inflammatio Akademie

ONLINEFORTBILDUNG

Immunologische Laboruntersuchung bei Tumorpatienten

9. November 2016

Dr. med. Volker von Baehr

Institut für Medizinische Diagnostik Berlin
www.imd-berlin.de

IMD Labor Berlin

Unspezifisches Immunsystem (angeboren)

Spezifisches Immunsystem (erworben, lernfähig)

Immunzellen

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

B-Lymphozyten

Humorales Immunsystem

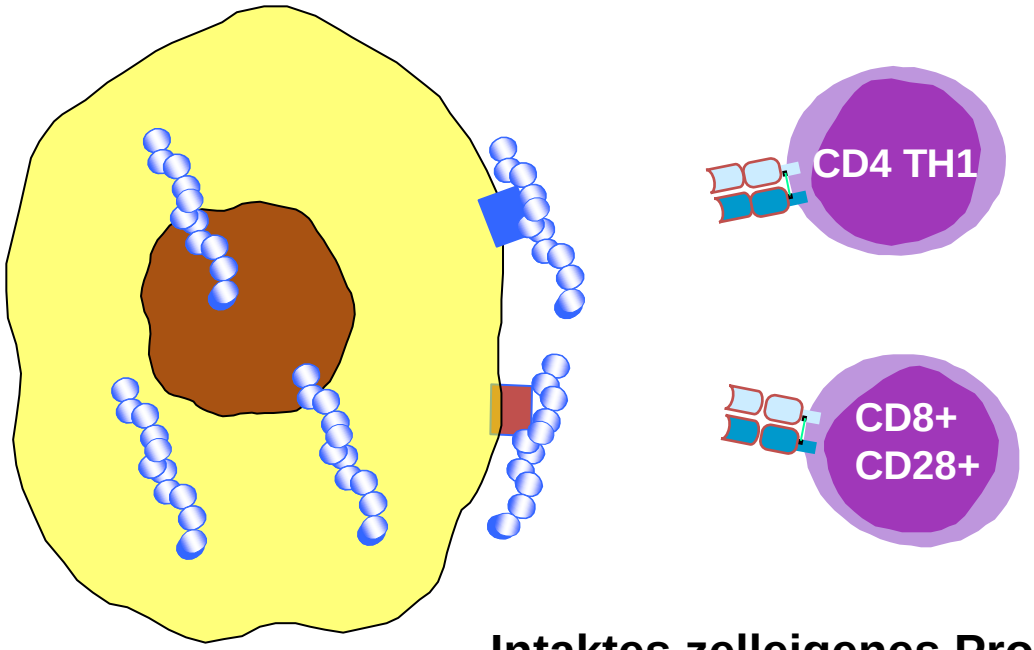
Defensine
Opsonine
Komplementsystem

Antikörper

IMD Labor Berlin

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

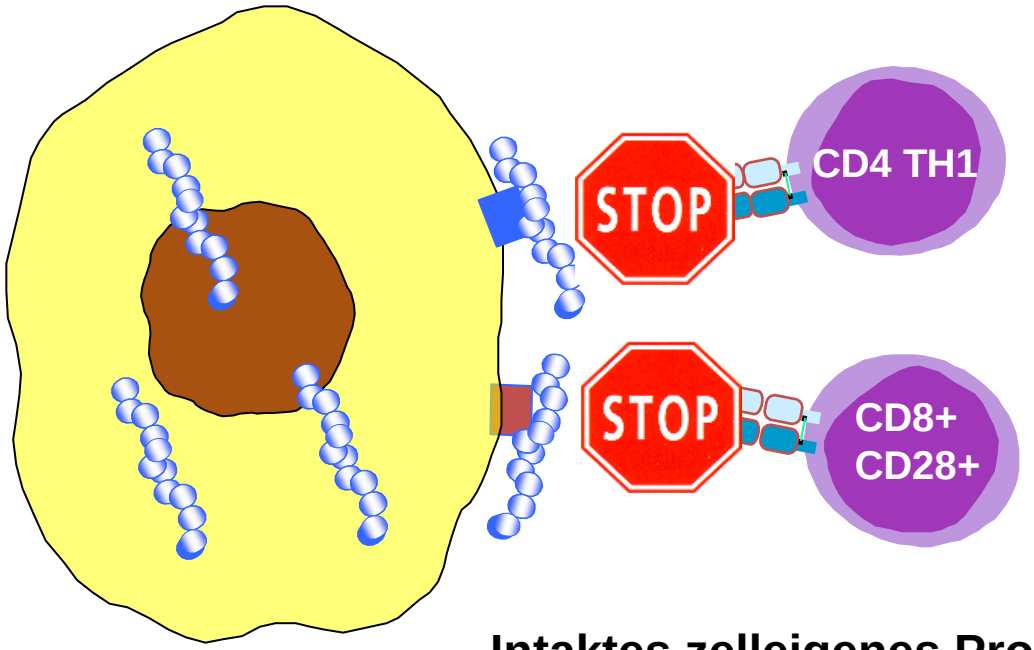


Intaktes zelleigenes Protein

IMD Labor Berlin

Jede Körperzelle wird permanent vom Immunsystem kontrolliert.

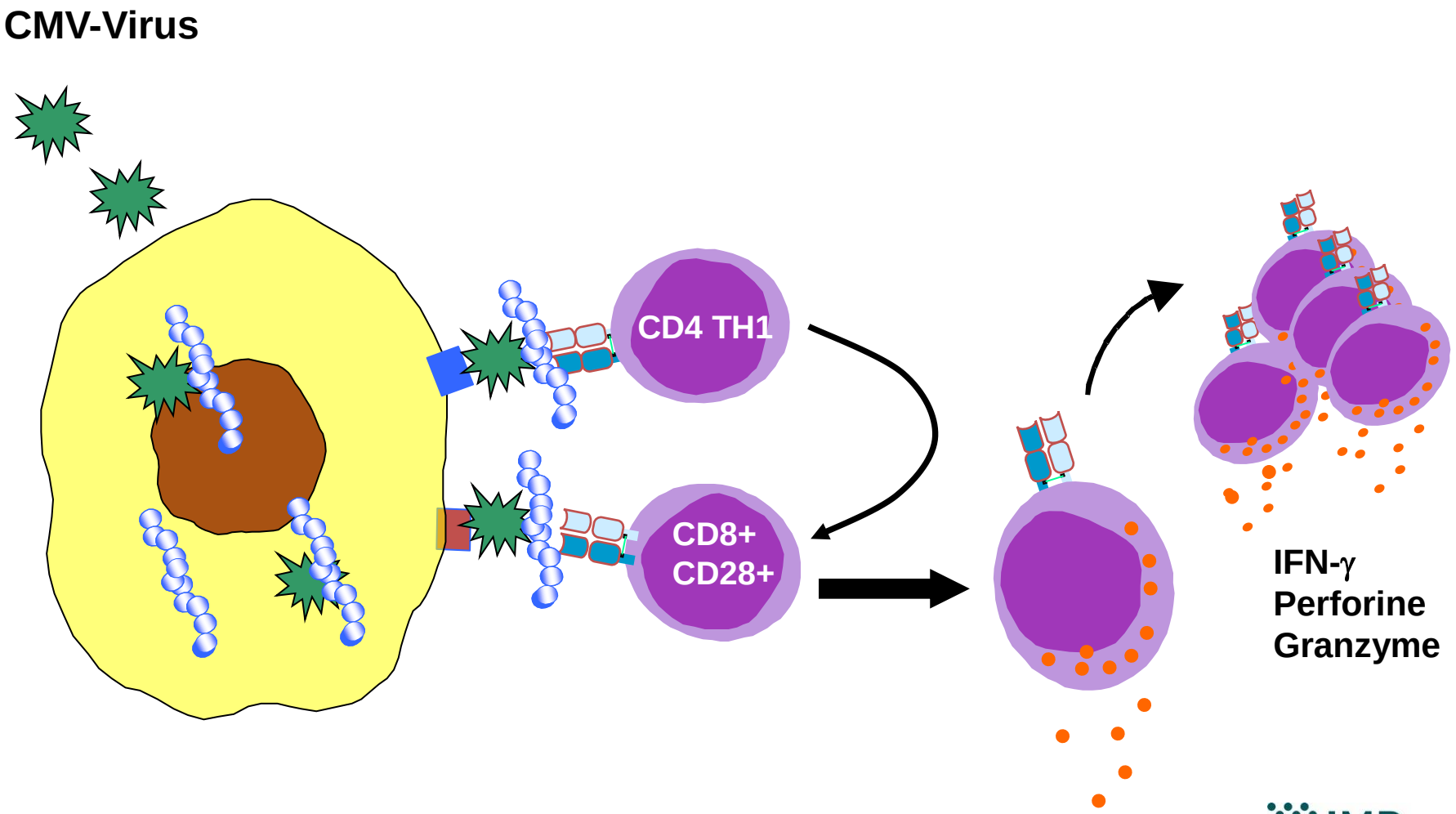
Zellen die „bekannte“ körpereigene Antigene präsentieren, werden nicht angegriffen, weil die entsprechenden T-Lymphozyten in der Reifungsphase negativ selektioniert wurden



Intaktes zelleigenes Protein

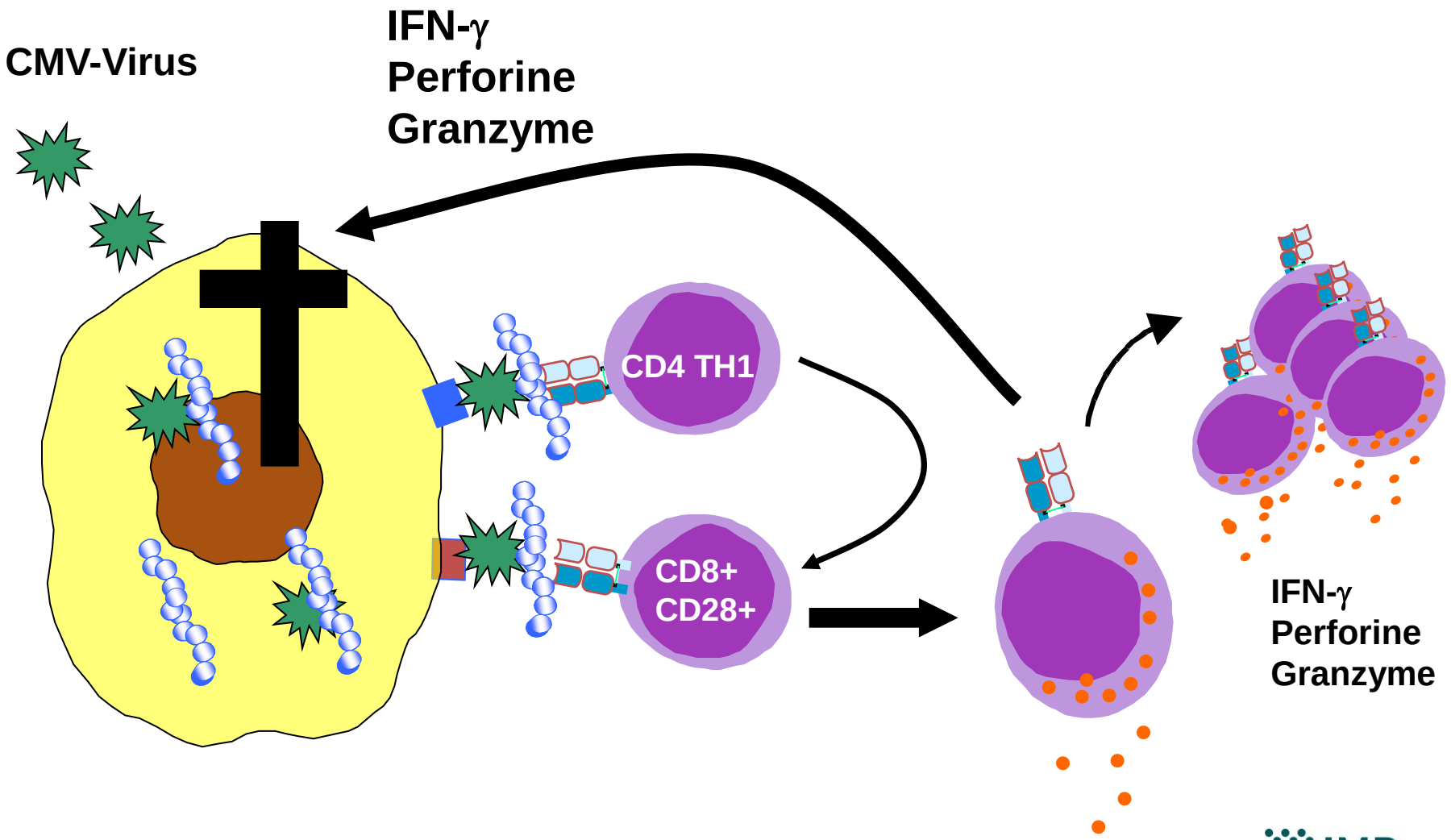
IMD Labor Berlin

Infizierte Zellen werden vom Immunsystem in der Akutphase erkannt .....



