

REVISTA LATINOAMERICANA DE ACTUALIDADES BIOMEDICAS

REVLAB

CUERPO EDITORIAL

**Editores Asociados
(Orden alfabético)**

Castillo Navarrete, Juan Luis;
Tecnólogo Médico, MsC, Dpto.
Especialidades Médicas, Facultad de
Medicina, Universidad de Concepción.

Castillo Navarrete, Marcelo; Tecnólogo
Médico, MsC(c), Dpto. Especialidades
Médicas, Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

Kawaguchi P., Fernando; Médico
Cirujano, PhD, Dpto. Medicina Interna,
Facultad de Medicina, Universidad de
Concepción.

Venegas Rojas, Oscar; Médico
Cirujano, Dpto. Pediatría, Facultad de
Medicina, Universidad de Concepción.

**Comité Editorial Asesor
(Orden alfabético)**

Aguayo Tapia, Claudio; Tecnólogo
Médico, PhD, Facultad de Farmacia,
Universidad de Concepción.

Araneda Cartes, Heriberto; Tecnólogo
Médico, PhD, Dpto. Obstetricia y
Ginecología, Facultad Medicina,
Universidad de Concepción.

Bello Toledo, Helia; Bioquímico, PhD,
Dpto. Microbiología, Facultad Ciencias
Biológicas, Universidad de Concepción.

Cabrera Nuñez, Alex, Médico
Veterinario, MsC(c), Dpto.
Microbiología, Facultad de Ciencias
Biológicas, Universidad de Concepción.

Calvo Monfil, Carlos; Bioquímico,
Facultad de Farmacia, Universidad de
Concepción.

Domínguez Y., Mariana; Bioquímico,
MsC, Dpto. Microbiología, Facultad
Ciencias Biológicas, Universidad de
Concepción.

García Cancino, Apolinaria;
Bioquímico, PhD, Dpto. Microbiología,
Facultad de Ciencias Biológicas,
Universidad de Concepción.

González Riquelme, Margarita;
Bioquímico, Facultad de Farmacia,
Universidad de Concepción.

González Rocha, Gerardo; PhD. Dpto.
Microbiología, Facultad de Ciencias
Biológicas, Universidad de Concepción.

Gutiérrez Sandoval, Ramón; Médico
Cirujano, Anatomopatológico,
Laboratorio de Anatomía patológica,
Bioclas.

Lamperti Fernández, Liliana;
Bioquímico, MsC, Facultad de
Farmacia, Universidad de Concepción.

Lecannelier Franzoy, Eduardo; Médico
Cirujano, Cardiólogo, Dpto. Medicina
Interna, Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

León Valdés, Hernán; Fonoaudiólogo,
Mag. Leng., Dpto Especialidades
Médicas, Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

Loyola Brambilla, Marco; TM
Morfocitopatología y Citodiagnóstico,
Dpto. Especialidades Médicas,
Facultad de Medicina, Universidad de
Concepción.

Madariaga Boero, Jaime; Médico
Cirujano, Anatomopatológico, Facultad
de Medicina, Universidad de
Concepción.

Oñate C., Ángel; Lic. Ciencias, PhD,
Dpto. Microbiología, Fac. Cs.
Biológicas, Universidad de Concepción.

Ortiz Ruiz, Patricio; Médico Cirujano,
Dpto. Medicina interna, Facultad
Medicina, Universidad de Concepción.

Padilla, Carlos; Tecnólogo Médico,
MsC, Dirección Investigación,
Universidad de Talca.

Palomo González, Iván; Tecnólogo
Médico, PhD, Universidad de Talca.

Pereira Chandía, Paulina; Tecnólogo
Médico, Centro Diagnóstico
Oncoinmunológico Limitada

Quevedo, Iván; Médico Cirujano,
Endocrinólogo, Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

Rivera Fuentes, Nancy; Tecnólogo
Médico, MsC (c), Dpto. Especialidades
Médicas, Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

Rodríguez Alister, Marcela; Médico
Cirujano, Psiquiatra.

Rudolph, Isolde; PhD, Facultad de
Ciencias Biológicas, Universidad de
Concepción.

Sanhueza Alvarado, Olivia; Enfermera,
PhD, Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

Torres Aguayo, Alexandra; Enfermera
PhD, Dpto. Información en Salud,
Servicio Salud Concepción.

Trabal Fernández, Natalia; Lic.
Ciencias, MsC, Dpto. Especialidades
Médicas, Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

Troncoso, Mónica; TM Oftalmología,
Dpto. Especialidades Médicas,
Facultad de Medicina, Universidad de
Concepción.

Ulloa M., Natalia; Bioquímico MsC,
Dpto. Bioquímica Clínica e
Inmunología, Facultad de Farmacia,
Universidad de Concepción.

Urrutia Briones, Homero; Biólogo, PhD,
Centro de Biotecnología, U. de
Concepción.

Valenzuela Suazo, Sandra; Enfermera,
PhD., Facultad de Medicina,
Universidad de Concepción.

Venegas Villalobos, Guillermo; Médico
Cirujano, Pediatra, Dpto. Pediatría,
Facultad Medicina, Universidad de
Concepción.



INDICE TEMATICO

Cuerpo Editorial	<i>i</i>
Índice Temático	<i>ii</i>
Instrucciones a los Autores	<i>iii - iv</i>
Editorial: Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas	Página 1
Esofagitis como manifestación de enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE): estudio de prevalencia y tendencia años 2002-2006. <i>Ortiz, P., Aruta C. Bustos, R., Giacaman, A.</i>	Página 2-5
Expresión de CD63 en basófilos como indicador de degranulación inducida por látex, diclofenaco sódico o ácido acetilsalicílico <i>Fernández, P., Chaparro P., Pereira, P., Castillo, JL.</i>	Página 6-10
Frecuencia del genotipo ccr5δ32 en mujeres seronegativas de bajo riesgo para VIH, atendidas en el Hospital Naval de Talcahuano, Chile. <i>Torres, CA., Mora, E., Venegas, O., Castillo, JL., Quevedo, I., Castillo, M.</i>	Página 11-15



Instrucciones a los autores

Forma y preparación de manuscritos:

Los trabajos enviados a **Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas (REVLAB)** deberán ajustarse a las siguientes instrucciones, preparadas en base al estilo y naturaleza de **Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas (REVLAB)** y los "Requisitos Uniformes para los Manuscritos Sometidos a Revistas Biomédicas", establecidos por el International Committee of Medical Journal Editors, actualizados en febrero de 2006 en el sitio WEB www.icmje.org. Se dispone de la traducción al castellano de una versión previa en www.wame.org.

1. El trabajo debe ser escrito en tamaño carta (21,5 x 27,5 cm), con un margen de al menos 3 cm en los 4 bordes, numerando todas las páginas en el ángulo superior derecho, empezando por la página del título.
2. deberá usarse un espaciado 1,5 líneas; con letra Times (12 pt) y justificado a la izquierda.
3. Las Figuras que muestren imágenes (radiografías, histología, etc.) deben entregarse en copias de calidad fotográfica.
4. Se entregarán en las oficinas del Centro de Diagnóstico Oncoinmunológico Ltda., ubicado en Cardenio Avello 36, Hospital del Trabajador, Concepción., tres ejemplares idénticos de todo el texto, con las Referencias, Tablas y Figuras, acompañados por una copia en CD o en su defecto, ser remitidas online al email: *por definir*
5. Deberá mostrarse, al pie de la página del título, un recuento computacional de palabras (contadas desde el comienzo de la Introducción hasta el término de la Discusión, excluyendo la página de título, el Resumen, los Agradecimientos, las Referencias, Tablas y Figuras).
6. En cuanto a la longitud de los escritos, estos no deben sobrepasar:
 - 6.1. Las 2.500 palabras, en el caso de los Artículos de Investigación.
 - 6.2. Las 3.000 palabras, en el caso de Artículos de Revisión.
 - 6.3. Las 1.500 palabras, en el caso de Casos Clínicos, pudiendo agregárseles hasta 2 Tablas y Figuras y no más de 20 referencias.
 - 6.4. Las 1.000 palabras, en el caso de Cartas a la Editorial, pudiendo agregárseles hasta 6 referencias y 1 Tabla o Figura.
7. Los Artículos de Investigación deben dividirse en secciones tituladas:
 - 7.1. Introducción
 - 7.2. Material y Método
 - 7.3. Resultados
 - 7.4. Discusión.
 - 7.5. Referencias

8. Otros tipos de artículos, tales como Artículos de Revisión y los Casos Clínicos, pueden acomodarse mejor a otros formatos pero deben ser aprobados por los Editores.
9. El ordenamiento de cada trabajo será el siguiente (iniciadas en nuevas páginas):

9.1. *Página del Título:* Es la primera página del manuscrito y debe contener:

- 9.1.1. El título del trabajo, que debe ser conciso pero informativo sobre el contenido central de la publicación.
- 9.1.2. Él o los autores identificándolos con su nombre de pila y apellido paterno. El uso del apellido materno o su inicial es del arbitrio de cada autor (se recomienda a los autores escribir su nombre con un formato constante, en todas sus publicaciones en revistas indexadas en el Index Medicus y otros índices internacionales).
- 9.1.3. El nombre de la o las Secciones, Departamentos, Servicios e Instituciones a las que perteneció cada autor durante la ejecución del trabajo, debe identificarse con número en superíndice al término de cada nombre de autor.
- 9.1.4. Con letras minúsculas en superíndices identifique el título profesional o la calidad de alumno o de cada uno de los autores.
- 9.1.5. Nombre y dirección del autor con quien establecer correspondencia. Debe incluir su número de fax y correo electrónico.
- 9.1.6. Si existió fuente de apoyo financiero, esta debe indicarse (en forma de subsidio de investigación (grants), equipos, drogas, o todos ellos). Debe declararse toda ayuda financiera recibida, especificando si la organización que la proporcionó tuvo o no tuvo influencia en alguna de las etapas del manuscrito.
- 9.1.7. Al pie de la página del título coloque el recuento computacional de palabras, según explicitado previamente en (ver número).

9.2. *Resumen:* La segunda página debe contener un resumen:

- 9.2.1. De no más de 250 palabras.
- 9.2.2. Que describa los propósitos del estudio o investigación, el material y métodos empleados, los resultados principales y las conclusiones más importantes.
- 9.2.3. Se recomienda utilizar el modelo de resumen estructurado.
- 9.2.4. No emplee abreviaturas no estandarizadas.



