inflammatio Akademie

ONLINEFORTBILDUNG

22. Februar 2012

Wie wirken immunstimulierende Präparate im Organismus?
–
Wie kann man den Therapieerfolg messen?

Dr. med. Volker von Baehr

Immunrestauration oder Immunstimulation ?

inflammatio Akademie
ONLINEFORTBILDUNG

Immunrestaurative Therapie

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

Mineralstoffe, Vitamine, Glutathion, Thymuspeptide 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

Stimulantien mit höherem Molekulargewicht (> 4000 Da) auf welches der Organismus eine T-zelluläre Sensibilisierung aufbaut. z.B. Mistellektine, bakterielle Lysate, Organopeptide

Was wollen wir aktivieren?

Unspezifisches Immunsystem

(angeboren, nicht lernfähig)

Monozyten
→ Gewebemakrophagen

Neutrophile Granulozyten

Natürliche Killerzellen

Eosinophile Granulozyten

Mastzellen

Spezifisches Immunsystem

(erworben, lernfähig)

CD4: TH1-Lymphozyten
CD8: CD28+ zytotox. Zellen

CD4: TH2-Lymphozyten
CD4: T_{reg}-Zellen
CD8: CD28- suppr. Zellen

B-Lymphozyten
(Antikörper-Produzenten)

Wichtig vor allem beim Tumorpatienten:
Die NK-Zellfunktion

inflammatio Akademie
ONLINEFORTBILDUNG

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
IP-10 i.Serum (ELISA)	655	pg/ml	< 1072
Kein Hinweis auf eine TH1-dominante systemische T-Lymphozytenaktivierung.			
NK-Zell-Zytotoxizitätstest i.Hep.-B.			
Im Test wird die Lysekapazität der Natürlichen Killerzellen (NK) untersucht. Die NK-Zell-Lyserate kennzeichnet die aktuelle NK-Zellfunktion des Patienten. Der IL-2-stimulierte Lysewert gibt die zusätzliche Stimulierbarkeit der NK-Zell-aktivität an.			
NK-Zell-Lyserate	**12.7**	% Lyse	> 21
NK-Zell-Lyserate IL2-stimuliert	31.7	% Lyse	
Interpretation			
Die NK-Zellfunktion ist vermindert. Eine immunstimulierende Therapie ist aus der Sicht dieses Befundes indiziert. Durch Stimulation der NK-Zellen mit Interleukin-2 lässt sich die NK-Zellfunktion signifikant verbessern, was anzeigt, dass durch eine therapeutische Immunstimulation eine Rekonsti-tution der NK-Zellfunktion (in vitro) möglich ist.			

NK-Zell-Zytotoxizitätstest i.Hep.-B.			
Im Test wird die Lysekapazität der Natürlichen Killerzellen (NK) untersucht. Die NK-Zell-Lyserate kennzeichnet die aktuelle NK-Zellfunktion des Patienten. Der IL-2-stimulierte Lysewert gibt die zusätzliche Stimulierbarkeit der NK-Zell-aktivität an.			
NK-Zell-Lyserate	28.3	% Lyse	> 21
NK-Zell-Lyserate IL2-stimuliert	35.8	% Lyse	
Interpretation			
Im Vergleich zum Vorbefund hat sich die NK-Zellfunktion deutlich verbessert.			

6 Wochen später

Aussagekraft des IL2-Wertes im NK-Zell-Zytotoxizitätstest

Patient A

NK-Zell-Zytotoxizitätstest i.Hep.-B.

Im Test wird die Lysekapazität der Natürlichen Killerzellen (NK) untersucht. Die NK-Zell-Lyserate kennzeichnet die aktuelle NK-Zellfunktion des Patienten. Der IL-2-stimulierte Lysewert gibt die zusätzliche Stimulierbarkeit der NK-Zell-aktivität an.

NK-Zell-Lyserate	**11.6**	% Lyse	> 21
NK-Zell-Lyserate IL2-stimuliert	11.8	% Lyse	

NK-Zellfunktion: schlecht **Prognose für IS: schlecht**

Patient B

NK-Zell-Lyserate	**11.9**	% Lyse	> 21
NK-Zell-Lyserate IL2-stimuliert	32.6	% Lyse	

NK-Zellfunktion: schlecht **Prognose für IS: gut**

Patient C

NK-Zell-Lyserate	44.1	% Lyse	> 21
NK-Zell-Lyserate IL2-stimuliert	53.7	% Lyse	

NK-Zellfunktion: gut **Prognose für weitere IS: gut, wenn gewollt**

Patient D

NK-Zell-Lyserate	73.4	% Lyse	> 21
NK-Zell-Lyserate IL2-stimuliert	73.7	% Lyse	

NK-Zellfunktion: sehr gut **IS: nicht notwendig**

Oft vernachlässigt: Die Granulozytenfunktion

inflammatio Akademie
ONLINEFORTBILDUNG

Phagozytosetest 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

Phagozytosetest 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.