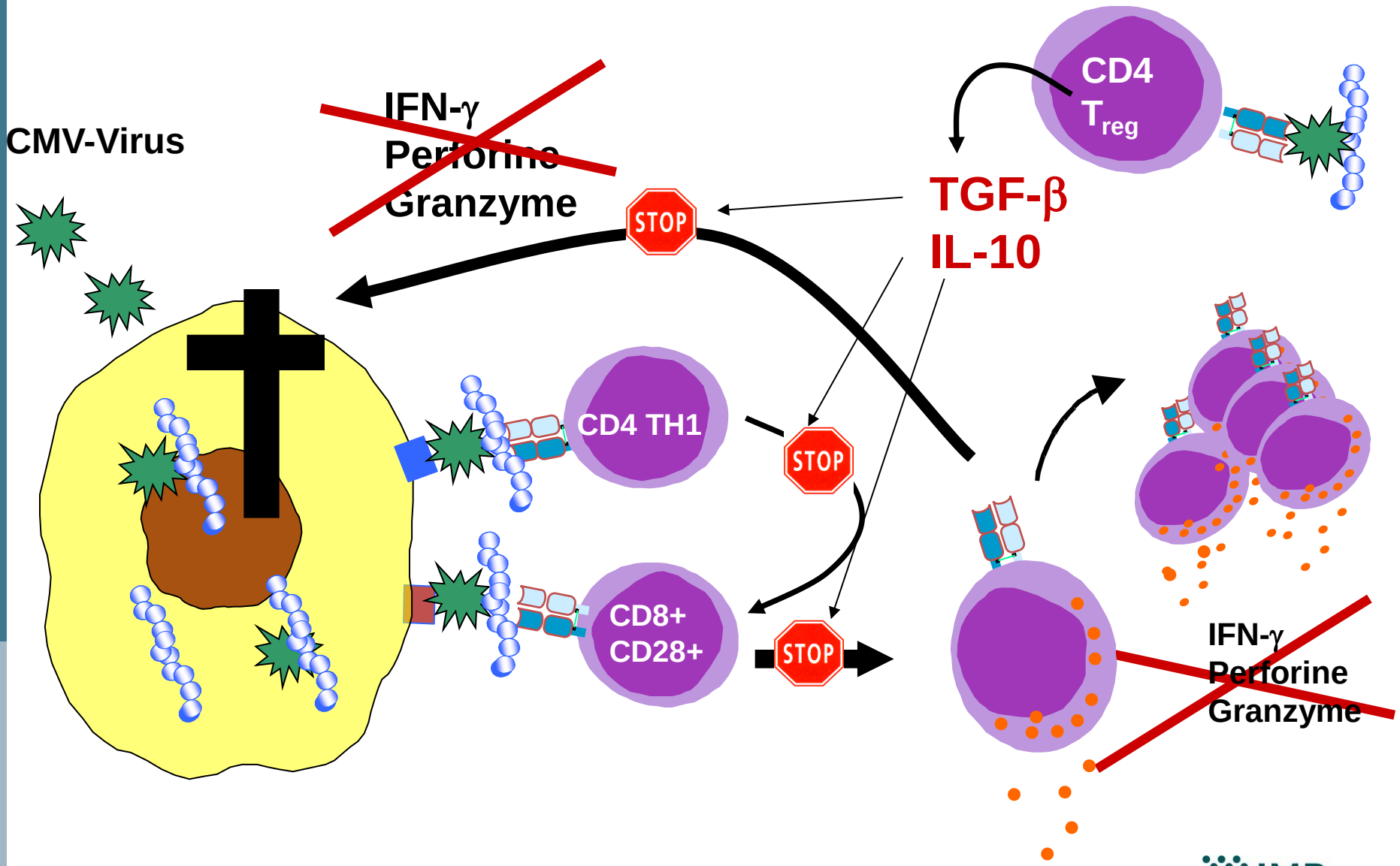
IMD Labor Berlin

... und angegriffen



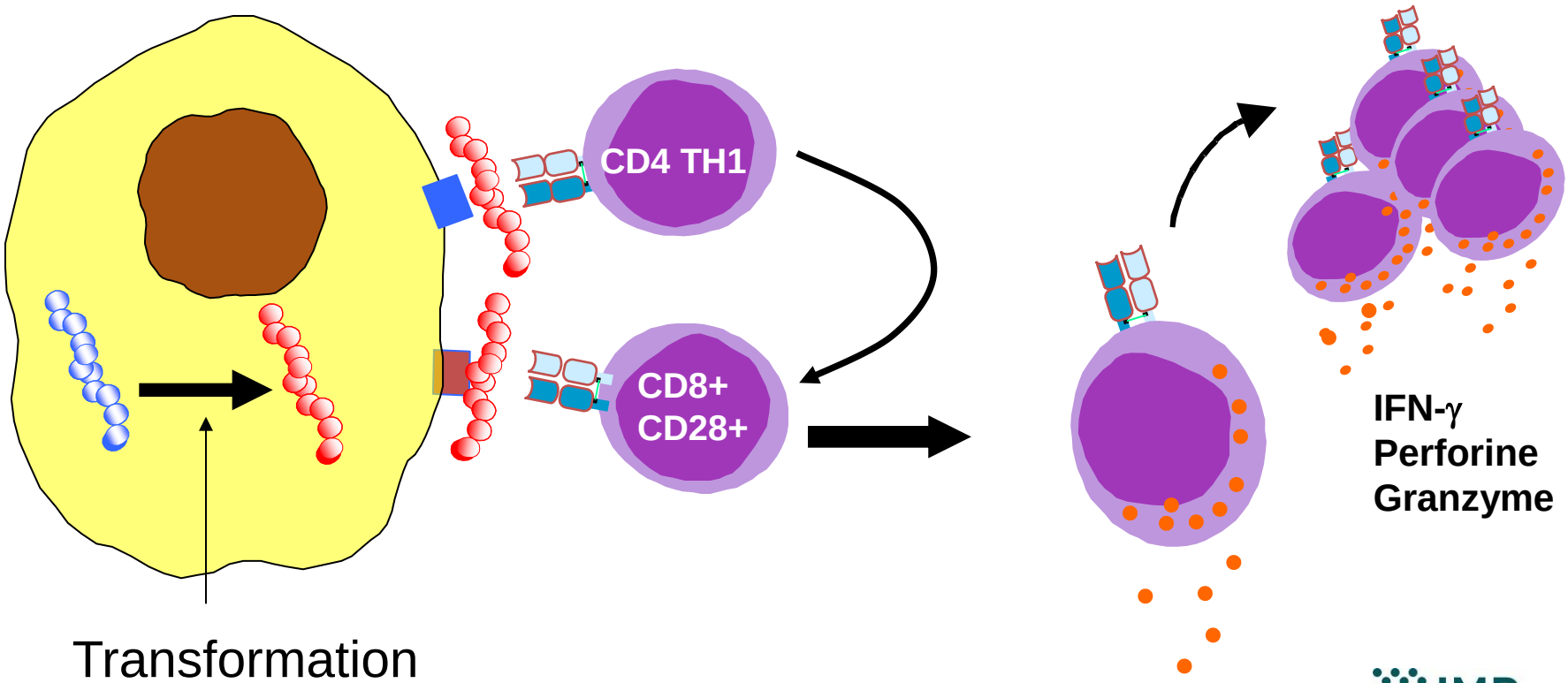
IMD Labor Berlin

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



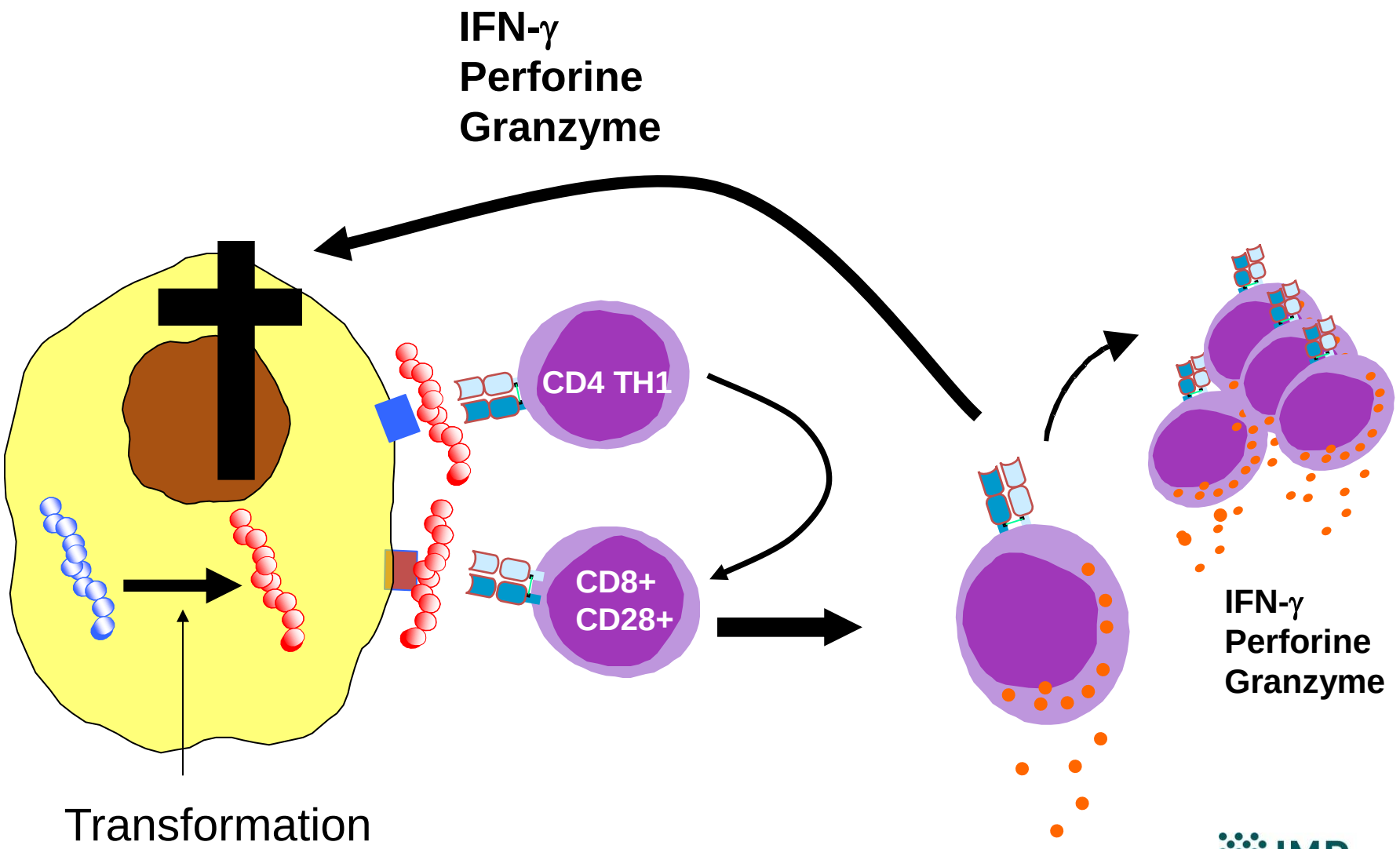
IMD Labor Berlin

Das gleiche passiert bei Tumorzellen



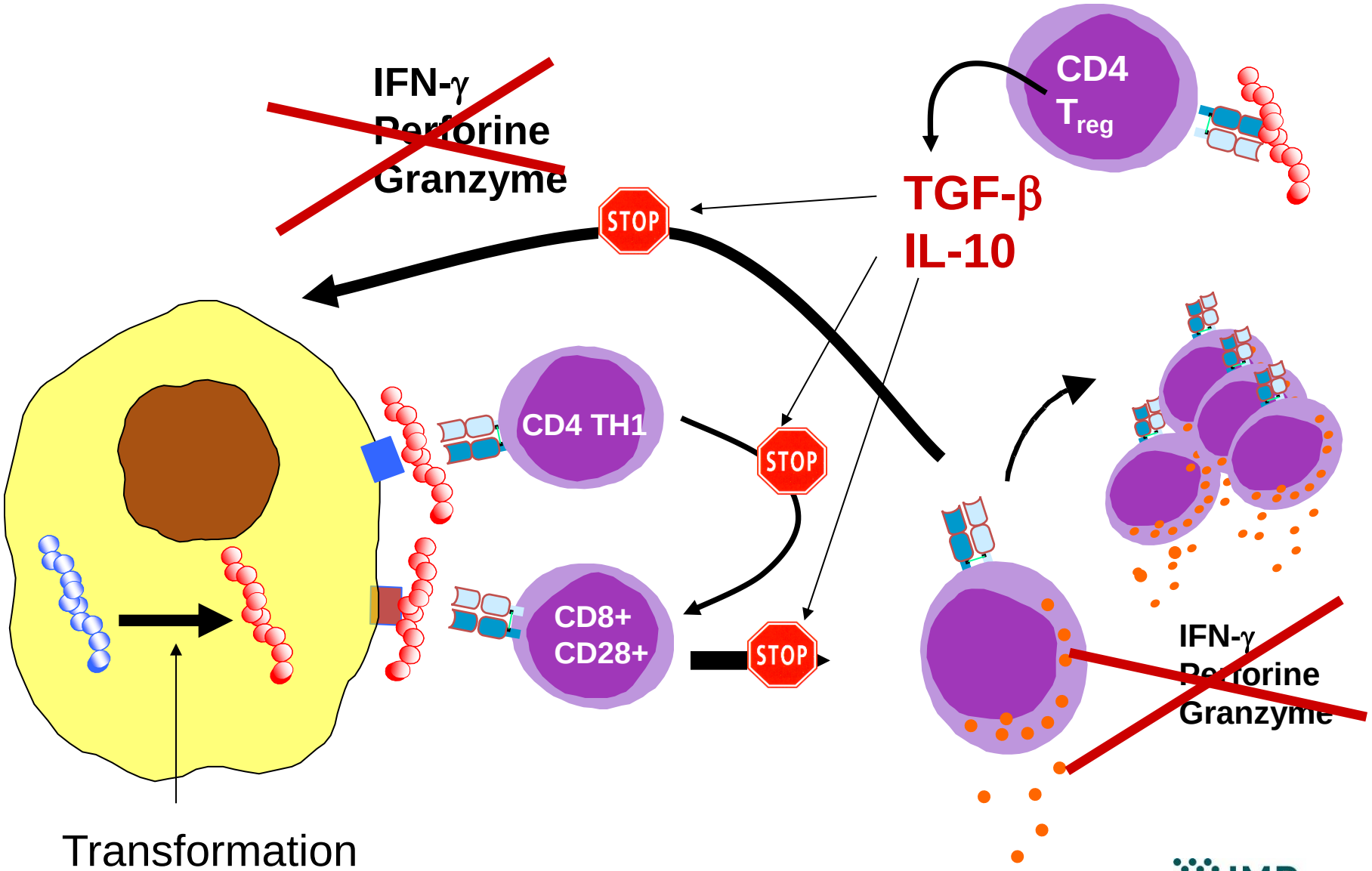
IMD Labor Berlin

Die Tumorzelle wird im Idealzustand eliminiert



IMD Labor Berlin

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



IMD Labor Berlin

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

B-Lymphozyten

Humorales Immunsystem

Defensine
Opsonine
Komplementsystem

Antikörper

IMD Labor Berlin

Quantitatives Immunprofil (EDTA-Blut)

Eingang	Ausgang	Versicherung	Kennz. OI/II/III
23.02.2016	23.02.2016	gratis	

Patient	Geburtsdatum	Tagesnummer	
Mustermann, Max	**01.02.1960**	**0326102407**	IMD Berlin-Potsdam MVZ GbR Nicolaistraße 22, 12247 Berlin (Steglitz) Telefon: +49 30 77001-220, Fax: +49 30 77001-236

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11

Der „übliche“„Immunstatus“ ist wenig hilfreich

IMD Labor Berlin

Er muss Tumorstatus-spezifische Marker berücksichtigen

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	333 /µl	300 - 1200	33 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			45 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	189 /µl	<230	17 %	< 18