- 9.2.5. Se recomienda a los autores que proporcionen su propia traducción del resumen al inglés, con la respectiva traducción del título del trabajo.
- 9.2.6. **Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas (REVLAB)** hará dicha traducción para quienes no estén en condiciones de proporcionarla.
- 9.2.7. Los Editores podrán modificar la redacción del resumen entregado por los autores si estiman que ello beneficiará su difusión, pero solicitarán su aprobación a los autores.
- 9.2.8. Los autores pueden proponer 3 a 5 «palabras clave», las cuales deben ser elegidas en la lista del Index Medicus (Medical Subjects Headings), accesible en www.nlm.nih.gov/mesh/.
- 9.3. *Introducción:*
- 9.3.1. Resuma la racionalidad del estudio y exprese claramente su propósito.
- 9.3.2. Cuando sea pertinente, haga explícita la hipótesis cuya validez pretendió analizar.
- 9.3.3. No revise extensamente el tema y cite sólo las referencias bibliográficas que sean estrictamente atinentes a su propio estudio.
- 9.4. *Material y Método*
- 9.4.1. Describa la selección de los sujetos estudiados, ya sea pacientes o animales de experimentación, muestras de órganos, tejidos, células, microorganismos, etc., y sus respectivos controles.
- 9.4.2. Identifique los métodos, instrumentos o aparatos y procedimientos empleados, con la precisión adecuada para permitir a otros observadores que reproduzcan sus resultados.
- 9.4.3. Si se emplearon métodos bien establecidos y de uso frecuente (incluso métodos estadísticos), límitese a nombrarlos y cite las referencias respectivas.
- 9.4.4. Cuando los métodos han sido publicados pero no son bien conocidos, agregue una breve descripción y proporcione las referencias pertinentes.
- 9.4.5. Si se trata de métodos nuevos o aplicó modificaciones a métodos establecidos, describalas con precisión, justifique su empleo y enuncie sus limitaciones.
- 9.4.6. De efectuarse ensayos en seres humanos, explicita si los procedimientos respetaron normas éticas concordantes con la Declaración de Helsinki (actualizada en 2000) y si fueron revisados y aprobados por un comité ad hoc de la institución en que se efectuó el estudio.
- 9.4.7. Los estudios en animales de experimentación deben acompañarse de la aprobación por el comité de ética respectivo.
- 9.4.8. Identifique los fármacos y compuestos químicos empleados, con su nombre genérico, sus dosis y vías de administración.
- 9.4.9. Identifique a los pacientes mediante números correlativos, pero no use sus iniciales ni los números de fichas clínicas.
- 9.4.10. Indique siempre el número de pacientes o de observaciones, los métodos estadísticos empleados y el nivel de significación elegido.
- 9.5. *Resultados:*
- 9.5.1. *Los resultados deben ser presentados* siguiendo una secuencia lógica y concordante, en el texto, las Tablas y Figuras. Los datos se pueden mostrar en Tablas o Figuras, pero no simultáneamente en ambas.
- 9.5.2. En el texto, destaque las observaciones importantes, sin repetir todos los datos que se presentan en las Tablas o Figuras.
- 9.5.3. No mezcle la presentación de los resultados con su discusión.
- 9.6. *Discusión:*
- 9.6.1. Se trata de una discusión de los resultados obtenidos en este trabajo y no de una revisión del tema en general.
- 9.6.2. Discuta únicamente los aspectos nuevos e importantes que aporta su trabajo y las conclusiones que los autores propone a partir de ellos.
- 9.6.3. No repita detalladamente datos que aparecen en Resultados.
- 9.6.4. Haga explícitas las concordancias o discordancias de sus hallazgos y sus limitaciones, comparándolas con otros estudios relevantes, identificados mediante las citas bibliográficas respectivas.
- 9.6.5. Conecte sus conclusiones con los propósitos del estudio, que destacó en la Introducción.
- 9.6.6. Evite formular conclusiones que no estén respaldadas por sus hallazgos, así como apoyarse en otros trabajos aún no terminados.
- 9.6.7. Plantee nuevas hipótesis cuando le parezca adecuado, pero calífielas claramente como tales.
- 9.6.8. Cuando sea apropiado, proponga sus recomendaciones.



9.7. *Agradecimientos:*

- 9.7.1. Exprese su agradecimiento sólo a personas e instituciones que hicieron contribuciones substantivas a su trabajo.
- 9.7.2. Los autores son responsables por la mención de personas o instituciones a quienes los lectores podrían atribuir un apoyo a los resultados del trabajo y sus conclusiones.

9.8. *Referencias:*

- 9.8.1. Limite las referencias (citas bibliográficas) idealmente a 40.
- 9.8.2. Prefiera las que correspondan a trabajos originales publicados en revistas incluidas en el Index Medicus.
- 9.8.3. Numere las referencias en el orden en que se las menciona por primera vez en el texto.
- 9.8.4. Identifíquelas mediante numerales arábigos, colocados (entre paréntesis) al final de la frase o párrafo en que se las alude.
- 9.8.5. Las referencias que sean citadas únicamente en las Tablas o en las leyendas de las Figuras, deben numerarse en la secuencia que corresponda a la primera vez que se citen dichas Tablas o Figuras en el texto.
- 9.8.6. Los resúmenes de presentaciones a Congresos pueden ser citados como referencias sólo cuando fueron publicados en revistas de circulación común.
- 9.8.7. Si se publicaron en "Libros de Resúmenes", pueden citarse en el texto (entre paréntesis), al final del párrafo pertinente.
- 9.8.8. Se puede incluir como referencias a trabajos que están aceptados por una revista pero aún en trámite de publicación; en este caso, se debe anotar la referencia completa, agregando a continuación del nombre abreviado de la revista la expresión "(en prensa)".
- 9.8.9. Los trabajos enviados a publicación pero todavía no aceptados oficialmente, pueden ser citados en el texto (entre paréntesis) como "observaciones no publicadas" o "sometidas a publicación", pero no deben alistarse entre las referencias.
- 9.8.10. Al alistar las referencias, su formato debe ser el siguiente:
 - 9.8.10.1. Para Artículos en Revistas. Apellido e inicial del nombre del o los autores, en mayúsculas.

- 9.8.10.2. Mencione todos los autores cuando sean seis o menos.
- 9.8.10.3. Si son siete o más, incluya los seis primeros y agregue "et al".
- 9.8.10.4. Limite la puntuación a comas que separen los autores entre sí.
- 9.8.10.5. Siga el título completo del artículo, en su idioma original.
- 9.8.10.6. Luego, el nombre de la revista en que apareció, abreviado según el estilo usado por el Index Medicus:

- 9.8.10.6.1. Año de publicación.
- 9.8.10.6.2. Volumen de la revista.
- 9.8.10.6.3. Página inicial y final del artículo.
- 9.8.10.6.4. Ejemplo: 12. Meneghin A., Hogaboam C. Infectious disease, the innate immune response, and fibrosis. J Clin Invest. 2007; 117(3): 530-538.

9.8.10.7. Para Capítulos en Libros:

- 9.8.10.7.1. Ejemplo: 17. Castillo JL. Citometría de Flujo: Estudio de Laboratorio de Enfermedades Oncohematológicas. En Hematología: Fisiopatología y Diagnóstico. Palomo I., Pereira J. y Palma J. Editorial Universidad de Talca, 2005; 732-737.

9.8.10.8. Para artículos en formato electrónico:

- 9.8.10.8.1. Citar autores.
- 9.8.10.8.2. Título del artículo.
- 9.8.10.8.3. Revista de origen tal como para su publicación en papel.
- 9.8.10.8.4. Indicar a continuación el sitio electrónico donde se obtuvo la cita y la fecha en que se hizo la consulta.
- 9.8.10.8.5. Ejemplo: J Clin Invest. 2007; 117(3): 530-538. Disponible en: <http://www.jci.org/> [Consultado el 18 de abril de 2007].

9.8.11. Los autores son responsables de la exactitud de sus referencias.

9.9. *Tablas:*

- 9.9.1. Presente cada Tabla en hojas aparte, separando sus celdas con doble espacio (1,5 líneas).



- 9.9.2. Numere las Tablas en orden consecutivo y asígneles un título que explique su contenido.
- 9.9.3. Si una Tabla reproduce material ya publicado, indique su fuente de origen y obtenga permiso escrito del autor y del editor original para reproducirla en su trabajo, del cual deberá entregar una copia.

- 9.12.1. Use unidades correspondientes al sistema métrico decimal (metro, kilogramo o litro).
- 9.12.2. Las temperaturas deben ser presentadas en grados Celsius.
- 9.12.3. La presión sanguínea se debe presentar en milímetros de mercurio,
- 9.12.4. Use abreviaturas o símbolos que se emplean con mayor frecuencia.

9.10. Figuras:

- 9.10.1. Denomine "Figura" a toda ilustración que no sea Tabla (Ejs: gráficos, radiografías, electrocardiogramas, ecografías, etc.).
- 9.10.2. Los gráficos deben ser dibujados empleando un programa computacional adecuado.
- 9.10.3. Las letras, números, flechas o símbolos deben verse claros y nítidos y deben tener un tamaño suficiente como para seguir siendo legibles cuando la Figura se reduzca de tamaño en la publicación.
- 9.10.4. Sus títulos y leyendas no deben aparecer en la Figura sino que se incluirán en hoja aparte.
- 9.10.5. Los símbolos, flechas o letras empleadas en las fotografías de preparaciones microscópicas, deben tener un tamaño y contraste suficientes para distinguirlas de su entorno.
- 9.10.6. Cite cada Figura en el texto, en orden consecutivo.
- 9.10.7. Si una Figura reproduce material ya publicado, indique su fuente de origen y obtenga permiso escrito del autor y del editor original para reproducirla en su trabajo, del cual deberá entregar una copia.
- 9.10.8. Las fotografías de pacientes deben cubrir parte(s) de su rostro para proteger su anonimato.

- 10. Los manuscritos deberán acompañarse de una carta del autor responsable de la correspondencia referente al trabajo:

- 10.1. Esta carta deberá proporcionar cualquier información adicional que se juzgue necesaria, tal como el visto bueno del Jefe del Servicio o Departamento correspondiente.
- 10.2. Debe expresar la originalidad del estudio y la cesión de los derechos de propiedad en caso de publicación del trabajo.
- 10.3. Deberá incluir la aceptación de responsabilidad de los coautores con la firma de cada uno de ellos, así como un detalle de la participación de cada uno.

- 11. Copyright: **Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas (REVLAB)** es de libre acceso y de libre reproducción, indicando su sitio web.

- 12. Envío de manuscritos: Los trabajos deben enviarse directamente a:

- 12.1. **Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas (REVLAB), Centro Diagnóstico Oncoinmunológico Ltda., Hospital del Trabajador Concepción, Cardenio Avello 36, Concepción, Chile.**
- 12.2. **Email: revlab@revlab.cl**

9.11. Leyendas para las Figuras:

- 9.11.1. Presente los títulos y leyendas de las Figuras aparte de estas, es decir no debe estar incluidas en la figura.
- 9.11.2. Identifique y explique todo símbolo, flecha, número o letra que haya empleado para señalar alguna parte de las ilustraciones.
- 9.11.3. En la reproducción de preparaciones microscópicas, explicita la ampliación y los métodos de tinción empleados.

