/uL

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Q.F.B. Noemí Nájera Martínez adscrito al Laboratorio Central del HIMFG.

c) Número de neutrófilos totales

Definición conceptual y operacional.- Número total de neutrófilos en sangre periférica.

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número de células/uL

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Q.F.B. Noemí Nájera Martínez adscrito al Laboratorio Central del HIMFG.

Número de subpoblaciones linfocitarias

Definición conceptual y operacional.- Estuvo determinada por 3 variables:

- a) Número de linfocitos T CD3+ (Linfocitos T)
- b) Número de linfocitos T CD3+ CD4+ (Linfocitos T CD4+)
- c) Número de linfocitos T CD3+ CD8+ (Linfocitos T CD8+)

Nota: Cada una de las variables que conforman las subpoblaciones linfocitarias se midió de forma independiente y cada una se analizó por separado.

a) Número de linfocitos T CD3+

Definición conceptual y operacional.- Número total de células en sangre periférica que expresan el marcador CD3+

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número de células/uL

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Guillermina Baay adscrita a la Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, HIMFG.

b) Número de linfocitos T CD3+ CD4+ (Linfocitos T CD4+)

Definición conceptual y operacional.- Número total de células en sangre periférica que expresan el marcador CD4+

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número de células/uL

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Guillermina Baay adscrita a la Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, HIMFG.

c) Número de linfocitos T CD3+ CD8+ (Linfocitos T CD8+)

Definición conceptual y operacional.- Número total de células en sangre periférica que expresan el marcador CD3+ CD8+

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número de células/uL

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Guillermina Baay adscrita a la Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, HIMFG.

Niveles de Inmunoglobulinas

Definición conceptual y operacional.- Estará determinada por 4 variables:

- a) Medición de IgA en sangre periférica
- b) Medición de IgG en sangre periférica
- c) Medición de IgM en sangre periférica
- d) Medición de IgE en sangre periférica

Nota: Cada una de las variables que conforman los niveles de inmunoglobulinas se medirá de forma independiente y cada una se analizará por separado.

a) Medición de IgA en sangre periférica

Definición conceptual y operacional.- Niveles de IgA reportados en sangre periférica en mg/dl

Tipo de variable.- Cuantitativa, continua

Escala de Medición.- mg/dl

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Q.F.B. Noemí Nájera Martínez adscrito al Laboratorio Central del HIMFG.

b) Medición de IgG en sangre periférica

Definición conceptual y operacional.- Niveles de IgG reportados en sangre periférica en mg/dl

Tipo de variable.- Cuantitativa, continua

Escala de Medición.- mg/dl

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Q.F.B. Noemí Nájera Martínez adscrito al Laboratorio Central del HIMFG.

c) Medición de IgM en sangre periférica

Definición conceptual y operacional.- Niveles de IgM reportados en sangre periférica en mg/dl

Tipo de variable.- Cuantitativa, continua

Escala de Medición.- mg/dl

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Q.F.B. Noemí Nájera Martínez adscrito al Laboratorio Central del HIMFG.

d) Medición de IgE en sangre periférica

Definición conceptual y operacional.- Niveles de IgE reportados en sangre periférica en UI

Tipo de variable.- Cuantitativa, continua

Escala de Medición.- UI

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con la Química Q.F.B. Noemí Nájera Martínez adscrito al Laboratorio Central del HIMFG.

Círculos de escisión del receptor de Linfocito T

Definición conceptual y operacional.- Círculos de escisión del receptor de Linfocito T por microlitro de sangre periférica detectados por PCR

Tipo de variable.- Cuantitativa, continua.

Escala de Medición.- Número de células por microlitro

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de realizar el procesamiento de la muestra así como la medición del resultado junto con el Químico Edgar Alejandro Medina-Torres adscrito a la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias. INP

Valores de normalidad.- Se consideró el punto de corte por arriba de 25

TRECs por microlitro. Nosotros usamos los datos de forma cuantitativa continua, comparando los grupos no en relación al nivel de normalidad si no a la diferencia entre ambos grupos.

Número de infecciones de vías respiratorias superiores en el año inmediato anterior.

Definición conceptual y operacional.- Número de Infecciones de vías respiratorias superiores ya sea virales o bacterianas en el año inmediato anterior diagnosticados por facultativo (médico general, pediatra, alergólogo) y reportados por familiar.

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número de infecciones por año

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de obtener estos datos mediante la hoja de recolección de datos.

Valores de normalidad.- Existe controversia sobre los valores de normalidad de las infecciones de vías respiratorias superiores en niños sanos. Nosotros usamos los datos de forma cuantitativa continua, comparando los grupos no en relación al nivel de normalidad si no a la diferencia entre ambos grupos.

Número de hospitalizaciones por causa infecciosa

Definición conceptual y operacional.- Número de estancias hospitalarias por lo menos 24 hrs por causa infecciosa de cualquier índole durante el transcurso de la vida del pacientes.

Tipo de variable.- Cuantitativa, discreta

Escala de Medición.- Número hospitalizaciones.

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de obtener estos datos mediante la hoja de recolección de datos, del expediente clínico y complementados durante el interrogatorio al tutor.

Valores de normalidad.- 0 hospitalizaciones por causas infecciosas. La variable considerada fue cuantitativa discreta, y se analizó el número total de hospitalizaciones por causa infecciosa durante toda la vida independientemente de los valores de normalidad propuestos.

Variables confusoras

Tipo de cardiopatía

Definición conceptual y operacional.- Tipo de cardiopatía presente mediante reporte por escrito de ecocardiograma.

Tipo de variable.- Cualitativa, nominal, politómica.

Escala de Medición.- CIA, CIV, PCA, Tetralogía de Fallot, etc.

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de obtener estos datos en el expediente clínico.

Tiempo desde la resección del timo

Definición conceptual y operacional.- Número de meses transcurridos desde la resección del timo por reparación quirúrgica de la cardiopatía de base.

Tipo de variable.- Cuantitativa discreta

Escala de Medición.- Meses

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de obtener estos datos en el expediente clínico.

Edad al momento de la resección del timo

Definición conceptual y operacional.- Edad en meses cumplidos al momento de la resección del timo por reparación quirúrgica de la cardiopatía de base.

Tipo de variable.- Cuantitativa discreta

Escala de Medición.- Meses

Temporalidad de las mediciones.- Al ingreso al estudio. 1 medición.

Responsable de las mediciones.- El investigador responsable del proyecto fue el encargado de obtener estos datos en el expediente clínico.

XI. SITIO

El estudio se realizó en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) que es un hospital de tercer nivel de atención médica, que cuenta con un área de hospitalización y consulta externa de especialidades y sub-especialidades de pediatría y genética. Es un centro de referencia de pacientes con síndrome de deleción 22q11.2, que brinda métodos de detección, diagnóstico, tratamiento y seguimiento y que cuenta con una clínica para pacientes con este síndrome. Específicamente el estudio se realizará en el Departamento de Alergia e Inmunología, Genética, Laboratorio Central y área de ultrasonido de dicha Institución.

Se contó con la colaboración de la Unidad de Investigación en enfermedades oncológicas HIMFG para procesamiento de las muestras y del Instituto Nacional de Pediatría INP Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias Primarias para capacitación del Investigador principal y personal de laboratorio para estudios de funcionamiento de células T.

XII. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Tabla 12. Cálculo del tamaño de muestra					
Variable	Calculado por:	Autor de referencia	Valores	Fórmula	N
Número de círculos de escisión del receptor de Linfocito T en pacientes con y sin timo	Diferencia de medias	Madhok et al.	d=9,271 Trecs/millón PBMC a=0.05 unilateral B= 0.20 Media grupo A = 47,916 Trecs/millón PBMC Media grupo B = 33,157 Trecs/millón PBMC DE= 14,759 Trecs/millón PBMC	$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta}) DE}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$	6 pacientes por grupo

El número de pacientes que se han diagnosticado con del22q11.2 mediante FISH en el HIMFG es de 119 niños hasta enero de 2016 por lo que se intentó incluir a todos los pacientes que contaran con los criterios de inclusión establecidos.

El número de muestra que se consideró como mínimo, es de 30 pacientes por grupo, incrementando el numero necesario de 6 a 30.

XIII. MUESTREO

Se trató de un muestreo por conveniencia, eligiendo de forma consecutiva cada individuo accesible que cumpliera con los criterios de selección.

XIV. LOGÍSTICA DE LA INTERVENCIÓN

Los pacientes se reclutaron de la clínica de del22q11.2 de nuestro hospital, la cual es coordinada por el Departamento de Genética.

Dichos pacientes reciben valoración multidisciplinaria por parte de los Servicios de Cardiología, Endocrinología, Foniatría y Alergia e Inmunología.

Se les invitó a participar checando previamente si cumplían con los criterios de inclusión y exclusión estipulados; previa firma de consentimiento y asentimiento informado, se le realizó una valoración completa que comprendió una historia clínica y examen físico así como recopilación de datos relevantes para el protocolo: Ultimo ecocardiograma, hoja quirúrgica en caso de corrección de cardiopatía. Ver Anexos

Todos aquellos pacientes en que fueron excluidos inicialmente por tener alguno de los puntos positivos del 1 al 5 en criterios de exclusión, se reevaluaron para su posterior inclusión siempre y cuando cumplieran con los tiempos de espera solicitados. Los criterios de exclusión se basaron en la posible interferencia que pudieran tener estos eventos sobre las poblaciones leucocitarias o subpoblaciones de linfocitos.

Se tomó muestra sanguínea al paciente y su control, se dividió la muestra en:

- 500 microlitros en tubo con anticoagulante EDTA para biometría hemática
- 2.5ml tubo seco para cuantificación de Inmunoglobulinas
- 5ml tubo con anticoagulante EDTA para citometria de flujo
- 500 microlitos con anticoagulante EDTA para ser llenado papel filtro para cuantificación de TRECs

Se envió a los pacientes al Departamento de Radiología e Imagen de nuestra Institución y se les realizó ultrasonido por una radióloga certificada (Dra. Nora Isela Moguel Molina) adscrita a dicho Departamento, con transductor lineal de 10.4-MHz y equipo Siemens®, modelo Antares, con el paciente en posición supina, utilizando una almohadilla por detrás de los hombros. La ventana utilizada de

estudio fue supraesternal en todos los pacientes. Se visualizaron los planos longitudinal, anteroposterior y transversal, se realizaron mediciones y se calcularon los valores promedio. Ver anexos

En cuanto a los sitios específicos para realizar el presente estudio:

Búsqueda de población elegible.- Hospital Infantil de México Federico Gómez particularmente en la clínica de delección 22q11.2 la cual se reúne 1 vez por mes en la consulta externa de genética, así como en la base de resultados de pacientes sometidos a FISH.

Entrevista, selección y firma de consentimientos.- Oficina del Servicio de Alergia e inmunología del HIMFG de lunes a viernes de 8:00 a 14:00 hrs.

Aplicación de hoja de recolección de datos así como exploración física completa.- Oficina del Servicio de Alergia e inmunología del HIMFG de lunes a viernes de 8:00 a 14:00 hrs.

Toma de muestras sanguíneas.- Laboratorio de Servicio de Alergia e inmunología del HIMFG de lunes a viernes de 8:00 a 12:00 hrs.

Almacenaje de muestras para TREC.- Laboratorio de Servicio de Alergia e inmunología del HIMFG. Refrigerador 4°C

Procesamiento final de muestras para TREC.- Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias Primarias. Instituto Nacional de Pediatría. Se programó procesamiento por cada 20 muestras obtenidas.

Procesamiento de muestras para citometría de flujo.- Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas, HIMFG. Se programó procesamiento por cada 20 muestras obtenidas.

Procesamiento de muestras para medición de Inmunoglobulinas.- Laboratorio Central del HIMFG. Se realizó posterior a cada toma de muestra

Nota: Se verificó con la Unidad de Investigación en Enfermedades Oncológicas del HIMFG así como con la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias primarias del INP que los tiempos de procesamiento de las muestras no interfirieran con la calidad de los resultados.

Cada una de las muestras es almacenada siguiendo las recomendaciones de los reactivos utilizados.

