Zelluläre Immundiagnostik: NK-Zelltest

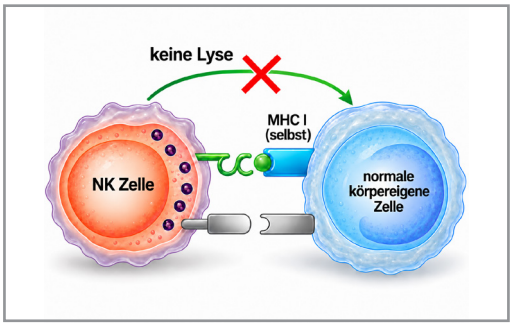
Zytotoxizität und Aktivierung durch Modulatoren

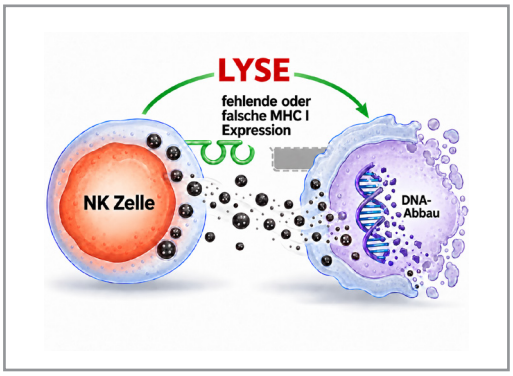
Natürliche Killerzellen

Bilden zusammen mit den T- und B-Zellen die Lymphozytenpopulation des Blutes. Die wichtigste Funktion im Rahmen der zellulären Immunabwehr stellt die Abtötung virusinfizierter Zellen und entarteter Zellen, Tumorzellen dar. Sie bilden daher die sogenannte **«First Line of Defence»:** Im Unterschied zu den zytotoxischen CD8-Lymphozyten unterliegen sie nicht der MHC – Restriktion, d.h. sie entwickeln eine **unspezifische, schnelle und natürliche Abwehr** gegen veränderte körpereigene Zellen ohne Rücksicht auf das «immunologische ICH». Der Angriff durch NK-Zellen auf Tumor- und virusinfizierte Zellen erfolgt sehr effektiv, ganz besonders wenn sie vorab durch körpereigene Zytokine der T – Helferzellen und der Makrophagen aktiviert sind (LAK / Lymphokin- aktivierte Killerzellen). Eine grosse Rolle spielen dabei unter anderem Zytokine wie das Interleukin-2 (IL2).

Wie funktioniert der NK-Zell-Angriff auf die Zielzellen?

NK-Zellen binden durch zahlreiche auf ihrer Oberfläche befindliche Adhäsionsmoleküle an Tumorzellen oder virusinfizierte Zellen. Die Auslösung des Zelltodes (Apoptose) erfolgt nach Erkennung der Zielzelle auf deren Oberfläche: Es werden aus den Granula der NK-Zellen Perforine freigesetzt, die eine Porenbildung in der Zellwand der Zielzelle induzieren. Durch diese «Löcher» kann Granzyme in die Zielzelle eindringen, welches den Zelltod u.a. durch DNA-Abbau auslöst.





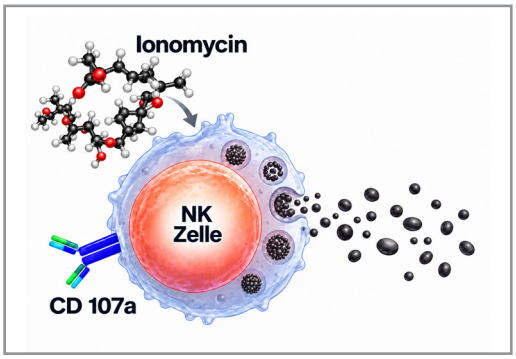
Wann treten Funktionsdefekte der NK-Zellen auf?

Angeborene Immundefekte der NK-Zellen sind sehr selten. Von Bedeutung sind sekundäre Funktionsdefizite der NK-Zellen bei Tumorerkrankungen oder chronischen Infektionen und Entzündungen. Durch notwendige belastende Behandlungen wie Bestrahlung, Chemotherapie oder auch länger andauernde antibiotische Therapien werden diese Funktionsdefizite verstärkt. Die Verbesserung der NK-Zell-Funktion (Zytotoxizität) durch eine immunstimulierende Behandlung stellt eine wichtige, unterstützende Massnahme bei der Wiederherstel-

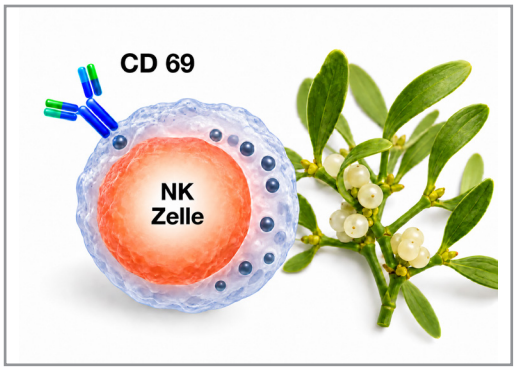
lung der Immunfunktionen dar. Eine verminderte Funktion der NK-Zellen kann auch eine Ursache für chronische Virusinfektionen sein. Insbesondere Reaktivierungen latenter Virusinfektionen (Cytomegalievirus, Epstein-Barr-Virus und andere Herpes-Viren) sind hier zu nennen.