9.12. Unidades de medida:



Editorial

REVLAB: REVISTA LATINOAMERICANA DE ACTUALIDADES BIOMEDICAS

Iniciamos el año 2008, con el primer número del segundo volumen de la *Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas (REVLAB)*, (ISSN 0718-4743: *Rev. latinoam. actual. bioméd.*), no sin antes agradecer a todos los que nos han apoyado, los que han creído en esta iniciativa, los que nos han enviado sus escritos, así como a los numerosos visitantes de la página web de REVLAB.

Este número, continúa presentado parte del trabajo del grupo de Dr. Patricio Ortiz, referente a la prevalencia y tendencia de esofagitis como manifestación de la Enfermedad por Reflujo Gastroesofágico, en la población de Concepción, incluyendo variables importantes como la procedencia de los pacientes, es decir, objetivar y comparar tanto pacientes del sistema público, como del sistema privado (1).

Paulina Fernández, Patricia Chaparro y colaboradores evalúan la degranulación de basófilos, mediante la expresión de CD63 como método de diagnóstico en el estudio de reacciones de hipersensibilidad frente a látex, diclofenaco sódico y ácido acetilsalicílico, desarrollando un algoritmo a fin de determinar un índice de discriminación de estimulación de basófilos, indicador de reactividad *in vitro* de estas células para cada alérgeno, con la clara ventaja de ser una metodología rápida y reproducible para el estudio de reacciones de hipersensibilidad (2).

Finalmente, Claudio Torres, Efraín Mora y colaboradores, nos presentan un estudio pionero en nuestro país, al abordar la presencia de la delección del gen codificante para el correceptor de quimoquina CCR5, en una muestra de mujeres de bajo riesgo de infección VIH. La presencia de esta delección es uno de los mecanismos que explican la progresión lenta de la enfermedad VIH (3).

No se puede dejar de destacar que el escrito de Paulina Fernández, Patricia Chaparro y colaboradores (2) y el de Claudio Torres, Efraín Mora y colaboradores (3), son fruto de un trabajo sistemático con alumnos de Tecnología Médica de La Universidad de Concepción, ahora Tecnólogos Médicos, durante sus asignaturas de Seminario en Biología Molecular y Tutorial de Investigación. Sean para ellos y para sus docentes nuestras felicitaciones y agradecimientos por compartir su trabajo con nosotros, y los instamos a seguir haciéndolo.

De esta manera se encuentra a disposición de los lectores, este primero número del segundo año de REVLAB, *Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas (REVLAB: www.revlab.cl)*, no sin antes invitar a profesionales, docentes e investigadores, a participar de esta iniciativa, motivándolos a preparar un escrito y enviarlo a REVLAB, así como ser la fuente de motivación de nuestros estudiantes y colegas.

Referencias:

1. Ortiz, P., Aruta, C., Bustos, R., Giacaman, A. Esofagitis como manifestación de enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE): estudio de prevalencia y tendencia años 2002-2006. *Rev latinoam actual bioméd* 2008; 2:2-5.
2. Fernández, P., Chaparro P., Pereira, P., Castillo, JL. Expresión de CD63 en basófilos como indicador de degranulación inducida por látex, diclofenaco sódico o ácido acetilsalicílico. *Rev latinoam actual bioméd* 2008; 2:6-10.
3. Torres, CA., Mora, E., Venegas, O., Castillo, JL., Quevedo, I., Castillo, M. Frecuencia del genotipo ccr5δ32 en mujeres seronegativas de bajo riesgo para VIH, atendidas en el Hospital Naval de Talcahuano, Chile. *Rev latinoam actual bioméd* 2008;2:11-15.



ESOFAGITIS COMO MANIFESTACIÓN DE ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFÁGICO (ERGE): ESTUDIO DE PREVALENCIA Y TENDENCIA AÑOS 2002-2006

Ortiz, Patricio^{1,2}, Aruta, Carlos³, Bustos Roberto⁴, Giacaman Arturo⁴

(1) Sección de Gastroenterología Hospital Guillermo Grant Benavente de Concepción. (2) Médico Cirujano; FACP; Gastroenterólogo. Profesor asociado, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción, Chile. (3) Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción, Chile. (4) Alumnos Medicina, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción, Chile.

Introducción: De acuerdo a la literatura médica proveniente de los países occidentales desarrollados, la prevalencia de la Enfermedad por Reflujo Gastroesofágico (ERGE) ha aumentando progresivamente en las últimas dos a tres décadas, coincidente con el aumento de condiciones asociadas como el adenocarcinoma esofágico. Lo anterior no aparece claro en los países en desarrollo o subdesarrollados.

Objetivo: Determinar la prevalencia y tendencia de esofagitis como manifestación de ERGE en dos grupos de población en Concepción, Chile.

Material y método: Se consignó el diagnóstico de esofagitis en endoscopias digestivas altas (EDA) provenientes de un centro de salud público y de uno privado en la ciudad de Concepción, durante 30 y 50 meses, respectivamente, entre los años 2002-2006.

Resultados: Se analizó 6.827 EDA; 5.212 provenientes del centro público y 1.615 del privado. Se obtuvo un promedio de EDA con esofagitis de $16,07\% \pm 3,51\%$ y $27,86\% \pm 11,07\%$ respectivamente. El coeficiente de correlación de Spearman en ambos grupos en el período en estudio fue de -0,431 y -0,522, respectivamente. En ambas poblaciones, el análisis fue estadísticamente significativo ($p < 0,02$)

Conclusiones: La esofagitis muestra tendencia a la disminución en nuestra población. Dado que la tendencia calculada no es lineal, la conclusión solo es válida para la población y período en estudio. (REVLAB 2008; 2: 2-5).

Introduction: According to medical literature from Western developed countries, the prevalence of Gastroesophageal Reflux Disease (GERD). Has increased progressively in the last two or three decades. Thus trend is followed by the increase in GERD associated conditions as esophageal adenocarcinoma. The same trend is not as clear in underdeveloped or developing populations.

Objective: To determine the prevalence of esophagitis like a manifestation of GERD in two population groups in Concepcion, Chile.

Materials and Methods: Diagnoses of esophagitis in upper digestive endoscopies (UDE) from a public health center and a private one in the city of Concepción for 30 and 50 months respectively, between years 2002 to 2006, was consigned.

Results: We analyzed 6,827 UDE; 5,212 from the public center and 1,615 from the private center. Esophagitis was diagnosed in averages of $16.07\% \pm 3.51\%$ and $27.86\% \pm 11.07\%$ respectively. The Spearman's coefficient correlation for both groups during the period under review was -0431 and -0522 respectively. In both populations, the analysis was statistically significant ($p < 0.02$).

Conclusions: Esophagitis diagnoses show a down tendency in our population. As calculated trend is not linear, conclusion is valid only for population and period under study. (REVLAB 2008; 2: 2-5).

Palabras Clave: ERGE, esofagitis, EDA, Concepción, Chile.

Key words: GERD. Esophagitis, UGE, Concepción, Chile.

(*) Correspondencia a: Dr. Patricio Ortiz, Gastroenterólogo. Profesor asociado, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina. Universidad de Concepción, Chile. Casilla 160-C E-mail: por@vtr.cl



Introducción

La enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) se define como el reflujo patológico de contenido gástrico al esófago en cantidad suficiente para dañar la mucosa, generar síntomas o provocar complicaciones a largo plazo. El mecanismo etiopatogénico determinante de la afección es la incompetencia del esfínter esofágico inferior (EEI). La incompetencia puede ser basal o manifestarse como relajación transitoria ineficiente del EEI. Los estudios etiopatogénicos indican que esta última es el mecanismo que con mayor frecuencia determina la ERGE. Tanto la obesidad como factores exógenos que relajan el EEI (medicamentos, grasa, café, tabaquismo, chocolate) se han asociado a la producción de ERGE, con resultados dispares, pero en la mayoría de los casos, la etiología es desconocida.

En algunos casos existe fracaso en los mecanismos defensivos de la mucosa esofágica y capacidad de depuración (clearance esofágico) insuficiente^{1, 2}. Estas alteraciones aumentan el daño del contenido gástrico refluído al esófago.

La ERGE constituye una patología prevalente en países occidentales, donde el 25% de la población tiene pirosis, manifestación característica de la ERGE, al menos una vez al mes, un 12% una vez a la semana y el 5% a diario³. Sin embargo, en poblaciones asiáticas la prevalencia de estos síntomas es muy inferior, sin conocerse con exactitud el origen de esta diferencia.

Esto genera gran impacto económico y en la calidad de vida de los pacientes que presentan esta afección.

Existen datos endoscópicos que muestran mayor frecuencia de esofagitis en hombres⁴. Sin embargo, estudios recientes han mostrado mayor asociación de ERGE con el género femenino y consumo de alcohol⁵.

Clínicamente se clasifica de acuerdo a los síntomas esofágicos, el daño de la mucosa esofágica que origina y las manifestaciones por el compromiso de estructuras extraesofágicas, que puede determinar en alguna medida la gravedad de la patología⁶.

El daño de la mucosa esofágica puede evidenciarse mediante diferentes procedimientos pero la endoscopia digestiva alta (EDA) es el método más ampliamente utilizado.

La manifestación inicial de daño evidente de la mucosa gástrica corresponde a la visualización de erosiones lineales proximales a la línea Z. Lo anterior se considera la primera manifestación de Esofagitis por ERGE.

Los síntomas de ERGE son muy frecuentes, estando presentes en un 33% de la población adulta, mientras que un 30% de los pacientes sintomáticos manifiesta esofagitis, necesitando la gran mayoría un tratamiento farmacológico permanente para lograr un adecuado control de la sintomatología^{7,8}.

En Chile, se ha encontrado una prevalencia de ERGE de 52,8%, siendo la pirosis el principal elemento clínico con un 59,5%⁵.

Materiales y Métodos

Los grupos en estudio fueron todos los pacientes a los cuales se les realizó una endoscopia digestiva alta (EDA) en consulta privada y en el Hospital Guillermo Grant Benavente (HGGB) durante los períodos comprendidos entre Octubre del 2002 a Diciembre del 2006 (50 meses) y entre Febrero del 2003 a Diciembre del 2005 (30 meses), respectivamente.

En la consulta privada, la totalidad de las EDAs efectuadas lo hicieron como parte del estudio de dispepsia.

El hospital público actúa como centro de referencia de nivel terciario a nivel regional, de consulta ambulatoria, pacientes hospitalizados y urgencias.

La única variable a analizar fue la existencia o no de Esofagitis a la EDA, definida como la presencia de erosiones visibles en la mucosa esofágica.