En todos los casos los investigadores carecieron de la información de resultados alternos a su campo de trabajo.

XV. PLAN DE ANÁLISIS DE LOS DATOS

Objetivo: Descripción general de la población de estudio en ambos grupos.
Análisis univariado.

Tabla 13 Plan de Análisis de datos descripción general de la población de estudio		
Variable	Tipo de variable	Prueba estadística
Edad	Cuantitativa discreta	<u>Distribución Normal</u> Medidas de tendencia central: Media Medidas de dispersión: Desviación estándar <u>Libre distribución</u> Medidas de tendencia central: Mediana Medidas de dispersión: Rango
Sexo	Cualitativa dicotómica	Proporción

Objetivo: Comparar de variables demográficas en ambos grupos para establecer que ambos grupos fueran semejantes y puedan ser comparables principalmente en cuanto a edad

Grupos de comparación: Pacientes con 22q11.2 y timo vs pacientes con 22q11.2 sin timo.

Análisis bivariado

Tabla 14 Plan de análisis de datos comparación de variable demográficas en ambos grupos		
Variable	Tipo de variable	Prueba estadística
Edad	Cuantitativa discreta	<u>Distribución Normal</u> t student muestras dependientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)
Sexo	Cualitativa dicotómica	Proporción <u>Distribución Normal</u> X^2
Peso	Cuantitativa continua	<u>Distribución Normal</u> t student muestras dependientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Talla	Cuantitativa continua	<u>Distribución Normal</u> t student muestras dependientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)
Tipo de Cardiopatía	Cualitativa politómica	Proporción

Objetivo: Comparar el número de poblaciones leucocitarias

Grupos de comparación: Pacientes con delección 22q11.2 con evidencia de timo por ultrasonido y sin timo por resección quirúrgica.

Análisis: Bivariado

Los datos se analizaron para identificar distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk posterior a lo cual se decidirá la mejor prueba estadística a realizar.

Tabla 15 Plan de análisis de datos comparación del número de subpoblaciones linfocitarias		
Variables	Tipo de variables	Prueba estadística
-Número de leucocitos totales -Número de linfocitos totales -Número de neutrófilos totales	Cuantitativa discreta	<u>Distribución Normal</u> t student muestras independientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Posterior a este análisis y dado que se incluyeron en el estudio pacientes con diferentes edades, se convirtieron los valores de leucocitos, linfocitos y neutrófilos totales a Z scores con el fin de realizar la comparación entre ambos grupos considerando la edad de la inclusión y los diferentes valores de normalidad propuestos para cada una, el análisis se realizó de acuerdo a la distribución de la siguiente forma:

Distribución Normal: t student muestras independientes

Libre distribución: U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Objetivo: Comparar el número de subpoblaciones linfocitarias

Grupos de comparación: Pacientes con delección 22q11.2 con evidencia de timo por ultrasonido y sin timo por resección quirúrgica.

Análisis: Bivariado

Tabla 16 Plan de análisis de datos comparación del número de subpoblaciones linfocitarias		
Variab les	Tipo de variables	Prueba estadística
-Número de linfocitos T CD3+ (Linfocitos T) -Número de linfocitos T CD3+ CD4+ (Linfocitos T CD4+) -Número de linfocitos T CD3+ CD8+ (Linfocitos T CD8+)	Cuantitativa discreta	<u>Distribución Normal</u> t student muestras independientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Posterior a este análisis y dado que se incluirán en el estudio pacientes con diferentes edades, se convertirán los valores totales a Z scores con el fin de realizar la comparación entre ambos grupos considerando la edad de la inclusión y los diferentes valores de normalidad propuestos para cada una, el análisis se realizará de acuerdo a la distribución de la siguiente forma:

Distribución Normal: t student muestras independientes

Libre distribución: U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Objetivo: Comparar los niveles de inmunoglobulinas

Grupos de comparación: Pacientes con delección 22q11.2 con evidencia de timo por ultrasonido y sin timo por resección quirúrgica.

Análisis: Bivariado

Tabla 17 Plan de análisis de datos comparación del número de inmunoglobulinas		
Variable	Tipo de variable	Prueba estadística
IgA, IgG, IgM, IgE	Cuantitativa continua	<u>Distribución Normal</u> t student muestras independientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Objetivo: Comparar el número de TRECs

Grupos de comparación: Pacientes con 22q11.2 y timo vs pacientes con 22q11.2 sin timo.

Análisis bivariado

Tabla 18 Plan de análisis de datos comparación de función linfocitaria		
Variable	Tipo de variable	Prueba estadística
No. De TRECs	Cuantitativa, continua.	<u>Distribución Normal</u> t student muestras dependientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Objetivo: Comparar la historia de procesos infecciosos de pacientes con deleción 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica.

Grupos de comparación: Pacientes con 22q11.2 y timo vs pacientes con 22q11.2 sin timo.

Análisis bivariado

Tabla 19 Plan de análisis de datos historia de procesos infecciosos		
Variable	Tipo de variable	Prueba estadística
Número de infecciones de vías respiratorias altas en el año inmediato anterior.	Cuantitativa discreta	<u>Distribución Normal</u> t student muestras dependientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)
Número de hospitalizaciones por causa infecciosa durante toda la vida.	Cuantitativa discreta	<u>Distribución Normal</u> t student muestras dependientes <u>Libre distribución</u> U de Mann-Whitney (Muestras independientes)

Todas las estimaciones estadísticas se realizarán por medio del programa estadístico SPSS versión 20.0

XVI. RESULTADOS

Descripción de la población

Se incluyeron un total de 39 pacientes con diagnóstico confirmado de del22q11.2 mediante FISH, 19 mujeres y 20 hombres; al momento de la inclusión al estudio la mediana de edad fue de 7 años con un RIQ (Rango intercuartilar) de 3 a 7 años

Del total de pacientes 30.7%(12) habían sido sometidos a corrección de cardiopatía con la consiguiente resección quirúrgica de timo, 43.5%(17) no habían sido operados y 25.6% (10) tenía cor sano. No hubo diferencias significativas en edad, peso y talla entre los 2 grupos estudiados. Tabla 20. En el grupo de pacientes no operados había un número mayor de hombres (63%) comparado con el grupo con timectomía (25%).

Tabla 20. Características de los 2 grupos incluidos en el estudio			
	Pacientes no operados n=27	Pacientes operados con timectomía total n=12	p
Sexo % (n)	Hombres 63% (17) Mujeres 37% (10)	Hombres 25% (3) Mujeres 75% (9)	p=0.04*
Edad (años) Mediana (RIQ)	7 años (3-9)	7.5 años (3.7-10.7)	p=0.81**
Peso (kg) Mediana (RIQ)	16.5kg (12.9-19.5)	18.0 kg (15.2-27.5)	P=0.80**
Talla (cm) Mediana (RIQ)	115 cm (92-131)	120 cm (98.5-142)	P=0.81**
*chi ² **U de Mann Whitney			

Las cardiopatías congénitas observadas más frecuentemente fueron Tronco arterioso (6/39; 15.3%), tetralogía de fallot (4/39; 10.2%) y atresia pulmonar (4/39; 10.2%). Tabla 21

Tabla 21. Tipo de cardiopatía encontrada en los sujetos de estudio			
	Timectomía total (n=12)	No operados (Con timo) % (n) (n=27)	Total % (n) (n=39)
Tronco arterioso	50%(6)	-	15.38% (6)
Tetralogía de Fallot	16.6% (2)	7.4%(2)	10.2% (4)

Atresia pulmonar	16.6% (2)	7.4%(2)	10.2% (4)
Entrecruzamiento de ramas pulmonares	-	7.4%(2)	5.1% (2)
Interrupción de arco aórtico	8.3% (1)	-	2.5% (1)
Dilatación de la raíz aortica	-	3.7% (1)	2.5% (1)
PCA	-	11.1% (3)	7.7% (3)
CIA	-	11.1% (3)	7.7% (3)
CIV	-	7.4%(2)	5.1% (2)
CIA y PCA	-	3.7% (1)	2.5% (1)
CIV y PCA	8.3% (1)	3.7% (1)	5.1% (2)
Corazón sano	-	37% (10)	25.6%(10)
Total	100% (12)	100% (27)	100% (39)
PCA: Persistencia de conducto arterioso, CIA: Comunicación interauricular, CIV: Comunicación interventricular.			

La mediana de edad al tiempo de la cirugía fue de 9.5 meses (RIQ 5-9.5). La mediana del periodo de tiempo entre la cirugía y la inclusión de los pacientes fue de 6.3 años.

En las tablas 22 y 23 se muestra las medianas de las cuentas leucocitarias y Z scores para la edad, así como el reporte de inmunoglobulinas de ambos grupos. El grupo con timentomía presentó una menor cantidad de linfocitos, respecto al grupo no operado, tanto en cuentas totales como en la comparación con Z scores ajustados para la edad. Se encontró una media de IgG más alta en pacientes con resección de timo vs con timo, resto de inmunoglobulinas no significativas.

Subgrupo celular	Análisis	No operados y con evidencia de timo por ultrasonido n=27	Operados con resección completa o parcial de timo n=12	p
Leucocitos.	Cuenta total Media (DE)	8.03 x 10 ³ /uL (±2.6)	8.3 x 10 ³ /uL (±2.6)	p=0.74*
	Z score Mediana (RIQ)	-0.54 (-1.1 a 0.20)	-0.08 (-0.97 a 0.57)	p=0.29**
Linfocitos	Cuenta total Mediana (RIQ)	2.9 x 10 ³ /uL (2.3 a 3.5)	2.3 x 10 ³ /uL (1.8-3.4)	p=0.18**

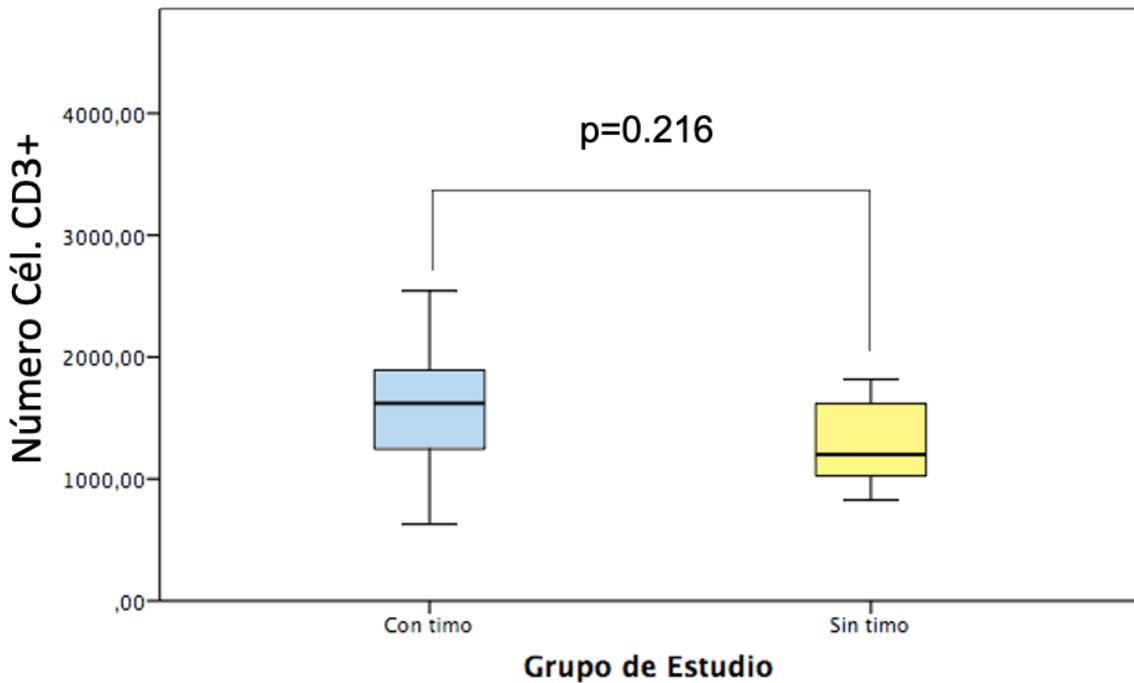
	Z score Mediana (RIQ)	-0.61 (-1.45 a -0.17)	-0.84 (-1.07 a -0.28)	p=0.54**
Neutrófilos	Cuenta total Media (DE)	3.7 x 10 ³ /uL (±1.3)	4.5 x 10 ³ /uL (±1.4)	p=0.12*
	Z score Mediana (RIQ)	-0.15 (-0.82 a 0.53)	0.24 (-0.46 a 1.20)	p=0.40**
Monocitos	Cuenta total Mediana (RIQ)	0.4 x 10 ³ /uL (0.36 a 0.78)	0.42 x 10 ³ /uL (0.34-0.64)	p=0.70**
Eosinófilos	Cuenta total Mediana (RIQ)	0.11 x 10 ³ /uL (0.08 a 0.32)	0.18 x 10 ³ /uL (0.09 a 0.23)	p=0.25**
* t student ** U de Mann Whitney				