memory T-Zellen (CD45RA-)	677 /µl	300 - 1300	67 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	194 /µl	238 - 448	30 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 /µl	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,3 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	36 /µl	35 - 120	10,5 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			63 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	453 /µl	100 - 370	70 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	0,43	1 - 2,8		

Immunkompetenz: reduziert - CD4-Zellen, B- und NK-Zellen vermindert, Thymusreserve (CD31+) vermindert
Immunaktivierung: deutliche Zeichen - erhöhte HLADR+ aktivierte T-Zellen (36%), inverse CD4/CD8-Ratio
Immuntoleranz: erhöht - Treg-Zellen mit 10,5 erhöht, hoher Anteil an CD39+ Treg (63%), CD8/CD28-Ratio mit 0,43 vermindert.

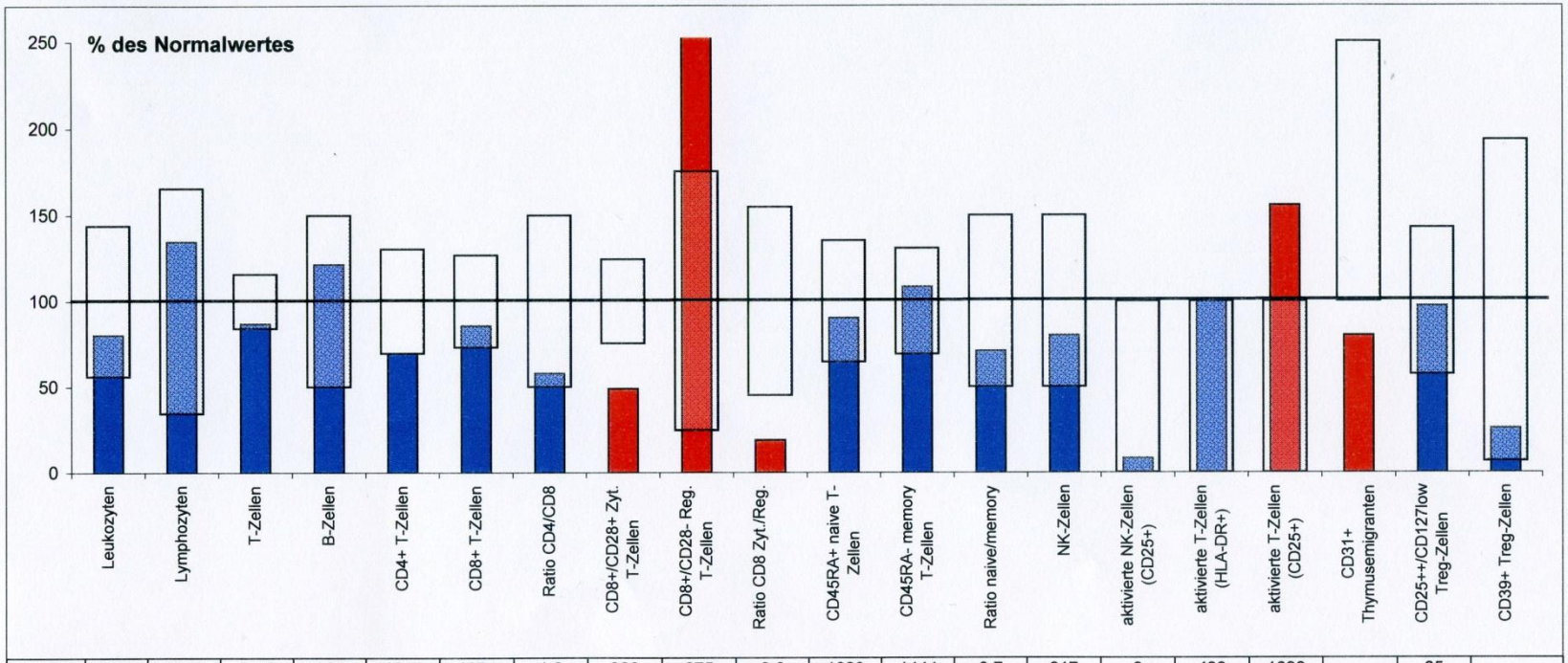
IMD Labor Berlin

Graphische Darstellung der Lymphozytensubpopulationen

Patient: [redacted]
geb. am:
Tagesnummer

Einsender: [redacted]
22529 Hamburg

Materialeingang vom: 07.10.2014 **Befundausgang am:** 08.10.2014



abs.	6300	3906	2473	664	1247	1074	1,2	398	675	0,6	1029	1444	0,7	617	9	433	1090	-	85	-
proz.	-	62	63	17	32	27	-	37	63	-	42,00	58	-	16	1,4	11	28	48	6,8	8

Normalwert
Zahlenwert des Patienten
pathologisch signifikant abweichende Werte

Bitte beachten Sie, daß für die klinische bzw. therapeutische Interpretation ausschließlich der offizielle Laborbefund ausschlaggebend ist.

