



LABOR DR. BAYER



Optimierte Immundiagnostik

durch krankheitsbezogene Immunprofile

Inhalt

Das zelluläre Immunprofil	3–4
Indikationen für die Bestimmung eines zellulären Immunprofils	3–4
Die einzelnen Zellpopulationen	4–7
T-Lymphozyten	4–6
B-Lymphozyten	7
NK-Zellen	7
Immunprofil Panel 1: Basisprofil	8–9
Interpretation des Basisprofils anhand von Befunden	8–9
Immunprofil Panel 2: Infektanfälligkeit/chronische Entzündungen/Autoimmunerkrankungen (Entzündungsprofil)	10–13
Aktivierungszustand des T-Zellsystems	10
Subtypisierung der Helferzellen	10
Subtypisierung der B-Lymphozyten	11
Regulatorische T-Lymphozyten bei Autoimmunerkrankungen	11
Interpretation des Immunprofils Panel 2 an Befundbeispielen	12–13
Immunprofil Panel 3: Tumorerkrankungen (Onkoprofil)	14–20
Regulatorische T-Lymphozyten: kritische Rolle bei Tumorerkrankungen	14
Differenzierung der CD8-positiven Suppressor-/zytotoxischen T-Lymphozyten	15
Beurteilung der Thymusreserve	15
Killerzellaktivierung	15–16
Interpretation des Immunprofil Panel 3 an Befundbeispielen	17–20
Literatur	20
Interpretation der Veränderung von Lymphozytensubpopulationen	21–22

Das zelluläre Immunprofil

Unser Immunsystem ist ein komplexes Netzwerk aus verschiedenen Organen, Zelltypen und Molekülen, deren Hauptaufgabe die Abwehr von Krankheitserregern ist. Neben Bakterien, Viren, Pilzen und Protozoen aus der belebten Umwelt stellen aber auch verschiedene Veränderungen innerhalb unseres Körpers, wie bspw. die unkontrollierte Teilung von Tumorzellen, Bedrohungen dar, die vom Immunsystems beseitigt werden müssen. Zur Bekämpfung dieser Bedrohungen besitzen wir bereits bei Geburt ein **angeborenes Immunsystem**, dessen Komponenten in unserem Genom festgelegt sind. Dieser Schutz reicht aber für unsere körperliche Unversehrtheit nicht aus, weshalb bestimmte Zellen des Immunsystems (T- und B-Zellen) in der Lage sind, ihr Genom zu verändern, um auf neue Bedrohungen immer effizienter reagieren zu können. Diese erlernte Immunität wird durch das **adaptive Immunsystem** vermittelt.

Angeborenes und adaptives Immunsystem nutzen zur Bekämpfung von Krankheitserregern lösliche Proteinkomponenten wie beispielsweise Zytokine, Akute-Phase-Proteine (u. a. CRP) oder Immunglobuline, aber auch spezialisierte Abwehrzellen wie **Granulozyten**, **Monozyten** und **Lymphozyten**. Die löslichen Proteinkomponenten und die Zellen des Immunsystems beeinflussen sich gegenseitig und sollten deshalb auch gemeinsam betrachtet werden. Immunglobuline oder CRP werden im Serum bestimmt. Die zellulären Komponenten des Immunsystems können mit Hilfe der **Durchflusszytometrie** bestimmt werden. Durch die Verwendung monoklonaler Antikörper gegen Oberflächenmarker von Zellen wird eine Analyse mikroskopisch nicht zu unterscheidender Leukozytensubpopulationen möglich. Dadurch lässt sich der sogenannte **zelluläre Immunstatus** bzw. das **zelluläre Immunprofil** bestimmen. Das zelluläre Immunprofil gibt Auskunft über relative Anteile und absolute Zahlen von Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten und deren Subpopulationen im Blut.

Indikationen für die Bestimmung eines zellulären Immunprofils

Zeigt sich im Differenzialblutbild eine unklare Lymphozytose, so kann der zelluläre Immunstatus wichtige Zusatzinformationen zu möglichen Ursachen liefern. Durch die Lymphozytentypisierung eines zellulären Immunprofils kann bspw. aufgeklärt werden, ob hinter der Lymphozytose eher eine infektiösbedingte adaptive Immunreaktion steckt oder möglicherweise ein schwerwiegenderes Krankheitsbild wie ein Non-Hodgkin Lymphom. Wie wichtig dies im Einzelfall sein kann zeigen die Befunde des Basis-Immunprofils (*Panel 1, Befund 1*).

Seit langem weiß man, dass Veränderungen einzelner Lymphozytensubpopulationen im zellulären Immunstatus auch bei weniger schweren Grunderkrankungen wie bspw. Virusinfektionen auftreten. Auch in diesen Fällen ist die Bestimmung löslicher Proteinkomponenten des Immunsystems sowie die Erhebung eines zellulären Immunstatus sinnvoll. So liefert bspw. eine Erhöhung des CRP-Wertes einen ersten Hinweis auf einen Entzündungsprozess. Eine Unterscheidung zwischen infektiösen und nicht-infektiösen Ursachen oder gar zwischen bakteriellen und viralen Infektionen ist durch den CRP-Wert in der Regel nur schwer möglich. Hier kann die durchflusszytometrische Bestimmung des zellulären Immunstatus wichtige zusätzliche Hinweise auf mögliche Ursachen geben. So zeigt sich bspw. bei Virusinfektionen häufig eine selektive Erhöhung der CD8-T-Zellen und eine verminderte CD4/CD8-Ratio (*Panel 1, Befund 2*). Bei Autoimmunerkrankungen ist der Anteil der CD8-T-Zellen dagegen häufig vermindert und die CD4/CD8-Ratio deutlich erhöht (*Panel 2, Befund 4*).

Die Indikationen für die Erhebung eines Immunstatus können daher wie folgt zusammengefasst werden:

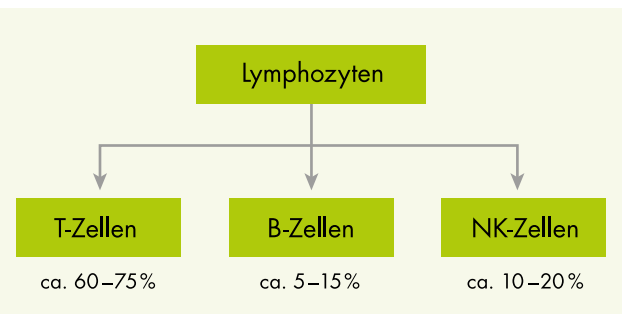
- Abklärung unklarer Lymphozytosen und Lymphozytopenien (*Befund 1 und 2*)
- rezidivierende Infekte (*Befund 3*), auch als Folge einer immunsuppressiven Behandlung
- Virusinfektionen (*Befund 2*) einschließlich Monitoring bei HIV-Infektion
- allergische Erkrankungen
- chronisch entzündliche Erkrankungen einschließlich Verdacht auf Autoimmunerkrankungen (*Befund 4*)
- Tumorerkrankungen, vor und nach einer zytostatischen Behandlung oder Strahlentherapie (*Befund 5*)
- Planung und Optimierung einer individuellen Immuntherapie (*Befund 6*)
- Therapiekontrolle im Rahmen einer Immuntherapie (*Befund 6 und 7*)
- Überwachung des Immunstatus nach Transplantationen.

Für eine ganze Reihe von weiteren Grunderkrankungen konnte die klinische Relevanz der Erhebung eines Immunstatus belegt werden. Diese reichen von einer Abklärung der Ursachen einer erhöhten Infektanfälligkeit über Tumorerkrankungen bis hin zu Allergien und Autoimmunerkrankungen. Ein wichtiges Feld sind auch iatrogen ausgelöste Immundefizite (*Befund 3*).

Die einzelnen Zellpopulationen

Lymphozyten lassen sich grob schematisiert in die drei Hauptgruppen einteilen: T-Zellen, B-Zellen und natürliche Killerzellen (NK-Zellen) (*siehe Abbildung 1*).

Abbildung 1:
Lymphozytensubpopulationen



T-Lymphozyten

Eine adaptive Immunantwort beginnt in der Regel damit, dass Proteinbestandteile von Infektionserregern, sogenannte Antigene, von bestimmten weißen Blutzellen als körperfremd erkannt werden. Diese weißen Blutzellen sind die **T-Zellen**, die durch den **Oberflächenmarker CD3** charakterisiert werden. Sie erkennen die Antigene als Komplex mit HLA-Molekülen auf der Oberfläche von spezialisierten antigenpräsentierenden Monozyten. Dadurch kommt es zu einer Aktivierung der T-Zelle und zur verstärkten Expression der Oberflächenmarker **CD69** und **HLA-DR**. Die T-Zelle beginnt sich stark zu teilen, so dass eine Vielzahl von Klonen derselben T-Zelle entstehen (*klonale Expansion, Abbildung 2*).

Erhöhung

Ein Anstieg von T-Zellen sowie ein erhöhter Anteil aktivierter T-Zellen im zellulären Immunprofil deuten folglich auf eine akute Stimulierung des T-Zellsystems hin, bspw. während einer Infektion oder während einer aktiven Phase einer Autoimmunerkrankung.

Defizit

Umgekehrt kann ein Defizit an T-Zellen auf eine eingeschränkte adaptive Immunkompetenz hinweisen, bis hin zu einer Immunsuffizienz.