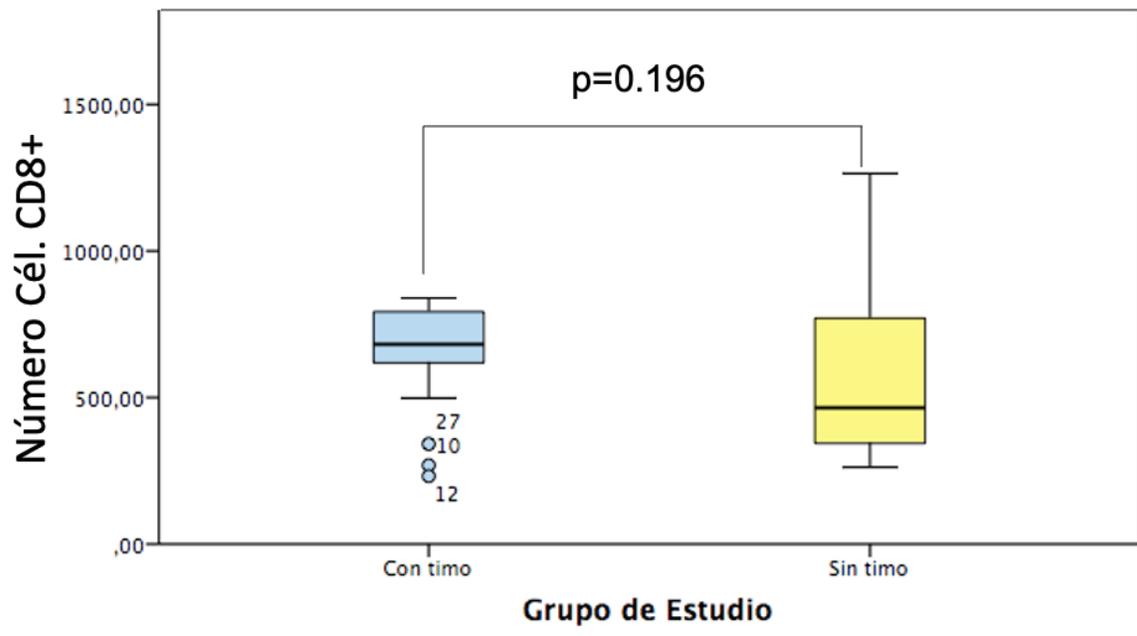
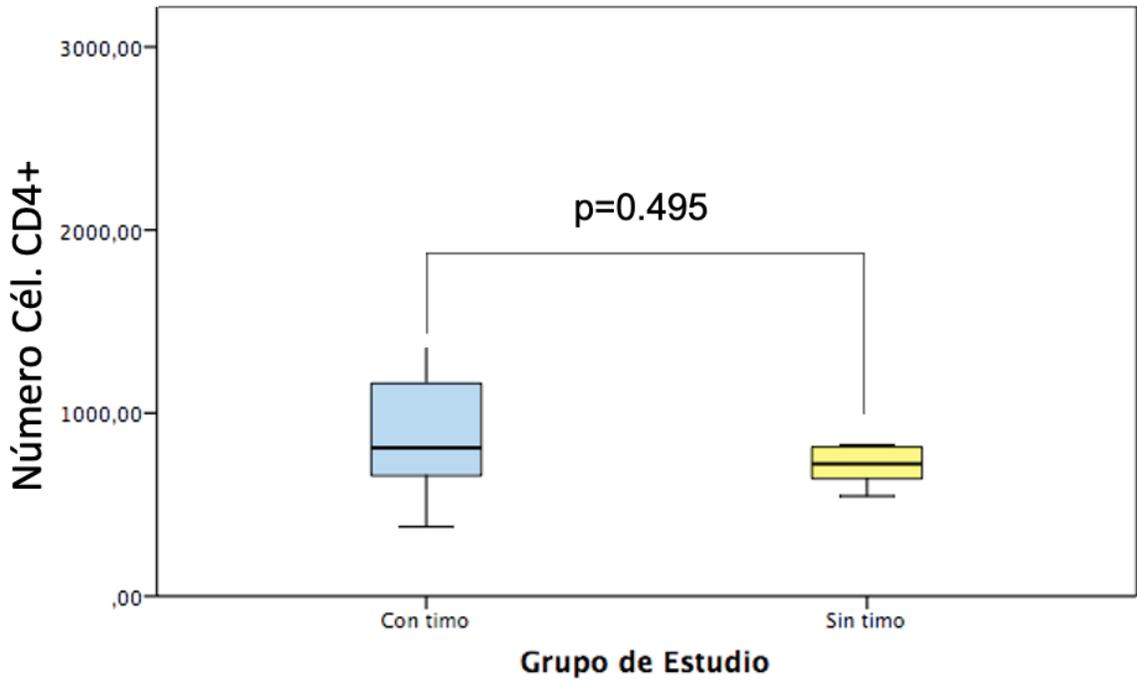
Tabla 23. Valores de inmunoglobulinas en ambos grupos y su comparación				
		No operados y con evidencia de timo por ultrasonido n=27	Operados con resección completa de timo n=12	p
IgA	Mediana (RIQ)	157 mg/dl (140-242)	140 mg/dl (72.7-226)	p=0.98*
	Z score Mediana (RIQ)	2.19 (1.40-4.2)	1.86 (-0.4-3.8)	p=0.46*
IgG	Media (DE)	1183.64 mg/dl (±314.8)	1433 mg/dl (±432.5)	p=0.05**
	Z score Mediana (RIQ)	1.67 (0.73-2.1)	2.19 (1.2-6.5)	p=0.46*
IgM	Media (DE)	91.1 mg/dl (±39.5 mg/dl)	106.0 mg/dl (±34.6 mg/dl)	p=0.28**

	Z score Mediana (RIQ)	-0.51 (-0.91 a 0.33)	-0.02 (-0.82 a 0.44)	p=0.14*
IgE	Mediana (RIQ)	28.1 UI/ml (18.1-54.9)	23.5 UI/ml (18.1-144)	p=0.99*
	Z score Mediana (RIQ)	0.93 (0.13 a 3.8)	1.8 (-0.00 a 4.04)	p=0.98*

* U de Mann Whitney
** t student
IgA: Inmunoglobulina A, IgG: Inmunoglobulina G, IgM: Inmunoglobulina M, IgE: Inmunoglobulina E

En la comparación por subpoblaciones linfocitarias, se evidenció una menor cantidad de CD3+, CD4+ y CD8+ en el grupo con timentomía posquirúrgica (Figura 3), aunque sin significancia estadística.





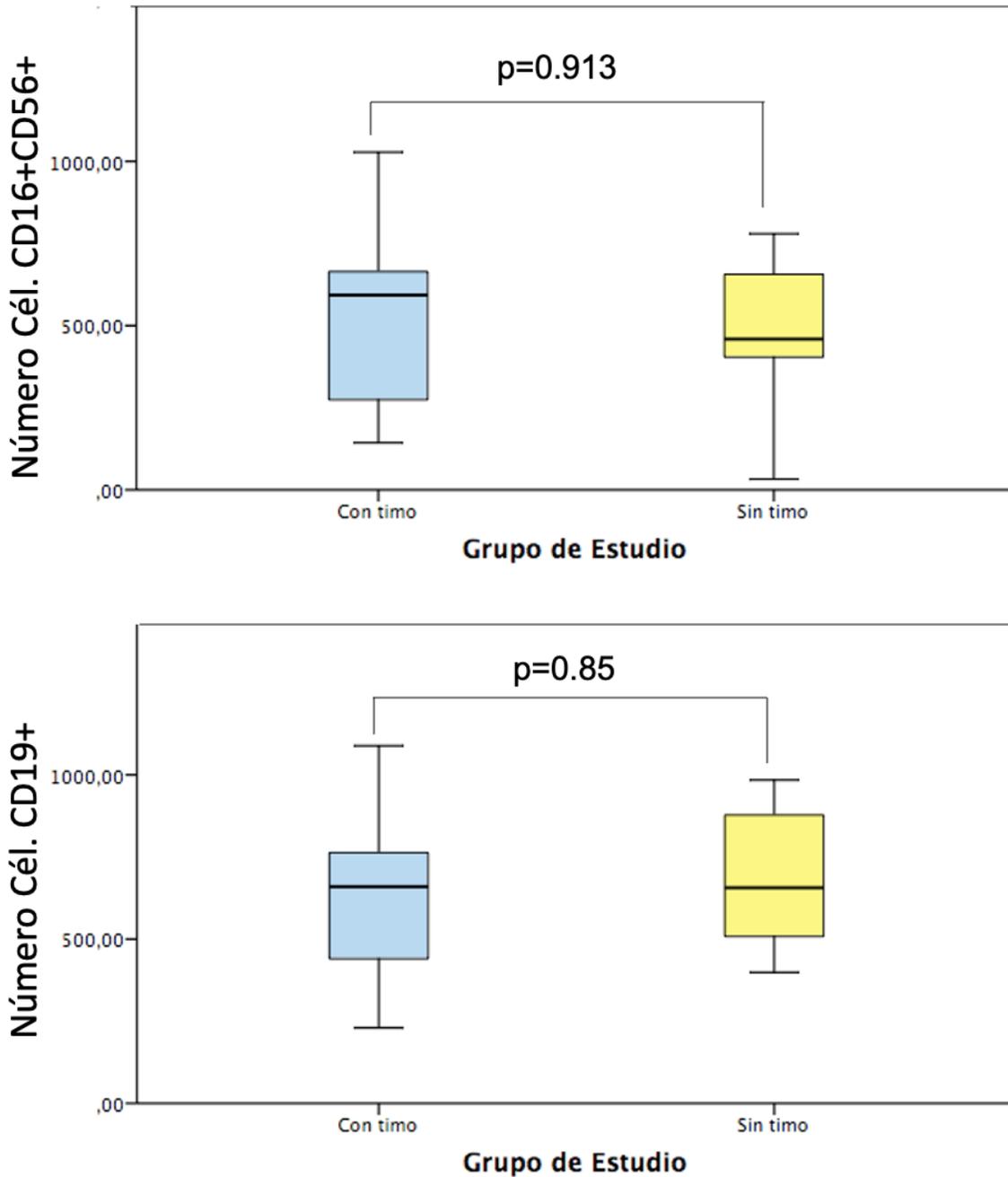


Figura 3. Comparación de la cuenta total de linfocitos T CD3+ cel/uL (a), T CD4+ (b), T CD8+ (c), CD19+ (d), CD16+CD56+ (e) en el grupo no operado y el grupo operado y con resección parcial o completa del timo.

