

Tumorimmunologie
—
**Labormarker zur
Statusbestimmung und zum
Monitoring immunmodulierender
Therapiemaßnahmen**

Dr. Volker von Baehr

Institut für Medizinische Diagnostik Berlin - Potsdam MVZ GbR, Berlin



***„Knock out – Argumente“
gegen die Immundiagnostik und
immunmodulierende Therapiemassnahmen***

***„Tumore können sich auch bei gutem
Immunstatus entwickeln und progressiv wachsen“***

***„Es gibt keine Placebo-kontrollierten Studien,
dass eine Verbesserung von
Immunfunktionsparametern die Überlebensdauer
bei Tumorpatienten tatsächlich verlängert,“***



Hat das Immunsystem eine Bedeutung bei der Tumorüberwachung ?

Pro:

- postmortal mehr Tumoren als klinisch auffällig
- spontane Regression kommt vor
- höhere Tumorfrequenz bei alten Menschen und Kindern (Immunsystem arbeitet suboptimal)
- einige Tumore kommen bei AIDS Patienten gehäuft vor (Kaposi-Sarkom, Cervix-Ca, Lymphome)
- erhöhte Tumorzahligkeit nach langdauernder Immunsuppression
- viele Tumoren enthalten Infiltrate von Lymphozyten
- deutliche Lymphozyteninfiltrate erhöhen Überlebensdauer

Contra:

- bei bekannten Immundefizienzen treten nicht alle Tumore vermehrt auf.
- Trotz sehr gutem Immunstatus können sich Tumore entwickeln oder progressiv wachsen.

Entwickeln immunsupprimierte Patienten mehr Tumore?

Statistisch gesehen haben transplantierte immunsupprimierte Patienten eine um den Faktor drei höhere Wahrscheinlichkeit, an Krebs zu erkranken

C. M. Vajdic et al. Int J Cancer. 2009 Oct 15;125(8):1747-54

Nach zehn Jahren Immunsuppression beträgt die Wahrscheinlichkeit an Krebs zu erkranken 20 %.

Kapoor et al.: Drugs 68, 2008, S. 11–19

Dies gilt vor allem für viral bedingte Krebserkrankungen, wie:

Kaposi-Sarkom (HHV-8)

Morbus Hodgkin und Non-Hodgkin Lymphom (EBV)

Leberkrebs (HCV und HBV)

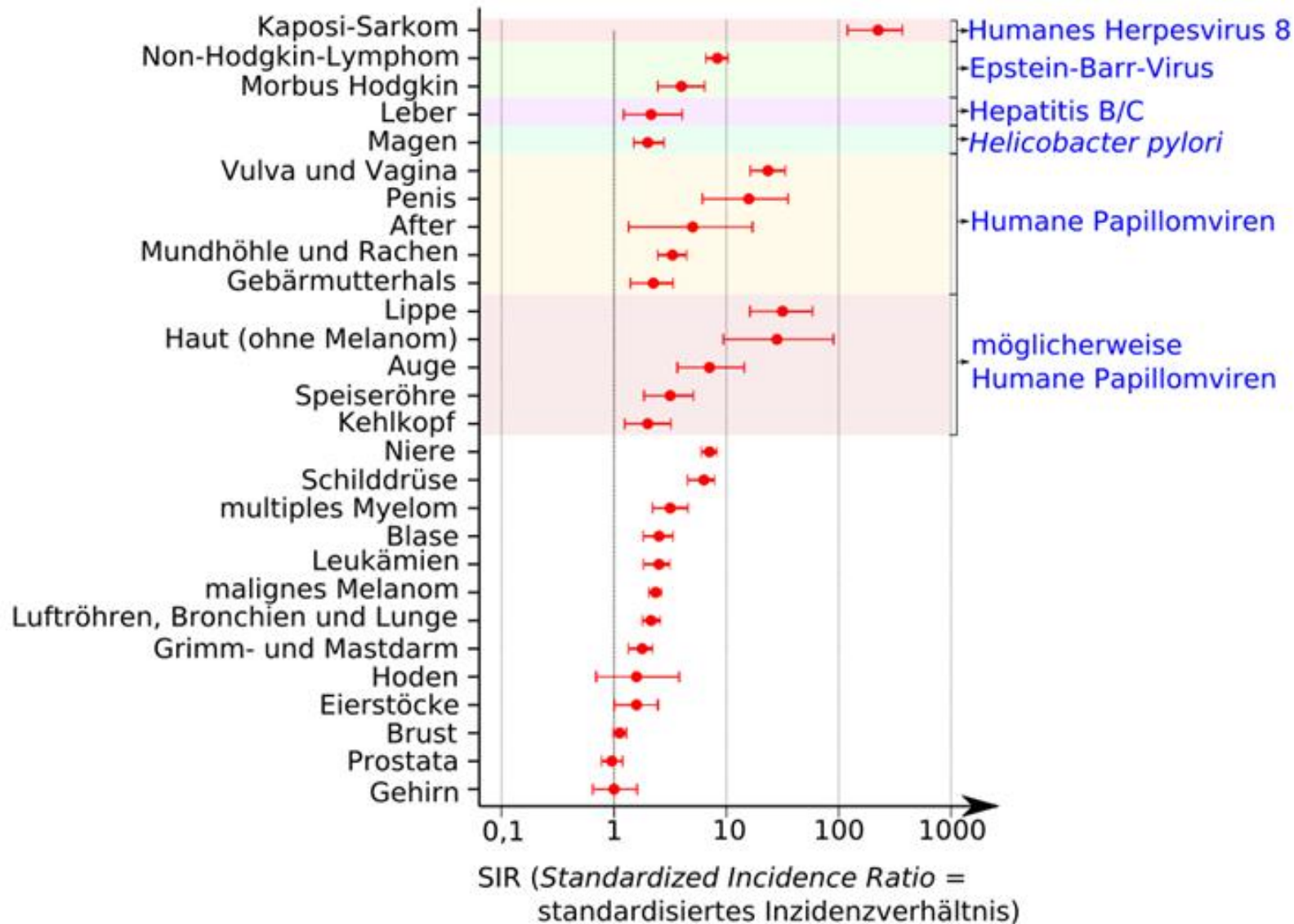
Zervix-, Vulva und Vaginalkarzinom (Humane Papillomviren)

aber auch für solide Tumoren wie kolorektales Karzinom, Nierenkrebs, Blasenkrebs, Schilddrüsenkrebs, multiples Myelom, Leukämie und das maligne Melanom.

A. Gutierrez-Dalmau et al. *Drugs* 67, 2007, S. 1167–1198.

Teilweise wurde nach dem Absetzen der Immunsuppression eine Rückbildung der Malignome z.B. malignes Lymphom beobachtet.

T. E. Starzl et al. *The Lancet* 8377, 1984, S. 583-587



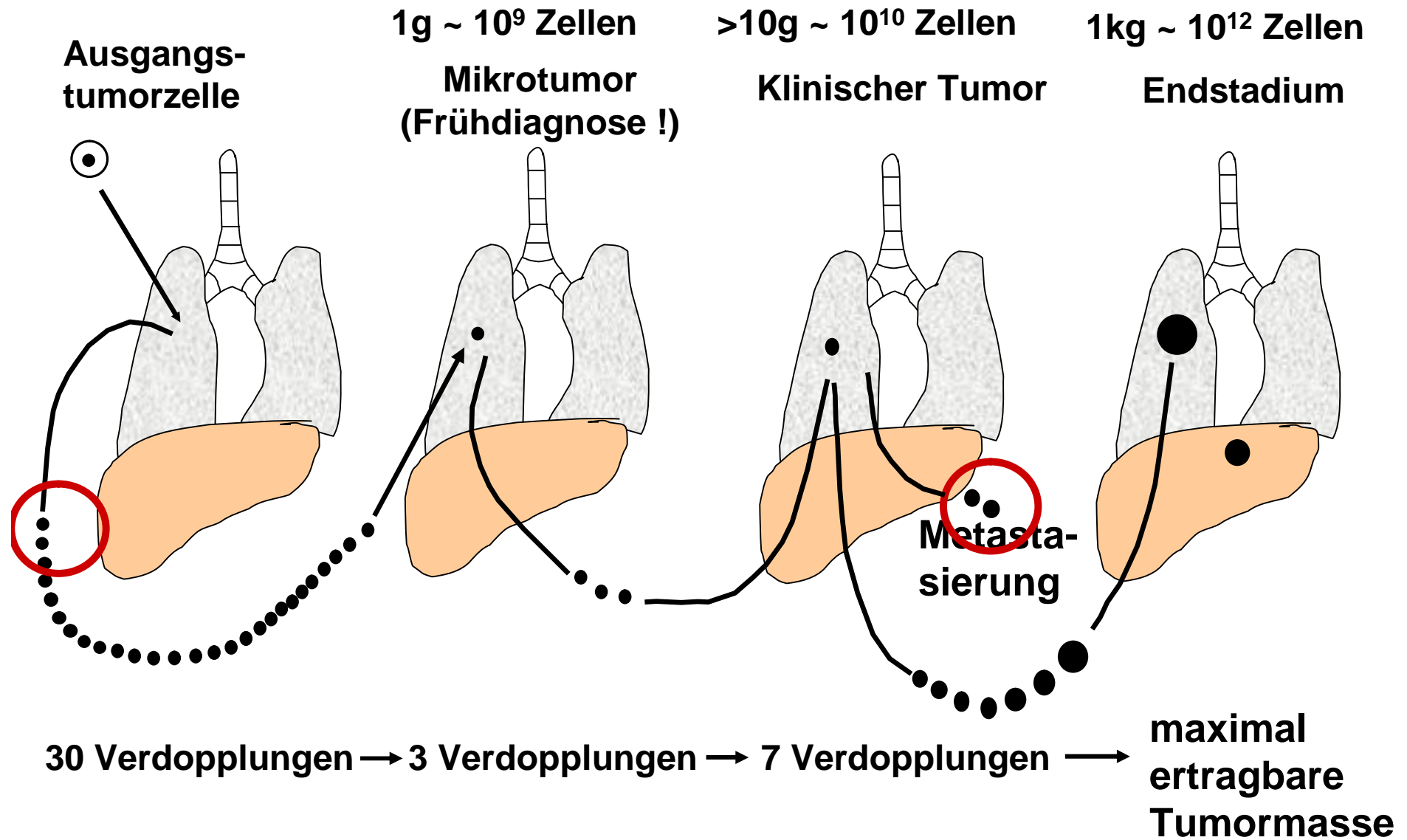
Vajdic CM, van Leeuwen MT Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. Int J Cancer. 2009 15;125:1747-54.

Krebsinzidenz bei Langzeitimmunsuppression (Patienten nach allogener Nierentransplantation)

	Prävalenz		Odds-Ratio
	unter Immunsuppr.	Normalbevölkerung	
Haut (ohne Melanom)	127	5,1	24,7
Endokrine Drüsen	30	2,1	14,3
Mundhöhle, Pharynx	22	1,6	13,8
Cervix, Vulva, Vagina	39	3,6	10,8
NH-Lymphome	25	2,4	10,3
Niere/ Ureter	32	3,5	9,1
Harnblase	26	4,7	5,5
Kolon/ Rektum	38	10,5	3,6
Lunge	30	12,5	2,4
Gehirn	10	4,1	2,4
Prostata	11	5,2	2,1
Melanom	7	4,1	1,7
Mamma	15	13,6	1,1

nach Birkeland, S.A. et al. Int. J. Cancer 60, 183-189 (1995)

Die Bedeutung der Immunabwehr ist in der frühen Phase und im Moment der Metastasierung am größten



Das Immunsystem fährt einen Balanceakt !

