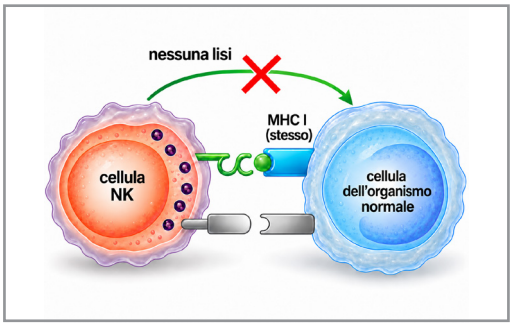
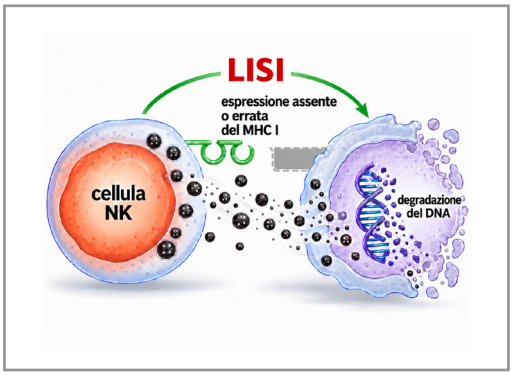
Immunodiagnosi cellulare: test delle cellule NK

Citotossicità e attivazione indotta da modulatori

Le cellule natural killer (NK), assieme ai linfociti T e B, costituiscono la terza popolazione di linfociti presente nel sangue. Il loro ruolo primario nell'ambito della difesa immunitaria cellulare è distruggere le cellule infettate da virus e le cellule tumorali. Per questo costituiscono la cosiddetta **«Prima linea di difesa»:** a differenza dei linfociti CD8 citotossici, non sono soggette a restrizione MHC, nel senso che sviluppano una **difesa aspecifica, rapida e naturale** contro le cellule endogene modificate senza considerare il «SÉ immunologico». Le cellule NK sono in grado di attaccare con estrema efficacia le cellule tumorali e le cellule infettate da virus, in particolare se preattivate dalle citochine endogene prodotte dalle cellule T helper e dai macrofagi (LAK/cellule killer attivate da linfochina). Particolare importanza rivestono, tra l'altro, le citochine, come l'interleuchina-2 (IL12).





In che modo le cellule NK distruggono le cellule bersaglio?

Le cellule NK si legano alle cellule tumorali o alle cellule infettate da virus mediante numerose molecole di adesione espresse sulla loro superficie. La morte cellulare (apoptosi) ha luogo dopo il riconoscimento della cellula bersaglio sulla parete di quest'ultima: dai granuli di cui sono dotate le NK vengono liberate perforine, che inducono la formazione di pori sulla parete della cellula bersaglio. Attraverso questi fori i granzimi possono penetrare nella cellula bersaglio, innescando il processo apoptotico che include la degradazione del DNA.

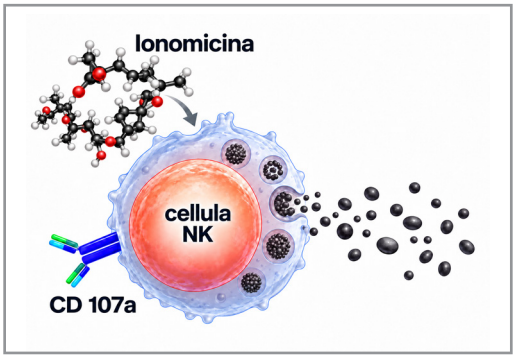
Quando si verificano difetti funzionali delle cellule NK?

Immunodeficienze congenite delle cellule NK sono molto rare. Grande importanza rivestono i deficit funzionali secondari delle cellule NK nelle patologie tumorali o nelle infiammazioni o infezioni croniche, che vengono aggravati da pesanti, seppur necessari, trattamenti quali la radioterapia, la chemioterapia o le terapie antibiotiche prolungate. Il miglioramento della citotossicità delle cellule NK ottenuto tramite una terapia immunostimolante rappresenta un'importante misura per il ripristino immunitario. Una funzionalità ridotta delle cellule NK può

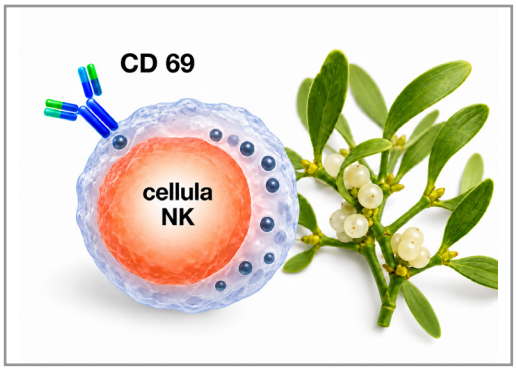
anche essere causa di infezioni virali croniche, in particolare le riattivazioni di infezioni virali latenti (citomegalovirus, virus di Epstein-Barr ed altri virus Herpes).