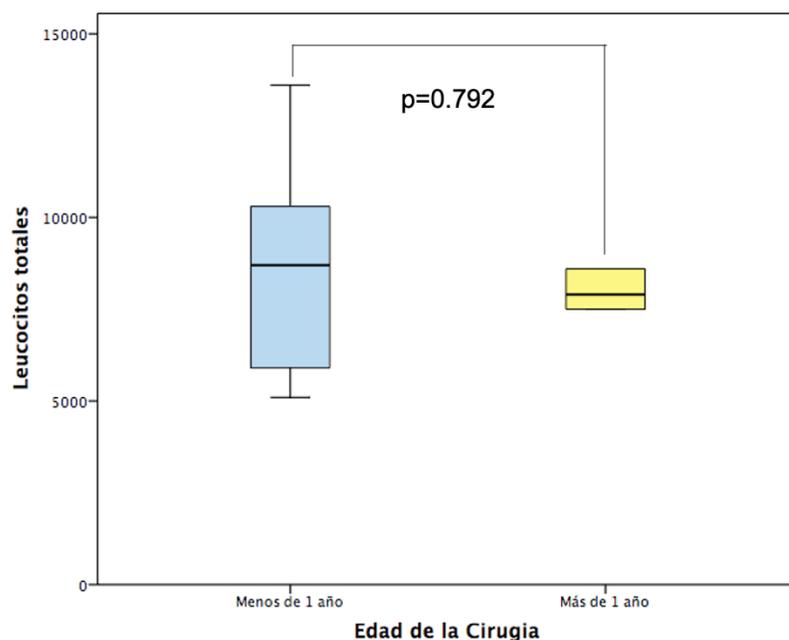
En la estratificación por edades, encontramos una tendencia a una menor cantidad de CD3, CD4, CD8 y CD16/56 en el grupo sin timo vs con timo que fue mucho más

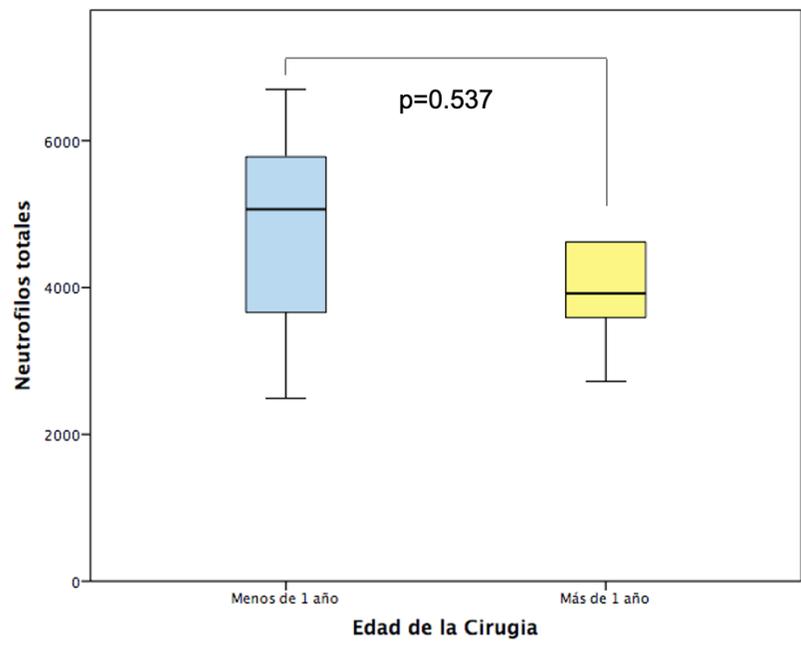
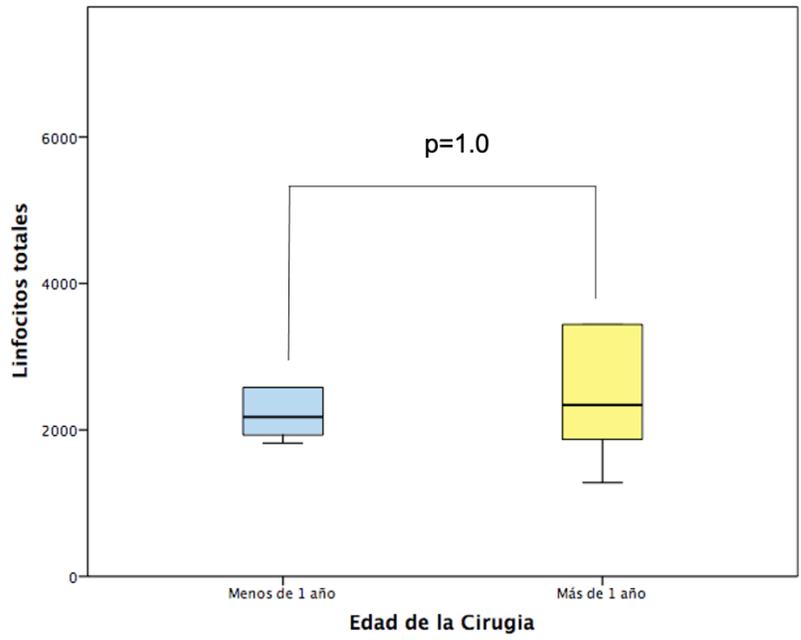
marcada en los primeros 8 años de vida. Tabla 24. No se encontraron diferencias en los niveles de inmunoglobulinas al realizar este mismo análisis.

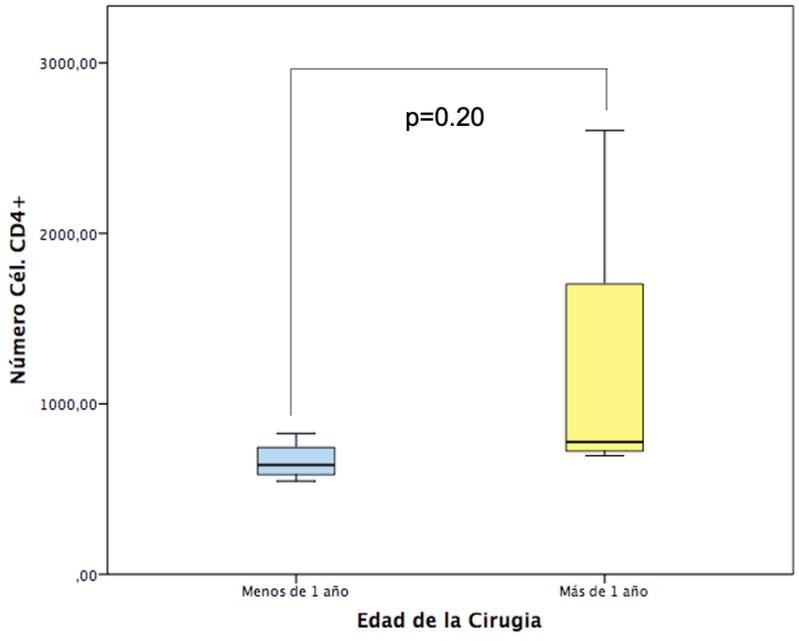
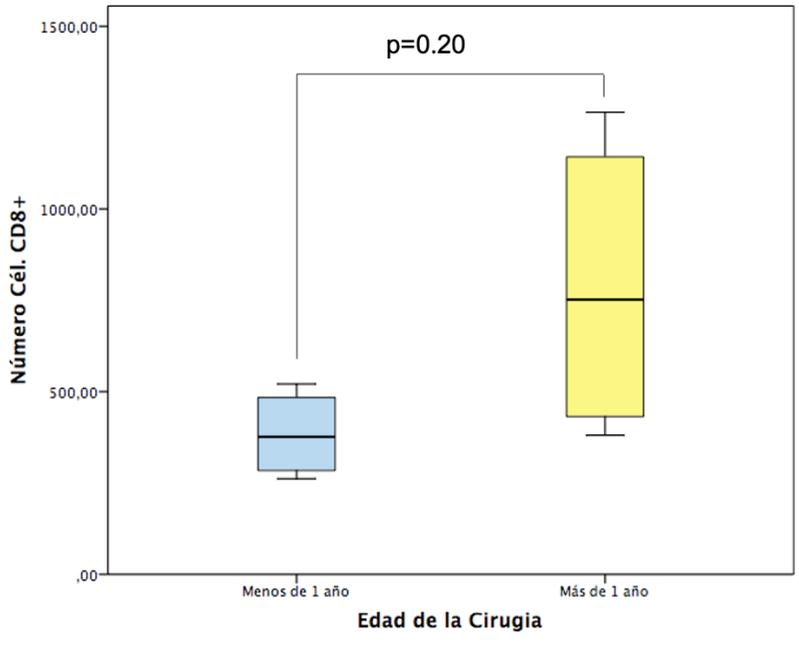
Tabla 24. Cuentas de subpoblaciones linfocitarias estratificada por edades						
	0-8 años		p	9-18 años		p
	Con timo	Sin timo		Con timo	Sin timo	
CD3 (Mediana)	1866.35	1303.36	0.09*	1338.36	1092.08	1.0*
CD4 (Mediana)	1127.67	802.79	0.165*	616.86	695.77	1.0*
CD8 (Mediana)	720.65	483.39	0.055*	620.60	380.50	1.0*
CD16/56 (Mediana)	485.95	459.0	0.206*	700.98	282.40	0.286*
CD19 (Mediana)	722.61	771	1.0*	530.71	507.96	1.0*

* U de Mann Whitney

Se realizó el análisis comparando la edad a la que se había practicado la timectomía con las cuentas de subpoblaciones linfocitarias al momento del estudio. La menor cantidad de linfocitos, CD3+, CD4+, CD8` se presentó en aquellos pacientes que se habían sometido a timectomía durante el 1er año de vida (Figura 4). Faltaría describir







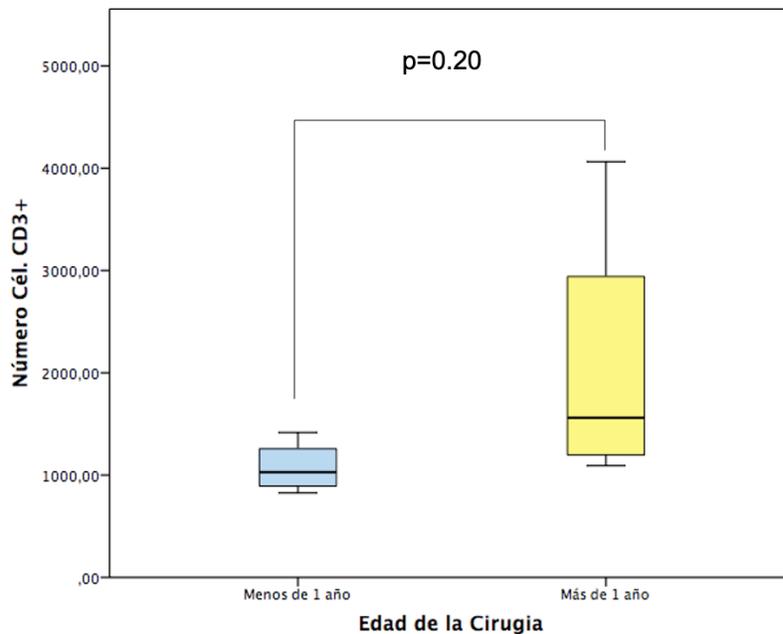


Figura 4. Comparación de la cuenta total de linfocitos totales, neutrófilos y subpoblaciones T CD3+ cel/uL, T CD4+, T CD8+, en el grupo operado antes y después del año de edad.

En el grupo que habían sido operados, se observó una correlación de Spearman negativa entre los meses transcurridos desde la cirugía y:

- Cuentas totales de leucocitos $r=-0.50$ ($p=0.03$)
- Neutrófilos totales $r=-0.27$ ($p=0.26$)
- Linfocitos totales $r=-0.33$ ($p=0.17$)
- CD3+ totales $r=-0.19$ ($p=0.49$)
- CD4+ totales $r=-0.25$ ($p=0.35$)
- CD8+ totales $r=-0.10$ ($p=0.70$)
- TRECs $r=-0.74$ ($p=0.005$).

La media en la medición de TRECs, fue de 25.2/uL (± 4.69) en el grupo con timo vs 17.4/uL (± 6.5) en el grupo sin timo ($p=0.36$).

Se registraron un total de 13 hospitalizaciones por causa infecciosa en ambos grupos, de las cuales 11 se presentaron en el grupo con timo y 2 en el grupo operado; en su mayoría se debieron a procesos infecciosos de vías respiratorias inferiores. La mediana de hospitalizaciones fue de 1.07 vs 0.27 en el grupo con timo vs grupos con resección parcial o completa $p= 0.41$.

