

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

ADENOSINA DESAMINASA Y RECEPTORES
SOLUBLES DE INTERLEUQUINA 2 EN EL SIDA

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR:

JERONIMO JAQUETI AROCA

DIRECTORES:

PROF. DR. D. F. JAVIER GOMEZ DE TERREROS SANCHEZ

PROF. DR. D. DAVID MARTINEZ HERNANDEZ

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

D. Francisco Javier Gómez de Terreros Sánchez, Profesor Titular de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid

HACE CONSTAR QUE: El trabajo de investigación titulado "Adenosina desaminasa y receptores solubles de interleuquina 2 en el SIDA" ha sido realizado por D. Jerónimo Jaqueti Aroca bajo su dirección, y que, a su juicio, cumple los requisitos exigibles para poder optar al Grado de Doctor.

V.º B.º
EL TUTOR (2)



José Prieto Prieto

Fdo: 2-7-96

(fecha y firma)

D.N.I.: 7.763.026

El codirector

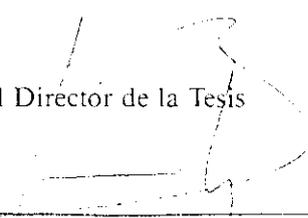


David Martínez Hernández

1-7-96

D.N.I.: 22.444.699

El Director de la Tesis



1-7-96

Fdo: Fco. Javier Gómez de Terreros

(fecha y firma)

D.N.I.: 28.115.372

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

JUAN J. PICAZO DE LA GARZA, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA I DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

INFORMA: Que una vez examinado el Trabajo presentado por D. JERONIMO JAQUETI AROCA, titulado: "Adenosina desaminasa y receptores solubles de interleuquina 2 en el SIDA", este Departamento da su conformidad para que dicho Trabajo sea leído y defendido en público con vistas a su aprobación como Tesis Doctoral.

Fecha reunión
Consejo Departamento

2 de Julio de 1996

El Director del Departamento



Fdo: Juan J. Picazo de la Garza

(fecha y firma)

2-7-1996

DEDICATORIA:

A Araceli, mi mujer, que ha contribuido de una manera especial a la la realización de este estudio.

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS:

Son muchas las personas que contribuyen de una u otra forma al desarrollo de un trabajo de investigación y merecen nuestro agradecimiento. Con el riesgo de olvidar a alguno, querría citar a los siguientes:

Al Profesor D. F. Javier Gómez de Terreros Sánchez, gran promotor de los estudios de tercer ciclo en nuestro hospital, por su apoyo y supervisión durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Profesor D. David Martínez Hernández, que comenzó la presente línea de investigación, propuso su desarrollo, me introdujo en él, y colaboró a su realización.

Al Profesor D. José Prieto Prieto que acogió con agrado este proyecto en el Departamento de Microbiología y me animó a su conclusión.

Al Dr. D. Joaquín Arenas Barbero, que tanto ha contribuido a la realización del presente estudio con su estímulo y sus irreemplazables conocimientos, y cuyo apoyo humano sería difícil exagerar.

Al Dr. D. Jaime Cosín Ochaita, sin cuya colaboración no hubiera sido posible realizar este estudio.

Al Profesor D. Fernando Navarro Gallar, al Dr. D. Ramón J. García Esteban, a la Dra. D^a. Rosario Hernández García, a D^a. Dolores Nicolás Trillo, y a los demás compañeros del Laboratorio Central del Hospital del Aire, por su desinteresada colaboración.

INDICE

| | |
|--|----|
| 1.- INTRODUCCION | 1 |
| 1.1.- MOTIVACION | |
| 1.2.- BASES CELULARES DE LA RESPUESTA INMUNE | 3 |
| 1.3.- MEDIADORES | 7 |
| 1.3.1.- INTERLEUQUINA-2 | 7 |
| 1.3.1.1.- Características generales | 7 |
| 1.3.1.2.- Receptor soluble de IL-2 | 8 |
| 1.3.1.3.- Variaciones patológicas | 9 |
| 1.3.1.3.1.- IL-2 en Enfermedades autoinmunes | |
| 1.3.1.3.2.- sIL-2R en Tumores y Leucemias | |
| 1.3.1.3.3.- sIL-2R en Transplantes | |
| 1.3.1.3.4.- IL-2 en la Gestación | |
| 1.3.1.3.5.- sIL-2R en Pacientes quemados | |
| 1.3.1.3.6.- IL-2 en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias | |
| 1.4.- ADENOSINA DEAMINASA (ADA) | 14 |
| 1.4.1.- Características generales | 15 |
| 1.4.2.- Fisiología celular del enzima | 16 |
| 1.4.3.- Distribución tisular | 16 |
| 1.4.4.- Formas moleculares | 17 |

| | |
|---|--------|
| 1.4.5.- Variaciones patológicas | 18 |
| 1.4.5.1.- Síndrome de Inmunodeficiencia combinada severa (SICS) | |
| 1.4.5.2.- ADA en Enfermedades autoinmunes | |
| 1.4.5.3.- ADA en Anemias hemolíticas | |
| 1.4.5.4.- ADA en Tumores y Leucemias | |
| 1.4.5.5.- ADA en Transplantes | |
| 1.4.5.6.- ADA y Gestación | |
| 1.4.5.7.- ADA en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias | |
| 1.5.- TUBERCULOSIS Y HEPATITIS EN LA INFECCION POR VIH | 25 |
| 2.- HIPOTESIS | 26 |
| 3.- OBJETIVOS | 27 |
| 4.- SUJETOS, MATERIAL Y METODOS | 28 |
| 4.1.- SUJETOS | 28 |
| 4.2.- DISEÑO DEL ESTUDIO | 29 |
| 4.3.- MUESTRAS | 29 |
| 4.4.- METODOS ANALITICOS | 29 |
| 4.5.- METODO ESTADISTICO | 31 |

| | |
|--|----|
| 5.- RESULTADOS | 32 |
| 5.1.- VALORES DE REFERENCIA EN EL GRUPO CONTROL | 32 |
| 5.2.- PACIENTES ESTUDIADOS | 32 |
| 5.3.- VALORES EN LOS PACIENTES | 34 |
| 5.4.- CORRELACION ENTRE ADA Y sIL-2 | 45 |
| 6.- DISCUSION | 48 |
| 7.- CONCLUSIONES | 58 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 59 |

RESUMEN

El déficit en número y función de los linfocitos T4 es la principal alteración de los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Esta alteración ocasiona deficiencias en la respuesta inmune, se correlaciona con la gravedad de la enfermedad y es un factor pronóstico de la evolución del proceso.

La adenosina desaminasa (ADA) es un enzima esencial en el desarrollo y activación de los linfocitos T. La interleuquina-2 (IL-2) es una citoquina liberada por los linfocitos T4 activados. Actúa sobre ellos uniéndose a un receptor específico (IL-2R) transmembrana. Se ha detectado una forma soluble de éste (sIL-2R), presente en sueros normales y en sobrenadantes de cultivos de linfocitos T activados. La actividad de ADA y la concentración de sIL-2R se encuentran alteradas en enfermedades en las que se afecta la inmunidad celular (tuberculosis, hepatitis, leucemias, enfermedades autoinmunes, etc...). Ambas están elevadas en pacientes con infección por VIH, por lo que podría existir una correlación entre ellas.

Se han determinado ADA y sIL-2R en el suero de 104 pacientes VIH positivos (28 en grupo II, 22 en III y 54 en IV) y en 37 controles sanos.

El ADA aumenta significativamente en los pacientes, y el aumento es mayor a medida que progresa la enfermedad. La presencia de hepatitis condiciona un incremento de actividad de ADA con respecto a los pacientes sin hepatitis. La tuberculosis no incrementa la actividad. No se observa una clara correlación con linfocitos ni linfocitos T4. La práctica totalidad de los pacientes presenta valores de ADA patológicos, quizá como consecuencia de la activación de linfocitos y células del sistema monocito-macrófago. La determinación de ADA es discriminante para separar a los pacientes de los controles.

La concentración de sIL-2R aumenta en los pacientes, aunque presenta una gran dispersión. La presencia aislada de hepatitis incrementa los niveles de sIL-2R de forma no significativa. Existe un gran solapamiento entre las concentraciones de sIL-2R de pacientes y controles. No se ha observado relación con linfocitos. El incremento de sIL-2R podría estar relacionado con la activación de linfocitos T y B y células del sistema monocito-macrófago.

No se ha podido observar correlación entre la actividad de ADA y la concentración de sIL-2R.

1.- INTRODUCCION

1.1.- MOTIVACION

En Mayo de 1981, se describe el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) en Estados Unidos (1), como consecuencia de la observación de un número creciente de pacientes jóvenes, previamente sanos, que presentaban graves infecciones causadas por microorganismos oportunistas. Algún tipo de tumores como el sarcoma de Kaposi o el linfoma de Burkitt, que hasta entonces sólo aparecían en pacientes inmunodeprimidos, también surge en el proceso natural evolutivo de los pacientes afectos de SIDA.

En 1984 se consiguió el aislamiento y caracterización de un virus de la familia de los Retrovirus en varios pacientes con SIDA o con el llamado Complejo Relacionado con SIDA (2-5). El Comité Internacional para la Taxonomía de los Virus lo ha designado como Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) (6).

Desde el aislamiento del VIH se han intensificado las investigaciones en los trastornos inmunitarios asociados con el SIDA. Estos defectos inmunitarios han sido atribuidos al efecto directo de la infección por VIH sobre una subpoblación de linfocitos portadores del antígeno CD4 (T4) (7,8).

Desde el primer hallazgo del marcado descenso del número de células T4, los defectos inmunitarios descritos han sido cada vez más abundantes: linfopenia, disminución selectiva de linfocitos T y de la subpoblación T4, disminución de sensibilidad cutánea retardada a antígenos, aumento de inmunoglobulinas séricas, descenso de la respuesta citotóxica de las células "Natural Killer" y de las células T, alteración de la función de los monocitos, etc... (8).

Aunque el número de células T4 se mantenga en niveles normales, como ocurre en los estadios tempranos de la infección por VIH, su función está alterada. A medida que progresa la infección se observa un deterioro progresivo de los mecanismos inmunitarios. En estadios precoces de la infección la relación T4/T8 está invertida, ya sea a expensas del incremento de T8 o por descenso del número de T4. Con posterioridad, desaparece la linfocitosis T8 y se desarrolla la linfopenia de T4. Paralelamente se detecta un descenso en la producción de interleukina-2 y gamma-interferon (9, 10).

Un mayor conocimiento de las alteraciones inmunitarias relacionadas con los linfocitos T, que se producen como consecuencia de la infección por el VIH, nos ha conducido a la realización del presente estudio.

1.2.- BASES CELULARES DE LA RESPUESTA INMUNE

El sistema inmune está formado por los órganos linfoides primarios y secundarios, por los linfocitos y por los macrófagos que circulan por el organismo. En los órganos linfoides primarios (timo y médula ósea) se diferencian y maduran los linfocitos. En los secundarios (bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide) se inicia la respuesta inmune, al entrar en contacto los linfocitos maduros con los antígenos extraños al organismo, que le son presentados por células accesorias (macrófagos fundamentalmente) (11, 12).

Las células del sistema mononuclear-fagocítico de los ganglios linfáticos son las encargadas de presentar el antígeno a los linfocitos, por lo que se las llama "células de exposición antigénica" o "células presentadoras del antígeno". Los antígenos que penetran directamente en la circulación sanguínea interaccionan con los linfocitos en el bazo (11, 12).

Los linfocitos se diferencian de forma diferente, linfocitos T en el timo y linfocitos B en la médula ósea. En los órganos linfoides secundarios existen células de ambas poblaciones en cantidades similares. Los linfocitos T se sitúan en la paracortical del ganglio y en los manguitos periarteriolas del bazo, mientras que los linfocitos B están en los folículos linfoides. En la lámina propia de las mucosas se

encuentran linfocitos B, y en la piel linfocitos T. En sangre periférica existen 6-8 linfocitos T por cada linfocito B (11, 12).

Los linfocitos T se diferencian en subpoblaciones según determinados antígenos de su superficie, los denominados antígenos de diferenciación. Las dos principales son la T4 (antígeno CD4) y la T8 (CD8). Los linfocitos T4 son cooperadores y supresores (en su mayoría) y citotóxicos, los linfocitos T8 son citotóxicos y supresores. Dentro de los linfocitos T, la mayoría son de la subpoblación T4 (T4/T8 = 2) (11, 12).

Las células principales del sistema inmune son los linfocitos. Los macrófagos tienen una acción doble:

- a) como células de presentación antigénica al linfocito;
- y
- b) participando en los procesos inflamatorios, al final de la respuesta, activados por sustancias liberadas por los linfocitos.

Los leucocitos polimorfonucleares también intervienen en los procesos inflamatorios (11, 12).

Los linfocitos T4 solo reconocen a los antígenos si estos les son presentados por una célula en unión de antígenos de histocompatibilidad clase II (los HLA-DR).

Estos HLA-DR se encuentran principalmente en linfocitos B y en los macrófagos (células de presentación) (12).

Los linfocitos T8 citotóxicos (CTL) reconocen a los antígenos extraños si son presentados en la superficie de una célula unidos a antígenos de histocompatibilidad clase I: HLA-A, HLA-B y HLA-C (lo que se llama restricción MHC, dentro del complejo mayor de histocompatibilidad), presentes en casi todas las células del organismo excepto hematíes y trofoblásticas. Esta propiedad de los CTL les hace dedicarse a destruir otras células (12).

Los linfocitos T maduros poseen un receptor para el antígeno, formado por cinco cadenas proteicas que atraviesan la membrana. Dos de ellas (α y β) están unidas covalentemente mediante puentes disulfuro y forman la unidad T_H ó TCR (T cell receptor). Estas cadenas tienen regiones constantes y variables, similares a las de las inmunoglobulinas, y son las responsables del reconocimiento de los antígenos. Las otras tres cadenas (γ , δ y ϵ) forman el complejo T3 ó CD3, cuya principal función parece ser el facilitar la expresión del complejo TCR completo (12).

Los linfocitos T4 en reposo tienen gran cantidad de estos receptores. Su activación se produce cuando reconocen al antígeno unido a antígenos de histocompatibilidad HLA clase II presentado por un

macrófago. Este macrófago libera un factor necesario para la activación llamado interleuquina-1 (IL-1). Esta situación condiciona la desaparición de los receptores de superficie, y la aparición de un gran número de receptores para la interleuquina-2 (IL-2), al tiempo que los linfocitos T4 empiezan a sintetizar esta IL-2. En la activación de los linfocitos T8 los receptores para IL-2 aparecen cuando la célula es activada por un antígeno unido a HLA clase I (11, 12).

Solo cuando se une un número suficiente de moléculas de IL-2 a sus receptores comienza el linfocito T (T4 ó T8) la síntesis de DNA y la proliferación celular. Al cesar el estímulo antigénico reaparecen los receptores para el antígeno y desaparecen los de la IL-2.

Los linfocitos T4 cooperadores son los encargados de iniciar la activación de: los linfocitos T8 citotóxicos, los linfocitos T8 supresores, los linfocitos T4 encargados de la hipersensibilidad celular, las células NK (natural killer), los macrófagos y los linfocitos B. Sobre estos últimos, actúan a través de factores de crecimiento y diferenciación (BCGF y BCDF respectivamente). Los linfocitos B expresan receptores para estos factores cuando interaccionan con un antígeno (11, 12).

1.3.- MEDIADORES

Las interacciones celulares en la respuesta inmune se producen a través de mediadores solubles producidos por las células. Se llamaron linfoquinas a los mediadores producidos por linfocitos y monoquinas a los producidos por monocitos (aunque en ocasiones se les conozca a todos como linfoquinas) (12, 13). Todos estos mediadores tienen una vida media muy corta y un radio de acción muy reducido, por lo que solo son capaces de estimular a los linfocitos que se encuentren en sus proximidades (y que hayan sido activados previamente por un antígeno).

A medida que se fueron identificando estos mediadores se hizo una clasificación según la célula sobre la que actúan, y se les denominó según su función. En los últimos años, algunos se han ido aislando, conociéndose su estructura. Se decidió llamarlos interleuquinas con un número de orden a continuación.

1.3.1.- INTERLEUQUINA-2 (IL-2)

1.3.1.1.- Características generales

La IL-2 es un polipéptido glicosilado con un peso molecular (PM) de 16.000 a 20.000 Dalton. Los linfocitos T activados por antígenos o mitógenos liberan IL-2 en

las primeras horas después de su activación. Aunque parece que todos los linfocitos T son capaces de secretar IL-2 en alguna cantidad, los linfocitos T colaboradores son los responsables primarios de la producción de IL-2 (14-18).