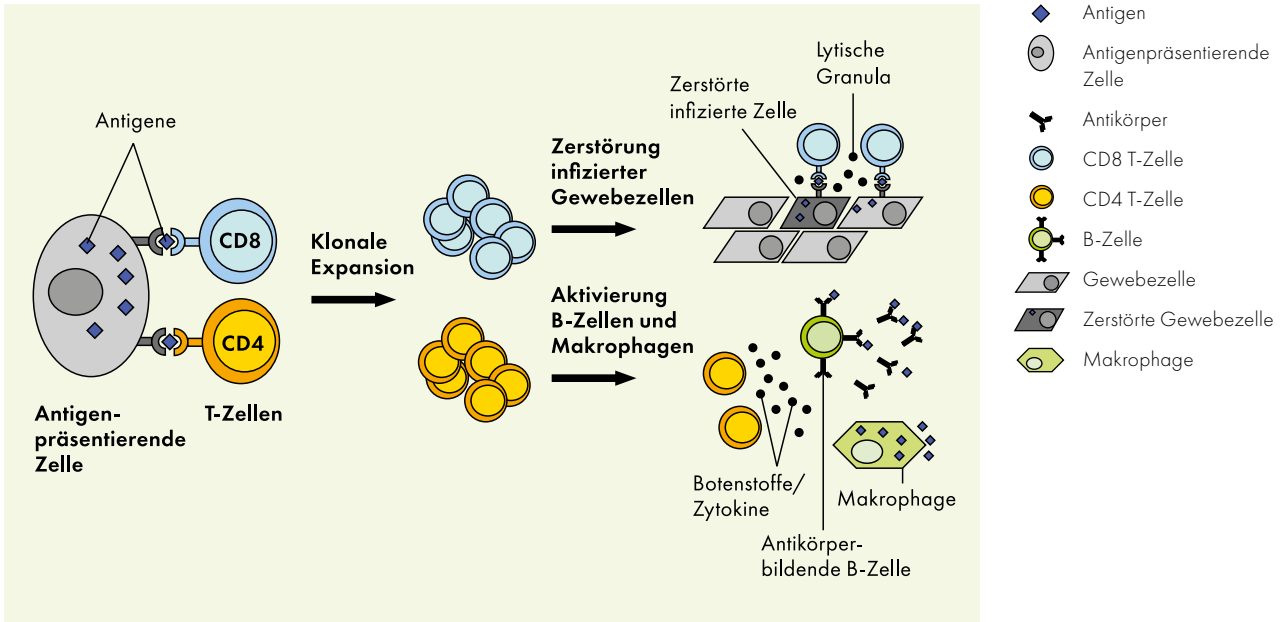


Abbildung 2: Aktivierung des adaptiven Immunsystems

Die T-Lymphozyten lassen sich weiter in 3 verschiedene Subpopulationen unterteilen:

1. **Die CD4-T-Zellen, auch T-Helferzellen** genannt, erkennen nur Erregerbestandteile, die auf speziellen antigenpräsentierenden Zellen (Monozyten und B-Zellen) auf sog. MHC-II-Molekülen präsentiert werden (HLA-DR, HLA-DP oder HLA-DQ). Sie besitzen selbst keine Effektorfunktion. Ihre Hauptaufgabe liegt in der Freisetzung von immunologischen Botenstoffen (Zytokinen) mit deren Hilfe sie andere Komponenten des Immunsystems aktivieren u. a. CD8-T-Zellen, NK-Zellen, Makrophagen und B-Zellen. Sie stehen somit am Anfang einer jeden adaptiven Immunreaktion und leiten die Effektormechanismen überhaupt erst ein (Abbildung 2).

Erhöhung	Defizit
Eine selektive Erhöhung der CD4-T-Zellen kann damit auf eine Frühphase einer immunologischen Aktivierung hinweisen, sowohl bei Infektionen als auch bei Autoimmunreaktionen.	Da die T-Helferzellen am Anfang einer adaptiven Immunreaktion stehen, wirkt sich ein Defizit in diesem Bereich häufig besonders fatal auf die Abwehrleistungsfähigkeit aus. Je nach Schweregrad des Helferzelldefizits zeigen Patienten eine erhöhte Infektionsanfälligkeit bis hin zur lebensbedrohlichen Reaktivierung von latenten Pilz-, Bakterien- (latente Tuberkuloseinfektion) oder Virusinfektionen (z. B. EBV, CMV), die bei Immungesunden in der Regel ohne Symptomatik verlaufen. Solche drastischen Defizite zeigen sich nicht nur bei HIV-Infizierten, sondern sehr häufig auch bei Tumorkranken nach einer Chemotherapie oder Bestrahlung (Befund 5). Deshalb ist es wichtig den zellulären Immunstatus zu kennen, bevor man sich für diese therapeutischen Maßnahmen entscheidet, um etwaige Infektionsrisiken besser abschätzen zu können.

2. **Die CD8-T-Zellen** erkennen im Gegensatz zu CD4-T-Zellen nur Erregerbestandteile die auf MHC-I-Molekülen (HLA-A, HLA-B, HLA-C) präsentiert werden. Im Unterschied zu MHC-II-Molekülen kommen MHC-I-Moleküle auf fast allen Zellen im menschlichen Körper vor. Auf diesen HLA-Molekülen werden ausschließlich intrazelluläre Antigene präsentiert, weshalb auch die Hauptfunktion der CD8-T-Zellen im immungesunden Patienten die zytotoxische Abwehr von intrazellulären Infektionserregern ist (*Abbildung 2*). Da MHC-I-Moleküle auf nahezu allen Zellen vorkommen, präsentieren diese aber nicht nur Antigene von infektiösen Erregern, sondern bei Tumorpatienten häufig auch sogenannte Tumorantigene, weshalb den CD8-T-Zellen auch eine wichtige Funktion bei der Abwehr von maligne transformierten Zellen zukommt (*siehe dazu Abschnitt Immunprofil Panel 3: Tumorerkrankungen*).

Erhöhung	Defizit
Selektive Erhöhungen der CD8-T-Zellen können somit in erster Linie auf zytotoxische Abwehrreaktionen gegen Viren und intrazelluläre Bakterien hinweisen wie u. a. Borrelien, Chlamydia pneumoniae und andere Chlamydien, Listerium monocytogenes, Mycobacterium tuberculosis u. v. m. (<i>Befund 2</i>).	Defizite an CD8-T-Zellen können dagegen auf Einschränkungen der Immunabwehr von intrazellulären Erregern hinweisen, müssen allerdings in Abhängigkeit des klinischen Bildes interpretiert werden. Bei Autoimmunerkrankungen ergeben sich verminderte CD8-T-Zellanteile häufig durch eine Einwanderung dieser Zellen in entzündete Gewebe (Extravasation), wodurch sich die Absolutzahl im peripheren Blut vermindert. Verminderte CD8-T-Zellzahlen und eine erhöhte CD4/CD8-Ratio können folglich auch ein Hinweis auf Autoimmunerkrankungen sein (<i>Befund 4</i>).

3. **Die nicht-MHC-restringierten zytotoxischen T-Zellen**, auch **NKT-Zellen** (natürliche Killer-T-Zellen) genannt, erkennen im Gegensatz zu den CD4- und CD8-T-Zellen keine MHC/HLA-gebundenen Proteinantigene, sondern in erster Linie Lipidantigene intrazellulärer Bakterien, die an das MHC-ähnliche Molekül CD1d gebunden sind. Darüber hinaus besitzen sie Effektormoleküle, die typisch für NK-Zellen sind (**CD3+/CD16+/CD56+**) und sie in die Lage versetzt auch virusinfizierte und maligne transformierte Zellen aus dem Körper zu eliminieren. Es sind folglich immunologische Effektorzellen, deren Hauptfunktion die zytotoxische Abwehr von intrazellulären Bakterien, Viren und Tumorzellen ist.

Erhöhung	Defizit
Erhöhungen der NKT-Zellen treten in der Regel bei Virus- oder intrazellulären Bakterieninfektionen auf, häufig gleichzeitig mit einer prozentualen Erhöhung der CD8-T-Zellen. Allerdings finden sich erhöhte Werte häufig auch bei Patienten mit Tumorerkrankungen.	Defizite in NKT-Zellen äußern sich in einer verminderten Resistenz gegenüber Virusinfektionen. Dies zeigt sich im Extremfall bei Patienten mit seltenen Immundefekten, die keine funktionellen NKT-Zellen besitzen („DOCK8 immunodeficiency hyper IgE Syndrome“ und „X-chromosomales lymphoproliferatives Syndrom“).

B-Lymphozyten

Die B-Lymphozyten exprimieren den **Oberflächenmarker CD19** und sind Vermittler der sogenannten humoralen Immunreaktion, die wie folgt beschrieben werden kann. Nach der Einleitung einer adaptiven Immunantwort setzen T-Helferzellen Zytokine frei, die B-Lymphozyten dazu anregen zu Plasmazellen zu differenzieren (*Abbildung 2*). Diese Plasmazellen bilden Immunglobuline. Das sind Antikörper, die direkt an die Oberfläche von infektiösen Erregern und infizierten Zellen binden. Durch diese Opsonierung der Oberfläche werden die Krankheitserreger einerseits neutralisiert und andererseits als Ziel markiert für zytotoxische NK-Zellen und Phagozyten, welche die Erreger schließlich beseitigen.

Erhöhung	Defizit
Erhöhungen zeigen sich bspw. bei akuten EBV-Infektionen oder bei non-Hodgkin-Lymphomen.	Verminderungen zeigen sich sehr häufig nach zyto-statischen Behandlungen oder Radiationen, bei Immundefekten oder bspw. auch bei Therapien mit B-Zell-depletierenden Antikörpern (Rituximab).

NK-Zellen

Natürliche Killerzellen, kurz NK-Zellen, sind eine Gruppe zytotoxisch wirksamer Effektorzellen, die durch die **Oberflächenmarkerkombination CD3/CD16+/CD56+** gekennzeichnet sind. Sie sind dazu in der Lage sowohl virus-infizierte Zellen als auch Tumorzellen auf natürliche Weise abzutöten. „Natürliche Weise“ heißt in diesem Fall, dass sie nicht wie T- und B-Zellen über eine spezifische Antigenerkennung aktiviert werden müssen, sie sind vielmehr ständig immunüberwachend aktiv. Dies macht sie zur ersten Verteidigungslinie gegen Virusinfektionen und Krebserkrankungen. Darüber hinaus vermitteln NK-Zellen die antikörperabhängige Zytotoxizität (ADCC), indem sie über ihren Rezeptor CD16 an Immunglobuline binden und markierte Zielzellen abtöten. Dieser Mechanismus spielt neben Infektionen insbesondere bei Typ II Hypersensitivitätsreaktionen sowie bei der Therapie mit dem therapeutischen Antikörper Rituximab eine zentrale Rolle.

Erhöhung	Defizit
Erhöhungen an NK-Zellen ergeben sich in erster Linie bei Virusinfektionen (z. B. EBV-Infektion) oder im Zuge von Abwehrreaktionen gegen maligne transformierte Zellen.	Verminderungen sieht man häufig bei Tumorpatienten, verstärkt nach Bestrahlung und Chemotherapie, aber auch bei chronisch persistierenden Virusinfektionen und Immundefekten.

