

SESIÓN 5: DIAGNÓSTICO

Citometría de flujo en el diagnóstico de la enfermedad celíaca: linfograma intestinal

Carlota García-Hoz y Garbiñe Roy

Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

Inmunología y enfermedad celíaca

La enfermedad celíaca (EC) es un proceso inmunológico mediado por linfocitos T, inducido por gluten, en sujetos portadores de los alelos HLA-DQ2 o DQ8. La respuesta inmune tiene lugar a 2 niveles: una respuesta inflamatoria específica frente al gluten y mediada por linfocitos T CD4⁺ localizados en la lámina propia, y una activación innata de los linfocitos intraepiteliales (LIE) que causan la destrucción del epitelio. La lesión resultante es lo que llamamos *enteropatía celíaca* y a día de hoy sigue siendo un reto diagnóstico.

Los linfocitos intraepiteliales intestinales

- Los LIE constituyen una población heterogénea, dispersa en el epitelio intestinal. Esta localización crítica les confiere una función relevante en el control de la respuesta inmune tanto defensiva frente a patógenos como tolerogénica frente a antígenos de la flora saprofita y de la dieta¹.
- Los LIE representan el 5-15% de las células aisladas del epitelio duodenal². La fracción predominante son linfocitos T (CD3⁺ > 70%) (TcR $\alpha\beta$ CD8⁺ ≈ 80% y TcR $\gamma\delta$ ≈ 10%). La fracción restante son linfocitos CD3⁻ (~ 20% en adultos y ≈ 40% en niños)^{3,4}. Aproximadamente, un 26,3 ± 1,3% (n = 40) de estos LIE CD3⁻ negativos en superficie son positivos para CD3ε⁺ intracitoplasmático en una mucosa duodenal sana (dato del autor).

Citometría de flujo de linfocitos intraepiteliales en el diagnóstico de la enfermedad celíaca

La citometría de flujo constituye una herramienta muy útil para el análisis multiparamétrico y la cuantificación de es-

tas subpoblaciones heterogéneas LIE⁵, así como para establecer los rangos de normalidad^{3,4} y caracterizar las variaciones observadas en la EC:

- La primera anormalidad detectable en la EC es el aumento de los linfocitos T CD3⁺ ($\alpha\beta$ y $\gamma\delta$), coincidente con un estadio inicial de linfocitos histopatológica, parámetro sensible pero no específico de EC. Este aumento se produce durante las fases activas de la enfermedad y se corrige al excluir el gluten de la dieta.
- Una segunda anormalidad, casi patognomónica, en la EC es el aumento permanente de TcR- $\gamma\delta$ ⁺ LIE, independientemente de la ingestión o no de gluten.
- La tercera anormalidad llamativa es la desaparición casi total de la subpoblación LIE CD3⁻ CD7⁺ en la EC activa.

El análisis por citometría de flujo, de forma conjunta, de estos 3 parámetros: *a*) el porcentaje de LIE (LIE CD45⁺) respecto al total del epitelio; *b*) el porcentaje de LIE TcR- $\gamma\delta$ ⁺, y *c*) el porcentaje de LIE CD3⁻, es lo que denominamos “linfograma intraepitelial o linfograma LIE”.

Valor diagnóstico del linfograma intraepitelial

El espectro de formas clínicas a incluir en el cribado de EC es cada vez más amplio, y es precisamente en las formas atípicas, con menor expresión histológica y una serología más inconstante, donde el linfograma LIE tiene su mayor eficacia diagnóstica (figs. 1 y 2):

- Dota de especificidad al estudio anatomopatológico. Diagnóstico diferencial.
- Identifica la forma potencial de EC.
- Ratifica la EC en pacientes de larga evolución (con DSG) y con dudas diagnósticas.

