

Möglichkeiten und Grenzen der Effektorzelltypisierung

Was bedeutet Effektorzelltypisierung?

Bei dieser Laboranalyse werden die Blutlymphozyten eines Patienten unter Zellkulturbedingungen mit einem Antigen oder Allergen stimuliert. Nach 48 Stunden misst man im Kulturüberstand die sich auf diesen Reiz hin bildenden Zytokine. Die Verteilung zwischen TH1-Effektorzellen (IFN- γ positiv) und regulatorischen (Balance-induzierenden) T-Zellen (IL-10 positiv) gibt eine Aussage, ob aktuell mit dem jeweiligen Allergen eine Entzündungsreaktion assoziiert sein kann (1).

Wozu benötigt man diese Aussage?

Die etablierte Methode zum Nachweis einer allergischen Typ IV-Sensibilisierung ist der Lymphozytentransformationstest (LTT). Für Medikamentenallergene sowie Nickel und Beryllium wird der LTT inzwischen vom Robert-Koch-Institut uneingeschränkt empfohlen (2). Der Nachweis einer allergischen Sensibilisierung im LTT (oder auch im Epikutantest) bedeutet aber nicht zwingend, dass damit zum Untersuchungszeitpunkt auch eine TH1-dominante Entzündungsreaktion verbunden ist. Eine definitive Aussage über die aktuelle klinische Relevanz einer Sensibilisierung ist somit weder mit dem LTT noch mit dem Epikutantest möglich. Für präventive Testungen auf Materialunverträglichkeit ist dieses allerdings auch nicht wichtig, da man ein Material bei jeglicher darauf bestehender Sensibilisierung meiden muss. Wegen der höheren Sensitivität wird man bei vorbeugenden Testungen daher immer den LTT der Effektorzelltypisierung vorziehen.

Wie ist es bei kurativer Fragestellung?

Bei kurativer Untersuchungsindikation wird häufig die Frage gestellt, wie sicher ein Zusammenhang der im LTT oder Epikutantest nachgewiesenen Typ IV-Sensibilisierung zur aktuellen Beschwerdesymptomatik ist. In diesem Fall gibt das Ergebnis der Effektorzelltypisierung tatsächlich mehr Sicherheit, was vor allem zur Hierarchisierung von Expositionsvermeidungsmaßnahmen dienen kann, wenn Sensibilisierungen auf mehrere Allergene bestehen. Die Frage, welches Allergen relevanter ist für den Krankheitsprozess, stellt sich in der Umweltmedizin häufiger als in der Zahnmedizin aufgrund der dort größeren Zahl potentiell relevanter Triggerfaktoren. Letztlich wird man immer dem Allergen mit dem höchsten IFN- γ -Wert die größte Bedeutung für den aktuellen entzündlichen Krankheitsprozess eines Patienten zuschreiben.

Welche Zytokine werden bestimmt?

Als Marker für TH1-Effektorzellen wird IFN- γ und als Marker für die (Balance-induzierenden) regulatorischen T-Lymphozyten (Treg-Zellen) IL-10 bestimmt. Wenn vorher noch kein LTT durchgeführt wurde, geben die zusätzlichen Bestimmungen von IL-2 und TNF- α mehr Sicherheit, wobei

die Effektorzelltypisierung auch bei Messung aller vier Zytokine nicht die Sensitivität des LTT erreichen kann, da es latente Sensibilisierungen gibt, die durch Gedächtniszellen getragen werden, die keine Zytokinantworten zeigen (siehe Beispiel in der Abbildung).

IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht	
Untersuchung		Ergebnis	
Chrom	■	1,0	
Kobalt	■	1,2	
Palladium	■	1,0	
Silber	■	1,0	
Gold	■	9,5	
Zinn	■	1,0	
Kupfer	■	6,1	
Leerwert (Negativkontrolle)		679	(Normalwert < 4000 cpm)
Positivkontrolle (Antigen)		78670 cpm	46,8
Mitogenkontrolle (PWM)		99193 cpm	59,1

IMD Labor Berlin		Ärztlicher Befundbericht	
Untersuchung	Ergebnis	Einheit	
Effektorzelltypisierung			
IFN-γ-Basal	< 3,2	pg/ml	
IL10-Basal	< 5,0	pg/ml	
IL2-Basal	< 3,2	pg/ml	
TNF-α-Basal	< 20,0	pg/ml	
IFN-γ-Positivkontrolle	20,4	pg/ml	
IL10-Positivkontrolle	155	pg/ml	
IL2-Positivkontrolle	67,4	pg/ml	
TNF-α-Positivkontrolle	165	pg/ml	
IFN-γ-Antigen 1	7,8	pg/ml	
IL10-Antigen 1	87,4	pg/ml	
IL2-Antigen 1	1,8	pg/ml	
TNF-α-Antigen 1	62,7	pg/ml	
(1) Gold			
TNF-γ-Antigen 2	0,6	pg/ml	
IL10-Antigen 2	0,4	pg/ml	
IL2-Antigen 2	1,1	pg/ml	
TNF-α-Antigen 2	6,7	pg/ml	
(2) Kupfer			
Interpretation			
Der Befund zeigt eine TH1-dominante Sensibilisierung auf Gold. Kupferspezifische Effektor-T-Zellen sind dagegen nicht im Blut nachweisbar, was allerdings eine latente Typ IV-Sensibilisierung nicht ausschließt.			

Abb. 1 und 2 Der Patient hat eine Sensibilisierung auf Kupfer und Gold. In der Effektorzelltypisierung zeigt sich, dass die Expositionsvermeidung von Gold die höhere Priorität hat. Hätte man nur die Effektorzelltypisierung gemacht, wäre die deutliche Kupfersensibilisierung verborgen geblieben.

