Universidad De Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Bioguímica y Biología Molecular



CARACTERIZACIÓN DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS Y DE CÉLULAS NK EN ADULTOS CON NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO

PABLO ANTONIO CORREA MUÑOZ

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIOQUÍMICO

Profesor Patrocinante: Profesor Guia:

Dr. Javier Puente Piccardo Dra. Vivian Luchsinger Farias

Santlago, Chile

Mayo, 2014

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	
Abreviaturas	IV
Índice General	V
Tabla de Contenido	VI
Índice de Tablas	IX
Índice de Figuras	XI
Resumen	XIII
Abstract	XIV

TABLA DE CONTENIDO

I INTRODUCCIÓN	1
1.1 Neumonia Adquirida en la Comunidad: Generalidades	1
1.2 Etiologia	1
1.3 Cuadro Clínico	2
1.4 Estratificación de los Grupos de Riesgo	2
1.5 Respuesta Inmune: Generalidades	3
1.6 Enfermedades Respiratorias y Respuesta Inmune	5
II HIPÔTESIS	7
III OBJETIVOS	7
3.1 Objetivo General	7
3.2 Objetivos Especificos	7
IV MATERIALES Y MÉTODOS	8
4.1 Pacientes	8
4.2 - Muestras	9
4.3 Estudio Microbiológico	10
4.4 Estudio inmunológico	10
4.4.1 Protocolo Tinciones Extracelulares	11
4.4.2 Protocolo Tinciones Intracelulares	12
4.5 Análisis Estadistico	14
4.6 Aprobación Comité de Ética y Bioseguridad	14
V RESULTADOS	15
5.1 Parametros Demográficos y Etiológicos	15

5.2 Subpoblaciones Celulares Sanguineas Periféricas1	8
5.2.1 Subpoblaciones leucocitarias1	8
5.2.2 Subpoblaciones de linfocitos T CD8+, T CD4+ y	
T reguladoras2	26
5.2.3 Subpoblaciones células NK activadas	Н
5.2.4 Subpoblaciones células NK Inactivadas	15
VI DISCUSIÓN	39
VII CONCLUSIONES4	46
VIII REFERENCIAS	47
IX - ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.- Índice de Severidad de Neumonia o Pneumonia Severity Index (PSI).
- Tabla 2.- Marcadores utilizados para la determinación de subpoblaciones linfocitarias.
- Tabla 3.- Anticuerpos utilizados en la marcación para citometria de flujo de los tubos del protocolo de tinciones extracelulares.
- Tabla 4.- Datos demográficos de 68 adultos con NAC y 22 adultos asintomáticos, 2012-2013.
- Tabla 5.- Antecedentes clínicos de 68 pacientes con NAC y 22 adultos asintomáticos, 2012-2013.
- Tabla 6.- Antecedentes clínicos de adultos con NAC de acuerdo a defección de virus y/o neumococo y gravedad de la enfermedad. 2012-2013.
- Tabla 7.- Detección de virus respiratorios y S.pneumoniae en 56 adultos con NAC, 2012-2013
- Tabla 8.- Recuentos y proporciones de células biancas sanguineas de 68 adultos con NAC y 22 voluntarios asintomáticos. Santiago, 2012-2013.
- Tabla 9.- Recuentos y proporciones de células biancas sanguineas de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave. Santiago, 2012-2013.
- Tabla 10.- Subpoblaciones de linfocitos T citotóxicos, T ayudadores y T reguladores en sangre de 68 adultos con NAC y de 22 voluntarios asintomáticos determinadas por citometria de flujo, Santiago, 2012- 2013.
- Tabla 11.- Subpoblaciones de linfocitos T citotóxicos, T ayudadores y T reguladores en sangre de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave determinadas por citometria de flujo, Santiago, 2012- 2013.
- Tabla 12.- Subpoblaciones de células NK activadas en sangre de 68 adultos con NAC y de 22 voluntarios asintomáticos determinadas por citometria de flujo, Santiago, 2012-2013.
- Tabla 13.- Subpoblaciones de células NK activadas en sangre de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave determinadas por citometria de flujo, Santiago, 2012-2013.

Tabla 14.- Subpoblaciones de células NK Inactivadas en sangre de 68 adultos con NAC y de 22 voluntarios asintomáticos determinadas por citometria de flujo, Santiago, 2012-2013.

Tabla 15.- Subpoblaciones de células NK inactivadas en sangre de 29 pacientes con NAC leve y 39 pacientes con NAC grave determinadas por citometria de flujo, Santiago, 2012- 2013.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.- Recuento de leucocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos de 68 pacientes con NAC y 22 adultos asintomáticos.
- Figura 2.- Proporciones de linfocitos, monocitos y granulocitos de 68 pacientes con NAC y 22 adultos asintomáticos.
- Figura 3.- Recuento de leucocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos de 58 adultos con NAC y agente detectado y 10 sin detección de agente.
- Figura 4.- Proporciones de linfocitos, monocitos y granulocitos de 58 adultos con NAC y agente detectado y 10 sin detección de agente.
- Figura 5.- Recuento de leucocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave.
- Figura 6.- Proporciones de linfocitos, monocitos y granulocitos totales de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave.
- Figura 7.- Proporciones de células T CD8+, T CD4+ y T reguladoras de 68 pacientes con NAC y 22 adultos asintomáticos.
- Figura 8.- Proporciones de células T CD8+, T CD4+ y T reguladoras de 58 adultos con NAC y agente detectado y 10 sin detección de agente.
- Figura 9.- Proporciones de células T CD8+, T CD4+ y T reguladoras de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave.
- Figura 10.- Proporciones de células NK activadas CD56+/NKG2D+ y CD94+/NKG2D+ de 68 pacientes con NAC y 22 adultos asintomáticos.
- Figura 11.- Proporciones de células NK activadas CD56+/NKG2D+ y CD94+/NKG2D+ de 58 adultos con NAC y agente detectado y 10 sin detección de agente.
- Figura 12.- Proporciones de células NK activadas CD56+/NKG2D+ y CD94+/NKG2D+ de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave.
- Figura 13.- Proporciones de células NK inactivadas CD56+/158b+, CD56+/CD161+ y CD94+/NKG2A+ de 68 pacientes con NAC y 22 adultos asintomáticos.
- Figura 14.- Proporciones de células NK Inactivadas CD56+/158b+, CD56+/NKG2A+ y CD94+/NKG2A de 58 adultos con NAC y agente detectado y 10 sin detección de agente.

Figura 15.- Proporciones de células NK Inactivadas CD56+/158b+, CD56+/CD161+ y CD94+/NKG2A+ de 28 pacientes con NAC leve y 40 pacientes con NAC grave.