

11219

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA**

**IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES DE  
ACTIVACION SOBRE LINFOCITOS DE  
NEONATOS SANOS**

**TESIS DE POSGRADO  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA**

**INFECTOLOGÍA**

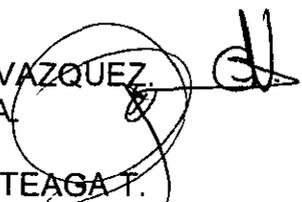
**P R E S E N T A**



**DRA. LIF ZARAGOZA CRUZ** DIRECCION DE ENSEÑANZA

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO: DR. JOSE L.  
ARREDONDO GARCIA**

**TUTOR: M en C. ARTURO CERBULO VAZQUEZ.  
DR. JAVIER F. ORTIZ IBARRA**



**COLABORADORES: M en C. GABRIEL ARTEAGA T.  
DR. JOSE L. ARREDONDO G.**

**MÉXICO, D.F. FEBRERO DEL 2000.**

277589  
685442



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



*A Dios, por encontrarme siempre  
rodeada de gente maravillosa.*

*A mis padres y hermanos  
por el apoyo incondicional  
que de ellos he recibido siempre.*

I N D I C E

I. TITULO.....	4
II. MARCO TEORICO.....	4
III. METODOLOGIA.....	9
IV. RESULTADOS.....	13
V. DISCUSIÓN.....	21
VI. APENDICE.....	24

## **I. TITULO**

Identificación de marcadores de activación sobre linfocitos de neonatos sanos.

## **II. MARCO TEORICO**

### **A. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

- ¿Existe la expresión de un patrón CD45RO<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup> en superficie de linfocitos en neonatos sanos?

### **B. ANTECEDENTES**

La incidencia de infecciones en Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) es elevada (1-4). La sepsis es el principal problema en las UCIN de todo el mundo. El diagnóstico temprano de sepsis neonatal basándose sólo en evidencia clínica es difícil de establecer, ya que los signos y síntomas pueden ser mínimos y/o similares a lo expresado por otros procesos no infecciosos (5, 6). El diagnóstico clínico sugestivo de sepsis en el neonato puede ser apoyado con la búsqueda intencionada de ciertos factores de riesgo, así como estudios paraclínicos lo cual aumenta la

## **I. TITULO**

Identificación de marcadores de activación sobre linfocitos de neonatos sanos.

## **II. MARCO TEORICO**

### **A. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

- ¿Existe la expresión de un patrón CD45RO<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup> en superficie de linfocitos en neonatos sanos?

### **B. ANTECEDENTES**

La incidencia de infecciones en Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) es elevada (1-4). La sepsis es el principal problema en las UCIN de todo el mundo. El diagnóstico temprano de sepsis neonatal basándose sólo en evidencia clínica es difícil de establecer, ya que los signos y síntomas pueden ser mínimos y/o similares a lo expresado por otros procesos no infecciosos (5, 6). El diagnóstico clínico sugestivo de sepsis en el neonato puede ser apoyado con la búsqueda intencionada de ciertos factores de riesgo, así como estudios paraclínicos lo cual aumenta la

probabilidad de éxito diagnóstico. Sin embargo, el diagnóstico se considera como probable hasta obtener el aislamiento microbiológico del agente patológico (7). Algunos indicadores han sido evaluados para el diagnóstico de sepsis neonatal, entre ellos se han incluido índices leucocitarios y niveles de proteínas de fase aguda, sin embargo, hasta el momento no se cuenta con una prueba de laboratorio que de manera rápida y segura identifique en forma temprana el estado séptico en neonatos (8-10).

Por otro lado la activación linfocitaria conduce a la generación de numerosos mecanismos efectores, los cuales eventualmente limitan el desarrollo de procesos infecciosos. La especificidad de la respuesta inmune es debida a la actividad de los linfocitos, los cuales son las únicas células en el organismo capaces de reconocer específicamente los diferentes determinantes antigénicos (11). En el estado de infección/sepsis el sistema inmunológico se encuentra activado, en tal estado se expresan moléculas en la superficie y en el interior de las células que participan en la respuesta inmunológica. Estas moléculas son denominadas como "marcadoras de activación", por ejemplo la molécula CD45 es un antígeno leucocitario común perteneciente a la familia de glicoproteínas expresadas por células de origen hematopoyético (linfocitos, monocitos, granulocitos y timocitos, pero no en eritrocitos, plaquetas o tejidos no hematopoyéticos). Han sido identificadas al menos 5 isoformas humanas. Los linfocitos pueden expresar simultáneamente más de una isoforma de CD45,

interesantemente los antígenos CD45RA y CD45RO son recíprocamente expresados (12). Diversos estudios señalan que la expresión de CD45RA es característica de células en reposo y la expresión de CD45RO característica de células de memoria o activadas (13, 14). Al nacimiento más del 90% de los linfocitos T de sangre de cordón umbilical expresa la isoforma CD45RA (15, 16), tal expresión disminuye progresivamente hasta alcanzar aproximadamente un 20% de las células T circulantes en el adulto (16).

Así mismo la expresión de la isoforma CD45RO se incrementa rápidamente desde el nacimiento hasta la edad adulta. Los porcentajes reportados al nacimiento son variables y van desde menos del 5% (17), 11% (18) hasta un 34.9% (14, 18) en las primeras 24 horas de vida lo cual se incrementa hasta alcanzar cifras de aproximadamente 72% en la edad adulta (14, 19).