Die zentrale Zelle der Immunabwehr ist aber die CD4-Helferzelle !

LTT-Immunfunktion

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

Zelluläre Immunfunktion

	SI
Influenza	3,4
Tetatoxoid	5,8
Cytomegalievirus	14,1
Varizella zoster	1,0
Candida	15,4
PPD	9,7

Mittlerer Funktionsindex: 8,2

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

Erläuterung der Testmethodik:

Der LTT-Test prüft die antigenspez
T-Helferlymphozyten. Dabei wird d
Proliferation) der Lymphozyten gen
Bestandteile von verbreiteten Infekt
Da letztere nur bei intakter Immunf
Zellproliferation führen, kann an Ha
auf die aktuelle Immunkompetenz g
Funktionsindex sollte unter einer w
ansteigen.

Leerwert (Negativkontrolle)	12
Mitogenkontrolle (PWM)	32

Folgebefund

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransforma**

Zelluläre Immunfunktion

	SI
Influenza	13,4
Tetatoxoid	14,9
Cytomegalievirus	16,2
Varizella zoster	2,0
Candida	17,7
PPD	23,6

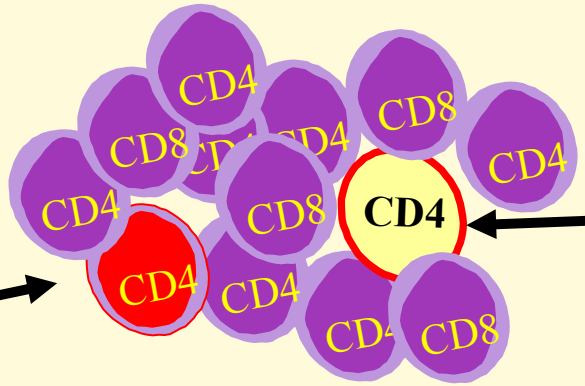
Mittlerer Funktionsindex: 14,6

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.

Ohne eine intakte CD4-Helferzellfunktion ist keine intakte Immunkompetenz zytotoxischer CD8-Zellen und NK-Zellen zu erreichen

Was bedeutet (immunogene) Immunstimulation?

