

## VALORES DE LINFOCITOS T ACTIVOS EN PACIENTES CON BOCIO TOXICO DIFUSO (GRAVES-BASEDOW)

Dr. Angel Uriarte (\*)  
Dr. Ernesto Alavez (\*\*)

### RESUMEN

Los valores de linfocitos T de alta afinidad por los glóbulos rojos de carnero (linfocitos T activos) están significativamente disminuídos en pacientes con Bocio Tóxico Difuso (BTD), lo que sugiere una evidencia más, de alteración de la inmunidad mediada por células en esta enfermedad.

No existen diferencias en los valores de linfocitos T totales y linfocitos B entre personas normales y con BTD.

### INTRODUCCION

En el presente, parece estar bien establecido que el Bocio Tóxico Difuso (BTD) es un proceso autoinmune, en donde la presencia de autoanticuerpos antitiroideos en el suero de pacientes portadores del mismo, demuestran la afectación del componente humoral (1,2) sin embargo, en la literatura por nosotros revisada, sólo existe una evidencia de inmunidad mediada por células en esta enfermedad. Esta está dada por la comprobación de la inhibición en la migración de leucocitos la cual es una prueba generalmente aceptada como indicadora de la inmunidad celular (3).

Las hipótesis más modernas plantean que el BTD se debe a defectos congénitos en la vigilancia inmunológica, posiblemente a nivel de un defecto de los linfocitos T supresores, que permiten que clones específicos de linfo-

citosis timo dependientes (T) dirigidos contra el tiroides sobrevivan e interactúen con su antígeno complementario (posiblemente en la membrana de la célula tiroidea) y se establezca una reacción inmune mediada por células.

Este contacto presumiblemente causa la proliferación del clon de linfocitos T sensibilizados y éstos cooperarán con linfocitos B en la producción de autoanticuerpos humorales (4).

La cuantificación de linfocitos por las técnicas de las rosetas constituye en la actualidad uno de los pasos obligados en el estudio inmunológico. Recientemente Wybran y col. (5) haciendo una modificación a la técnica clásica (6) —variando el tiempo de incubación y trabajando con un sistema no saturado eritro-linfocito— han podido detectar células T de alta afinidad por los glóbulos rojos de carnero (linfocitos T "activos"); la roseta así obtenida recibe el nombre de "roseta activa". Según el au-

(\*) Inmunólogo del Instituto de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas. Zapata y D. Habana 4, Cuba.

(\*\*) Profesor de Medicina del Inst. Sup. Ciencias Médicas. Especialista de 1er. Grado en Endocrinología. Inst. Endocrinología y Enfermedades Metabólicas. Zapata y D. Vedado. Habana 4, Cuba.

tor, el número de estas células en la sangre periférica refleja en cierto modo el status inmune celular de las personas.

El objetivo de este trabajo fue investigar los niveles de linfocitos T totales, T activos y B en pacientes con BTB.

## MATERIAL Y METODO

**Obtención de linfocitos:** Se utilizaron 15 muestras de sangre de pacientes portadores de BTB sin tratamiento previo, diagnosticados de acuerdo a los criterios clínicos y de laboratorio del Instituto de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas, índice de tirotoxicosis mayor de 19, PBI mayor de 7 microgramos %, captación de I-131 a las 24 horas mayor de 45%, prueba de inhibición con T3 negativa. Como controles se utilizaron 15 muestras de sangre de individuos aparentemente sanos, donantes del Banco de Sangre. En ambos grupos no existía historia reciente de haber padecido enfermedades infecciosas. Como anticoagulante se empleó heparina.

Se colocaron 10 ml de la muestra diluida a la mitad sobre 5 ml de una mezcla de la sal disódica y la sal metil glucamínica del ácido N, N' diacetil 3-5 diamino 2-4-6 triyodo benzoico (Visotrast) diluido hasta una densidad de 1,077 (7) centrifugándose posteriormente a 2 500 rev/min durante 30 minutos.

Los linfocitos así obtenidos se suspendieron en medio TC-199 (Wellcome Reagents Ltd) suplementado al 10% con suero fetal de ternero; inactivado previamente.