La clonación y secuenciación de los genes que codifican la producción de IL-2 y de su receptor específico (19-23) favorecieron el estudio del mecanismo de unión de IL-2 a su receptor (IL-2R).

El IL-2R es una glicoproteína transmembrana que se une específicamente a la IL-2. Está formado al menos por 2 cadenas. La cadena α , con peso molecular de 55.000 D, y conocida también como antígeno Tac o CD25, es la responsable de la unión de baja afinidad. La cadena β , con peso molecular de 75.000 D, forma una zona de unión de afinidad intermedia, mientras que la unión de ambas cadenas forma el receptor de alta afinidad (24-26, 26b). Los linfocitos maduros forman cadenas β , pero las cadenas α solo se expresan después de la activación linfocitaria. Las cadenas α son entonces un indicador de la fase aguda de la activación de los linfocitos T. Mientras que algunas líneas celulares de linfocitos T y los linfocitos T normales en reposo, no presentan IL-2R en sus superficies celulares, los linfocitos T activados (colaboradores, supresores y citotóxicos), los linfocitos B activados y las líneas celulares leucémicas

infectadas con HTLV-I, expresan grandes cantidades de IL-2R (27-31).

1.3.1.2.- Receptor soluble de IL-2 (sIL-2R)

En 1985, Rubin y cols. (32) detectaron, utilizando anticuerpos monoclonales contra diversos epitopes del IL-2R humana, una forma soluble de este, presente en sueros humanos normales y en sobrenadantes de cultivos de linfocitos T activados. Experimentos subsiguientes han demostrado la existencia de niveles significativos de liberación de IL-2R soluble (sIL-2R) en el sobrenadante de cultivos de líneas celulares T humanas (33, 34). Este sIL-2R, de unos 45.000 D, se genera por proteólisis de la cadena " del IL-2R celular.

1.3.1.3.- Variaciones patológicas

Desde que se determinó la crítica importancia del IL-2R en el mecanismo de respuesta de los linfocitos T, se ha investigado su expresión celular en pacientes con distintos procesos patológicos con intensa alteración de la inmunidad celular, como son: artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, diabetes mellitus, diversas infecciones, leucemias, linfomas, tumores y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) (35, 36).

1.3.1.3.1.- IL-2 en Enfermedades autoinmunes

La liberación de IL-2, la expresión de IL-2R y la concentración de sIL-2R, se han investigado en pacientes con enfermedades de etiología autoinmune, como la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico, la enfermedad celiaca o la diabetes mellitus, encontrando concentraciones elevadas de sIL-2R con respecto a los controles (37-40).

1.3.1.3.2.- sIL-2R en Tumores y Leucemias

Varios autores han descrito un aumento de la concentración de sIL-2R en pacientes con leucemias, linfomas y diversos tumores (41-45).

1.3.1.3.3.- sIL-2R en Transplantes

Las variaciones experimentadas en la concentración sérica y urinaria de sIL-2R, en pacientes receptores de transplantes renales, cardiacos y hepáticos, han sido objeto de estudio por diferentes autores en los últimos años (46-50). Se observaron concentraciones elevadas en los transplantados, que se fueron normalizando con el tiempo. La elevación fue mayor en los rechazos.

1.3.1.3.4.- IL-2 en la Gestación

En 1990, Favier y cols. (51) observaron un incremento de la IL-2 durante la gestación, que desaparece después del parto. Estos autores relacionan este incremento con la inhibición de la actividad de las células NK durante el embarazo.

1.3.1.3.5.- sIL-2R en Pacientes quemados

Teodorczyk-Injeyan y cols. (52) describieron un incremento de la concentración de sIL-2R en pacientes que habían sufrido quemaduras con respecto a los controles. Este incremento fue mayor en los pacientes con peor pronóstico (coincidiendo con una mayor gravedad de las lesiones). Los autores relacionan estos valores con la activación linfocitaria producida durante el proceso.

1.3.1.3.6.- IL-2 en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias

Igualmente se han demostrado alteraciones de la liberación de IL-2 y de la expresión de IL-2R, y concentraciones elevadas de sIL-2R en pacientes con procesos infecciosos en fase aguda y parasitosis sistémicas, en las que se produce una intensa activación de la inmunidad celular, como es el caso de las hepatitis víricas, endocarditis bacteriana,

toxoplasmosis, tripanosomiasis, paludismo, leishmaniasis, esquistosomiasis, etc... (39, 53-63).

En los pacientes con leishmaniasis, toxoplasmosis o helmintiasis sistémicas la concentración de sIL-2R es más alta que la de los controles y de la de los pacientes con helmintiasis intestinales. Los autores consideran que la elevación de los sIL-2R es consecuencia de la activación de linfocitos y macrófagos.

En las hepatitis víricas los valores más elevados se encuentran en la hepatitis agudas y en las crónicas activas (55, 61).

Tung y cols. (64) estudiaron grupos de pacientes con diversas variedades de lepra. En los pacientes con lepra tuberculoide detectaron bajos niveles de sIL-2R y un aumento de la liberación de IL-2. Por el contrario, en pacientes con eritema nodoso o con reacciones de reversión los sIL-2R están elevados, en correlación con la extensión de las lesiones.

Brown y cols (60) publicaron un marcado incremento de los sIL-2R en pacientes con tuberculosis, tanto pulmonar como extrapulmonar. Las concentraciones permanecieron elevadas durante meses, incluso en los pacientes tratados. Los autores atribuyen esta situación

al prolongado estímulo que sufre el sistema inmunitario durante la enfermedad.

En la infección por VIH, varios autores han estudiado las alteraciones en la liberación de IL-2 y en la expresión de IL-2R, observando generalmente una disminución de la producción de IL-2 y de la expresión de IL-2R, que contribuirían al déficit funcional de los linfocitos T (65-71).

Desde finales de los años 80 se han publicado abundantes trabajos en los que se estudió la concentración de sIL-2R en estos pacientes, comparándolos con controles sanos y/o con pacientes con actividades de riesgo VIH negativos. Se ha descrito un aumento en la concentración de sIL-2R en los pacientes VIH positivos, con valores más elevados en los pacientes incluidos en el grupo IV del CDC o en pacientes con SIDA (72-81).

1.4.- ADENOSINA DESAMINASA (ADA)

En 1972, Giblett y cols. (82), describieron dos casos de Inmunodeficiencia Combinada Severa (SICS) asociados con ausencia total de ADA. Fue la primera vez que se relacionó una alteración inmunológica con un déficit enzimático. A esta descripción han seguido un gran número de publicaciones (que totalizan en la actualidad alrededor de un centenar de casos), relativas a pacientes inmunodeficientes, tanto a nivel humoral como celular, y cuya etiología es un déficit de ADA que condiciona un cuadro tóxico a nivel linfocitario.

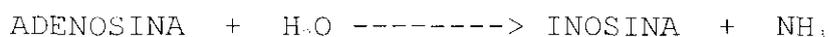
Desde que, en 1978, Piras y cols. (83) describieron el incremento de los niveles de actividad enzimática Adenosina Desaminasa (ADA) en líquido pleural de pacientes con tuberculosis, se ha publicado un gran número de trabajos en los que se investiga el valor diagnóstico del enzima en fluidos biológicos de pacientes con tuberculosis (83-89).

En 1985, Slaats y cols. (90), adaptaron la determinación de la actividad ADA a un sistema automático de tipo discreto, con el fin de facilitar su cuantificación.

1.4.1.- Características generales

La ADA es una enzima perteneciente al grupo de las aminohidrolasas, que cataliza la desaminación oxidativa de la adenosina y de la 2'-deoxiadenosina, obteniendo como productos inosina (o 2'-deoxiinosina) y amoníaco (91). La reacción transcurre de una forma irreversible (92).

ADA



La enzima presenta formas moleculares múltiples en virtud de un polimorfismo genético. Las distintas formas moleculares se generan postranscripcionalmente debido a modificaciones de la proteína catalítica tras la traducción del mRNA, y por su unión a una porción glucídica (92). La subunidad catalítica de ADA es una proteína con un PM de 36.000 a 38.000 Daltons.

El estudio electroforético del hemolizado de hematíes en gel de agarosa, da como resultado la presencia de tres bandas, una mayor y otras dos menores (93). El estudio con la misma técnica analítica, de otras muestras procedentes de diferentes tejidos,

muestran patrones isoenzimáticos más complicados, los cuales son en gran parte específicos de cada tejido, y presentan un PM mayor que el de la forma presente en los hematíes (94).

1.4.2.- Fisiología celular del enzima

Nicholson y cols. (95), estudiaron la inhibición del enzima mediante la 2-deoxicoformicina. Usando poblaciones de linfocitos de ratón observaron un descenso de la supervivencia de éstos cuando se inhibía la ADA, y un incremento en la población celular superviviente de células productoras de anticuerpos. Estos autores llegaron a la conclusión de que las células más sensibles a este tipo de inhibición son los linfocitos T, mientras que no se presentó ningún efecto sobre los linfocitos B ni sobre los macrófagos.

1.4.3.- Distribución tisular del enzima

El enzima se localiza principalmente en la fracción citosólica celular, con una presencia escasa en el núcleo (91). Diferentes observaciones sugieren que presenta una función detoxificante, particularmente importante a nivel del tejido linfoide. La inhibición de la ADA produce un aumento de la toxicidad de sus sustratos. La adenosina y la deoxiadenosina son tóxicos para las células ADA deficientes a concentraciones micromolares, mientras que concentraciones milimolares

de inosina y deoxiinosina no lo son. La actividad ADA es generalmente mayor en tejido linfoide que en el no linfoide. El déficit de ADA causa linfopenia selectiva e inmunodeficiencia (96).

1.4.4.- Formas moleculares

Mediante electroforesis en gel de agar, se han descrito 3 formas moleculares diferentes en los hematíes, caracterizadas por una banda ancha y dos estrechas, las cuales se han usado para explicar el polimorfismo genético del enzima. Se han propuesto dos fenotipos básicos según la movilidad electroforética de estas tres bandas. El fenotipo ADA 2 se caracteriza por presentar una movilidad anódica más lenta que el fenotipo ADA 1. La expresión codominante de los dos alelos se manifiesta como ADA 2,1, localizándose en locus autosómicos. Así los fenotipos ADA 1, ADA 2, ADA 2,1; son la expresión fenotípica correspondiente a los genotipos ADA1/ADA1, ADA2/ADA2, ADA2/ADA1; respectivamente.

El genotipo ADA2 es mucho menos común que el genotipo ADA1, con una frecuencia de 0,03 a 0,11 en razas negra, inglesa e indoasiática (78). El estudio electroforético de muestras diferentes del hemolizado de los hematíes, presenta un patrón isoenzimático más complicado y tiene un componente de histo especificidad. La mayoría de éstas formas moleculares de ADA tienen un PM mayor que la presente en los hematíes (94).

La proteína de unión al monómero catalítico de la ADA, tiene una estructura y una función normal en el déficit enzimático, según se ha podido determinar. Actualmente se piensa que la causa del déficit de ADA se debe a la presencia de un enzima mutante que posee actividad residual, aunque con diferentes propiedades cinéticas y electroforéticas y diferente termoestabilidad (97). Los estudios con anticuerpos anti-ADA normal, dejan pocas dudas de la presencia de un enzima mutante en el déficit de ADA (98, 99).

Mediante electroforesis con soporte de gel de almidón, Hirschhorn y cols. (100), han separado los aleloenzimas de cinco pacientes que presentaban un Síndrome de Inmunodeficiencia Combinada Severa (SICS) por déficit de ADA. Estos autores, han identificado al menos 5 alelos anormales diferentes, en estos 5 pacientes. De ellos, 3 tenían una migración más catódica que los otros. Un aleloenzima era anódico y un quinto no migró en ningún sentido. Fenotípicamente, todos fueron indistinguibles entre sí.

1.4.5.- Variaciones patológicas

1.4.5.1.- Síndrome de Inmunodeficiencia Combinada Severa (SICS)

Los síndromes que cursan clínicamente con inmunodeficiencia se pueden clasificar según se encuentre afectada la inmunidad celular, la humoral, o

ambas. La inmunidad celular requiere la intervención de varios tipos de células, de las cuales los linfocitos T son las más características. Las inmunoglobulinas son los elementos más importantes de los mecanismos de la inmunidad humoral, y su producción es linfocito B dependiente. Debido al nivel de interdependencia que presentan los dos sistemas inmunitarios descritos, resulta imposible separarlos completamente el uno del otro, aunque los defectos inmunes primarios que afecten a uno de los dos mecanismos, pueden bloquear una de las dos vías, dejando relativamente inafectada a la otra. La inmunodeficiencia combinada severa es un término que describe un síndrome en el que tanto la inmunidad celular como la humoral se ven seriamente comprometidas (92, 101, 102).

1.4.5.2.- ADA en Enfermedades autoinmunes

La actividad sérica de ADA se encuentra disminuída en pacientes diagnosticados de artritis reumatoide. Las alteraciones pueden correlacionarse con la edad, tratamiento antiinflamatorio y recuento de células T circulantes. Los autores no descartan de una manera definitiva la existencia de una alteración del metabolismo de las purinas en la etiopatogenia de la artritis reumatoide (103, 104).

Taylor (105) midió la concentración catalítica de la ADA y del enzima convertidor de la angiotensina I

(ECA) en pacientes que presentaban sarcoidosis. De los 18 pacientes estudiados, 17 presentaban alteraciones en los valores de ADA y/o ECA.

En 1981, Storch y cols. (106) observaron una elevada actividad en plasma, pero baja en eritrocitos y linfocitos, en pacientes con enfermedades autoinmunes.

1.4.5.3.- ADA en Anemias hemolíticas

Valentine y cols. (107) describieron la asociación de una anemia hemolítica hereditaria, que se transmitía por un mecanismo dominante, con una importante reducción de la concentración de adenina en los hematíes. Un estudio más exhaustivo indicó que los hematíes de este paciente presentaban una actividad de ADA 45-70 veces mayor que la de los valores de referencia.

Glader y cols. (108) presentaron una serie de datos que demuestran que la actividad de ADA se encuentra incrementada en la anemia hipoplásica congénita (Síndrome de Diamond-Blackfan). Igualmente, Kanno y cols. (109) publicaron cuatro casos de anemia hemolítica hereditaria no esferocítica asociada a hiperproducción de ADA eritrocítica.

1.4.5.4.- ADA en Tumores y Leucemias

Se han descrito elevaciones de la concentración catalítica sérica de ADA en tumores gástricos (91, 110) y en síndromes mieloproliferativos y linfoproliferativos (111-116).

En 1981, Storch y cols. (106), publicaron que la actividad ADA es uniformemente baja en hematíes y linfocitos de pacientes con linfomas no-hodgkinianos y mieloma múltiple. Por el contrario, la actividad se incrementó en el caso de la leucemia mieloide.

1.4.5.5.- ADA en Transplantes

Orts y Frey (117) estudiaron la actividad sérica de ADA en receptores de transplantes renales, antes del transplante y durante los primeros días del período postoperatorio, tratando de averiguar su posible papel como marcador de rechazo del injerto, no encontrando diferencias significativas.

Los estudios de Lum y cols. (118) acerca del papel que la inhibición de la ADA pueda tener en los rechazos de aloinjertos, indican que la inhibición de la ADA tiene un cierto papel inmunosupresor, que puede ser potenciado por la adición de deoxiadenosina. Estos autores creen que las células mononucleares detectables en sangre periférica de los pacientes con rechazo renal,

al ser muy ricas en ADA, serían susceptibles al efecto de los inhibidores de la ADA.

1.4.5.6.- ADA y Gestación

En 1990 se describió una disminución de la actividad sérica de ADA en gestantes (119). Esta disminución se presentaba ya en el primer trimestre, sin variaciones adicionales en los trimestres siguientes. Los autores atribuyen esta disminución a la tolerancia inmunológica que se produce durante la gestación.

1.4.5.7.- ADA en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias

Como ya se ha mencionado anteriormente, Piras y cols. (83), en 1.978, describieron la elevación ADA en exudados pleurales de pacientes afectos de tuberculosis pulmonar, frente a los valores normales observados en pacientes afectos de derrame pleural de origen metaneumónico o neoplásico.

La posibilidad de que la determinación de ADA tuviese un valor diagnóstico en pacientes con tuberculosis, motivó la realización de gran número de trabajos en los que se investigaba la actividad de ADA en fluidos biológicos y su relación con la enfermedad tuberculosa (84-89, 120-125). Se han propuesto distintos valores discriminantes (120, 121, 124, 126) que suelen tener un elevado valor predictivo negativo.