IMD Labor Berlin

Thymusreserve = Anteil CD31+ naiver CD4-Zellen

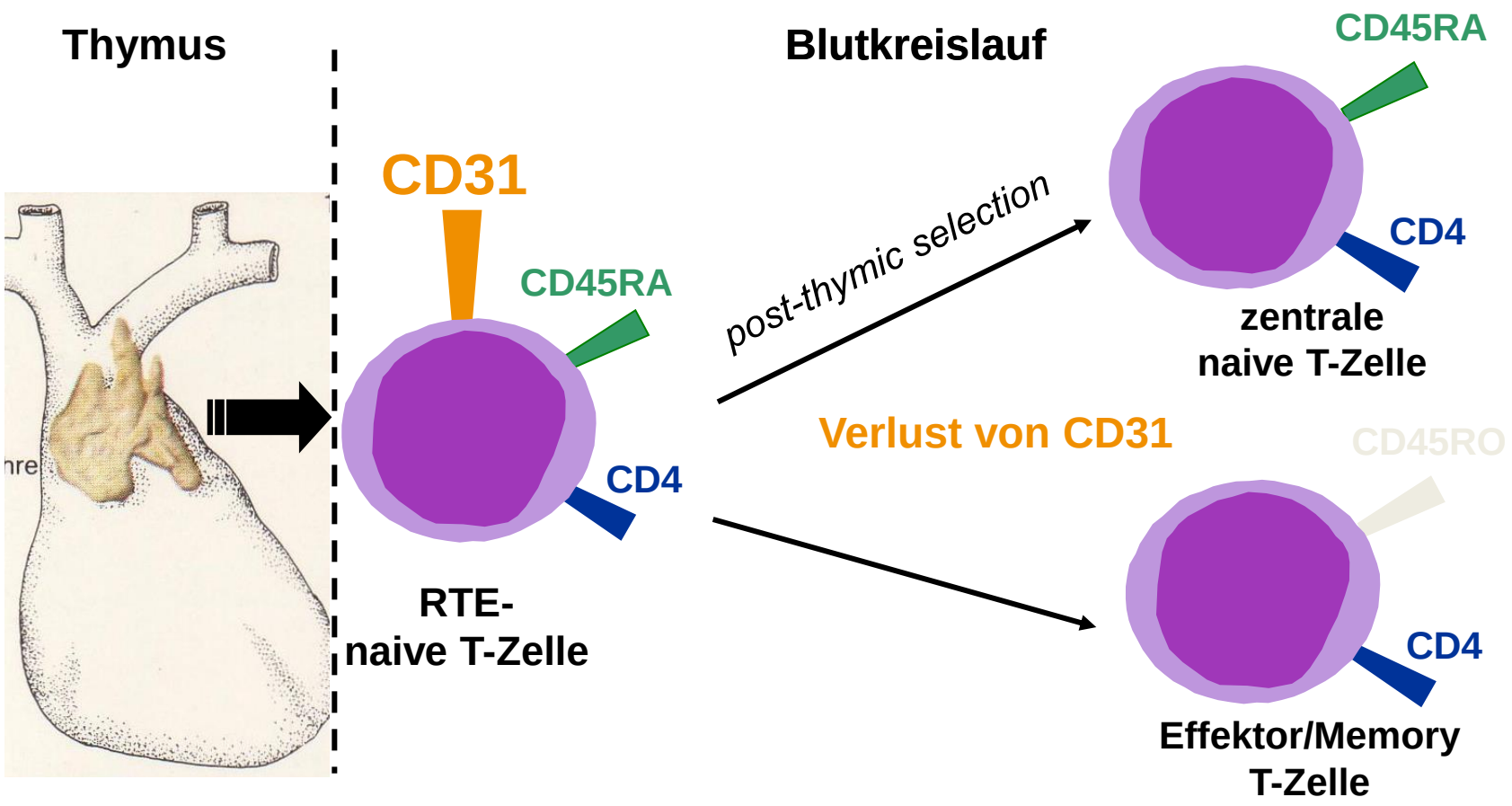
		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	333 /µl	300 - 1200	33 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			45 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	189 /µl	<230	17 %	< 18
memory T-Zellen (CD45RA-)	677 /µl	300 - 1300	67 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	194 /µl	238 - 448	30 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 /µl	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,3 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	36 /µl	35 - 120	10,5 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			63 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	453 /µl	100 - 370	70 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	0,43	1 - 2,8		

Immunkompetenz: reduziert - CD4-Zellen, B- und NK-Zellen vermindert, Thymusreserve (CD31+) vermindert
Immunaktivierung: deutliche Zeichen - erhöhte HLADR+ aktivierte T-Zellen (36%), inverse CD4/CD8-Ratio
Immuntoleranz: erhöht - Treg-Zellen mit 10,5 erhöht, hoher Anteil an CD39+ Treg (63%), CD8/CD28-Ratio mit 0,43 vermindert.

IMD Labor Berlin

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

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



IMD Labor Berlin

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

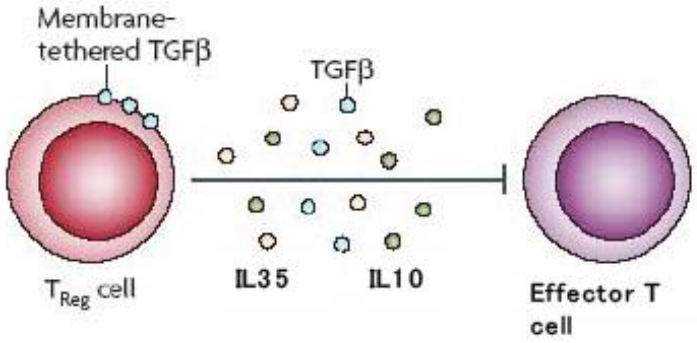
		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	333 /µl	300 - 1200	33 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			45 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	189 /µl	<230	17 %	< 18
memory T-Zellen (CD45RA-)	677 /µl	300 - 1300	67 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	194 /µl	238 - 448	30 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 /µl	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,3 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	36 /µl	35 - 120	10,5 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			63 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	453 /µl	100 - 370	70 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	0,43	1 - 2,8		

Immunkompetenz: reduziert - CD4-Zellen, B- und NK-Zellen vermindert, Thymusreserve (CD31+) vermindert
Immunaktivierung: deutliche Zeichen - erhöhte HLADR+ aktivierte T-Zellen (36%), inverse CD4/CD8-Ratio
Immuntoleranz: erhöht - Treg-Zellen mit 10,5 erhöht, hoher Anteil an CD39+ Treg (63%), CD8/CD28-Ratio mit 0,43 vermindert.

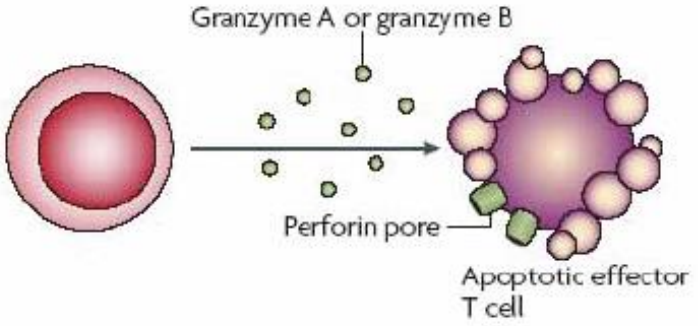
IMD Labor Berlin

Regulatorische T-Zellen wirken immunsuppressiv

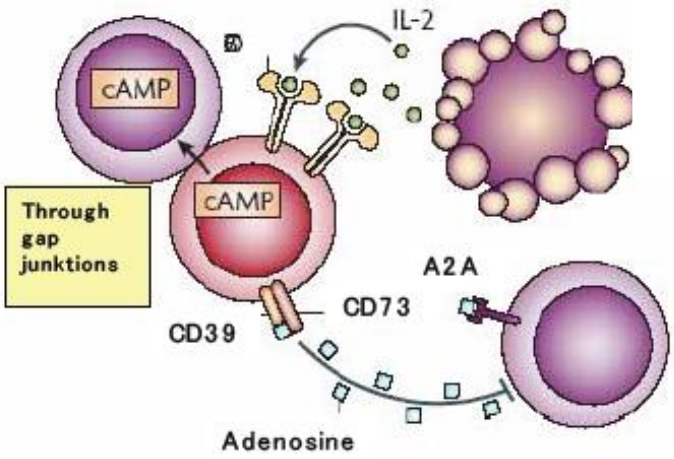
Hemmung über immun-suppressive Zytokine



Auslösung von T-Zell-Apoptose

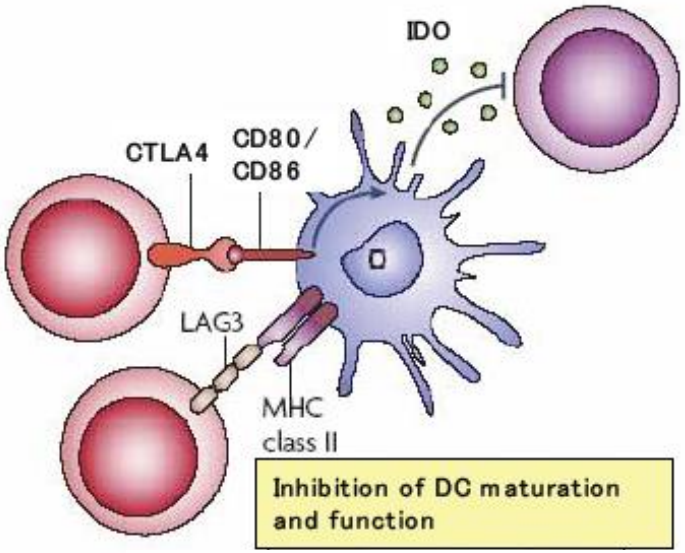


Entzug von IL-2

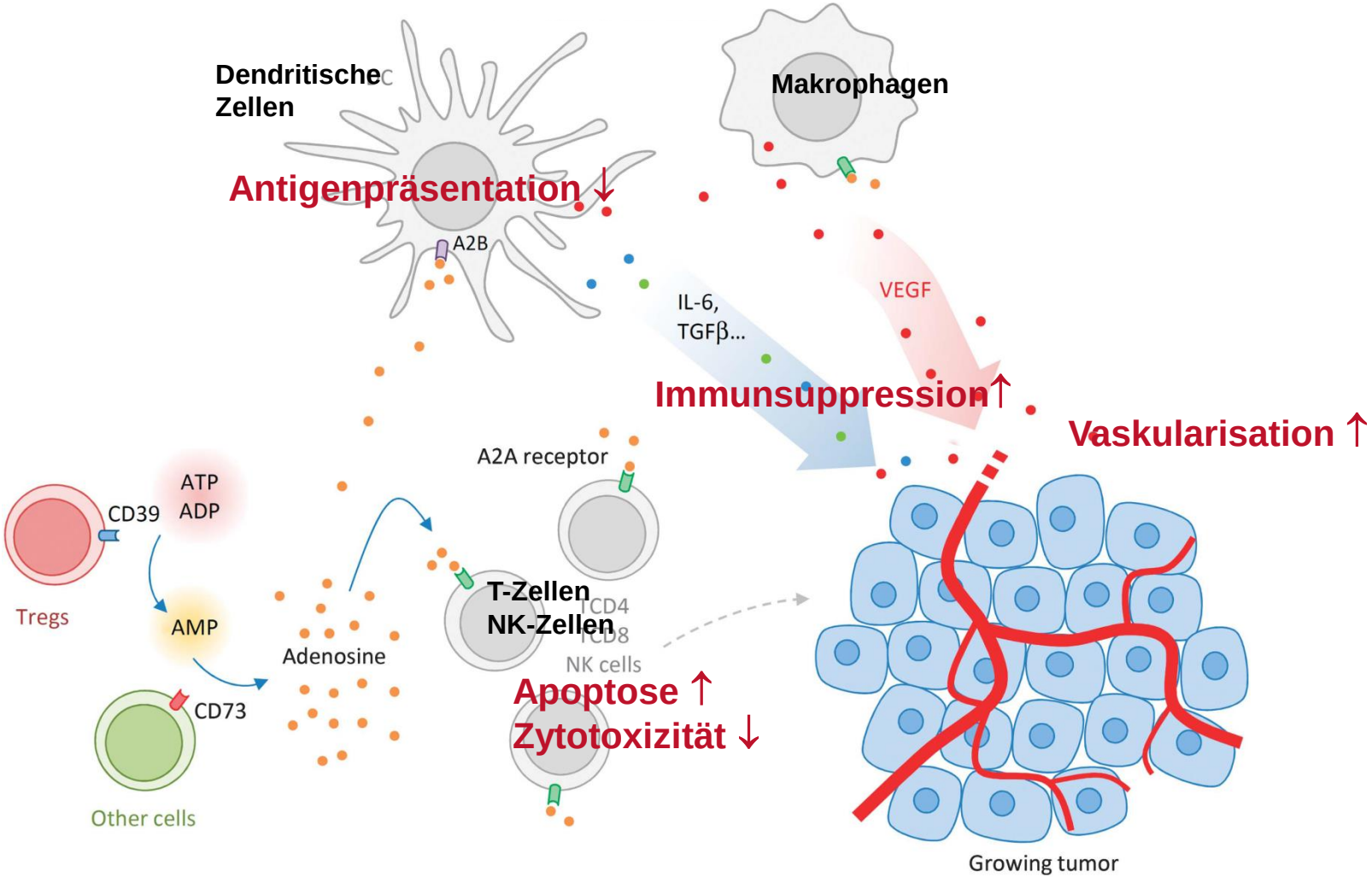


Vignali et al. Nature Reviews Immunologie 2008

Hemmung dendritischer Zellen



CD39+ T_{reg}-Zellen sind die „bösesten Buben“



CD39 = Ectonucleotidase (Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1 (ENTPD1)
VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor

Bastid et al., Oncogene 2013

IMD Labor Berlin

Welche Bedeutung haben die CD39+ T_{reg}-Zellen ?