Immunprofil Panel 1: Basisprofil

Dieses Profil liefert eine Differenzierung in Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten sowie in die zuvor aufgelisteten Lymphozytensubpopulationen inklusive der aktivierten T-Zellen (CD3, HLA-DR). Es hat sich seit vielen Jahren bewährt und stellt ein Basisinstrument im Rahmen der Immundiagnostik dar.

Interpretation des Basisprofils anhand von Befunden

Befund 1: Abklärung einer unklaren Lymphozytose

Klinische Angaben: männlicher Patient, 45 Jahre alt, Nachtschweiß, Leistungsschwäche, zunehmende Infektanfälligkeit unklarer Genese

	relativ	Referenzbereich	absolut	Referenzbereich
Weißes Blutbild				
Leukozyten			7,0	4.0–8.8 x 10 ³ /μl
Lymphozyten	38,0	20–39	2774	1032–2430/μl
Monozyten	4,8	4,7–10	350	240–665/μl
Granulozyten	57,2	52–72	4176	2480–5292/μl
Lymphozytensubpopulationen				
T-Lymphozyten (CD3+)	49,4	60–81	1370	788–1758/μl
T-Helferzellen (CD3+, CD4+)	23,3	35–59,2	646	493–1219/μl
CD8-T-Zellen (CD3+, CD8+)	22,8	19–43	632	254–806/μl
CD4:CD8 Ratio	1,0	0,9–3,1		
nicht-MHC-restringierte NKT-Zellen	10,5	2–11	291	29–195/μl
Aktivierte T-Zellen (CD3+, HLA-DR+)	8,9	4,2–16,1	247	65–290/μl
B-Lymphozyten	43,2	6–17	1198	93–331/μl
NK-Zellen	4,6	6–21	128	100–375/μl

Kommentierung: Das weiße Blutbild zeigt eine leichte Lymphozytose, die auf einer erheblichen proliferativen Stimulierung der B-Zellen (B-Lymphozytose) beruht. Sowohl der relative Anteil als auch die Absolutzahl der B-Zellen ist deutlich erhöht. Besonders auffällig im durchflusszytometrischen Befund ist das Auftreten von CD45dim B-Lymphoblasten (d.h. B-Zellen, auf denen die Expression von CD45 herunterreguliert ist), die ein Hinweis auf eine monoklonale B-Lymphozytose oder ein non-Hodgkin Lymphom sein können (Abbildung 3). Bei bestehender Symptomatik ist eine weitere diagnostische Abklärung inklusive weiterer durchflusszytometrischer Untersuchungen auf Monoklonalität dringend anzuraten (u. a. CD5, CD19, CD20, CD23, Leichtkettenrestriktion kappa/lambda).

Nach den neusten Kriterien des International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL) von 2008 liegt eine chronisch lymphatische Leukämie (CLL) vor bei einer B-Zellzahl von $> 5000/\mu\text{l}$ über einen Zeitraum von 3 Monaten¹. Allerdings sieht man häufig Patienten mit einer darunter liegenden Lymphozytenzahl, deren B-Zellen in der durchflusszytometrischen Untersuchung Merkmale einer CLL zeigen. Diese Patienten werden der neuen klinischen Identität „monoklonale B-Zell-Lymphozytose“ (MBL) zugeordnet². Ca. 5 % der normalen Bevölkerung weisen solche Zellen im peripheren Blut auf, besonders häufig bei erstgradigen Angehörigen von CLL-Patienten (13 %).

Aus einer MBL kann sich im Laufe der Zeit eine CLL entwickeln. Ob und wann dieser Übergang stattfindet, lässt sich bisher nicht vorhersagen, weshalb in diesen Fällen eine periodische Bestimmung eines zellulären Immunprofils empfehlenswert ist.

Befund 2: Virus- oder intrazelluläre Bakterieninfektion

Klinische Angaben: männlicher Patient, 51 Jahre alt, keine weiteren Angaben

	relativ	Referenzbereich	absolut	Referenzbereich
Weißes Blutbild				
Leukozyten			5,7	4.0–8.8 x 10 ³ /μl
Lymphozyten	48,8	20–39	2782	1032–2430/μl
Monozyten	5,5	4,7–10	314	240–665/μl
Granulozyten	45,7	52–72	2605	2480–5292/μl
Lymphozytensubpopulationen				
T-Lymphozyten (CD3+)	80,1	60–81	2228	788–1758/μl
T-Helferzellen (CD3+, CD4+)	21,0	35–59,2	584	493–1219/μl
CD8-T-Zellen (CD3+, CD8+)	57,7	19–43	1605	254–806/μl
CD4:CD8 Ratio	0,4	0,9–3,1		
nicht-MHC-restringierte NKT-Zellen	28,2	2–11	784	29–195/μl
Aktivierte T-Zellen (CD3+, HLA-DR+)	22,1	4,2–16,1	615	65–290/μl
B-Lymphozyten	7,6	6–17	211	93–331/μl
NK-Zellen	11,8	6–21	328	100–375/μl

Kommentierung: Das weiße Blutbild zeigt eine Lymphozytose, die bereits auf eine antigenspezifische Immunreaktion hindeuten kann. Bei den T-Zell-Subpopulationen sind die CD8-T-Zellen deutlich erhöht, was ein Hinweis auf zytotoxische Abwehrreaktionen gegen intrazelluläre Erreger sein kann (Viren oder intrazelluläre Bakterien). Auch der Anteil aktivierter T-Zellen sowie die nicht-MHC restringierten zytotoxischen T-Zellen sind deutlich erhöht, was ebenfalls auf Abwehrreaktionen gegen Viren bzw. intrazelluläre Bakterien hindeuten kann (z. B. *Chlamydomphila pneumoniae* oder andere Chlamydien, Borrelien, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella typhi*, *Listerium monocytogenes* u.v.m).

Seit der Einführung des Basisprofils wurde eine Vielzahl zusätzlicher Oberflächenmarker auf Immunzellen nachgewiesen und ihre Relevanz für die immunologische Diagnostik evaluiert. Es hat sich als sinnvoll erwiesen, aus der Vielfalt der sich hier ergebenden immundiagnostischen Ansatzpunkte spezielle und **krankheitsbezogene Immunprofile** zu entwickeln, wobei wir in Ergänzung zum Basisprofil zwei weitere Immunprofile zusammengestellt haben.

Immunprofil Panel 2: Infektanfälligkeit/chronische Entzündungen/ Autoimmunerkrankungen (Entzündungsprofil)

In Erweiterung des Basisprofils erfolgt eine Subdifferenzierung

- der CD4-positiven T-Helferzellen in naive und Memory-Zellen
- der CD19-positiven B-Zellen in polyreaktive und Memory-B-Zellen.

Zusätzlich werden die kurzzeitaktivierten T-Helferzellen sowie die regulatorischen T-Zellen bestimmt. Die klinische Relevanz dieser zusätzlichen Marker ist nachfolgend dargestellt.

Aktivierungszustand des T-Zellsystems

Die Bestimmung dieser Aktivierungsparameter dient zur Beschreibung des funktionellen Zustandes des T-Zellsystems, was durch die alleinige Feststellung von Zellzahlen nicht möglich ist. Unter einer Aktivierung bilden die T-Lymphozyten Oberflächenmarker wie CD69 oder HLA-DR aus. CD69 ist dabei ein sehr früh exprimierter Aktivierungsmarker, der bereits wenige Stunden nach einer Aktivierung der T-Zelle nachweisbar wird und somit ein frühes Stadium der T-Zellaktivierung anzeigt. Die Expression des Markers HLA-DR setzt hingegen eine längere Zeit der Aktivierung voraus, so dass solche Zellen auch als langzeitaktivierte T-Zellen bezeichnet werden.

Ein erhöhter Anteil aktivierter T-Zellen im zellulären Immunprofil deutet folglich auf eine akute Stimulierung des T-Zellsystems hin, bspw. während einer Infektion oder während einer aktiven Phase einer Autoimmunerkrankung.

Subtypisierung der Helferzellen

Antikörper gegen das Oberflächenmolekül CD45RA machen eine Differenzierung in sogenannte **naive T-Helferzellen (CD4+/CD45RA+)** und **Memory-T-Helferzellen (CD4+/CD45RA-)** möglich.

Naive T-Helferzellen bilden die „immunologische Reserve“. Sie wird benötigt, um eine Erstantwort gegenüber unbekannten Erregern aufzubauen. Memory-T-Helferzellen sind antigenerfahrene affinitätsgereifte Zellen, die bei einem erneuten Kontakt mit bereits bekannten Erregern eine deutlich schnellere und stärkere adaptive Immunantwort vermitteln als naive T-Helferzellen. Im erwachsenen Alter überwiegen in der Regel die Memory-T-Helferzellen.

Defizite an Memory-T-Helferzellen können auf funktionelle Einschränkungen bei der Reifung bzw. Aufrechterhaltung des Memory-T-Zell-Pools hinweisen. Dies führt in der Regel dazu, dass Infektionen länger andauern als gewöhnlich (*Befund 3*). Beide Zelltypen sollten in ausgewogener Relation vorliegen. Ein Anstieg des Verhältnisses von Memory- zu naiven T-Helferzellen ist ein sensitives Zeichen für eine persistierende Immunaktivierung, vor allem dann, wenn die Erhöhung auf einer Expansion von Memory-T-Helferzellen basiert. Ein plötzliches Ansteigen des Memory:Naiven-Verhältnisses kann bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen wie multipler Sklerose auf einen bevorstehenden Schub hinweisen³. Solche erhöhten Verhältnisse von Memory- zu naiven T-Helferzellen trifft man insbesondere bei Autoimmunerkrankungen, bei Tumorerkrankungen, aber auch bei Virusinfektionen (CMV, HSV, VZV).