Se han descrito elevaciones de la actividad del enzima en enfermedades parasitarias sistémicas, como el paludismo (127), la toxoplasmosis (128) o la anisakiasis (129), aunque puede estar discretamente disminuída en parasitosis intestinales (130). En otras enfermedades infecciosas con intensa afectación de la inmunidad celular, como la fiebre botonosa mediterránea (131-133), la fiebre tifoidea (91) y la brucelosis (134), y en neumonías causadas por micoplasmas, clamidias o adenovirus (135), también se han detectado incrementos de ADA sérica.

En las hepatitis víricas se han descrito diversas alteraciones. Nardiello y cols. (136) observaron una disminución de la actividad de ADA en linfocitos en hepatitis crónicas activas. Los niveles de ADA se normalizaban con la remisión. En suero se han publicado incrementos de ADA tanto en la hepatitis B como en la C (137-139). Los incrementos eran mayores en la hepatitis C y en las B ADN positivas. Sin embargo no se han observado diferencias entre las hepatitis C crónicas ARN positivas y ARN negativas (138).

Delia y cols. (140), en 1987, y Martínez-Hernández y cols. (141), en 1988, Ratieri y cols. (142) y Gakis y cols. (143), en 1989, publicaron un incremento de la actividad sérica de ADA en pacientes con diferentes estadios del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

(SIDA). En algunos casos, estos incrementos se han relacionado con el descenso de los linfocitos T4 (144), pero otros autores no han hallado correlación ni con los T4 (142, 143, 145) ni con los linfocitos totales (142, 143). Gakis y cols. (143) atribuyen la elevación de ADA a la activación de los monocitos-macrófagos, mientras que otros autores (146) consideran que se activa el gen sintetizador del enzima.

En algunos estudios se determinó la actividad de ADA en células de sangre periférica de pacientes infectados por VIH. Distintos autores (147-149) observaron un incremento de la actividad específica de ADA en hematíes de pacientes con distintos estadios de SIDA. Sin embargo, Glader y Backer no han encontrado diferencias con los controles (150), ni tampoco las han descrito varios autores que han determinado isoenzimas de ADA (151, 152). También se hallaron resultados discrepantes en linfocitos y células "natural killer" (153, 154). Estas discrepancias podrían deberse a la complejidad del manejo de la muestra elegida.

Niedzwicki y cols. (155) describieron un incremento de ADA2 en suero de pacientes VIH negativos que seroconvirtieron a VIH positivos, pero no observaron posteriores aumentos durante la evolución de la enfermedad.

1.5.- TUBERCULOSIS Y HEPATITIS EN LA INFECCION POR VIH

En nuestro país la mayoría de los pacientes VIH positivos son ADVP (156). La elevada frecuencia con la que se detectan tuberculosis en ambos grupos de pacientes (156-158) puede condicionar alteraciones en la actividad de ADA como consecuencia de la afectación inmunitaria producida por una u otra enfermedad. Los autores que han investigado los niveles de ADA en pacientes con SIDA y tuberculosis han publicado resultados contradictorios (121, 144, 146, 159, 160)

Las hepatitis víricas también pueden alterar la actividad de ADA. Estas enfermedades son muy frecuentes entre los VIH positivos de nuestro medio, debido al elevado porcentaje de pacientes adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) (156, 158). Martínez-Hernández y cols. (161) han descrito un incremento mayor de la actividad de la enzima en pacientes VIH positivos que además presentaban hepatitis B.

2.- HIPOTESIS

Ya que el VIH afecta fundamentalmente al número y a la función de los linfocitos T, y los pacientes infectados presentan alteraciones en los niveles séricos de ADA y de sIL-2R, puede existir una correlación entre ambos parámetros.

3.- OBJETIVOS

El presente trabajo se plantea los siguientes objetivos:

1°.- Estudiar la actividad sérica de ADA en pacientes infectados por el VIH en función de los estadios de la enfermedad.

2°.- Estudiar la concentración sérica de sIL-2R en pacientes infectados por el VIH en función de los estadios de la enfermedad.

3°.- Estudiar la posible correlación entre la actividad sérica de ADA y la concentración sérica de sIL-2R en estos pacientes.

4°.- Estudiar la posible influencia de la tuberculosis y/o hepatitis vírica en la determinación de los niveles de ADA y de sIL-2R en pacientes VIH positivos.

4.- SUJETOS, MATERIAL Y METODOS

4.1.- SUJETOS

Un grupo de estudio formado por 104 personas infectadas por el VIH, incluidas en los grupos II, III ó IV de la clasificación del Center for Diseases Control (162) con las modificaciones aceptadas en 1.993 por el Centro Europeo (163). En el grupo había 75 varones y 29 mujeres, con edad (media \pm desviación estándar) de 28,9 \pm 5,9 años (límites: 19 y 57).

Como grupo control se han utilizado 37 personas (26 varones y 11 mujeres), de edad similar, que en el momento del estudio no presentaban síntomas de enfermedad.

Los criterios para incluir a los pacientes en los grupos de tuberculosis o hepatitis fueron:

- tuberculosis: aislamiento microbiológico o sospecha clínica y respuesta al tratamiento específico.

- hepatitis: presencia de antígeno de superficie de la hepatitis B, o serología positiva a virus B y/o C y elevación mantenida de transaminasas.

4.2.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo de casos y controles.

4.3.- MUESTRAS

La sangre se extrajo en ayunas, procurando que la estasis venosa fuese la menor posible. Una vez separados los sueros, estos fueron congelados a -20EC hasta el momento de su utilización.

4.4.- METODOS ANALITICOS

4.4.1.- ADA

La actividad sérica de ADA se ha determinado mediante un reactivo comercial (Adenosina Desaminasa (ADA), Boehringer Mannheim), basado en el método de Blake y Berman (164), utilizando un autoanalizador Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).

4.4.2.- sIL-2R

La concentración sérica de sIL-2R se ha determinado mediante enzimoimmunoanálisis (EIA), utilizando reactivos comerciales (CELLFREE, T Cell Sciences, Inc., Cambridge, MA, EEUU).

El método de determinación es un EIA sandwich. Los

anticuerpos monoclonales anti-IL-2R están fijados en el fondo de pocillos de placas de microtitulación de poliestireno. El suero problema se incuba en estos pocillos, y los s-IL-2R se unen a los anticuerpos monoclonales. Las partes del suero que no se han unido se eliminan por lavado. Un anticuerpo monoclonal anti-IL-2R dirigido contra un segundo epítoto del IL-2R, y conjugado con una peroxidasa, se añade a los pocillos de la placa, en donde se unirá al IL-2R capturado por el primer anticuerpo. Los componentes libres se eliminan mediante un nuevo lavado. A continuación, se añade un substrato a los pocillos, que reacciona con la peroxidasa produciéndose una reacción coloreada, cuyo color es proporcional a la concentración de IL-2R presente en el suero. La reacción se detiene con ácido sulfúrico 2N y se mide a 490 nanómetros en un espectrofotómetro lector de placas. Los valores se determinan mediante una curva preparada a partir de los resultados de cinco estándares, ensayados por duplicado.

4.4.3.- ANALISIS DE RUTINA

A los pacientes se les realizaron pruebas analíticas de rutina para el control de su enfermedad: hemograma, bioquímica sanguínea básica (glucosa, colesterol, triglicéridos, creatinina, GOT, GPT, GGT, etc...) y recuento de subpoblaciones linfocitarias T4 y T8.

4.5.- METODO ESTADISTICO

Se ha utilizado el programa estadístico SIGMA de Horus S.A.. Se han determinado el ajuste a una distribución normal mediante el método de Kolmogorov-Smirnov, la media, la desviación estándar, el error estándar de la media, el rango, y los valores máximo y mínimo). Se han estudiado las posibles diferencias entre los grupos mediante la comparación múltiple de medias, la prueba de la t de Student y la prueba de Kruskal-Wallis. Para el estudio de la correlación se ha utilizado el coeficiente de Pearson (165).

5.- RESULTADOS

5.1.- VALORES DE REFERENCIA EN EL GRUPO CONTROL

Una vez obtenidos los resultados, y tras comprobar que se ajustaban a una distribución normal, se ha calculado el valor medio y la desviación estándar (DE). Con el fin de obtener un rango aplicable al 95% de la población a la media se le sumó y restó dos veces la DE.

Para el ADA los valores obtenidos han sido:

media de 8,5 U/l, DE de 2,7 U/l y error estándar de la media de 0,44; límites de 3,1 y 13,9 U/l.

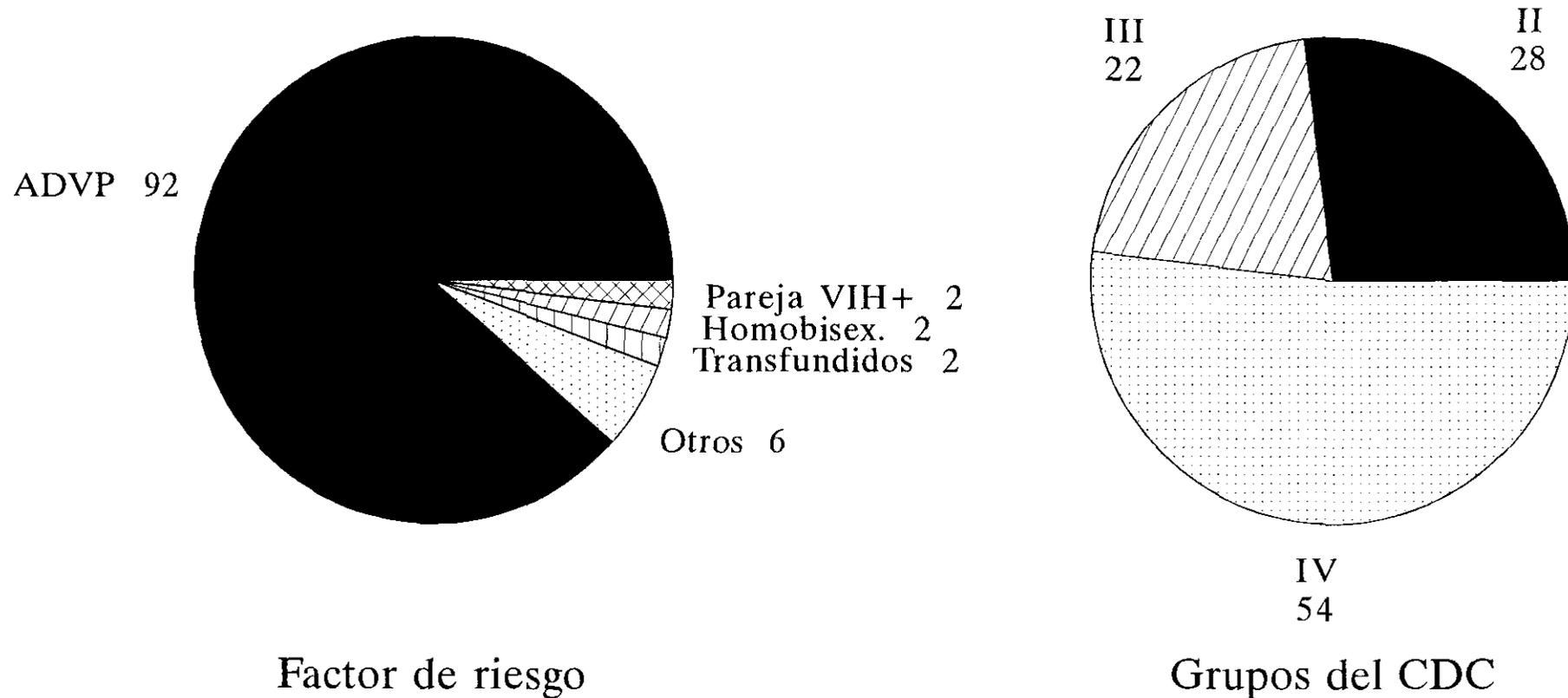
Para los sIL-2R:

media de 865 U/ml, DE de 154 U/ml, y error estándar de la media de 25,3; obteniendo unos límites de 557 y 1.173 U/ml.

5.2.- PACIENTES ESTUDIADOS

Se han estudiado 104 pacientes pertenecientes a los estadios II (n=28), III (n=22) y IV (n=54) de la clasificación del C.D.C. (figura 1). El 88,5 % eran adictos a drogas por vía parenteral.

Figura 1.- Distribución de los pacientes (n=104)



Presentaron tuberculosis 14 pacientes, hepatitis 21, y ambas enfermedades 8. Los 21 pacientes con hepatitis se distribuyeron entre el estadio II (10), el III (5) y el IV (6).

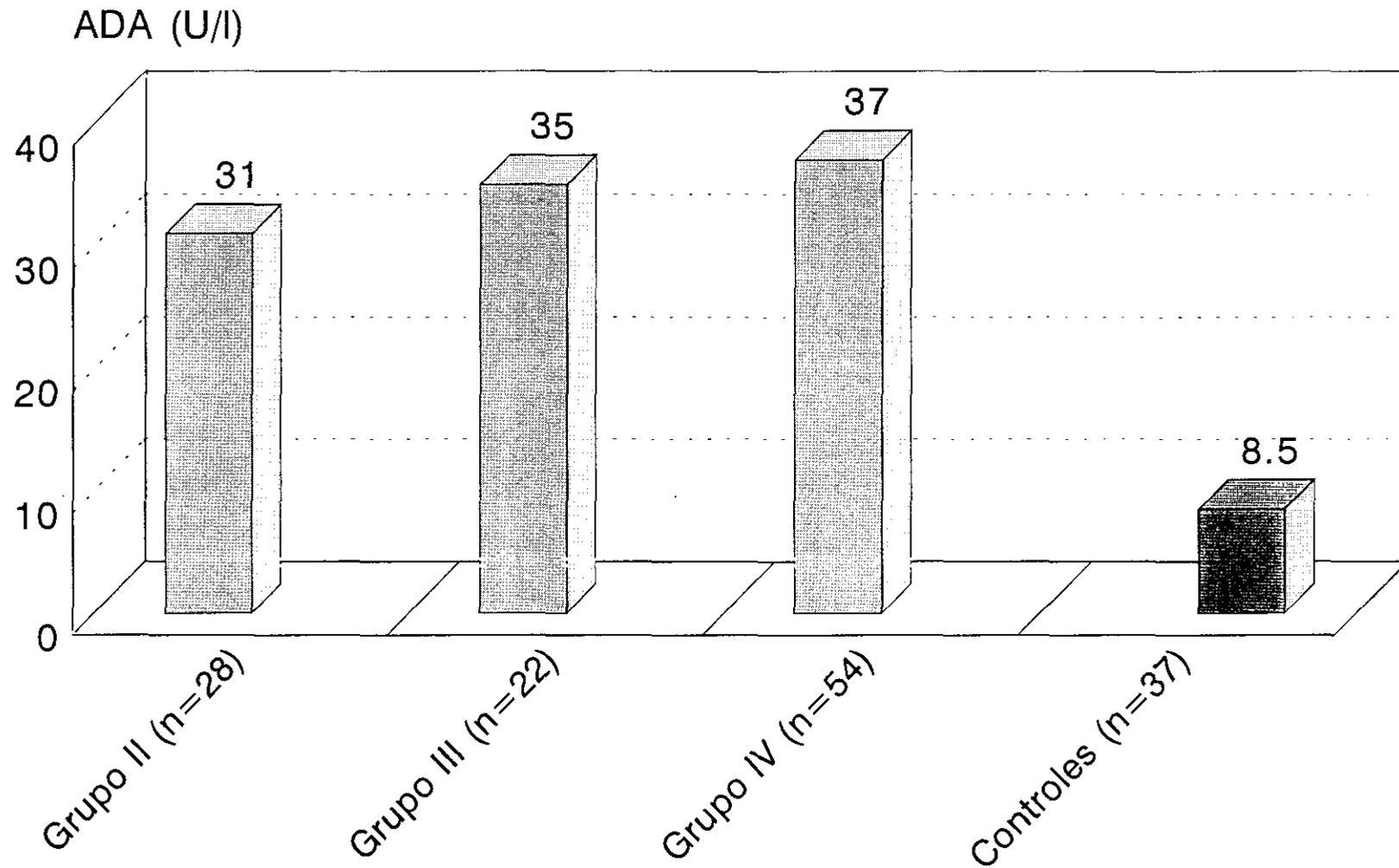
Un total de 16 pacientes seguía tratamiento con zidovudina o azidotimidina (AZT) durante un periodo de tiempo de 228 ± 163 días (intervalo de 21 a 555). Uno de los pacientes pertenecía al estadio III y los otros 15 al IV. En 2 casos los pacientes padecían tuberculosis y en uno, tuberculosis y hepatitis.