Se ha reportado por trabajos previos que la expresión de isoformas de CD45 no se asocia directamente con estados de maduración de linfocitos T tanto in vivo como in vitro (20-22). En contraste, ha sido clínicamente probado que la proporción de linfocitos T CD45RO se incrementa marcadamente en diversos estados infecciosos, enfermedades autoinmunes o procesos de granulomatosis (23-25).

Adicionalmente, se ha reportado una asociación entre la presencia de un organismo infeccioso y el aumento de células CD45RO positivas circulantes en neonatos. En este estudio se observó que

el 17% de las células mononucleares de sangre periférica de neonatos sépticos expresan CD45RO, en contraste solo el 10% de las células mononucleares de sangre de neonatos sanos lo hacen (26). Este resultado sugiere que el paciente con proceso infeccioso puede ser identificado con base en la detección de CD45RO en superficie de células.

Se ha propuesto que otras moléculas pueden servir como marcadores de activación, por ejemplo CD69 es una glicoproteína de 28-34 kD que se expresa tempranamente durante la activación de linfocitos, monocitos y plaquetas (27), hasta el momento se desconoce el papel específico que desarrolla CD69 dentro del proceso de activación celular. Por otro lado, CD71 es una glicoproteína de membrana de 95 kD, identificado como el receptor de transferrina el cual es expresado en linfocitos activados, monocitos, macrófagos y la mayoría de células en división (28). Ninguno de estos marcadores se expresa en linfocitos en reposo (27, 28).

### **C. JUSTIFICACION**

En la actualidad existe controversia en relación con el nivel basal de expresión de moléculas marcadoras de activación en linfocitos T, B y NK de *neonatos sanos*. La *identificación de un patrón basal* de la expresión de estas moléculas en *pacientes sanos* podrá

utilizarse como una herramienta útil para posteriormente compararlos con estudios en los que se analiza la expresión de este mismo patrón en procesos patológicos (sepsis).

## **E. OBJETIVOS**

### **GENERAL:**

- ◆ Conocer la expresión de moléculas marcadoras de activación en superficie de linfocitos de sangre periférica en neonatos sanos.

### **ESPECIFICOS:**

- ◆ Definir la expresión de un patrón de activación (CD45RO, CD69 y CD71) en células CD3<sup>+</sup> en neonatos sanos .
- ◆ Definir la expresión de un patrón de activación (CD45RO, CD69 y CD71) en células CD19<sup>+</sup> en neonatos sanos.
- ◆ Definir la expresión de un patrón de activación (CD45RO, CD69 y CD71) en células CD56<sup>+</sup> en neonatos sanos.

### **III. METODOLOGIA**

#### **TIPO DE INVESTIGACION**

Se realizó un estudio de tipo observacional, transversal, descriptivo, analítico y prospectivo.

#### **LUGAR Y DURACION**

El estudio se realizó en el Instituto Nacional de Perinatología con una duración aproximada de 6 meses.

#### **UNIVERSO**

*Todos los recién nacidos a término (RNT) que nacieron en el INPer.*

#### **UNIDADES DE OBSERVACION**

Recién nacido de término (>37 semanas de gestación) sano.

#### **METODO DE MUESTREO**

Se incluyó a los primeros 13 recién nacidos que aceptaron participar en el estudio.

#### **TAMAÑO DE MUESTRA**

No se requirió calcular el tamaño de la muestra, ya que se trató de un estudio para determinar la proporción de células que expresan el patrón de activación en pacientes sanos.

## CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- RNT sin factores de riesgo para sepsis.
- Clínicamente asintomáticos y sin alteraciones de laboratorio sugestivas de sepsis.

### CRITERIOS DE EXCLUSION

- Deterioro clínico en las primeras 72 horas de vida.
- Evidencia de foco infeccioso.
- Diagnóstico de malformación congénita, enfermedades autoinmunes, granulomatosas o padecimientos oncológicos.

## VARIABLES EN EL ESTUDIO.

### VARIABLE INDEPENDIENTE.

Paciente sano

### VARIABLES DEPENDIENTES.

Expresión de CD45RA, CD45RO, CD69 y CD71 en superficie de linfocitos de sangre periférica de RNT sanos.

## RECOLECCION DE DATOS

### TOMA DE MUESTRAS

Se obtuvieron muestras de sangre periférica (0.5 ml) a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. La muestra se obtuvo al momento de la toma de sangre para tamiz neonatal, la

cual se realiza de rutina en el hospital a aquellos pacientes con más de 48 horas de estancia.

## TINCIONES CELULARES

Se realizaron inmunotinciones para determinar por citometría de flujo la expresión en superficie celular de marcadores de activación en células **CD3<sup>+</sup>**, **CD19<sup>+</sup>** y **CD56<sup>+</sup>**.

Los marcadores de activación a estudiar son: **CD45RO**, **CD69** y **CD71**.

