

## Spezialhämatologie

# Erweiterte Bestimmung des zellulären Immunstatus im MVZ Labor Ravensburg - Evaluierung des T-Zell-Immunstatus bei Long-/ Post-COVID-Syndrom

Sehr geehrte Einsender,

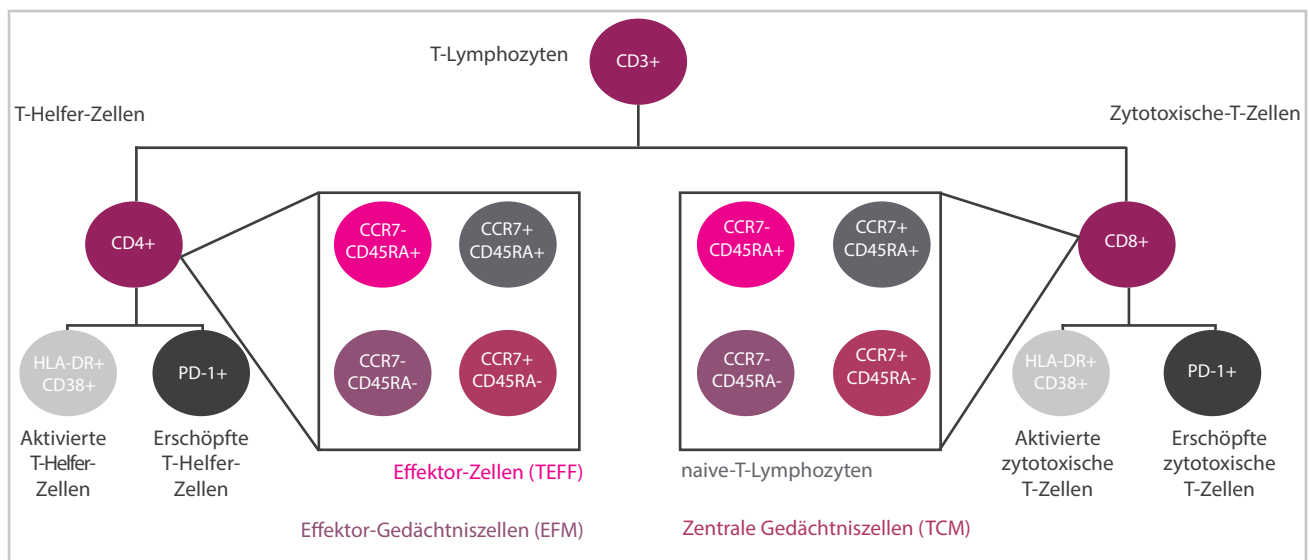
gerne möchten wir Sie über die **Erweiterung des Lymphozytendifferenzierungsprofils** informieren.

Unser aktuelles Lymphozytendifferenzierungsprofil Gesamtlymphozyten, B-Lymphozyten, NK-Zellen, T-Lymphozyten CD4+T-Lymphozyten und CD8+T-Lymphozyten mit der CD4/CD8-Ratio wird um die Marker der T-Zell-Aktivierung und der T-Zell-Erschöpfung sowie das Immungedächtnis, die Immuntoleranz und die Thymusreserve erweitert.

Die T-Lymphozytensubpopulationen, welche das Immungedächtnis widerspiegeln, sind naive T-Lymphozyten (CD4/CD8/CD45RA+/CCR7+), Effektor-Gedächtniszellen (EFM, CD4/CD8/CD45RA-/CCR7-) und Zentrale-Gedächtniszellen (TCM, CD4/CD8/CD45 RA-/CCR7+).

Aktivierete-T-Lymphozyten (CD4/CD8/HLADR+/CD38+) und Effektor-T-Zellen (TEFF, CD4/CD8/CD45RA+/CCR7-) geben einen Einblick in den T-Zell-Aktivierungszustand, während die T-Lymphozyten mit dem Marker der T-Zell-Erschöpfung (CD4/CD8/PD-1+) eine Immunerschöpfung widerspiegeln, siehe Übersichtsbild 1.

Ergänzt wird der erweiterte zelluläre Immunstatus zusätzlich um die Thymusreserve, d.h. den Anteil an naiven T-Lymphozyten, welche den Thymus kürzlich verlassen haben (CD4+/CD45RA+/CD31+) und die Immuntoleranz, sogenannte regulatorische T-Zellen (Treg Zellen CD4+/CD25+/CD127low/-).



Übersichtsbild 1

>>> weiter auf Seite 2 >>>

Mit diesen Markern können in Kombination mit unserer Basis-Lymphozytendifferenzierung (B-, T-Lymphozyten, NK-Zellen) das Immungedächtnis, die Immuntoleranz, die Immunaktivierung und die Thymusreserve sowie die T-Zell-Erschöpfung überblicksweise erfasst werden, siehe Übersichtstabelle 1.