5.3.- VALORES EN LOS PACIENTES

La actividad de ADA está incrementada significativamente en los paientes con respecto a los controles (figura 2). Lo mismo sucede con la concentración de sIL-2R (tabla 1), aunque la gran dispersión observada en algunos estadios hace que no siga una distribución normal.

Si consideramos por separado, dentro de cada estadio, a los pacientes que presentan hepatitis, se observa un incremento de la actividad ADA con respecto a aquellos pacientes sin hepatitis (figura 3). Las diferencias entre las concentraciones de sIL-2R de los pacientes con y sin hepatitis no llegan a ser significativas (figura 4).

Figura 2.- Actividad de adenosina desaminasa (ADA) sérica (según estadíos del CDC)



$p < 0,01$ entre II y IV

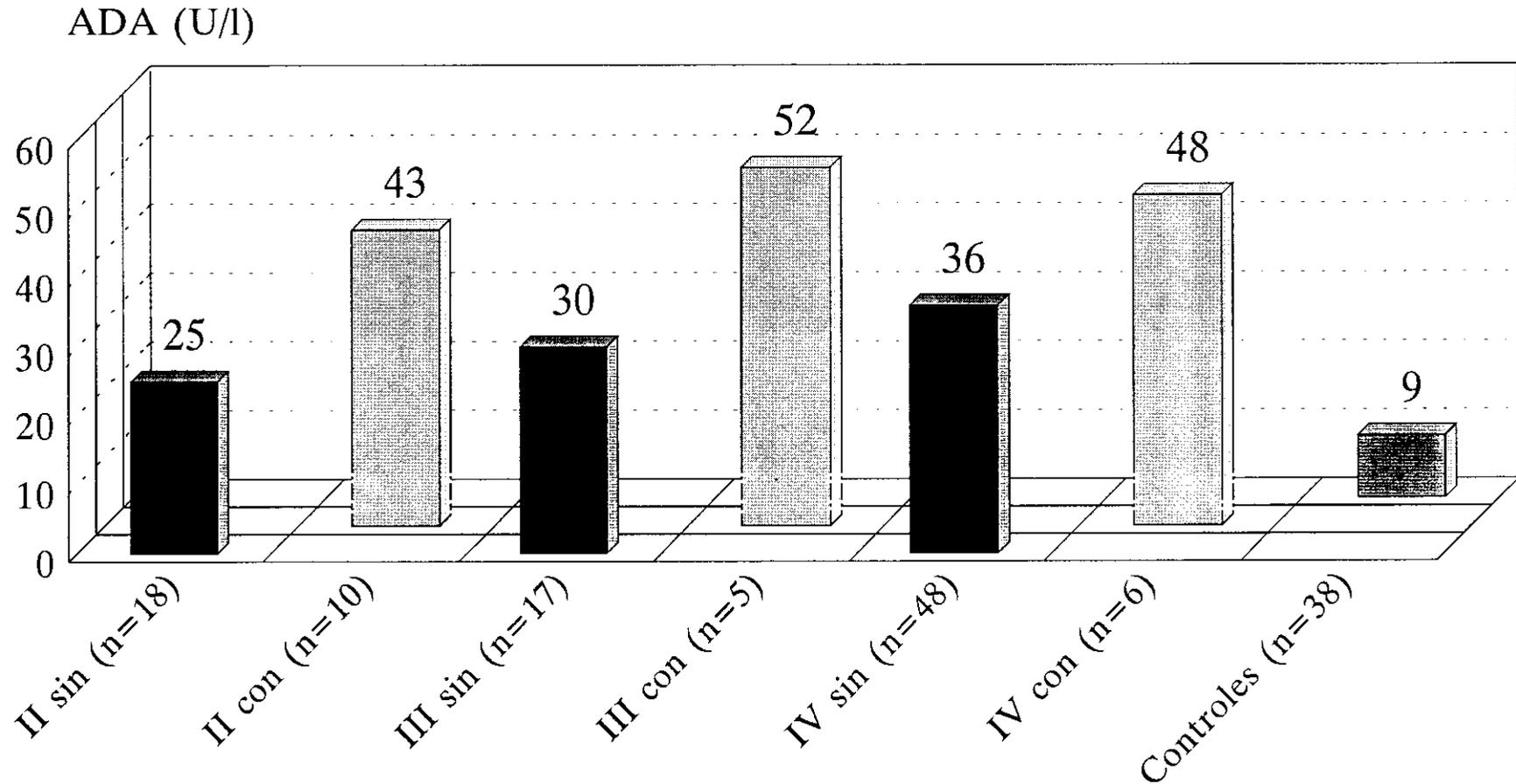
$p < 0,001$ entre controles y los demás grupos

Tabla 1.- Concentración sérica de sIL-2R (en U/ml)
(según estadíos del CDC)

| | media \pm DE | límites | mediana |
|------------------|----------------|----------|---------|
| Grupo II (n=28) | | 560-6320 | 1396 |
| Grupo III (n=22) | 1534 \pm 449 | 590-2415 | 1431 |
| Grupo IV (n=54) | | 660-6480 | 1447 |
| Controles (n=37) | 865 \pm 154 | 550-1210 | |

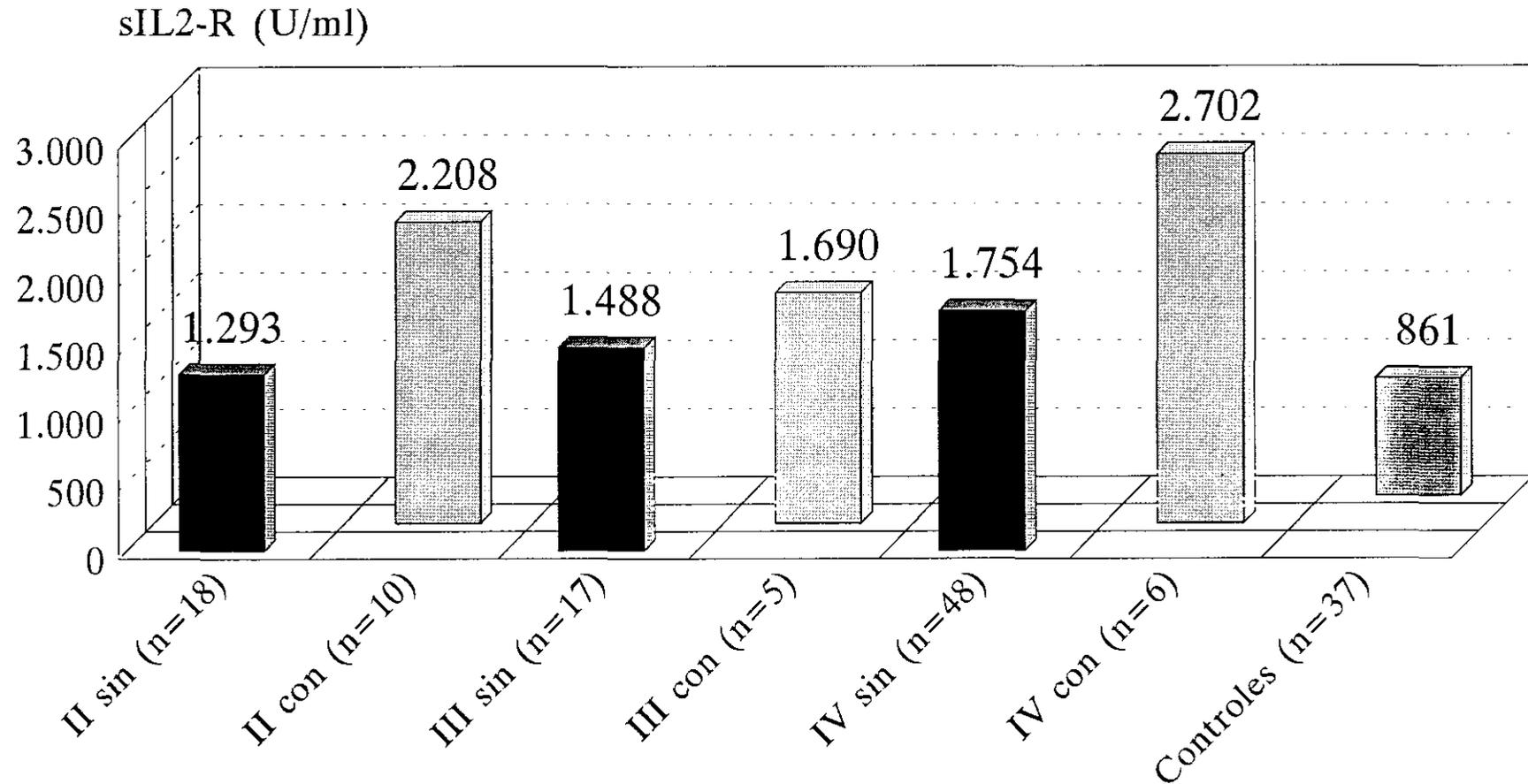
diferencias significativas ($p < 0,05$) entre controles y cualquier grupo
no significativas entre los grupos de pacientes

Figura 3.- ADENOSINA DESAMINASA (ADA) EN PACIENTES VIH + SIN Y CON HEPATITIS (SEGUN GRUPOS DEL CDC)



$p=0,056$ entre II sin y II con hepatitis
 $p<0,05$ entre II sin y IV sin hepatitis
 $p<0,001$ entre controles y todos los subgrupos

Figura 4.- sIL-2R EN PACIENTES VIH POSITIVOS SIN Y CON HEPATITIS (SEGUN GRUPOS DEL CDC)



$p < 0,001$ entre controles y II sin, III y IV sin

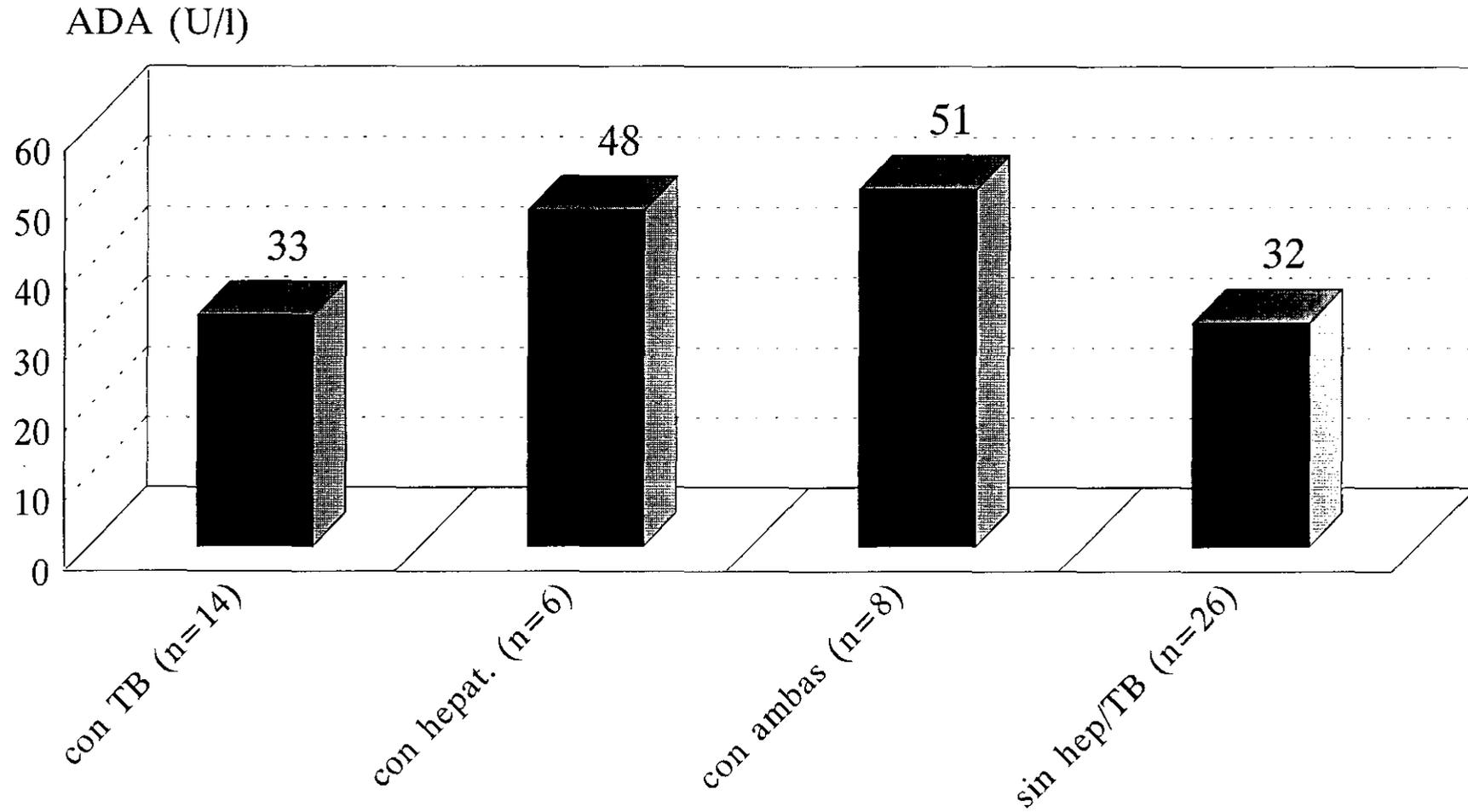
$p < 0,05$ entre controles y II con; $p < 0,1$ entre controles y IV con

No significativo entre los distintos subgrupos

En el estadio IV la actividad ADA es más elevada en los pacientes que presentan hepatitis (figura 5). Un hecho similar se produce con respecto a la concentración de sIL-2R, aunque en este caso la diferencia no es significativa (figura 6).

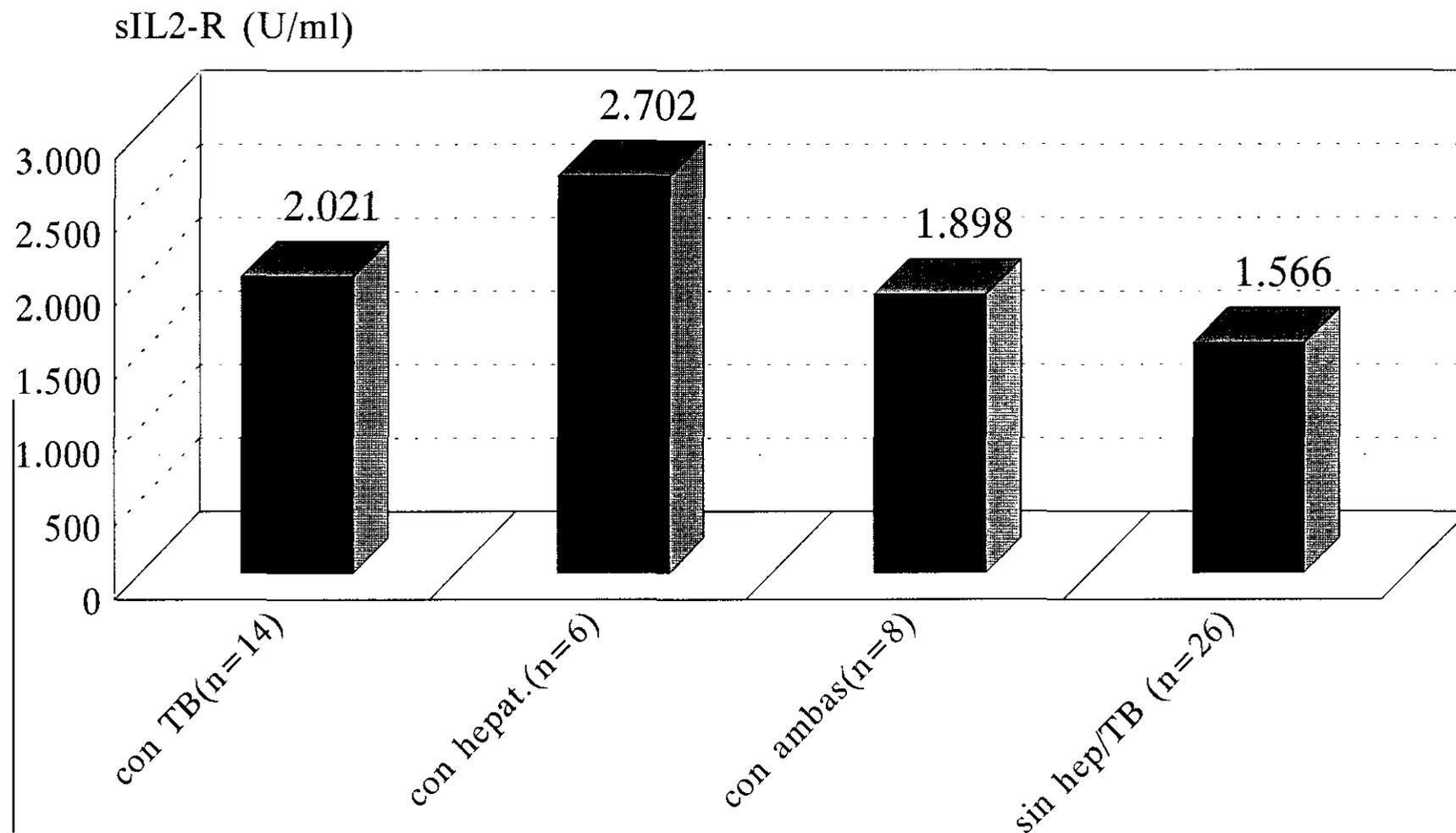
Con respecto al ADA, no se han observado diferencias significativas entre los pacientes incluidos en el estadio IV en relación al tratamiento con AZT. Sí existen diferencias ($p < 0,05$) entre las concentraciones de sIL-2R de estos pacientes con y sin tratamiento (1.388 ± 522 U/ml frente a 2.058 ± 1.407 U/ml). Las diferencias no son significativas si consideramos solo a los 26 pacientes que no presentan hepatitis ni tuberculosis (1.380 ± 559 U/ml frente a 1.725 ± 795 U/ml).