El análisis estadístico se realizó mediante los programas XL STAT 2007 y Microsoft Excel 2007. Para conocer la tendencia de la frecuencia de esofagitis durante el período en estudio se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman.

	Centro Privado	HGGB
Nº meses	50	30
Nº de EDA	1.615	5.212
EDA con esofagitis	441	848
Promedio mensual de EDA con esofagitis ± DS	27.86% ± 11.07%	16.07% ± 3.51%
Rango de EDA con esofagitis por mes (mínimo – máximo)	6.25 % - 53.57 %	9.62 % - 23.48 %

Tabla 1: Características de los grupos estudiados.(EDA: Endoscopia digestiva alta. HGGB: Hospital Gmo. Grant Benavente, Concepción, Chile. DS: Desviación estándar)



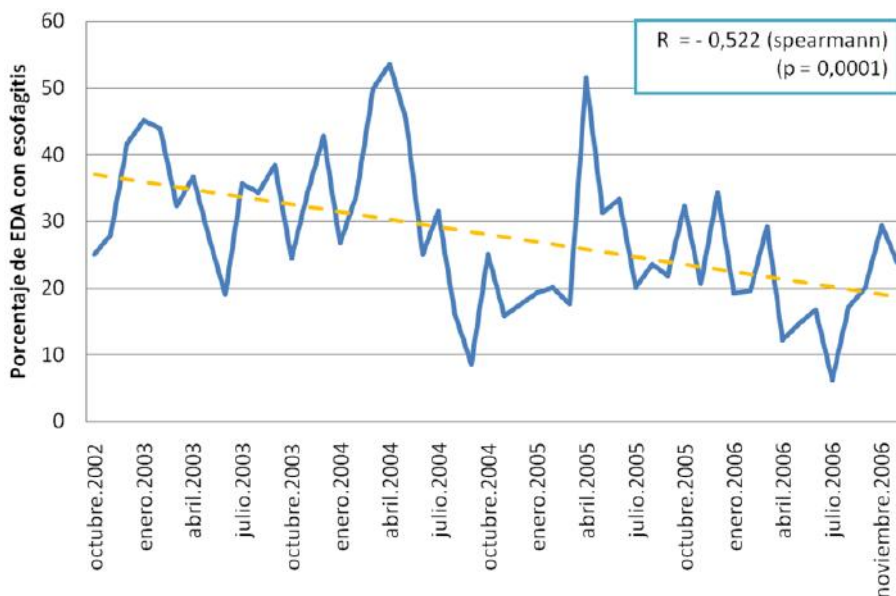


Figura 1: Porcentaje de EDA con esofagitis en consulta privada. Octubre 2002 – Diciembre 2006 (50 meses)

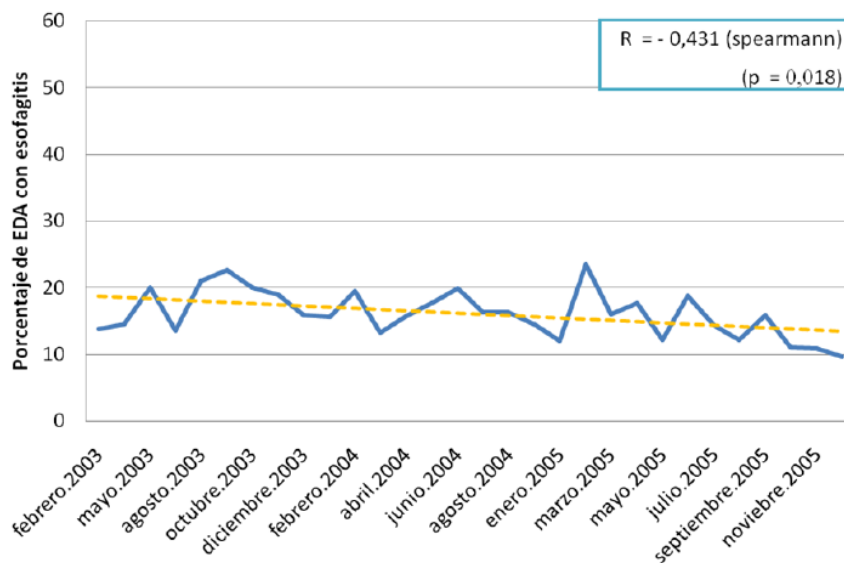


Figura 1: EDA con esofagitis en Hospital Guillermo Grant Benavente, Febrero – Diciembre 2005 (30 meses).

Resultados

Durante el período de estudio se realizaron 5.212 EDA en el HGGB y 1.615 EDA en la consulta privada, completando un total de 6.827 pacientes

estudiados. La tabla 1 muestra los datos obtenidos de ambos grupos.

La tendencia a lo largo del período en estudio para ambos grupos se observa en las figuras 1 y 2, destacando en ambos una tendencia



a la disminución del porcentaje de EDA con esofagitis, dado por coeficiente de correlación de Spearman (R) negativo. Dado que el patrón de disminución no es lineal de, las líneas color naranja, en ambos gráficos, solo son válidas para esta población durante el periodo en estudio y no son extrapolables al universo ni tampoco a periodos de tiempo diferentes al analizado. En ambas poblaciones en estudio el análisis fue estadísticamente significativo ($p < 0,02$).

DISCUSIÓN

Se utilizó la esofagitis como manifestación de ERGE debido a que es objetivo y de bajo costo, comparado con otros métodos y porque esta es una enfermedad sin categorías fijas, sino que dinámicas entre un estado y otro⁸.

Las diferencias entre la prevalencia de esofagitis en los grupos del centro público y el privado se pueden deber a las diferentes patologías por las cuales se indicó la realización de la EDA, siendo en el grupo privado principalmente en el contexto del estudio de dispepsia, mientras que en el grupo público, la patología era diversa por provenir de pacientes hospitalizados donde la referencia para el estudio endoscópico habitualmente es la hemorragia digestiva alta, la que raramente es debida a Esfagitis. Los pacientes referidos para estudio de dispepsia representan solo la fracción proveniente de consulta ambulatoria en Policlínico de Gastroenterología.

La prevalencia de esofagitis durante el periodo en estudio en ambas poblaciones, mostró una tendencia a la disminución. De acuerdo a estos hallazgos y tomando la esofagitis como una de las manifestaciones sencillas de objetivar de

ERGE, podemos sostener que esta patología está disminuyendo en nuestra población, lo que muestra una clara diferencia con otros estudios, que indican que la ERGE y sus patologías asociadas están aumentando su prevalencia en la actualidad, principalmente en la población de países desarrollados.

Referencias

1. Weinberg DS, Kadish SL. The diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Med Clin North Am.* 1996; 80: 411-29
2. Brown CM, Rees DW. Review article: factors protecting the oesophagus against acid mediated injury. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9: 251-62.
3. Moayyedi P, Axon ATR.. Gastro-oesophageal reflux disease: the extent of the problem. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22 (suppl 1): 11-19.
4. Ford AC, Forman D, Reynolds PD, Cooper B, Moayyedi P. Ethnicity, gender and socioeconomic status as risk factors for esophagitis and Barrett's oesophagus. *Am J Epidemiol* 2005; 162: 454-60.
5. C. Manterola, L. Bustos, M. Vial. Prevalencia de enfermedad por reflujo gastroesofágico en población general urbana adulta. *Revista chilena de cirugía.* Volumen 57 N°6. Diciembre 2005; Págs. 476-482.
6. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus.. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101(8):1900-20; quiz 1943.
7. Howard PJ, Heading RC. Epidemiology of GERD. *World J Surg* 1992; 16: 288-93.
8. Spechler SJ. Epidemiology and natural history of GERD. *Digestion* 1992; 51 suppl 1: 24-9.
9. Labenz J, et al. Prospective follow-up data from the ProGERD study suggest that GERD is not a categorical disease. *American Journal of Gastroenterology* 2006, 2457-63

EXPRESIÓN DE CD63 EN BASÓFILOS COMO INDICADOR DE DEGRANULACIÓN INDUCIDA POR LÁTEX, DICLOFENACO SÓDICO O ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Fernández P.¹; Chaparro P.¹; Pereira, P.^{2,3}; Castillo JL^{2,3}

(1) Estudiante Tecnología Médica, Mención Laboratorio Clínico, Departamento de Especialidades Médicas, Universidad de Concepción, Chile. (2) Escuela de Tecnología Médica, Departamento de Especialidades Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Chile. (3) Laboratorio Citometría de Flujo, Hospital del Trabajador Concepción. (4) Centro de Diagnóstico Oncoinmunológico Limitada.

Introducción: Los basófilos ante una segunda exposición a un alérgeno (previa sensibilización) son activados y por medio de transducción de señales vía proteína quinasa expresan en su membrana CD63. Por citometría de Flujo es posible evaluar la expresión de este marcador.

Objetivo: Evaluar la degranulación de basófilos, mediante la expresión de CD63 como método de diagnóstico en el estudio de reacciones de hipersensibilidad frente a látex, diclofenaco sódico y ácido acetilsalicílico.

Metodología: A partir de sangre periférica heparinizada, de pacientes con y sin antecedentes clínicos de hipersensibilidad, se prepara una suspensión celular conteniendo basófilos, los cuales son estimulados con PMA (phorbol miristato acetato) y desafiados frente a diferentes alérgenos (látex, diclofenaco sódico y ácido acetilsalicílico), para luego ser marcados con anticuerpos anti CD45, anti IgE y anti CD63. Se desarrolla un algoritmo a fin de determinar un índice de discriminación de estimulación de basófilos, indicador de reactividad *in vitro* de estas células para cada alérgeno.

Resultados: Los ensayos de reactividad *in vitro* al látex, diclofenaco sódico y ácido acetilsalicílico en los pacientes con antecedentes de hipersensibilidad, resultaron estadísticamente significativos, respecto de pacientes sin antecedentes de hipersensibilidad.

Discusión: Se propone el índice de discriminación de la estimulación de basófilos en función de la expresión de CD63 en pacientes con antecedentes de hipersensibilidad a un determinado alérgeno, como una técnica rápida, y reproducible para el estudio *in vitro* de la degranulación de basófilos tras su activación. (REVLAB 2008; 2: 6-10).

Introduction: basophils in a second exposure to an allergen (previous after sensitization) are activated by signal transduction via protein kinase and expressed in its membrane CD63. By flow cytometry is it possible to evaluate the expression of this marker.

Objective: To evaluate the degranulation of basophils, through the expression of CD63 as a diagnostic method in the study of hypersensitivity reactions against latex, sodium diclofenac and acetylsalicylic acid.

