

47 Evaluación por inmunohistoquímica de la expresión de moléculas coestimuladoras en tejidos linfoides normales y alterados

Natalia Olaya¹, Adriano Martínez², Carlos Montoya³,
Pablo Patiño⁴, Beatriz Vieco⁵

PALABRAS CLAVE

INMUNOHISTOQUÍMICA
COESTIMULACIÓN
ÓRGANOS LINFOIDES

INTRODUCCIÓN

Las moléculas coestimuladoras son proteínas expresadas en la superficie de las células del sistema inmune, fundamentales para la regulación de su respuesta; la inadecuada expresión o función de ellas ha sido involucrada en fenómenos fisiopatológicos que derivan en una mala respuesta inmune específica e inespecífica. Para el estudio de múltiples alteraciones inmunológicas caracterizadas por defectos en la activación de los linfocitos es importante contar con técnicas que permitan evaluar la expresión y función de las moléculas coestimuladoras.

OBJETIVO

Estandarizar la técnica de inmunohistoquímica por medio de avidina-biotina-peroxidasa para la detección de las moléculas coestimuladoras, aun en condiciones de baja expresión; analizar la expresión de estas proteínas de superficie en los diferentes órganos linfoides, tanto en condiciones de no estimulación como en aquéllos provenientes de pacientes con reacciones inflamatorias locales.

METODOLOGÍA

Se obtuvieron las siguientes muestras para evaluación: bazo (procedente de cirugía por trauma), intestino y apéndice cecal (con inflamación aguda y crónica) y de amígdalas palatinas (amigdalectomía); órganos linfoides de cadáveres de personas fallecidas por trauma que no presentaban características morfológicas anormales. Los especímenes se recolectaron en fresco inmediatamente después de la intervención, y se congelaron a -20°C embebidos en resina de inclusión. Posteriormente, en un crióstato se obtuvieron secciones de 4µm del

tejido en una lámina con polilisina, y se procesaron por medio de la técnica de avidina-biotina-peroxidasa, utilizando anticuerpos monoclonales para detectar las moléculas coestimuladoras CD28, CD80, CD86, CD154 y CD40. Para identificar la expresión en algunas poblaciones leucocitarias de interés, se hizo marcaje para moléculas de expresión constitutiva como CD45 y CD3. Como control negativo se procesaron muestras en las que no se usaron los anticuerpos primarios.

RESULTADOS ESPERADOS

En los tejidos linfoides en reposo no debe existir una expresión significativa de las moléculas coestimuladoras inducibles por la activación, como CD154 y CD86; la expresión de las moléculas constitutivas debe ser detectada en los diferentes órganos en las áreas anatómicas características (CD28 en la zona T y CD80 en los folículos linfoides). En los órganos linfoides provenientes de tejidos inflamados debe existir una regulación positiva de las diferentes moléculas coestimuladoras; se quiere establecer si hay una variabilidad en la expresión en los diferentes tejidos. También se espera poder establecer una escala visual semicuantitativa para el análisis de la expresión de estas moléculas.

DISCUSIÓN

Desarrollar técnicas que permitan evaluar las diferentes moléculas relacionadas con la respuesta inmune permitirá la implementación de pruebas útiles en el estudio de la fisiopatología de las diferentes alteraciones inmunológicas y con posibilidades de uso en el diagnóstico y seguimiento de la respuesta a la terapia específica para cada enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. VYTH-DREESE F, DELLEMIJN T, MAJOUR D, JONG D. Localization in situ of costimulatory molecules B7.1, B7.2, CD40 and their ligands in normal human lymphoid tissue. *Eur J Immunol* 1995; 25: 3.023-3.029.
2. MILLER R, SWANSON P, WICK F. Fixation and epitope retrieval in diagnostic immunohistochemistry. *App Immunohistochem Molec Morphol* 2000; 8: 228-235.
3. FROST A, SPARKS D, GRIZZLE W. Methods of antigen recovery vary in their usefulness in unmasking specific antigens in immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Molec Morphol* 2000; 8: 236-243.

.....
Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia,

Instituto de Patología

¹ Residente de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia
matadero5@hotmail.com

² Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia

³ Profesor, Laboratorio de Inmunología, Universidad de Antioquia

⁴ Profesor, Laboratorio de Inmunología, Universidad de Antioquia

⁵ Bacterióloga, Instituto de Patología, Universidad de Antioquia