Subtypisierung der B-Lymphozyten

Im Rahmen der Subtypisierung von B-Lymphozyten werden die folgenden beiden Subpopulationen bestimmt:

CD5-positive B-Lymphozyten, die auch als **polyreaktive B-Zellen** oder **B-1-Zellen** bezeichnet werden. Diese B-Zell-Population bildet hauptsächlich niederaffine Antikörper vom IgM-Typ gegen Antigenstrukturen, die viele bakterielle oder virale Erreger gemeinsam aufweisen (z. B. Phosphorylcholin auf *Streptococcus pneumoniae*). Aufgrund ihrer tendenziell niedrigen Affinität können sie über Kreuzreaktionen für Autoimmunreaktionen verantwortlich sein.

Erhöhte Anteile dieser Zellpopulation finden sich deshalb häufig, aber nicht zwingend, bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen. Auch chronisch-lymphatische Leukämien sind häufig durch diesen B-Zelltyp charakterisiert. Auf der anderen Seite kann sich durch eine verminderte Anzahl an polyreaktiven B-Zellen eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber bakteriellen Schleimhautinfektionen ergeben (z. B. im Respirationstrakt).

CD27-positive B-Lymphozyten. Dabei handelt es sich um so genannte Memory-B-Zellen, also B-Lymphozyten, die als Gedächtniszellen vorliegen und bei einem erneuten Kontakt mit einem bereits bekannten Erreger eine effiziente und schnelle Immunantwort auslösen können.

Defizite der Memory-B-Zellen können z. B. bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen sowie bei COVID nachgewiesen werden.

Regulatorische T-Lymphozyten bei Autoimmunerkrankungen

Die regulatorischen T-Zellen (Treg) sind durch die Markerkombination CD4+/CD25+/CD127^{low} gekennzeichnet. Es handelt sich also um eine Untergruppe der T-Helferzellen, wobei der Anteil dieser Zellpopulation an den T-Helferzellen normalerweise bei 5–10 % liegt. Regulatorische T-Zellen spielen eine wichtige Rolle bei der Limitierung immunpathologischer Reaktionen im Zusammenhang mit Allergien, Autoimmunerkrankungen und Transplantationen. Sie wirken suppressorisch auf die Effektorzellen des Immunsystems (*siehe dazu auch Labor Bayer Spezial Immunologie, Ausgabe Juli 2015*).

Bei Autoimmunerkrankungen weicht die Anzahl an regulatorischen T-Zellen im Blut häufig von der Norm ab. Allerdings ist die Anzahl nicht automatisch vermindert. So werden in Abhängigkeit des klinischen Krankheitsbildes unter Umständen auch erhöhte Anteile an regulatorischen T-Zellen im Blut detektiert. Dies kann darauf hinweisen, dass aufgrund einer Autoimmunreaktion eine erhöhte Notwendigkeit zur Unterdrückung eben dieser Immunreaktion durch regulatorische T-Zellen besteht, weshalb dieser Parameter immer im Zusammenhang eines umfassenden Immunprofils interpretiert werden sollte. Bei einem erfolgreichen Behandlungsverlauf von Autoimmunerkrankungen steigen die regulatorischen T-Zellen häufig an.

Interpretation des Immunprofils Panel 2 an Befundbeispielen

Befund 3: Infektanfälligkeit

Klinische Angaben: Patientin, 63 Jahre alt, Grunderkrankung multiple Sklerose, Trigeminusneuralgie, häufige nicht abklingende grippale Infekte und bakterielle Infektionen v. a. Zahnherde (Infektanfälligkeit), Medikation: Gabapentin, Oxcarbazepin

	relativ	Referenzbereich	absolut	Referenzbereich
			[Zellen/ μ l]	
Weißes Blutbild				
Leukozyten			3,8	4.0–8.8 x 10 ³ / μ l
Lymphozyten	24,0	20–39 %	912	1032–2430/ μ l
Monozyten	9,2	4,7–10 %	350	240–665/ μ l
Granulozyten	66,9	52–72 %	2542	2480–5292/ μ l
Lymphozytensubpopulationen				
T-Lymphozyten (CD3+)	86,3	60–81 %	787	788–1758/ μ l
T-Helferzellen (CD3+, CD4+)	63,5	35–59,2 %	579	493–1219/ μ l
CD8-T-Zellen (CD3+, CD8+)	19,4	19–43 %	177	254–806/ μ l
CD4:CD8 Ratio	3,3	0,9–3,1		
Naive T-Helferzellen (CD4+, CD45RA+)	85,4	24,2–61,6 % v. CD4	495	140–644/ μ l
Memory T-Helferzellen (CD4+, CD45RA-)	14,6	38,4–75,8 % v. CD4	85	281–677/ μ l
Verhältnis Memory:Naive	0,2	0,6–3,1		
Treg, regulat. T-Zellen (CD4+, CD25+, CD127lo)	6,6	5–9,7 % v. CD4	38	34–89/ μ l
nicht-MHC-restringierte NKT-Zellen	4,2	2–11 %	38	29–195/ μ l
Aktivierte T-Helferzellen früh (CD4+ CD69+)	2,3	≤ 7 % v. CD4	13	3–59/ μ l
Aktivierte T-Zellen (CD3+, HLA-DR+)	7,6	4,2–16,1 %	69	65–290/ μ l
B-Lymphozyten (CD19)	6,4	6–17 %	58	93–331/ μ l
Polyreaktive B-Zellen (CD19+, CD5+)	5,7	< 25 %	3	10–74/ μ l
Memory B-Zellen (CD19+, CD27+)	23,7	10,3–47,2 %	14	19–99/ μ l
NK-Zellen	6,3	6–21 %	57	100–375/ μ l

Kommentierung: Das Immunprofil ist gekennzeichnet durch eine Leukozytopenie (häufige Nebenwirkung von Gabapentin), die auf einer Verminderung der Lymphozyten beruht. Sowohl die T-Zellen als auch die B- und NK-Zellen sind vermindert. Bei den T-Lymphozyten sind die CD8-T-Zellen selektiv vermindert. Solche selektiven Verminderungen der CD8-T-Zellen sieht man häufig im Zusammenhang mit Autoimmunerkrankungen wie der MS. Ein weiteres auffälliges Befundmerkmal ist eine selektive Verminderung an Memory-T-Helferzellen. Da Memory-T-Zellen in der Regel eine deutlich schnellere und stärkere adaptive Immunantwort vermitteln als naive T-Helferzellen, kann das klinische Bild der „nicht abklingenden Infekte“ auf dieses Defizit zurückzuführen sein.

Im Zusammenhang mit dem klinischen Bild „häufige nicht abklingende grippale Infekte“ ist darauf hinzuweisen, dass Virusinfektionen eine sehr häufige Nebenwirkung von Gabapentin sind (mehr als 1 von 10). Auch eine Verminderung der Memory-T-Zellen kann häufig toxische oder medikationsbedingte Ursachen haben. Es ist daher nicht auszuschließen, dass die Veränderungen im Immunprofil (Leukopenie, Lymphozytopenie, verminderte Memory-T-Zellen, NK-Zellen usw.) auf die Medikation mit Gabapentin zurückzuführen sind. Unter Umständen empfiehlt sich die Prüfung einer Alternativmedikation. Sind toxische bzw. medikationsbedingte Ursachen auszuschließen, dann kann die Verminderung an Memory-T-Zellen auch auf ein variables Immundefektsyndrom (CVID) hinweisen.

Befund 4: Autoimmunerkrankung

Klinische Angaben: Patient, 38 Jahre alt, Psoriasis, Psoriasis /Arthritis

	relativ	Referenzbereich	absolut	Referenzbereich
			[Zellen/ μ l]	
Weißes Blutbild				
Leukozyten			6,1	4.0–8.8 x 10 ³ / μ l
Lymphozyten	26,8	20–39 %	1635	1032–2430/ μ l
Monozyten	6,4	4,7–10 %	390	240–665/ μ l
Granulozyten	66,8	52–72 %	4075	2480–5292/ μ l
Lymphozytensubpopulationen				
T-Lymphozyten (CD3+)	76,5	60–81 %	1251	788–1758/ μ l
T-Helferzellen (CD3+, CD4+)	43,2	35–59,2 %	706	493–1219/ μ l
CD8-T-Zellen (CD3+, CD8+)	31,7	19–43 %	518	254–806/ μ l
CD4:CD8 Ratio	1,4	0,9–3,1		
Naive T-Helferzellen (CD4+, CD45RA+)	26,7	24,2–61,6 % v. CD4	189	140–644/ μ l
Memory-T-Helferzellen (CD4+, CD45RA-)	73,3	38,4–75,8 % v. CD4	518	281–677/ μ l
Verhältnis Memory: Naive	2,7	0,6–3,1		
Treg, regulat. T-Zellen (CD4+, CD25+, CD127lo)	12,9	5–9,7 % v. CD4	91	34–89/ μ l
nicht-MHC-restringierte NKT-Zellen	8,2	2–11 %	134	29–195/ μ l
Aktivierte T-Helferzellen früh (CD4+ CD69+)	1,6	≤ 7 % v. CD4	11	3–59/ μ l
Aktivierte T-Zellen (CD3+, HLA-DR+)	10,9	4,2–16,1 %	178	65–290/ μ l
B-Lymphozyten (CD19)	15,7	6–17 %	257	93–331/ μ l
Polyreaktive B-Zellen (CD19+, CD5+)	29,4	< 25 %	75	10–74/ μ l
Memory-B-Zellen (CD19+, CD27+)	19,6	10,3–47,2 %	50	19–99/ μ l
NK-Zellen	6,8	6–21 %	111	100–375/ μ l

Kommentierung: Bei einer unauffälligen Gesamtleukozyten- und Lymphozytenzahl ergeben sich folgende Auffälligkeiten der Lymphozytensubpopulationen. Der Anteil der Memory-T-Helferzellen ist grenzwertig hoch. Dies kann auf chronische Stimulierungsvorgänge hinweisen wie sie u. a. bei Autoimmunreaktionen gesehen werden. Die erhöhten regulatorischen T-Zellen können darauf hinweisen, dass im Immunsystem momentan eine verstärkte Notwendigkeit besteht überschießende Abwehrreaktionen zu unterdrücken. Erhöhte Werte werden bei Autoimmunerkrankungen wie bspw. rheumatoider Arthritis detektiert. Obwohl bei den Gesamt-B-Zellen unauffällige Absolutzahlen vorliegen, zeigt sich ein hoher Anteil an CD5-positiven polyreaktiven B-Zellen, die Kreuzreaktionen mit körpereigenen Antigenen auslösen können, worin sich ebenfalls eine Prädisposition für Autoimmunreaktionen widerspiegeln kann.