Übersichtstabelle 1
<b>Immunkompetenz mit Thymusreserve</b>
T-Lymphozyten (CD3, CD4/CD8), B-Lymphozyten (CD19), NK-Zellen (CD3-/CD16+/56+), Thymusreserve (CD3+/CD4+/CD45RA+ /CD31+)
<b>Immunaktivierung</b>
Aktivierete T-Lymphozyten (CD4/CD8/HLADR+/CD38+)
<b>Immungedächtnis</b>
Zentrale-Gedächtniszellen (TCM, CD4/CD8/CD45 RA-/CCR7+) Effektor-Gedächtniszellen (EFM, CD4/CD8/CD45 RA-/CCR7-) Naive-T-Lymphozyten (CD4/CD8/CD45 RA+/CCR7+) Effektor-T-Zellen (TEFF, CD4/CD8/CD45 RA+/CCR7-)
<b>Immuntoleranz</b>
Treg-Zellen (CD4+/CD25++/CD127low/-)
<b>Immunerschöpfung</b>
T-Lymphozyten mit Erschöpfungszeichen (CD4/CD8/PD-1+)

### Klinische Indikation

Die Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen kann in folgenden klinischen Situationen ergänzend sinnvoll sein:

- ▶ Autoimmunerkrankungen
- ▶ Virale Erkrankungen
- ▶ Patienten mit rezidivierenden Infekten
- ▶ Immundefektabklärung (primär/sekundär)
- ▶ Bei Tumorerkrankungen
- ▶ Altersbedingte Funktionsverluste des Immunsystems (sog. Immunseneszenz) mit Thymusinvolution
- ▶ Chronique-Fatigue-Syndrom
- ▶ **Long-/Post-COVID-Syndrom**

### Reifung und Funktion der T-Zell-Subpopulationen

Die zunächst naiven T-Lymphozyten (ohne vorherigen Antigen-Kontakt) verlassen nach initialer Differenzierung den Thymus. Den Anteil dieser frisch aus dem Thymus (CD31+) migrierten Zellen bezeichnet man als **Thymusreserve**. Mit zunehmendem Alter nimmt diese Reserve ab (Altersabhängigkeit!). Dieses Phänomen wird als ein altersbedingter Funktionsverlust des Immunsystems, die Immunseneszenz mit Thymusinvolution, bezeichnet.

Diese T-Lymphozyten zirkulieren durch den Körper und gelangen in die sekundären lymphatischen Organe, wo sie mit antigenpräsentierenden Zellen (meist dendritische Zellen) in Kontakt kommen. Erkennt eine naive T-Zelle das Antigen, entwickelt sie sich zu einer Effektorzelle. Während die CD4+T-Lymphozyten sich zu interferon- oder interleukin-ausschüttenden T-Zell-Subpopulationen (Th1, Th2 und Th17 Zellen) und regulatorischen T-Zellen (Treg-Zelle) entwickeln, werden aus den CD8+ naiven T-Zellen zytotoxische Effektorzellen mit der „Lizenz zum Töten“. Nach Aktivierung sind diese Zellen imstande, infizierte Zellen direkt abzutöten.

Regulatorische T-Zellen (Treg-Zellen) hingegen hemmen andere T-Zellen. Sie haben die Funktion der Immunsuppression und Immuntoleranz, um z.B. das Entstehen von Autoimmunprozessen zu verhindern.

Zusätzlich entwickeln sich aus den naiven T-Zellen nach Antigen-Kontakt verschiedene Typen von T-Gedächtniszellen (Zentrale-/Effektor-Gedächtniszellen). Die einzelnen Klone der Gedächtniszellen sind über Jahre stabil. Bei einem erneuten Kontakt mit demselben Antigen werden diese Gedächtniszellen viel schneller und leichter aktiviert als naive T-Zellen. Zentrale Gedächtniszellen (TCM) zirkulieren zwischen den peripheren lymphatischen Organen, da sie den Chemokinrezeptor CCR7 besitzen. Sie können aber auch zu T-Effektor-Gedächtniszellen (EFM) differenzieren. Den T-Effektor-Gedächtniszellen fehlt der CCR7-Rezeptor, so dass diese bevorzugt in den Geweben lokalisiert sind. Treffen sie im Gewebe auf ihr Antigen, differenzieren sie sehr schnell wieder zu Effektorzellen (TEFF). Damit kann z.B. ein Infektfokus wesentlich schneller und effektiver bekämpft werden (Abbildung 2).