Figura 5.- ADENOSINA DESAMINASA (ADA) EN PACIENTES VIH + SIN Y CON HEPATITIS O TUBERCULOSIS (GRUPO IV)



$p < 0,01$ entre pacientes sin hepatitis y con hepatitis
 $p < 0,05$ entre pacientes con TB y pacientes con hep y hep/TB

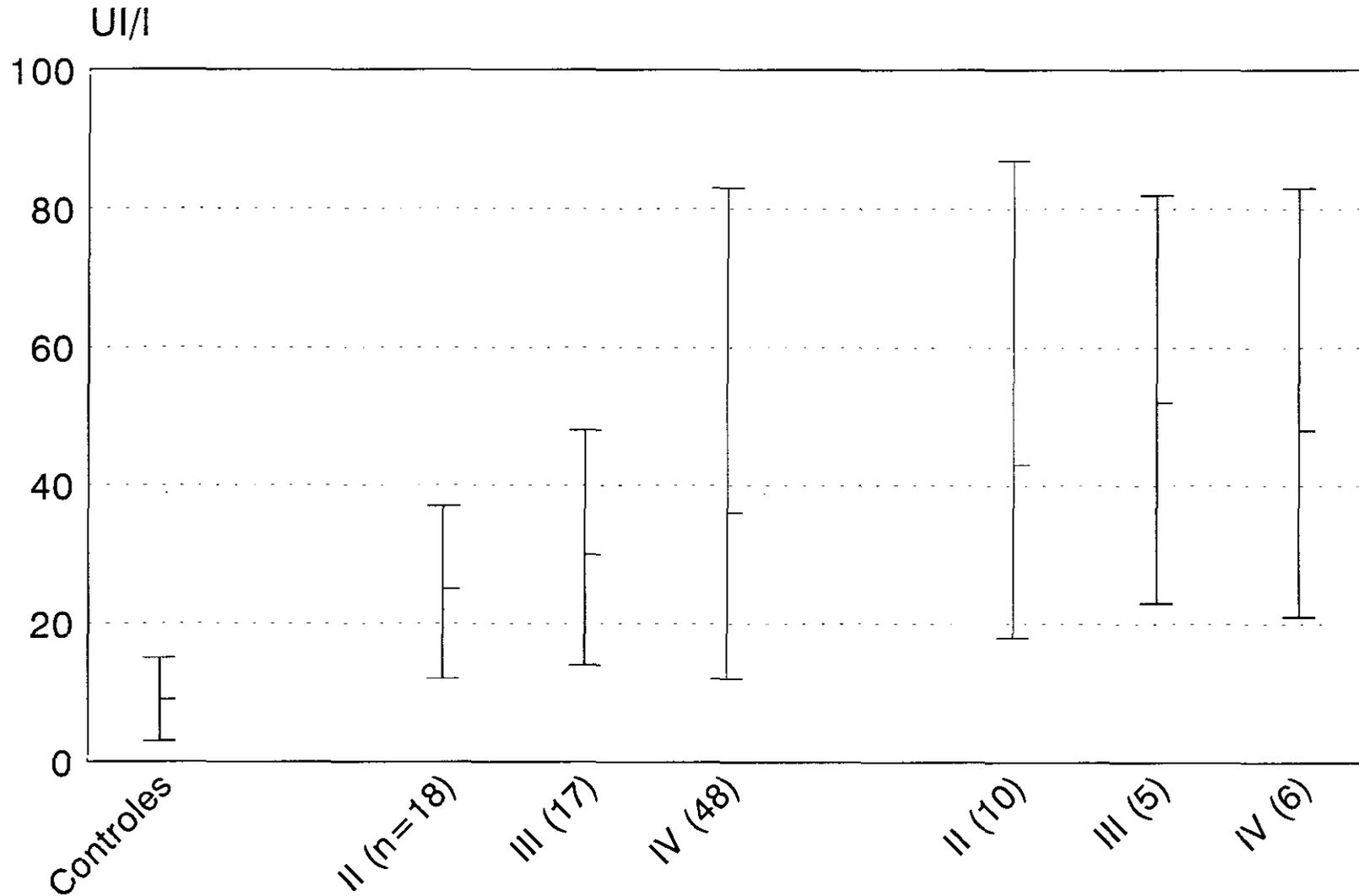
Figura 6.- sIL-2R EN PACIENTES VIH POSITIVOS SIN Y CON HEPATITIS O TUBERCULOSIS (GRUPO IV)



Diferencias no significativas

Al considerar por separado a los pacientes sin y con hepatitis, se observa un incremento progresivo de la actividad ADA a medida que progresa la enfermedad en los pacientes sin hepatitis, mientras que los niveles permanecen estables en los pacientes con hepatitis (figura 7). Una situación similar se observa con respecto a los sIL-2R, aunque la gran dispersión existente dificulta las comparaciones (figura 8).

Figura 7.- Límites de la actividad sérica de ADA según grupos del CDC con respecto a los valores normales ($m \pm 2DE$ de los controles)

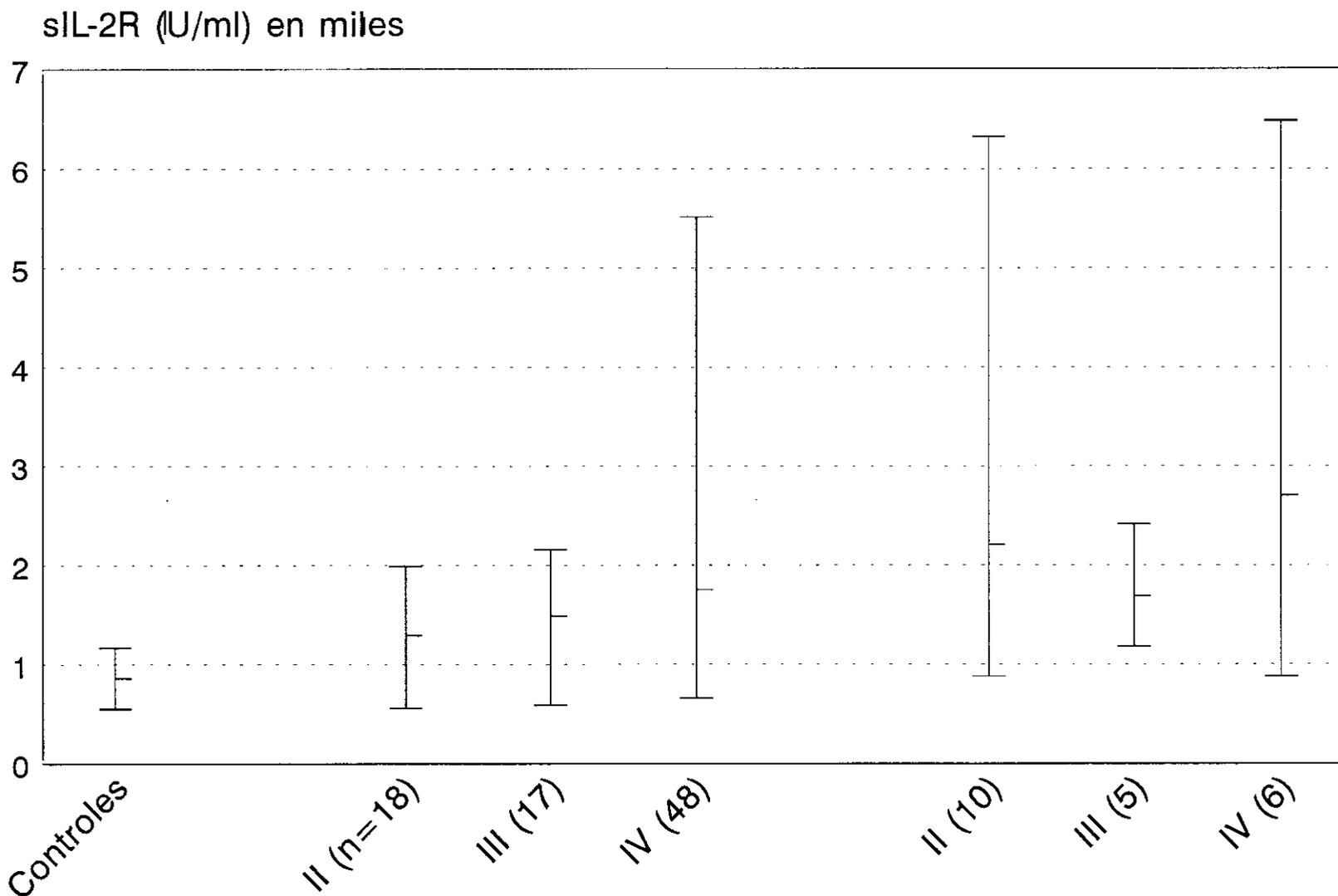


- : media

sin hepatitis aislada

con hepatitis

Figura 8.- Límites de la concentración sérica de sIL-2R según grupos del CDC con respecto a los valores normales ($m \pm 2DE$ de los controles)



- : media

sin hepatitis aislada

con hepatitis

En la Figura 9 se expresan los porcentajes de pacientes con valores normales y patológicos (por debajo o encima del límite superior de la normalidad, respectivamente). La gran mayoría de los valores de ADA son patológicos.

5.4.- Correlación entre ADA y sIL-2R:

Los coeficientes de correlación entre ADA y sIL-2R se muestran en la Tabla 2. Ninguno es significativo.

Figura 9.- Porcentajes de valores normales y patológicos (según estadíos del CDC y presencia de hepatitis aislada)

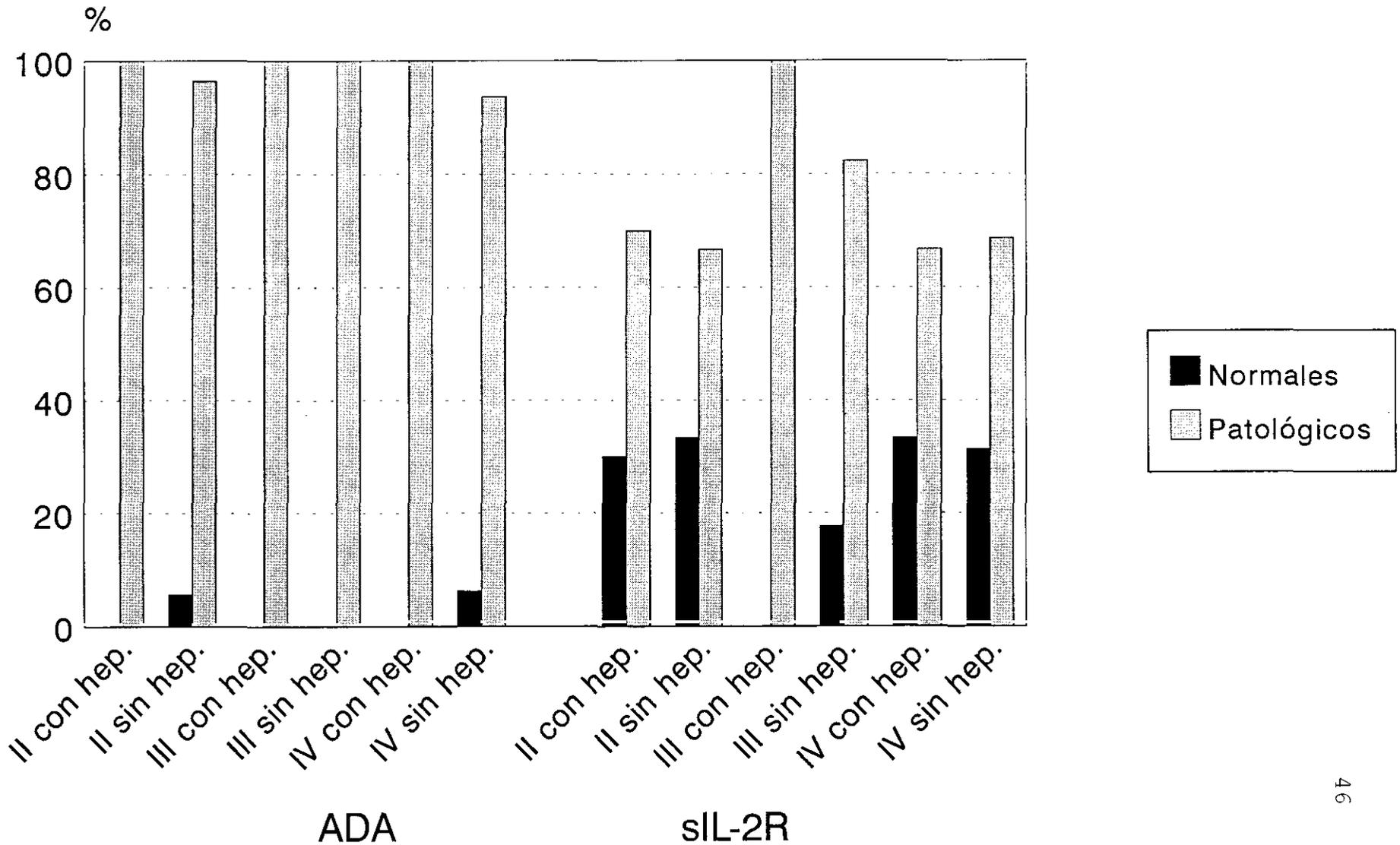


Tabla 2.- Correlación entre adenosina desaminasa y receptores solubles de interleuquina 2

| | r de Pearson |
|-------------|--------------|
| Controles | 0,05 |
| II sin hep | 0,15 |
| II con hep | 0,41 |
| III sin hep | -0,17 |
| III con hep | 0,17 |
| IV sin hep | 0,06 |
| IV con hep | 0,17 |

sin significación estadística

6.- DISCUSION

Actividad sérica de ADA en los controles: Los valores obtenidos ($8,5 \pm 2,7$ U/l, con intervalo de referencia 3,1-13,9) son similares a los descritos por la mayoría de los autores que han utilizado el mismo método (144, 166, 167). La actividad de ADA determinada mediante el método de Blake y Berman suele presentar valores un poco menores que los habitualmente obtenidos por el método de Giusti (135, 140, 142, 143).

Concentración sérica de sIL-2R en los controles: El valor medio (865 ± 154 U/ml) obtenido en nuestro estudio es mayor que cualquier otro de los consultados en la bibliografía determinado mediante el mismo método. Los valores descritos suelen ser de 2 a 4 veces menores que el nuestro (60, 61, 74, 77, 168, 169). Solo en 3 estudios se obtienen valores medios un 25% menores, pero con el límite superior del intervalo de referencia superponible al calculado por nosotros (62, 63, 170). Desconocemos las razones por las que se ha podido producir esta disparidad tan acusada.

Actividad sérica de ADA en los pacientes: Al igual que observamos nosotros, otros autores han descrito un incremento de actividad ADA en el suero de pacientes con infección por VIH (140-146, 166, 167). Este incremento

suele ser aún mayor en los estadios avanzados de la enfermedad.

Se considera que los pacientes están sometidos a un mayor estímulo antigénico como consecuencia de la acción propia del VIH y de las frecuentes infecciones que se asientan en ellos. En algunos estudios se han descrito incrementos de ADA en personas VIH negativas que mantenían actitudes de riesgo, sobre todo en drogadicción parenteral (142, 144, 166, 167).