Bei einer Autoimmunerkrankung wie Psoriasis könnte man eine Supplementierung mit Vitamin D erwägen, da Vitamin D regulatorische T-Zellen induzieren kann und damit möglichen Autoimmunreaktionen entgegenwirken kann⁴. Bei Psoriasis wäre insbesondere eine topische Anwendung von Vitamin D-haltiger Creme (Calcitriol, 1,25-Dihydroxycholecalciferol) zu erwägen⁵.

Immunprofil Panel 3: Tumorerkrankungen (Onkoprofil)

Zusätzliche Marker haben die Einschätzung der Immunitätslage eines Tumorpatienten einschließlich der Prognose deutlich verbessert und dienen zur Überwachung einer immunstimulierenden Therapie. Neben den bereits erwähnten regulatorischen T-Zellen (Treg) gehört dazu eine Beurteilung der Thymusreserve, eine Differenzierung der CD8-positiven Zellen in solche mit suppressorischer/regulatorischer beziehungsweise zytotoxischer Funktion und die Beurteilung des Aktivierungsgrades der Killerzellen. Unter Heranziehung dieser Marker haben wir ein spezielles Onkoprofil erstellt:

Regulatorische T-Lymphozyten: kritische Rolle bei Tumorerkrankungen

Nicht nur pathogene Mikroorganismen können eine adaptive Immunantwort auslösen. Auch Tumorzellen können auf ihrer Oberfläche sogenannte Tumor-assoziierte Antigene den T-Zellen präsentieren und somit eine körpereigene Abwehrreaktion gegen den Tumor einleiten (Abbildung 3 A). Deshalb kommt es in der Regel auch bei Tumorerkrankungen zu einer Einwanderung von T-Zellen in das Tumorgewebe. Es zeigte sich jedoch, dass diese einwandernden T-Zellen nicht nur zur Tumorabwehr befähigte Effektorzellen sind, sondern auch unterschiedliche Anteile von regulatorischen T-Zellen (Treg) beinhalten, welche die potenzielle Tumorabwehrfunktion der Effektorzellen unterdrücken². So können die regulatorischen T-Zellen im Tumorgewebe und Blut von Tumorpatienten bis auf einen Anteil von 20–30 % ansteigen (Befund 5), was dann in der Regel mit einer gesteigerten Unterdrückung der T-Zellabwehr gegen den Tumor einhergeht und somit prognostisch ungünstig ist² (Abbildung 3 B). Die Krebsimmuntherapie richtet sich auf eine Reaktivierung der körpereigenen Tumorimmunabwehr. Auf diesem Therapiekonzept beruht auch die Wirkung verschiedener therapeutischer Antikörper (z. B. Ipilimumab), welche regulatorische T-Zellen gezielt hemmen.

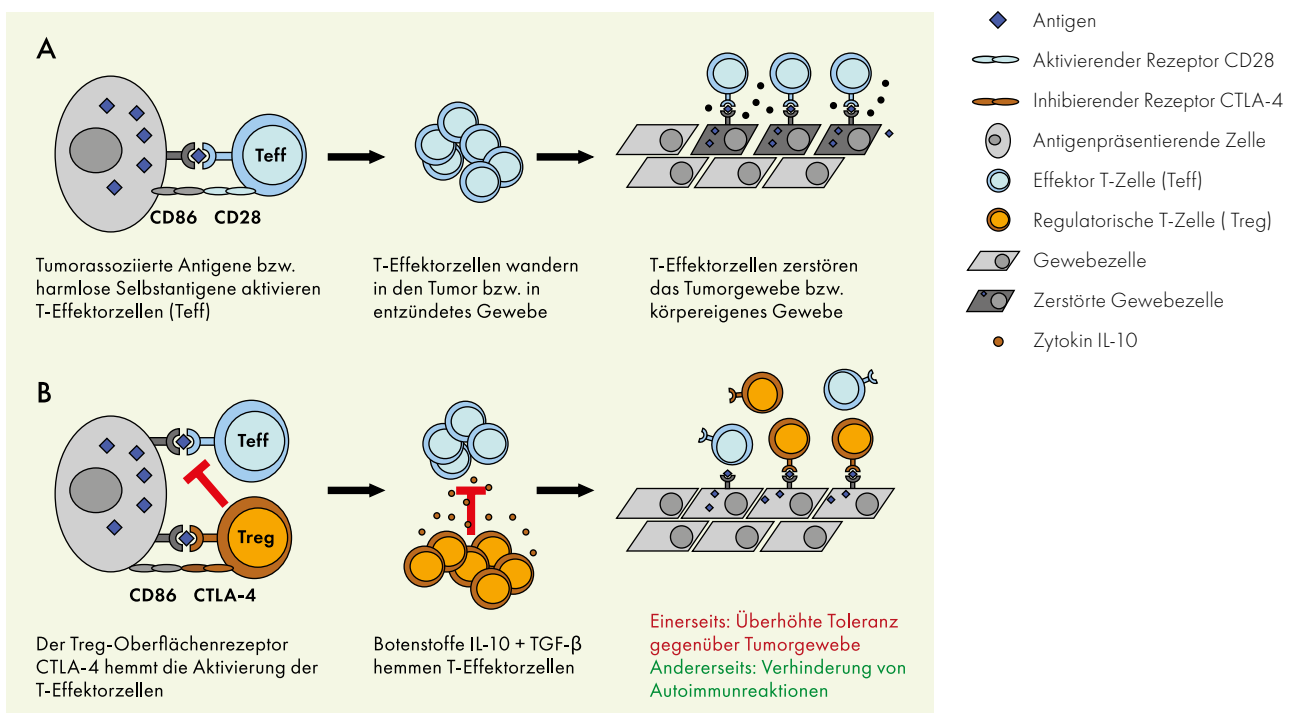


Abbildung 3: Doppeldeutige Rolle regulatorischer T-Zellen bei Autoimmunreaktionen und Krebs

Bei immunmodulierenden Maßnahmen bei Tumorpatienten stellen die regulatorischen T-Zellen einen wichtigen Verlaufsmarker dar, da deren Absinken unter der Therapie beziehungsweise zumindest die Verhinderung eines weiteren Anstiegs als prognostisch günstig anzusehen ist. Eine weitere Erhöhung von Treg unter immunstimulierender Therapie ist als ungünstig anzusehen.

Differenzierung der CD8-positiven Suppressor-/zytotoxischen T-Lymphozyten

CD8-positive T-Lymphozyten wurden früher allgemein als „Suppressorzellen“ bezeichnet. Dies ist falsch, da diese Zellen sowohl zytotoxische als auch regulative/suppressorische Funktionen haben können. Die CD8-T-Zellen lassen sich über den Marker CD28 weiter differenzieren.

CD8-T-Zellen, welche CD28-negativ sind, sind enddifferenzierte T-Zellen, die nicht mehr von antigenpräsentierenden Zellen durch kostimulatorische Moleküle aktiviert werden können. Diese Zellpopulation nimmt durch chronische antigen-spezifische Stimulierungsvorgänge zu, wie sie insbesondere bei Krebserkrankungen auftreten⁶.

Ein erhöhter Anteil deutet damit auf eine gewisse Immunseneszenz hin. Auch eine gesteigerte Potenz zur Suppression von antigenspezifischen Immunantworten kann sich darin widerspiegeln, da diese Population auch suppressorische Zellen enthält.

CD8-T-Zellen, welche CD28-positiv sind, spielen eine wichtige Rolle bei der antiviralen Abwehr und der Abwehr von maligne transformierten Zellen.

Dabei kann eine unklare Erhöhung dieser Zellpopulation bereits eine immunologische Auseinandersetzung mit virusinfizierten beziehungsweise aberranten Zellen widerspiegeln. Bei immunstimulierenden Therapien wird es das Ziel sein, den Anteil an zytotoxischen, also CD28-positiven Zellen zu erhöhen und den an CD28-negativen zu verringern, da dies für ein Abklingen chronischer Stimulierungsvorgänge spricht.

Beurteilung der Thymusreserve

Im Laufe des Lebens kommt es zu einem kontinuierlichen Rückgang der Größe des Thymus beziehungsweise zu einem Ersatz des funktionsfähigen Thymus durch Fettgewebe. Dennoch bleibt die Funktion bis ins hohe Alter erhalten. Der Thymus ist die „Schule“ der T-Lymphozyten. Die Beurteilung der Funktion des Thymus beziehungsweise der sogenannten Thymusreserve erfolgt über den Marker CD31, der von naiven T-Helferzellen exprimiert wird. CD31 wird dabei von solchen Zellen exprimiert, die erst kürzlich den Thymus verlassen haben und man spricht hier von „recent thymic emigrants“. Der Anteil dieser Zellen ist damit ein Maß für die verbliebene Thymusrestfunktion. Bei eingeschränkter Thymusfunktion kommt es zu einer verminderten Bildung omnipotenter naiver T-Lymphozyten.

Die Abschätzung der Thymusfunktion ist von besonderer Bedeutung im Vorfeld und nach einer Chemo- oder Strahlentherapie, zur Abklärung unklarer persistierender Lymphozytopenien und stellt einen Therapiemarker für die Indikation einer Behandlung mit Thymuspeptiden dar.

Killerzellaktivierung

Die NK-Zellen und die nicht-MHC-restringierten zytotoxischen NKT-Zellen werden in ihrer Gesamtheit als Killerzellen bezeichnet. Sie sind die erste Verteidigungslinie bei der Immunabwehr von maligne transformierten Zellen.

Bei Tumorerkrankungen kommt es häufig zur Ausbildung von Mechanismen, mit denen der Tumor dem Immunsystem entkommt. Diesen Vorgang bezeichnet man als **Immunescape** (Abbildung 4). Häufig kommt es in diesem Zusammenhang zur Freisetzung von Killerzell-hemmenden Stoffen aus dem Tumorgewebe, wie bspw. dem Killerzell-hemmenden Liganden **sMICA**. Erhöhte Serumkonzentrationen des NK-Zell-inhibierenden Liganden finden sich u. a. bei Patienten mit fortgeschrittenem kolorektalem Karzinom¹², Leberkrebs⁷, Multiplem Myelom⁸, chronisch lymphatischer Leukämie⁹ und Gebärmutterhalskrebs¹⁰.