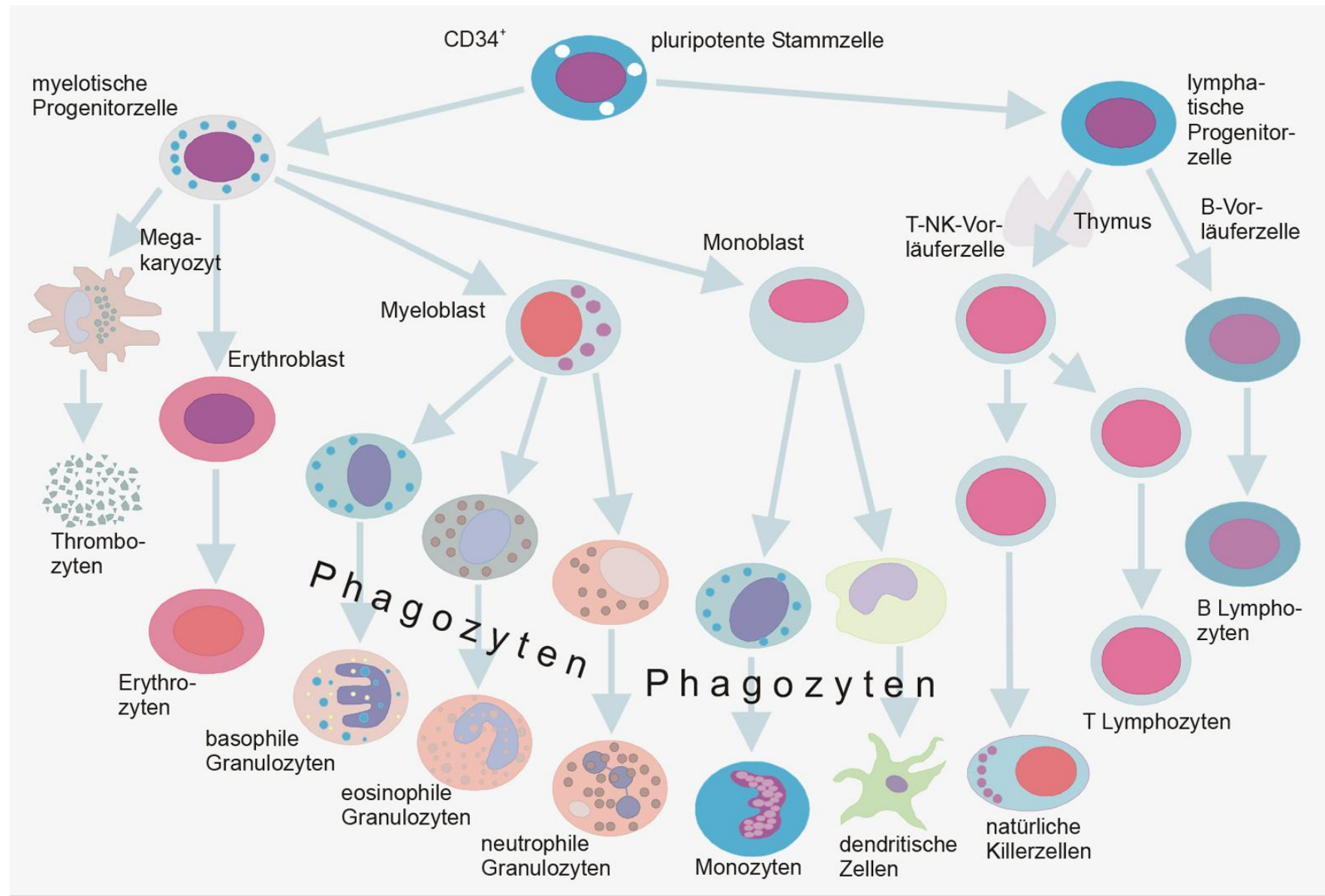
Das Immunsystem muss:



(krebsartig) entartete,
infizierte und gealterte
körpereigene Zellen
effektiv **erkennen und**
eliminieren

intakte körpereigene Zellen
erkennen aber tolerieren

Zum Teil sogar dann, wenn
Sie infiziert (z.B. mit Herpes-
viren) oder strukturell und
funktionell modifiziert sind (z.B.
durch toxische Metalle)



Thrombopoese Erythropoese	Myelopoese	Lymphopoese
--	-------------------	--------------------

Für die Beurteilung der Immunkompetenz sind nur die Absolutzahlen (d.h. / μ l) der Immunzellen entscheidend

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Leukozyten	10.2	1000/ μ l	4.4 - 11.3
Differentialblutbild (automat.)			
Neutrophile Granulozyten	74.0	%	40.0 - 75.0
Lymphozyten	17.6	%	20.0 - 45.0
Monozyten	6.6	%	2.0 - 13.0
Eosinophile Granulozyten	1.2	%	0 - 4.0
Basophile Granulozyten	0.6	%	0 - 1.0
Differentialblutbild (absolut)			
Neutrophile Granulozyten	7.55	1000/ μ l	1.80 - 7.70
Lymphozyten	1.80	1000/ μ l	1.00 - 4.80
Monozyten	0.67	1000/ μ l	0.00 - 0.80
Eosinophile Granulozyten	0.12	1000/ μ l	0.00 - 0.45
Basophile Granulozyten	0.06	1000/ μ l	0.00 - 0.11

Mastzellen zirkulieren wie Makrophagen nicht im Blut

Natürliche Killerzellen sind zusammen mit den T- und B-Lymphozyten in den Lymphozyten enthalten



Unspezifisches Immunsystem
(angeboren)

Spezifisches Immunsystem
(erworben, lernfähig)

Zelluläres Immunsystem

Monozyten → Gewebemakrophagen

- Granulozyten
- Neutrophile (PMN)
 - Eosinophile
 - Basophile

Mastzellen

Natürliche Killerzellen

T-Lymphozyten

CD4-Lymphozyten
(Helferzellen)

- TH1-Helferzellen
- TH2-Helferzellen
- CD25+/CD127- T_{reg}-Zellen
- TH17-Helferzellen

CD8-Lymphozyten

- CD8+CD28+ zytotoxische T-Zellen (CTL)
- CD8+CD28- suppressorische T-Zellen

Humorales Immunsystem

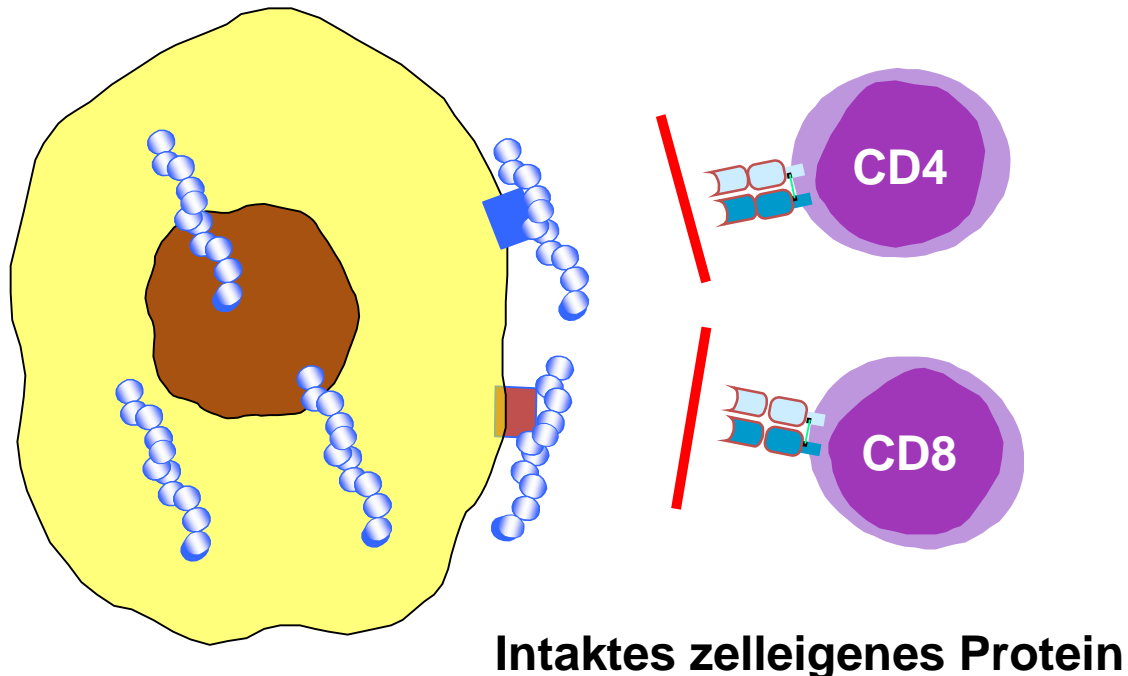
- Defensine
- Opsonine
- Komplementsystem

B-Lymphozyten

Antikörper

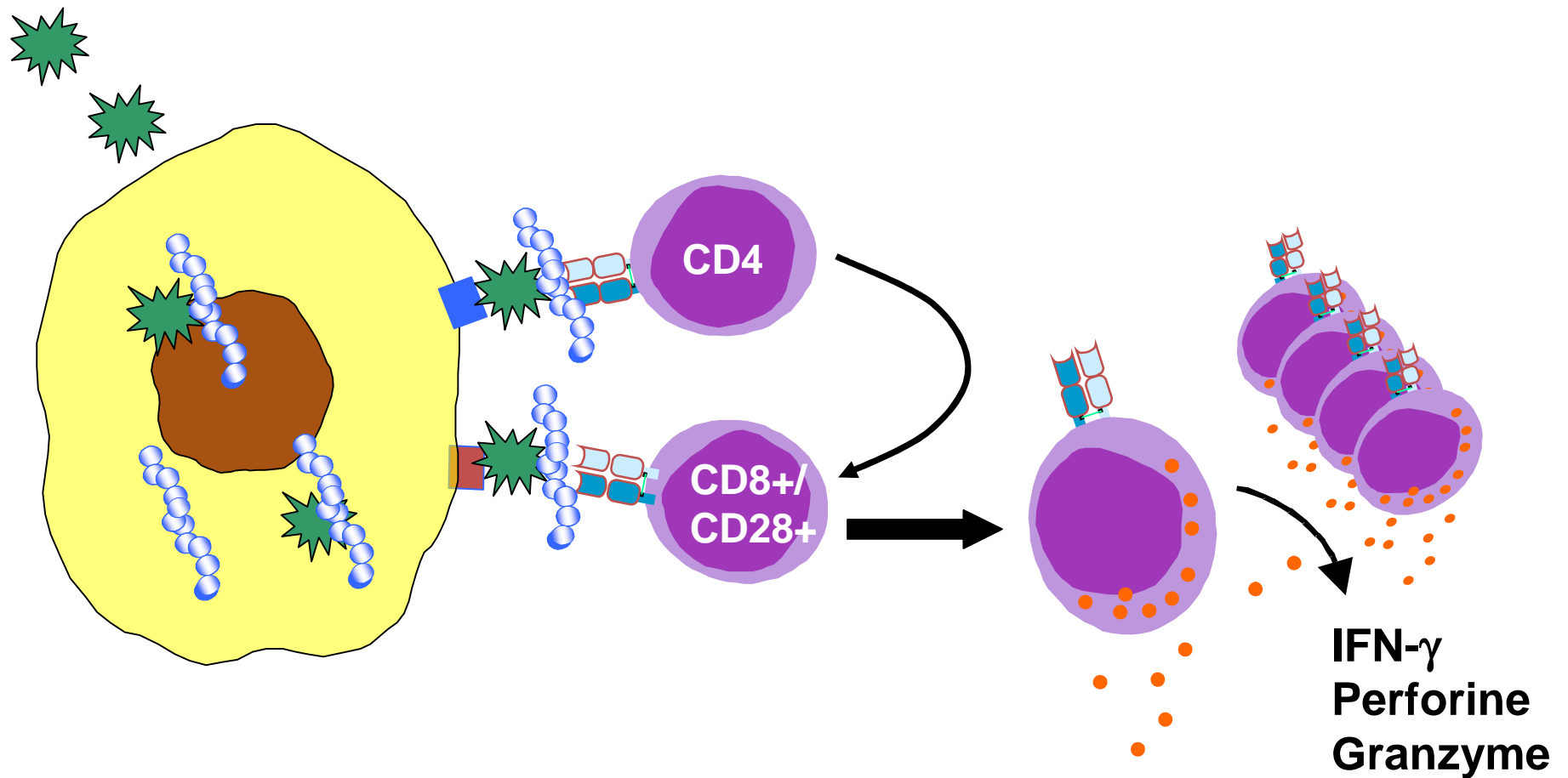
Jede Körperzelle wird permanent vom Immunsystem kontrolliert.

Zellen die „bekannte“ körpereigene Antigene präsentieren, werden nicht angegriffen, weil die entsprechenden T-Lymphozyten in der Reifungsphase negativ selektioniert wurden