vor Therapie

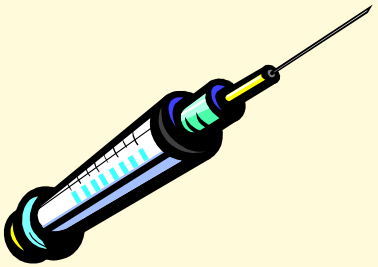


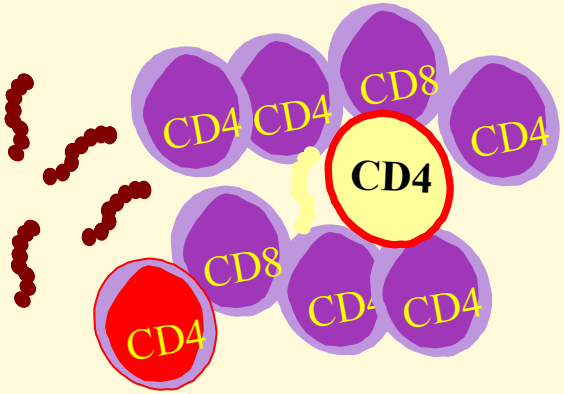
Mistel-spezifischer Lymphozyt

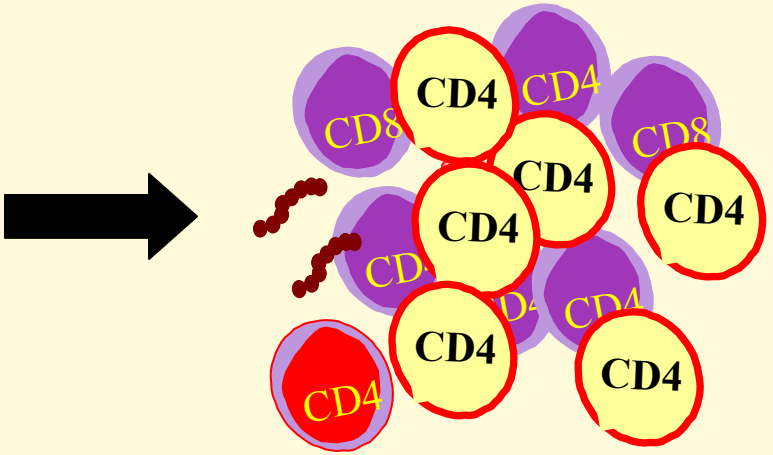
Tumorantigen-spezifischer Lymphozyt

Therapiestart

Mistel-Injektion

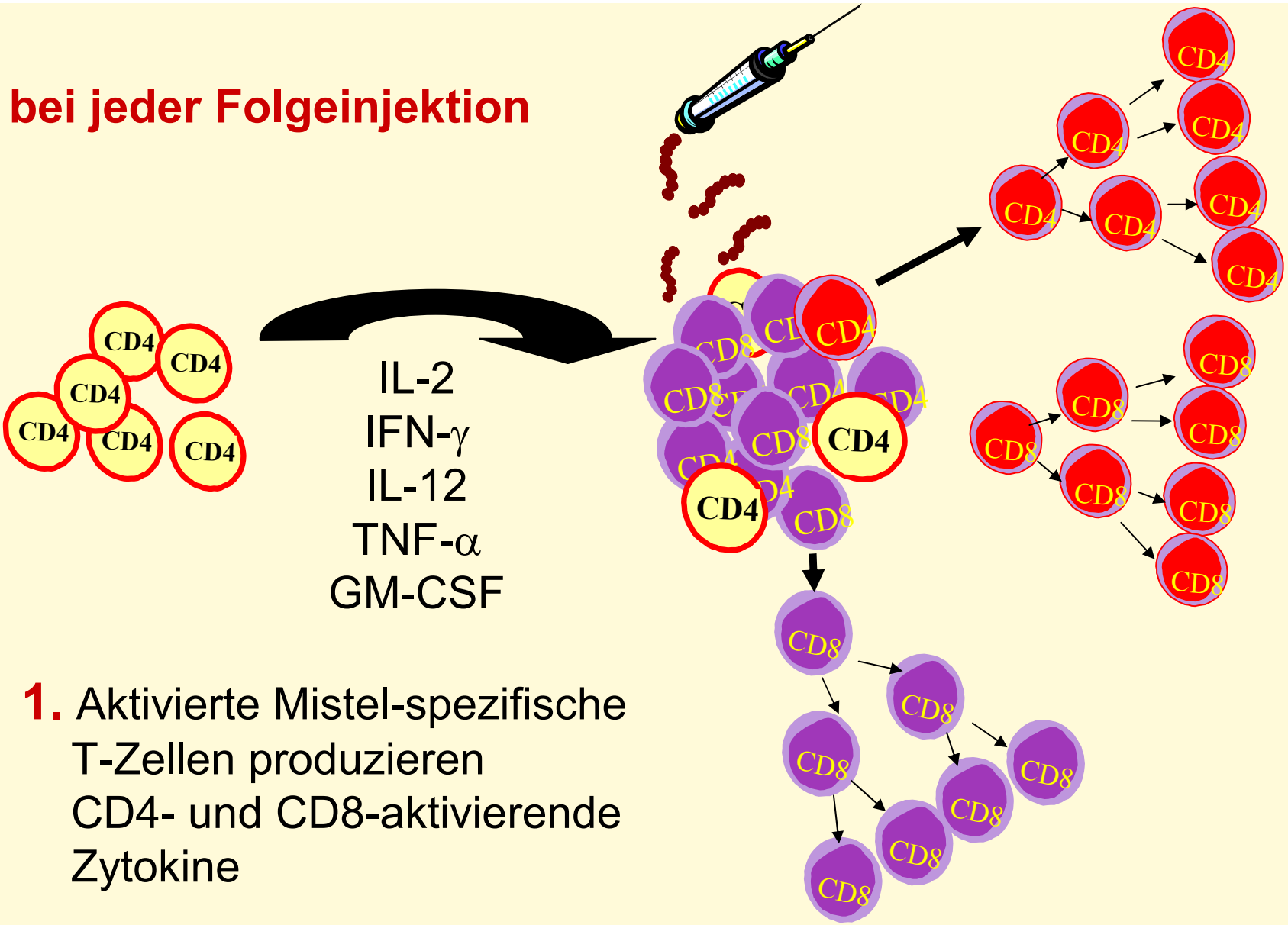






Vermehrung Mistel-spezifischer T-Helferzellen im Blut (und Gewebe)

bei jeder Folgeinjektion


CD4
CD4
CD4
CD4
CD4
CD4
IL-2
IFN-γ
IL-12
TNF-α
GM-CSF
CD8
CD8
CD8

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)