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	333 /µl	300 - 1200	33 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			45 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	189 /µl	<230	17 %	< 18
memory T-Zellen (CD45RA-)	677 /µl	300 - 1300	67 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	194 /µl	238 - 448	30 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 /µl	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,3 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	36 /µl	35 - 120	10,5 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			63 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	453 /µl	100 - 370	70 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	0,43	1 - 2,8		

Immunkompetenz: reduziert - CD4-Zellen, B- und NK-Zellen vermindert, Thymusreserve (CD31+) vermindert
Immunaktivierung: deutliche Zeichen - erhöhte HLADR+ aktivierte T-Zellen (36%), inverse CD4/CD8-Ratio
Immuntoleranz: erhöht - Treg-Zellen mit 10,5 erhöht, hoher Anteil an CD39+ Treg (63%), CD8/CD28-Ratio mit 0,43 vermindert.

IMD Labor Berlin

TGF-β ist hinweisend auf die Funktion der T_{reg}-Zellen

Untersuchung		Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S.	(CLIA)	22.5	pg/ml	< 8.1
Interleukin 6 i.S.	(CLIA)	19.5	pg/ml	< 3.8
Hinweis auf systemische myelomonozytäre Entzündung				
IP-10 i.Serum	(PIA)	1944	pg/ml	< 900
Ein erhöhtes IP10 spricht für eine TH1-dominante systemische T-Lymphozytenaktivierung.				
Löslicher IL2-Rezeptor i.S.	(CLIA)	1323	U/ml	< 710
TGF-beta i.S.	(ELISA)	95.4	ng/ml	18.3 - 63.4
Erhöhung des antientzündlichen Zytokins TGF-beta, was aufgrund seiner immunsuppressorischen Eigenschaften prognostisch ungünstig sein kann.				

IMD Labor Berlin

Wie ist der CD28-Status ?

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	333 /µl	300 - 1200	33 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			45 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	189 /µl	<230	17 %	< 18
memory T-Zellen (CD45RA-)	677 /µl	300 - 1300	67 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	194 /µl	238 - 448	30 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 /µl	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,3 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	36 /µl	35 - 120	10,5 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			63 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	453 /µl	100 - 370	70 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	0,43	1 - 2,8		

Immunkompetenz: reduziert - CD4-Zellen, B- und NK-Zellen vermindert, Thymusreserve (CD31+) vermindert
Immunaktivierung: deutliche Zeichen - erhöhte HLADR+ aktivierte T-Zellen (36%), inverse CD4/CD8-Ratio
Immuntoleranz: erhöht - Treg-Zellen mit 10,5 erhöht, hoher Anteil an CD39+ Treg (63%), CD8/CD28-Ratio mit 0,43 vermindert.

IMD Labor Berlin

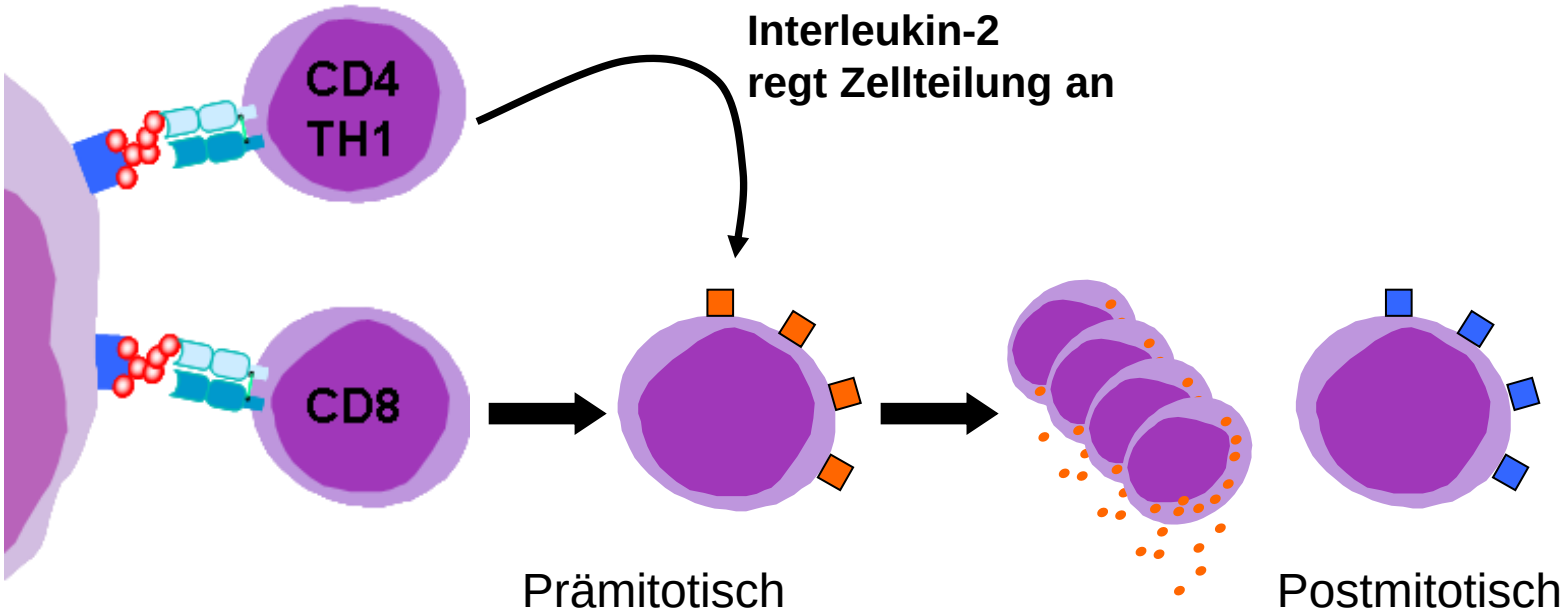
Liegt schon eine Immunaktivierung vor ?

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	333 /µl	300 - 1200	33 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			45 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	189 /µl	<230	17 %	< 18
memory T-Zellen (CD45RA-)	677 /µl	300 - 1300	67 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	194 /µl	238 - 448	30 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 /µl	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,3 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	36 /µl	35 - 120	10,5 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			63 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	453 /µl	100 - 370	70 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	0,43	1 - 2,8		

Immunkompetenz: reduziert - CD4-Zellen, B- und NK-Zellen vermindert, Thymusreserve (CD31+) vermindert
Immunaktivierung: deutliche Zeichen - erhöhte HLADR+ aktivierte T-Zellen (36%), inverse CD4/CD8-Ratio
Immuntoleranz: erhöht - Treg-Zellen mit 10,5 erhöht, hoher Anteil an CD39+ Treg (63%), CD8/CD28-Ratio mit 0,43 vermindert.

IMD Labor Berlin

Oberflächenmoleküle zeigen die T-Zellaktivierung an



Prämitotisch
Expression der α-Kette
des IL-2 Rezeptors **= CD25**

$\Rightarrow$ **Zellteilung**
$\Rightarrow$ **T-Zell-Präaktivierung**

Postmitotische
Expression des
Moleküls **HLA-DR**

$\Rightarrow$ **persitierende Expression auf aktivierten Effektorzellen**

IMD Labor Berlin

IP-10 – ein Serummarker für die TH1-Immunaktivierung

(IP-10 = IFN-γ-inducible protein 10)

Untersuchung		Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TNF-alpha i.S.	(CLIA)	22.5	pg/ml	< 8.1
Interleukin 6 i.S.	(CLIA)	19.5	pg/ml	< 3.8
Hinweis auf systemische myelomonozytäre Entzündung				
IP-10 i.Serum	(PIA)	1944	pg/ml	< 900
Ein erhöhtes IP10 spricht für eine TH1-dominante systemische T-Lymphozytenaktivierung.				
Löslicher IL2-Rezeptor i.S.	(CLIA)	1323	U/ml	< 710
TGF-beta i.S.	(ELISA)	95.4	ng/ml	18.3 - 63.4
Erhöhung des antientzündlichen Zytokins TGF-beta, was aufgrund seiner immunsuppressorischen Eigenschaften prognostisch ungünstig sein kann.				

Die IP-10/TGF-β-Ratio beachten !

Anstieg: Stärkung der systemischen zytotoxischen Immunantwort

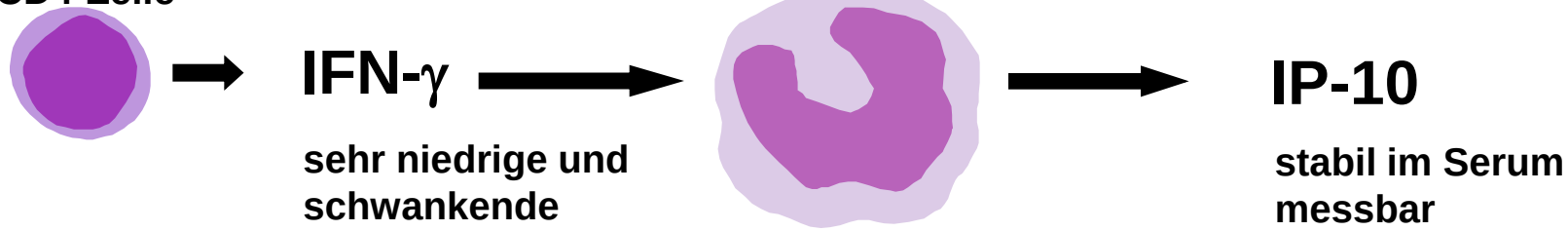
Abfall: ungünstige Prognose ! → Änderung der Therapie