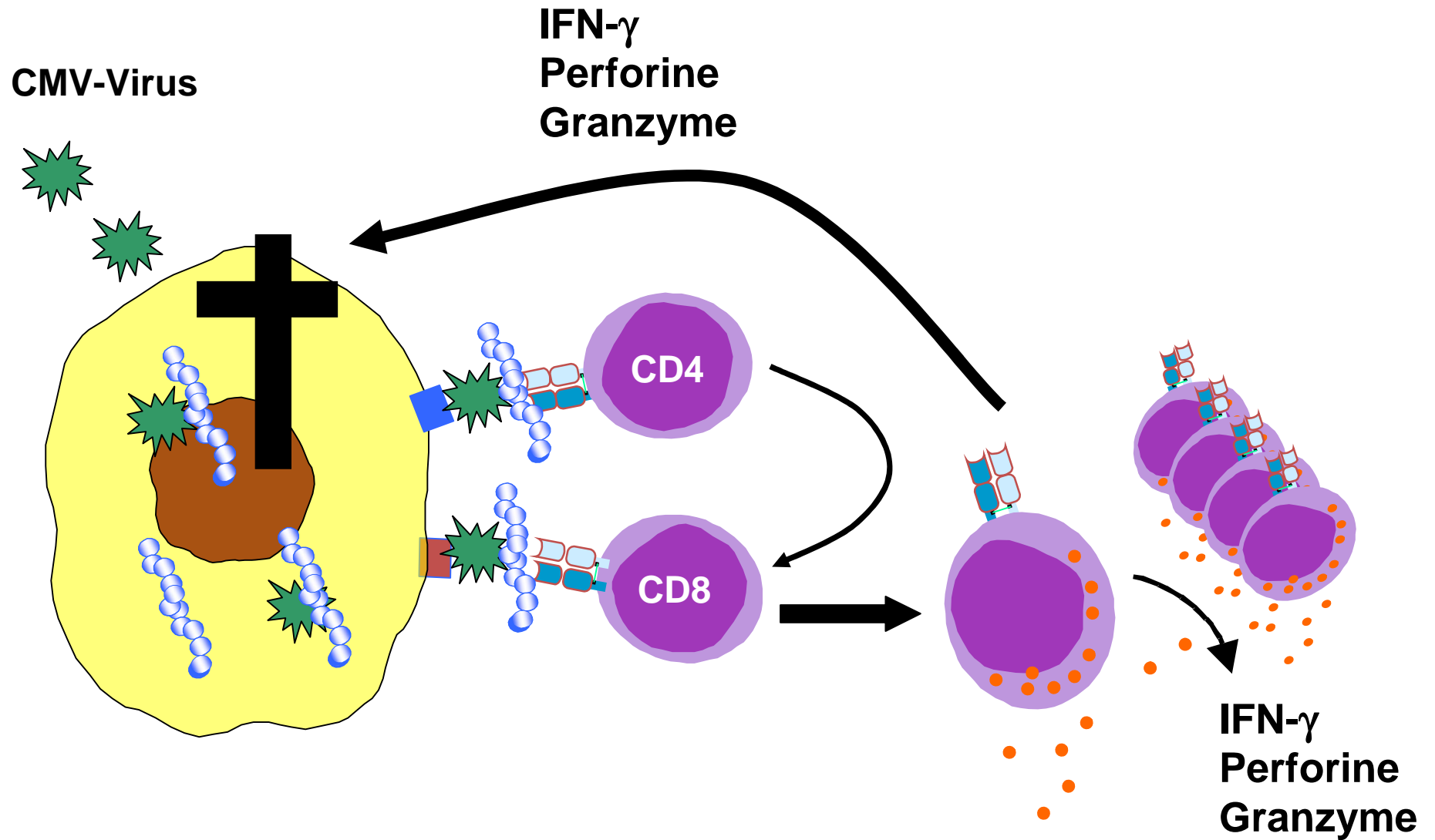


Infizierte Zellen werden vom Immunsystem in der Akutphase erkannt

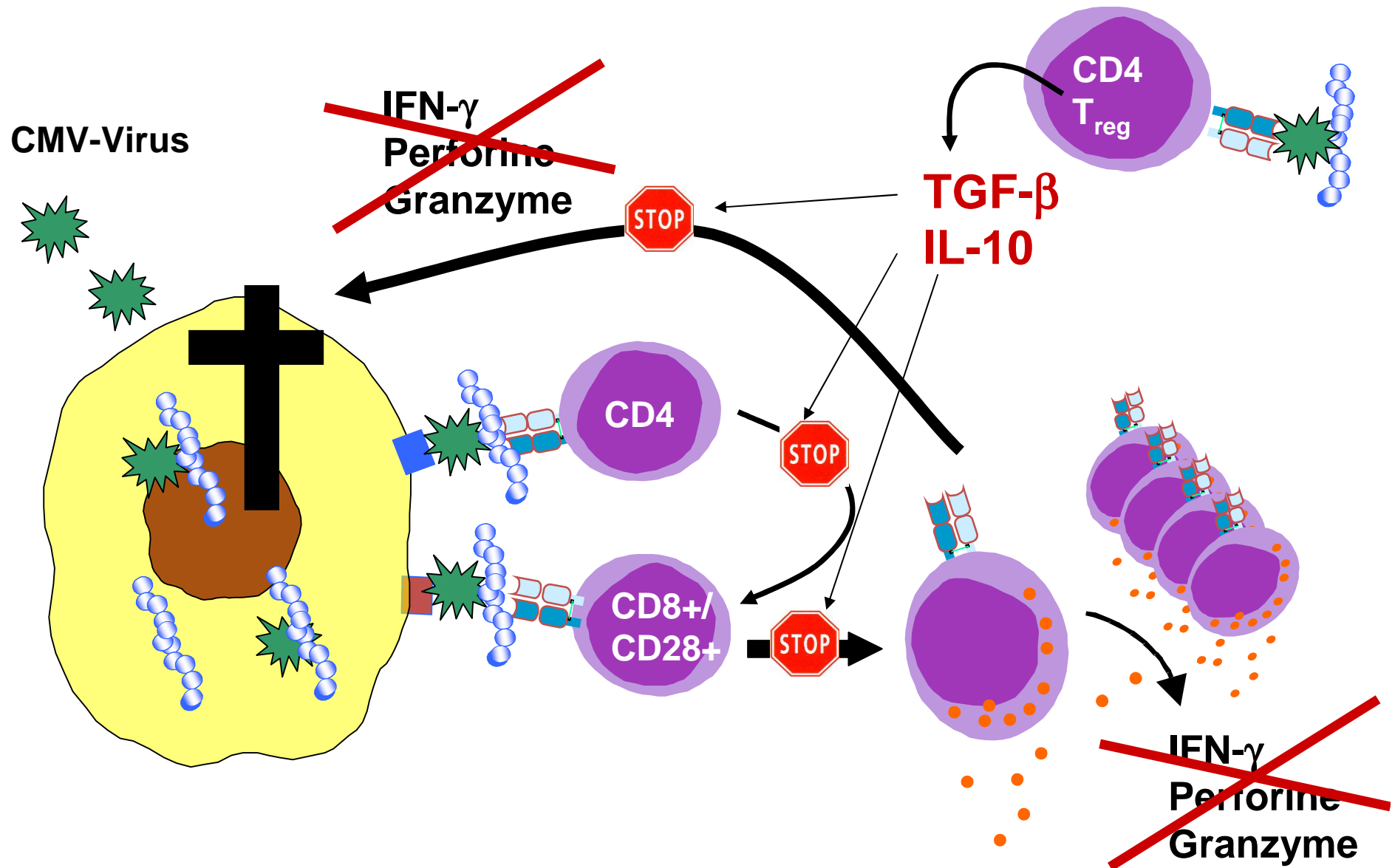
CMV-Virus



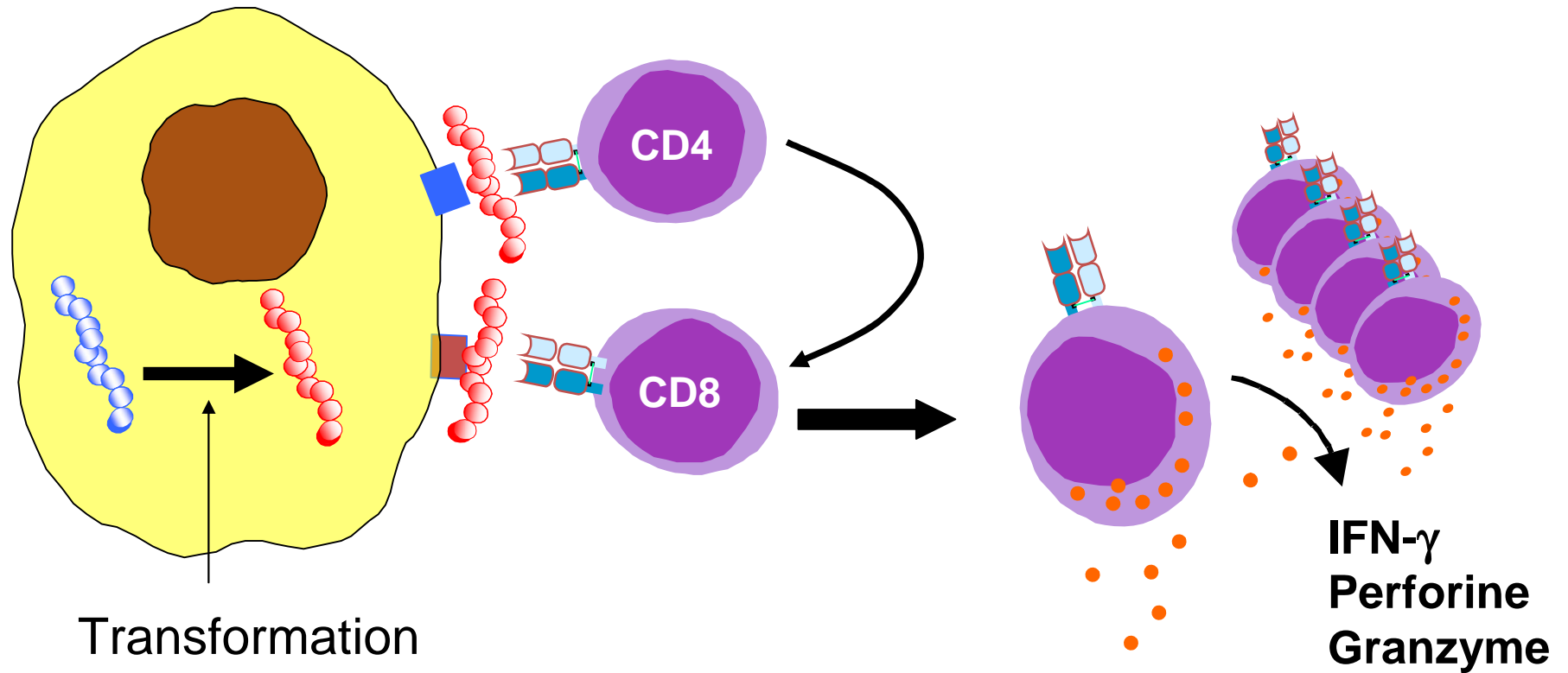
... und angegriffen



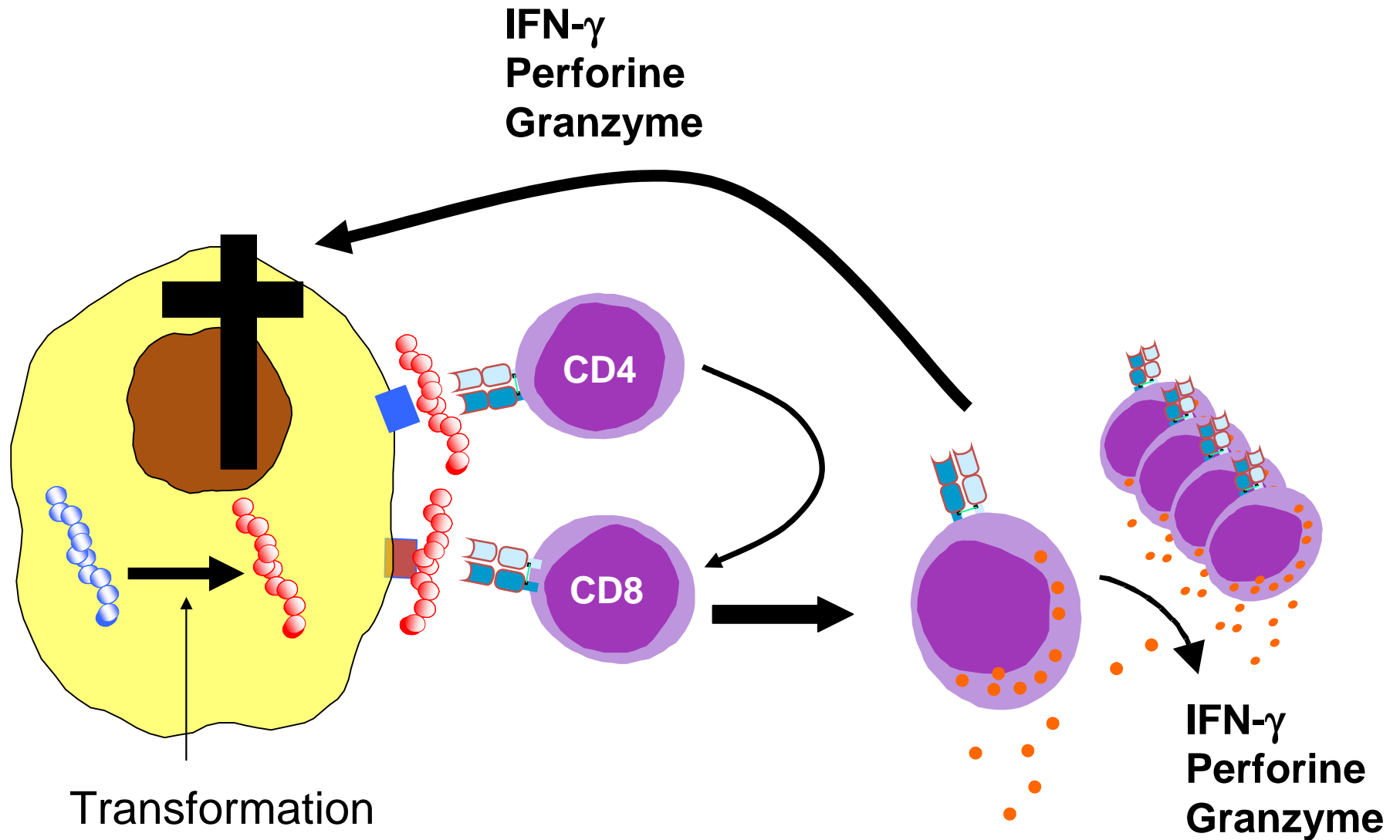
... aber in der chronischen Phase in der Regel toleriert