Immunologic Effector Mechanisms of a Standardized Mistletoe Extract on the Function of Human Monocytes and Lymphocytes *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo*

LUCIE HEINZERLING,[1,3] VOLKER VON BAEHR,[1,2] CHRISTA LIEBENTHAL,[1]
RÜDIGER VON BAEHR,[2] and HANS-DIETER VOLK[1]

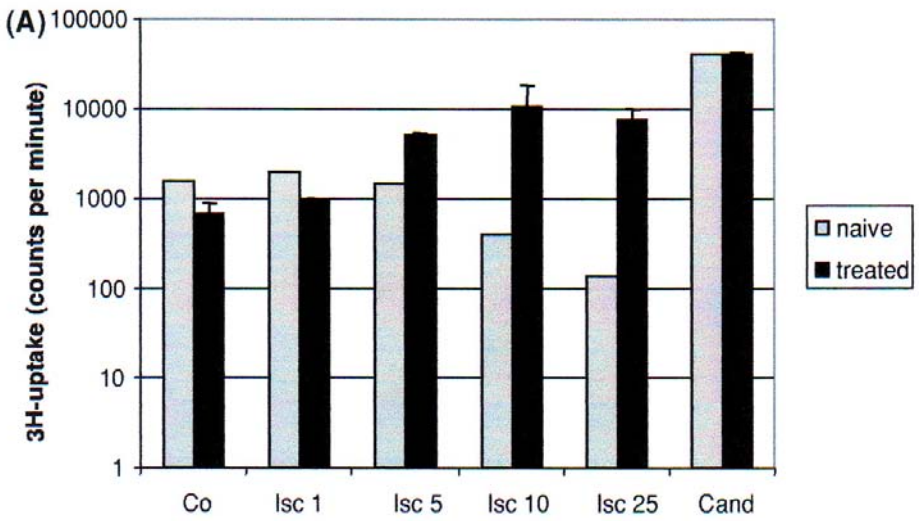


Fig. 4. Iscador stimulates proliferation in treated individuals but not in mistletoe naïve individuals. (A) Stimulation indices of MNC culture from naive controls compared to Iscador-treated patients after stimulation with Iscador at different concentrations (1, 5, 10, 25, 50 μg/mL) and candidine (Cand) as recall antigen. Means of three individuals after 5 days MNC culture ± SD. (B) An Iscador-induced release of IFN-γ could be observed after 4 day stimulation of MNC of five therapy beginners with Iscador 10 μg/mL on days 6 and 42 after start of therapy.