Procedimiento de la tinción:

- La muestra de sangre periférica se colecta en tubos heparinizados (0.5 ml).
- Tomar 50µl de sangre total y pasarlo a tubo de ensayo de 12 x 75 mm.
- Adicionar 5µl de cada anticuerpo monoclonal a cada tubo. Se adiciona anti-CD3, anti-CD19 y anti-CD56 para definir poblaciones de células T, B y NK respectivamente, además se adiciona anti-CD45RA, anti-CD45RO, anti-CD69 y anti-CD71 para cuantificar el porcentaje de células positivas para cada marcador de activación.
- Incubar 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
- Lisar eritrocitos con 500µl de FACS Lysing solution diluida 1:10 del STOCK.
- Incubar 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.

- Centrifugar a 900 r.p.m. por 5 minutos a temperatura ambiente.
- Decantar sobrenadante y resuspender botón de células en volumen mínimo residual.
- Adicionar 100 $\mu$ l de solución al 0.5% de paraformaldehído.
- Leer en citómetro.

### PLAN DE ANALISIS

#### DATOS DERIVADOS DE ANALISIS POR CITOMETRIA DE FLUJO

El citómetro de flujo mostró tanto el porcentaje de células positivas para un marcador específico como el número absoluto de células positivas para el mismo marcador.

De cada uno de los individuos se obtuvieron tanto las proporciones como el número absoluto de células positivas para cada uno de los marcadores.

Los resultados son presentados en gráficas de puntos (para mostrar poblaciones celulares positivas para cada marcador) e histogramas

### ASPECTOS ETICOS

Se obtuvo el consentimiento de los participantes a través de la autorización por escrito por parte de los tutores o padres del paciente para la toma de muestras de sangre.

## IV. RESULTADOS

### *Población estudiada*

De los 13 RN todos son de término, en base a la edad gestacional al nacimiento determinada por medición de Capurro, y con un adecuado peso al nacimiento (**tabla 1**). El 69% (n=9) de la población fue del sexo femenino y el 31% (n=4) del sexo masculino. En cuanto a la distribución por sexo, se muestran resultados en la **figura 1**. Todos los pacientes nacieron por vía cesárea. Dos de los pacientes nacieron de madres con ruptura prematura de membranas de más de 12 horas sin datos de corioamnioititis, sin embargo en estos pacientes se descartó proceso infeccioso tanto clínica como laboratorialmente, además en el análisis individual, no se observó diferencias con respecto al resto del grupo.

**TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LOS RECIEN NACIDOS.\***

	<b>MEDIA</b>	<b>DS</b>
<b>PESO AL NACIMIENTO</b> (g)	2,924	283.84
<b>EDAD GESTACIONAL</b> (Capurro)	38.6 (MEDIANA)	

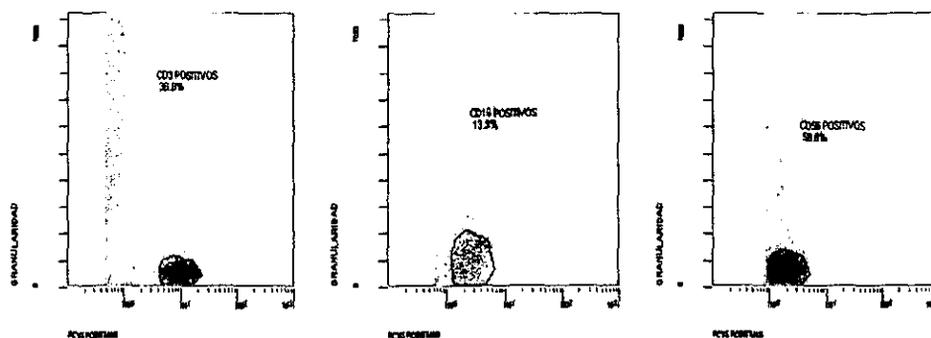
\*La media, mediana y la desviación estándar fueron calculadas en base a n=13.



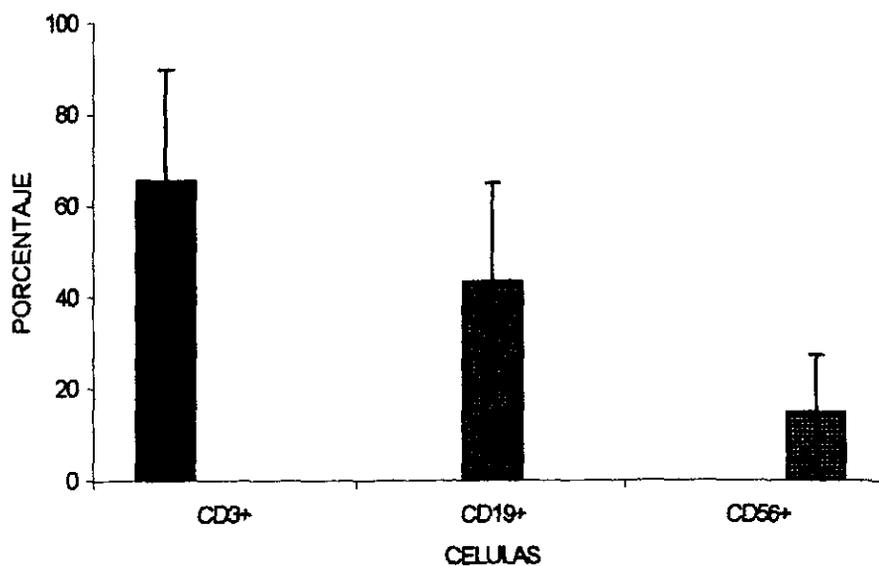
**FIGURA 1.** Representación esquemática del porcentaje de acuerdo al sexo. n=13