Haben Sie Fragen? Unser Service Team beantwortet sie gerne unter +49 (0)30 770 01-220.

Welche Ergebniskonstellationen sind bei der Effektorzelltypisierung möglich?

1. Alle Zytokine sind negativ

Es liegt keine aktuelle Effektorzell-Immunantwort auf das betreffende Allergen vor. Der Patient hat entweder keine Sensibilisierung auf das Allergen oder eine aktuell latente Sensibilisierung ohne Hinweis auf ein akutes, damit assoziiertes Krankheitsbild. Diese Differenzierung ist nur durch den LTT möglich.

2. IFN- γ ist positiv

Unabhängig davon, wie sich die anderen Zytokine verhalten, liegt gegen das betreffende Allergen eine Sensibilisierung mit Beteiligung von entzündungsfördernden TH1-Effektorzellen vor. Eine mit dem Material zusammenhängende aktuelle Entzündungsreaktion ist somit erklärbar.

IFN- γ und IL-10 sind positiv

Die Tatsache, dass auch IL-10-positive Treg-Zellen beteiligt sind, zeigt ein zumindest angedeutetes Toleranzbestreben des Immunsystems gegen das betreffende Allergen an.

Allerdings ist eine aktuelle Entzündung trotzdem möglich, da IFN- γ positiv ist.

IFN- γ ist negativ und IL-10 positiv

Dieser Befund spricht für eine (noch) vorhandene Toleranz. Es liegt eine Sensibilisierung vor (keine Ignoranz), eine aktuell manifeste Entzündung ist allerdings ohne IFN- γ -positive TH1-Effektorzellen eher unwahrscheinlich. Ob eine diesbezügliche Sensibilisierung bei andauernder Allergenexposition durch Stimulation von TH2/Treg-Zellen die Immunbalance stört (z. B. Induktion der TH2-Dominanz), ist sicherlich im Einzelfall nicht auszuschließen.

Achtung: Aus präventiver Sicht stellt ein vollständig unauffälliger Zytokinstatus trotz bestehender im LTT oder Epikutantest nachgewiesener Sensibilisierung keine Entwarnung dar. Die Erhaltung einer Toleranz ist immer eine „Belastung“ für das Immunsystem und zudem meist zeitlich begrenzt. Die Effektorzelltypisierung sollte nur der Hierarchisierung von Expositionsvermeidungsmaßnahmen dienen und nicht dazu, eine bestehende allergische Sensibilisierung als unbedenklich einzustufen.

Kann man sich durch parallele Analyse von IL-2 und TNF- α den LTT ersparen?

NEIN, auch ein negatives IL-2 schließt eine Sensibilisierung nicht aus. Einerseits gibt es Gedächtniszellen, die keine Zytokine produzieren. Andererseits kann ein fehlendes IL-2-Signal seine Ursache auch darin haben, dass die T-Lymphozyten entstehendes IL-2 wieder selbst „verbrauchen“. Abgesehen davon würde man TH2- und TH17-Zellen nur erfassen, wenn man IL-4, IL-5 und IL-17 parallel untersucht.

Zudem wissen wir heute noch nicht, ob damit alle T-Helfersubpopulationen erfassbar sind. Es ist sogar wahrscheinlich, dass weitere TH-Zellen und andere Markerzytokine beteiligt sind. Daher ist die Messung der allergen-induzierten T-Zellproliferation im LTT nach wie vor die sensitivste Methode zum Nachweis einer Typ IV-Sensibilisierung.

Resümee

Bei präventiven Fragestellungen, das heißt allen vorbeugenden Testungen, ist der LTT immer zu bevorzugen! Man würde andernfalls eine latente Sensibilisierung möglicherweise übersehen, obwohl man bei vorbeugenden Testungen gerade diese nachweisen will. Auch bei der kurativen Fragestellung ist die Effektorzelltypisierung erst in Folge eines positiven LTT zu empfehlen. Der LTT hat die höhere Sensitivität und auch die bessere Reproduzierbarkeit. Eine Effektorzelltypisierung ist nur dann sinnvoll, wenn man sich bei einem negativen Ergebnis (alle Zytokine negativ oder nur IL-10 positiv) für das Belassen des Materials im Organismus entscheiden würde.

Material

5 ml Heparin-Blut pro Allergen/Material
Ein Probeneingang im Labor innerhalb von 24h muss gewährleistet sein. Das Blut sollte bei Raumtemperatur gelagert und transportiert werden. Bitte nutzen Sie unseren Berliner Fahrdienst oder unseren kostenfreien bundesweiten Kurierdienst.

Abrechnung

Eine Abrechnung ist nur im privatärztlichen Bereich (GOÄ) gegeben. Für Selbstzahler (IGeL) kostet die IFN- γ /IL-10-Analyse je Allergen 40,80 € (+ einmalig 23,31 € für die Zelltrennung).

Bei zusätzlicher Analyse von IL-2 und TNF- α entstehen pro Allergen zusätzliche Kosten in Höhe von 27,98 €.

Wir bieten auf Wunsch die Zusatzuntersuchung auf IL-2 und TNF- α an, empfehlen sie aber im Grunde nicht, sofern ein LTT im Vorfeld oder parallel durchgeführt wird.

Literatur

1. Qualitätssicherung beim Lymphozytentransformationstest (LTT) – Kommission „Methoden und Qualitätssicherung“ des Robert-Koch-Institutes, Bundesgesundheitsblatt 2008; 51: 1070-1076
2. Bedeutung von Zytokinbestimmungen in der umweltmedizinischen Praxis. Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“. Bundesgesundheitsblatt 2004; 47: 73-79.