Immunodiagnosi cellulare: stato immunitario

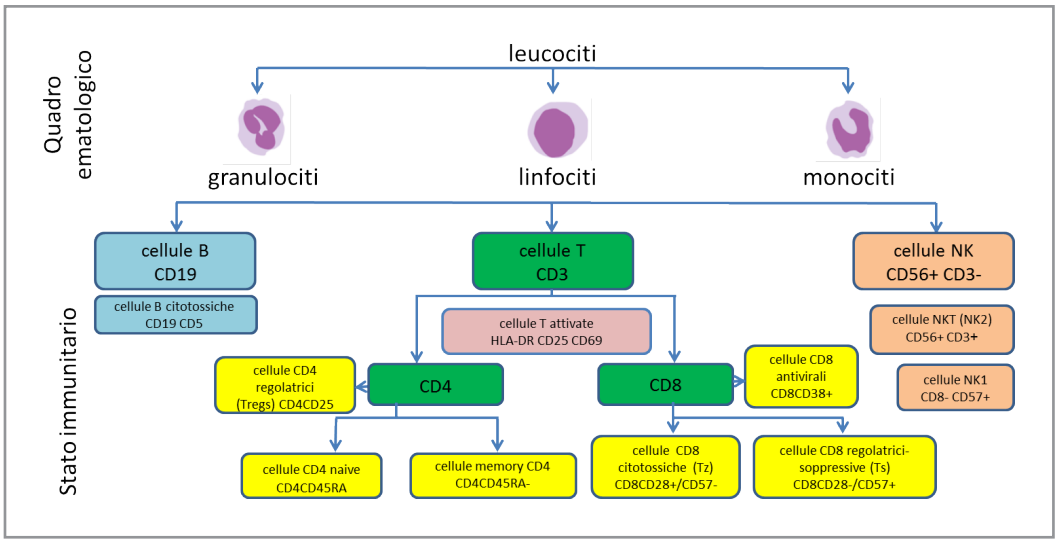
Contenuto, indicazioni, interpretazione

La base
dello stato immunitario cellulare comprende la tipizzazione cellulare dei linfociti mediante citometria a flusso, utilizzando marcatori di superficie (CD) specificamente messi a punto per questo scopo. Il profilo immunitario cellulare fornisce informazioni sui **rapporti numerici** e lo **stato di attivazione** delle cellule immunitarie nel sangue e trova indicazione laddove la sintomatologia clinica riferita da un paziente faccia presumere la presenza di disturbi primari o secondari del sistema immunitario cellulare.

Indicazioni
Lo stato del sistema immunitario cellulare, inizialmente concepito per il follow-up di pazienti affetti da HIV, grazie alla messa a punto di nuovi marcatori immunitari, ha ora assunto grande rilevanza anche per numerose altre patologie:

- Infezioni opportunistiche ricorrenti o continue di natura batterica o virale.
- Malattie autoimmuni.
- Allergie.
- Linfocitosi o linfopenie non chiarite.
- Determinazione dell'immunocompetenza in infiammazioni croniche e tumori.
- Determinazione dello stato immunitario nel corso di un trattamento citostatico, immunosoppressivo o immunomodulante.
- Controlli del decorso (ad es. monitoraggio dell'HIV).

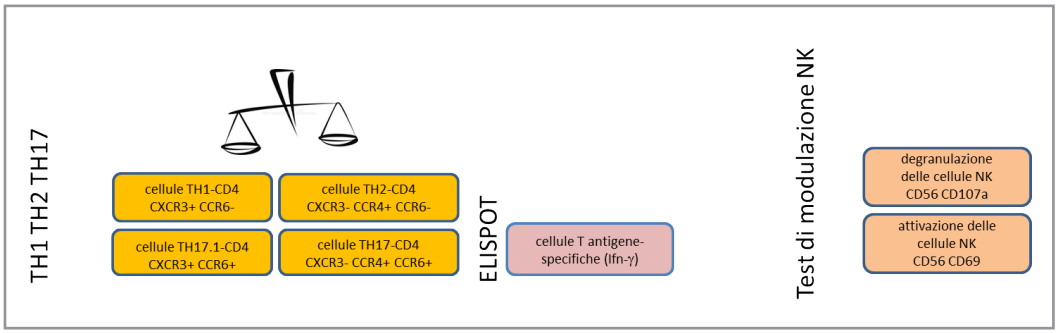
Valutazione
Per una normale difesa immunitaria è richiesta una quantità minima di granulociti e monociti (difesa aspecifica), nonché di linfociti T (CD3+CD4+, CD3+CD8+), cellule B (CD19+) e cellule NK (CD56+CD16+). La valutazione del numero di cellule dovrebbe sempre essere effettuata tenendo in considerazione i fattori clinici (per esempio eventuali misure terapeutiche adottate) e il decorso, perché anche nelle persone sane sono frequentemente riscontrati lievi scostamenti dai valori normali. La quantificazio-



