

NK-Zell Funktionen

Material	Heparinblut	10 ml (bei Lymphopenie 15 ml)
Präanalytik	Transport	innerhalb max. 4 h bei Raumtemperatur, über Nacht verschickte Proben werden nur in Ausnahmefällen und unter Vorbehalt analysiert! Ankunft der Probe im Labor spätestens um 10:30.
Besonderheiten	gesunde Kontrolle erforderlich	
Methode	Durchflusszytometrie	
Analysendauer	1-2 Tage	
Durchführung	täglich	
Akkreditiert	ja	

Indikation Klinischer Verdacht auf eine primäre (familiäre) Form der HLH (Hämophagozytische Lymphohistiozytose).

untersuchte Populationen Prozentualer Anteil lysierter Targetzellen (K562) in Ansätzen mit verschiedener Effektor/ Target (E:T) Ratio

Referenzbereiche Anteil lysierter Targetzellen nach Abzug der Spontanlyse:

E:T Ratio:	100:1	50:1	25:1	12,5:1	6,25:1	3,1:1
ohne IL2 (%)	35 (15-79)	30 (10-68)	21 (5-53)	12 (2-29)	7 (0-21)	3 (0-12)
mit IL2 (%)	53 (30-79)	50 (22-77)	42 (13-79)	30 (9-62)	18 (0-43)	13 (0-27)

Zusätzliche Informationen Natürliche Killer (NK-) Zellen sind über ihre Funktion definiert als Zellen des Immunsystems, die eine spontane, nicht MHC-vermittelte zytotoxische Aktivität gegen eine Vielzahl von Tumorzellen und virusinfizierter Zellen zeigen. Diese Effektoren der natürlichen zellvermittelten Immunität sind morphologisch mehrheitlich große granulierte Lymphozyten und werden immunphänotypisch definiert als CD3-negative Lymphozyten, die CD56 und/oder CD16 exprimieren. Bestimmte Immunmodulatoren (z.B. Interleukin 2) sind in der Lage die Lyseaktivität von NK-Zellen zu steigern.

Natürliche Killer (NK) Zellen eliminieren ihre Zielzellen durch polarisierte Freisetzung zytotoxischer Granula. Die Granula enthalten zytolytische Agenzien wie z.B. Perforin und Granzyme.

Diese Fähigkeit ist bei Patienten mit bestimmten Formen von hämophagozytischer Lymphohistiozytose (HLH, auch FLH: familiäre Lymphohistiozytose) gestört. Dieses Krankheitsbild ist geprägt von einer unkontrollierten inflammatorischen Reaktion

als immunologische Antwort auf eine meist virale Infektion. Durch Fehlen der zytotoxischen Funktion können virusinfizierte Zellen nicht effektiv eliminiert werden. Bei einem Ausfall der Zytotoxizität führt daher die persistierende Präsenz von Virusantigenen zu einer unkontrollierten Aktivierung der Immunreaktion ohne die Möglichkeit, die Infektion bleibend zu überwinden. Diese ungebremste Immunreaktion führt zu einer somatischen Systemreaktion mit hohem Fieber, Hepato-Splenomegalie, Zytopenie hohen Zytokinspiegeln im Blut und letztlich zum Multiorganversagen.

Abnorme Ergebnisse der NK-Zell Funktionen wurden bislang bei folgenden Formen von HLH gefunden:

- Perforin Defekt (FHL 2)
- Munc 13-4 Defekt (FHL 3)
- Syntaxin 11 Defekt (FHL 4)
- Munc 18-2 Defekt (FHL 5)
- Chediak-Higashi Syndrom (LYST Defizienz)
- Griscelli-Syndrom (RAB27A Defizienz)
- Hermansky Pudlack Syndrom II

Die Patientenzellen („Effektorzellen“) werden mit K562-Zellen („Ziel- oder Targetzellen“) inkubiert, einer humanen Leukämie-Zelllinie. K562-Zellen fehlen MHC Klasse I- und II-Antigene, wodurch sie von NK-Zellen als Zielzellen erkannt werden.

Voraussetzung für den Zytotoxizitäts-Assay ist die Unterscheidung zwischen Effektor und K562-Targetzellen. Daher werden die K562-Zellen vor der Inkubation mit dem stabilen grün-fluoreszenten Membranfarbstoff 3,3'-Diocadecyloxycarbocyanine Perchlorat (DiOC) gefärbt und lassen sich auf diese Weise eindeutig von den Effektorzellen unterscheiden.

Der lytische Prozess ist charakterisiert durch folgende Hauptschritte: Erkennung der Targetzellen durch Effektorzellen, Bindung der Effektoren an die Zielzelle, Aktivierung der Effektorzellen und Lyse der Targetzellen. Nach der Inkubation von Effektor- und Targetzellen wird der rot-fluoreszente DNA-Farbstoff Propidiumiodid zur Anfärbung der Zellkerne der Targetzellen zugegeben. Propidiumiodid erlaubt durch das selektive Eindringen in membrangeschädigte Zellen die Diskriminierung von lebenden und apoptotischen/ toten Zellen.

Als Maßstab für die Aktivierbarkeit der NK-Zellen werden jeweils 2 Ansätze: +/- IL2 durchgeführt.

Die gemessene Aktivität der NK-Zellen ist proportional zum Verhältnis Effektor-Zellen zu Targetzellen (E:T Ratio). Um die Aussagekraft des Tests zu erhöhen, werden daher 6 verschiedene, definierte E:T Ratios mittels einer Verdünnungsreihe der Effektoren angesetzt.