La mediana de IVAS en el grupo con timectomía fue de 2 vs 3 en el grupo con timo $p=0.52$; no se encontraron diferencias en la frecuencia de otitis, sinusitis e infecciones gastrointestinales reportadas en el último año entre ambos grupos. La

mediana de procesos infecciosos en el último año ya sea IVRS, otitis, sinusitis e infecciones gastrointestinales fue de 4 para ambos grupos.

XVII. DISCUSIÓN

El timo es un órgano fundamental para el sistema inmunológico cuya función no es sólo capacitar al linfocito T produciendo células completas y funcionales si no también participando de forma muy importante en la tolerancia central, al facilitar la apoptosis de linfocitos T potencialmente autorreactivos. Una función tímica adecuada es crucial para la generación de un repertorio de células T lo suficientemente diverso para mantener la plasticidad, la protección y la reparación, al tiempo que se minimiza el riesgo de autoinmunidad.⁵²

La función máxima del timo ocurre durante la vida fetal y en la infancia temprana, para después sufrir un proceso de involución acelerado al llegar a la pubertad (probablemente influenciado por la producción acelerada de hormonas sexuales) que va de la mano con una disminución de sus funciones, una reducción gradual de la producción de células T naive y un cambio en el repertorio de linfocitos T.^{53,54,45,55}

Los cambios en las células T relacionados con la edad incluyen tres principales: Inmunosenescencia.- Caracterizada por una baja respuesta inmunitaria, debido un repertorio disminuido de TCR y asociado a una expansión oligoclonal de linfocitos T periféricos de memoria/células T senescentes.

Inflamación crónica.- También conocida como “inflammaging” y que se debe en parte a un daño tisular crónico inducido por células T autorreactivas (producidas de forma normal en pequeñas cantidades a lo largo de la vida).

Acumulación de células Treg en órganos linfoides secundarios.⁵⁶

Las subpoblaciones de linfocitos T van cambiando conforme incrementa la edad, lo que provoca una disminución de la capacidad de reconocimiento de “neo-antígenos” y un incremento de células T autorreactivas, lo que induce por una parte un aumento de la susceptibilidad a procesos infecciosos y por la otra un mayor de riesgo de inflamación y enfermedades autoinmunes.⁵⁷

La inmunosenescencia es una condición que se establece con el tiempo y a diferentes tiempos en diferentes poblaciones dependiendo de múltiples factores como: estímulos antigénicos a los que se ha expuesto el individuo, factores nutricionales, raciales, condiciones que potencialmente pudieran afectar al timo tanto a su desarrollo como a su función, etc. Especial atención merecen 2 condiciones en las cuales se ha evidenciado una inmunosenescencia precoz que son pacientes con resección de timo y pacientes con del22q11.2.

Múltiples estudios han reportado el impacto inmunológico de la timectomía pediátrica temprana en pacientes con cardiopatías congénitas^{36,41,42,48,49} por lo demás sanos, evidenciando una disminución progresiva en los niveles de linfocitos

T naive y TREC, con una mayor proporción de linfocitos T de memoria periféricos que justo reflejan el fenotipo inmunosenescente descrito previamente.^{48, 58,59}

Otro grupo de especial importancia son los pacientes con delección 22q11.2 en donde la hipoplasia de timo es una condición frecuente y en quienes también se han encontrado cambios inmunes compatibles con envejecimiento inmunológico temprano.⁵²

Si a todo esto sumamos que existen pacientes en quienes se conjugan 2 condiciones importantes para la función de células T (síndrome de delección 22q11.2 y timectomía incidental) encontraremos la relevancia de este estudio y del consejo para pacientes y médicos tratantes de esta condición.

Hasta el 75% de pacientes con del 22q11.2 presenta algún tipo de cardiopatía^{8,9} y en muchos casos son llevados a corrección quirúrgica a edades tempranas con la consiguiente timectomía incidental en más o menos la mitad de Ellos;⁶⁰ (la timectomía tiene la finalidad de aumentar la exposición del campo quirúrgico para una adecuada visualización del corazón y grandes vasos) y estos pacientes son los que teorizando tendrían el mayor riesgo de alteraciones en inmunidad debido a que presentan 2 características que vistas por separado se han encontrado nocivas para el sistema inmunológico, por lo que en este estudio nos centramos justo en esta población de alto riesgo.

El estudio del sistema inmunológico es muy amplio, pero 2 son los objetivos principales cuando lo estudiamos, establecer el número y la funcionalidad celular. Actualmente no se cuenta con recomendaciones estandarizadas acerca de los estudios de laboratorio que se requieren para evaluar al sistema inmunológico y mucho menos en niños con del22q11.2; el estudio del sistema inmunológico puede ser tan simple o complejo como nosotros decidamos dependiendo de la alteraciones que estemos sospechando en un individuo. Nuestra variable, “perfil inmunológico” la construimos con 4 puntos específicos que se analizaron por separado: Número de poblaciones leucocitarias, número de subpoblaciones linfocitarias, niveles de Inmunoglobulinas y número de TRECs; las 3 primeras enfocándonos al número y la última a la funcionalidad; la decisión para la inclusión de estas pruebas en se realizó con base en las recomendaciones actuales para el abordaje de niños con sospecha de inmunodeficiencia, traspolando dicha información a nuestra población de estudio. En un inicio se contempló medir también respuestas celulares a distintos estímulos midiendo proliferación celular a diferentes mitógenos como hioscina y fitohemaglutinina, con la finalidad de estudiar la funcionalidad de forma más consistente; sin embargo debido a problemas con la estandarización de la técnica y a la dificultad inherente a la realización de dichas pruebas en este estudio no pudimos incluir estas variables que en un inicio estaban contempladas, aunque formarán parte la línea de investigación que se abrió a partir de esta pregunta de investigación.

En cuanto al número celular, nosotros observamos una cantidad similar de leucocitos totales en los pacientes con del22q11.2 operados y no operados, sin

embargo la cuenta de linfocitos totales se encontraba con una tendencia a números menores en el grupo con resección aunque sin llegar a valores anormales para la edad. Al comparar nuestras cifras con las de Halnon et al⁴¹ y Eysteisdottir et al⁴⁷, observamos resultados similares a los descritos por ambos autores y al igual que este último encontramos una tendencia hacia un mayor número de neutrófilos en el grupo con timentomía. La proporción neutrófilos/linfocitos (NLR) se encontró más alta en el grupo con timo (Mediana 2.01 IQR 1.04 a 2.59) vs pacientes sin timentomía (Mediana 1.19 IQR 0.91 a 1.45), lo que pudiera reflejar de acuerdo a algunos autores una mayor inflamación en el grupo de estudio, compatible con el estado de disregulación de células autoreactivas. El NLR ha sido utilizado como un biomarcador y factor pronóstico para una gran variedad de condiciones médicas, particularmente en síndrome de delección 22q11.2 el incremento de este marcador se ha visto especialmente asociado a trastornos psiquiátricos principalmente esquizofrenia, aunque sus valores como marcador pronóstico tienden a ser más altos.⁶¹

Al momento de estudiar las subpoblaciones al igual que algunos autores^{41,47,48,49} documentamos una tendencia hacia menores niveles de linfocitos CD3+, CD4+ y CD8+^{47,62,63} pero no así en linfocitos B y NK información igualmente compatible con estos autores, esta disminución de cuentas linfocitarias se vio exacerbada en aquellos niños que habían sido sometidos a timentomía antes del año de edad. El mayor acervo de linfocitos T se produce a edades tempranas y si bien, se ha observado que el timo contribuye durante toda la vida a la inmunidad celular, lo cierto es que poco coopera después de la infancia temprana a menos que se requiera una reconstitución inmune, por ejemplo en individuos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana después del tratamiento con fármacos antirretrovirales y en pacientes que reciben quimioterapia mieloablativa⁴⁹

La timentomía realizada antes de la madurez inmunológica puede provocar una afectación más pronunciada de la respuesta celular, sin embargo el sistema inmunológico en su afán de mantener una función adecuada incrementa la replicación periférica en reacción a la disminución de la producción tímica³⁶ por lo que algunos autores como Van Gent⁴⁹ han encontrado que después de algunos años post-cirugía los valores de linfocitos T CD3+, CD4+, y CD8+ tienden a “normalizar” asemejándose mucho a aquellos sin timentomía. Al realizar nosotros la comparación en las cuentas leucocitarias en niños menores de 8 y mayores de 8 años pudimos observar una ligera tendencia a esta normalización. A pesar de que estas subpoblaciones linfocitarias pueden llegar a ser normales, la proporción de células de memoria incrementa mucho en relación a las células T naive, lo que condiciona inevitablemente una disminución de la respuesta a “neoantígenos”⁶⁴ similar a la observada en la inmunosenescencia de los adultos mayores pero a edades mucho más tempranas.

Una de las limitaciones de nuestro proyecto es que no pudimos realizar un estudio más detallado de estas subpoblaciones linfocitarias para medir marcadores de memoria y células T naive que pudiera aportar mayor información sobre el estado inmunológico en el que se encuentran estos pacientes, sin embargo se ha iniciado

una línea de investigación más amplia para poder llegar a entender mucho mejor las interacciones inmunológicas en estos pacientes.

Sabemos que dada la naturaleza transversal de este estudio, los resultados aquí plasmados, sólo demuestran lo que ocurre en el momento de las mediciones correspondientes a la valoración, por lo que sólo podemos establecer asociaciones entre las variables de estudio sin poder establecer causalidad. El mejor método para poder establecer causalidad en este caso sería el ensayo clínico, controlando la intervención (resección de timo) y aleatorizando a los pacientes a uno u otro grupo con seguimiento tanto a corto como largo plazo haciendo una correlación con datos clínicos sobre procesos infecciosos. Debido a las limitantes que tuvimos en cuanto a presupuesto, personal e insumos por el momento no se pudo realizar este tipo de abordaje en este grupo de estudio sin embargo el presente forma parte de una línea de investigación en el cual ya se tiene aceptado y se esta iniciando este tipo de abordaje.

En el presente estudio, sólo se incluyeron pacientes con diagnóstico de la delección que contaran con FISH positivo, ya que es el método diagnóstico al que por el momento tuvimos acceso, por lo que no se pueden generalizar los resultados para aquellos pacientes con del22q11.2 con FISH negativo pero MLPA o estudio de microarreglos positivo.

La presencia o ausencia de timo fue valorado mediante ultrasonido por un radiólogo especializado en este tema, sin embargo conocemos la característica inherente a este tipo de estudios de ser operador dependiente. Sólo valoramos la presencia o ausencia de timo en posición habitual, comparándolo con los distintos valores de función linfocitaria obtenidos, no se realizaron inferencias respecto al tamaño tímico ni la posible repercusión sobre los resultados.

En cuanto a los niveles de TRECs, encontramos que nuestra población en general contaba con una tendencia hacia una menor cantidad de estos círculos de escisión respecto a lo reportado en población sana ^{65,66} y que estos se correlacionaban de forma negativa con los meses transcurridos desde la cirugía.

Se han observado diferencias en la afectación de TRECs entre estos grupos por otros autores, quienes han reportado que en pacientes a quienes se les preserva parte del tejido tímico presentan disminución de TRECs aunque en menor proporción que aquellos sometidos a una timectomía total,^{41, 42} en nuestro caso sólo incluimos pacientes con resección de timo y evidencia de falta del mismo en estudio de ultrasonido, por lo que no pudimos evaluar esta diferencia en pacientes con timectomía parcial.

Los resultados aquí plasmados concuerdan con lo reportado por otros autores, lo que incrementa la evidencia de la presencia de alteraciones inmunológicas secundarias a timectomía incidental, principalmente en cuentas linfocitarias y número de TRECs. En lo que respecta a la implicación clínica de estos resultados, nosotros no encontramos un incremento en el número de infecciones u

hospitalizaciones en el grupo sin timo, sin embargo hay que considerar que el mayor tiempo transcurrido desde la cirugía hasta la inclusión al estudio fue de 12 años lo que refleja que al menos en corto tiempo nosotros no encontramos consecuencias clínicas directas. Sin embargo, desconocemos la repercusión a largo plazo que pudieran tener estas alteraciones inmunológicas detectadas en sangre.