Methodology: From heparinized peripheral blood of patients with and without hypersensitivity clinical history, it's prepared a cell suspension containing basophils, which are stimulated with PMA (phorbol myristate acetate) and challenged against with different allergens (latex, sodium diclofenac and acetylsalicylic acid). After that, there were labeled with anti CD45, anti CD63 and anti -IgE. An algorithm was developed to determine an discrimination index of basophils stimulation, as an indicator of responsiveness of these cells *in vitro* to each allergen.

Results: The assays of *in vitro* reactivity to latex, sodium diclofenac and acetylsalicylic acid in patients with a hypersensitivity history, were statistically significant regarding with respect to patients without it.

Discussion: It is proposed the rate of stimulation basophils discrimination based on the expression of CD63 in patients with a hypersensitivity history to a particular allergen, as a rapid and reproducible technique, for the *in vitro* study of the basophils degranulation after activation. (REVLAB 2008; 2: 6-10)

Palabras Clave: Hipersensibilidad tipo I, Basófilos, CD63, alérgenos, Citometría de Flujo, degranulación
Key words: Type I hypersensitivity, basophils, CD63, allergens, flow cytometry, degranulation

(*) Correspondencia a: Juan Luis Castillo N., TM MsC. Laboratorio Citometría de Flujo, Hospital del Trabajador Concepción, Cardenio Avello 36. Dpto. Especialidades Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. Fono/Fax: 56-41-2204807, Casilla 160-C E-mail: jucastillo@udec.cl



Introducción

La efectividad de un sistema homeostático, estará dada por la interacción del genotipo con el ambiente, determinando así el fenotipo que portará el individuo durante su vida. El sistema inmune no es la excepción, de esta forma encontramos diferentes alteraciones entre las cuáles están las llamadas hipersensibilidades, término que hace alusión a una respuesta inmune aumentada, exagerada e inapropiada frente a determinados alérgenos^(1,2).

Hacia el año 1963, Gell y Coombs, clasificaron en base a mecanismos inmunológicos, los fenómenos de hipersensibilidad en cuatro tipos: I o IgE dependiente, tipo II o mediada por anticuerpos, tipo III o mediada de complejos inmunes y tipo IV o tardía mediada por linfocitos T⁽³⁾.

En el caso de la hipersensibilidad Tipo I o también llamada hipersensibilidad inmediata, son característicos los niveles elevados de IgE sérica debido a la hiperreactividad a antígenos que normalmente carecen de patogenicidad⁽⁴⁾, dentro de los que destacan *Dermatophagoides sp*⁽²⁾, anti inflamatorios no esteroideos⁽⁵⁾, antibióticos betalactámicos⁽⁶⁾ y látex⁽⁷⁾. La secuencia de acontecimientos típica de la hipersensibilidad inmediata mediada por la IgE consta de varias etapas, que comienzan con la exposición inicial de un alérgeno. El encuentro inicial con un alérgeno recibe el nombre de fase de sensibilización⁽¹⁾. Frente a una segunda exposición al mismo alérgeno se desarrollará la fase de activación generando dentro de la célula ya sea basófilo y/o mastocito^(8,9), una cascada de activación en base a proteínas del tipo quinasas. Esta activación culminará con la liberación de mediadores preformados, productos del metabolismo del ácido araquidónico y a nivel celular se realiza una síntesis de *ново* de citoquinas principalmente del tipo Th2⁽¹⁰⁾ y expresión de nuevos antígenos de membrana, entre ellos CD63⁽¹¹⁾. *In vitro*, el CD63 es expresado cuando los basófilos son estimulados con alérgenos o anticuerpos anti-IgE⁽¹²⁾. En 1962, W.B. Shelley⁽¹³⁾ introduce un método basado en la degranulación de los basófilos tras su incubación con el correspondiente alérgeno específico.

En la actualidad la Citometría de Flujo ha sido utilizada para evaluar *in vitro* la degranulación de los basófilos de sangre periférica frente a diversos alérgenos, a partir de la detección de la expresión del marcador CD63⁽¹⁴⁾. Más aún si se consideran los riesgos inherentes que presenta la realización de una prueba de desafío cutáneo, la cual se realiza *in vivo*, no estando libre de

complicaciones para el paciente. Dentro de este contexto, el objetivo de este estudio de tipo experimental, es evaluar la degranulación de basófilos como método de diagnóstico en el estudio de reacciones de hipersensibilidad frente a alérgenos de tipo medicamentoso y a látex, procedimiento efectuado *in vitro* a partir de una muestra de sangre periférica.

Materiales y métodos

Pacientes: En el caso del látex, el grupo estudiado correspondió a un total de 16 pacientes, de los cuales, 7 (43.8%) tenía historia clínica de manifestaciones de Hipersensibilidad tipo I y 9 (56.2%) sin historia clínica de esta enfermedad. Para diclofenaco sódico, se estudió un grupo total de 15 pacientes, 8 (53.8%) tenía historia clínica de manifestaciones de hipersensibilidad tipo I y 7 (47.2%) sin historia clínica de esta enfermedad. Los individuos estudiados corresponden a pacientes del Laboratorio de Citometría de Flujo, Hospital del Trabajador de Concepción, los cuales mediante la firma de un consentimiento informado aceptaron participar en este estudio.

Tipo de muestra: Se obtuvo mediante flebotomía, 3 ml de sangre periférica usando heparina de litio como anticoagulante.

Obtención de suspensión celular conteniendo basófilos: La muestra de sangre periférica fue sometida a centrifugación a 400g durante 5 minutos, a fin de poder retirar la inter fase leucocitaria (conteniendo eritrocitos, leucocitos y plasma), la cual nuevamente centrifugada para eliminar el plasma. A continuación se procedió a lavar con buffer salino fosfato (PBS), obteniéndose finalmente una suspensión celular en este buffer.

Estimulación de Basófilos: Brevemente, usando un buffer de estimulación (HEPES 20mM, NaCl 133mM, KCl 5mM, CaCl 7mM, MgCl₂ 3,5mM, pH 7,0), se estimulan las células con PMA (phorbol miristato acetato) a una concentración final de 10 µg/ml. El control positivo, además contenía el alérgeno a estudiar en una concentración de al menos cinco veces la utilizada en cada ensayo en particular, a fin de asegurar una de granulación y la consiguiente expresión de CD63^(6,11,15). Posteriormente se procedió a una incubación de 15 minutos a 37°C. Para detener la estimulación, las muestras son sometidas durante 5 minutos a un golpe de frío y lavadas con PBS.

Marcación con anticuerpos monoclonales: Se utilizó anticuerpo anti IgE-FITC, anti CD63-PE y CD45-TC, todos Invitrogen. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente en oscuridad, posterior a lo cual se procedió a lisar glóbulos



rojos (FACS Lysing Solution, BD), incubando en oscuridad por 10 minutos con una solución de lisis comercial, para luego centrifugar a 400g por 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante y el sedimento fue lavado con PBS, para finalmente ser resuspendido en 0.5 ml de PBS, para luego proceder a la adquisición de los datos en el citómetro de Flujo.

Adquisición en citómetro de flujo: La adquisición de los datos se realizó en un Citómetro de Flujo FACSCalibur equipado con un láser de argón (488nm) y usando el programa de adquisición y análisis CellQuest versión 3.3, con un mínimo de 10.000 y un máximo de 20.000 eventos celulares. La adquisición se realizó definiendo el umbral de detección (threshold) en función de FL-1(IgE) a fin de eliminar interferencias de células no basófilos y restos celulares.

Análisis de Expresión IgE y antígeno CD63 positivo: El análisis se efectuó usando el programa de adquisición y análisis CellQuest v.3.3, identificándose la población de basófilos mediante la combinación de los parámetros de tamaño (FSC), granularidad (SSC), expresión de CD45 y de IgE utilizando múltiples ventanas de análisis. Una vez identificada la población de basófilos se evaluó porcentualmente la expresión de CD63.

Análisis estadístico: Se consideraron las variables de antecedentes hipersensibilidad tipo I, y porcentaje de expresión de CD63 en basófilos (media y desviación estándar). Como prueba de significación estadística se utilizó la diferencia de promedios muestrales con base en la distribución t de Student[®], utilizando el software Microsoft Excel 2007. Como medición de calidad se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo de la técnica tanto en forma particular para cada alérgeno como en su totalidad, utilizando el software "evaluación de pruebas diagnósticas v.1.0.2 (unidad de Bioestadística clínica, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España).

Resultados

La expresión *in vitro* de CD63 en basófilos previamente activados frente determinados alérgenos se expresó en función del porcentaje de expresión de CD63. A fin de relacionar la expresión de CD63 frente a un determinado alérgeno, tanto para el control negativo (CN), control positivo (CP), como para concentración ensayada (CE) y así compararlas entre sí, se desarrollaron relaciones matemáticas, según las siguientes formulas:

$$\Delta T = \%CD63\ CE - \%CD63\ CN \quad (i)$$

Donde ΔT es el porcentaje real de expresión de CD63 (o incremento del porcentaje de expresión de basófilos en la ventana de análisis correspondiente a la concentración ensayada, respecto del control negativo). Tomando como base la relación existente entre las concentraciones del alérgeno para el control positivo y la concentración estandarizada^(6, 11, 15), se obtiene el porcentaje de expresión de CD63 en basófilos (%D), el cual corresponde al producto de la expresión porcentual de la concentración del alérgeno ensayada con respecto al control positivo (30%, 25% y 20% para látex, diclofenaco de sodio y ácido acetilsalicílico, respectivamente) y que se definió como X, más el porcentaje de expresión de CD63 en el control negativo:

$$\%D = X\% \Delta T + \%CD63\ CN \quad (ii)$$

Finalmente para realizar la discriminación entre las muestras hipersensibilizadas *in vitro* y las no hipersensibilizadas *in vitro*, se definió un índice de discriminación de la estimulación de basófilos (IE), el cual esta dado por la razón entre el porcentaje de expresión de basófilos (%D) y el porcentaje de expresión de CD63 del control positivo:

$$IE = \%D / \%CD63\ CP \quad (iii)$$

Este índice de discriminación de la estimulación de basófilos, debiera ser igual o superior a 0,5 para considerar una muestra hipersensible *in vitro* al alérgeno tratado.

En el grupo de pacientes en los cuales se ensayó reactividad *in vitro* al látex, el 50% presentó reactividad *in vitro*, es decir todos los pacientes con antecedentes clínicos de hipersensibilidad más un paciente sin antecedentes. El índice de discriminación de la estimulación de basófilos en función de la expresión de CD63 en los pacientes con antecedentes de hipersensibilidad, es significativamente mayor al de los pacientes sin antecedentes de hipersensibilidad ($p < 0,05$) (Tabla 1). La sensibilidad diagnóstica, especificidad diagnóstica, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para el ensayo de reactividad *in vitro* para látex fue de 100%, 88.89%, 87.59% y 100%, respectivamente, con un intervalo de confianza de 95% (Tabla 2).