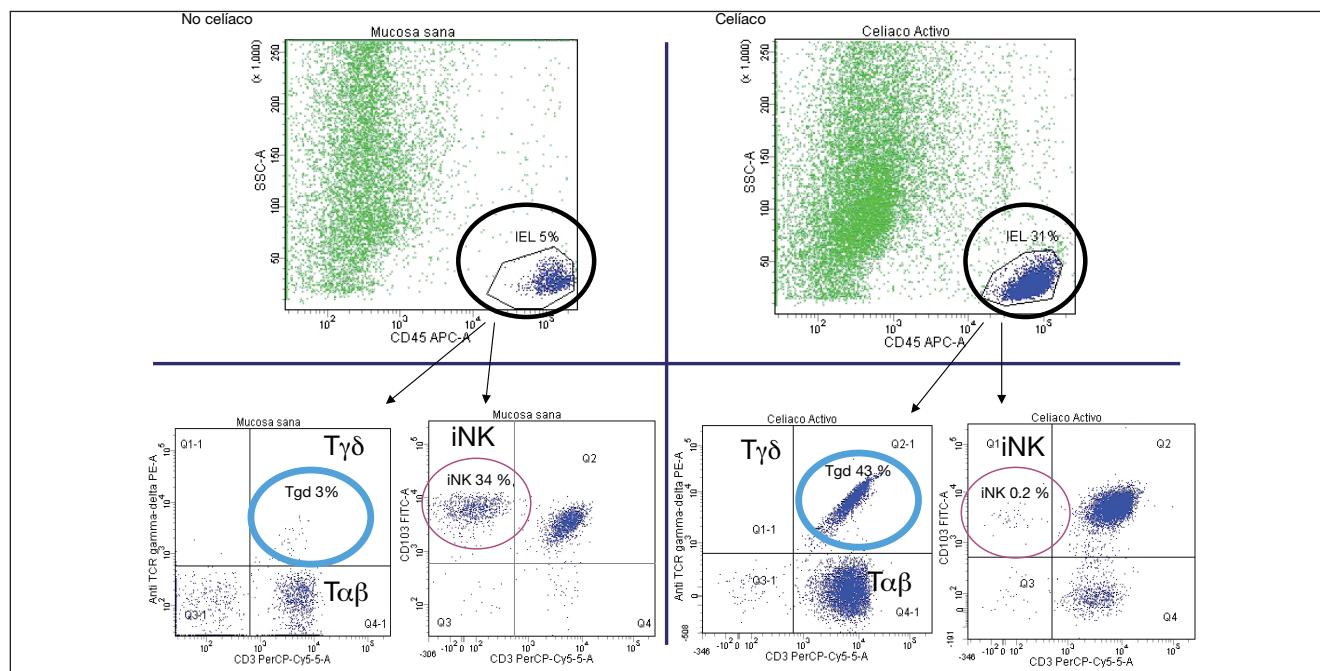


Figura 1 Linfograma intraepitelial: cambios característicos en la enfermedad celíaca.

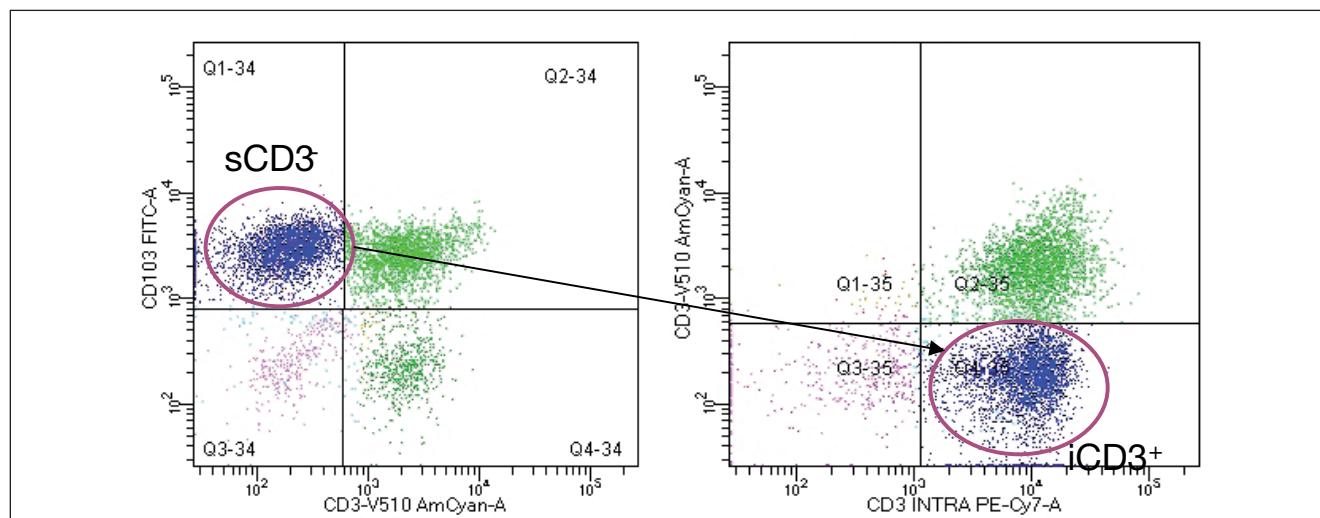


Figura 2 Linfograma intraepitelial en la enfermedad celíaca refractaria tipo II.

- Elimina interferencias de interpretación en las lesiones parcheadas, ya que el perfil del linfograma se reproduce tanto en bulbo como en duodeno distal⁶.
- Caracteriza fenotípicamente la subpoblación LIE CD3-icCD3ε⁺, que define a la población aberrante expandida en la EC refractaria tipo II⁷.

Bibliografía

1. Abadie V, Discepolo V, Jabri B. Intraepithelial lymphocytes in celiac disease immunopathology. *Semin Immunopathol*. 2012;34: 551-66.
2. Ferguson A, Murray D. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human jejunum. *Gut*. 1971;12:988-94.
3. Camarero C, Eiras P, Asensio A, Leon F, Olivares F, Escobar H, et al. Intraepithelial lymphocytes and coeliac disease: permanent changes in CD3-/CD7+ and T cell receptor gammadelta subsets studied by flow cytometry. *Acta Paediatr*. 2000;89:285-90.
4. Camarero C, Leon F, Sanchez L, Asensio A, Roy G. Age-related variation of intraepithelial lymphocytes subsets in normal human duodenal mucosa. *Dig Dis Sci*. 2007;52:685-91.
5. León F. Flow cytometry of intestinal intraepithelial lymphocytes in celiac disease. *J. Immunol. Meth*. 2011;363:177-86.
6. De Andrés A, Camarero C, Roy G. Distal duodenum versus duodenal bulb: intraepithelial lymphocytes have something to say in celiac disease diagnosis. *Dig Dis Sci*. 2015;60:1004-1009.
7. Sánchez-Muñoz LB, Santón A, Cano A, Lopez A, Almeida J, Orfao A, et al. Flow cytometric analysis of intestinal intraepithelial lymphocytes in the diagnosis of refractory celiac sprue. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20:478-87.