**Identificación de linfocitos T activos, T totales y B:** se siguieron las técnicas de Wybran (5), Urbaniak (8) y Calder (9) respectivamente con ligeras modificaciones. Para la roseta espontánea se incubó a 4 grados centígrados durante 2 horas y en todos los casos se utilizó el Medio TC-199 (Wellcome Reagents Ltd) como diluyente, suplementado con suero fetal de ternero al 10% e inactivado. Terminada la incubación se fijaron con igual volumen de glutaraldehído al 1,2%.

Una gota por duplicado del pellet, suspendido en agua, se colocó sobre láminas portaobjetos, dejándose secar durante la noche. Luego se colorearon con Hematoxilina — Eosina y se contaron bajo el microscopio 400 células en cada preparación por tres observadores distintos, sin conocimiento previo de su origen.

Como roseta se consideró la adherencia de tres o más glóbulos rojos de carnero a un linfocito.

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de U de Mann-Whitner para dos muestras independientes (10).

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos en sujetos aparentemente sanos y con BTB. En las personas controles el promedio de linfocitos T totales fue de  $64,75 \pm 7,24$  y el de linfocitos B fue de  $33,23 \pm 4,63$ ; en los pacientes con BTB el promedio de linfocitos T totales fue de  $66,83 \pm 4,91$  y el de los linfocitos B fue de  $31,68 \pm 3,21$  respectivamente.

Las diferencias halladas entre los grupos no fueron estadísticamente significativas.

Con respecto a los linfocitos T activos, encontramos diferencias altamente significativas ( $p < 0,001$ ) entre ambos grupos ( $32,08 \pm 3,78$  y  $14,26 \pm 6,68$  respectivamente).

En la Fig. 1 se representan gráficamente los valores mencionados de linfocitos T totales, los de alta afinidad y los linfocitos B. La distribución de los linfocitos T totales y de los linfocitos B es similar en los pacientes con BTB y en el grupo control. No sucede lo mismo con los linfocitos T de alta afinidad pues en los pacientes con BTB el % de los mismos es inferior al grupo control.

## DISCUSION

Las poblaciones linfocitarias en el BTB han sido estudiadas por diferentes investigadores

Tabla 1

## VALORES DE LINFOCITOS EN PERSONAS NORMALES Y CON ENFERMEDAD DE GRAVES

	LINFOCITOS T ALTA AFINIDAD	LINFOCITOS T TOTALES	LINFOCITOS B
Normales (15) *	32,08 ± 3,78	64,75 ± 7,24	33,23 ± 4,63
Enf. de Graves (15) *	14,26 ± 6,68	66,83 ± 4,91	31,68 ± 3,21

Los resultados están expresados en media ± D.S. Las diferencias de linfocitos T de Alta afinidad entre las personas normales y con Enf. de Graves son significativas con  $P < 0,001$ . (Prueba U de Mann-Whitney).

\* Número de personas estudiadas.