El ensayo de reactividad *in vitro* a diclofenaco sódico, representado en la Tabla 3, muestra que el 50% de los pacientes presentaron reactividad *in vitro*, es decir, exactamente todos los pacientes con antecedentes clínicos de hipersensibilidad. Al igual con el ensayo para látex, el índice de discriminación de la



estimulación de basófilos en función de la expresión de CD63 en los pacientes con antecedentes de hipersensibilidad a diclofenaco sódico, es significativamente mayor al de los pacientes sin antecedentes de hipersensibilidad ($p < 0,05$). La sensibilidad diagnóstica para el ensayo de reactividad *in vitro* para diclofenaco sódico fue de un 100%, así como también la especificidad diagnóstica, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fue de 100%, también con un intervalo de confianza de 95% (Tabla 2).

Finalmente, en el grupo de pacientes con en los cuales se ensayó reactividad *in vitro* al ácido acetilsalicílico, sólo dos de los cuatro pacientes (50%) con antecedentes clínicos de hipersensibilidad, presentaron reactividad. A pesar de lo anterior, el índice de discriminación de la estimulación de basófilos en función de la expresión de CD63 en los pacientes con

antecedentes de hipersensibilidad a ácido acetilsalicílico, es significativamente mayor al de los pacientes sin antecedentes de hipersensibilidad ($p < 0,05$) (Tabla 4). Para el ensayo de reactividad *in vitro* para ácido acetilsalicílico, con un intervalo de confianza de 95%, la sensibilidad diagnóstica fue de 50%, la especificidad diagnóstica y el valor predictivo positivo fueron de 100% y valor predictivo negativo fue de 66.67% (Tabla 2).

Finalmente, considerando todos los alérgenos en conjunto, y con un intervalo de confianza de 95%, la sensibilidad diagnóstica de este ensayo fue 87.50%, la especificidad diagnóstica fue 94.44%, el valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fueron de 93.35% y 69.47%, respectivamente (Tabla 2).

Paciente	% C(+)	30% ΔT + C(-)	IE	Hipersensibilidad Clínica	Reactividad in vitro
1	57.09	42.24	0.72	SI	SI
2	33.33	15.94	0.30	NO	NO
3	67.27	21.19	0.73	SI	SI
4	52.63	35.79	0.64	SI	SI
5	11.21	7.67	0.23	NO	NO
6	39.04	24.09	0.54	SI	SI
7	22.82	12.94	0.28	NO	NO
8	21.96	15.84	0.25	NO	NO
9	35.30	28.29	0.55	NO	SI
10	9.74	5.12	0.28	NO	NO
11	24.48	15.24	0.47	NO	NO
12	44.29	29.88	0.43	NO	NO
13	43.15	31.13	0.57	SI	SI
14	37.32	23.94	0.52	SI	SI
15	32.01	18.37	0.42	NO	NO
16	29.33	30.19	0.53	SI	SI

%C(+): Porcentaje de expresión de CD63 en basófilos en el control positivo. 30% ΔT + C(-): porcentaje de expresión de CD63 en función de la concentración del alérgeno respecto del control positivo. IE: Índice de discriminación.

Tabla 1: Ensayo de Reactividad *in vitro* a Látex.

Discusión

A través del tiempo, se han utilizado diferentes medios para el diagnóstico y posterior tratamiento de la Hipersensibilidad tipo I, basándose en la determinación de la IgE específica⁽¹⁴⁾. Estas técnicas poseen una gran

especificidad y sensibilidad cercana al 100%, sin embargo no siempre son rápidas y además permiten identificar el proceso de hipersensibilidad una vez que éste ya está en curso, no constituyendo un examen preventivo ante un alérgeno.



Ensayo Reactividad <i>in vitro</i>	Sensibilidad diagnóstica	Especificidad diagnóstica	VVP	VVPN
Látex (n=16)	100	88.89	87.50	100
Diclofenaco sódico (n=10)	100	100	100	100
Acido acetilsalicílico (n=8)	50	100	100	66.7
Todos (n=34)	87.50	94.44	93.35	89.47

VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo. (*) Intervalo de confianza 95%.

Tabla 2: Pruebas diagnósticas para ensayo de reactividad *in vitro* a diferentes alérgenos

La citometría de flujo ha sido empleada para cuantificar la degranulación de los basófilos en reacciones de hipersensibilidad tipo I, comparándose sus resultados con diversas pruebas, entre ellas la detección de IgE específica⁽¹⁵⁾. El estudio de la expresión del antígeno de membrana CD63 por esta técnica ha permitido evaluar la activación *in vitro* de los basófilos por fármacos y alérgenos⁽⁵⁾. Esta metodología, ha permitido discriminar poblaciones de pacientes hipersensibles y no hipersensibles. En este estudio, proponemos el índice de discriminación de la estimulación de basófilos en función de la expresión de CD63 en pacientes con antecedentes de hipersensibilidad a un determinado alérgeno, como una técnica rápida, y reproducible para el estudio *in vitro* de la degranulación de basófilos tras su activación (evidenciada por la expresión de CD63). Esto se ha demostrado con los resultados obtenidos, ya que fue posible discriminar un grupo de pacientes estudiados en hipersensibles *in vitro* y no hipersensibles *in vitro* frente a determinado alérgenos, sin la necesidad de que el cuadro clínico esté instalado en el paciente, ni tampoco exponer al paciente aun test in vivo (prick test), el cual conlleva un riesgo asociado considerable.

Si bien nuestros resultados fueron estadísticamente significativos para los tres alérgenos ensayados ($p < 0.05$), el reducido número de pacientes estudiados utilizados en los cálculos para pruebas diagnósticas, precisa realizar a futuro un mayor número de determinaciones con el fin de reafirmar las conclusiones obtenidas.

Referencias

- ABBAS A., LITCHMAN A., Inmunología Celular y Molecular. Editorial Saunders, 2004; 3-5.
- GUZMÁN M^a A. Alergias. Guía Clínica. Editorial Mediterráneo, 2004; 1; 15-37.
- BOUSQUET J., BIEBER T., FOKKENS M., HUMBERT M., KOWALSKI M., NIGGEMANN B., SIMON H-U. Themes in Allergy. Allergy. 2006; 61 (1); 1.
- ACERO S., TABAR A.I., GARCÍA B.E., ECHECHIPIÁ S., OLAGUIBEL J.M. Anaphylaxis: Etiological. Alergol Immunol. Clin. Diagnosis. 1999; 14 (3): 133-137.
- SANZ Ma. L., GAMBOA P., GARCÍA- AVILÉS C., DE WECK A., Drug Hypersensitivities: Which Room for Biological Test?. European Annals of Allergy And Clinical Immunology. 2005; 37 (6): 230-235.
- SANZ Ma , GARCÍA M.C., CABALLERO M.R. , DIEGUEZ I., GAMBOA P.M. "Test de Activación de Basófilos en el Diagnóstico de Alergia a Medicamentos". An. Sis. Sanit. Navar. 2003; 26 (2): 39-47.
- PORRAS O. Alergia al Látex una Revisión. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica). 2004; 39 (1); 12-23.
- ONO J. Molecular Genetics of Allergic Diseases. Annu. Rev. Immunol. 2000; 18: 347-366.
- GOULD H., SUTTON B., BEAVIL A., BEAVIL R., MCCLOSKEY N., COKER H., FEAR D., SMURTHWAITE L. The Biology Of Ige And The Basis Of Allergic Disease. Annu. Rev. Immunol. 2003; 21: 579-628.
- GALLI S., KALESNIKOFF J., GRIMBALDESTON ., PILIPONSKY ., WILLIAMS ., TSAI ., Mast Cells as "Tunable" Effector And Immunoregulatory Cells: Recent Advances. Annu. Rev. Immunol.. 2005; 23; 749-786.
- MALBARÁN A., RIERA N., REY G., DE BRACCO M. ., GALASSI N.. Estudio del recuento y la activación de basófilos por citometría de flujo y su aplicación al diagnóstico de las enfermedades por hipersensibilidad inmediata. Archivos de Alergia e Inmunología Clínica. 2003; 34:(2); 47-53.
- MALBARÁN A, LEVY Y., GALASSI N. La degranulación de basófilos de pacientes sensibles a diclofenac no se asocia con aumento de la expresión de CD63. Archivos de Alergia e Inmunología Clínica. 2005; 36 (1): 3-8.
- SHELLEY WB. New serological test for allergy in man. Nature. 1962; 195: 1181-1183.
- QUIROS, J. Diagnóstico de alergias utilizando IgE alérgeno-específico, Revista Médica. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica). 2003; 38:(1-2); 20-25.
- SANZ Ma L., GARCÍA- AVILEZ M., TABAL A., ANDA M., GARCÍA B.E., BARBER D., SALCEDO G., RIHS H-R., RAULF-HEIMSOOTH M. Basophil Activation Test and IgE specific measurements using a panel of recombinant natural rubber latex allergens to determine the latex allergen sensitization profile in children. Pediatric Allergy and Immunology. 2005; 35:(9); 1-9.



FRECUENCIA DEL GENOTIPO CCR5 δ 32 EN MUJERES SERONEGATIVAS DE BAJO RIESGO PARA VIH, ATENDIDAS EN EL HOSPITAL NAVAL DE TALCAHUANO, CHILE.

Torres CA¹; Mora E¹; Venegas O²; Castillo JL³; Quevedo I⁴; Castillo M^{3,4}

(1) Estudiante Tecnología Médica, Mención Laboratorio Clínico, Departamento de Especialidades Médicas, Universidad de Concepción, Chile. (2) Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Chile. (3) Escuela de Tecnología Médica, Departamento de Especialidades Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Chile. (4) Laboratorio de Medicina Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción, Chile.

En estos últimos tiempos se han descubierto variadas formas de resistencia natural a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), siendo la principal de ellas la otorgada por la delección del gen codificante para el correceptor de quimoquina CCR5, denominada *ccr5 δ 32*. Se determinó la frecuencia de esta delección en 54 mujeres de bajo riesgo para la adquisición de VIH, multiparas, seronegativas para VIH, atendidas en el Hospital Naval de la ciudad de Talcahuano, provincia de Concepción, Chile. El estudio se realizó por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para los distintos genotipos existentes en relación a la delección *ccr5 δ 32*. Los resultados obtenidos revelaron una frecuencia para el genotipo homocigoto normal (*CCR5/CCR5*) del 92,59%; para el genotipo heterocigoto (*CCR5/ccr5 δ 32*) del 7.41%; no encontrando hallazgos del genotipo homocigoto para la mutación (*ccr5 δ 32/ccr5 δ 32*). El estudio de la frecuencia alélica de la mutación arrojó un 3.7% en los eventos estudiados. Este es el primer estudio en el que determina la presencia de este mecanismo de progresión lenta en la población chilena. (REVLAB 2008; 2: 11-15).