El fenotipo inmunosenescente de los pacientes timectomizados se asemeja mucho al que ocurre con el envejecimiento normal. A corto y medio plazo, la infección y la autoinmunidad no parecen incrementar, sin embargo, los datos de seguimiento más largo disponibles en la literatura son de 18 años después de la timectomía⁵² y en pacientes que no tienen del22q11.2.

Sabemos que la timectomía afecta la inmunidad a largo plazo y sabemos también que los pacientes con del22q11.2 poseen desde el nacimiento una inmunidad alterada, sin embargo con este estudio no pudimos demostrar el efecto que tiene la interacción de estas dos condiciones.

A pesar de que la cantidad de pacientes incluidos es pequeña, este estudio es el que cuenta con el mayor número de pacientes con diagnóstico de del22q11.2 en relación a los aspectos inmunológicos estudiados, sin embargo sus limitaciones incluyen además de las ya mencionadas las relacionadas a la naturaleza transversal de la investigación y a la necesidad de recabar información sobre procesos infecciosos de forma retrospectiva.

Los resultados que aquí mostramos, sugieren que se podría seguir subestimado el impacto de la timectomía en la primera infancia. Diversos autores han recomendado preservar la mayor cantidad de tejido tímico durante la cirugía cardíaca^{47,54,62} en pacientes por lo demás sanos y principalmente en pacientes con intervención en la etapa neonatal; si bien en nuestro estudio encontramos sólo una tendencia que apoyaría dicha recomendación, consideramos que sumamos una pequeña porción al entendimiento de las interacciones que se producen en este grupo de pacientes. Tener una investigación exhaustiva para evaluar las consecuencias clínicas de esta práctica, para la detección y clasificación de procesos infecciosos, sería un recurso valioso, al igual que una cohorte para estudiar la función linfocitaria de los sujetos antes y después de la cirugía así como su seguimiento a largo plazo.

Nuestros datos proporcionan datos relevantes sobre el impacto de la cirugía cardiorácica y la timectomía en la primera infancia en pacientes con del22q11.2; la mayoría de los niños con del22q11.2 sobreviven hasta la edad adulta y, por lo tanto, es importante comprender las consecuencias a largo plazo de la timectomía temprana más aún en este grupo de pacientes vulnerables.

Los efectos inmunológicos de la timectomía incidental pueden no ser evidentes hasta varias décadas más tarde pero esto no significa que no estén presentes y pueden imitar una inmunosenescencia fisiológica asociada con un aumento de infecciones, autoinmunidad y neoplasias, aunque mucho tiempo antes de lo esperado.

XVIII. CONCLUSIONES

Los pacientes con del22q11.2 que son sometidos a resección parcial o completa del timo cuentan con una tendencia a menores índices linfocitarios y TRECs respecto aquellos sin cirugía, esto se ve influido principalmente por la edad de la cirugía y el tiempo transcurrido desde la misma. No encontramos diferencias entre ambos grupos en número de hospitalizaciones ni procesos infecciosos reportados en el último año.

XIX. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio cumple con lo estipulado en el título segundo del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud. Según esta ley vigente el estudio corresponde a la categoría II (Investigación con riesgo mayor al mínimo) ya que el obtener una muestra de sangre representa un riesgo agregado a la salud, la información obtenida de los pacientes durante el estudio será mantenida con estricta confidencialidad por los investigadores participantes.

A todos los tutores de los pacientes se les informará sobre los resultados obtenidos en los estudios, a todos aquellos pacientes que cuenten con resultados alterados en las variables estudiadas se les dará seguimiento en la consulta externa del Servicio de Alergia e Inmunología del HIMFG de acuerdo a la normativa de la Institución.

XX. PRODUCTOS OBTENIDOS AL MOMENTO DEL PROTOCOLO

Fellowship award 2014 Sociedad Latinoamericana de Inmunodeficiencias
Presentación del trabajo de Investigación resultados parciales en la 16th biennial meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Praga. Replica Checa. 2014. Cartel
Presentación del trabajo de Investigación en la IV Lasid meeting. Buenos Aires Argentina 2015. Presentación oral.
Presentación del trabajo de Investigación en el LXX Congreso Nacional de Inmunología Clínica y Alergia. Puerto Vallarta 2016. Presentación oral.
Artículo de publicación: Microdeletion 22q11.2 syndrome: Does thymus incidental surgical resection affect its immunological profile? Publicado 2019 Allergol Immunopathol (Madr). 2019;47(2):141-151

XXI. REFERENCIAS

1. Sullivan KE. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome: DiGeorge syndrome/velocardiofacial Syndrome. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2008 May;28(2):353-66
2. Devriendt K, Fryns JP, Mortier G, et al. The annual incidence of DiGeorge/velocardiofacial syndrome. *J Med Genet*. Sep 1998; 35(9): 789–790
3. Botto LD, Kay K, Fernhoff PM, Correa A, et al. A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics*. 2003 Jul;112(1 Pt 1):101-7.
4. Mc Donald McGinn DM, Zackai EH. Genetic counseling for the 22q11.2 deletion. *Dev Disabil Res Rev*. 2008;14(1):69-74
5. Mc Donald-McGinn DM, Tonneen MK, Laufer-Cahana A, et al. Phenotype of the 22q11.2 deletion in individuals identified through an affected relative: cast a wide FISHing net! *Genet Med*. 2001 Jan-Feb;3(1):23-9.
6. Guna A, Butcher NJ, Bassett AS. Comparative mapping of the 22q11.2 deletion region and the potential of simple model organisms *J Neurodev Disord*. 2015;7(1):18.
7. Lindsay EA, Botta A, Jurecic V, et al. Congenital heart disease in mice deficient for the DiGeorge syndrome region. *Nature* 1999; 401: 379-83
8. Taddei I, Morishima M, Huynh T, Lindsay EA. Genetic factors are major determinants of phenotypic variability in a mouse model of the DiGeorge/del22q11.2 syndromes. *Proc Nat Acad Sci USA* 2001; 98: 1428-1431
9. Bassett AS, McDonald-McGinn DM, Devriendt K, Digilio MC, Goldenberg P, Practical guidelines for managing patients with 22q11.2 deletion syndrome. *J Pediatr*. 2011 Aug;159(2):332-9.e1
10. Sullivan KE1. The clinical, immunological, and molecular spectrum of chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2004 Dec;4(6):505-12.
11. Yakut T, Sebnen-Killie S, Esra-Yapici EC and Egeli U. FISH investigation of 22q11.2 deletion in patients with immunodeficiency and/or cardiac abnormalities. *Pediatr Surg Int* 2006; 22:380-383
12. Mc Lean Tooke A, Spickett GP, Gennery AR. Immunodeficiency and autoimmunity in 22q11.2 deletion syndrome. *Scand J Immunol*. 2007 Jul;66(1):1-7.
13. Gennery AR. Immunological aspects of 22q11.2 deletion syndrome. *Cell Mol Life Sci* 2012 Jan;69(1):17-27.
14. Spits H1. Development of alphabeta T cells in the human thymus. *Nat Rev Immunol*. 2002 Oct;2(10):760-72.
15. Zemble R, Luning Prak E, McDonald K, McDonald-McGinn D, Zackai E, Sullivan K. Secondary immunologic consequences in chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Clin Immunol*. 2010 Sep;136(3):409-18

16. Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA. Positive and negative selection of T cells. *Annu Rev Immunol* 2003;21:139–76.
17. Fry TJ, Mackall CL. Current concepts of thymic aging. *Springer Semin Immunopathol.* 2002;24(1):7-22
18. Francis IR, Glazer GM, Bookstein FL, Gross BH. The thymus: reexamination of age-related changes in size and shape. *AJR Am J Roentgenol.* 1985 Aug;145(2):249-54.
19. Moguel NI, Sanchez M, Romero B, Dies P, Valadez Mt. Ultrasonido del timo en niños mexicanos: características cualitativas y cuantitativas. *An Radiol Mex.* 2010 9(2): 69-72
20. Ansari AR, Liu H. Acute Thymic Involution and Mechanisms for Recovery. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2017 Mar 22.
21. Adam EJ, Igotus PI (1993) Sonography of the thymus in healthy children: frequency of visualization, size, and appearance. *Am J Roentgenol* 161:153–155
22. Mong A, Epelman M, Darge K (2012) Ultrasound of the pediatric chest. *Pediatr Radiol* 42:1287–1297
23. Newman B. Ultrasound body applications in children. *Pediatr Radiol.* 2011 Sep;41 Suppl 2:555-61.
24. Coley BD. Chest sonography in children: current indications, techniques, and imaging findings *Radiol Clin North Am.* 2011 Sep;49(5):825-46.
25. Varga I, Uhrinova A, Toth F, Mistinova J. Assessment of the thymic morphometry using ultrasound in full-term newborns. *Surg Radiol Anat.* 2011 Oct;33(8):689-95
26. Hasselbalch H1, Nielsen MB, Jeppesen D, Pedersen JF, Karkov J. Sonographic measurement of the thymus in infants. *Eur Radiol.* 1996;6(5):700-3.
27. Adam EJ and Igotus PI. Sonography of the thymus in healthy children: frequency of visualization, size, and appearance. *American Journal of Radiology* 1993; 161: 153-155
28. Sullivan KE, Jawad AF, Randall P, et al. Lack of correlation between impaired T cell production, immunodeficiency and other phenotypic features in chromosome 22q11.2 deletions syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 84: 141-146
29. McLean-Tooke A, Barge D, Spickett GP, Gennery AR. Immunologic defects in 22q11.2 deletion syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Aug;122(2):362-7, 367.e1-4
30. Lima K, Abrahamsen TG, Foelling I, Natvig S, Ryder LP, Olaussen RW. Low thymic output in the 22q11.2 deletion syndrome measured by CCR9+CD45RA+ T cell counts and T cell receptor rearrangement excision circles *Clin Exp Immunol.* 2010 Jul 1;161(1):98-107
31. Sedivá A, Bartůnková J, Zachová R, Poloucková A, Hrusák O, Janda A, Kocárek E, Novotná D, Novotná K, Klein T. Early development of immunity in diGeorge syndrome. *Med Sci Monit.* 2005 Apr;11(4):CR182-7. Epub 2005 Mar 24

32. Piliero LM¹, Sanford AN, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, Sullivan KE. T-cell homeostasis in humans with thymic hypoplasia due to chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Blood*. 2004 Feb 1;103(3):1020-5. Epub 2003 Oct 2.
33. Chinen J, Rosenblatt HM, Smith EO, Sheare WT, et al. Long-term assessment of T-cell population in DiGeorge syndrome. *J All Clin Immunol* 2003; 111: 573-79
34. Jawad AF, McDonald-McGinn DM, Zackai E, and Sullivan KE. Immunologic features of chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *J Pediatr* 2001;139: 715-723
35. Kohler S, Thiel A. Life after the thymus: CD31+ and CD31- human naive CD4+ T-cell subsets. *Blood*. 2009 Jan 22;113(4):769-74
36. Prelog M, Keller M, Geiger R, Brandstätter A, Würzner R, Schweigmann U, Zlomy M, et al. Thymectomy in early childhood: significant alterations of the CD4(+)CD45RA(+)CD62L(+) T cell compartment in later life. *Clin Immunol*. 2009 Feb;130(2):123-32.
37. Ye P, Kirschner DE. Measuring emigration of human thymocytes by T-cell receptor excision circles. *Crit Rev Immunol*. 2002;22(5-6):483-97.
38. Douek DC, Vescio RA, Betts MR, Brenchley JM, Hill BJ, Zhang L, Berenson JR, et al. Assessment of thymic output in adults after haematopoietic stem-cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. *Lancet*. 2000 May 27;355(9218):1875-81.
39. Rodewald HR. The thymus in the age of retirement. *Nature*. 1998 Dec 17;396(6712):630-1.
40. van der Spek J, Groenwold RH, van der Burg M, van Montfrans JM. TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review. *J Clin Immunol*. 2015 May;35(4):416-30.
41. Halnon NJ, Jamieson B, Plunkett M, Kitchen CM, Pham T, Krogstad P. Thymic function and impaired maintenance of peripheral T cell populations in children with congenital heart disease and surgical thymectomy. *Pediatr Res*. 2005 Jan;57(1):42-8. Epub 2004 Nov 5.
42. Madhok AB, Chandrasekran A, Parnell V, Gandhi M, Chowdhury D, Pahwa S. Levels of recent thymic emigrant cells decrease in children undergoing partial thymectomy during cardiac surgery. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005 May;12(5):563-5.
43. Storek J, Douek DC, Keeseey JC, Boehmer L, Storer B, Maloney DG. Low T cell receptor excision circle levels in patients thymectomized 25-54 years ago. *Immunol Lett*. 2003 Oct 31;89(2-3):91-2
44. Efforts of the human immune system to maintain the peripheral CD8+ T cell compartment after childhood thymectomy
45. Bassett AS, McDonald-McGinn DM, Devriendt K, Digilio MC, et al. Practical guidelines for managing patients with 22q11.2 deletion syndrome. *J Pediatr* 2011; 159(2): 332-339
46. Pérez EE, Bokszczanin A, McDonald-McGinn D, Zackai EH, Sullivan KE. Safety of live viral vaccines in patients with chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Pediatrics* 2003; 112: e325