ne delle cellule CD4, CD8, B e NK, la determinazione delle cellule T attivate, nonché gli spostamenti delle sottopopolazioni di cellule T (rapporto CD4/CD8; cellule T naive/memory) sono oggetto di interesse generale. In aggiunta sono oggi disponibili marcatori per patologie e indicazioni specifiche, che permettono di offrire profili su misura.

Marcatori di attivazione
Lo stato immunitario cellulare fornisce un quadro statico della situazione immunitaria. Un primo segno indicativo di reattività delle cellule T è rappresentato dal grado di attivazione cellulare (numero di cellule T HLA-DR+ o CD25+), dal numero di cellule T regolatrici e dal rapporto di linfociti CD28 positivi e CD8 negativi. L'analisi delle cellule T attivate serve, in particolare, a determinare il grado di attivazione delle cellule T nell'ambito dei processi del sistema immunitario, ad esempio in caso di infezioni virali, malattie autoimmuni, sarcoidosi, rigetti di trapianti e alcuni tumori maligni. A questo riguardo occorre tenere presente che solo una parte delle cellule attivate viene rilevata, dato che queste cellule lasciano la via ematica per raggiungere il «luogo dell'evento».

Funzione (vedere anche «Informazioni per il medico» separate, ELISPOT, test delle cellule NK): Una funzione complementare è svolta dai test nei quali vengono marcati i recettori delle chemochine (equilibrio immunitario Th1/Th2/Th17) o dai test nei quali, dopo incubazione con antigeni o effettori, viene quantificata la reattività delle cellule attraverso l'espressione modificata degli antigeni di superficie o la produzione di citochine, i cosiddetti test funzionali (ELISPOT/test LTT che forniscono informazioni sulla risposta immunitaria, test di citotossicità delle cellule NK o test di modulazione delle cellule NK).



Richiesta:
materiale 3 ml di sangue con EDTA; un emocromo con formula è compreso.
Se nella prima colonna sono indicate più cifre, per un referto completo è necessario richiedere entrambi i profili.

Referto:
viene fornito un commento dettagliato, eccetto che per la differenziazione delle cellule T.

Profili immunitari quantitativi:

N.	Denominazione	Contenuto	
3290	Differenziazione delle cellule T (p. es. follow-up per HIV)	Cellule T CD3, CD4 e CD8, quoziente CD4/CD8	
3292	Stato immunitario di base	Cellule T CD3, CD4 e CD8, quoziente CD4/CD8, cellule B CD19, NK CD56/16, cellule T attivate da HLA-DR.	
3521	Stato immunitario esteso	3292+	cellule T preattivate (CD3+CD25), Treg CD4CD25, cellule T CD38CD8, cellule T CD28 citotossiche/cellule T CD8 regolatorie + quoziente
3291 eventu-almen-te: 0378	Tipizzazione linfoma a cellule B (NHL)	3292+	Tipizzazione CD19: kappa-lambda, CD5, CD10, CD43, CD23, CD20, CD79b, CD25, CD38, =BCLL, FL, MZL 0378: CD103, CD22, CD123, CD200, CD11c. =HZL, HZLv, SLvL, SMZL, MZL
3292 + 8718	Tipizzazione linfoma a cellule T (NHL)	3292+	Tipizzazione CD7: CD5, CD3, CD2, CD4, CD8, CD56, CD57 = Sezary, LGL-NHL, T-PLL, T-NHL
4990	Stato immunitario «microimmunoterapia»	3292+	Cellule T CD57CD8 T8c/T8s, cellule B CD19CD5 NK1, NK2, NK3, cellule T preattivate (CD3+CD25), Treg CD4CD25.
8092	Immunocompetenza malattie croniche cellule T naive/memory	3292+	Cellule T memory/naive CD45RA+/–, cellule T CD57–/+CD8, cellule CD3-CD57+.
32912	Immunocompetenza infiammazione cellule T naive/memory	3292+	Cellule T memory/naive CD45RA+/–, cellule T CD38CD8,
3521 + 35211	Immunocompetenza tumore cellule T naive/memory	3521+	Cellule T memory/naive CD45RA+/– con differenziazione fine (CCR7): cellule T4 memory/naive (CD3+CD4+, CD45RA+/–, CCR7+/–) (naive, della memoria effettrice, della memoria centrale, differenziate in maniera terminale)
9765	Equilibrio TH1-TH2 (immunodeficienze, malattie croniche, malattie autoimmuni, difesa contro il tumore)	3290+	Sottopopolazioni CD4: TH1 (CD183/CXCR3+; CD196/CCR6–) TH2 (CD183/CXCR3–; CD194/CCR4+; CD196/CCR6–) Quoziente TH1/TH2 TH17 (CD183/CXCR3–; CD194/CCR4+; CD196/CCR6+) TH17-1 (CD183/CXCR3+; CD196/CCR6+)