IMD Labor Berlin

IP-10 – ein Serummarker für die TH1-Immunaktivierung

(IP-10 = IFN-γ-inducible protein 10)

aktivierte TH1-CD4-Zelle



IFN-γ

sehr niedrige und schwankende Serumspiegel

IP-10

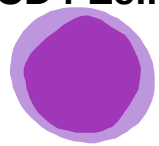
stabil im Serum messbar

IMD Labor Berlin

IP-10 – ein Serummarker für die TH1-Immunaktivierung

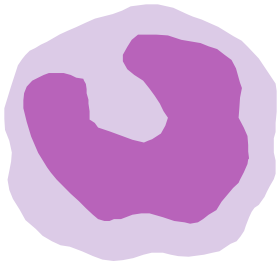
(IP-10 = IFN-γ-inducible protein 10)

aktivierte TH1-CD4-Zelle



→ **IFN-γ**

sehr niedrige und schwankende Serumspiegel

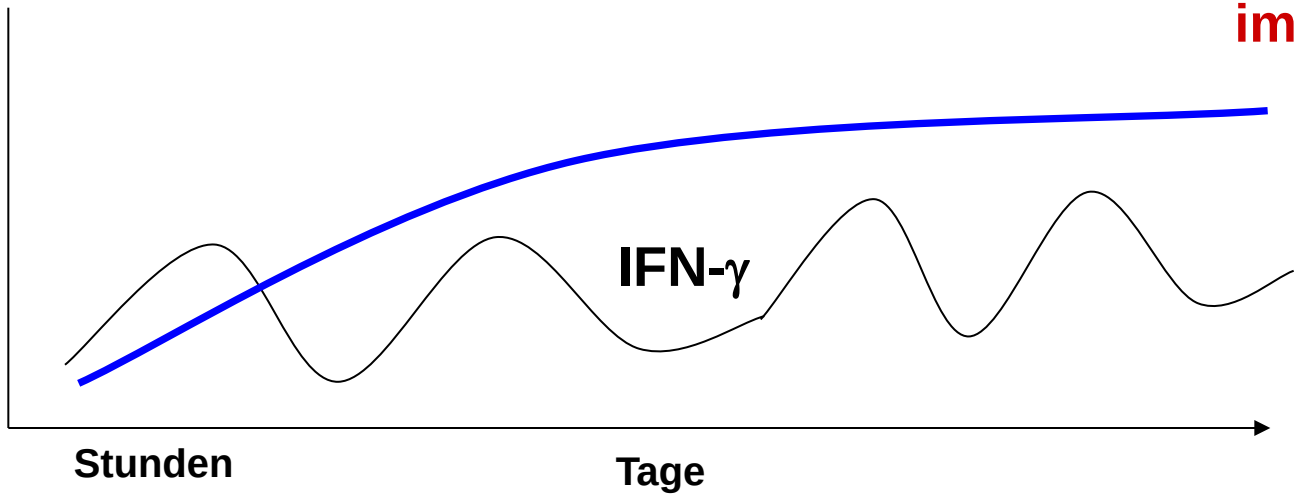


→ **IP-10**

stabil im Serum messbar

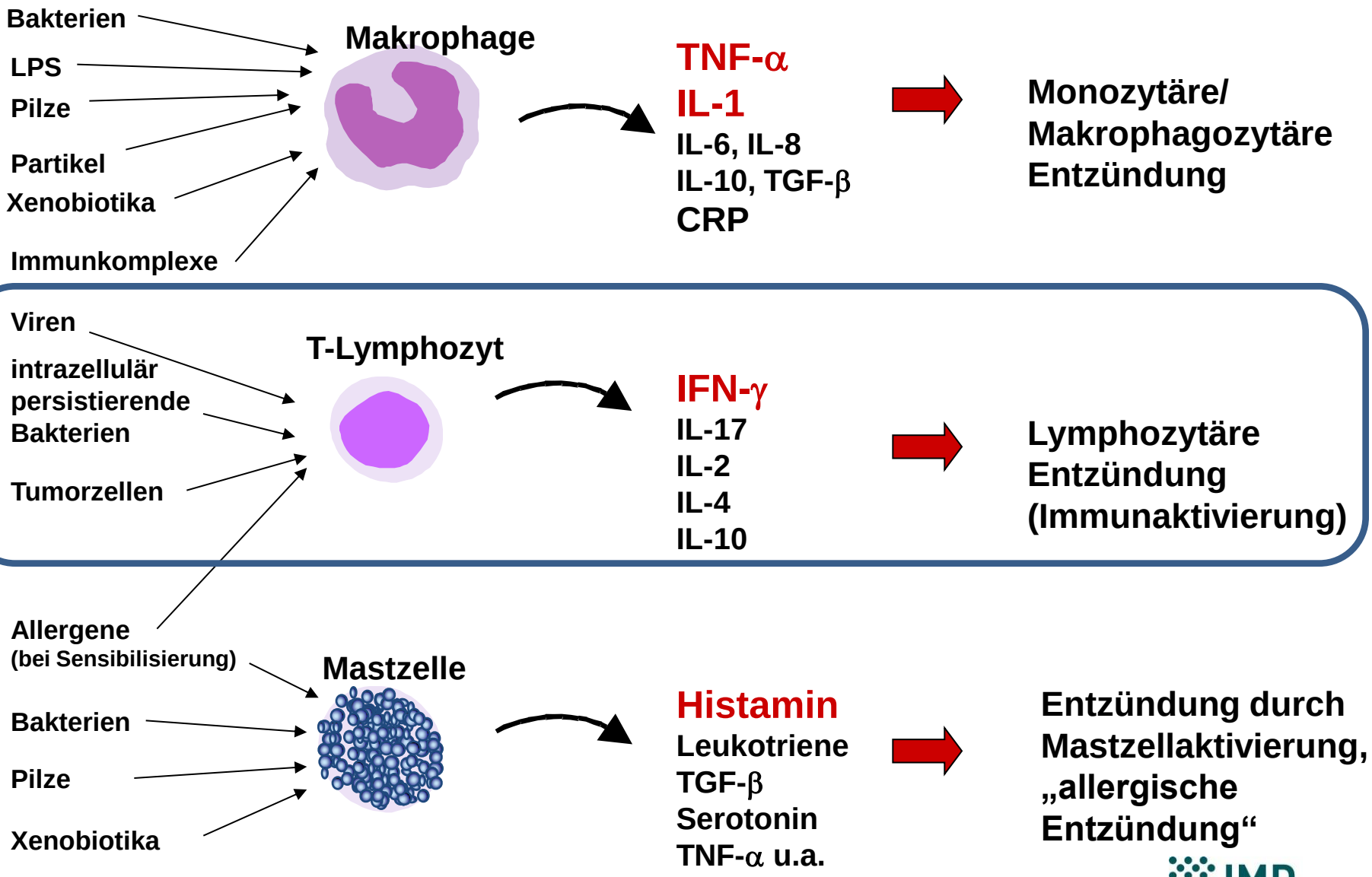
pg/ml im Serum

IP-10-Spiegel im Blut



IMD Labor Berlin

Wir haben drei „Entzündungssysteme“
Sinnvoll für die Tumorabwehr ist nur eines davon



IMD Labor Berlin

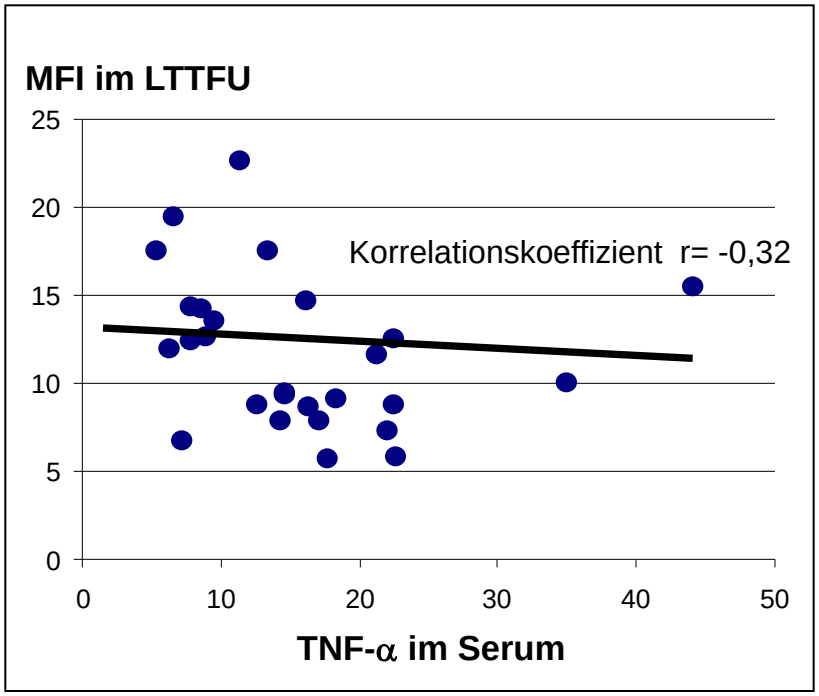
Immunaktivierung = Immunkompetenz

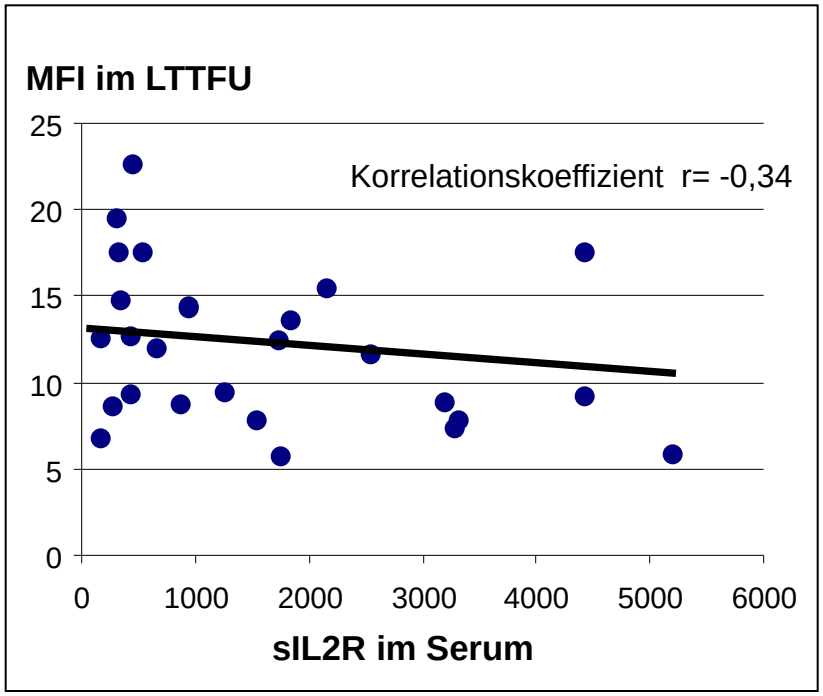
?

IMD Labor Berlin

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





IMD Labor Berlin

Hier ist eine ungezielte Immunstimulation falsch !

		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7400 /µl	3900 - 10200		
Lymphozyten	1110 /µl	1100 - 4500	15 %	20 - 44
Monozyten	518 /µl	100 - 900	7 %	2 - 9,5
Granulozyten	5772 /µl	2400 - 7400	78 %	42 - 75
Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	0 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /µl	280 - 930	58 %	23 - 40
naive T-Zellen (CD45RA+)	333 /µl	300 - 1200	33 %	30 - 63
Thymusreserve (CD31+)			45 %	> 49
Immunaktivierung				
CD4/CD8-Ratio	0,53	1 - 3		
aktivierte T-Zellen (HLA-DR+)	400 /µl	<230	36 %	< 11
präaktivierte T-Zellen (CD25+)	189 /µl	<230	17 %	< 18
memory T-Zellen (CD45RA-)	677 /µl	300 - 1300	67 %	37 - 70
CD8+/CD28+ (zytotoxisch)	194 /µl	238 - 448	30 %	49 - 73
aktivierte NK-Zellen	1 /µl	<40	2 %	< 17
CD4+/CD8+ T-Zellen			1,3 %	< 5
Immuntoleranz				
Treg (CD4+/CD25++/CD127low)	36 /µl	35 - 120	10,5 %	4 - 10
Anteil CD39+ Treg			63 %	< 54
CD8+/CD28- (regulatorisch)	453 /µl	100 - 370	70 %	26 - 51
CD8/CD28-Ratio	0,43	1 - 2,8		

Immunkompetenz: reduziert - CD4-Zellen, B- und NK-Zellen vermindert, Thymusreserve (CD31+) vermindert
Immunaktivierung: deutliche Zeichen - erhöhte HLADR+ aktivierte T-Zellen (36%), inverse CD4/CD8-Ratio
Immuntoleranz: erhöht - Treg-Zellen mit 10,5 erhöht, hoher Anteil an CD39+ Treg (63%), CD8/CD28-Ratio mit 0,43 vermindert.

IMD Labor Berlin

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

Immunfunktionsanalysen

T-Lymphozyten	⇒ LTT-Immunfunktion
NK-Zellen	⇒ NK-Zell-Funktionstest
Granulozyten	⇒ Phagozytosetest *Respiratory Burst* Test
B-Lymphozyten	⇒ IgG, IgA, IgM im Serum
Komplement	⇒ Komplementteste CH50 und AP50 Der CH100-Test sollte nicht mehr durchgeführt werden !