47. Eysteinsdottir JH, Freysdottir J, Haraldsson A, et al. The influence of partial or total thymectomy during open heart surgery in infants on the immune function later in life. *Clin Exp Immunol.* 2004;136(2):349-355
48. Mancebo E, Clemente J, Sanchez J, Ruiz-Contreras J, De Pablos P, Cortezon S, Romo E, et al. Longitudinal analysis of immune function in the first 3 years of life in thymectomized neonates during cardiac surgery. *Clin Exp Immunol.* 2008 Dec;154(3):375-83
49. Van Gent et al van Gent R, Schadenberg AW, Otto SA, Nievelstein RA, Sieswerda GT, Haas F et al. Long-term restoration of the human T-cell compartment after thymectomy during infancy: a role for thymic regeneration? *Blood* 2011; 118:627–34
50. Sauce D, Larsen M, Fastenackels S, Duperrier A, Keller M, Grubeck-Loebenstein B, Ferrand C, et al. Evidence of premature immune aging in patients thymectomized during early childhood. *J Clin Invest.* 2009 Oct;119(10):3070-8.
51. The Harriet Lane Handbook: The Johns Hopkins Hospital. 19th ed. Editors, Megan M. Tschudy, Kristin M. Arcara. Philadelphia: Elsevier; 2012.
52. Deya-Martinez, A., Flinn, A. M., & Gennery, A. R. (2020). Neonatal thymectomy in children-accelerating the immunologic clock?. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 146(2), 236–243.
53. Palmer, D.B., 2013. The effect of age on thymic function. *Front. Immunol.* 4, 316.
54. Kurobe H, Tominaga T, Sugano M, Hayabuchi Y, Egawa Y, Takahama Y, Kitagawa. Complete but not partial thymectomy in early infancy reduces T-cell-mediated immune response: three-year tracing study after pediatric cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013 Mar;145(3):656-62, 662.e1-2; discussion 662.
55. Franchini A and Ottaviani E. Thymus: Conservation in evolution. *General and Comparative Endocrinology* 246 (2017) 46–50
56. Wang W, Thomas R, Oh J, Su DM. Thymic Aging May Be Associated with COVID-19 Pathophysiology in the Elderly. *Cells.* 2021 Mar 12;10(3):628. doi: 10.3390/cells10030628.
57. Elyahu, Y., & Monsonogo, A. (2021). Thymus involution sets the clock of the aging T-cell landscape: Implications for declined immunity and tissue repair. *Ageing research reviews*, 65, 101231.
58. Gudmundsdottir J, Oskarsdottir S, Skogberg G, Lindgren S, Gudmundsdottir J, Berglund M, et al. Early thymectomy leads to premature immunologic ageing: an 18-year follow-up. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:1439-43.e10
59. Elder RW, George RP, McCabe NM, Rodriguez FH III, Book WM, Mahle WT, Kirk AD. Immunologic Aging in Adults with Congenital Heart Disease: Does Infant Sternotomy Matter? *Pediatr Cardiol.* 2015 Oct;36(7):1411-6. doi: 10.1007/s00246-015-1174-9. Epub 2015 Apr 28.
60. Sauce D, Larsen M, Fastenackels S, Duperrier A, Keller M, Grubeck-Loebenstein B, Ferrand C, et al. Evidence of premature immune aging in patients thymectomized during early childhood. *J Clin Invest.* 2009 Oct;119(10):3070-8.

61. Sauce D, Larsen M, Fastenackels S, Duperrier A, Keller M, Grubeck-Loebenstein B, Ferrand C, et al. Evidence of premature immune aging in patients thymectomized during early childhood. *J Clin Invest*. 2009 Oct;119(10):3070-8.
62. Brearley S, Gentle TA, Baynham MI, Roberts KD, Abrams LD, Thompson RA. Immunodeficiency following neonatal thymectomy in man. *Clin Exp Immunol*. 1987;70(2):322-327
63. Torfadottir H, Freysdottir J, Skaftadottir I, Haraldsson A, Sigfusson G, Ogmundsdottir HM. Evidence for extrathymic T cell maturation after thymectomy in infancy. *Clin Exp Immunol*. 2006; 145(3):407-412
64. Roosen J, Oosterlinck W, Meyns B. Routine thymectomy in congenital cardiac surgery changes adaptive immunity without clinical relevance. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Jan;20(1):101-6.
65. Van der Spek J, Groenwold RH, van der Burg M, van Montfrans JM. TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review. *J Clin Immunol*. 2015 May;35(4):416-30
66. Jyonouchi S, Jongco AM, Puck J, Sullivan KE. Immunodeficiencies Associated with Abnormal Newborn Screening for T Cell and B Cell Lymphopenia. *J Clin Immunol*. 2017 May;37(4):363-374.

XXII. ANEXOS

Anexo 1. Valores de normalidad de Subpoblaciones linfocitarias

Tabla 23. Valores de normalidad. Linfocitos T CD3+			
0-1 mes	2-6 meses	7-24 meses	3-5 años
55-82%	55-82%	55-82%	65-84%
3,000-5,000cel/ μ L	3,000-5,000cel/ μ L	3,000-5,000cel/ μ L	1,200-4,100cel/ μ L
6-10 años	11-15 años	Femenino más de 16 años	Masculino más de 16 años
65-84%	65-84%	59-85%	59-85%
1,200-4,100cel/ μ L	1,200-4,100cel/ μ L	770-4,000cel/ μ L	770-4,000cel/ μ L

Tabla 24. Valores de normalidad. Linfocitos T CD3+ CD4+			
0-1 mes	2-6 meses	7-24 meses	3-5 años
50-57%	50-57%	50-57%	27-57%
2,800-3,900cel/μL	2,800-3,900cel/μL	2,000-4,000cel/μL	560-2,700cel/μL
6-10 años	11-15 años	Femenino más de 16 años	Masculino más de 16 años
27-57%	42-58%	42-58%	42-58%
560-2,700cel/μL	560-2,700cel/μL	546-2,900cel/μL	546-2,900cel/μL

Tabla 25. Valores de normalidad. Linfocitos T CD3+ CD8+			
0-1 mes	2-6 meses	7-24 meses	3-5 años
8-31%	8-31%	8-31%	14-34%
350-2,500cel/μL	350-2,200cel/μL	350-2,200cel/μL	330-2,200cel/μL

6-10 años	11-15 años	Femenino más de 16 años	Masculino más de 16 años
14-34%	14-34%	17-33%	17-33%
330-1,800cel/μL	330-1,800cel/μL	220-1,650cel/μL	220-1,650cel/μL

Anexo 2. Hoja de recolección de datos pacientes a incluir en el estudio

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Médico que llena los datos _____ Fecha _____

1. NOMBRE: : _____
 1. 22q11
 - i. Si _____
 - ii. Control _____
 2. Dirección _____
 3. Cardiopatía
 - i. Si _____
 - ii. No _____
 - iii. Tipo de Cardiopatía _____
 4. Operado
 - i. Si _____ iii. Fecha Qx _____
 - ii. No _____
 5. Hoja quirúrgica _____
2. REGISTRO: _____
 3. TELÉFONO 1 _____
 4. Edad en meses: _____
 5. Fecha de nacimiento _____
 6. Fecha de hoy _____
 7. Peso a la inclusión _____
 8. Talla a la inclusión _____
 9. IMC a la inclusión _____
 10. Informante:
 1. PADRE _____
 2. MADRE _____
 3. OTRO _____
 11. ¿Alguna vez ha estado hospitalizado su hijo por infección?
 1. SI _____
 2. No _____
 3. Cuántas veces _____
 12. Llene el siguiente cuadro:

Hospitalizaciones	Edad en meses	Tiempo de estancia	Motivo
1			1. Infección de vías respiratorias 2. Infección gastrointestinal 3. Infección de la piel 4. Meningitis 5. Infección de vías urinarias 6. Infecciones en otro órgano 7. Aislamiento
2			1. Infección de vías respiratorias 2. Infección gastrointestinal 3. Infección de la piel 4. Meningitis 5. Infección de vías urinarias 6. Infecciones en otro órgano 7. Aislamiento
3			1. Infección de vías respiratorias 2. Infección gastrointestinal 3. Infección de la piel 4. Meningitis 5. Infección de vías urinarias 6. Infecciones en otro órgano 7. Aislamiento
4			1. Infección de vías respiratorias 2. Infección gastrointestinal 3. Infección de la piel 4. Meningitis 5. Infección de vías urinarias 6. Infecciones en otro órgano 7. Aislamiento

13. ¿Cuántas infecciones de vías respiratorias superiores (gripa, faringitis, faringoamigdalitis) ha tenido su hijo en el último año? _____

14. ¿Cuántos eventos de diarrea a tenido su hijo(a) en el último año? _____

Anexo 3. Técnica para la identificación y recuentos absolutos de linfocitos humanos T (CD3⁺), (CD3⁺CD4⁺) y (CD3⁺CD8⁺) en sangre total.

A partir de una muestra de 1 mL recolectada en tubo anticoagulado con EDTA se realizará el siguiente procedimiento: el reactivo MultiTEST CD3 conjugado a isotiocianato de fluoresceína (FITC), CD8 conjugado a ficoeritrina (PE), CD45 conjugado a la proteína peridín clorofila (PerCP) y CD4 conjugado a alofocianina (APC) es un reactivo de inmunofluorescencia directa de cuatro colores para usarlo con un citómetro de flujo debidamente equipado para la identificación y determinación de los porcentajes y recuentos absolutos de linfocitos humanos T maduros (CD3⁺), y las sub-poblaciones de linfocitos T supresores/citotóxicos (CD3⁺CD8⁺) y de colaboradores/inductores (CD3⁺/CD4⁺) en sangre entera con los eritrocitos lisados. Se utiliza con los tubos TruCOUNT los recuentos absolutos de estas poblaciones y se pueden enumerar en un solo tubo.

Material y reactivos

1. Reactivo: MultiTEST CD3 FITC, CD8 PE, CD45 PerCP, CD4 AP (BD No. de catálogo 340491)
2. Solución lisante FACS (1X)
3. Tubos VACUTAINER K3 EDTA para recolección de sangre
4. Agitador VORTEX
5. Micropipeta con puntas
6. Líquido de revestimiento (FACSFlow BD), No de catálogo 340398
Controles TruCOUNT (BD No de catálogo 340335)
7. Citómetro de flujo: Modelo FacsCalibur 4 colores de Becton Dickinson. C

Técnica de tinción

- 1) Para cada muestra de paciente (1 mL de sangre completa), se debe rotular un tubo de TruCOUNT (se debe verificar que el sedimento de microesferas del TruCOUNT este intacto y dentro del retenedor metálico al fondo del tubo)
- 2) Pipetear 20 µL del reactivo TriTEST CD3/CD8/CD45/CD4 al fondo del tubo.
- 3) Pipetear 50µL de sangre entera anticoagulada bien mezclada al fondo del tubo. NOTA: Se debe evitar que la sangre descienda por las paredes del tubo. Si se queda sangre entera en las paredes del tubo, no se teñirá con el reactivo.
- 4) Tapar el tubo y agitarlo suavemente en el Vortex para que se mezcle. Incubar durante 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (20° a 25°C)
- 5) Agregar 450 µL de solución lisante FACS 1x al tubo.
- 6) Tapar el tubo y agitarlo suavemente en el Vortex para que se mezcle. Incubar por 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (20° a 25°C). La muestra esta lista para ser analizada en el citómetro de flujo.