Interpretazione:	Aumento	Diminuzione
Linfociti T [CD3+]	• Reattivi in caso di attivazione del sistema immunitario, soprattutto nello stadio iniziale di un'infezione virale sistemica. • Nella fase acuta di una malattia autoimmune. • Nello stadio iniziale di rigetto di trapianto. • In caso di linfomi a cellule T.	• Infezione virale sistemica (stadio avanzato/ cronico). • Immunodeficienza cellulare. • Infezione da HIV, tumori maligni. • Terapia immunosoppressiva. • A seguito di chemioterapia e radioterapia. • In età avanzata (costituzionale).
Cellule T helper [CD3+/CD4+]	• Segno precoce in caso di attivazione immunologica (infezione virale, malattia autoimmune). • Sindrome di Sezary e altri linfomi a cellule T. • Frequentemente, ma non sempre, in caso di sarcoidosi, sclerosi multipla, cirrosi epatica, diabete mellito giovanile, sindrome da iper-IgE, SLE, artrite reumatoide, sindrome di Sjögren.	• Stadio avanzato di un'infezione virale sistemica. • Infezioni virali croniche persistenti (HBV, CMV, EBV). • Infezione da HIV, leucemia, tumore. • Tubercolosi progressiva. • Immunosoppressione prolungata terapeutica e chemioterapia/radioterapia antineoplastica. • In età avanzata e costituzionale.
Linfociti CD8 [CD3+/CD8+]	• Infezioni virali sistemiche acute (cellule effettrici). • Infezioni virali croniche attive (HBV, HCV, CMV, EBV). • Stadio iniziale dell'infezione da HIV. • Mieloma multiplo, malattia di Behcet, CD8+ CLL. • Stress associato a prelievo di sangue.	• Stadio avanzato dell'infezione da HIV. • Leucemia, tumori. • Immunosoppressione prolungata terapeutica e chemioterapia/radioterapia antineoplastica. • In età avanzata e costituzionale. • Costituzionale in circa il 5% della popolazione.
Rapporto CD4+/CD8+	• Stadio iniziale di un'infezione virale sistemica. • Nella fase acuta di una malattia autoimmune. • Linfomi a cellule T (CD4+). • Possibile in caso di malattie derivanti da infiltrazione nei tessuti di cellule T citotossiche: MS, encefalite, cardiomiopatie, cirrosi epatica, fibrosi portale, cirrosi biliare primitiva.	• Stadio avanzato di un'infezione virale sistemica. • Infezioni da HIV. • Infezioni croniche persistenti (virus, batteri intracellulari, parassiti). • Linfocitopenia idiopatica delle cellule CD4+ (non da HIV). • In età avanzata.
Aumento delle cellule CD25+ dopo 1,5–2, diminuzione dopo 4–6 giorni. Aumento degli HLA-DR+ dopo 2–4 giorni, aumento persistente	• Infezione virale, infezioni con agenti patogeni intracellulari e parassiti. • Fasi attive di malattia autoimmune («fase acuta»). • Tumori maligni (frequentemente anche obiettivo terapeutico di terapie immunostimolanti). • Linfomi a cellule T («le cellule dei linfomi sono quasi sempre attivate»). • Rigetto di organi in pazienti trapiantati.	