### *IDENTIFICACION DE POBLACIONES CELULARES T, B Y NK.*

Las características fenotípicas de linfocitos T, B y NK se determinaron por tinción de inmunofluorescencia a tres colores y análisis con citometría de flujo. Utilizando una gráfica de granularidad contra fluorescencia en el canal tres se determinó la presencia de células CD3, CD19 y CD56 positivas. Las gráficas de granularidad contra fluorescencia 3 muestran una clara diferencia entre células positivas y negativas para los marcadores de interés (CD3, CD19 y CD56). Se estableció una región que contenía a células CD3 +, CD19+ y CD56+ (**figura 2**). Los porcentajes obtenidos se muestran en la **figura 3**.



**FIGURA 2.** Gráficas de granularidad contra fluorescencia en canal 3. Figuras representativas de cada uno de los tipos celulares (T, B y NK). n= 13 de cada uno de los tipos celulares.

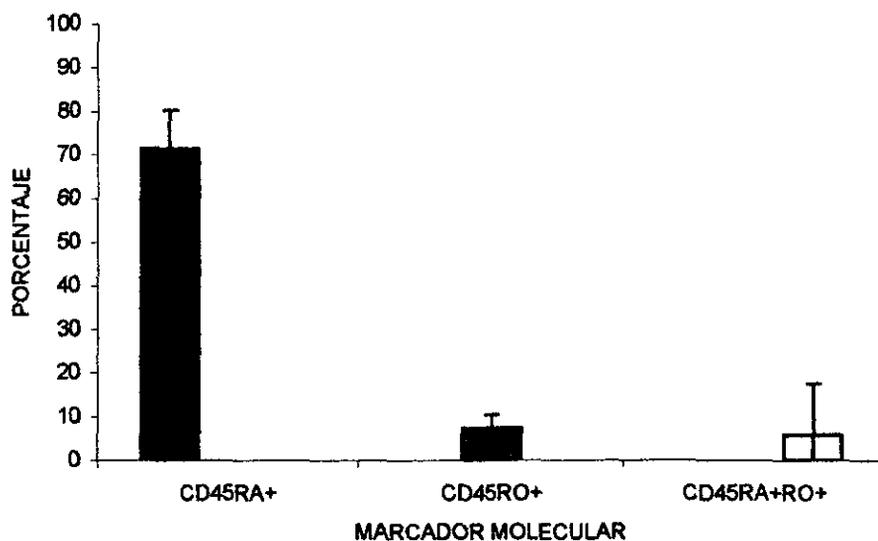


**FIGURA 3.** Porcentaje de células CD3+, CD19+ y CD56+ obtenidas a partir de una gráfica de puntos de granularidad contra fluorescencia en canal 3. n=13.; valores promedio  $\pm$ DS.

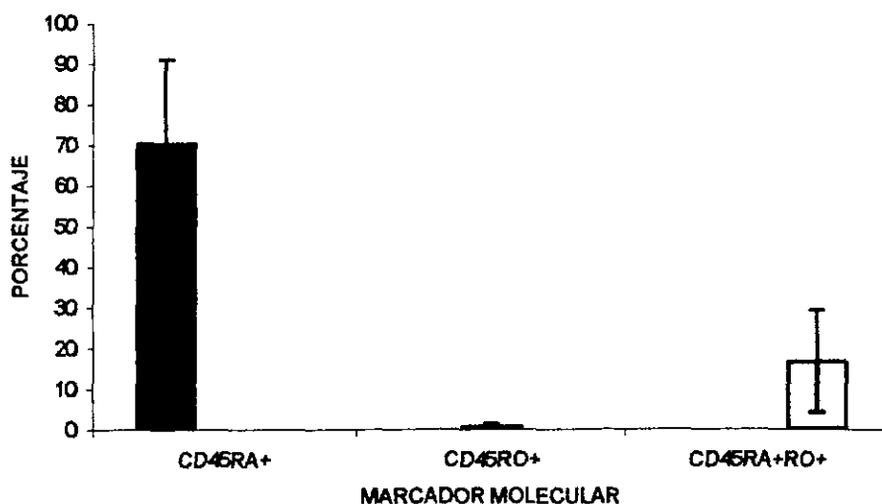
## *EXPRESION DE CD45RA Y CD45RO SOBRE CELULAS T, B Y NK.*

La expresión de CD45RA y RO fue explorada en linfocitos T, B y NK. En concordancia con lo reportado por otros autores, en estas células se expresa de manera predominante la isoforma CD45RA+ (40-70%), mientras que el marcador CD45RO+ se encuentra en un bajo porcentaje en linfocitos T (<10%) y ausente en células B y NK. Los porcentajes de células dobles positivas para CD45RA+ y RO+ encontradas en T, B, y NK fueron de 6, 17 y 3% respectivamente. En el análisis individual dos pacientes presentaron un alto porcentaje de expresión (40%) tanto en células T como en células NK, lo cual puede explicarnos el tamaño de la desviación estándar (DS) en estas dos poblaciones (**Figura 4, 5 y 6**).