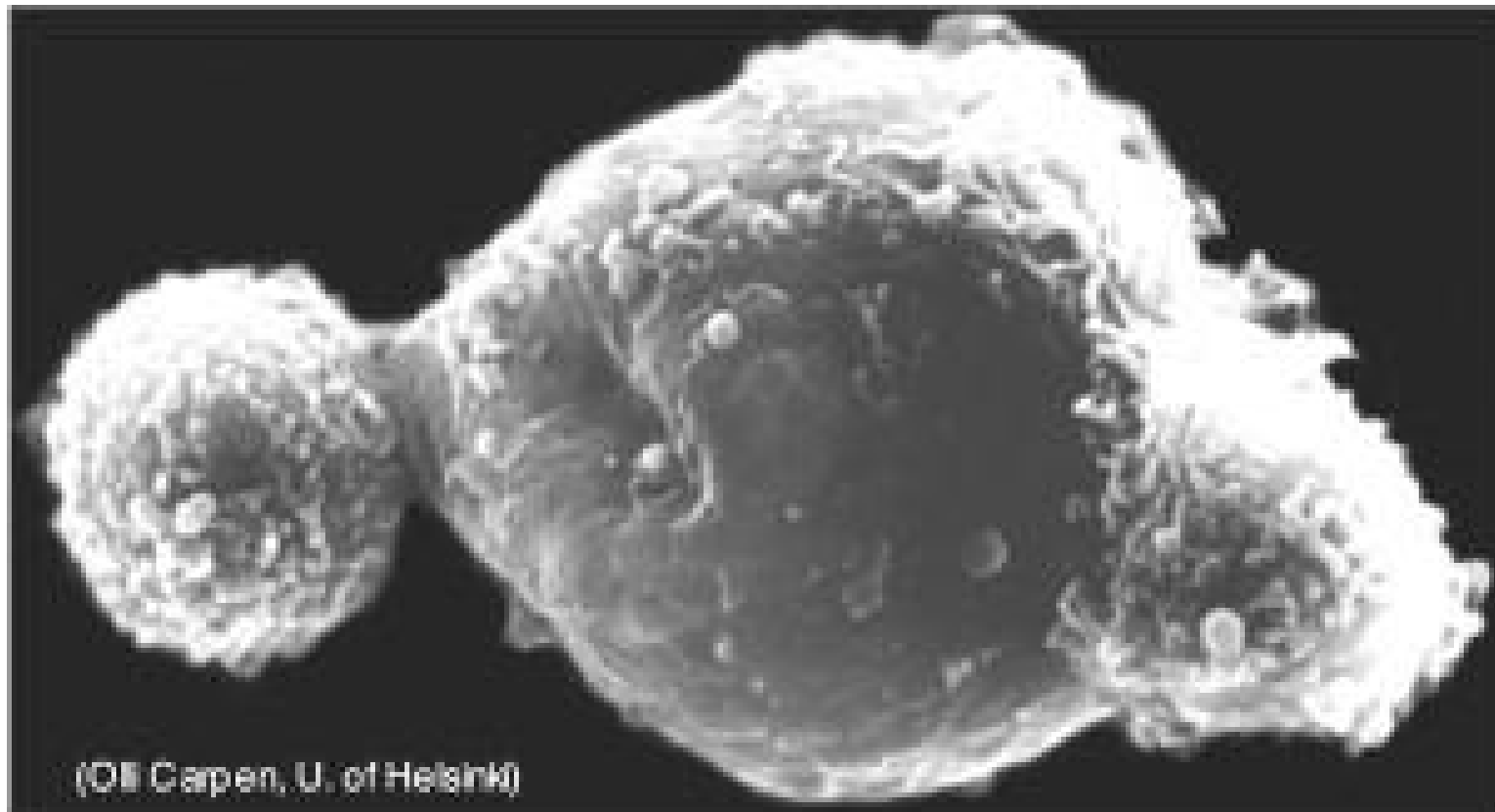


Das gleiche passiert bei Tumorzellen



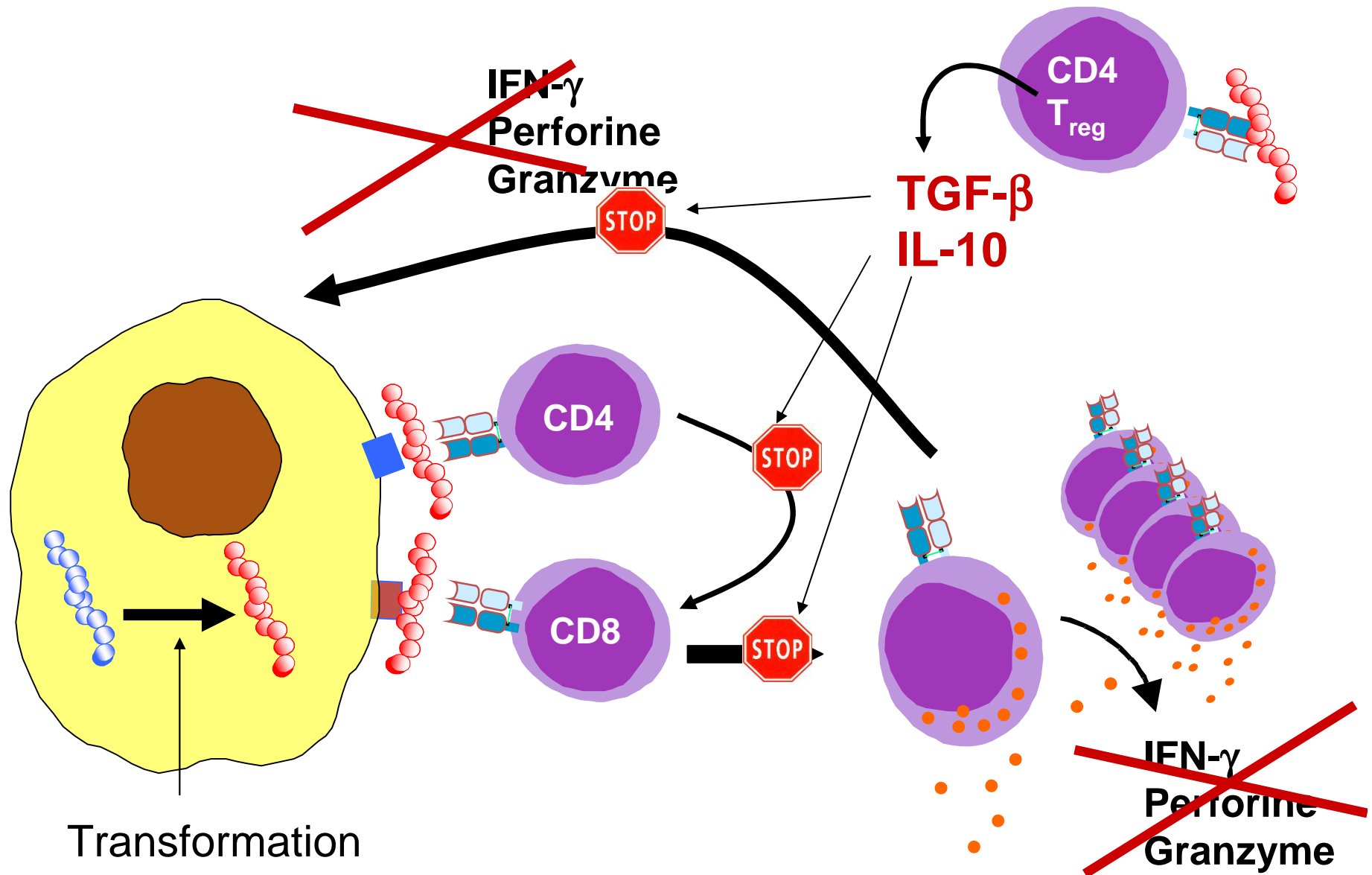
Die Tumorzelle wird im Idealzustand eliminiert





Angriff einer Tumorzelle durch zwei zytotoxische T-Lymphozyten

.... oder nicht, wenn Treg-Zellen diese Immunantwort verhindern



Unspezifisches Immunsystem (angeboren)

Zelluläres Immunsystem

Monozyten → Gewebemakrophagen

Granulozyten

- Neutrophile (PMN)
- Eosinophile
- Basophile

Mastzellen

Natürliche Killerzellen

Humorales Immunsystem

Defensine
Opsonine
Komplementsystem

Spezifisches Immunsystem (erworben, lernfähig)

T-Lymphozyten

CD4-Lymphozyten
(Helferzellen)

- TH1-Helferzellen
- TH2-Helferzellen
- CD25+/CD127- T_{reg}-Zellen
- TH17-Helferzellen

CD8-Lymphozyten

- CD8+CD28+ zytotoxische T-Zellen (CTL)
- CD8+CD28- suppressorische T-Zellen

B-Lymphozyten

Antikörper

Der „übliche“ „Immunstatus“ ist nicht hilfreich

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut (2)					
		Normwerte		Normwerte	
Leukozyten	7400 / μ l	4400 - 11300			
Lymphozyten	1132 / μ l	1000 - 4800	15 %	20 - 45	
Monozyten	503 / μ l	0 - 800	7 %	2 - 13	
Granulozyten	5765 / μ l	2400 - 7400	78 %	42 - 75	
T-Zellen	1028 / μ l	920 - 2580	91 %	61 - 84	
CD4+ T-Helferzellen	331 / μ l	550 - 1460	29 %	32 - 60	
CD8+ T-Zellen	634 / μ l	280 - 930	56 %	23 - 40	
CD4/CD8-Ratio	0,52	1 - 3			
B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21	
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30	
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11	



Er muss Tumorstatus-spezifische Marker berücksichtigen

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut (2)

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 / μ l	4400 - 11300		
Lymphozyten	1132 / μ l	1000 - 4800	15 %	20 - 45
Monozyten	503 / μ l	0 - 800	7 %	2 - 13
Granulozyten	5765 / μ l	2400 - 7400	78 %	42 - 75
T-Zellen	1028 / μ l	920 - 2580	91 %	61 - 84
CD45RA+ naive T-Zellen	686 / μ l	300 - 1200	67 %	30 - 63
CD45RA- memory T-Zellen	341 / μ l	300 - 1300	33 %	37 - 70
CD4+ T-Helferzellen	331 / μ l	550 - 1460	29 %	32 - 60
CD45RA+ naive			36 %	29 - 67
CD31+			45 %	> 58
CD25++/CD127 low Treg	35 / μ l	35 - 120	10,5 %	4 - 10
CD39+ Treg			63 %	
CD8+ T-Zellen	634 / μ l	280 - 930	56 %	23 - 40
CD8+/CD28+ (zytotox.)	189 / μ l	130 - 450	30 %	57 - 94
CD8+/CD28- (regulativ)	445 / μ l	20 - 300	70 %	6 - 43
CD4/CD8-Ratio	0,52	1 - 3		
CD4+/CD8+T-Zellen	16 / μ l	<100	1,4 %	< 5
B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	2 %	< 17
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11
CD3/CD25	194 / μ l	<230	17 %	< 18



Regulatorische T-Zellen (v.a. Anteil CD39+)

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut (2)				
		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 / μ l	4400 - 11300		
Lymphozyten	1132 / μ l	1000 - 4800	15 %	20 - 45
Monozyten	503 / μ l	0 - 800	7 %	2 - 13
Granulozyten	5765 / μ l	2400 - 7400	78 %	42 - 75
T-Zellen	1028 / μ l	920 - 2580	91 %	61 - 84
CD45RA+ naive T-Zellen	686 / μ l	300 - 1200	67 %	30 - 63
CD45RA- memory T-Zellen	341 / μ l	300 - 1300	33 %	37 - 70
CD4+ T-Helferzellen	331 / μ l	550 - 1460	29 %	32 - 60
CD45RA+ naive			36 %	29 - 67
CD31+			45 %	> 58
CD25++/CD127 low Treg	35 / μ l	35 - 120	10,5 %	4 - 10
CD39+ Treg			63 %	
CD8+ T-Zellen	634 / μ l	280 - 930	56 %	23 - 40
CD8+/CD28+ (zytotox.)	189 / μ l	130 - 450	30 %	57 - 94
CD8+/CD28- (regulativ)	445 / μ l	20 - 300	70 %	6 - 43
CD4/CD8-Ratio	0,52	1 - 3		
CD4+/CD8+T-Zellen	16 / μ l	<100	1,4 %	< 5
B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	2 %	< 17
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11
CD3/CD25	194 / μ l	<230	17 %	< 18



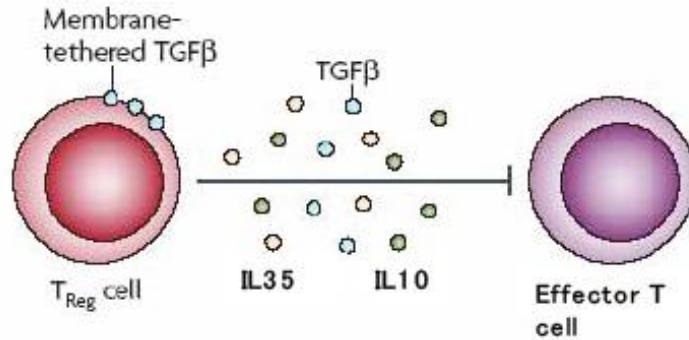
Wie ist der CD28-Status ?