Come viene esaminata la funzionalità delle cellule NK?

La determinazione isolata del numero di cellule NK nel sangue periferico tramite immunofenotipizzazione fornisce una prima informazione che è importante, ma non sufficiente. La funzione di questa importante barriera di difesa è decisiva. La valutazione funzionale delle cellule NK viene tradizionalmente effettuata con il test di citotossicità delle cellule NK. In questo test, delle cellule bersaglio marcate vengono incubate in una determinata proporzione rispetto ai leucociti (cellule effettrici). Dopo un paio d'ore, viene calcolata la percentuale di cellule bersaglio distrutte.



È stato stabilito un **metodo alternativo standardizzabile** che, indipendentemente dalle cellule bersaglio, misura la capacità di degranulazione delle cellule killer, cioè il primo passo verso la lisi cellulo-mediata. Dopo la stimolazione, la citotossicità delle cellule killer è direttamente proporzionale all'espressione dell'antigene di superficie CD107a, di cui si misura l'aumento.[1]



I vantaggi di questo metodo di misurazione sono la **maggiore riproducibilità** e **l'indipendenza dalle cellule bersaglio.** Con questo test inoltre vengono considerate esclusivamente le cellule NK CD56+CD3 e non tutti i leucociti, come avviene nel test classico, nel quale non è noto quante cellule killer siano state impiegate in assoluto nel test.

Con il test di modulazione delle cellule NK è possibile predire l'efficacia dei preparati immunizzanti

Con gli immunostimolanti l'attivazione delle cellule NK può essere più o meno efficace. Il test di modulazione delle cellule NK consente di esaminare i preparati prima del loro utilizzo per verificare in che misura siano in grado di attivare le cellule NK nel paziente interessato. L'attivazione immunitaria delle cellule NK viene rilevata sulla base dell'espressione di CD69 sulla loro superficie. La valutazione si basa sull'aumento dell'espressione di CD69 sotto l'effetto del preparato rispetto a una coltura senza costimolazione delle cellule NK del paziente = attivazione di base. Per il controllo della stimolazione viene effettuata un'ulteriore stimolazione con proleuchina (preparato IL2) che deve reagire con cellule killer fresche e intatte.

Immunomodulatori disponibili:









9718 PROLEUKIN	Interleuchina 2
9681 ABIETIS	Helixor A = Estratto di vischio di abete
9682 AMYGDALIN	«Vitamina B17», laetrile, estratto di mandorla/semi di albicocca
9711 ARGININ	Amminoacido
9716 BIOBRAN	Arabinossilano derivato dalla crusca di riso
9712 ECHINACIN	Estratto di echinacea
9686 ISCADOR M	Estratto di vischio di melo (mela = malus)
9697 ISCADOR P	Estratto di vischio di pino (antroposofico)
9687 ISCADOR QU	Estratto di vischio di quercia (Quercus)
9691 QUERCUS	Estratto di vischio di quercia (Quercus)
9719 SELEN	Metallo (oligoelemento)
9707 THYMORELL	Estratto di timo
9715 VITAMIN C	Vitamina
7576 CURCUMIN	Estratto di curcuma
96810 ARTESUNAT	Derivato dell'artemisinina (artemisia annua)
22233 TÈ	Estratto di tè
22234 TÈ MATCHA	Estratto di tè matcha
Sono previsti altri immunomodulatori; chiedere in anticipo ed evt. inviare assieme al campione.	

Requisito
Materiale 10 ml di sangue con EPARINA; conta leucocitaria e percentuale di linfociti nonché percentuale e numero di cellule killer sono inclusi. Vengono misurati la degranulazione delle cellule NK (citotossicità), due bianchi (stimolazione di base), la stimolazione mitogena e la stimolazione con Proleukin (controllo della stimolazione).

Referto
vengono indicate le percentuali di espressione degli antigeni CD107a (citotossicità) e CD69 (attivazione) in rapporto al numero di cellule NK.

Riferimenti letterari:

[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