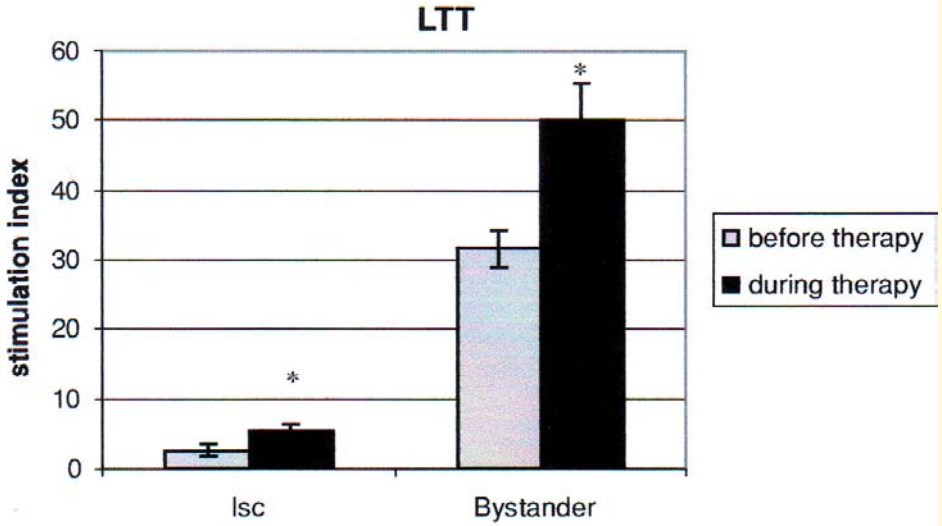


Fig. 6. Therapy with Iscador stimulates lymphocyte proliferation upon stimulation with Iscador but also with recall antigens in cancer patients. Fifteen patients were treated for 6 up to 13 weeks with at least 1 mg of Iscador. Stimulation of MNC culture (lymphocyte transformation test, LTT) was performed with Iscador (Isc, 10 μg/mL) and as recall antigens candidine, tetanus toxoid, and purified protein derivate. The mean stimulation index of the three recall antigens is depicted (Mean ± SD; $^*p < 0.05$).

J Clin Immunol. 2006;26:347-59

vor Therapie

Eingang	02.06.04	Ausgang	10.06.04	vor Therapie

Untersuchung/Material: **Lymphozytentransformationstest Immunstimulation - LTT-IS (Heparinblut)

Zelluläre Immunfunktion

	SI
Tetatoxoid	8,0
Influenza	4,5
Candida	16,8
PPD	5,8
Varizella Zoster	4,8
CMV	1,1

Reaktivität gegenüber Immunstimulatoren

	SI
Iscador Qu	2,2

Mittlerer Funktionsindex: 6,8

---

nach 6 Wochen Iscador Qu

Eingang	30.07.04	Ausgang	06.08.04	nach 6 Wochen Therapie

Untersuchung/Material: **Lymphozytentransformationstest Immunstimulation - LTT-IS (Heparinblut)

Zelluläre Immunfunktion

	SI
Tetatoxoid	19,9
Influenza	21,4
Candida	25,3
PPD	13,5
Varizella Zoster	11,6
CMV	1,1

Reaktivität gegenüber Immunstimulatoren

	SI
Iscador Qu	8,3

8,3

15,5

Mittlerer Funktionsindex: 15,5

Quantitativ ist die Immunstimulation kaum zu erfassen !

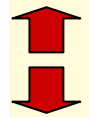
Vor Therapie

Durchflusszytometrische Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen aus EDTA-Blut