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut (2)					
		Normwerte		Normwerte	
Leukozyten	7400 / μ l	4400 - 11300			
Lymphozyten	1132 / μ l	1000 - 4800	15 %	20 - 45	
Monozyten	503 / μ l	0 - 800	7 %	2 - 13	
Granulozyten	5765 / μ l	2400 - 7400	78 %	42 - 75	
T-Zellen	1028 / μ l	920 - 2580	91 %	61 - 84	
CD45RA+ naive T-Zellen	686 / μ l	300 - 1200	67 %	30 - 63	
CD45RA- memory T-Zellen	341 / μ l	300 - 1300	33 %	37 - 70	
CD4+ T-Helferzellen	331 / μ l	550 - 1460	29 %	32 - 60	
CD45RA+ naive			36 %	29 - 67	
CD31+			45 %	> 58	
CD25++/CD127 low Treg	35 / μ l	35 - 120	10,5 %	4 - 10	
CD39+ Treg			63 %		
CD8+ T-Zellen	634 / μ l	280 - 930	56 %	23 - 40	
CD8+/CD28+ (zytotox.)	189 / μ l	130 - 450	30 %	57 - 94	
CD8+/CD28- (regulativ)	445 / μ l	20 - 300	70 %	6 - 43	
CD4/CD8-Ratio	0,52	1 - 3			
CD4+/CD8+T-Zellen	16 / μ l	<100	1,4 %	< 5	
B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21	
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30	
Aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	2 %	< 17	
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11	
CD3/CD25	194 / μ l	<230	17 %	< 18	

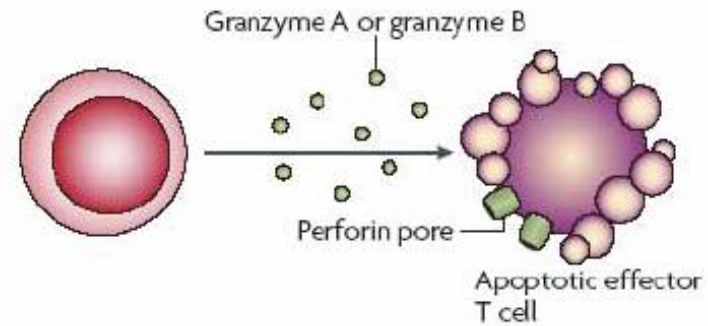


Regulatorische T-Zellen wirken immunsuppressiv

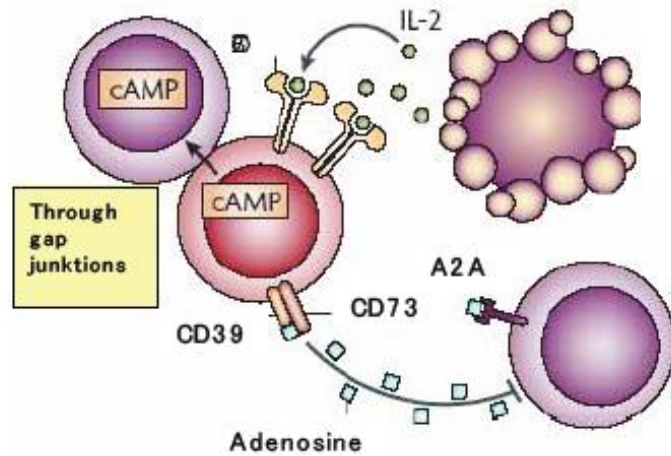
Hemmung über immun-suppressive Zytokine



Auslösung von T-Zell-Apoptose

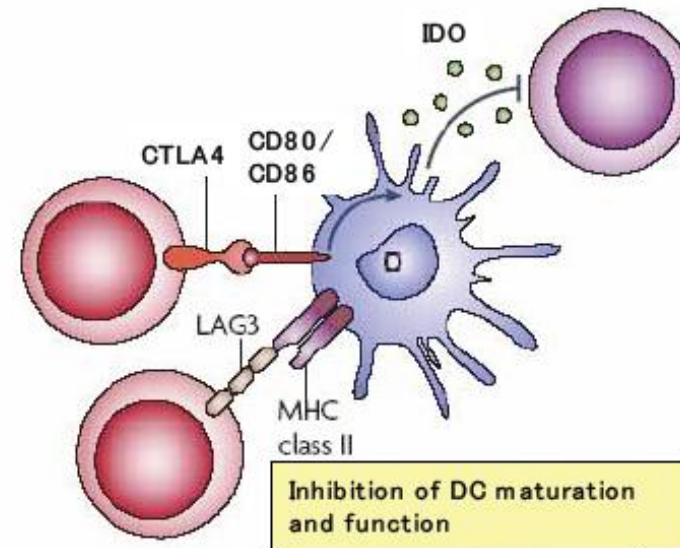


Entzug von IL-2



Vignali et al. Nature Reviews Immunologie 2008

Hemmung dendritischer Zellen



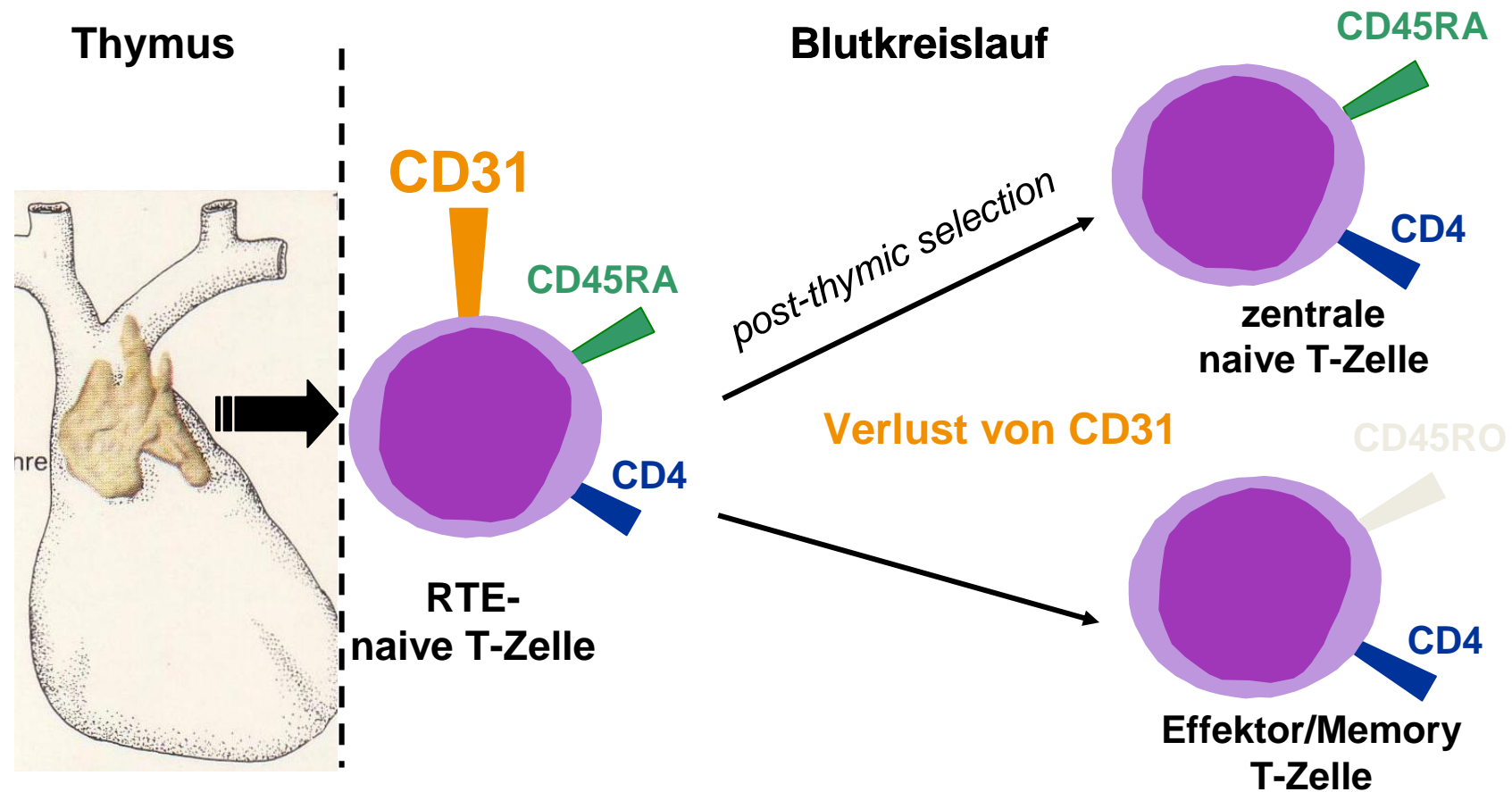
Thymusreserve = Anteil CD31+ naiver CD4-Zellen

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut (2)				
		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 / μ l	4400 - 11300		
Lymphozyten	1132 / μ l	1000 - 4800	15 %	20 - 45
Monozyten	503 / μ l	0 - 800	7 %	2 - 13
Granulozyten	5765 / μ l	2400 - 7400	78 %	42 - 75
T-Zellen	1028 / μ l	920 - 2580	91 %	61 - 84
CD45RA+ naive T-Zellen	686 / μ l	300 - 1200	67 %	30 - 63
CD45RA- memory T-Zellen	341 / μ l	300 - 1300	33 %	37 - 70
CD4+ T-Helferzellen	331 / μ l	550 - 1460	29 %	32 - 60
CD45RA+ naive			36 %	29 - 67
CD31+			45 %	> 58
CD25++/CD127 low Treg	35 / μ l	35 - 120	10,5 %	4 - 10
CD39+ Treg			63 %	
CD8+ T-Zellen	634 / μ l	280 - 930	56 %	23 - 40
CD8+/CD28+ (zytotox.)	189 / μ l	130 - 450	30 %	57 - 94
CD8+/CD28- (regulativ)	445 / μ l	20 - 300	70 %	6 - 43
CD4/CD8-Ratio	0,52	1 - 3		
CD4+/CD8+T-Zellen	16 / μ l	<100	1,4 %	< 5
B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	2 %	< 17
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11
CD3/CD25	194 / μ l	<230	17 %	< 18



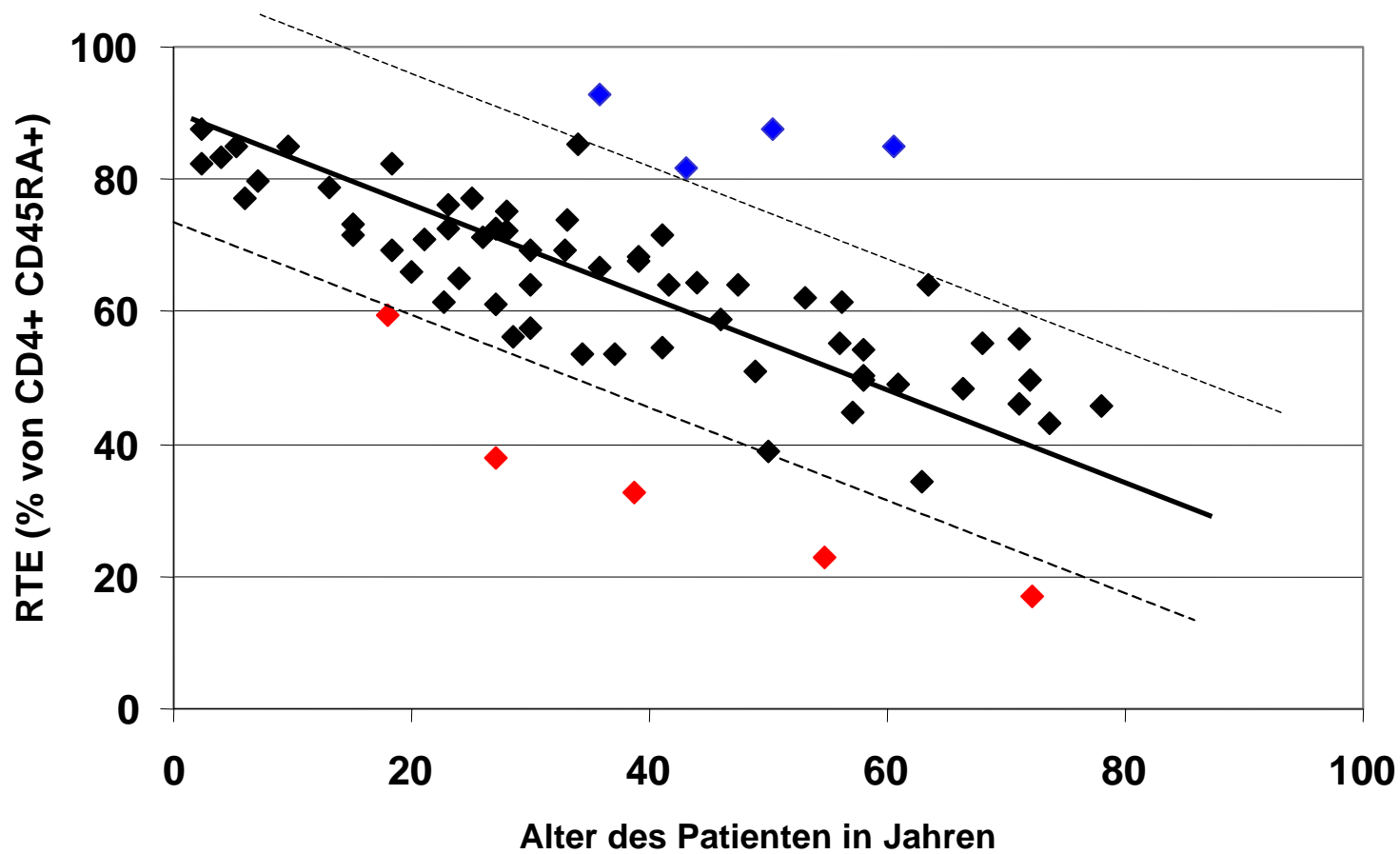
Der Anteil an CD31+ T-Zellen widerspiegelt den Nachschub naiver T-Zellen aus dem Thymus

CD31+ T-Zellen = RTE = recent thymic emigrants; Thymusemigranten)



Die Thymusreserve nimmt im Laufe des Lebens durch Involution des Thymus ab !