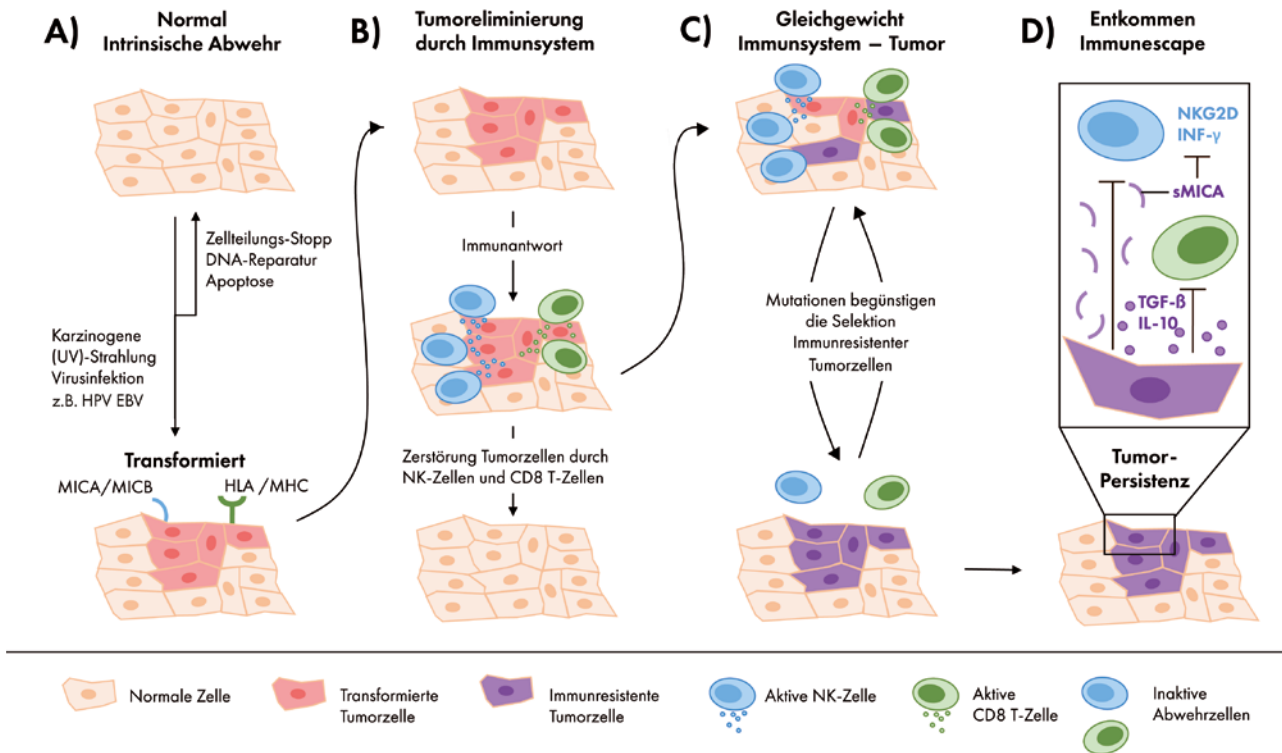


Abbildung 4: Tumorzellen und Immunsystem – Immunescape

- A)** Transformationsphase: Maligne Transformation von Zellen durch DNA-schädigende Einflüsse. Intrinsic Abwehrmechanismen wirken grundsätzlich der Transformation entgegen.
- B)** Immunüberwachungs- und Tumoreliminierungsphase: Krebszellen werden durch NK-Zellen und zytotoxische CD8-T-Zellen zerstört.
- C)** Gleichgewichtsphase: Tumorzellen entkommt der Kontrolle durch CD8-T-Zellen. Nach unvollständiger Zerstörung der Krebszellen stellt sich eine immunvermittelte Latenz ein.
- D)** Immunescape-Phase: Der Tumor entkommt der Immunüberwachung und bildet Immunsystem-hemmende Stoffe wie sMICA, TGF- β und IL-10.

Deshalb kann die funktionelle Aktivität dieses Killerzellensystems bei Tumorerkrankungen nicht allein anhand ihrer Zellzahl abgeschätzt werden wie die Befunde 5 und 6 zeigen.

Killerzellen exprimieren nach Aktivierung deutlich erhöhte Mengen der Oberflächenmarker CD69 und HLA-DR. Killerzellen, die **HLA-DR** exprimieren, werden folglich als **aktivierte Killerzellen** bezeichnet. Der Anteil der aktivierten Killerzellen lässt erste Rückschlüsse auf den funktionellen Zustand des Killerzellensystems zu.

So kann ein erhöhter Anteil auf eine akute Stimulierung der Killerzellen bspw. durch virusinfizierte Zellen oder maligne transformierte Zellen hinweisen. Umgekehrt schließt ein verminderter Anteil, bei einer Tumorerkrankung, eine funktionelle Einschränkung oder gar eine systemische Hemmung der Killerzellen nicht aus (Befund 6).

Im Falle eines verminderten Anteils aktivierter Killerzellen empfiehlt sich zusätzlich ein **NK-Zell-Funktionstest**, da dieser die tatsächliche zytotoxische Funktion der Killerzellen bestimmt und etwaige Hemmungen aufdecken kann. Ein NK-Zell-Funktionstest gibt allerdings nicht nur Aufschluss über funktionelle Defizite, sondern eignet sich auch zur **Verlaufskontrolle einer NK-Zell-stimulierenden adjuvanten Therapie mit Immunmodulatoren** (Befunde 6 und 7). (Weitere Informationen zum NK-Zellfunktionstest finden Sie in unserer Informationsbroschüre „Funktionsdiagnostik natürlicher Killerzellen bei Infektionen und Krebserkrankungen“ und auf unserer Homepage: http://www.labor-bayer.de/laborinformationen_publicationen.html)

Interpretation des Immunprofil Panel 3 (Onkoprofil) an Befundbeispielen

Befund 5: Tumorerkrankung

Klinische Angaben: Patient, 66 Jahre alt, metastasiertes Prostatakarzinom, Zustand nach Chemotherapie (Docetaxel), zusätzlich Prednisolon

	relativ	Referenzbereich	absolut	Referenzbereich
			[Zellen/ μ l]	
Weißes Blutbild				
Leukozyten			8,5	4.0–8.8 x 10 ³ / μ l
Lymphozyten	11,3	20–39 %	961	1032–2430/ μ l
Monozyten	10,0	4,7–10 %	850	240–665/ μ l
Granulozyten	78,8	52–72 %	6698	2480–5292/ μ l
Lymphozytensubpopulationen				
T-Lymphozyten (CD3+)	49,9	60–81 %	479	788–1758/ μ l
T-Helferzellen (CD3+, CD4+)	17,6	35–59,2 %	169	493–1219/ μ l
CD8-T-Zellen (CD3+, CD8+)	25,8	19–43 %	248	254–806/ μ l
CD4:CD8 Ratio	0,7	0,9–3,1		
Naive T-Helferzellen (CD4+, CD45RA+)	33,0	24,2–61,6 % v. CD4	56	140–644/ μ l
Memory-T-Helferzellen (CD4+, CD45RA-)	67,0	38,4–75,8 % v. CD4	113	281–677/ μ l
Verhältnis Memory:Naive	2,0	0,6–3,1		
Thymusreserve RTE (CD4+, CD45RA+, CD31+)	30,1	≥ 46 % v. naive	–	
Treg, regulat. T-Zellen (CD4+, CD25+, CD127lo)	20,1	5–9,7 % v. CD4	34	34–89/ μ l
Zytotox. CD8-T-Lymphozyten (CD28+)	18,6	49,6–92,5 % v. CD8	46	185–416/ μ l
Regulat./Suppr. CD8-T-Lymphozyten (CD28-)	81,4	7,5–50,4 % v. CD8	202	21–287/ μ l
nicht-MHC-restringierte NKT-Zellen	2,3	2–11 %	22	29–195/ μ l
Aktivierte T-Zellen früh (CD3+ CD69+)	1,8	0,9–6,3 %	9	12–94/ μ l
Aktivierte T-Zellen (CD3+, HLA-DR+)	4,2	4,2–16,1 %	40	65–290/ μ l
B-Lymphozyten (CD19)	7,7	6–17 %	74	93–331/ μ l
NK-Zellen	39,8	8–26 %	382	100–375/ μ l
Aktivierte Killerzellen (CD56+ HLA-DR+)	6,4	13–41,8 %	18	23–161/ μ l

Kommentierung: Das weiße Blutbild zeigt eine deutliche Granulo- und Monozytose, was ein Hinweis auf ein akutes Entzündungsgeschehen sein kann. Die Lymphozyten sind vermindert. Solche Veränderungen können sich auch durch die Glucocorticoid-Medikation ergeben.

Bei den T-Zellen sowie deren Subpopulationen zeigen sich alarmierende Defizite. Bei den vorliegenden Absolutzahlen muss von einer Immunsuffizienz ausgegangen werden, bei der es zu einer erhöhten Infektionsanfälligkeit und zu einer Reaktivierung von latenten Infektionen kommen kann. Die deutliche Verminderung der Thymusreserve spricht für ein schwaches Regenerationspotenzial der T-Helfer-Zellen. Der massiv erhöhte Anteil an regulatorischen T-Zellen schließt eine gesteigerte Suppression günstiger T-Zellreaktionen gegen maligne transformierte Zellen nicht aus.

Auffällig ist auch die Erhöhung der NK-Zellen, die insbesondere bei Virusinfektionen und Tumorerkrankungen proliferativ aktiv werden. Allerdings zeigt sich ein deutlich verminderter Anteil aktivierter Killerzellen, weshalb funktionelle Einschränkungen bzw. eine krankheitsbedingte Hemmung der Killerzellen nicht auszuschließen ist.