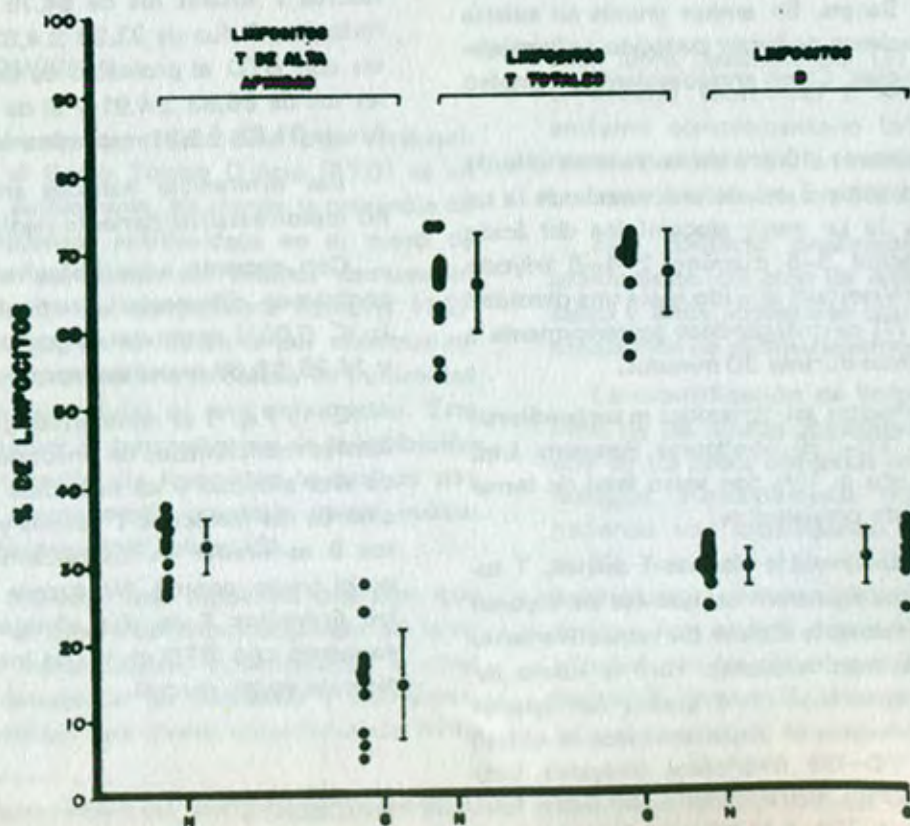


FIG. 1- COMPARACION ENTRE LOS VALORES DE LINFOCITOS T DE ALTA-AFINIDAD, LINFOCITOS T TOTALES Y LINFOCITOS B EN PERSONAS NORMALES (N) Y CON ENFERMEDAD DE GRAVES (G). LAS BARRAS MUESTRAN LA MEDIA ± D.S.

(8, 11, 12, 13) y las contradicciones que surgieron en un principio en cuanto al número de linfocitos T totales ahora parecen estar resueltas (14). En la actualidad todos están de acuerdo en que los valores de linfocitos T totales y B no están alterados en los pacientes con BTD cuando se comparan con individuos normales, y nuestros resultados coinciden con esto.

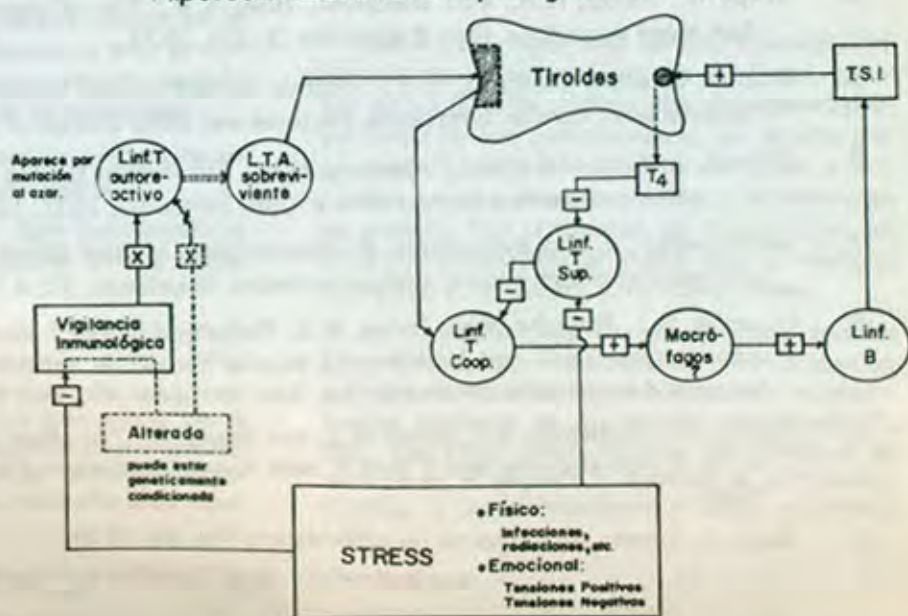
En la literatura por nosotros revisada no encontramos ningún dato sobre los linfocitos T activos en esta enfermedad aunque se hallan valores disminuídos de roseta activa en pacientes con defectos conocidos de la inmunidad celular: síndrome de Nezelof y síndrome de Wiskott—Aldrich. Entre los enfermos con síndrome de Wiskott—Aldrich solamente en aquellos con una respuesta positiva al Factor de Transferencia, según criterios clínicos e inmunológicos, se observa un aumento significativo en los linfocitos T activos (5). También se han señalado valores disminuídos de estos linfocitos, en pacientes con tumores, linfomas, enfermedades virales (5) y valores aumentados en voluntarios con reacción positiva provocada de hipersensibilidad cutánea retardada (15). Todos estos datos resultan evidencias de que los linfocitos T activos están implicados en la respuesta inmune celular. Por lo tanto la disminución de los linfocitos T activos observada

en nuestros pacientes con BTD puede ser un indicador de la participación de la inmunidad celular en esta enfermedad.