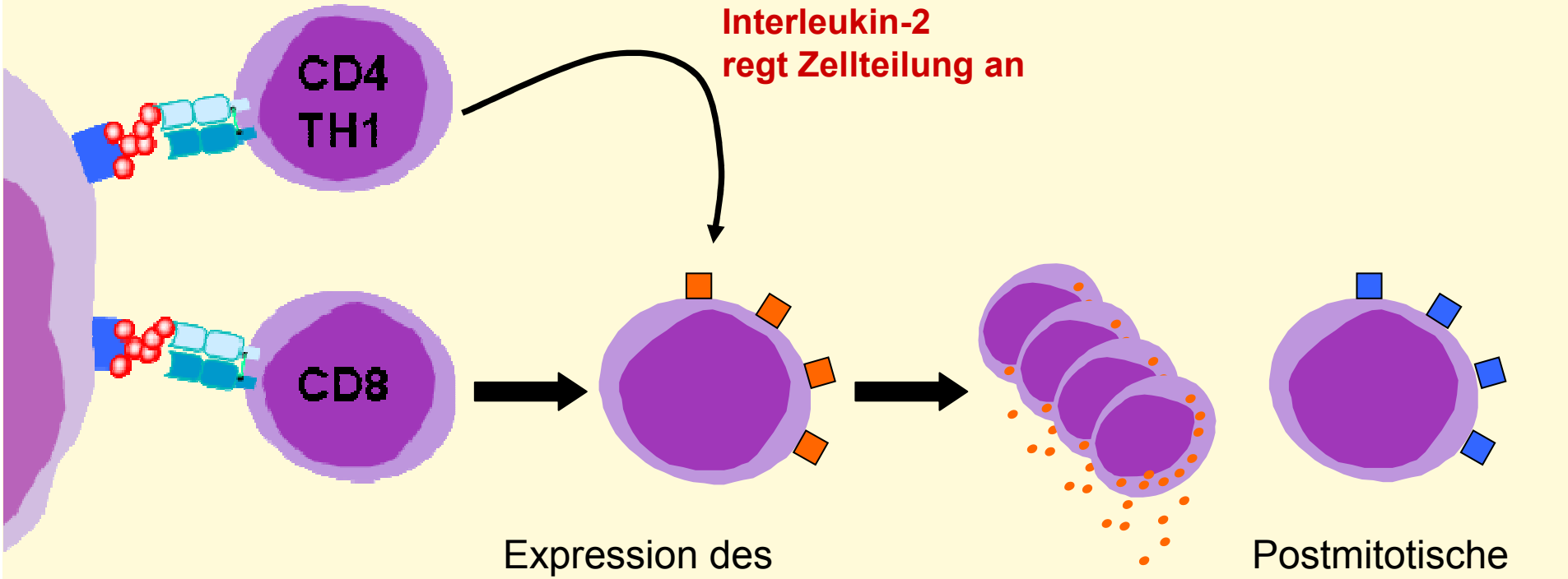
		Normwerte		Normwerte
Leukozyten	7166 /µl	4000 - 10000		
Lymphozyten	1734 /µl	1100 - 4000	24 %	20 - 40
Monozyten	989 /µl	140 - 800	14 %	2 - 14
Granulozyten	4443 /µl	2400 - 7400	62 %	42 - 75
T-Zellen	1010 /µl	920 - 2580	58 %	61 - 84
CD45RA+ naive T-Zellen	506 /µl	300 - 1300	50,1 %	30 - 63
CD45RA- memory T-Zellen	453 /µl	300 - 1600	44,8 %	37 - 70
CD4-Helfer	491 /µl	550 - 1460	28 %	32 - 60
CD45RA+ naive			42 %	19 - 58
CD31+			57 %	> 49
CD25++/CD127-Treg's	36 /µl	35 - 120	7,4 %	4 - 10
CD8-Lymph.	448 /µl	280 - 930	26 %	23 - 40
CD8+/CD28+ (zytotox.)	275 /µl	130 - 450	61,3 %	57 - 94
CD8+/CD28- (regulativ)	143 /µl	20 - 300	32 %	6 - 43
CD4/CD8-Ratio	1,1	1 - 3		
CD4+/CD8+T-Zellen	2 /µl	<100	0,1 %	< 5
B-Zellen	199 /µl	120 - 630	12 %	7 - 21
NK-Zellen	408 /µl	210 - 740	24 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	78 /µl	<40	19,2 %	< 17
CD3/HLADR	59 /µl	<230	3 %	< 11
CD3/CD25	622 /µl	<230	36 %	< 18

Nach Therapie

	Normwerte	
5780 /µl	4000 - 10000	
1335 /µl	1100 - 4000	23 %
566 /µl	140 - 800	10 %
3878 /µl	2400 - 7400	67 %
898 /µl	920 - 2580	67 %
405 /µl	300 - 1300	45,1 %
468 /µl	300 - 1600	52,1 %
369 /µl	550 - 1460	28 %
		39 %
		59 %
58 /µl	35 - 120	15,8 %
360 /µl	280 - 930	27 %
195 /µl	130 - 450	54,1 %
152 /µl	20 - 300	42,1 %
1,02	1 - 3	
4 /µl	<100	0,3 %
226 /µl	120 - 630	17 %
210 /µl	210 - 740	16 %
13 /µl	<40	6,3 %
164 /µl	<230	12 %
305 /µl	<230	23 %



	Vor Therapie				Nach Therapie			
CD3/HLADR	59 /µl	<230	3 %	< 11	164 /µl	<230	12 %	↑
CD3/CD25	622 /µl	<230	36 %	< 18	305 /µl	<230	23 %	↓

