

4.4 Marcatori di deficit immunitario

Alcuni virus infettano le cellule della sistema immunitario e distruggerli, così essi non possono esercitare la loro funzione di difesa. Come abbiamo detto, la risposta immunitaria è altamente complessa, e una delle celle coinvolte può essere vittima del virus. In questo video vedremo come valutare il numero dei linfociti T, ma lo stesso principio si applica ad altre cellule.

Le cellule del sistema immunitario hanno sulla loro superficie molecole che li identificano, che sono chiamati CD (o cluster di differenziazione). La funzione di tutti loro non è noto ma sappiamo che sono presenti sempre su determinate cellule o sono espressi associato con determinati stati di attivazione delle cellule. Per esempio linfociti T sono caratterizzati da CD3, associati al loro recettore; Le cellule T-helper o Th sono anche CD4+ e T citotossici CD8+; B-linfociti sono CD19+ e quando sono attivati, essi sono anche CD23+; e tutti questi sono CD45+, che li definisce come leucociti. Sembra complesso, ma vedrai quanto è utile conoscere queste molecole.

Determinare gli indicatori di CD4 e CD8, che definiscono i linfociti Th e Tc, rispettivamente, anche se non esclusivamente, viene spesso utilizzata per valutare lo stato immunitario di un individuo, soprattutto la relazione o rapporto di cellule CD4:CD8. Questa relazione può essere influenzata da virus che infettano le cellule del sistema immunitario. Questo è il caso dell'infezione da HIV, o dal virus della mononucleosi contagiosa in persone; o in gatti gli virus di immunodeficienza o leucemia felino. In queste infezioni è spesso utilizzato il rapporto di CD4:CD8 per determinare lo stato di avanzamento dell'infezione e il successo della terapia antiretrovirale. Rapporti maggiore di 2 indicano un normale sistema immunitario e inferiore a 1, immunodeficienza.

Per determinare il numero di cellule che hanno un certo CD gli anticorpi monoclonali sono utilizzati. Sono molto specifici e sono contrassegnati con un fluorocromo. Quando vogliamo determinare diverse popolazioni, ad esempio CD4+ e CD8+, possono essere utilizzati due diversi fluorocromi. Come esempio possiamo usare sangue intero, in precedenza rimozione globuli rossi di lisi li con una soluzione specifica. Aggiungiamo il anti-CD etichetta con fluorocromo e dopo una breve incubazione nelle tenebre analizziamo le cellule nel citometro a flusso.

Il citometro a flusso è uno strumento molto sensibile. Ha un flusso attraverso il sistema in cui le cellule vengono analizzate singolarmente. Così, ogni cella è attraversato da un fascio laser, attivando la fluorescenza in cellule che sono stati "etichettati" con l'anticorpo specifico. Il citometro riconosce in fluorescenza la superficie delle cellule specifiche, e devia le cellule, raccogliendoli in contenitori individuali. Così, una popolazione eterogenea di cellule può essere purificata separando le sottopopolazioni specifiche che hanno diversi CD.

Nel caso delle cellule T-helper e T citotossici, il risultato è espresso in un grafico in cui complessità e dimensione vengono analizzati prima. I linfociti sono separati in questo modo. Si tratta di piccoli leucociti con bassa complessità. In una seconda fase, essi sono classificati secondo l'intensità della fluorescenza dei loro rispettivi fluorocromi. Date un'occhiata al grafico sulla destra. Si noti che la scala è logaritmica, e le tre principali popolazioni di cellule: il CD4 e CD8 negativo; e il positivo ad uno dei due marcatori.

Non dimenticate di fare gli esercizi consigliati per determinare se i pazienti che indichiamo sono immunodeficienti o non. La ringrazio molto per la vostra attenzione.