Die Abnahme ist aber individuell verschieden

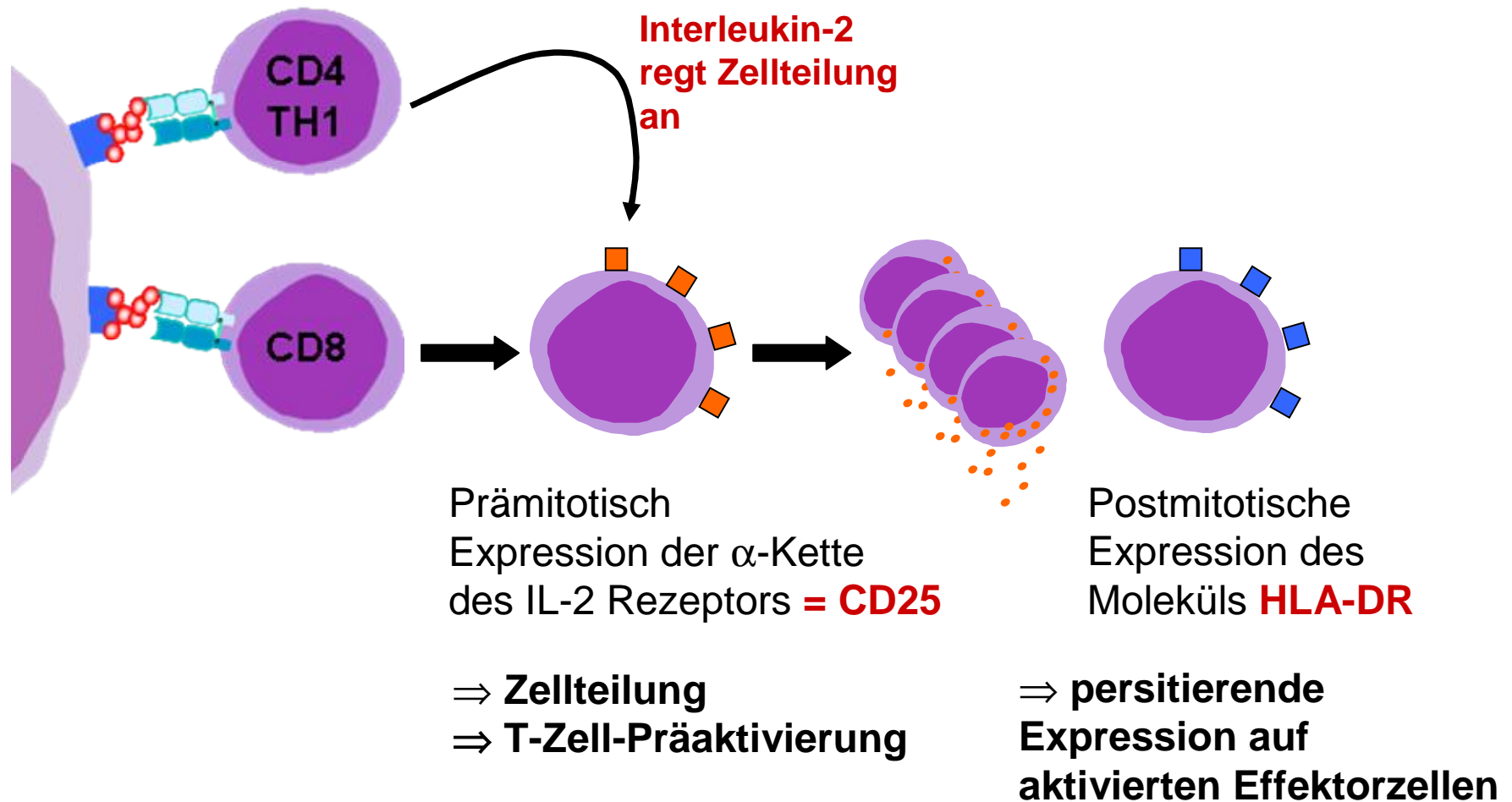


Liegt schon eine Immunaktivierung vor ?

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut (2)				
		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 / μ l	4400 - 11300		
Lymphozyten	1132 / μ l	1000 - 4800	15 %	20 - 45
Monozyten	503 / μ l	0 - 800	7 %	2 - 13
Granulozyten	5765 / μ l	2400 - 7400	78 %	42 - 75
T-Zellen	1028 / μ l	920 - 2580	91 %	61 - 84
CD45RA+ naive T-Zellen	686 / μ l	300 - 1200	67 %	30 - 63
CD45RA- memory T-Zellen	341 / μ l	300 - 1300	33 %	37 - 70
CD4+ T-Helferzellen	331 / μ l	550 - 1460	29 %	32 - 60
CD45RA+ naive			36 %	29 - 67
CD31+			45 %	> 58
CD25++/CD127 low Treg	35 / μ l	35 - 120	10,5 %	4 - 10
CD39+ Treg			63 %	
CD8+ T-Zellen	634 / μ l	280 - 930	56 %	23 - 40
CD8+/CD28+ (zytotox.)	189 / μ l	130 - 450	30 %	57 - 94
CD8+/CD28- (regulativ)	445 / μ l	20 - 300	70 %	6 - 43
CD4/CD8-Ratio	0,52	1 - 3		
CD4+/CD8+T-Zellen	16 / μ l	<100	1,4 %	< 5
B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	2 %	< 17
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11
CD3/CD25	194 / μ l	<230	17 %	< 18



Oberflächenmoleküle zeigen die Zellaktivierung an



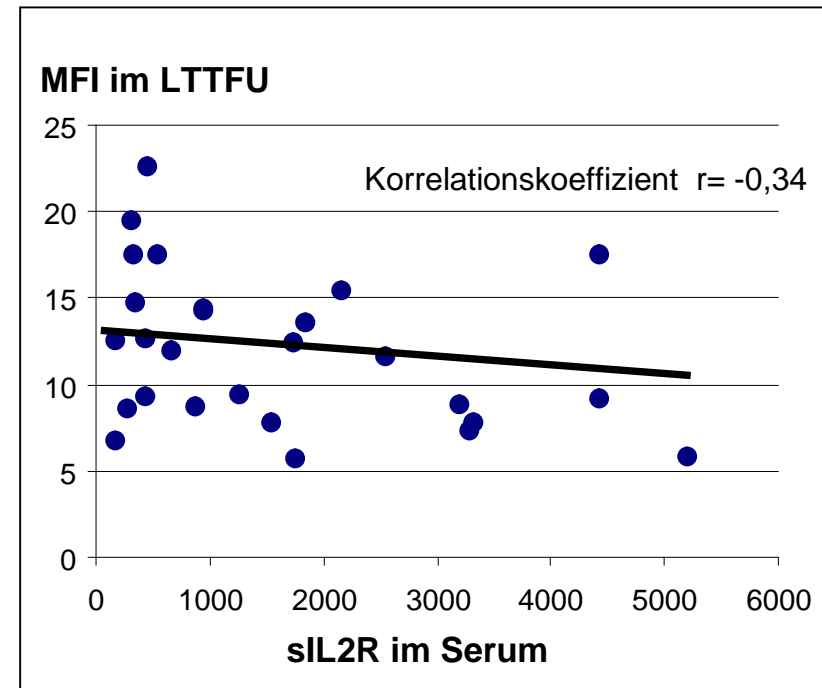
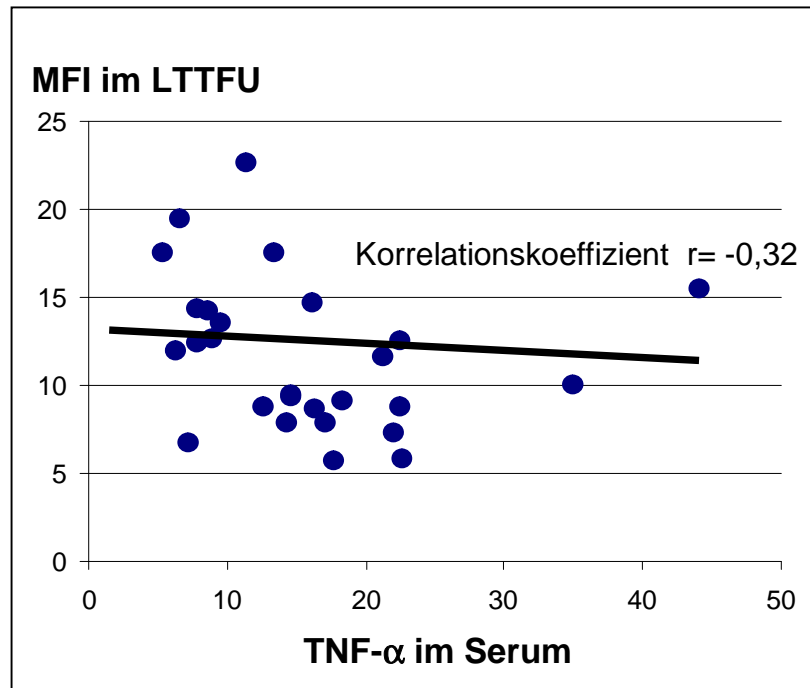
Immunaktivierung = Immunkompetenz

?



Der Anstieg von TNF- α und sIL2R im Serum bei Tumorpatienten ist tendentiell eher mit schlechterer T-Zellfunktion assoziiert

27 Patienten (34-82 Jahre, mean 62 Jahre) mit soliden Tumoren



Hier ist eine ungezielte Immunstimulation falsch !

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut				
		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 / μ l	4400 - 11300		
Lymphozyten	1132 / μ l	1000 - 4800	15 %	20 - 45
Monozyten	503 / μ l	0 - 800	7 %	2 - 13
Granulozyten	5765 / μ l	2400 - 7400	78 %	42 - 75
T-Zellen	1028 / μ l	920 - 2580	91 %	61 - 84
CD45RA+ naive T-Zellen	341 / μ l	300 - 1300	33 %	37 - 70
CD45RA- memory T-Zellen	686 / μ l	300 - 1200	67 %	30 - 63
CD4+ T-Helferzellen	331 / μ l	550 - 1460	29 %	32 - 60
CD45RA+ naive			36 %	29 - 67
CD31+			45 %	> 58
CD25++/CD127 low Treg	35 / μ l	35 - 120	10,5 %	4 - 10
CD39+ Treg			63 %	
CD8+ T-Zellen	634 / μ l	280 - 930	56 %	23 - 40
CD8+/CD28+ (zytotox.)	189 / μ l	130 - 450	30 %	57 - 94
CD8+/CD28- (regulativ)	445 / μ l	20 - 300	70 %	6 - 43
CD4/CD8-Ratio	0,52	1 - 3		
CD4+/CD8+T-Zellen	16 / μ l	<100	1,4 %	< 5
B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	2 %	< 17
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11
CD3/CD25	194 / μ l	<230	17 %	< 18



Der quantitative Immunstatus macht aber kaum Aussagen zur Funktionalität der Immunzellen!

Immunfunktionsanalysen

T-Lymphozyten ⇒ LTT-Immunfunktion

NK-Zellen ⇒ NK-Zell-Funktionstest

Granulozyten ⇒ Phagozytostest
Respiratory Burst Test

B-Lymphozyten ⇒ IgG, IgA, IgM im Serum

Komplement ⇒ Komplementteste CH50 und AP50
Der CH100-Test sollte nicht mehr durchgeführt werden !



LTT Immunfunktion (T-lymphozytäre Funktion)

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransformationstest Immunstimulation** (Heparinblut)

Zelluläre Immunfunktion

	SI
Influenza	5,9
Tetatoxoid	7,8
Cytomegalievirus	5,2
Varizella zoster	6,9
Candida	12,0
Streptokokken	9,7

Mittlerer Funktionsindex:

7,9

Aus dem Mittelwert der 6 antigenstimulierten Indizes errechnet sich der Mittlere Funktionsindex (siehe Feld darunter), der besser als die Einzelparameter zur Beurteilung und Verlaufskontrolle der Immunfunktion geeignet ist.

Normalwerte :	>15	gute Immunfunktion
	10-15	befriedigende Immunfunktion
	<10	reduzierte Immunfunktion
	<7	deutlich reduzierte Immunfunktion

Leerwert (Negativkontrolle)	2326	(Normalwert < 4000 cpm)
Mitogenkontrolle (PWM)	52814	(Normalwert >20000 cpm)



LTT Immunfunktion (T-lymphozytäre Funktion)

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransformationstest Immunstimulation** (Heparinblut)

Zelluläre Immunfunktion

	SI
Influenza	5,9
Tetatoxoid	7,8
Cytomegalievirus	5,2
Varizella zoster	6,9
Candida	12,0
Streptokokken	9,7

Reaktivität gegenüber Immunstimulatoren

	SI
Thymuspräparat	8,0
Iscador M	35,2
Iscador P	5,3
Helixor A	4,8
Lektinol	1,5

Mittlerer Funktionsindex:

7,9

Aus dem Mittelwert der 6 antigenstimulierten Indizes errechnet sich der Mittlere Funktionsindex (siehe Feld darunter), der besser als die Einzelparameter zur Beurteilung und Verlaufskontrolle der Immunfunktion geeignet ist.