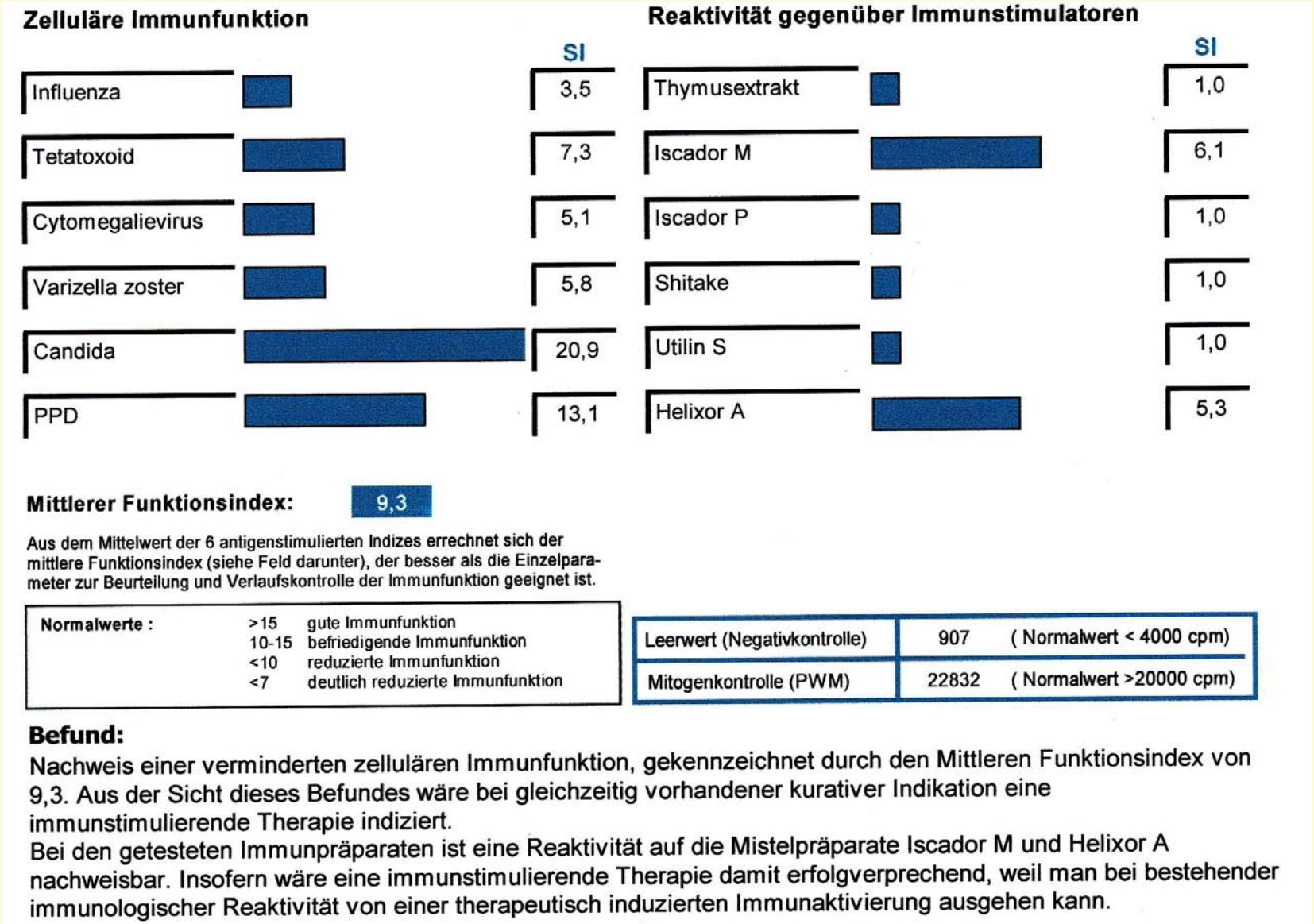


Expression des
IL2-Rezeptors **= CD25**

⇒ **Zellteilung**
Zellaktivierung

Postmitotische
Expression des
Moleküls **HLA-DR**
lebenslang

Kann man vorhersagen, welches Präparat am besten wirkt?



Befund:

Nachweis einer verminderten zellulären Immunfunktion, gekennzeichnet durch den Mittleren Funktionsindex von 9,3. Aus der Sicht dieses Befundes wäre bei gleichzeitig vorhandener kurativer Indikation eine immunstimulierende Therapie indiziert.

Bei den getesteten Immunpräparaten ist eine Reaktivität auf die Mistelpräparate Iscador M und Helixor A nachweisbar. Insofern wäre eine immunstimulierende Therapie damit erfolgverprechend, weil man bei bestehender immunologischer Reaktivität von einer therapeutisch induzierten Immunaktivierung ausgehen kann.

Alternative: In vitro die TH1/TH2-Modulation untersuchen

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.