En el presente estudio hemos observado un mayor incremento de ADA sérica en los pacientes pertenecientes al grupo IV con respecto a los incluidos en el grupo II del CDC (diferencias estadísticamente significativas). Esta situación ha sido descrita también por otros autores (141, 143-145), pero en otros estudios no se observan diferencias significativas. Raiteri y cols. (142), en un amplio estudio que abarca a 473 pacientes de los grupos II, III y IV, no encuentran diferencias entre ellos. Valls y cols. (146) y Niedzwicki y cols. (152), a pesar de observar diferencias, no encuentran significación estadística. Esto podría deberse al pequeño número de casos estudiados (33 y 22, respectivamente).

Un factor que podría alterar los valores de ADA en estos pacientes es la presencia de tuberculosis. Desde los primeros trabajos de Piras y cols. (83) en 1.978,

se han publicado un gran número de estudios que describen elevaciones de la actividad del enzima en el suero, y en los líquidos pleural, ascítico y cefalorraquídeo de pacientes con tuberculosis (84-88, 120-125, 142, 159). Estas elevaciones se han relacionado con la intensa implicación de la inmunidad de base celular en el transcurso de la enfermedad y podrían ser consecuencia de la respuesta inmunológica.

En los pacientes con SIDA y tuberculosis coinciden dos procesos en los que existe una intensa afectación de la inmunidad celular. Varios autores han estudiado la utilidad de la determinación de ADA para detectar tuberculosis en pacientes VIH positivos. Inicialmente se describieron mayores incrementos de ADA en aquellos pacientes VIH positivos que presentaban tuberculosis con respecto a los que no padecían esta enfermedad, o eran tuberculosos VIH negativos (146, 171). Otros autores no han observado diferencias en los niveles de ADA sérica (144), o han encontrado valores de ADA más bajos en líquido peritoneal (121) y en líquido pleural (159) en los pacientes en los que coincidían SIDA y tuberculosis frente a los que solo tenían tuberculosis.

Incluso parece cuestionarse el elevado valor predictivo negativo descrito para la determinación de ADA (84-86) cuando los pacientes padecen SIDA. En efecto, en dos recientes publicaciones (159, 160) se describen niveles de ADA en líquido pleural por debajo

del punto de corte en 4 pacientes con tuberculosis y SIDA, e incluso en 3 pacientes tuberculosos VIH negativos (159).

Se ha mencionado antes la elevada prevalencia de hepatitis vírica en los VIH positivos de nuestro país. Los incrementos de ADA descritos como consecuencia de estas hepatitis podrían ser atribuidos falsamente a la infección por VIH. De hecho, Martínez-Hernández y cols. (161) observaron niveles de ADA sérica similares en los pacientes en estadio IV y en los pacientes con estadio II con hepatitis B.

En nuestro estudio hemos observado igualmente que la presencia de hepatitis hace que aumente la actividad de ADA en los tres estadios de la infección por VIH con respecto a los pacientes que no tienen hepatitis. La diferencia bordea la significación estadística en el grupo II ($p=0,056$). Además, hemos podido observar que la presencia de hepatitis incrementa la actividad ADA en los tres estadios hasta niveles muy similares, no existiendo diferencias entre ellos. Si consideramos los pacientes que no padecen hepatitis, la actividad ADA se va incrementando significativamente a medida que evoluciona la enfermedad.

No hemos observado un incremento de actividad ADA en los pacientes con tuberculosis al igual que Iñigo y cols. (144). Si consideramos únicamente el estadio IV,

la actividad de ADA sólo está incrementada en los pacientes con hepatitis con respecto a aquellos que no presentan hepatitis ni tuberculosis, o solamente presentan tuberculosis aislada ($p < 0,01$).

En nuestro estudio la gran mayoría de los valores de ADA son patológicos. Gakis y cols. (143) observan un mayor porcentaje de resultados patológicos a medida que progresa de la enfermedad. Nosotros hemos encontrado valores patológicos en la casi totalidad de los pacientes en estadio II y IV, y en todos los del estadio III, con independencia de que tengan o no hepatitis asociada.

El incremento de actividad ADA que se produce como consecuencia de la infección por VIH, y a medida que progresa la infección a SIDA, ha sido atribuido a distintos mecanismos: activación linfocitaria, lisis de linfocitos T4, liberación de ADA por tejidos, activación del sistema monocito-macrófago, activación del gen responsable de la síntesis de ADA, etc... (143, 144, 146). En algún estudio se ha descrito una discreta correlación negativa con el número de linfocitos T4 (144), pero ni en nuestro estudio ni en lo publicado por otros autores (142, 143, 145, 152) se ha observado ninguna correlación.

Las causas del incremento de ADA no han sido dilucidadas aún. Sin embargo, podemos concluir que la

elevación de la actividad del enzima presenta una gran sensibilidad para discriminar a los pacientes de los controles.

Concentración de sIL-2R en el suero de los pacientes: Se observa un aparente paralelismo con el ADA al determinar la concentración de sIL-2R en pacientes afectados por las mismas enfermedades. En efecto, se han descrito elevaciones de los niveles de sIL-2R en ADVP (74, 77, 169, 172-174), en pacientes VIH positivos (73-81, 168-170, 172-180), en tuberculosos (60, 181) y en enfermos con hepatitis (55, 61, 175).

En nuestro estudio hemos podido comprobar que existe un incremento de sIL-2R en los pacientes VIH positivos con respecto a los controles. Esta diferencia se produce ya desde el estadio II de la enfermedad y se mantiene durante su evolución.

Igualmente hemos observado que la presencia de hepatitis hace que se incremente la concentración sérica de sIL-2R en los tres estadios de la infección por VIH con respecto a los pacientes que no tienen hepatitis, aunque no de forma significativa. En la bibliografía consultada no hemos hallado ninguna referencia que considere la presencia de hepatitis al determinar sIL-2R en pacientes VIH positivos.

No hemos observado diferencias significativas entre las concentraciones de sIL-2R en los distintos grupos de pacientes, incluso al considerar la presencia o no de hepatitis. Este hecho podría deberse a la gran dispersión de los valores. Otros autores sí han descritos mayores incrementos a medida que progresa la enfermedad (73, 75, 76, 168-170, 172).

Tampoco hemos observado un mayor incremento de sIL-2R en los pacientes con tuberculosis.

Al considerar el estadio IV por separado, los pacientes con hepatitis aislada son los que presentan una mayor elevación de la concentración de sIL-2R, aunque no sea significativa. En contraste con lo descrito anteriormente para la actividad de ADA, los pacientes con tuberculosis presentan valores de sIL-2R similares a los de aquellos en los que coincidían tuberculosis y hepatitis.

La presencia de pacientes tratados con AZT puede introducir un sesgo en nuestro estudio. Galli y cols. (182) han descrito una disminución de las concentraciones de sIL-2R durante el tratamiento con AZT. La disminución era evidente a los 30 días de tratamiento y continuaba 60 días después.

En nuestro estudio, 16 pacientes eran tratados con AZT. Uno de los pacientes pertenecía al estadio III y

los otros 15 al IV. El tiempo medio de tratamiento fue de 228 ± 163 días (intervalo de 21 a 555), y 12 de los 15 pacientes del estadio IV habían sido tratados durante más de 90 días. Solo en 2 casos los pacientes padecían tuberculosis, y en uno, tuberculosis y hepatitis, sin que se afecten los valores medios de estos subgrupos al excluir a los pacientes tratados. En el caso de los 26 pacientes que no presentaban tuberculosis ni hepatitis, no hemos observado diferencias significativas entre los niveles de sIL-2R en los 12 pacientes con tratamiento (1.380 ± 559 U/ml) y los 14 sin él (1.725 ± 795 U/ml). Sin embargo, las diferencias podrían alcanzar la significación estadística en un grupo más numeroso. Dado que las diferencias observadas entre los valores de sIL-2R de los pacientes del grupo IV no eran significativas, la exclusión de los pacientes en tratamiento con AZT no modificaría las conclusiones de nuestro estudio.

El significado de la presencia de concentraciones elevadas de sIL-2R en procesos con intensa alteración de la inmunidad celular permanece sin aclarar (35, 36), pero se supone que es un mecanismo regulador de la activación linfocitaria a través de la unión con la IL-2.

La fuente de las elevadas concentraciones de sIL-2R descritas en los pacientes tampoco es bien conocida. Se considera que los sIL-2R se liberan a partir de

linfocitos activados (32), pero varios estudios han descrito una correlación negativa entre la concentración de sIL-2R y el número de linfocitos T4 (65, 73, 76, 169, 178). De igual forma se encuentra disminuida y/o alterada la expresión de IL-2R en la membrana del linfocito T4 (66-71, 177), lo que podría producir alteraciones en la respuesta a la IL-2 y una alteración de la función del linfocito T4. La disminución de la activación linfocitaria así producida podría contribuir a la inmunodeficiencia presente en los pacientes infectados por VIH (177). En otros estudios se ha relacionado la elevación de sIL-2R con la activación de linfocitos B y monocitos-macrófagos (53, 169, 179).

El gran solapamiento entre valores normales y patológicos de los sIL-2R ha sido descrito anteriormente (75, 168-170, 172, 178). Este solapamiento es independiente de la presencia de hepatitis. A pesar del incremento que se observa en la aparición y progresión de muchos procesos patológicos infecciosos, creemos que el solapamiento con valores normales dificulta el uso de la concentración de sIL-2R para discriminar estas enfermedades.

Correlación entre la actividad sérica de ADA y la concentración sérica de sIL-2R en los pacientes:

Durante el estudio no se ha podido observar ninguna correlación entre ADA y sIL-2R, ni en los controles, ni en los pacientes, ya se consideren estos en conjunto, por estadios, o según las enfermedades antes discutidas. Esta falta de correlación entre dos marcadores de activación linfocitaria que se encuentran elevados en una enfermedad en la que existe una profunda alteración de la inmunidad celular, nos hace pensar que su liberación al torrente sanguíneo se produce por mecanismos separados en el tiempo. Tampoco se ha podido observar una clara correlación de ambos marcadores con los recuentos de linfocitos T4 y T8.

7.- CONCLUSIONES

1ª.- La adenosina desaminasa aumenta de forma significativa en los pacientes VIH positivos, y el aumento es mayor a medida que progresa la enfermedad.

2ª.- La presencia de hepatitis condiciona un incremento de actividad de ADA con respecto a los pacientes sin hepatitis.

3ª.- La presencia de tuberculosis no condiciona un incremento de la actividad de ADA.

4ª.- La práctica totalidad de los pacientes presenta valores de ADA patológicos.

5ª.- La concentración de sIL-2R aumenta en los pacientes VIH positivos, aunque presenta una gran dispersión.

6ª.- La presencia aislada de hepatitis incrementa la concentración de sIL-2R de forma no significativa.

7ª.- Existe un gran solapamiento entre las concentraciones de sIL-2R de los pacientes y controles.

8ª.- No se ha podido observar correlación entre la actividad de ADA y la concentración de sIL-2R.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Faninn S: A cluster of Kaposi's Sarcoma and Pneumocystis Carinii Pneumonia among homosexual male residents of Los Angeles and Orange Counties, California. MMWR 1982; 31: 305.
- 2.- Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science 1984; 224: 500-3.
- 3.- Gallo RC, Wong-Staal F: A human T-lymphotropic retrovirus (HTLV-III) as the cause of acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med 1985; 103: 679-89.
- 4.- Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome. Science 1983; 220: 868-71.
- 5.- Montagnier L. Lymphadenopathy-associated virus: from molecular biology to pathogenicity. Ann Intern Med 1985; 103: 689-93.
- 6.- Coffin J: Human immunodeficiency viruses. Science 1986; 232: 687.
- 7.- Fahey JL, Prince H, Weaver M, et al. Quantitative changes in T helper or T suppressor/cytotoxic lymphocyte subsets that distinguish acquired immune deficiency syndrome from other immune subset disorders. Am J Med 1984; 76: 95-100.

- 8.- Seligmann M, Chess L, Fahey JL, et al. AIDS - an immunologic reevaluation. N Eng J Med 1984; 311: 1286-92.
- 9.- Antonen J, Krohn K: Interleukin 2 production in HTLV-III/LAV infection: evidence of defective antigen induced, but normal mitogen-induced IL-2 production. Clin Exp Immunol 1986; 65: 489.
- 10.- Murray HW, Rubin BY, Masur H: Impaired production of lymphokines and immune (gamma) interferon in the acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med 1984; 310: 883.
- 11.- Roitt IM, Brostoff J, Male DK. Inmunología, 1986. Gower Medical Publishing Ltd., Sucursal en España, Barcelona.
- 12.- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Inmunología celular y molecular. Madrid, 1995. McGraw-Hill - Interamericana de España. 2ª edición.
- 13.- Cohen S. Physiologic and pathologic manifestations of lymphokine action. Human Pathol 1986; 17: 112-21.
- 14.- Cantrell DA, Smith KA. The interleukin-2 T-cell system: a new cell growth model. Science 1984; 224: 1312-16.
- 15.- Smith KA. Interleukin 2. Ann Rev Immunol 1984; 2: 319-33.
- 16.- Smith KA. Interleukin-2: Inception, impact, and implications. Science 1988; 240: 1169-76.

- 17.- Farrar JJ, Benjamin WR, Hilfiker ML, Howard M, Farrar WL, Fuller-Farrar J. The biochemistry, biology and role of interleukin 2 in the induction of cytotoxic T cell and antibody-forming B cell responses. *Immunol Rev* 1982; 63: 129-66.
- 18.- Chouaib S, Chatenoud L, Klatzmann D, Fradelizi D. The mechanisms of inhibition of human IL2 production. II. PGE2 induction of suppressor T lymphocytes. *J Immunol* 1984; 132: 1851-7.
- 19.- Taniguchi T, Matsui H, Fujita T, et al. Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature* 1983; 302: 305-10.
- 20.- Leonard WJ, Depper JM, Crabtree GR et al. Molecular cloning and expression of cDNAs for the human interleukin-2 receptor. *Nature* 1984; 311: 626-31.
- 21.- Dukovich M, Bich Tuy L, Wanoy L, Katz P, Cullen BR, Greene WC. A second human interleukin 2 binding protein that may be a component of high affinity interleukin 2 receptors. *Nature* 1987; 327: 518-22.
- 22.- Hatakeyama M, Tsudo M, Minamoto S et al. Interleukin-2 receptor β chain gene: generation of three receptor forms by cloned human α and β chain cDNA's. *Science* 1989; 244: 551-560.
- 23.- Cosman D, Ceretti DP, Larsen A et al. Cloning, sequence and expression of human interleukin-2 receptor. *Nature* 1984; 312: 768-71.

24.- Robb RJ, Greene WC, Rusk CM. Low and high affinity cellular receptors for interleukin 2. Implications for the level of Tac antigen. *J Exp Med* 1984; 160: 1126-46.

25.- Smith KA. The bimolecular structure of the interleukin 2 receptor. *Immunol Today* 1988; 9: 36-7.

26.- Robb RJ, Greene WC. Internalization of interleukin 2 is mediated by the beta chain of the high-affinity interleukin 2 receptor. *J Exp Med* 1987; 165: 1201-6.

26.b.- Kumar A, Moreau JL, Gibert M, Thèze J. Internalization of interleukin 2 (IL-2) by high affinity IL-2 receptors is required for the growth of IL-2-dependent T cell lines. *J Immunol* 1987; 139: 3680-4.

27.- Greene WC, Leonard WJ. The Human Interleukin-2 Receptor. *Ann Rev Immunol* 1986; 4: 69-95.

28.- Uchiyama T, Nelson DL, Fleicher TA, Waldmann TA. A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells. II. Expression of Tac antigen on activated cytotoxic killer T cells, suppressor T cells, and on one of two types of helper T cells. *J Immunol* 1981; 126: 1398.

29.- Robb RJ, Kutny RM. Structure-functions relationships for the IL2 receptor system. IV. Analysis of the sequence and ligand-binding properties of soluble Tac protein. *J Immunol* 1987; 139: 855-62.

- 30.- Uchiyama T, Broder S, Waldmann TA. A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells. I. Production of anti-Tac monoclonal antibody and distribution of Tac (+) cells. *J Immunol* 1981; 126: 1393-7.
- 31.- Depper JM, Leonard WJ, Robb RJ, Waldman TA, Greene WC. Blockade of the interleukin-2 receptor by anti-Tac antibody: Inhibition of human lymphocyte activation. *J Immunol* 1983; 131: 690-6.
- 32.- Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME, Biddison WE, Boutin B, Yarchoan R, Nelson DL. Soluble interleukin 2 receptors are released by activated human lymphoid cells in vitro. *J Immunol* 1985; 135: 3172-7.
- 33.- Rubin LA, Jay G, Nelson DL. The released interleukin-2 receptor binds interleukin 2 efficiently. *J Immunol* 1986; 137: 3841-4.
- 34.- Rubin LA, Kurman CC, Fritz M, Boutin B, Nelson D. Soluble interleukin-2 receptors are shed by activated human lymphocytes in vitro. *Fed Proc* 1985; 44: 946.
- 35.- Rubin LA, Nelson DL. The soluble Interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann Int Med* 1990; 113: 619-27.
- 36.- Miossec P. Les récepteurs solubles de l'interleukine 2. Valeur clinique et signification biologique. *Presse Méd* 1991; 20: 997-1001.