IMD Labor Berlin

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)

IMD Labor Berlin

LTT Immunfunktion + Präparateuntersuchung

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)

IMD Labor Berlin

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

Immunkompetenz				
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	91 %	61 - 84
B-Zellen	33 /µl	120 - 630	3 %	7 - 21
NK-Zellen	56 /µl	210 - 740	5 %	10 - 30
CD4+ T-Helferzellen	343 /µl	550 - 1460	31 %	32 - 60
CD8+ T-Zellen	646 /ul	280 - 930	58 %	23 - 40

... aber die NK-Zellfunktion

Funktion ⇒
Stimulierbarkeit ⇒

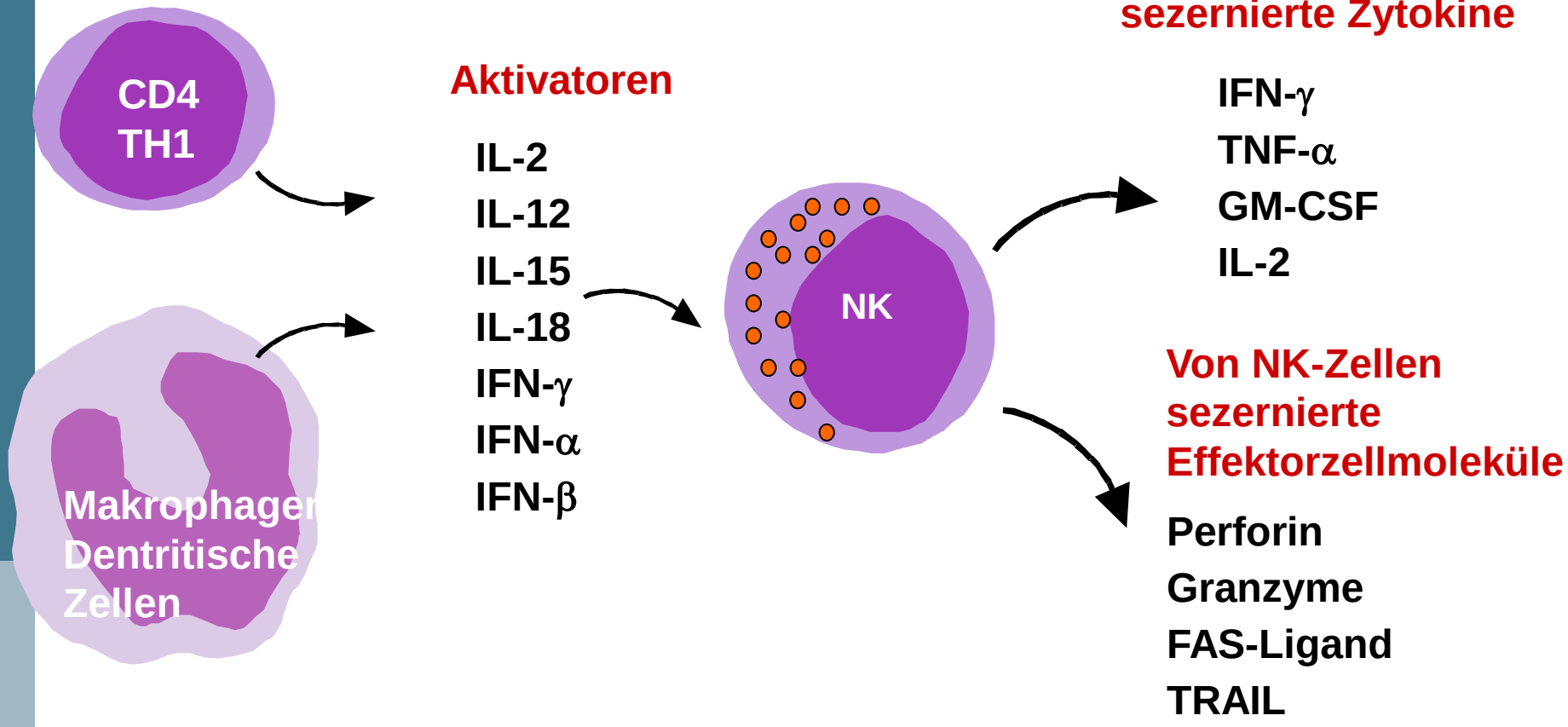
Tumorzell-Apoptose-Rate	9.8	%
Apoptose-Rate-IL2-stimuliert	31.4	%

Interpretation

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

IMD Labor Berlin

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



IMD Labor Berlin

Eine TH2-Dominanz ist kontraproduktiv, weil dann die TH1-Hilfefunktion für T- und NK-Zellen fehlt

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
TH1/TH2 - Balance			
Angegeben sind die Zytokinkonzentrationen nach 24 Stunden Stimulation mit ConA/SEB.			
Bitte beachten Sie die geänderten Referenzbereiche (Okt.2013)!			
IFN-g (TH1)	440	pg/ml	374 - 1660
IL-4 (TH2)	**355**	pg/ml	40 - 198
TH1/TH2 Ratio	**1.24**		3.5 - 11

Die stimulierte Zytokinfreisetzung der T-Lymphozyten zeigt einen expandierten TH2-Zell-Anteil (erhöhtes IL-4).
Die TH1-Antwort (IFNg) ist unauffällig.
Dieses spricht für eine TH2 > TH1-Dysbalance, typisch für eine atopische Immundeviation (DD: Parasitose, chronisch entzündliche Erkrankung).

Achtung:

IFN-γ und IL-4 werden hier nicht im Blut bestimmt sondern ev vivo nach Mitogenstimulation der Patientenzellen

IMD Labor Berlin

TH1-Modulatoren können im Labor vorselektiert werden !

E-Mail info@imd-berlin.de

Eingang [redacted] Ausgang **31.05.16**

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich*
Antigenstimul. TH1/TH2-Profil (5)			
Bei den in vitro-induzierten Zytokinsekretionen sind strenge (pathologische) Grenzbereiche nicht verfügbar, da die Interpretation der Antigen-stimulierten Zytokinwerte von der Belastungssituation und dem Zytokinsekretionsmuster abhängt. Die Ergebnisse für die dargestellten Analysen sind die durch die Testantigene induzierten Zytokine abzüglich der Basalwerte.			
IFN g-Basal	< 3.2	pg/ml	
IL 10-Basal	< 3.2	pg/ml	
IFN g-Antigen 1	<0.1	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 1	<0.1	pg/ml	< 10.0
Boswellia serrata			
IFN g-Antigen 2	**22.4**	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 2	**63.2**	pg/ml	< 10.0
Utilin			
IFN g-Antigen 3	<0.1	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 3	<0.1	pg/ml	< 10.0
Latensin			
IFN g-Antigen 4	**322**	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 4	**14.5**	pg/ml	< 10.0
Bronchovaxom			
IFN g-Antigen 5	<0.1	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 5	**433**	pg/ml	< 10.0
Shiitake			

Interpretation

Bronchovaxom und Utilin zeigen eine Stimulation der TH1-Lymphozyten wobei beim Bronchovaxom die TH1-Dominanz stärker ausgeprägt ist. Shiitake zeigt nur eine Induktion des antientzündlich wirksamen IL-10. Die beiden anderen Präparate haben in vitro keinen Effekt auf die T-Lymphozyten.

IMD Labor Berlin

TH1-Modulatoren können im Labor vorselektiert werden !

E-Mail info@imd-berlin.de

Eingang [redacted] Ausgang **31.05.16**

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich*
Antigenstimul. TH1/TH2-Profil (5)			
Bei den in vitro-induzierten Zytokinsekretionen sind strenge (pathologische) Grenzbereiche nicht verfügbar, da die Interpretation der Antigen-stimulierten Zytokinwerte von der Belastungssituation und dem Zytokinsekretionsmuster abhängt. Die Ergebnisse für die dargestellten Analysen sind die durch die Testantigene induzierten Zytokine abzüglich der Basalwerte.			
IFN g-Basal	< 3.2	pg/ml	
IL 10-Basal	< 3.2	pg/ml	
IFN g-Antigen 1	<0.1	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 1	<0.1	pg/ml	< 10.0
Boswellia serrata			
IFN g-Antigen 2	**22.4**	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 2	**63.2**	pg/ml	< 10.0
Utilin			
IFN g-Antigen 3	<0.1	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 3	<0.1	pg/ml	< 10.0
Latensin			
IFN g-Antigen 4	**322**	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 4	**14.5**	pg/ml	< 10.0
Bronchovaxom			
IFN g-Antigen 5	<0.1	pg/ml	< 0.2
IL 10-Antigen 5	**433**	pg/ml	< 10.0
Shiitake			

Interpretation

Bronchovaxom und Utilin zeigen eine Stimulation der TH1-Lymphozyten wobei beim Bronchovaxom die TH1-Dominanz stärker ausgeprägt ist. Shiitake zeigt nur eine Induktion des antientzündlich wirksamen IL-10. Die beiden anderen Präparate haben in vitro keinen Effekt auf die T-Lymphozyten.

IMD Labor Berlin

Lässt sich mit einem Labortest seriös vorhersagen, welche Präparate die NK-Zellen eines individuellen Patienten aktivieren können?

IMD Labor Berlin

Patient	Ext.-Nr.: E1LSE	Tagebuch-Nr.	Geburtsdatum/Geschlecht	Institut für Medizinische Diagnostik Labor Berlin-Potsdam MVZ GbR Telefon 030 770 01-322 Fax 030 770 01-332 E-Mail info@imd-berlin.de
Eingang	Ausgang **31.05.16**			

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich*
NK-Zell-Modulatortest			
Es wird die Aktivierbarkeit von NK-Zellen nach Inkubation mit Immunmodulatoren anhand der induzierten Expression des NK-Zell-Aktivierungsmarkers CD69 auf der Zelloberfläche bestimmt.			
Basalwert	4.1	%	**Negativkontrolle**
Mitogen-Aktivierung	95.8	%	**Positivkontrolle**
Modulator 1	15.1	%	
Biobran			
Modulator 2	4.8	%	
Procurmin			
Modulator 3	12.6	%	
Latensin			
Modulator 4	4.2	%	
Shiitake			

Biobran und Latensin zeigen einen deutlichen aktivierenden Effekt auf die Natürlichen Killerzellen der Patientin. Die anderen beiden Präparate sind ohne Effekt.

In diesem Fall zeigen Biobran und Latensin einen deutlichen Effekt.

IMD Labor Berlin

Patient	Ext.-Nr.: E1LSE	Tagebuch-Nr.	Geburtsdatum/Geschlecht	Institut für Medizinische Diagnostik Labor Berlin-Potsdam MVZ GbR Telefon 030 770 01-322 Fax 030 770 01-332 E-Mail info@imd-berlin.de
Eingang	Ausgang **31.05.16**			

Untersuchung	**Ergebnis**	**Einheit**	**Referenzbereich***
NK-Zell-Modulatortest			
Es wird die Aktivierbarkeit von NK-Zellen nach Inkubation mit Immunmodulatoren anhand der induzierten Expression des NK-Zell-Aktivierungsmarkers CD69 auf der Zelloberfläche bestimmt.			
Basalwert	4.1	%	**Negativkontrolle**
Mitogen-Aktivierung	95.8	%	**Positivkontrolle**
Modulator 1	15.1	%	
Biobran			
Modulator 2	4.8	%	
Procurmin			
Modulator 3	12.6	%	
Latensin			
Modulator 4	4.2	%	
Shiitake			

Biobran und Latensin zeigen einen deutlichen aktivierenden Effekt auf die Natürlichen Killerzellen der Patientin. Die anderen beiden Präparate sind ohne Effekt.

In diesem Fall zeigen Biobran und Latensin einen deutlichen Effekt.

IMD Labor Berlin

Basistherapie bei Tumorpatienten

1.