«Stato CD28» quasi come CD57 Rapporto fra le cellule CD8 citotossiche (Tc) [CD3+/CD8+/CD28+] [CD3+/CD8+/CD57-] e le cellule CD8 regolatorie (Ts) [CD3+/CD8+/CD28-] [CD3+/CD8+/CD57+]	• I linfociti CD8 venivano erroneamente chiamati in passato «cellule soppressorie». Più del 50% è costituito da linfociti T citotossici (CD28+/CD8+) e solo una parte ridotta ha una funzione soppressoria regolatoria (CD28-/CD8+). • In caso di attivazione immunitaria, si verifica normalmente un aumento della percentuale di cellule CD8 citotossiche. Nei pazienti oncologici un aumento relativo delle cellule citotossiche rispetto alle cellule CD8 regolatorie è vantaggioso. • Nelle persone sane, entrambe le popolazioni cellulari dovrebbero rientrare nei limiti della norma. Storicamente, il marcatore CD57 può essere considerato quasi uguale al marcatore CD28, ma invertito. (CD28- = CD57+ = regolatorie, soppressorie = Ts). • **Conclusione: L'immunotolleranza è maggiore quando il quoziente è inferiore; cioè cellule regolatorie > citotossiche, viceversa: l'immunostimolazione aumenta quando il quoziente è maggiore, cioè cellule citotossiche > regolatorie.**	
Linfociti B [CD19+]	• Infezione da EBV (stadio iniziale). • Linfomi a cellule B (monoclonali). • Linfocitosi B policlonale (eziologia sconosciuta).	• Immunodeficienze. • Terapia con anticorpi depletanti le cellule B (p es. Rituximab). • Spesso costituzionale, senza carenza di anticorpi nè rilevanza.
Cellule natural killer [CD3-/CD16+/CD56+]	• Infezioni virali sistemiche acute. • Infezione da HIV. • Linfomi a cellule NK (molto raramente).	• Tumori maligni. • Immunosoppressione terapeutica prolungata e chemioterapia/radioterapia antineoplastica. • Infezioni virali croniche e persistenti. • Immunodeficienze primitive/secondarie. • Frequentemente costituzionale, in particolare in età avanzata. • Ritmo circadiano, diminuzione di sera/notte.
Linfociti immaturi [CD3+/CD8+/CD4+]	• In caso di linfocitopoiesi aumentata (reattiva), più raramente in caso di malattie linfoproliferative.	
Cellule CD4 regolatorie (Treg) [CD3+/CD4+/CD25++/ CD127low]	• In pazienti oncologici e nel corso di terapie immunostimolanti sfavorevoli a causa delle proprietà immunosoppressive.	• In caso di malattie autoimmuni sfavorevoli perché le cellule autoreattive non vengono eliminate.
Rapporto tra cellule T naive [CD3+/CD45RA+] e cellule T memory [CD3+/CD45RA-]	• Con l'avanzare dell'età aumenta costituzionalmente la percentuale di cellule memory (cellule della memoria). Valori aumentati indicano una stimolazione cronica del sistema immunitario da parte di antigeni (infezioni croniche, processi autoimmuni persistenti). • **Si ha immunocompetenza in caso di aumento dei valori di cellule T indifferenziate (naive).**	

La dominanza TH1 è indicativa di:	La dominanza TH2 («rigidità TH2») è indicativa di:
• Infezioni da patogeni intracellulari. • Malattie autoimmuni cellulari. • Difesa immunitaria contro i tumori. • In seguito a immunostimolazione TH1 con esito positivo. Le cellule TH1 attivano la risposta immunitaria cellulare mediante la secrezione di INF- e IL-2. **TH17 e TH17-1** • Malattie infiammatorie croniche. • Induzione della difesa dai batteri mediante granulociti.	• Atopia/allergie multiple di tipo I, orticaria. • Parassitosi. • Infezioni croniche in stadio avanzato (CMV, Borrelia...). • Numerose malattie infiammatorie croniche in stadio avanzato. • Sindrome da attivazione mastocitaria. • Come effetto indesiderato di un' immunostimolazione. Risposta TH2: Citochine in grado di modulare la risposta immunitaria umorale per es. IL-4, IL-5, IL-10 • Presunto coinvolgimento nell'insorgenza di malattie autoimmuni. • Producono IL17.