

4.4 Markers of immune deficiency

4.4 Marcadores de inmunodeficiencia

Algunos virus infectan a células del sistema inmunitario y las destruyen, por lo que estas no pueden ejercer su función de defensa. Como ya hemos comentado, la respuesta inmunitaria es muy compleja, y cualquiera de las células que intervienen puede ser víctima de los virus. En este video vamos a ver cómo se evalúa el número de linfocitos T, pero el mismo principio es aplicable a otras células.

Las células inmunitarias tienen en su superficie unas moléculas que las identifican, que se denominan CD (*cluster differentiation*). No se conoce la función de todas ellas, pero sabemos que están presentes siempre en determinadas células o se expresan asociadas a ciertos estados de activación celular. Por ejemplo, los linfocitos T se caracterizan por tener CD3, asociado a su receptor; los linfocitos T colaboradores o Th son CD4+ y los T citotóxicos CD8+; los linfocitos B son CD19+ y si están activados son además CD23+; y todos ellos son CD45+, lo que les define como leucocitos. Parece complejo, pero ya verás qué útil es conocer estas moléculas.

La determinación de los marcadores CD4 y CD8, que definen a los linfocitos Th y Tc, respectivamente, aunque no de forma exclusiva, se emplea frecuentemente para evaluar el estado inmunitario de un individuo, especialmente la relación o cociente entre células CD4:CD8. Esta relación se puede ver afectada por virus que infectan a células inmunitarias. Es el caso de la infección por VIH, o por el virus de la mononucleosis infecciosa en las personas; o en los gatos los virus de la inmunodeficiencia o de la leucemia felina. En estas infecciones se suele emplear el cociente CD4:CD8 para determinar el progreso de la infección y el éxito o no del tratamiento antirretroviral. El cociente superior a 2 indica un sistema inmunitario normal y por debajo de 1, inmunodeficiencia.

Para determinar el número de células que poseen un determinado CD se emplean anticuerpos monoclonales, que son muy específicos, marcados con un fluorocromo. Si se van a determinar varias poblaciones, por ejemplo CD4 y CD8, se pueden emplear dos fluorocromos distintos. Como muestra se puede utilizar sangre entera, eliminando previamente los glóbulos rojos mediante su lisis con una solución específica. Se añade el anti-CD marcado con el fluorocromo y tras una breve incubación en oscuridad se analizan las células en el citómetro de flujo.

El citómetro de flujo es un instrumento muy sensible. Tiene un sistema de flujo mediante el cual las células se analizan individualmente. Así, cada célula es atravesada por un rayo láser, activando la fluorescencia en aquellas células que han sido "marcadas" con el anticuerpo específico. El citómetro reconoce la fluorescencia en la superficie de las células concretas, y desvía las células que pasan, recogiendo en contenedores individuales. Así, se puede purificar una población celular heterogénea separando subpoblaciones específicas que presentan diferentes CDs.

En el caso de los linfocitos T colaboradores y T citotóxicos, el resultado se expresa en un gráfico en el que primero se enfrenta la complejidad al tamaño. Así se pueden separar los linfocitos, que son leucocitos pequeños y con escasa complejidad. En una segunda etapa, estos son clasificados según la intensidad de la fluorescencia de sus respectivos fluorocromos. Fíjate

en el gráfico de la derecha, en que la escala es logarítmica, y en las tres poblaciones principales de células: las negativas a CD4 y a CD8, y las positivas a uno de los dos marcadores.

No te olvides de hacer los ejercicios recomendados para determinar si los pacientes que mostramos son inmunodeficientes o no. Muchas gracias por tu atención.