Evaluación de la respuesta inmune en caballos: cuantificación de citoquinas y citometría de flujo

Almudena Sánchez Matamoros

a.sanchez.matamoros@gmail.com

Tutores

Ana de las Heras Sánchez. José Manuel Sánchez-Vizcaíno

Resumen: El sistema inmune es el principal mecanismo defensivo del organismo, cuyo objetivo principal es destruir y controlar los patógenos. Para llevar a cabo estas funciones se compone de diferentes tipos celulares y señales a nivel molecular que modulan la respuesta inmune de cada individuo. Las células del sistema inmunitario son muy heterogéneas, estableciéndose entre ellas numerosas interacciones mediante mediadores proteicos, las citoquinas. La cuantificación de estos componentes es fundamental para conocer la interacción del patógeno con el hospedador y establecer tratamientos adecuados.

En este trabajo se ha puesto a punto la técnica de citometría de flujo (CF) para la cuantificación de poblaciones de células inmunes, y se ha desarrollado la RT-PCR a tiempo real con SYBR GREEN para la cuantificación de la expresión de citoquinas en caballos sanos. La metodología empleada en CF consistió en la selección y validación de varios marcadores moleculares comerciales frente a CD4+, CD8+, linfocitos B y CD14. La RT-PCR fue diseñada para la detección de la expresión del ARNm de 7 citoquinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, TNF- α , IFN γ).

Los resultados de CF muestran que todos los anticuerpos eran específicos de células de caballos salvo CD14 y se realizó la optimización de sus concentraciones. Mediante la RTPCR se detectó el ARNm de las citoquinas estudiadas, presentando unas eficiencias de 90–100%, a excepción de la IL-12 (86.8%). Ambas técnicas son rápidas y específicas, permitiendo la cuantificación de las poblaciones celulares y del patrón de expresión de citoquinas, lo que facilita la comprensión de los procesos inmunológicos de los caballos.

Palabras clave: Respuesta inmune. Citoquinas. Citometría de flujo. RTPCR a tiempo real.

Investigación Aplicada
Comunicación Oral

Recibido: 29 marzo 2011.
Aceptado: 1 abril 2011.