Kontrolle und Ausgleich der essentiellen Spurenelemente (Mineralstoffe)

... weil > 200 Enzyme allein im Immunsystem und antioxidativen Schutzsystem als Metalloenzyme von ihnen abhängig sind

IMD Labor Berlin

Ärztlicher Befundbericht

Patient	Tagebuch-Nr.	Geburtsdatum	Institut für Medizinische Diagnostik Nicolaistraße 22, 12247 Berlin (Steglitz) Tel.: 030 770 01-220 Fax. 030 770 01-236
		02.08.1972	

Eingang 01.12.2015	Ausgang 03.12.2015

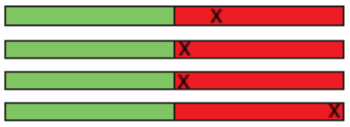
Mineralstoffanalyse im Vollblut - großes Profil (ICP-MS)

Die Analyse erfolgte im lysierten Heparin-Vollblut zur Bestimmung der intra- und extrazellulären lokalisierten Spurenelementen.

Analyt	Ergebnis		Referenzbereich	Abweichung vom Median
Magnesium	**31,5**	mg/l	30 - 40	- 8 %
Selen	**90,1**	µg/l	85 - 147	- 16 %
Zink	**4,9**	mg/l	4,5 - 7,5	- 9 %
Calcium	**58**	mg/l	55 - 70	- 5 %
Kalium	**1586**	mg/l	1386 - 1950	0 %
Phosphor	**463**	mg/l	403 - 577	7 %
Chrom	**0,25**	µg/l	0,14 - 0,52	4 %
Kupfer	**0,85**	mg/l	0,70 - 1,39	4 %
Mangan	**6,5**	µg/l	8,3 - 15,0	- 42 %
Molybdän	**0,5**	µg/l	0,3 - 1,3	0 %

Wechselwirkungen mit toxischen Metallen:

Blei	**49,9**	µg/l	< 28
Cadmium	**0,6**	µg/l	< 0,6
Nickel	**4,8**	µg/l	< 3,8
Quecksilber	**4,6**	µg/l	< 1,0



Bewertung:

Hinweis auf eine Unterversorgung mit Mangan. Die übrigen untersuchten Mineralstoffe liegen im Normbereich.

Mit Hinblick auf den leicht erhöhten Cadmiumwert sowie die mäßige erhöhten Werte von Blei, Nickel und Quecksilber beachten Sie bitte, dass Blei den Mineralstoff Calcium aus seinen Bindungen an Calciumkanälen und -rezeptoren verdrängen kann. Ein ähnlicher Mechanismus ist für Cadmium und Zink sowie Nickel und Magnesium bekannt. Quecksilber hemmt das Selen. Bei Belastung mit Blei, Cadmium, Nickel und Quecksilber sind daher Calcium-, Zink-, Nickel- und Selenspiegel im oberen Normbereich anzustreben.

IMD Labor Berlin

Basistherapie bei Tumorpatienten

2.

Ausgleich eines intrazellulären Glutathionmangels

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

IMD Labor Berlin

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

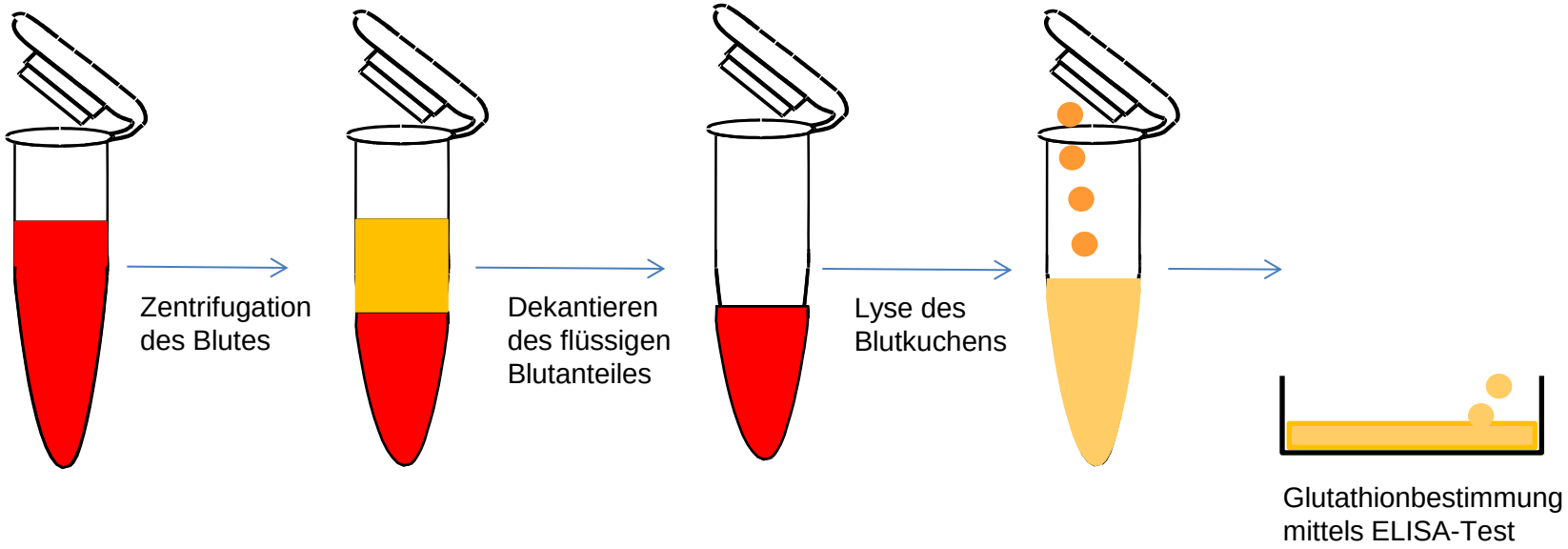
Befund

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

IMD Labor Berlin

Was bedeutet „intrazellulär“

1. … zu leicht gemacht



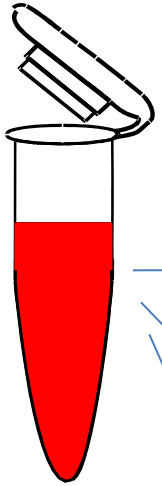
Keine echte „intrazelluläre“ Messung, weil 10% Serum verbleiben und zellgebundenes Glutathions mit erfasst wird.

→ Keine exakte Aussage über intrazelluläre Spiegel

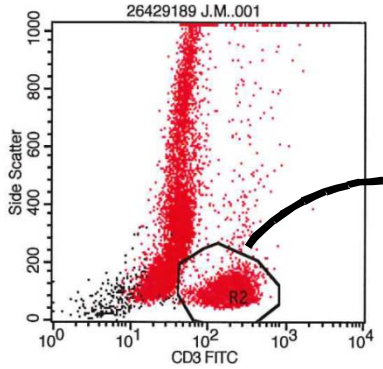
Richtige Bezeichnung wäre „intraerythrozytär“

IMD Labor Berlin

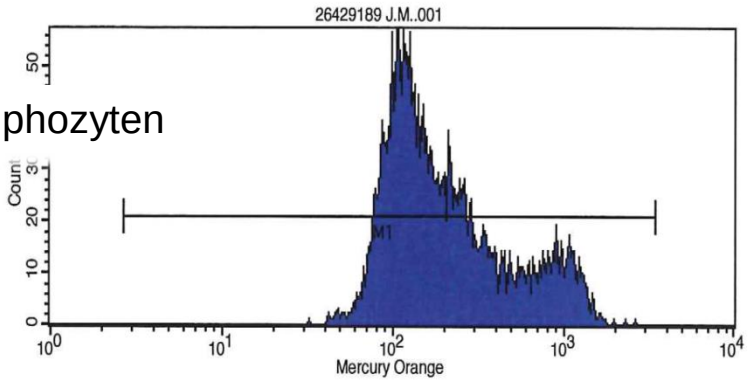
Was ist wirklich „intrazellulär“

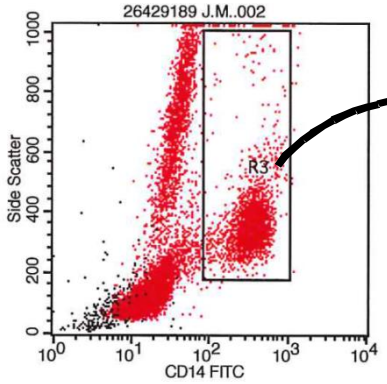


Zytofluorometrische Analyse der Blutzellen

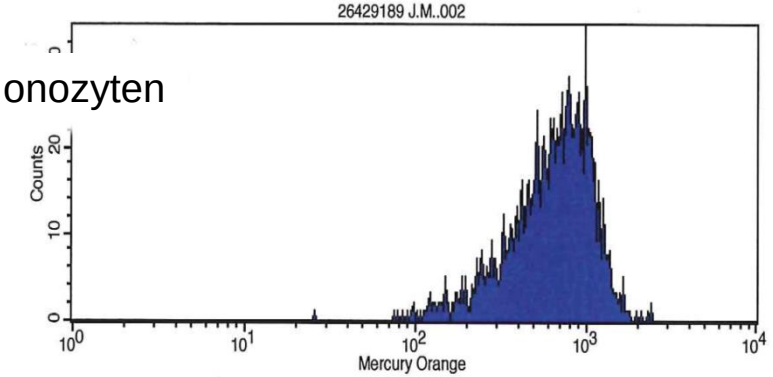


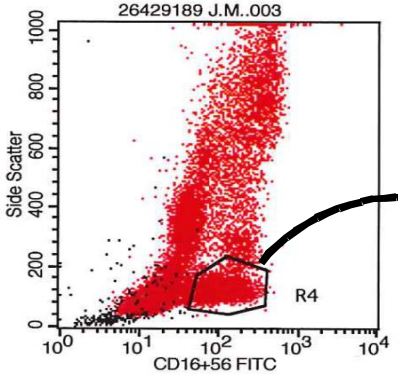
T-Lymphozyten



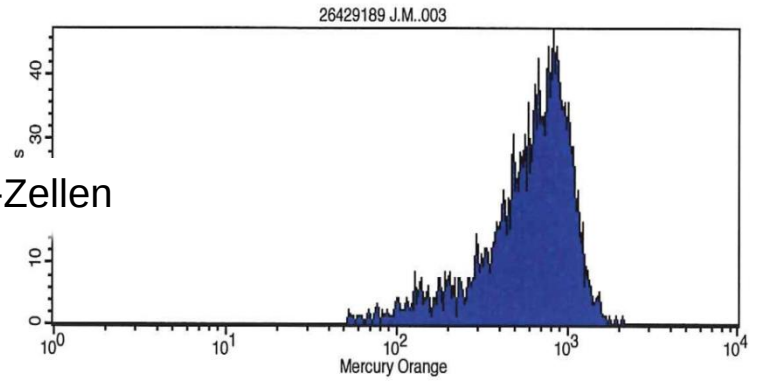


Monozyten





NK-Zellen



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

IMD Labor Berlin

Zusammenfassung

TGF-β – sollte möglichst niedrig sein

IP-10 als TH1-Marker - Anstieg unter Immunstimulation vorteilhaft

Der Anstieg des sIL2R, TNF-a, IL-6 sind eher Indikatoren einer unspezifischen Entzündung welche die T-Zellfunktion negativ beeinflusst.

TH1/TH2-Balance sollte möglichst ausgeglichen oder TH1-dominant sein

Glutathion (wirklich) intrazellulär messen und ausgleichen
Essentielle Spurenelemente im Vollblut messen und substituieren

Unter immunstimulierender Behandlung sollten die T_{reg}-Zellen und der CD39+ Anteil nicht ansteigen !

IMD Labor Berlin

inflammatio Akademie

ONLINEFORTBILDUNG

Nächste online-Fortbildung am

30. November 2016, 15:00 Uhr

Bedeutung der Zytokindiagnostik bei Tumorpatienten

Dr. Cornelia Doebis

Institut für Medizinische Diagnostik Berlin