In last years, has been described a lot of natural resistance's to HIV infection; the most important is produced by mutation of chemokine correceptor, CCR5 gene (*ccr5 δ 32*). The frequency of this mutation has been analyzed in 54 womens with down level of risk to acquisition to HIV infection, multigive birth, seronegative to HIV, and attended in the Naval's Hospital of Talcahuano, state of Concepción, Chile. This study used the protein chain reaction to analyzed different genotypes founded to the *ccr5 δ 32*. The result shown a frequency to homocygote wild type genotype (*CCR5/CCR5*) of the 95, 59%; to heterocygote genotype (*CCR5/ccr5 δ 32*) of the 7.41 %, to homocygote mutant genotype (*ccr5 δ 32/ccr5 δ 32*) has not found. The allelic frequency for the mutation was 3.7%. This is the first study has demonstrated the presence of this resistant mechanism in the Chilean population. (REVLAB 2008; 2: 11-15)

Palabras Clave: VIH, progresión lenta, *ccr5 δ 32*, frecuencia genotípica.
Key words: HIV, slow progression, *ccr5 δ 32*, genotypic frequency.

(*) Correspondencia a: Marcelo Castillo N., TM MsC(c). Laboratorio Medicina Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. Fono/Fax: 56-41-2204807, Casilla 160-C E-mail: marcelocastillo@udec.cl

Introducción

Para llevar a cabo la unión a la célula huésped el virus de VIH debe cumplir con dos requisitos esenciales; presentar el antígeno CD4 en su superficie celular (CD4+) y la coexpresión, en el mismo sitio, de un correceptor específico perteneciente a la familia de los receptores de quimoquinas, efectuándose así, el reconocimiento y la posterior entrada celular del patógeno ⁽¹⁾.

La entrada del VIH a la célula blanco requiere la fusión de la membranas viral y celular,

proceso llevado a cabo por una glicoproteína propia de la envoltura del VIH, gp-160, compuesta por dos subunidades asociadas no covalentemente, gp-120 (externa) y gp-41 (transmembrana) ^(2,3). La primera de estas glicoproteínas reconoce y se une a la molécula CD4 presente en la superficie celular de linfocitos T helper, macrófagos y células dendríticas, constituyendo el primer paso en la fusión de membranas. Esto provoca una modificación de la configuración de gp-120, facilitándose la unión secundaria de ésta glicoproteína a un correceptor



de quimoquina⁽¹⁾. Dicha unión induce otro cambio conformacional, ahora de gp-41, quedando expuesta una región denominada péptido de fusión que se inserta en la membrana celular y permite la fusión de ambas membranas^(1,2), promoviéndose la entrada viral.

Los receptores de quimoquinas CCR5 y CXCR4 juegan un rol clave en la entrada del VIH-1 en células que además de exhibir estos receptores en su superficie, coexpresan al marcador CD4 en el mismo lugar⁽²⁻⁶⁾, constituyendo así los mayores correceptores para la infección de este virus⁽⁷⁻⁹⁾.

De acuerdo al tipo de correceptor utilizado (CCR5 o CXCR4) para la invasión viral, el virus puede ser clasificado en VIH-1 con tropismo macrofágico (Tropismo M), cuando utiliza el CCR5, denominándose al virus *VIH R5* constituyendo la forma predominante de transmisión, encontrada frecuentemente durante los estadios asintomáticos de la infección; y VIH-1 con tropismo linfocito T (Tropismo T), cuando utiliza el CXCR4, denominándose al virus *VIH X4* y que emerge después de la asociación temporal de la enfermedad con la disminución de células T CD4 y la progresión hacia SIDA⁽¹⁰⁾.

Evidencias clínicas sugieren mecanismos de resistencia al progreso de la infección en individuos llamados, progresores lentos o en no progresores.⁽²⁾ Se ha descrito la asociación de esta resistencia, con una delección de un segmento génico del gen codificante para una proteína receptora tipo quimoquina (CCR5), expresada en la superficie celular, la que se denomina *ccr5Δ32*, que da paso a una proteína CCR5 troncada (delección de 32 aminoácidos), no expuesta en la superficie celular^(2,10). La infección por VIH-1 en personas homocigotas para *ccr5Δ32* es extremadamente rara y cuando ocurre, es causada por cepas virales que pueden utilizar a CXCR4 para su entrada a la célula^(2,11).

Esta delección comprende dos formas genotípicas; homocigota *ccr5Δ32/ccr5Δ32*, altamente protectora frente a la infección del VIH-1 y heterocigota CCR5/*ccr5Δ32*, que proporciona una relativa protección, retardando el progreso de la infección VIH, el desarrollo de SIDA y muerte^(11, 12, 15, 17).

En estos últimos años diversos estudios se han enfocado en determinar la incidencia de este gen en diversas poblaciones humanas a lo ancho del globo a fin de establecer el mecanismo de resistencia contra el VIH predominante en estas sociedades, enriqueciendo el conocimiento epidemiológico de las zonas estudiadas en cuanto a factores determinantes en el desarrollo de infección VIH-SIDA, y aportando información

sobre los mecanismos de patogénesis que posee el virus en dichas poblaciones⁽¹⁵⁻²⁰⁾.

En América latina se han venido desarrollando algunos estudios epidemiológicos para investigar la incidencia de esta delección en poblaciones generales, seropositivas y expuestas no seropositivas al VIH, este es el caso de investigaciones en Colombia⁽²¹⁾, Brasil⁽²²⁾ y Argentina⁽²³⁾. Cabe resaltar que en Chile aún no se han reportado datos sobre la prevalencia de este marcador de resistencia.

El norte indiscutible de la realización de estos estudios es el establecimiento de las frecuencias genotípicas de este tipo de variaciones génicas, que pudiesen ser blanco de nuevas terapias anti VIH en desarrollo, dirigidas a interferir la interacción del virus con los correceptores de quimoquinas para inducir una progresión lenta hacia la etapa de SIDA.

Materiales y métodos

Pacientes. Se estudiaron 54 mujeres de bajo riesgo y seronegativas para la infección, que se atienden por diversas patologías en el Hospital Naval de Talcahuano. La clasificación en esta categoría es porque la mayoría de ellas son multíparas y no presentan anticuerpos anti-VIH. Todas las mujeres del estudio firmaron un consentimiento informado aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Concepción.

Extracción de ADN. Se extrajo una muestra de sangre periférica con EDTA, las cuales fueron mantenidas refrigeradas hasta la extracción de ADN, el cual, se desarrolló usando el protocolo descrito por *Lahari et al*⁽²⁴⁾.

Amplificación. El fragmento específico del gen codificante para la proteína CCR5 se amplificó por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los siguientes cebadores o primers: Forward; 5'-ACCAGATCTCAAAAAGAAGGTCT-3', reverse; 5'-CATGATGGTGAAGATAAGCCTCAC-3', los cuales fueron descritos previamente⁽²⁵⁾. La muestras con los primer fueron sometidas a 35 ciclos de amplificación: 5 minutos a 95°C, 35 ciclos de 1 minuto a 95°C, 45 segundos a 58°C y a 1 minuto a 72°C, con una extensión final de 5 minutos a 72°C. El producto de amplificación se sometió a una electroforesis convencional en gel de agarosa al 3%, con un voltaje de migración de 80 mVolts. Luego, se reveló el resultado de las bandas con bromuro de etidio y se visualizó bajo luz ultravioleta en un sistema de foto-documentación UV. El resultado del protocolo de amplificación, resultará en un amplicón de 225 pb correspondiente al producto amplificado de un



sujeto genotípicamente normal. La aparición de un amplicón de 193 pb representará al producto amplificado de un sujeto homocigoto para la mutación. En consecuencia, la presencia de ambas representará a un individuo heterocigoto.

Análisis estadístico. El análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas en la población estudiada se realizó por pruebas de frecuencias en población, y estimación de parámetros en proporciones por prueba de distribución normal, con intervalos de confianza para extrapolar los resultados al universo correspondiente con un nivel de significación del 95%.

Resultados

Para conocer el genotipo de los individuos en estudio, con relación a los genes involucrados en la codificación para la proteína quimoquina CCR5 y su mutación descrita anteriormente, se somete el material genético muestreado a la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), obteniéndose bandas de 255 pb para el alelo normal (CCR5) y de 193 pb para el alelo mutado (*ccr5Δ32*). La presencia de una de estas bandas por evento estudiado, denotará la homocigocidad para el alelo implicado, resultando en los genotipos homocigoto normal (CCR5 / CCR5) y homocigoto mutado (*ccr5Δ32* / *ccr5Δ32*), respectivamente. Este último genotipo no fue encontrado. La presencia de ambas bandas señalará que el evento estudiado posee un genotipo heterocigoto (CCR5 / *ccr5Δ32*). (Véase Figura 1)



Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa 3%. 1) Muestra a un individuo homocigoto para el alelo normal (CCR5 / CCR5). 2) Corresponde a un caso de secuencia heterocigoto (CCR5 / *ccr5Δ32*). 3) Control negativo

Se estudiaron los genotipos de 54 mujeres de bajo riesgo seronegativas para virus VIH. La frecuencia genotípica más alta se encontró para el genotipo homocigoto normal (CCR5 / CCR5), la que se presentó en 50 de los 54 casos estudiados (92,59%). En cuanto a la frecuencia para el genotipo heterocigoto (CCR5 / *ccr5Δ32*) se determinó sólo en 4 casos del total (7,41%). Durante este trabajo no hubo hallazgos de mujeres que presentaran el genotipo homocigoto para la delección de 32 nucleótidos (*ccr5Δ32* / *ccr5Δ32*). (Véase **Tabla 1**)

En relación a la frecuencia en que se encuentran los alelos en estudio (CCR5 y *ccr5Δ32*), podemos denotar que el gen normal (alelo CCR5) apareció 104 veces y el gen mutado (alelo *ccr5Δ32*) se advirtió sólo en 4 oportunidades de las 54 muestras. A continuación se calcularon los porcentajes de cada frecuencia observada, y el intervalo de confianza para cada una de ellas con un nivel de significación del 95% por pruebas de distribución normal. El alelo normal se presentó en un 96,3% de los casos con una estimación en el intervalo de confianza entre 92,73% y 99,86%. Para el alelo mutado, el porcentaje fue de un 3,7% con un intervalo de confianza entre 0,14% y 7,27%. (Véase **Tabla 2**)

Genotipo	Frecuencia Genotípica	
	Observada (Nº)	Porcentaje (%)
CCR5 / CCR5	50	92,59
CCR5 / <i>ccr5Δ32</i>	4	7,41
<i>ccr5Δ32</i> / <i>ccr5Δ32</i>	0	0
TOTAL	54	100

Tabla 1. Análisis de las frecuencias genotípicas. En la tabla se muestran los genotipos encontrados en el estudio, donde homocigoto normal (CCR5 / CCR5), se encontró en 50 muestras correspondientes al 92,59 % de las pacientes estudiadas. El genotipo heterocigoto (CCR5/*ccr5Δ32*), solo se encontró en 4 muestras, correspondientes al 7,41% de las pacientes estudiadas.