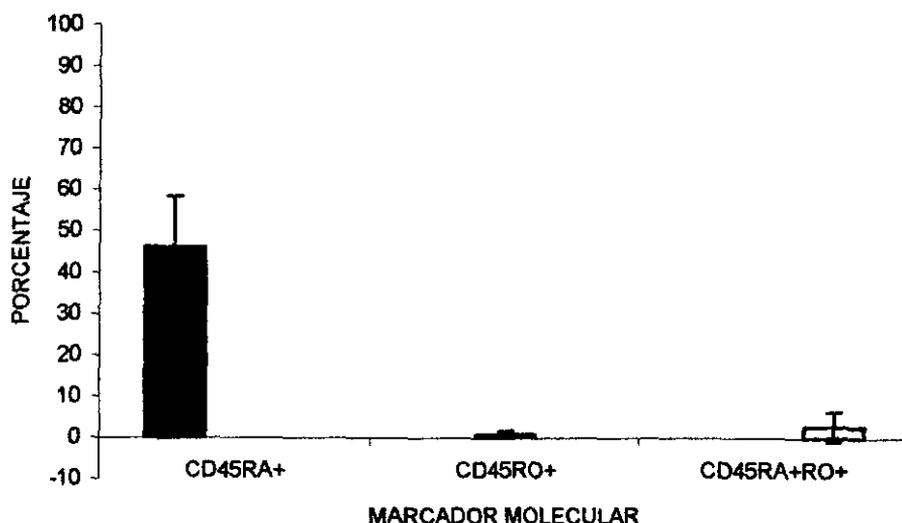
En resumen los linfocitos T, B y NK son predominantemente positivas para CD45RA. Expresan una población de células CD45RO baja y una población doble positiva CD45RARO sólo evidente en células B.



**FIGURA 4.** Expresión de CD45RA+, CD45RO+ y CD45RA+RO+ en células CD3+ de sangre periférica de neonato. Tinción de tres colores, anti-CD45RA FITC, anti CD45RO PE y anti CD3 PCY5. n=13; valores promedio  $\pm$ DS.



**FIGURA 5.** Expresión de CD45RA+, CD45RO+ y CD45RA+RO+ en células CD19+ de sangre periférica de neonato. Tinción de tres colores, anti-CD45RA FITC, anti CD45RO PE y anti CD19 PCY5. n=13; valores promedio  $\pm$ DS.



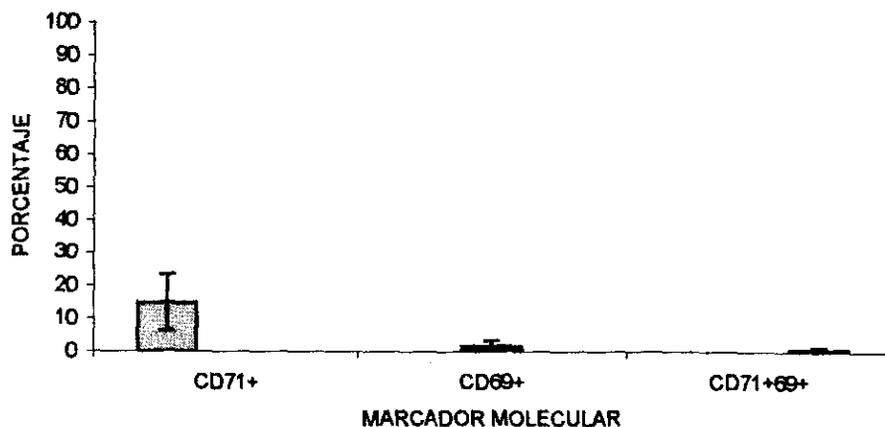
**FIGURA 6.** Expresión de CD45RA+, CD45RO+ y CD45RA+RO+ en células CD56+ de sangre periférica de neonato. Tinción de tres colores, anti-CD45RA FITC, anti CD45RO PE y anti CD56 PCY5. n=13; valores promedio  $\pm$ DS.

### *EXPRESION DE CD71 Y CD69 SOBRE CELULAS T, B Y NK.*

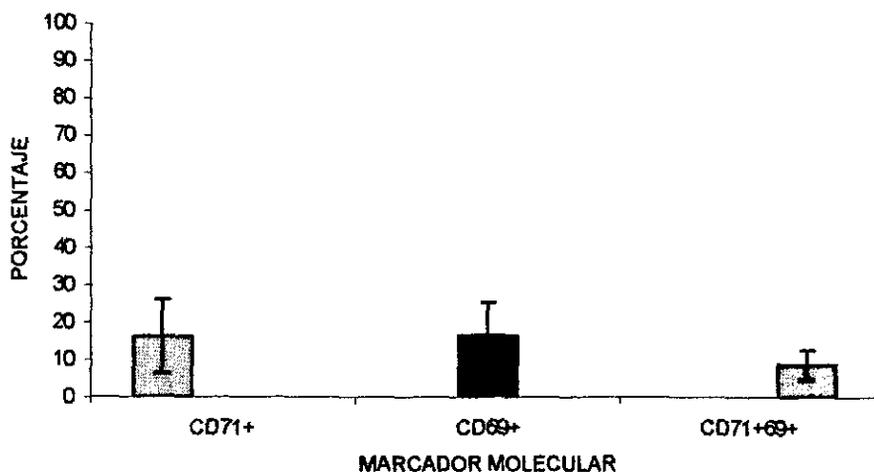
Con respecto a la expresión de marcadores CD71 y CD69 sobre linfocitos T, B y NK de neonatos en el presente estudio se encontró que CD71+ se expresa en todas las poblaciones celulares estudiadas en grado variable. Así, en células CD3+ un 14.69 % de la población son CD71+, en tanto que las poblaciones CD19+ y CD56+ expresan 16.07 y 23.13 % respectivamente.