37.- Giordiano C, Galluzo A, Marco A, et al. Increased soluble interleukin-2 receptor levels in the sera of type 1 diabetic patients. *Diabetes Res* 1988; 8: 135-8.

38.- Symonds JA, Wood NC, Di Giovine FS, Duff GW. Soluble IL-2 receptor in rheumatoid arthritis. Correlation with disease activity, IL-1 and IL-2 inhibition. *J Immunol* 1988; 141: 2612-8.

39.- Campen DH, Horwitz DA, Quismorio Jr FP, Ehresmann GR, Martin WJ. Serum levels of interleukin-2 receptor and activity of rheumatic diseases characterized by immune system activation. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 1358-64.

40.- Lozano Polo JL, Echevarría Vierna S, de las Heras G, de la Peña J, Ledesma Castaño F, Pons Romero F. Receptores solubles de Interleucina-2 en la enfermedad celiaca. *Gastroenterol Hepatol* 1990, 13: 112-6.

41.- Greene WC. Deregulated Interleukin-2 receptor expression in adult T-cell leukemia, pp 566-9. En: Greene WC, moderator. The human interleukin-2 receptor: normal and abnormal expression in T cells and in leukemias induced by the human T-lymphotropic viruses. *Ann Intern Med* 1986; 105: 560-72.

42.- Mackeen L, Brown M, Ip SH, et al. Serum interleukin 2 receptor as a marker for active T cell malignancies. *Federation Proc* 1986; 45: 454.

43.- Nelson DL. Soluble Interleukin-2 receptors: Analysis in normal individuals and in certain disease states. Fed Proc 1986; 45: 377.

44.- Nelson DL. Expression of a soluble form of the Interleukin-2 receptor in normal and neoplastic states, págs. 565-6. En: Greene WC, moderator. The human interleukin-2 receptor: normal and abnormal expression in T cells and in leukemias induced by the human T-lymphotropic viruses. Ann Intern Med 1986; 105: 560-72.

45.- Yasuda N, Lai PK, Ip SH et al. Soluble IL-2 receptors in sera of japanese patients with adult T cell leukemia mark activity of disease. Blood 1988; 71: 1021-6.

46.- Cornaby AJ, Simpson MA, Madras PN, Dempsey RA, Clowes GHA, Monaco AP. Pre-operative interleukin 2 and interleukin 2 receptor levels may predict subsequent renal allograft rejection. Transplant Proc 1989; 21: 1861-2.

47.- Colvin RB, Fuller TC, MacKeen L, Kung PC, Ip SH, Cosimi AB. Plasma Interleukin-2 Receptor levels in renal allograft recipients. Clin Immunol Immunopathol 1987; 43: 273-6.

48.- Adams DH, Wang L, Hubscher SG, Elias E. Soluble Interleukin-2 receptors in serum and bile of liver transplant recipients. Lancet 1988; i: 469-71.

49.- De Maria R, Zuccelli GC, Masini S, et al. Nonspecific increase of interleukin-2 receptor serum levels during immune events in heart transplantation. Transplant Proc 1989; 21: 440-1.

50.- Perkins JD, Nelson DL, Rakela J, Grambsch PM, Krom RA. Soluble interleukin 2 receptor level in liver allograft recipients: an indicator of rejection. *Transplantation* 1989; 47: 77-81.

51.- Favier R, Edelman Ph, Mary JY, Sadoul G, Douay L. Presence of elevated serum Interleukin-2 levels in pregnant women. *New Engl J Med* 1990; 270.

52.- Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes GB, Mills GB, Falk RE, Peters WJ. Increased of serum interleukin 2 receptor in thermally injured patients. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 51: 205-15.

53.- Josimovic-Alasevic O, Feldmeier H, Zwingenberger K et al. Interleukin 2 receptor in patients with localized and systemic parasitic diseases. *Clin exp Immunol* 1988; 72: 249-54.

54.- Jaqueti J, Martínez-Hernández D, Navarro-Gallar F, Arenas-Barbero J. Incremento de la concentración sérica de sIL-2R en la toxoplasmosis. *Med Clin (Barc)* 1.993; 100: 159.

55.- Yamaguchi S, Onji M, Ohta Y. Increased serum soluble interleukin 2 receptor levels in patients with viral liver diseases. *Hepato-gastroenterol* 1988; 35: 245-8.

56.- Civeira M, Prieto J, Morte S, Rissnon M, Serrano M. Interleukins in chronic active hepatitis B. Relationship with viral markers. *J Hepatol* 1987; 5: 37-44.

57.- Onji M, Kondo H, Ohta Y. Serial observation of lymphocyte subpopulations and interleukin-2 production of T cells from patients with acute viral hepatitis and chronic active hepatitis. *Hepatogastroenterology* 1988; 35: 10-3.

58.- Magrin S, Craxi A, Carini C et al. Interleukin-2, interleukin-2 receptor and gamma-interferon synthesis by peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis delta virus infection. *J Hepatol* 1989; 8: 358-66.

59.- Kierszenbaum F, Sztein MB, Beltz LA. Decreased human IL-2 receptor expression due to a protozoan pathogen. *Immunol Today* 1989; 10: 129-31.

60.- Brown AE, Rieder KT, Webster HK. Prolonged elevations of soluble interleukin-2 receptors in tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 1036-8.

61.- Chu CM, Liaw YF. Serum levels of soluble Tac peptide in acute and chronic hepatitis B virus infection. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 53: 52-8.

62.- Deloron Ph, Lepers JP, Coulanges P. Evolution of soluble Interleukin-2 receptors during *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* Malaria. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1887-9.

63.- Vitale G, Reina G, Mansueto S, et al. The significance of serum soluble IL-2 receptor as a marker for active visceral leishmaniasis in Sicilian patients. *Clin exp Immunol* 1992; 90: 219-22.

- 64.- Tung SK, Umland E, Matziner P et al. Soluble serum IL-2 receptor levels in leprosy patients. Clin Exp Immunol 1987; 68: 10-5.
- 65.- Alcocer-Varela J, Alarcón-Segovia D, Abud-Mendoza C. Immunoregulatory circuits in the acquired immune deficiency syndrome and related complex. Production of and response to interleukins 1 and 2, NK function and its enhancement by interleukin-2 and kinetics of the autologous mixed lymphocyte reaction. Clin Exp Immunol 1985; 60: 31-8.
- 66.- Murray JL, Hersh EM, Reuben JM, Gwyneth Munn C, Mansell PWA. Abnormal lymphocyte response to exogenous interleukin-2 in homosexuals with acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and AIDS related complex (ARC). Clin exp Immunol 1985; 60: 25-30.
- 67.- Hauser GJ, Bino T, Rosenberg H, Zakuth V, Geller E, Spierer Z. Interleukin-2 production and response to exogenous interleukin-2 in a patient with the acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Clin exp Immunol 1984; 56: 14-7.
- 68.- Prince HE, John JK. Abnormalities of interleukin 2 receptor expression associated with decreased antigen-induced lymphocyte proliferation in patients with AIDS and related disorders. Clin exp Immunol 1987; 67: 59-65.

69.- Gupta S. Study of activated T cells in man. II. Interleukin 2 receptor and transferrin receptor expression on T cells and production of interleukin 2 in patients with acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. Clin Immunol Immunopathol 1986; 38: 93-100.

70.- Prince HE, Kermeni-Arab V, Fahey JL. Depressed interleukin 2 receptor expression in acquired immune deficiency and lymphadenopathy syndromes. J Immunol 1984; 133: 1313-7.

71.- Ebert EC, Stoll DB, Casseus BJ, Lipshutz WH, Hauptman SP. Diminished interleukin 2 production and receptor generation characteriza the acquired immunodeficiency syndrome. Clin Immunol Immunopathol 1985; 37: 283-97.

72.- Durno AG, Ho DD, Schooley RT, Hirsch MS, MacKeen L, Ip SH. Serum interleukin-2 levels in human immunodeficiency virus (HIV) infection. Blood 1986; 68: 124a.

73.- Honda M, Kitamura K, Matsuda K, y cols. Soluble IL-2 receptor in AIDS. Correlation of its serum level with the classification of HIV-induced diseases and its characterization. J Immunol 1989; 142: 4248-55.

74.- Reddy MM, Grieco MH. Elevated soluble Interleukin-2 receptor levels in serum of human immunodeficiency virus infected populations. AIDS Research and Human Retroviruses 1988; 4: 115-20.

75.- Noronha IL, Daniel V, Schimpf K, Opelz G. Soluble IL-2 receptor and tumor necrosis factor- α in plasma of haemophilia patients infected with HIV. Clin exp Immunol 1992; 87: 287-92.

76.- Scott-Algara D, Vuillier F, Marasescu M, Saint Martin J, Dighiero G. Serum levels of IL-2, IL-1 α , TNF- α , and soluble receptor of IL-2 in HIV-1-infected patients. AIDS Res Hum Retroviruses 1991; 7: 381-6.

77.- Echániz P, Larrañaga P, Arrizabalaga J, Jiménez JL, Iribarren JA, Cuadrado E. Factores pronósticos en heroinómanos infectados por el VIH: análisis multivariable de factores serológicos inespecíficos en la evolución de la infección. Rev Clín Esp 1992; 190: 422-6.

78.- Fahey JL, Taylor JMG, Detels R et al. The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. New Engl J Med 1990; 322: 166-72.

79.- Osmond DH, Shiboski S, Bacchetti P, Winger EE, Moss AR. Immune activation markers and AIDS prognosis. AIDS 1991; 5: 505-11.

80.- Simmonds P, Beatson D, Cuthbert RJG et al. Determinants of HIV disease progression: six-year longitudinal study in the Edinburgh haemophilia/HIV cohort. Lancet 1991; 338: 1159-63.

81.- Pizzolo G, Vinante F, Morosato L et al. Determinants of HIV disease progression. Lancet 1992; 339: 130.

- 82.- Gliblett FR, Anderson JF, Cohen F, Pollar B, Meuwissen HJ. Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunology. *Lancet* 1972; 2: 1067-9.
- 83.- Piras MA, Gakis C, Budroni M, Andreoni G. Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Br Med J* 1978; 2: 1751-2.
- 84.- Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Segura RM, Fernández-de-Sevilla T, Capdevila JA. Adenosine deaminase in pleural fluids. Test for diagnosis of tuberculous pleural effusions. *Chest* 1983; 84: 51-3.
- 85.- Martínez-Vázquez JM, Ocaña I, Ribera E et al. Diagnóstico temprano de la tuberculosis pleuroperitoneal mediante la determinación de adenosina desaminasa. *Med Clín (Barc)* 1984; 83: 578-80.
- 86.- Pettersson T, Ojala K, Weber T. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand* 1984; 215: 299-304.
- 87.- Ribera E, Martínez-Vázquez JM, Ocaña I y cols. Valor de la Adenosina Deaminasa en el diagnóstico de la meningitis tuberculosa: Diferencias entre niños y adultos. *An Med Intern* 1987; 4: 57-9.
- 88.- Strankinga WFM, Nauta JJP, Straub JP, Stam J. Adenosine deaminase activity in tuberculous pleural effusions: A diagnostic test. *Tubercle* 1987; 68: 137-40.

89.- Fontan Bueso J, Vereá Hernando H, García Buela JP, y cols. Diagnostic value of simultaneous determination of pleural adenosine deaminase and pleural lysozyme / serum lysozyme ratio in pleural effusions. Chest 1988; 93: 303-7.

90.- Slaats EH, Asberg EG, van Keimpa AR, Kruijswijk H. A continuous method for the estimation of adenosine deaminase catalytic concentration in pleural effusions with a Hitachi 705 discrete analyzer. J Clin Chem Clin Biochem 1985; 23: 677-82.

91.- Giusti G. Adenosine deaminase. En Methods of Enzymatic Analysis. Págs. 1092-8. Ed HV Bergmeyer. New York Academic Press Inc. 1974.

92.- Kredrich NM, Hersfields MS. Immunodeficiency diseases caused by adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase deficiency. En: Stambury JB, Wyngaarden Jb, Fredrickson DS, Goldstein JL, Brown MS. The Metabolic Basis of Inherited Diseases. McGraw-Hill Books Company. New York 1983.

93.- Spencer N, Hopkinson DA, Harris H. Adenosine deaminase polymorphism in man. Ann Hum Genet 1968; 32: 9-15.

94.- Edwards YH, Hopkinson DA, Harris H. Adenosine deaminase in human tissues. Ann Hum Genet 1971; 35: 207-10.

95.- Nicholson J, Gordon D, McDougal JS. Inhibition of adenosine deaminase leads to enhanced antibody response in the mouse. Cell Immunol 1983; 79: 320-33.

- 96.- Hall JG. Adenosine deaminase activity in lymphoid cells during antibody production. *Aust J Biol Med Sci* 1963; 41: 93-7.
- 97.- Coffin J: Human immunodeficiency viruses. *Science* 1986; 232: 687.
- 98.- Daddona PE, Frohman MA, Kelley WN. Human adenosine deaminase and its binding protein in normal and adenosine deaminase-deficient fibroblast cell strains. *J Biol Chem* 1980; 225: 5681-7.
- 99.- Hirschhorn R, Beratis N, Rosen FS. Characterization of residual enzyme activity in fibroblast from patients with adenosine deaminase deficiency and combined immunodeficiency: Evidence for a mutant enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 213-7.
- 100.- Hirschhorn R, Ellenbogen A. Genetic heterogeneity in adenosine deaminase (ADA) deficiency: five different mutation in five new patients with partial ADA deficiency. *Am J Hum Genet* 1986; 38: 13-25.
- 101.- Giblett ER, Anderson LE, Cohen F, Pollara B, Meuwissen HJ. Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet* 1972; 2: 1067-9.
- 102.- Ochs HD, Yount JE, Giblett ER, Chen SH, Scott CR, Wedgewood RJ. Adenosine deaminase deficiency and severe combined immunodeficiency syndrome. *Lancet* 1973; 1: 1393-5.

- 103.- Appelboom T, Mandelbaum I, Vertogen F. Purine enzyme levels in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1985; 12: 1075-9.
- 104.- Ocaña I, Ribera E, Martinez Vazquez JM, Ruiz I, Bejarano E, Pigrau C, Pahissa A. Adenosine deaminase activity in rheumatoid pleural effusions. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 394-7.
- 105.- Taylor A. Serum adenosine deaminase activity is increased in sarcoidosis. *Clin Chem* 1984; 30: 499-500.
- 106.- Storch H, Kruger W, Rothzsch W. Adenosine deaminase activity in plasma and blood cells of patients with hematological and autoimmune diseases. *Acta Haemat* 1981; 65: 183-8.
- 107.- Valentine WN, Paglia DE, Tartaglia AP. Hereditary hemolytic anemia with increased red cell adenosine deaminase (45-to-70-fold) and decreased adenosine triphosphate. *Science* 1977; 195: 783-4.
- 108.- Glader BE, Backer K, Diamond LK. Elevated erythrocyte adenosine deaminase activity in congenital hypoplastic anemia. *N Eng J Med* 1983; 309: 1486-90.
- 109.- Kanno H, Tani K, Fujii H y cols. Adenosine deaminase (ADA) overproduction associated with congenital hemolytic anemia: case report and molecular analysis. *Jpn J Exp Med* 1988; 58: 1-8.
- 110.- Kojima O, Majima T, Uehara Y, y cols. Alteration of adenosine deaminase levels in peripheral blood lymphocytes of patients with gastric cancer. *Jpn J Surg* 1985; 15: 130-3.