Befund 6: Immunmodulation / Rezidivprophylaxe

Klinische Angaben: Patient, 49 Jahre alt, familiär gehäuft Krebserkrankungen, in der Vergangenheit Basaliome, chronische Müdigkeit, Infektanfälligkeit

	relativ	Referenzbereich	absolut	Referenzbereich
			[Zellen/ μ l]	
Weißes Blutbild				
Leukozyten			4,5	4.0–8.8 x 10 ³ / μ l
Lymphozyten	25,9	20–39 %	1166	1032–2430/ μ l
Monozyten	6,4	4,7–10 %	288	240–665/ μ l
Granulozyten	67,7	52–72 %	3047	2480–5292/ μ l
Lymphozytensubpopulationen				
T-Lymphozyten (CD3+)	72,4	60–81 %	844	788–1758/ μ l
T-Helferzellen (CD3+, CD4+)	56,9	35–59,2 %	663	493–1219/ μ l
CD8-T-Zellen (CD3+, CD8+)	11,9	19–43 %	139	254–806/ μ l
CD4:CD8 Ratio	4,8	0,9–3,1		
Naive T-Helferzellen (CD4+, CD45RA+)	63,5	24,2–61,6 % v. CD4	401	140–644/ μ l
Memory-T-Helferzellen (CD4+, CD45RA-)	36,5	38,4–75,8 % v. CD4	262	281–677/ μ l
Verhältnis Memory:Naive	0,7	0,6–3,1		
Thymusreserve RTE (CD4+, CD45RA+, CD31+)	57,2	≥ 46 % v. naive		
Treg, regulat. T-Zellen (CD4+, CD25+, CD127lo)	7,2	5–9,7 % v. CD4	48	34–89/ μ l
Zytotox. CD8-T-Lymphozyten (CD28+)	92,0	49,6–92,5 % v. CD8	128	185–416/ μ l
Regulat./Suppr. CD8-T-Lymphozyten (CD28-)	8,1	7,5–50,4 % v. CD8	11	21–287/ μ l
nicht-MHC-restringierte NKT-Zellen	1,6	2–11 %	19	29–195/ μ l
Aktivierte T-Zellen früh (CD3+ CD69+)	1,3	0,9–6,3 %	11	12–94/ μ l
Aktivierte T-Zellen (CD3+, HLA-DR+)	7,1	4,2–16,1 %	83	65–290/ μ l
B-Lymphozyten (CD19)	13,5	6–17 %	157	93–331/ μ l
NK-Zellen	10,7	8–26 %	125	100–375/ μ l
Aktivierte Killerzellen (CD56+ HLA-DR+)	11,4	13–41,8 %	15	23–161/ μ l

Kommentierung: Das weiße Blutbild weist keine Auffälligkeiten auf. Bei den T-Zellen sind insbesondere die CD8-T-Zellen deutlich vermindert, was Einschränkungen bei der Abwehr von intrazellulären Erregern (Viren, intrazelluläre Bakterien) oder maligne transformierten Zellen nicht ausschließt.

Die NK-Zellen sind bezüglich ihrer Absolutzahl unauffällig. Allerdings zeigt sich ein verminderter Anteil an NKT-Zellen und ein verminderter Anteil aktivierter Killerzellen, weshalb funktionelle Einschränkungen bei der Abwehr von Virusinfektionen und maligne transformierten Zellen nicht völlig auszuschließen sind.

Aufgrund der verminderten aktivierten Killerzellen könnte man einen NK-Zell-Funktionstest erwägen, der einen weiteren Aufschluss auf funktionelle Defizite geben kann und sich u. a. zur Verlaufskontrolle einer NK-Zell-stimulierenden Behandlung mit Immunmodulatoren eignet.

Das auf oben aufgeführte Immunprofil des Patienten (Befund 6, August 2016) zeigte:

1. Eine verminderte Anzahl an zytotoxischen CD8-T-Zellen
2. Unauffällige Absolutzahlen an NK-Zellen
3. Einen verminderten Anteil an aktivierten Killerzellen

Daraufhin wurde Mitte August 2016 ein NK-Zell-Funktionstest durchgeführt (Befund 7a).

Befund 7a: NK-Zell-Funktionstest August 2016

Untersuchung	Ergebnis	Referenzbereich	Einh.	Diagramm
Killerzell-spezifische Lyse von Tumorzellen				
Killerz.spez-Lyse Basis	13.5	16.0-69.0	%	
Killerz.spez-Lyse + IL-2	45	62-100	%	
Killerzellen Aktivierungsmarker (CD69-Expression)				
Killerz. (CD69) Basis	23.5	17.0-46.8	%	
Killerz. (CD69) Tumorinduziert	51.4	37.6-66.1	%	
Killerz. (CD69) + IL-2	81.7	80.3-98.7	%	
Stimulationsindex Killerzellaktivität				
<u>Killerz Aktivität Basis</u>	1.0			
Killerz Aktivität + Arabinogalactan	2.9			
Killerz Aktivität + BioBran	0.4			
Killerz Aktivität + Reishi	2.3			
Killerz Aktivität + Resveratrol	0.6			
Killerz Aktivität + Selen (Na2SeO3)	1.2			
Killerz Aktivität + Zink (ZnCl2)	1.9			
Killerz Aktivität + IL-2	3.4			

Befund 7b: NK-Zell-Funktionstest Januar 2017

Untersuchung	Ergebnis	Referenzbereich	Einh.	Diagramm
Killerzell-spezifische Lyse von Tumorzellen				
Killerz.spez-Lyse Basis	60.3	16.0-69.0	%	
Killerz.spez-Lyse + IL-2	86	62-100	%	
Killerzellen Aktivierungsmarker (CD69-Expression)				
Killerz. (CD69) Basis	51.4 +	17.0-46.8	%	
Killerz. (CD69) Tumorinduziert	63.2	37.6-66.1	%	
Killerz. (CD69) + IL-2	86.6	80.3-98.7	%	

Der Befund vom August 2016 zeigt eine Verminderung der Killerzell-spezifischen Lyse von Tumorzellen, was auf ein Funktionsdefizit bzw. auf eine Hemmung der Killerzellen hinweisen kann. Die Killerzell-spezifische Lyse konnte ex vivo durch Arabinogalactan aus Lärche, Reishi-Pilz-Extrakt (*ganoderma lucidum*), Selen, Zink und Interleukin-2 (IL-2) aktiviert werden. Die Aktivierung durch Arabinogalactan ist dabei nahezu gleich stark wie durch IL-2, einem starken Aktivator von Killerzellen.

Daraufhin nahm der Patient über mehrere Monate Nahrungsergänzungsmittel Arabinogalactan aus Lärche, und Reishi-Pilz-Extrakt zu sich. Zusätzlich bekam er Vitamin C und Glutathion-Infusionen. Sonst erfolgte keine Therapie.

Der Befund der Verlaufskontrolle vom Januar 2017 zeigt eine deutliche Zunahme der vormals verminderten Killerzell-spezifischen Lyse. Diese liegt nun im oberen Referenzbereich. Die deutliche Zunahme der CD69-Expression, weist ebenfalls auf eine Stimulierung hin.

Der Patient fühlt sich allgemein besser. Er beschreibt eine subjektive Verbesserung seines klinischen Bildes: Weniger Müdigkeit, geringere Infektanfälligkeit.

Fazit:

Die hier dargestellten Immunprofile erleichtern eine gezielte, krankheitsbezogene Immundiagnostik. Sie dienen der Erkennung von Immundefizienzen, sind unerlässlich für die weitere diagnostische Abklärung bei einer Vielzahl von Grunderkrankungen (Infektanfälligkeit, chronischentzündliche Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, Tumor erkrankungen), geben wichtige Hinweise zur Prognose, z. B. bei Autoimmun und Tumorerkrankungen, sind für eine individuell optimierte Immuntherapie unabdingbar und für die Beurteilung einer jeglichen immunmodulatorischen Therapie erforderlich.

In Abhängigkeit vom Ergebnis der immundiagnostischen Untersuchungen ergeben sich unterschiedliche Ansätze für die Immuntherapie.

Immunbiologisches Merkmal	Immunmodulatorischer Ansatz
T-Zellen ↓	Thymus, Zink
B-Zellen ↓	Bronchovaxom, Ribomunyl
Helferzellen ↓	Thymus, NAC, Thuja-Extrakt ^{11,12}
CD-8-(TS)-Zellen ↓	Zink, Copaxone (bei MS)
T-Zell-Aktivierung ↓	Echinacea, Eleukokk, Vitamin A
NK-Zellen ↓	Selen, Mistel, Biobran, DHEA ¹³
Killer-Zell-Aktivierung ↓	Arabinogalactan (Lärche), Mistel, Biobran, Reishi-Pilz (<i>ganoderma lucidum</i>), Resveratrol

Literatur

- Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute – Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008; 111(12):5446–5456.
- Marti, G., Abbasi, F., Raveche, E., et al. Overview of monoclonal B-cell lymphocytosis. *British Journal of Haematology*. 2007; 139: 701–708.
- Okuda Y., Okuda M., Apatoff B.R., et al. The activation of memory CD4+ T cells and CD8+ T cells in patients with multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2005; 235 (1–2): 11–17.
- Gorman S., Kuritzky L.A., Judge M.A., et al. Topically applied 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhances the suppressive activity of CD4+CD25+ cells in the draining lymph nodes. *J Immunol* 2007; 179:6273–83.
- Tanghetti E.A., et al. The role of topical vitamin D modulators in psoriasis therapy. *J Drugs Dermatol*. 2009; 8(8 Suppl):4–8.
- Strioga M., Pasukoniene V., Characiejus D. CD8+ CD28- and CD8+ CD57+ T cells and their role in health and disease. *Immunology*. 2011; 134:17–32.
- Jinushi M., Takehara T., Tatsumi T., et al. Impairment of natural killer cell and dendritic cell functions by the soluble form of MHC class I-related chain A in advanced human hepatocellular carcinomas. *J Hepatol*. 2005; 43 (6):1013–20.
- Rebmann V., Schütt P., Brandhorst D. Soluble MICA as an independent prognostic factor for the overall survival and progression-free survival of multiple myeloma patients. *Clin Immunol*. 2007; 123 (1):114–20.
- Nückel H., Switala M., Sellmann L. The prognostic significance of soluble NKG2D ligands in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2010; 24(6):1152–9.
- Arreygue-Garcia N.A., Daneri-Navarro A., del Toro-Arreola A., et al. Augmented serum level of major histocompatibility complex class I-related chain A (MICA) protein and reduced NKG2D expression on NK and T cells in patients with cervical cancer and precursor lesions. *BMC Cancer*. 2008; 8:16.
- Gohla S.H., Haubeck H.D., Schrum S., et al. Activation of CD4-positive T cells by polysaccharide fractions isolated from the Cupressaceae *Thuja occidentalis* L. (*Arborvitae*). *J Allergy Clin Immunol*. 1986; 77:268–72.
- Gohla S.H., Haubeck H.D., Neth R.D. Mitogenic activity of high molecular polysaccharide fractions isolated from Cupressaceae *Thuja occidentalis* L.: I. Macrophage-dependent induction of CD-4-positive T-helper (Th+) lymphocytes. *Leukemia*. 1988; 2:528–33.
- Khorram O., Vu L., Yen S.S. Activation of immune function by dehydroepiandrosterone (DHEA) in age-advanced men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997; 52(1):M1–7.