La expresión de CD69+ se encuentra prácticamente ausente en linfocitos CD3+ (1%). En linfocitos CD19+ CD69 se expresa en el

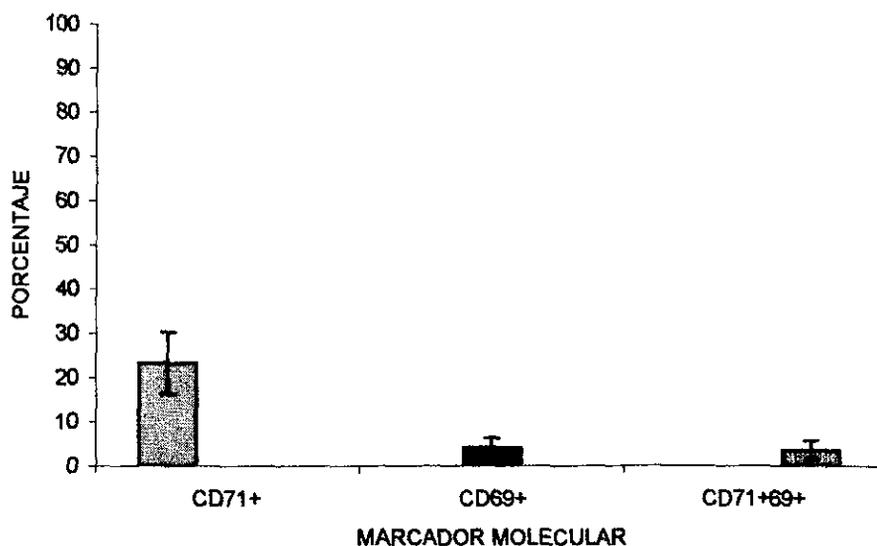
16.31% de la población. Finalmente la población CD56+ expresa CD69 en un 4% de las células. No se detectaron células dobles positivas CD71+69+ sobre linfocitos CD3+, mientras que 3.47% de las células CD56+ y 8.62% de las células CD19+ lo expresaron (Figura 7, 8 y 9).



**FIGURA 7.** Expresión de CD71+, CD69+ y CD71+69+ en células CD3+ de sangre periférica de neonato. Tinción de tres colores, anti-CD71 FITC, anti CD69 PE y anti CD3 PCY5. n=13; valores promedio  $\pm$ DS.



**FIGURA 8.** Expresión de CD71+, CD69+ y CD71+69+ en células CD19+ de sangre periférica de neonato. Tinción de tres colores, anti-CD71 FITC, anti CD69 PE y anti C19 PCY5. n=13; valores promedio  $\pm$ DS.



**FIGURA 9.** Expresión de CD71+, CD69+ y CD71+69+ en células CD56+ de sangre periférica de neonato. Tinción de tres colores, anti-CD71 FITC, anti CD69 PE y anti CD56 PCY5. n=13; valores promedio  $\pm$ DS.

## V. DISCUSIÓN

La expresión de CD45RA+ ha sido asociada con estados de reposo celular (13, 14). De hecho, células CD45RA+ son calificadas como células "vírgenes" o "ingenuas". Desde este punto de vista las poblaciones linfocitarias en el neonato se encuentran (de acuerdo a nuestros resultados) en un estado de reposo. Más aún, el marcador CD45RO ha sido asociado a un estado de activación celular o de memoria celular (13, 14). Nuestros resultados muestran que en sangre de neonato sano la población de linfocitos T, B y NK son predominantemente CD45RA+. Adicionalmente, la expresión de CD45RO en estas poblaciones celulares es baja, lo que concuerda con lo reportado por otros autores (26). Este fenotipo celular se explica por la menor exposición a retos antigénicos en la vida prenatal. Se ha reportado por otros autores que la población doble positiva para CD45RA y CD45RO sobre células CD4+ y CD8+ es de 25 y 55% respectivamente (19), en nuestro estudio encontramos un porcentaje de células CD45RA+RO+ de sólo 6, 17 y 3% sobre células CD3+, CD19+ y CD56+ respectivamente. En nuestro estudio sólo en dos pacientes se encontraron porcentajes de células doble positivas mayores al 25%. Sin embargo, es posible especular que estas diferencias sean debidas a diferencias en cuanto a la adquisición y análisis citométrico. Es decir, en el estudio de Chheda y colaboradores (19) no se mencionan las características morfológicas (parámetros de tamaño contra granularidad) que aseguren la identidad linfocitaria de las células utilizadas, por lo que

es probable que exista una población de monocitos contaminante. Nuestros datos hacen pensar que la población doble positiva CD45RA+RO+ está presente en sangre periférica de neonatos sanos pero que ésta representa una población pequeña cuya trascendencia funcional debe aún ser establecida.