Wie kann die NK-Zellfunktion untersucht werden?

Die alleinige Bestimmung der NK-Zellzahl im peripheren Blut durch Immunphänotypisierung liefert erste Information, ist wichtig, aber unter Umständen nicht ausreichend. Entscheidend ist die Funktion dieser wichtigen Abwehrbarriere. Die Untersuchung der NK-Zellfunktion erfolgt klassisch mit dem NK-Zell-Zytotoxizitätstest. Bei diesem Test werden markierte Targetzellen in einem bestimmten Verhältnis zu Leukozyten (Effektorzellen) inkubiert. Nach ein paar Stunden wird der Anteil zerstörter Targetzellen bestimmt.



Eine **standardisierbare Alternativmethode** wurde etabliert, die unabhängig von Targetzellen die Degranulationsfähigkeit der Killerzellen, also den ersten Schritt zur zellvermittelten Lyse misst. Die Zytotoxizität der Killerzellen ist nach Stimulation direkt proportional zur Expression des Oberflächenantigens CD107a, deren Anstieg gemessen wird.[1]



Vorteile dieser Bestimmung sind die **höhere Reproduzierbarkeit** und die **Unabhängigkeit von Targetzellen**. Auch werden bei diesem Test **ausschliesslich die CD56+CD3-NK-Zellen** betrachtet und nicht alle Leukozyten, wie im klassischen Test, bei dem nicht bekannt ist wie viele Killerzellen absolut in den Test eingesetzt werden.

Mit dem NK-Zell-Modulatortest kann eine Aussage über die Wirksamkeit von Immunpräparaten getroffen werden

Mit Immunstimulanzien können NK-Zellen unterschiedlich gut aktiviert werden. Mit dem NK-Zell-Modulatortest kann man Präparate vor deren Einsatz dahingehend untersuchen, in wie weit sie bei dem betreffenden Patienten zur NK-Aktivierung in der Lage sind. Die Immunaktivierung von NK-Zellen wird durch die Expression von CD69 auf ihrer Oberfläche erfasst. Die Beurteilung erfolgt an Hand der Steigerung der CD69-Expression unter Zugabe des Präparates im Vergleich zu einem nicht kostimulierten Kulturansatz von Patienten-NK-Zellen = Basisaktivierung. Als Stimulationskontrolle dient in einem weiteren Ansatz das IL2-Präparat Proleukin, hier müssen frische und intakte Killerzellen ansprechen.









Verfügbare Immunmodulatoren:

9718 PROLEUKIN	Interleukin 2
9681 ABIETIS	Helixor A = Mistelextrakt aus Tanne
9682 AMYGDALIN	«Vitamin B17» Laetrine Extrakt aus Mandelkernen/Aprikosenkernen
9711 ARGININ	Aminosäure
9716 BIOBRAN	Arabinoxylan aus Reiskleie
9712 ECHINACIN	Extrakt aus Sonnenhüten
9686 ISCADOR M	Mistelextrakt vom Apfelbaum (Apfel=Malus)
9697 ISCADOR P	Mistelextrakt von der Pinie (anthroposophisch)
9687 ISCADOR QU	Mistelextrakt von der Eiche (Quercus)
9691 QUERCUS	Mistelextrakt von der Eiche (Quercus)
9719 SELEN	Metall (Spurenelement)
9707 THYMORELL	Thymusextrakt
9715 VITAMIN C	Vitamin
7576 CURCUMIN	Extrakt aus Kurkumapflanze
96810 ARTESUNAT	Derivat des Artemisinins (Einjähriger Beifuss)
22233 TEE	Tee Extrakt
22234 MATCHA TEE	Matcha Tee Extrakt
Weitere Immunmodulatoren sind vorgesehen; bitte vorher anfragen und ggf mitschicken	

Anforderung
Material 10 ml HEPARIN-Blut, Leukozytenzahl und Lymphozytenanteil sowie Killerzellanteil und –zahl sind integriert.

Es wird die NK-Zell-Dregranulierung (Zytotoxizität), zwei Leerwerte (Grundstimulation), die Mitogenstimulierung und die Stimulation mit Proleukin (Stimulationskontrolle) gemessen.

Befundung
Es werden die Anteile der Antigenexpression CD107a (Zytotoxizität) und CD69 (Aktivierung) in % NK-Zellen angegeben.

Literatur:

[1] Snehal Shabrish, Maya Gupta, and Manisha Madkaikar: A Modified NK Cell Degranulation Assay Applicable for Routine Evaluation of NK Cell Function; Journal of Immunology Research; Volume 2016; Article ID 3769590