Interpretation der Veränderung von Lymphozytensubpopulationen

Anstieg	Abfall
T-Zellen (CD3+)	
<ul style="list-style-type: none"> • Aktivierung des adaptiven Immunsystems bei Infektionen • aktive Phase einer Autoimmunerkrankung • bei T-Zelllymphomen (sehr selten) 	<ul style="list-style-type: none"> • zelluläre Immundefizienz • immunsuppressive Behandlung • zytostatische Behandlung oder Bestrahlung • als Nebenwirkung best. Medikamente • HIV-Infektion • bei Tumorerkrankungen
Aktivierte T-Zellen (CD3+, HLA-DR+)	
<ul style="list-style-type: none"> • bei akuter und chronischer Stimulierung des T-Zell-Systems z.B. durch virale-, mikrobielle-, Tumor- und Autoantigene 	<ul style="list-style-type: none"> • Nach Abklingen einer adaptiven Immunreaktion z.B. nach überstandener Virusinfektion.
CD4 T-Zellen bzw. T-Helferzellen (CD3+, CD4+)	
<ul style="list-style-type: none"> • Frühphasen von Infektionen • häufig, aber nicht obligat, bei Autoimmunerkrankungen in Verbindung mit einer erhöhten CD4/CD8-Ratio (z.B. rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn, Sarkoidose, MS) 	<ul style="list-style-type: none"> • HIV-Infektion • zytostatische Behandlung oder Bestrahlung • immunsuppressive Behandlung • idiopathische CD4 Lymphocytopenie, ICL (sehr selten)
CD8 T-Zellen (CD3+, CD8+)	
<ul style="list-style-type: none"> • Virusinfektion • Infektion mit intrazellulären Bakterien • Frühphase einer HIV-Infektion 	<ul style="list-style-type: none"> • häufig bei Autoimmunerkrankungen (z.B. rheumatoide Arthritis, MS) • bei Tumorerkrankungen • zytostatische Behandlung oder Bestrahlung • immunsuppressive Behandlung • Spätphase einer HIV-Infektion
CD4/CD8-Ratio	
<ul style="list-style-type: none"> • in Frühphasen einer adaptiven Immunreaktion z.B. bei Infektion • häufig bei Autoimmunerkrankungen wie Morbus Crohn, Rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Kollagenose, Sarkoidose u.v.m. 	<ul style="list-style-type: none"> • bei akuten und chronischen Virusinfektionen • bei persistierenden Infektionen mit intrazellulären Bakterien • bei HIV-Infektionen
Nicht-MHC-restringierte zytotoxische T-Zellen (CD3+, CD16+, CD56+)	
<ul style="list-style-type: none"> • bei Virus- und intrazellulären Bakterieninfektionen • bei Tumorerkrankungen 	<ul style="list-style-type: none"> • häufig bei Patienten mit einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Virusinfektionen • bei best. angeborenen Immundefizienzen (z.B. X-chromosomales lymphoproliferatives Syndrom)
B-Zellen (CD19+)	
<ul style="list-style-type: none"> • häufig bei akuter EBV-Infektion • häufig, aber nicht obligat, bei Morbus Basedow • bei monoklonaler B-Lymphozytose (MBL) • polyklonale B-Lymphozytose • Non-Hodgkin-Lymphom 	<ul style="list-style-type: none"> • nach zytostatischer Behandlung oder Strahlentherapie • Behandlung mit Rituximab z.B. im Zuge einer rheumatoiden Arthritis • zelluläre Immundefizienz

Anstieg	Abfall
NK-Zellen (CD3-, CD16+, CD56+)	
<ul style="list-style-type: none"> im Zuge von Virusinfektionen bei Tumorerkrankungen bei Leukämien 	<ul style="list-style-type: none"> primäre und sekundäre Immundefizienzen nach zytostatischer Behandlung, Bestrahlung oder Immunsuppression Vitamin A-Mangel (in Mitteleuropa selten) als Nebenwirkung best. Medikamente
Aktivierte Killerzellen	
<ul style="list-style-type: none"> im Zuge von Infektionen bei Tumorerkrankungen bei Hypersensitivitätsreaktionen Typ 2 	<ul style="list-style-type: none"> häufig, aber nicht obligat, im Verlauf von Tumorerkrankungen (Immunescape) bei chronisch persistierenden Virusinfektionen (insbesondere Herpesviren)
B-Zell-Subpopulationen	
Polyreaktive B-1-Zellen (CD19+, CD5+)	
<ul style="list-style-type: none"> häufig, aber nicht zwingend, bei Autoimmunerkrankungen häufig bei chronisch-lymphatischen Leukämien 	<ul style="list-style-type: none"> nach zytostatischer Behandlung, Bestrahlung oder Immunsuppression erhöhte Anfälligkeit gegenüber best. bakteriellen Infektionen insbesondere im Respirationstrakt konstitutionell
Memory-B-Zellen (CD19+, CD27+)	
	<ul style="list-style-type: none"> zelluläre Immundefizienzen bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen häufig bei chronisch variablem Immundefektsyndrom (CVID).
T-Helferzell-Subpopulationen	
Regulatorische T-Zellen bzw. Treg (CD3+, CD4+, CD25+, 127lo)	
<ul style="list-style-type: none"> bei Autoimmunerkrankungen (hier günstig) bei Tumorerkrankungen (hier ungünstig) 	<ul style="list-style-type: none"> bei Autoimmunerkrankungen (ungünstig)
Naive T-Helferzellen und Memory-T-Helferzellen (CD3+, CD4+, CD45RA+/-)	
<ul style="list-style-type: none"> Beide Zelltypen sollten in ausgewogener Relation vorliegen. Ein Anstieg des Verhältnisses von Memory/naive T-Helferzellen ist ein sensitives Zeichen für eine persistierende Immunaktivierung, z.B. im Zuge von Autoimmun- und Tumorerkrankungen. Defizite an Memory-T-Helferzellen führen dazu, dass Infektionen länger andauern als gewöhnlich. Defizite an naiven T-Helferzellen können die adaptive Immunkompetenz gegenüber Erstinfektionen einschränken. 	
Thymusreserve „recent thymic emigrants“ (CD3+, CD4+, CD45RA+, CD31+)	
<p>T-Helferzellen, die erst kürzlich den Thymus verlassen haben, bezeichnet man als „recent thymic emigrants“. Der Anteil dieser Zellen ist damit ein Maß für die verbliebene Thymusrestfunktion. Bei eingeschränkter Thymusfunktion kommt es zu einer verminderten Bildung omnipotenter naiver T-Lymphozyten. Die Abschätzung der Thymusfunktion ist von besonderer Bedeutung im Vorfeld und nach einer Chemo- oder Strahlentherapie sowie zur Abklärung unklarer persistierender Lymphozytopenien.</p>	
CD8-T-Zell-Subpopulationen	
CD8-positive Suppressor-/zytotoxische T-Lymphozyten (CD3+, CD8+, CD28+/-)	
<p>Ein erhöhter Anteil an enddifferenzierten CD28-negativen Zellen ergibt sich im Zusammenhang mit chronischen Stimulierungsvorgängen der T-Zellen. Z.B. im Zusammenhang mit einer Tumorerkrankung, einer Autoimmunerkrankung oder einer chronisch-persistierenden Virusinfektion (z.B. HIV). Darin kann sich eine gewisse Immunseneszenz widerspiegeln. Im Zuge einer Therapie bzw. der Rekonvaleszenz sollte sich der Anteil an CD28-positiven Zellen erhöhen und der Anteil an CD28-negativen verringern, da dies für ein Abklingen chronischer Stimulierungsvorgänge spricht.</p>	



Autor und Ansprechpartner

Dr. Nicolas Lützner

Telefon +49-711-16418-0

nicolas.luetzner@synlab.com

IMPRESSUM

Herausgeber

Labor Dr. Bayer

Kompetenzzentrum für komplementär-
medizinische Diagnostik der SYNLAB
MVZ Leinfelden-Echterdingen GmbH

Nikolaus-Otto-Straße 6
D-70771 Leinfelden-Echterdingen

Telefon +49-711-16418-0
Telefax +49-711-16418-18

info@labor-bayer.de
www.labor-bayer.de

© 2017 SYNLAB Holding Deutschland GmbH

Gestaltung und Satz

Himbeerrot GmbH, www.himbeerrot-design.de

Labor Dr. Bayer – Ihr Speziallabor für Diagnostik in der Naturheilkunde und Präventivmedizin

Weiterführende Fachinformationen & Publikationen:

- Allergiediagnostik
- Aminosäuren
- Fettsäuren
- Hormone/Neurotransmitter
- Immundiagnostik
- Infektionsdiagnostik
- Kardiovaskuläre Risikofaktoren
- Mineralstoffe und Spurenelemente
- Nahrungsmittelenverträglichkeiten
- Nutrigenomik
- Oxidativer/nitrosativer Stress
- Säure-Basen-Haushalt
- Schwermetalle
- Speicheldiagnostik
- Stuhldiagnostik
- Vitamine

**Rufen Sie uns an oder schreiben Sie uns,
wir beraten Sie gern.**

**Telefon +49 711 164 18-0
info@labor-bayer.de**

LABOR DR. BAYER
Kompetenzzentrum für komplementärmedizinische Diagnostik
der SYNLAB MVZ Leinfelden-Echterdingen GmbH
Nikolaus-Otto-Straße 6
D-70771 Leinfelden-Echterdingen