Discusión

De las frecuencias genotípicas obtenidas, se puede comentar que la incidencia denotada por los porcentajes expresados, prevalece claramente al genotipo CCR5 / CCR5 con un 92,59% de la población estudiada, poniendo en claro que es éste el mayoritario, en contraste con el porcentaje minoritario de un 7,41% expresado por el genotipo CCR5 / *ccr5Δ32* en la población en estudio. A pesar de que el genotipo homocigoto para la

mutación (*ccr5Δ32* / *ccr5Δ32*) puede aparecer sin problemas, éste no figuró entre los casos en estudio.

Sobre el realizado a las frecuencias alélicas, podemos señalar la gran incidencia que posee el alelo CCR5, tanto en su registro absoluto como relativo, con 104 eventos representando al 96,3% de la totalidad de casos estudiados, ubicándolo como ampliamente predominante en la población. Por su lado el alelo mutante, presenta un 3,7% de frecuencia en la población en estudio, denotando su estado de baja incidencia y minoritariedad en la población. Este último hecho queda enmarcado en la prueba de estimación de parámetros, en donde se analizan las frecuencias alélicas a través de un intervalo de confianza, que ayuda a extrapolar los datos muestrales adquiridos y calculados, hacia el universo correspondiente a la población en estudio. (Tabla 2)

Alelos	Frecuencia Alélica		
	Observados (N°)	Porcentaje (%)	Intervalo de confianza (NS = 95%)
CCR5	104	96,3	92,73% - 99,86%
<i>ccr5Δ32</i>	4	3,7	0,14% - 7,27%
TOTAL	108	100	

Tabla 2. Análisis de las Frecuencias alélicas. La presencia del gen normal (alelo dominante), se encontró en 1as 54 muestras analizadas, de los cuales 50 de ellos se comportaban como homocigoto dominante (2 alelos normales por paciente) y cuatro como heterocigoto (4 alelos normales y 4 alelos mutados). Estos datos entregan una frecuencia de aparición de los alelos (frecuencia alélica): CCR5 un 96,3% y *ccr5Δ32* un 3,7%.

El comentario más indicado para los resultados expuestos en la estimación de intervalos de confianza, en cuanto a la baja frecuencia del alelo *ccr5Δ32*, sería que con una seguridad del 95% se puede estimar que la aparición de éste gen se encuentra comprendida entre el 0,14% y 7,27% de las mujeres de bajo riesgo seronegativas, lo cual debe ser confirmado con un número mayor de pacientes.

Conclusión

De nuestro estudio, el primero de este tipo realizado en Chile, podemos decir, que el alelo mutante fue posible de encontrar en la población; no demostrándose su presencia en la forma de genotipo homocigoto mutante, aunque, no lo descarta. Esto se puede dar por la incidencia

demasiado baja de este alelo, tanto en la población estudiada como en la estimación de su universo, lo que conlleva a deducir que es más probable encontrarlo conjugado con el alelo normal, formando el genotipo heterocigoto, que relacionado con el mismo en ambas cromátidas hermanas, formando el homocigoto para el alelo mutante. Lo anterior se apoya en los resultados expuestos en la **Tabla 1**, demostrando que si bien el alelo se presenta de manera heterocigota en los estudios, esta combinación sólo se encuentra en un 7,41% de la población estudiada. Por lo anterior, al extrapolar la presencia de esta mutación al resto de la población, se puede concluir que sería un mecanismo de resistencia a la infección VIH de baja importancia en nuestra población, relacionado con la velocidad de progresión a SIDA; por lo que es imprescindible una adecuada política de prevención de la infección.

Es importante mencionar que una forma efectiva de corregir esta aparente ausencia del homocigoto mutado, es el aumento de los eventos muestrales analizados, lo que no sólo conllevará a enmendar esta incertidumbre, sino que también trae como consecuencia una mayor precisión de los datos calculados, con una mayor estrechez de los intervalos de confianza para extrapolar los estudios hacia el universo correspondiente.

Referencias

- ABBAS A, LICHTMAN A. Inmunología Celular y Molecular. Editorial Elsevier, quinta edición. 2002. Sección 4, capítulo 11, páginas 254 – 256.
- LEDERMAN M, NICHOLSON A, CHO M, MOSIER D. Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. JAMA. 2006; 296:815–826.
- QUINTANA F, GEBER D, KENT S, COHEN I, SHAI Y. HIV-1 fusion peptide targets the TCR and inhibits antigen-specific T cell activation. The Journal of Clinical Investigation. 2005; 115(8):2149-58.
- VASSILIADOU N, TUCKER L, ANDERSON D. Progesterone-induced inhibition of chemokine receptor expression on peripheral blood mononuclear cells correlates with reduced HIV-1 infectability in vitro. The Journal of Immunology. 1999; 162: 7510-7518.
- TUTTLE D, HARRISON J, ANDERS C, SLEASMAN J, GOODENOW M. Expression of CCR5 increases during monocyte differentiation and directly mediates macrophage susceptibility to infection by human immunodeficiency virus type 1. Journal of Virology. 1998; 72(6):4962-9.
- CREERY D, WEISS W, GRAZIANI-BOWERING G, KUMAR R, AZIZ Z, ANGEL J, et al. Differential Regulation of CXCR4 and CCR5 Expression by Interleukin (IL)-4 and IL-13 Is Associated with Inhibition of Chemotaxis and Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 1 Replication But Not HIV Entry into Human Monocytes. Viral Immunology. 2006; 19(3):409-23.
- TAYLOR J, KIMBRELL K, SCOGGINS R, DALANEY R, WU L, CAMERINI D. Expression and function of chemokine receptors on human thymocytes: implications for infection by human immunodeficiency virus type 1. Journal of Virology. 2001; 75(18):8752-60.

23. RUGELES M, SOLANO F, DIAZ F, BEDOYA V, PATIÑO P. Molecular characterization of the CCR5 gene in seronegative individuals exposed to human immunodeficiency virus (HIV). *Journal of Clinical Virology*. 2002; 23:161 – 169.
24. LEVINE B, SODORA D. HIV and CXCR4 in a kiss of autophagic death. *The journal of clinical investigation*. 2006. Vol. 116, number 8: 2078-80.
25. QUILLET C, OBERLIN E, BRAUN J, ROUSSET D, GONZALES-CANALI G, METAIS P, et al. HIV-1-resistance phenotype conferred by combination of two separated inherited mutation of CCR5 gene. *The Lancet*. 1998; 351(9095):14-8.
26. FU-SHENG W, WEI-GUO H, YUNZHEN C, MING-XU L, LEI J, LIANG-PING H, et al. Population survey of CCR5 32, CCR5 m303, CCR2 b 64I and SDF-1 3 A allele frequencies in indigenous Chinese healthy individuals, and in HIV-1-infected and HIV-1-uninfected individuals in HIV-1 risk groups. *JAIDS*. 2003; 32:124 – 130.
27. ARENZANA-SEISDEDOS F, PARMENTIER M. Genetics of resistance to HIV infection: Role of co-receptors ligands. *Seminars in Immunology*. 2006; 18(6):387-403.
28. AGRAWAL L, LU X, QINGWEN J, VANHORN-ALI Z, NICOLESCU I, MCDERMOTT D, et al. Role for CCR5Delta32 protein in resistance to R5, R5X4 and X4 human immunodeficiency virus type 1 in primary CD4+ cells. *Journal of Virology*. 2004; 78(5):2277-87.
29. MARMOR M., SHEPPARD H, DONELL D, BOZEMAN S, CELUM C, BUCHBINDER S, et al. Homozygous and Heterozygous CCR5-Delta 32 genotypes are associated with resistance to HIV infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2001; 27(5):472-81.
30. LI C, YAN Y, SHIEH B, LEE C, LIN R, CHEN Y. Frequency of the CCR5 delta 32 mutant allele in HIV-1-positive patients, female sex workers, and a normal population in Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association*. 1997; 96(12):979-84.
31. WINKLER C, AN P AND O'BRIEN SJ. Patterns of ethnic diversity among the genes that influence AIDS. *Human Molecular Genetics*. 13:1. 2004.
32. JLIZI A, EDOUARD J, FADHLAOUI-ZID K, FRIGI S, DEBRÉ P, SLIM A, THEODOROU I, AMMAR AB AND CARPENTIER W. Identification of the CCR5-Δ32 HIV resistance allele and new mutations of the CCR5 gene in different Tunisian populations. *Human Immunology* (2007) 68, 993–1000
33. ZAWICKI P AND WITAS HW. HIV-1 protecting CCR5-Δ32 allele in medieval Poland. *Infection, Genetics and Evolution* 8 (2008) 146–151
34. FREITAS T, BREHM A, FERNANDES AT. Frequency of the CCR5-delta32 mutation in the Atlantic island populations of Madeira, the Azores, Cabo Verde, and São Tomé e Príncipe. *Hum Biol*. 2006 Dec; 78(6):697-703.
35. KAUR G, SINGH P, RAPTHAP CC, KUMAR N, VAJPAYEE M, SHARMA SK, WANCHU A, MEHRA NK. Polymorphism in the CCR5 gene promoter and HIV-1 infection in North Indians. *Hum Immunol*. 2007 May; 68(5):454-61.
36. DÍAZ FJ, VEGA JA, PATIÑO PJ, BEDOYA G, NAGLES J, VILLEGAS C, ET AL. Frequency of CCR5 delta-32 mutation in human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and HIV-exposed seronegative individuals and in General Population of Medellín, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2000; 95(2): 237-42.
37. PASSOS GA JR, PICANCO VP. Frequency of the delta CCR5 deletion allele in the urban Brazilian population. *Immunol Lett* 1998; 61(2-3): 205-7
38. MOTTA P, CIBULSKY L, ILIOVICH E, HABEGGER A. Frecuencia del alelo mutado del receptor CCR-5 en individuos HIV-1 positivos y negativos en la provincia del Chaco. *MEDICINA (Buenos Aires)* 2000; 60:431-434.
39. LAHIRI DK, NURNBERGER JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991; 19(19):5444.
40. RUGELES MT, SOLANO F, DÍAZ FJ, BEDOYA VI AND PATIÑO PJ. Molecular characterization of the CCR 5 gene in seronegative individuals exposed to human immunodeficiency virus (HIV). *Journal of Clinical Virology* 23: 161–169, 2002.