La molécula CD71 es una glicoproteína homodimérica de 95 kD que se expresa principalmente en células T y B activadas, macrófagos y células en proliferación, identificado además como sitio receptor para la transferrina. La molécula CD69 es una proteína de membrana tipo II con un dominio de lectina, de 28 a 34 kD expresada tempranamente durante la activación temprana de linfocitos T y B, macrófagos y células NK, no detectada en linfocitos en reposo. Tanto CD71 como CD69 son considerados como marcadores de activación.

De acuerdo a nuestros resultados un porcentaje de alrededor del 18% de células CD3+, CD19+ y CD56+ expresan CD71. Es probable que estas células representen una población celular en proliferación basal. Con lo que respecta a CD69 sólo en células CD19+ se encontró un porcentaje de células cercano a los observado en la tinción para CD71. Finalmente la población doble positiva para CD71 y CD69 para linfocitos T, B y NK en este estudio fue bajo con respecto a la población CD71+. Sin embargo, hasta el momento no se ha establecido la importancia biológica de esta población. De acuerdo con estos resultados podemos considerar

que la respuesta inmunológica del neonato se encuentra en un estado de reposo en “espera” del reto antigénico, esto con base al predominio en la expresión de CD45RA+ así como una discreta expresión de marcadores de activación (CD71 y CD69).

Con base en los resultados podemos señalar que un porcentaje de las células responsables de apoyar la respuesta humoral (células CD19+) en el neonato se encuentran activadas, a diferencia de lo que sucede en las células responsables de la respuesta celular (células CD3+).

Sin embargo a partir de estudios fenotípicos es difícil predecir las capacidades funcionales de una célula, por lo que para explicar el desarrollo de los procesos funcionales son necesarios más estudios.

Consideramos que la utilidad práctica del presente estudio radica en que una vez conocido el patrón basal de activación de linfocitos en neonatos sanos, la identificación de este mismo patrón en pacientes infectados nos permitirá realizar un diagnóstico temprano de sepsis, así como el establecimiento de un tratamiento oportuno en este grupo de edad. Así mismo, la coexpresión de otros marcadores de activación reconocidos (CD69 y CD71) y no sólo la expresión de CD45RO, como ha sido sugerido por otros autores (26, 29) puede ser importante para tratar de diagnosticar un proceso séptico en el neonato con base en un punto de vista integral y no limitado a una sola población celular (células T) como también se ha señalado.

## CONCLUSIONES

1. En el neonato tanto células T, B y NK se encuentran predominantemente en reposo.
2. En este estado de reposo existe un nivel de proliferación basal y que es muy similar en los tres tipos celulares.
3. Las células relacionadas con la respuesta humoral se encuentran más activadas en comparación con las células de la respuesta celular.

## VI. APÉNDICE

### DEFINICION DE VARIABLES OPERACIONALES

- Recién nacido de término  
Recién nacido con edad gestacional  $\geq$  a 37 semanas.
- Células T (CD3+)  
Células que expresan en su membrana el receptor antigénico de células T (TCR) formado por un heterodímero de cadenas proteicas denominadas TCR $\alpha$  y TCR $\beta$  ó TCR $\gamma$  y TCR $\delta$  además de expresar el complejo CD3, constituido por 5 cadenas transmembranales denominadas como  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  y  $\eta$ .

- Células B (CD19+)  
Células que expresan en su membrana el receptor antigénico de células B (BCR), además de las moléculas CD19 y CD20.
  
- Células NK (CD56+)  
Células con actividad citotóxica. Que no expresan las moléculas CD3 o CD19. La mayoría de células NK expresan el marcador CD56 (molécula de adhesión celular neuronal) y/o CD16 (receptor de baja afinidad para la porción Fc de inmunoglobulinas de isotipo gamma).
  
- CD45  
Antígeno leucocitario común (ALC) perteneciente a la familia de glicoproteínas expresadas por células de origen hematopoyético. Se han identificado 5 isoformas humanas, los linfocitos pueden expresar más de una isoforma de CD45 en un tiempo específico
  
- Marcadores relacionadas con activación
  - ◆ CD45RA  
Isoforma del marcador ALC de 220 kD encontrado en aproximadamente 40% de las células T CD4<sup>+</sup> periféricas y 70% en células T CD8<sup>+</sup> periféricas en sangre de adulto. Marcador de células T en reposo.

◆ CD45RO

Isoforma del marcador ALC de 180 kD, que se encuentra en la mayoría de timocitos, células T activadas, granulocitos y monocitos. Marcador de células activadas.

◆ CD69

Glicoproteína dimérica de 28 a 34 kD expresada tempranamente durante la activación de linfocitos, monocitos y plaquetas, no detectada en linfocitos en reposo. Marcador de activación temprana.