IFN g-Antigen 1	<0.3	IU/ml	< 0.9
IL 10-Antigen 1	<5.0	pg/ml	< 30.0
Echinacea Injektionslösung			
IFN g-Antigen 2	**1.0**	IU/ml	< 0.9
IL 10-Antigen 2	**320.0**	pg/ml	< 30.0
Colostrum			
IFN g-Antigen 3	**1.7**	IU/ml	< 0.9
IL 10-Antigen 3	**141.0**	pg/ml	< 30.0
Maitake			
IFN g-Antigen 4	**8.8**	IU/ml	< 0.9
IL 10-Antigen 4	27.4	pg/ml	< 30.0
Shitake			
IFN g-Antigen 5	<0.3	IU/ml	< 0.9
IL 10-Antigen 5	<5.0	pg/ml	< 30.0
Thymuspräparat Schwein			

Interpretation

Deutliche TH1-Induktion (IFNg) ohne begleitende TH2/Treg-Stimulation durch das Shitake.

Maitake und das Colostrum-Präparat induzieren beide Schenkel des T-lymphozytären Immunsystems.

Echinacea und auch das Thymuspräparat bleiben ohne Einfluss auf die T-Lymphozyten der Patientin.

IFN g-Antigen 3	1.7	IU/ml	< 0.9
IL 10-Antigen 3	141.0	pg/ml	< 30.0
Maitake			
IFN g-Antigen 4	8.8	IU/ml	< 0.9
IL 10-Antigen 4	27.4	pg/ml	< 30.0
Shitake			

Die Gefahr der immunstimulierenden Therapie ist:

1. **Überstimulation**

2. **Stimulation der „falschen“ Immunzellen, z.B. der T_{reg}-Zellen oder der CD28- /CD8+ suppressorischen Zellen**

Folge: Verschlechterung der Immunfunktion von T-Lymphozyten und NK-Zellen

Daher ist immer eine Kontrolle der Funktionsteste im Verlauf obligat (LTT, NK-Zelltest, Granulozytenfunktion) !

Vor allem wenn diese Zellen schon vor Therapie vermehrt sind !

		Normwerte			Normwerte
Leukozyten	5720 /µl	4000 - 10000			
Lymphozyten	1144 /µl	1100 - 4000		20 %	20 - 40
Monozyten	572 /µl	140 - 800		10 %	2 - 14
Granulozyten	4004 /µl	2400 - 7400		70 %	42 - 75
T-Zellen	734 /µl	920 - 2580		64 %	61 - 84
CD45RA+ naive T-Zellen	**196** /µl	300 - 1200		**27** %	30 - 63
CD45RA- memory T-Zellen	**537** /µl	300 - 1300		**73** %	37 - 70
CD4-Helfer	542 /µl	550 - 1460		47 %	32 - 60
CD31+				64 %	> 58
CD25++/CD127 low Treg	68 /µl	35 - 120	→	12,6 %	4 - 10
CD8-Lymph.	175 /µl	280 - 930		15 %	23 - 40
CD8+/CD28+ (zytotox.)	91 /µl	130 - 450		52 %	57 - 94
CD8+/CD28- (regulativ)	84 /µl	20 - 300	→	48 %	6 - 43
CD4/CD8-Ratio	3,11	1 - 3			
B-Zellen	129 /µl	120 - 630		11 %	7 - 21
NK-Zellen	288 /µl	210 - 740		25 %	10 - 30
Aktivierte NK-Zellen	6 /µl	<40		2,2 %	< 17
CD3/HLADR	173 /µl	<230		15 %	< 11
CD3/CD25	258 /µl	<230		23 %	< 18

Zusammenfassung

inflammatio Akademie
ONLINEFORTBILDUNG

Immunrestaurative Therapie:
- erhöht die Anzahl stimulierbarer T- und NK-Zellen
- erhöht die TH1/TH2-Ratio
- hemmt die Entzündung
- verbessert den Zellstoffwechsel

Bsp: Mineralstoffe, Vitamine, Glutathion u.a.

Immunstimulierende Therapie heißt:
Aktivierung der T-Lymphozyten und NK-Zellen durch endogen induzierte Zytokine (Bystandereffekt)
Bsp: Mistellektine, bakterielle Lysate, Organopeptide

Eine **Vorhersage der indiv. Wirksamkeit** ist bedingt möglich mit dem:
1. LTT auf die immunstimulierenden Präparate
2. Untersuchung der in vitro TH1/TH2-Modulation

Aber entscheidend ist die **Kontrolle der Funktionsteste** im Verlauf !

inflammatio Akademie

ONLINEFORTBILDUNG

Wir freuen uns auf die nächste Fortbildung

Atherosklerose durch oxidativen Stress?

7. März 2012, 15.00 Uhr

Dr. Katrin Huesker
Institut für Medizinische Diagnostik MVZ GbR, Berlin