Anexo 4. Cuantificación de círculos de escisión del receptor de linfocitos t (trecs) por PCR en tiempo real.

Purificación de DNA.

- La muestra de 5 mL de sangre con EDTA se centrifuga a 3000 rpm durante 20 minutos.
- Se colecta la capa de leucocitos con ayuda de una pipeta pasteur y se colecta en un tubo de fondo cónico de 15 mL nuevo.
- Se agregan 6 mL de la disolución para lisar eritrocitos y se agita vigorosamente en un agitador vortex durante 2 minutos.
- Terminada la agitación se centrifuga el tubo durante 10 min a 3500 rpm.
- Se elimina el sobrenadante y se agregan 500 μ L de la disolución para lisar eritrocitos se agita en vortex hasta resuspender el botón de células.
- Se agregan 3 mL de disolución de lisis de leucocitos y 20 μ L de proteinasa K (10mg/mL), se agita vigorosamente en agitador vortex durante 1 minuto y se deja incubar durante 2 horas a 55 °C.
- Agregar 1 mL de disolución para precipitar proteínas agitar por inversión durante 20 segundos el tubo e incubar en el congelador durante 10 minutos.
- Concluída la incubación centrifugar el tubo a 3500 rpm durante 10 minutos y coleccionar el sobrenadante y colocarlo en un tubo de fondo cónico de 15 mL nuevo y limpio.
- Precipitar el DNA agregando isopropanol al 100% en una relación 1:1.
- Agitar por inversión el tubo hasta que se observen las fibras del DNA y centrifugar durante 5 minutos a 3500 rpm.
- Decantar el sobrenadante y dejar secar el DNA a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Para lavar el DNA agregar 1,4 mL de etanol al 70% y trasladar el DNA a un tubo para microcentrifuga de 1,5 mL nuevo y limpio.
- Agitar por inversión durante 10 minutos y luego centrifugar por 10 minutos a 12 000 rpm eliminando el sobrenadante al concluir la centrifugación.
- Realizar un lavado más y dejar secar durante 8 minutos a temperatura ambiente.
- Una vez seco el DNA resuspenderlo en 300 μ L de regulador Tris/EDTA (TE) pH=8,0, homogenizarlo con ayuda de una micropipeta.
- Cuantificar y determinar la pureza del DNA por espectrofotometría tomando las lecturas a 260, 280 y 230 nm.
- Finalmente almacenar a 4°C hasta su uso.

Cuantificación de TRECs por PCR tiempo real.

Para las reacciones de PCR tiempo real se implementarán un ensayo doble para determinar simultáneamente la expresión del gen control/normalizador β -actina y los TRECs.

Las mezclas de reacción se prepararán de acuerdo a la siguiente tabla.

Tabla 26. Mezcla de reacción para la cuantificar por PCR tiempo real β -actina y TRECs.

Reactivo	Concentración	Vol. (μ L)
Master Mix	2x	12.5
Iniciador β -actina F	20 pmol	1
Iniciador β -actina R	20 pmol	1
Iniciador TRECs F	20 pmol	1
Iniciador TRECs R	20 pmol	1
Sondas TaqMan	20 pmol	1,5
DNA	----	50 ng
H ₂ O	c.b.p.	25 μ L

c.b.p.= cuanto baste para alcanzar el volumen indicado.

H₂O= agua

El programa de PCR se describe a continuación en la siguiente tabla:

Tabla 27. Programa de PCR para amplificar al gen de β -actina y TRECs.

Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Ciclos
95	600	1
95	15	45
60	60	
60	60	1
4	∞	1

Para cuantificar TRECs y β -actina se montarán las muestras por triplicado de cada paciente y se usarán los valores de Ct promedio para referir dicho valor a la curva de calibración y así obtener el número de copias de TRECs y β -actina de cada muestra.

Para normalizar los valores de la cuantificación de TRECs se calculará el radio de TRECs de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Radio}_{\text{TRECs}} = \text{Copias}_{\text{TRECs}} / \text{Copias}_{\beta\text{-actina}}$$

Anexo 5. Carta de consentimiento informado



Carta de consentimiento informado

Proyecto de investigación:

Perfil inmunológico de pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica y su relación con la frecuencia de procesos infecciosos.

Estimado madre y/o padre:

Por medio de esta carta, lo invitamos a participar en el estudio mencionado arriba, ya que su hijo(a) tiene diagnóstico de síndrome de del22q11.2. Usted debe saber que la participación en esta investigación es totalmente voluntaria, de manera que usted puede decidir no participar en mismo y en este caso no perdería ninguna prestación a la que tiene derecho en nuestro hospital.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Los pacientes con síndrome de del22q11.2 pueden tener diversas alteraciones como son las malformaciones del corazón, alteraciones para hablar y tragar o ingerir alimentos, malformaciones del paladar, etc. Los pacientes con dicho síndrome también pueden presentar una afectación del sistema de defensa de grado variable que les provoque infecciones recurrentes de las vías aéreas, lo cual es debido a un desarrollo inadecuado del timo, el cual es un órgano fundamental para el desarrollo y maduración de varias células del sistema de defensa de nuestro organismo.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

La presente investigación pretende conocer el perfil inmunológico de pacientes con delección 22q11.2 con timo comparandola con pacientes con delección 22q11.2 sin timo por resección quirúrgica para entender mejor la interacción entre estos dos eventos y si existe una afectación a la inmunidad de su hijo (a)-.

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

Para este estudio necesitamos realizarle al (la) paciente una serie de preguntas relacionadas a las infecciones de las vías respiratorias durante el último año y un examen físico completo. Además, se le tomará una muestra de sangre y un estudio de ultrasonido del timo.

Las muestras serán obtenidas mediante el siguiente procedimiento:

Obtención de la muestra sanguínea.

1. Se explica detalladamente el procedimiento al paciente y/o familiar.
2. Bajo condiciones higiénicas óptimas, se coloca el brazo extendido y se selecciona la vena por palpación preferentemente en el antebrazo.
3. Se tomarán 7ml de sangre aproximadamente.
4. La muestra sanguínea será almacenada a temperatura ambiente para su análisis posterior de las células del sistema de defensa.

Riesgos y molestias

Los posibles riesgos de la toma de muestra sanguínea son molestia leve en el sitio de punción, formación de moretones, hemorragia, infección o cicatriz. En caso de presentarse algún daño causado por la investigación, los costos del tratamiento serán cubiertos por el fondo asignado a la misma.

Ultrasonido del timo

Es un estudio de imagen que se realiza en el departamento de Radiología de nuestro hospital, por parte de médicos certificados en el mismo y consiste en la medición del timo mediante un equipo de ultrasonido a nivel de la parte anterior del tórax. Se le pedirá a su hijo(a) que se acueste, que se descubra la parte superior del pecho y mediante un pequeño aparato que se aplica en la superficie de la piel y gel se le harán las mediciones del timo.

Riesgos y molestias

El ultrasonido no causa ninguna molestia o dolor, ni tampoco significa una fuente de radiación, por lo cual es un procedimiento prácticamente libre de incomodidades.

BENEFICIOS

Su colaboración permitirá obtener conocimiento del grado de afectación de varias células del sistema inmunológico de su hijo (a) y tal vez ayudará a otras familias que presenten problemas similares en un futuro, y en caso que lo amerite, permitiría su inicio de tratamiento oportuno. Debido a que la información que se recabe es absolutamente confidencial y con fines de investigación, usted debe saber que no daremos a conocer ninguna información acerca de su hija(o), sin su consentimiento.

COSTOS

La toma de muestras de sangre, el ultrasonido del timo, así como cualquier consulta que usted tenga con el médico para hablar del estudio de investigación no tendrán ningún costo.

Usted tiene la garantía de recibir respuesta a sus preguntas y aclaración a cualquier duda acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación. Si este fuera el caso, deberá comunicarse con los médicos responsables (Dra. Elsy Maureen Navarrete Rodríguez y Dra. Blanca del Rio Navarro) de la investigación, teléfono 52 28 99 17 ext. 2150 (oficina de Alergia). Además, en caso de aceptar de participar en el protocolo usted puede dejar de hacerlo en cualquier momento durante la realización del mismo, sin que se vea afectado su derecho de recibir atención en nuestra institución.

Los resultados del estudio serán proporcionados al familiar responsable en forma oportuna, a pesar de que podría alterar su voluntad para continuar participando en el mismo.

Le sugerimos que conserve una copia de este documento para consultarla si es necesario.

Por este medio, _____ otorgo mi consentimiento para participar en el estudio, sin que haya de por medio coerción alguna.

México, D.F. a _____ de _____ de _____

Nombre y firma de la Madre

Nombre y firma del Padre

Nombre y firma de testigo 1
Parentesco con el paciente

Nombre y firma del investigador
Responsable

Nombre y firma de testigo 2
Parentesco con el paciente

Anexo 6. Carta de Asentimiento informado



Carta de asentimiento informado para pacientes

Proyecto de investigación:

Perfil inmunológico de pacientes con delección 22q11.2 con timo y sin timo por resección quirúrgica y su relación con la frecuencia de procesos infecciosos.

Estimado paciente:

Por medio de esta carta, te invitamos a participar en el estudio mencionado arriba, debes saber que participar en esta investigación es totalmente voluntario, por lo que si decide no participar no habrá ningún problema.

Ninguna información será dada a nadie sin tu consentimiento.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Los pacientes con la enfermedad que tu tienes, pueden tener problemas con sus defensas y enfermarse constantemente de la garganta, además hay algunos niños que posterior a la cirugía del corazón pueden tener mas problemas de infecciones.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Queremos conocer comparar como funcionan las defensas con pacientes con tu enfermedad que hayan sido operadas del corazón vs otras que no, para entender mejor como funcionan las defensas en esta enfermedad.

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

Necesitamos preguntarte algunas cosas sobre las infecciones que te dan y si has estado hospitalizado, te revisaremos completamente y te tomaremos una muestra de sangre de 7ml y un estudio de ultrasonido del timo.

Riesgos y molestias

Los posibles riesgos de la toma de la sangre son molestia leve en el sitio de punción, formación de moretones, hemorragia, infección o cicatriz.

Ultrasonido del timo

En este estudio te pedirán que te acuestes y descubras la parte superior del pecho y mediante la aplicación de un pequeño aparato en la superficie de la piel y gel se te harán las mediciones del timo.

Riesgos y molestias

El ultrasonido no causa ninguna molestia o dolor.

BENEFICIOS

Tu colaboración permitirá conocer como están tus defensas y ayudará tanto a ti en el caso que lo necesites como a más pacientes con tu misma enfermedad.

COSTOS

La toma de muestras de sangre, el ultrasonido del timo, así como cualquier consulta no tendrán ningún costo.

Si tienes alguna duda puedes comunicarte con los médicos responsables de la investigación (Dra. Elsy Maureen Navarrete Rodríguez y Dra. Blanca del Rio Navarro) al teléfono 52 28 99 17 ext. 2150 (Oficina de Alergia). Además, en caso de aceptar su participación en el protocolo tú puedes dejar de participar en cualquier momento durante la realización del mismo, sin que se vea afectado tu derecho de recibir atención en nuestra institución.

Te sugerimos que conserves una copia de este documento para consultarla si es necesario.

He leído las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutir las y de hacer preguntas.

Por este medio, _____ otorgo mi asentimiento para participar en el estudio.

México, D.F. _____ **de** _____ **de** _____

Nombre y firma del paciente _____

Nombre y firma de la Madre

Nombre y firma del Padre

Nombre y firma de testigo 1
Parentesco con el paciente

Nombre y firma de testigo 2
Parentesco con el paciente

Nombre y firma del investigador
Responsable