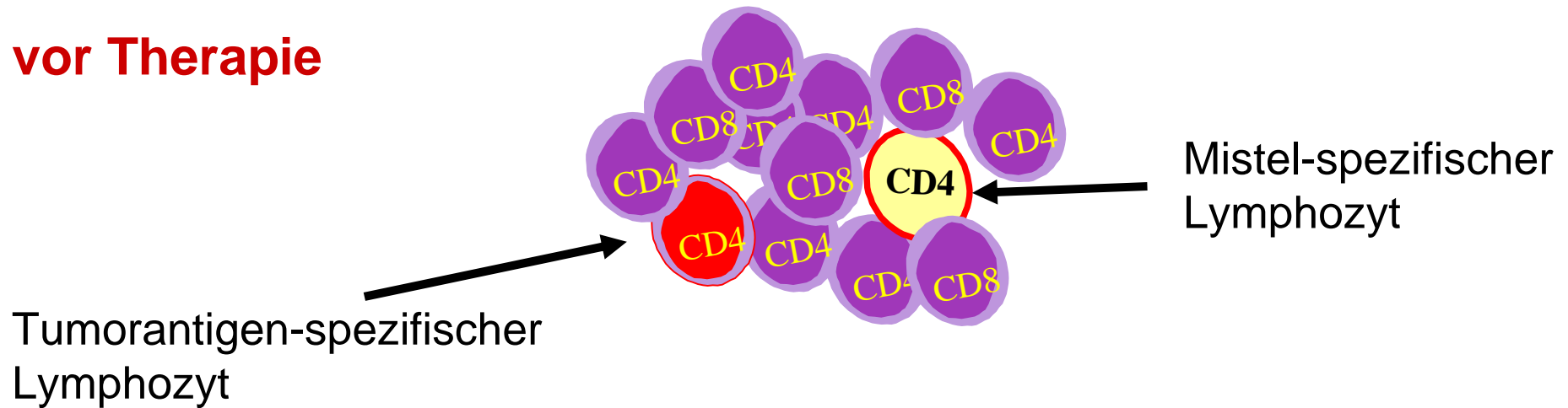
Normalwerte :	>15	gute Immunfunktion
	10-15	befriedigende Immunfunktion
	<10	reduzierte Immunfunktion
	<7	deutlich reduzierte Immunfunktion

Leerwert (Negativkontrolle)	2326	(Normalwert < 4000 cpm)
Mitogenkontrolle (PWM)	52814	(Normalwert >20000 cpm)

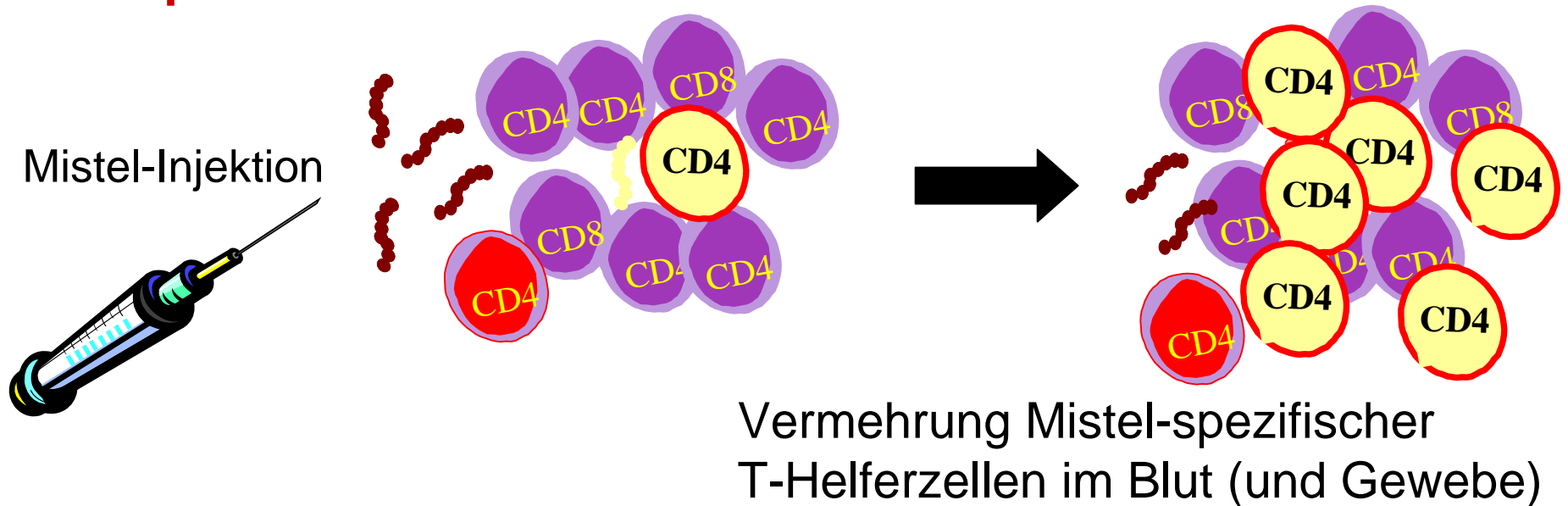


Was bedeutet (immunogene) Immunstimulation?

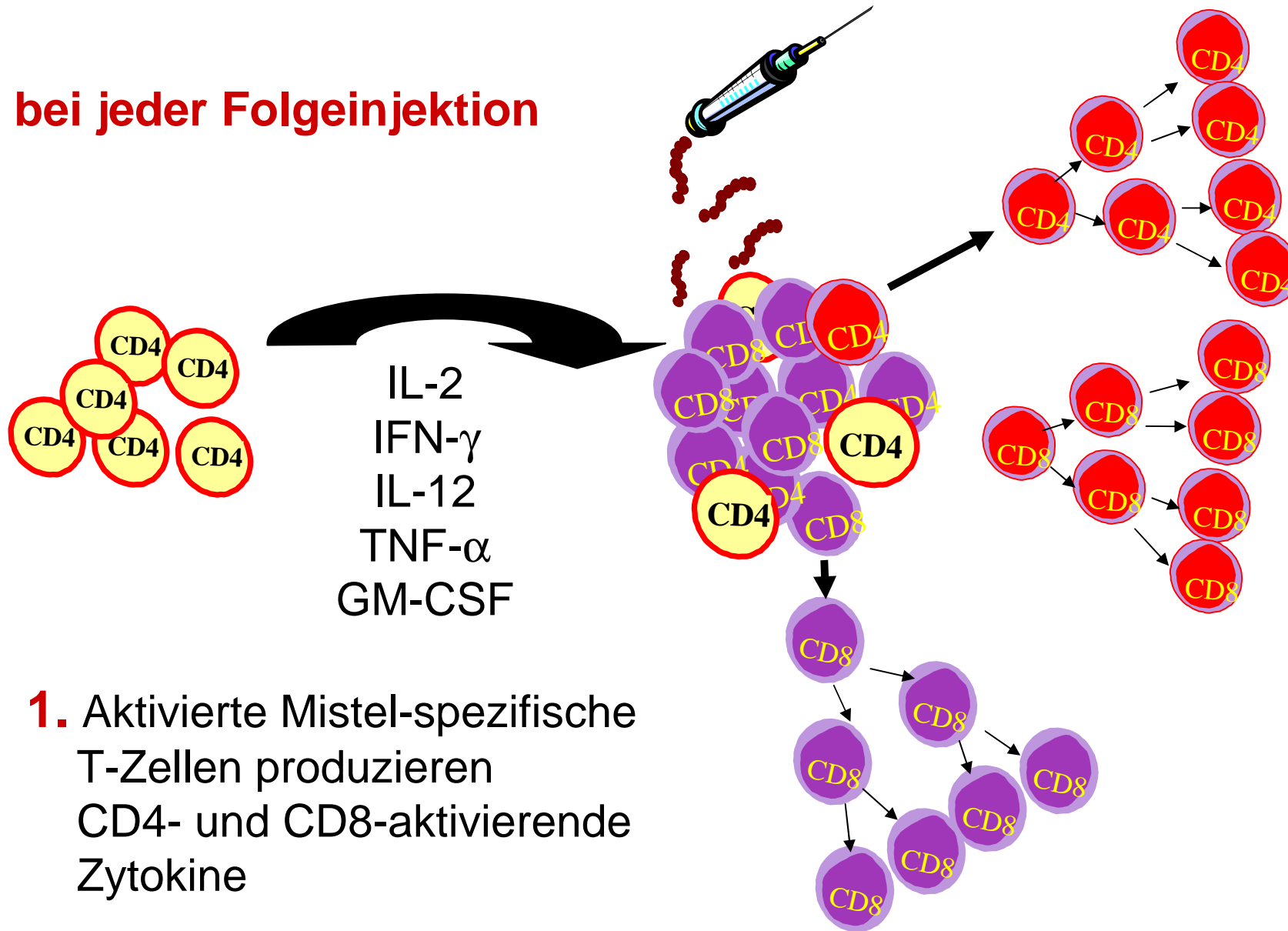
vor Therapie



Therapiestart



bei jeder Folgeinjektion



1. Aktivierte Mistel-spezifische T-Zellen produzieren CD4- und CD8-aktivierende Zytokine

2. Diese Zytokine aktivieren „umliegende“ CD4- und CD8-Lymphozyten (auch Tm-spezifische) sowie NK-Zellen

Was bewirken die endogen freigesetzten Zytokine ?

IFN- γ :

Aktivierung, Differenzierung und Verstärkung der zytolytischen Aktivität von CD28+/CD8-Zellen und NK-Zellen, Verstärkung der Antigenpräsentation

IL-2:

Aktivierung und Vermehrung von T-, B- und NK-Zellen, Monozyten, Granulozyten
T-Zellaktivierung und –vermehrung (klonale Expansion), Differenzierung zu zytotoxischen CD28+/CD8-Zellen, Aktivierung von NK- und B-Zellen.

IL-12:

Aktivierung und Reifung von Makrophagen, B-Zellen und Dendritischen Zellen, Induktion der TH1-Immunantwort, Stimulation von T-Zellen und NK-Zellen zur Sekretion von Interferon- γ und anderen Zytokinen.

TNF- α :

Stimulation und Chemotaxis von Monozyten und Granulozyten, Aktivierung des Gefäßendothels, Apoptose von Tumorzellen

G-CSF und GM-CSF:

Mobilisierung von Stammzellen, Stimulation der Myelopoese (zellulärer Nachschub von Monozyten und Granulozyten)

Unspezifisches Immunsystem
(angeboren)

Spezifisches Immunsystem
(erworben, lernfähig)

Zelluläres Immunsystem

Monozyten → Gewebemakrophagen

Granulozyten

- Neutrophile (PMN)
- Eosinophile
- Basophile

Mastzellen

Natürliche Killerzellen

T-Lymphozyten

CD4-Lymphozyten
(Helferzellen)

- **TH1-Helferzellen**
- TH2-Helferzellen
- **CD25+/CD127- T_{reg}-Zellen**
- TH17-Helferzellen

CD8-Lymphozyten

- **CD8+CD28+ zytotoxische T-Zellen (CTL)**
- **CD8+CD28- suppressorische T-Zellen**

Humorales Immunsystem

- Defensine
- Opsonine
- Komplementsystem

B-Lymphozyten

Antikörper

Die Zahl der NK-Zellen im Blut ist (fast) ohne Bedeutung

B-Zellen	29 / μ l	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 / μ l	210 - 740	5 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	1 / μ l	<40	2 %	< 17
CD3/HLADR	408 / μ l	<230	36 %	< 11
CD3/CD25	194 / μ l	<230	17 %	< 18

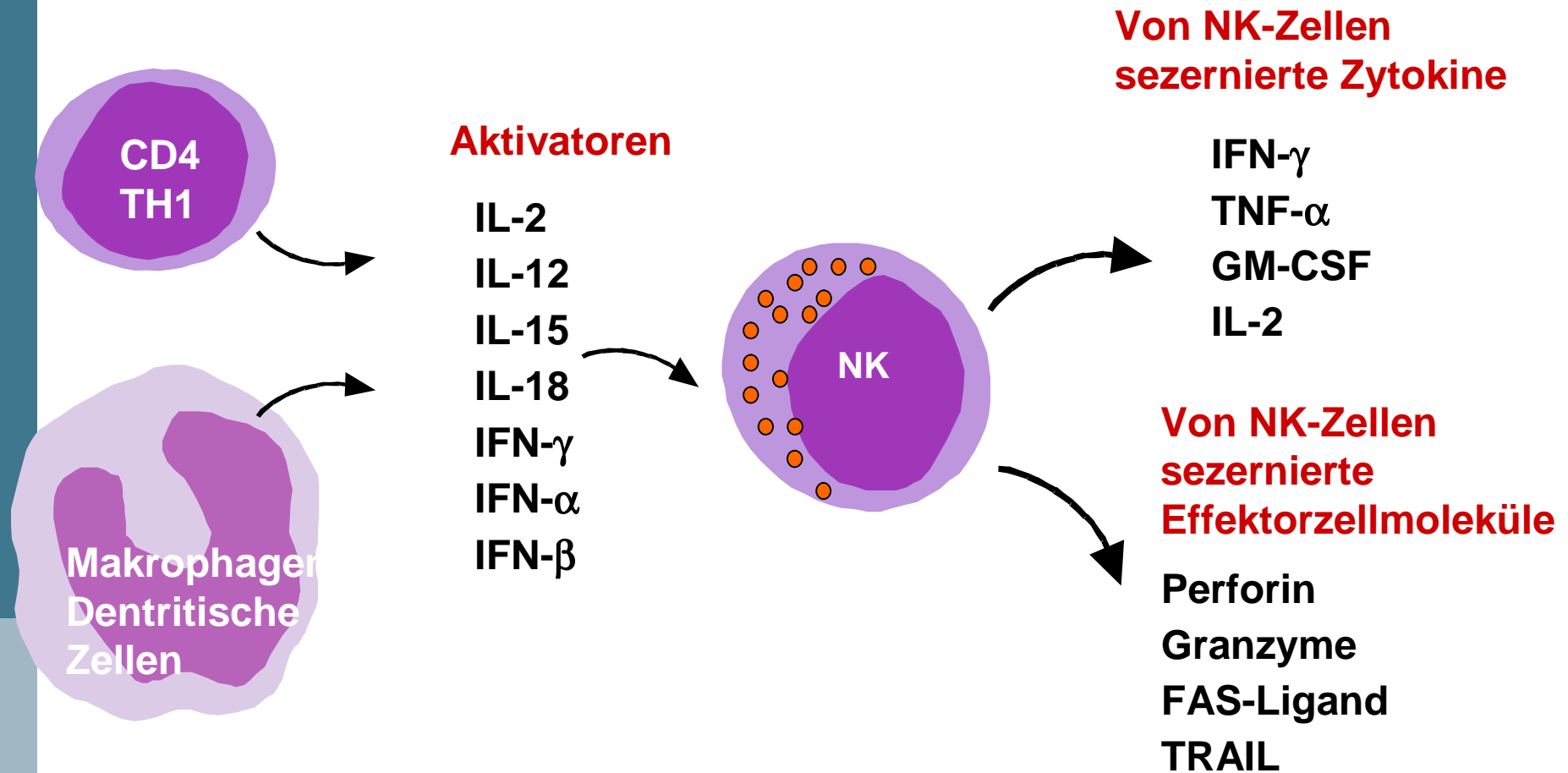
... aber die NK-Zellfunktion

Funktion \Rightarrow	Tumorzell-Apoptose-Rate	9.8	%	> 21
Stimulierbarkeit \Rightarrow	Apoptose-Rate-IL2-stimuliert	31.4	%	
	Interpretation			

Die NK-Zellfunktion ist weiterhin vermindert. Eine immunstimulierende Therapie ist aus der Sicht dieses Befundes indiziert.