- 111.- Meier J, Coleman MS, Hutton JJ. Adenosine deaminase activity in peripheral blood cells of patients with hematological malignancies. *Br J Cancer* 1976; 33: 312-9.
- 112.- Smyth JF, Poplack DG, Holiman BJ, Leventhal BC, Yarbrow G. Correlation of adenosine deaminase with cell surface marker in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* 1978; 21: 710-2.
- 113.- Koya M, Kansh T, Sawada H, Uchino H, Veda K. Adenosine deaminase and ecto-5'-nucleotidase activities in various leukemia with special reference to blast crisis: Significance of ecto-5'nucleotidase in lymphoid blast crisis of chronic myeloid leukemia. *Blood* 1981; 58: 1107-11.
- 114.- Smyth JF, Harrap KR. Adenosine deaminase activity in leukaemia. *Br J Cancer* 1975; 31: 544-9.
- 115.- Oda T, Kagimoto T, Aso N, Yamaguchi K, Tomino S, Takatsuki K. Adenosine deaminase in plasma of patients with adult T cell leukemia (ATL): Correlation between enzyme activity and the ATL subtypes. *Hematol Oncol* 1985; 3: 173-7.
- 116.- Ratech H, Martiniuk F, Borer WZ, Rappaport H. Differential expression of adenosine deaminase isozymes in acute leukemia. *Blood* 1988; 72: 1627-32.
- 117.- Orts J, Frey E. Adenosine deaminase activity in serum of kidney-transplant recipients during the early postoperative period. *Clin Chem* 1985; 31: 732-3.

118.- Lum CT, Sutherland DE, Hsiao N, Najarian JS. Relevance of adenosine deaminase to organ transplantation. Ann NY Acad Sci 1985; 451: 113-22.

119.- Jaqueti J, Martínez-Hernández D, Hernández-García R, Navarro-Gallar F, Arenas-Barbero J. Adenosine deaminase in pregnancy serum. Clin Chem 1.990; 36: 2144.

120.- Ribera E, Martínez-Vázquez JM, Ocaña I, Segura RM, Pascual C. Activity of adenosine deaminase in cerebrospinal fluid for the diagnosis and follow-up of tuberculous meningitis in adults. J Infect Dis 1987; 155: 603-7.

121.- Ribera E, Martínez-Vázquez JM, Ocaña I, Ruiz I, Jiminez JG, Encabo G, Segura RM, Pascual C. Diagnostic value of ascitis gamma interferon levels in tuberculous peritonitis. Comparison with adeonsine deaminase activity. Tubercle 1991; 72: 193-7.

122.- Aguado JM, Pons F. Adenosine deaminase and tuberculous peritonitis. Lancet 1989; i: 1260-1.

123.- Bhargava DK, Nijhawan S, Gupta M. Adenosine deaminase and tuberculous peritonitis. Lancet 1989; i: 1261.

124.- Bandrés Gimeno R, Abal Arca J, Blanco Pérez J, Gómez González MC, Cueto Baelo M, Pineiro Amigo L. Actividad de adenosindesaminasa en líquido pleural. Rstudio realizado en 64 casos. Arch Bronconeumol 1994; 30: 8-11.

125.- Chawla RK, Seth RK, Raj B, Saini AS. Adenosine deaminase levels in cerebrospinal fluid in tuberculosis and bacterial meningitis. *Tubercle* 1991; 72: 190-2.

126.- Ena J, Valls V, Pérez de Oteyza C, Enríquez de Salamanca R. Utilidad y limitaciones de la adenosina desaminasa en el diagnóstico de la pleuresía tuberculosa. Estudio metaanalítico. *Med Clín (Barc)* 1990; 95: 333-5.

127.- Daddona PE, Wiesman WP, Lambros C, Kelley WN, Webster HK. Human malaria parasite adenosine deaminase. *J Biol Chem* 1984; 259: 1472-5.

128.- Jaqueti J, Martínez-Hernández D, Hernández-García R, Navarro-Gallar F, Ribera M, Arenas-Barbero J. Adenosine deaminase increased in serum in toxoplasmosis. *Clin Chem* 1991; 37: 2021.

129.- Perteguer MJ, Cuéllar C, Jaqueti J, García L, Hernández R, Oubiña P, Navarro F. Adenosine deaminase in anisakiasis. *Química Clínica* 1995; 14: 327 (abstract).

130.- Jaqueti J, Sánchez de la Nieta JL, Manzanares J, Perteguer MJ, García S, Berihuete JC, Navarro F. Adenosine deaminase and β 2-microglobulin in intestinal protozoa parasitism. *Química Clínica* 1995; 14: 328 (abstract).

131.- Aramburu J, Farré J, Soriano V, Corominas A. Actividad sérica de adenosín deaminasa en la fiebre botonosa mediterránea. III Congreso de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Granada, 8-11 de Mayo de 1988, 28-17.

132.- Soriano V, Sabriá M, Davins J, Aramburu J. Adenosín-deaminasa y fiebre botonosa. Med Clín (Barc) 1989; 92: 119.

133.- Soriano V, Sabriá M, Farré J et al. Actividad sérica de la adenosín-deaminasa en la fiebre botonosa mediterránea. Rev Clin Esp 1988; 182: 258-60.

134.- Viciano P, Lama C, Pachón J, Rey C, Cisneros JM, Cuello JA. Estudio de la actividad de adenosina desaminasa en la brucelosis aguda y en la brucelosis complicada. Med Clín (Barc) 1991; 96: 445-8.

135.- Klockars M, Kleemola M, Leinonen M, Koskela M. Serum adenosine deaminase in viral and bacterial pneumonia. Chest 1991; 99: 623-6

136.- Nardiello S, Russo M, Pizzella T, Galanti B. Different levels of lymphocyte adenosine deaminase in active and inactive forms of chronic liver disease. J Clin Lab Immunol 1.983; 11: 177-80.

137.- Jaqueti J, Manzanares J, Hernández R, Nájera G, García S, Navarro-Gallar F. Determinación de adenosina desaminasa en hepatitis víricas. IV Congreso Nacional del Laboratorio Clínico, Zaragoza, 18-20 de Mayo de 1.995. Comunicación nE5, Libro de Ponencias y Comunicaciones Científicas, pág. 52.

- 138.- Jaqueti J, Sánchez de la Nieta JL, Manzanares J, Perteguer MJ, García S, Berihuete JC, Navarro F. Adenosine deaminase and β 2-microglobulin in hepatitis C patients. *Química Clínica* 1995; 14: 327 (abstract).
- 139.- Riestra S, Fernández E, Rodríguez S, et al. Adenosina desaminasa sérica en la infección crónica por los virus B y C de la hepatitis. *Gastroenterol Hepatol* 1993; 16: 310-1 (abstract).
- 140.- Delia S, Mastroianni CM, Massetti AP y cols. Adenosine deaminase activity and Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). *Clin Chem* 1987; 33: 1675.
- 141.- Martínez-Hernández D, Arenas-Barbero J, Navarro-Gallar F, García-Esteban R, Santos-Sancho JM, Gómez-Terreros FJ. Adenosine deaminase in the acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Chem* 1988; 34: 1949.
- 142.- Raiteri R, Marietti G, Scolfaro C, Sinicco A. Adenosine deaminase and HIV infection. *Med Sci Res* 1989; 17: 187-8.
- 143.- Gakis C, Calia G, Naitana A, Pirino D, Serru G. Serum adenosine deaminase activity in HIV positive subjects. A hypothesis on the significance of ADA2. *Panminerva Med* 1989; 31: 107-13.
- 144.- Iñigo MA, Ruiz López de Tejada M, Torres-Tortosa M et al. Adenosina desaminasa sérica en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Su relación con los linfocitos CD4+ y la β 2-microglobulina. *Med Clín (Barc)* 1992; 99: 766-8.

- 145.- Martínez-Bru C, Cortés Rius M, Gascón Roche N, et al. Marcadores bioquímicos de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Química Clínica* 1993; 12: 491-9.
- 146.- Valls V, Ena J, Roca V, Perez-Oteyza C, Figueredo MA, Enriquez-de-Salamanca R. Significance of adenosine deaminase measurement in sera of patients with HIV-1 infection. *AIDS* 1990; 4: 365-6.
- 147.- Cowan MJ, Brady RO, Widder KJ. Elevated erythrocyte adenosine deaminase activity in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 1089-91.
- 148.- Casoli C, Magnani G, Scovassi I, Bertazzoni U, Starcich R. Prognostic significance of adenosine deaminase determination in subjects with the lymphadenopathy syndrome. *J Med Virol* 1988; 24: 413-22.
- 149.- Palomba E, David O, Boltri A, Gabiano C, Tovo PA. Increased erythrocyte adenosine deaminase activity in children with perinatal human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8: 862-5.
- 150.- Glader BE, Backer K. Elevated erythrocyte adenosine deaminase (ADA) activity is not a marker of human immunodeficiency virus (HIV) infection in hemophiliac patients. *Ped Res* 1989; 25: 150A.
- 151.- Yokoyama MM, Tsuboi I. Adenosine deaminase isoenzymes and HIV/HTLV-1 infections. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 698.

152.- Niedzwicki JG, Kouttab NM, Mayer KH et al. Plasma adenosine deaminase2: a marker for human immunodeficiency virus infection. J AIDS 1991; 4: 178-82.

153.- Renouf JA, Wood A, Frazer IH, Thong YH, Chalmers AH. Depressed activities of purine enzymes in lymphocytes of patients infected with human immunodeficiency virus. Clin Chem 1989; 35: 1478-81.

154.- Murray JL, Loftin KC, Munn CG, Reuben JM, Mansell PWA, Hersh EM. Elevated adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activity in peripheral blood null lymphocytes from patients with acquired immune deficiency syndrome. Blood 1985; 65: 1318-24.

155.- Niedzwicki JG, Mayer KH, Abushanab E, Abernethy DR. Plasma adenosine deaminase2 is a marker for human immunodeficiency virus-1 seroconversion. Am J Hematol 1991; 37:152-5.

156.- Anónimo. Vigilancia del SIDA en España. Informe trimestral nE 4, 1994. Ministerio de Sanidad y Consumo. Centro Nacional de Epidemiología.

157.- Anónimo. Tuberculosis e infección por VIH. Recomendaciones del Consejo Asesor Clínico del Plan Nacional sobre el SIDA. 1995, núm. 2, pp. 1-7. Ministerio de Sanidad y Consumo, España

158.- Grupo de Trabajo para el Estudio de Infecciones en Drogadictos. Estudio multicéntrico de las complicaciones infecciosas en adictos a drogas por vía parenteral en España: análisis de 11.645 casos (1977-1988). Enf Infec y Microbiol Clín 1990; 8: 514-9.

159.- Villena V, Navarro-González JA, García-Benayas C, Manzanos JA, Echave J, López-Encuentra A, Arenas Barbero J. Rapid automated determination of adenosine deaminase and lysozyme for differentiating tuberculous and nontuberculous pleural effusions. Clin Chem 1996; 42: 218-21.

160.- Villena MV, Echave-Sustaeta J, López Encuentra A, Martín Escribano P, Navarro JA. Valores bajos de ADA en la tuberculosis pleural en pacientes con serología VIH positiva. Rev Clin Esp 1994; 194: 585.

161.- Martínez-Hernández D, Arenas Barbero J, Jaqueti J, Pérez-Piqueras J, Santos Sancho J, Cosín Ochaitia J, Gómez de Terreros FJ. Adenosine deaminase (ADA), Acquired Immunodeficiency syndrome (AIDS) and Hepatitis B infection. Clin Chem 1.992; 38: 162-3.

162.- Center for Disease Control. Classification system for human T-lymphotropic virus typt III/lymphadenopathy-associated virus infections. MMWR 1986; 35: 324-39.

163.- European Centre for the epidemiological monitoring of AIDS. "AIDS surveillance in Europe". Quarterly report número 37. 31st March 1.993.

164.- Blake J, Bergman P. The use of adenosine deaminase assays in the diagnosis of tuberculosis. S Afr Med J 1982; 62: 19-21.

165.- Carrasco de la Peña JL. El método estadístico en la investigación Médica. 2ª Edición. Editorial Ciencia 3. Madrid 1983. Pag. 136.

166.- Iñigo MA, Ruiz M, Torres Tortosa M, Sánchez Porto A, García de Lomas E, Morán Nestares A. Actividad sérica de la adenosina desaminasa en adictos a drogas por vía parenteral. Química Clínica 1992; 11: 61-2.

167.- Piera Carreras I, Rodríguez Llachs J, Urcola Piñol M. Actividad sérica de la adenosina desaminasa en una población adicta a drogas por vía parenteral. Química Clínica 1991; 10: 74-8.

168.- Lang JM, Coumaros G, Levy S et al. Elevated serum levels of soluble interleukin 2 receptors in HIV infection: correlation studies with markers of cell activation. Immunol Letters 1988; 19: 99-102.

169.- Schulte C, Meurer M. Soluble IL-2 receptor serum levels - a marker for disease progression in patients with HIV-1 infection. Arch Dermatol Res 1989; 281: 299-303.

170.- Kloster BE, John PA, Miller LE et al. Soluble IL-2 receptors are elevated in patients with AIDS or at risk of developing AIDS. Clin Immunol Immunopathol 1987; 45: 440-6.

171.- Ena J, Crespo MJ, Valls V, de Salamanca RE. Adenosine deaminase activity in cerebrospinal fluid: A useful test for meningeal tuberculosis, even in patients with AIDS. *J Infect Dis* 1988; 158: 896.

172.- Tuset C, Ferrer C, Bernacer B, Tuset L, Navarro V, Carbonell F. Estudio de la concentración del receptor soluble de la interleucina-2 (RsIL-2) en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Comparación con otros marcadores inmunológicos. *Rev Diag Biol* 1993; 42: 112-6.

173.- Tomar RH, Henning AK, Dates RP, Yuille MA, John PA. Serum factors in the progression of human immunodeficiency cvirus type 1 infceton to AIDS. *J Clin Lab Anal* 1990; 4: 218-23.

174.- Grieco MH, Reddy MM, Fusillo CA, et al. Cross-sectional study of immunologic abnormalities in intravenous drug abusers on methadone maintenance in New York City. *AIDS* 1989; 3: 235-7.

175.- Sheti KK, Näher H. Elevated titers of cell-free interleukin-2 receptor in serum and cerebrospinal fluid specimens of patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Immunol Letters* 1986; 13: 179-84.

176.- Medina-Ibarrondo C, Lahuerta-Palacios JJ, Lahuerta-Palacios M. Soluble interleukin-2 receptors in B-cell leukemia and the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1987; 106: 774.

177.- Hofman B, Nishanian P, Fahey JL, et al. Serum increases and lymphoid cell surface losses of IL-2 receptor CD25 in HIV infection: distinctive parameters of HIV-induced change. Clin Immunol Immunopathol 1991; 61: 212-24.

178.- Prince HE, Kleinman S, Williams AE. Soluble IL-2 receptor levels in serum from blood donors seropositive for HIV. J Immunol 1988; 140: 1139-41.

179.- Lang JM, Levy S, Coumaros G, et al. Follow-up study of soluble interleukin-2 receptor serum levels in non-progressing HIV-infected people. AIDS 1989; 3: 673-4.

180.- Pizzolo G, Chilosi M, Semenzato G. The soluble interleukin-2 receptor in haematological disorders. Br J Haematol 1989; 67: 377-80.

181.- Ito M, Kojiro N, Shirasaka T, Moriwaki Y, Tachibana I, Kokubu T. Elevated levels of soluble interleukin-2 receptors in tuberculous pleural effusions. Chest 1990; 97: 1141-3.

182.- Galli M, Ridolfo AL, Balotta C et al. Soluble interleukin-2 receptor decrease in the sera of HIV-infected patients treated with zidovudine. AIDS 1991; 5: 1231-5.

VERIFICADA EN EL DIA DE HOY LA LECTURA DE LA TESIS

TITULADA "ADENOSINA DEAMINASA Y
RECEPTORES SOLUBLES DE..."

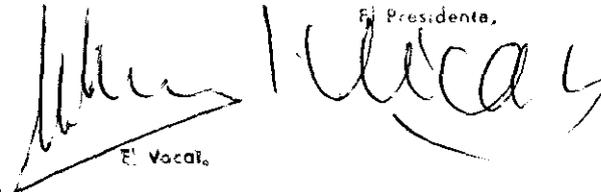
DE LA CUAL EL AUTOR DON JERONIMO

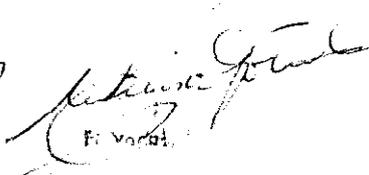
JAQUETI ANGLA

OBTUVO POR ~~LA~~ LA CALIFICACION LEBARTO CUM LAUDE

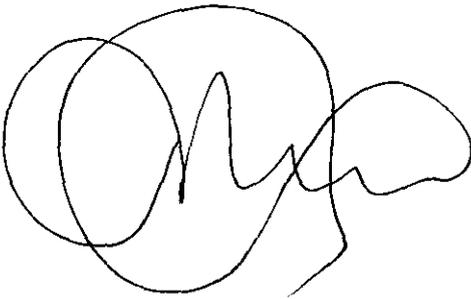
Madrid, 23 de octubre de 1962

El Presidente,


El Vocal,


El Vocal,

El Vocal,



El Secretario,