En el Instituto de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas, nuestro grupo de trabajo está estudiando la etiopatogenia del BTD. Para ello ha elaborado la siguiente hipótesis de trabajo: el BTD es una enfermedad secundaria a una alteración genética en los mecanismos de vigilancia inmunológica que permite que linfocitos T autorreactivos sobrevivan y proliferen, formándose clones dirigidos contra el propio tiroides. Los linfocitos T cooperantes estarían en estado latente coexistiendo con linfocitos T supresores, estando el equilibrio desplazado hacia la supresión. El estado hipertiroideo se desarrollaría cuando algún factor desencadenante como podría ser el stress, enfermedades virales, etc., deprimiera la población de linfocitos T supresores, permitiendo la cooperación de los linfocitos T cooperantes con los linfocitos B, con la consecuente producción de TSI que serían las causantes directas de la hiperfunción tiroidea.

En nuestra hipótesis sostenemos que deben existir factores de mantenimiento de la enfermedad, posiblemente productos de la misma hiperfunción tiroidea, que mantendrían deprimidos los niveles de linfocitos T supresores Fig. 2.

### Hipótesis sobre la Etiopatogenia del B.T.D.



En la actualidad en nuestros laboratorios estamos trabajando con el objetivo de demos-

trar acción supresora en los linfocitos T activos.

### SUMMARY

**Active T - lymphocyte values in patients with diffuse toxic goiter (Graves- Basedow)**

The values of T - lymphocyte with high affinity for sheep red blood cells (active T - lymphocytes) are significantly decreased in patients with Difusse Toxic Goiter (DTG), suggesting once more the alterations in all - mediated immunity in this disease.

There are no differences between values of total T - lymphocytes and B - lymphocytes among normal person and those with DTB.

### BIBLIOGRAFIA

1. Mori, T and Kriss, J.P.: Measurements by competitive binding radioassay of serum anti-microsomal and anti-thyroglobulin antibodies in Graves' disease and other thyroid disorders. *J. Clin. Endocr. Metab.* 33; 668, 1971.
2. McKenzie, J.M.: Humoral factors in the pathogenesis of Graves' disease. *Physiological Reviews*, 48, 252, 1968.
3. Lamki, L., Row, V.V. Volpe, R.: Cell-mediated immunity in Graves' disease and in Hashimoto's thyroiditis as shown by the demonstration inhibition factor (MIF) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36; 358, 1973.
4. Volpé, R., Fardd, N.R., Von Westar, C., Row, V.V.: The pathogenesis of Graves' disease and Hashimoto thyroiditis. *Clin. Endocrinol.* 3; 239, 1974.
5. Wybran, J. and Fudenberg, H.H.: Thymus derived rosette - forming cells in various human disease states.: Cancer, lymphoma, bacterial and other disease. *J. Clin. Invest.* 52; 1026, 1973
6. Wybran, J., Can, M.C., and Fudenberg, H.H.: The human rosette forming cell as a marker of a population of thymus derived cells. *J. Clin. Invest.* 51; 2537, 1972.
7. Meziharadsky, J. and Babusikova, O.: Disminished in vitro effect of phyrohaemoagglutinin of lymphocytes of rats bearing singenic tumours, *Neoplasma.* 20; 4, 1973.
8. Urbaniak, S.J., Penhake, W.J., Irvine, W.J.: Peripheral blood T and B lymphocytes in patients with thyrotoxicosis and Hashimoto's thyroiditis and in normal subjects: a comparison of lymphocytes separation methods. *Clin. Exp. Immunol.* 18; 449, 1974.
9. Calder, E.A., Urbaniak, S.J., Irvine, W.J., and James, K.: The effect of anti-alpha 2 macroglobulin on K cell cytotoxicity and T and B cells rosette formation. *Clin. Exp. Immunol.* 22; 112, 1975.
10. Siegel, S.: Diseño experimental no paramétrico. Pag. 64, 1970.