Auch für die NK-Zellen ist eine intakte Funktion der T-Helferzellen essentiell



Unspezifisches Immunsystem
(angeboren)

Spezifisches Immunsystem
(erworben, lernfähig)

Zelluläres Immunsystem

Monozyten → Gewebemakrophagen

Granulozyten

- Neutrophile (PMN)
- Eosinophile
- Basophile

Mastzellen
Natürliche Killerzellen

Humorales Immunsystem

Defensine
Opsonine
Komplementsystem

T-Lymphozyten

CD4-Lymphozyten
(Helferzellen)

- TH1-Helferzellen
- TH2-Helferzellen
- CD25+/CD127- T_{reg}-Zellen
- TH17-Helferzellen

CD8-Lymphozyten

- CD8+CD28+ zytotoxische T-Zellen (CTL)
- CD8+CD28- suppressorische T-Zellen

B-Lymphozyten

Antikörper

Zu oft vernachlässigt: Die Granulozytenfunktion

Phagozytostest Granulozyten			
E.coli-Phagozytose	85.8	% pos.	> 84
Oxidativer Burst Granulozyten			
Freisetzung von reaktiven Sauerstoffmetaboliten nach Stimulation. (Heparin-Blut)			
Burst-positive Zellen	91.4	%	> 90
Burst-Aktivität	156	mean	400 - 1000

Interpretation

Der normale prozentuale Anteil an neutrophilen Granulozyten die zur Phagozytose und zum Respiratory Burst in der Lage sind, schließt einen signifikanten Immundefekt sicher aus.

Eine verminderte Burst-Aktivität der Granulozyten ist zumeist sekundär bedingt. Sie belegt eine reduzierte Bildung freier Sauerstoffradikale, was unter antioxidativer Therapie, als Folge chronischer Immunaktivierungen oder z.B. auch bei konsumierenden Erkrankungen oder Diabetes mellitus vorkommen kann.

Folgebefund nach immunstimulierender Therapie

Phagozytostest Granulozyten			
E.coli-Phagozytose	93.7	% pos.	> 84
Oxidativer Burst Granulozyten			
Freisetzung von reaktiven Sauerstoffmetaboliten nach Stimulation. (Heparin-Blut)			
Burst-positive Zellen	92.4	%	> 90
Burst-Aktivität	429	mean	400 - 1000

Interpretation

Deutliche Verbesserung der Granulozytenfunktion im Vergleich zum Vorbefund.











Basistherapie: Kontrolle und Ausgleich der essentiellen Spurenelemente

... weil > 400 Enzyme von ihnen abhängig sind



Mineralstoffanalyse im EDTA-Vollblut (ICP-MS)

Die Analyse erfolgte im lysierten EDTA-Vollblut zur Beurteilung der Versorgungslage mit intra- und extrazellulär lokalisierten Spurenelementen.

Analyt	Ergebnis	Referenzbereich	
Magnesium	33,1 mg/l	30 - 40	
Selen	71,4 µg/l	85 - 147	
Zink	3,7 mg/l	4,5 - 7,5	
Chrom	0,3 µg/l	0,2 - 0,6	
Kobalt	0,35 µg/l	0,3 - 1,20	
Kupfer	1,81 mg/l	0,70 - 1,39	
Mangan	8,3 µg/l	7,5 - 20	
Molybdän	0,4 µg/l	0,3 - 1,3	

Unterversorgung mit Selen und Zink!

Wechselwirkungen mit toxischen Metallen:

Cadmium	0,4 µg/l	< 0,6	
Nickel	2,5 µg/l	< 3,8	



Eine Kontrolle der Spurenelemente gehört in die Therapie jeder entzündlichen Erkrankung

Patient [REDACTED]	Geburtsdatum 01.01.1981	Tagesnummer 0338214327	IMD Berlin-Potsdam MVZ GbR Nicolaisstraße 22, 12247 Berlin (Steglitz) Telefon: +49 30 77001-220, Fax: +49 30 77001-236	
Eingang [REDACTED]	Ausgang 24.03.2015	Versicherung IGEL	Kennz. OI/II/III	

Mineralstoffanalyse im Vollblut - großes Profil (ICP-MS)

Die Analyse erfolgte im lysierten Heparin-Vollblut zur Bestimmung der intra- und extrazellulär lokalisierten Spurenelemente.

Analyt	Ergebnis	Referenzbereich	
Magnesium	26,2 mg/l	30 - 40	
Selen	65,2 µg/l	85 - 147	
Zink	3,5 mg/l	4,5 - 7,5	
Calcium	55 mg/l	65 - 88	
Kalium	1688 mg/l	1495 - 2050	
Phosphor	450 mg/l	401 - 560	
Chrom	0,3 µg/l	0,14 - 0,52	
Kupfer	0,92 mg/l	0,70 - 1,39	
Mangan	6,0 µg/l	7,5 - 20	
Molybdän	0,5 µg/l	0,3 - 1,3	

Wechselwirkungen mit toxischen Metallen:

Blei	34,0 µg/l	< 28	
Cadmium	1,9 µg/l	< 0,6	
Nickel	1,6 µg/l	< 3,8	

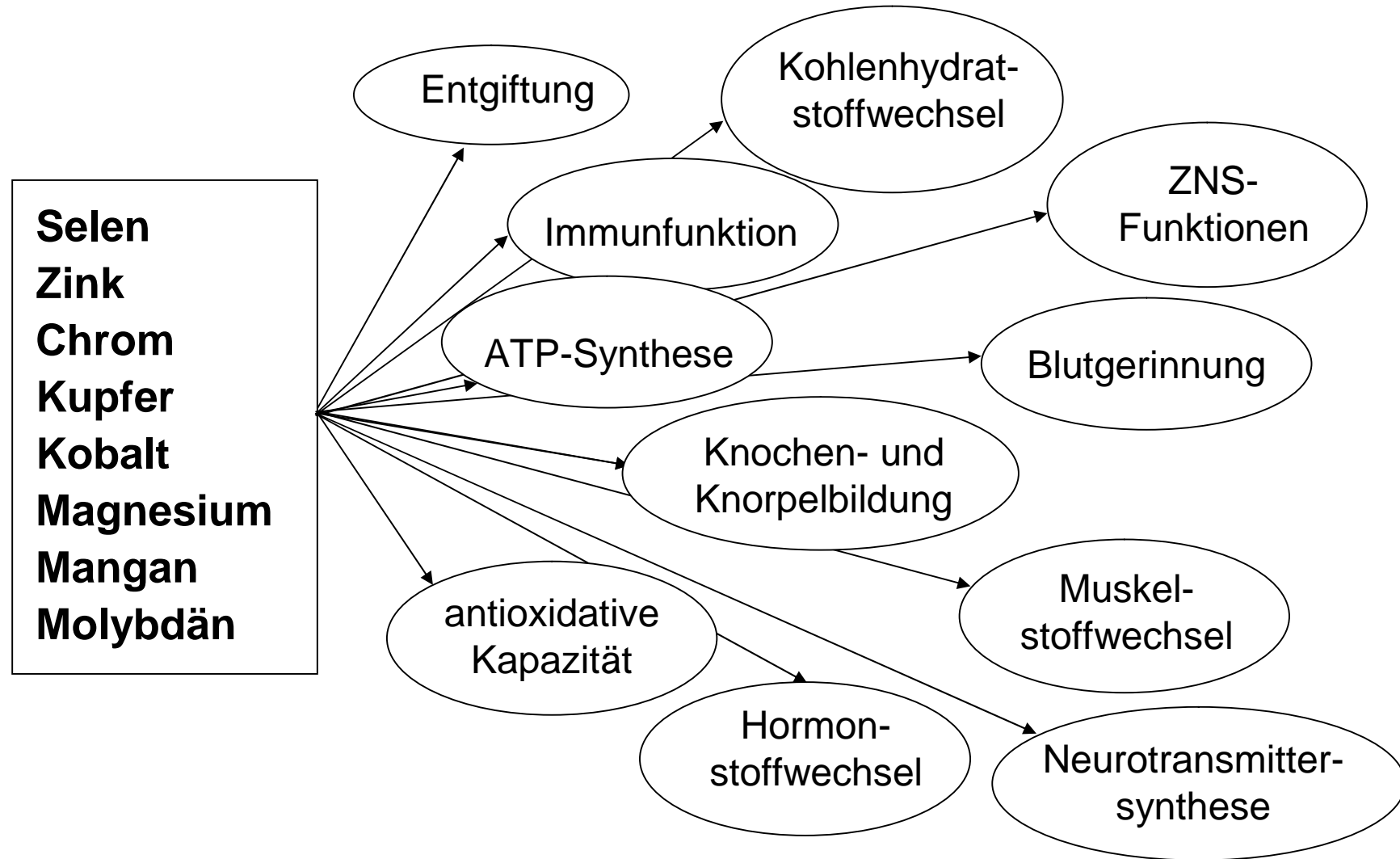
Bewertung:

Hinweis auf eine Unterversorgung mit Magnesium, Selen, Zink, Calcium und Mangan.

Mit Hinblick auf die erhöhten Blei- und Cadmiumwerte beachten Sie bitte, dass Blei den Mineralstoff Calcium aus seinen Bindungen an Calciumkanäle und -rezeptoren verdrängen kann. Ein ähnlicher Mechanismus ist für Cadmium und Zink bekannt. Daher sind bei Blei und Cadmiumbelastung Calcium- und Zinkspiegel im oberen Normbereich anzustreben.



Spurenelemente sind essentielle Kofaktoren von ca. 400 wichtigen Regulationsenzymen



+ Ausgleich eines intrazellulären Glutathionmangels v.a. in Lymphozyten

... weil ohne antioxidativen Schutz eine aktivierte Immunzelle nicht „arbeitsfähig“ ist.

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Glutathion GSH-intrazellulär			
Lymphozyten CD3	122	mfi	> 355
Monozyten CD14	855	mfi	> 458
NK-Zellen CD16/56	725	mfi	> 722

Befund

Grenzwertiger intrazellulärer Gehalt an reduziertem Glutathion (GSH). Wohingegen bei Monozyten und NK-Zellen der Normbereich erreicht wird, zeigen sich bei T-Zellen verminderte Spiegel.



Warum Bestimmung in 3 Zellpopulationen getrennt?

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
Glutathion GSH-intrazellulär			
Lymphozyten CD3	122	mfi	> 355
Monozyten CD14	855	mfi	> 458
NK-Zellen CD16/56	725	mfi	> 722

Befund

Grenzwertiger intrazellulärer Gehalt an reduziertem Glutathion (GSH). Wohingegen bei Monozyten und NK-Zellen der Normbereich erreicht wird, zeigen sich bei T-Zellen verminderte Spiegel.

Nur in Lymphozyten erniedrigt?

➡ „Verbrauch“ bei normaler Synthese(fähigkeit)

In Lymphozyten und Monozyten vermindert?

➡ „verminderte Synthese“ und nicht nur „Verbrauch“

NK-Zellen ?

➡ besondere Bedeutung bei Tumorpatienten



Immunrestauration oder Immunstimulation ?

Immunrestaurative Therapie

Ziel: Anzahl stimulierbarer Zellen erhöhen
TH1/TH2-Immunbalance ausgleichen
Entzündung hemmen
Zellstoffwechsel verbessern

Präparate: Mineralstoffe, Vitamine, Glutathion, Thymus u.a.

Immunogene Immunstimulation

Ziel: Aktivierung der T-Lymphozyten und NK-Zellen
Induktion von Zytokinen die einen Bystandereffekt
auch auf die Tumor-spezifischen T-Zellen bewirken