◆ CD71

Glicoproteína de 95 kD transmembranal de tipo II, identificado como el receptor para transferrina. Expresado en *linfocitos activados, monocitos, macrófagos y la mayoría de las células en división.*

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Moreno MT, Vargas S, Poveda R, Sáez-Llorens X. Neonatal sepsis and meningitis in a developing Latin American Country. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 516-20.
2. Simon C, Schroder H, Beyer C, Zerbst T. Neonatal sepsis in a intensive care unit and results of treatment. *Infection* 1991 May-Jun 19 (39: 146-9
3. Philip AGS. The changing face of neonatal infection experience at a regional medical center. *Pediatr Infect Dis J* 1994 13: 1098-1102.
4. Gladstone IM, Ehrenkranz RA, Edberg SC et al. A ten year review of neonatal sepsis and comparison with the previous fifty-year experience. *Pediatr Infect Dis J* 1990 9: 819-25.
5. J S Remington, JO Klein. Infectious Diseases if the fetus and newborn infant. Forth edition 1995.
6. Instituto Nacional de Perinatología. Normas y procedimientos de Neonatología 1998. Capítulo III. Problemas infecciosos.
7. Kaftan H, Kinney JS. Early onset neonatal bacterial infections. *Semin Perinatol* 1998 Feb; 22 (1): 15-24.
8. St Geme JW, Polin RA. Neonatal sepsis. Progress in diagnostic and management. *Drugs* 1988 Dec; 36 (6): 784-800.
9. Laforgia N, Coppola B, Carbone R, Grassi A, Mautone A, Lolascon A. Rapid detection of neonatal sepsis using polymerase chain reaction. *Acta Pediatric* 1997

Oct;86(10):1097-9

10. Yake DL, Waites KB. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J* 1997, 16: 735-47
11. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Cellular and molecular immunology. Second Edition 1994.. Ed. Saunders.
12. Regueiro JR, López C. Inmunología. biología y patología del sistema inmune. 2ª. Edición 1996. Editorial Médica Panamericana.
13. Clement LT. Isoforms of the CD45 common leukocyte antigen family: markers for human T-cell differentiation. *J Clin Immunol* 1992 Jan; 12 (1): 1-10.
14. Macario R et al. Expression of CD45RO antigen on the surface of resting and activated neonatal lymphocyte subsets. *Biol Neonate* 1993; 64(6): 346-53.
15. Clement LT, Vink CPE, Bradley GE. Novel immunoregulatory functions of phenotypically distinct subpopulations of CD4+ cells in the human neonate. *J Immunol* 1990 Jul 1; 145 (1): 102-8.
16. Cossarizza A, Ortolani C, Paganelli R, Barbieri D, Monti D, Sansoni P, et al. CD45 isoforms expression on CD4+ and CD8+ T cells throughout life, from newborns to centenarians: implications for T cell memory. *Mech Ageing Dev* 1996 Mar 29; 86 (3): 173-95.
17. Hayward AR, Lee J, Beverley PCL: Ontogeny of the expression of UCHL1 antigen on TcR-1+ (CD4/8) and TcRdelta+ T cells. *Eur J Immunol* 1989; 19: 771-3.

18. Hodge S, Hodge G, Flower R, Han P. Surface activation makers of T lymphocytes: role in the detection of infection in neonates. *Clin Exp Immunol* 1998 Jul; 113(1): 33-8.
19. Chheda S, Palkowetz KH, Rassin DK, Goldman AS. Deficient quantitative expression of CD45 isoforms on CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell subpopulations and subsets of CD45RA (low)CD45RO(low) T cells in the newborn blood. *Biol Neonate* 1996; 69 (2): 128-32.
20. Rothstein DM, Yamada A, Schlossman SF, Morimoto C. Cyclic Regulation of CD45 isoform expression in a long term human CD4<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> T cell line. *J Immunol* 1990 146: 1175-83.
21. Rothstein DM, Sozen S, Daley JF, Schlossman SF, Morimoto C. CD4<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> CD45RA<sup>-</sup> T cell subsets in man maintain distinct function and CD45RA expression persists on a subpopulation of CD45RA<sup>+</sup> cell after activation with Con A. *Cell Immunol* 1990 129: 449-67.
22. Bell EB, Sparshot SM. Interconversion of CD45R subsets of CD4 T cell in vivo. *Nature* 1990 348: 163-66.
23. Pinto L, Covas MJ, Victoriano RM. Loss of CD45RA and gain of CD45RO after in vitro activation of lymphocytes from HIV-infected patients. *Immunol* 1991 73: 147-50.
24. Miyawaki T, Kasahara Y, Kanegane H, Ohta K, Yokoi T, Yachie A, Taniaguchi N. Expression of CD45RO (UCHL1) by CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells as sign of in vivo activation in infectious mononucleosis. *Clin Exp Immunology* 1991; 83: 447-51.

25. Jung MC, Schrant W, Santantonio T, Spengler U, Eichenlaub D, Eisenburg J, Zachoval R. Increase frequency of CD8<sup>+</sup> CD45RO<sup>+</sup> memory T lymphocytes in acute hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 1993 18: 295-300.
26. Michie C, Harvey D. Can expression of CD45RO, a T-cell surface molecule be used to detect congenital infection?. *Lancet* 1994 21; 343 (8908): 1250-60.
27. Sánchez-Madrid F. Overview of CD69. En: Schlossman S, L Bloumsell, W Gilkis et al. *Leukocyte typing V: White Cell Differentiation Antigens*. Oxford University Press, New York. Eds 1995: 1123-1129
28. Trowbridge IS. Overview of CD71. En: Schlossman S, L Bloumsell, W Gilkis et al. *Leukocyte typing V: White Cell Differentiation Antigens*. Oxford University Press, New York. Eds 1995: 1139-41.
29. Tezuka T, Sugita K, Mizobe N, et al Transient increase in CD45RO expression on T lymphocytes in infected newborns. *Pediatr Res* 1998 43: 283-90.