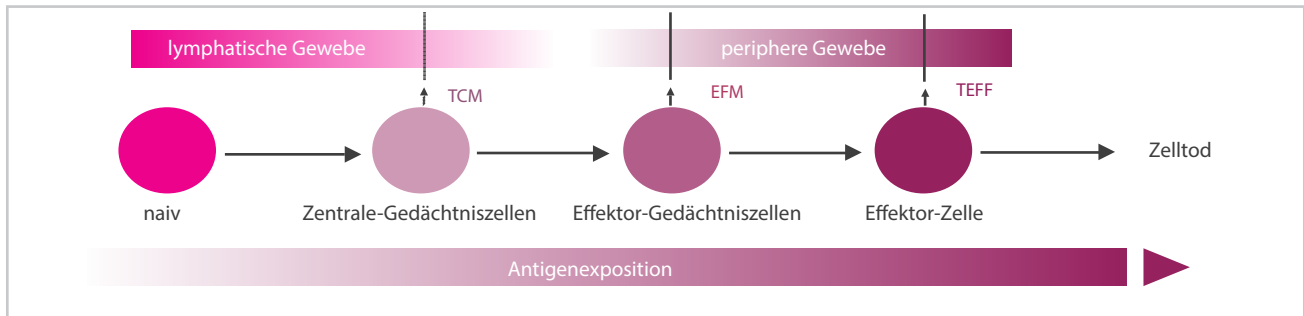


Abbildung 2: (in Anlehnung an Grundwissen Immunologie, Bröker et. al. 4. Auflage)

Gedächtniszellen sind wichtig für die Aufrechterhaltung einer kompetenten Immunabwehr, da diese Zellen sehr effektiv und schnell ein Pathogen eliminieren. Eine Verminderung der Zellen in diesem Kompartiment hat einen größeren Einfluss auf die Immunkompetenz als eine Verminderung von naiven T-Zellen.

### T-Zell-Erschöpfung

Einen besonderen Stellenwert hat in der Immunologie die sogenannte „T-Zell-Erschöpfung“. Dies sind T-Zellen, welche auf ihrer Oberfläche PD-1, ein inhibitorisches Homolog von CD28, exprimieren. Diese Zellen reagieren auf T-Zell-Rezeptor-Signale nur sehr schwach. Durch T-Zell-Erschöpfung wird die Chronifizierung von z.B. Infektionen erleichtert. Zusätzlich wurde gezeigt, dass in Tumor infiltrierenden T-Zellen inhibitorische Rezeptoren wie PD-1 vermehrt exprimiert werden und Zeichen der Erschöpfung zeigen und somit die gegen den Tumor gerichtete Immunantwort verlangsamen. In der onkologischen Therapie werden Antikörper gegen die Liganden des PD-1 eingesetzt, sog. „Checkpoint-Inhibitoren“, um die Immunbremse zu lösen und die spezifischen T-Zellen wieder zu aktivieren.

### T-Zell-Subpopulationen bei Long-/Post-COVID-Syndrom

In der aktuellen Literatur gibt es Hinweise darauf, dass auch bei Patienten mit Long-/Post-COVID-Syndrom Veränderungen in der zellulären Immunantwort zu finden sind.

Während in der akuten Phase der COVID-19 Infektion sowohl die T-Helferzellen (CD4+) als auch die Zytotoxischen-T-Zellen (CD8+) ansteigen, gibt es Hinweise darauf, dass bei Patienten mit einem mildem Krankheitsverlauf die T-Helferzellen nach der akuten Infektion weiterhin erhöht bleiben. Bei Patienten mit einem schweren Verlauf und damit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit zur Entwicklung einer Long-/Post-COVID-Symptomatik nimmt der Anteil der Natürlichen-Killer-Zellen (NK-Zellen) und der Zytotoxischen-T-Lymphozyten (CD8+) deutlich ab (Mangge H. et al.)

Zudem wurde beschrieben, dass bei Patienten mit Long-/Post-Covid-Syndrom der Anteil der T-Zellen mit Erschöpfungszeichen erhöht ist (Glynn P. et al., Klein J. et al. Phetsophanh C. et al). Dies kann unter Umständen die Chronifizierung von Infektionen verstärken.

Klein et al. zeigten, dass Patienten mit Long-/Post-COVID Syndrom einen signifikant verminderten Anteil an zentralen T-Helfer-Gedächtniszellen (TCM, CD4+/CD45RA-/CCR7+) aufwiesen. Die naiven T-Lymphozyten und Effektor-Gedächtniszellen waren im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe unauffällig verteilt. Ein anderes Modell zur Erklärung des Long-/Post-COVID-Syndroms nutzt die Hypothese der infekt-vermittelten dysfunktionellen T-Regulatorischen-Zellantwort (Treg-Zellen) und eines damit einhergehenden Autoimmunphänomens, wie bei „molekularer Mimicry“, d.h. durch eine Verminderung bzw. Dysregulation der regulatorische T-Lymphozyten (Treg-Zellen) werden vermehrt autoreaktive Lymphozyten und damit vermehrt autoreaktive Antikörper produziert (Choutka J. et al).

Da die Diagnostik des Long-/Post-COVID-Syndroms eine hohe diagnostische Hürde aufweist und inzwischen eine AWMF-Leitlinie herausgegeben wurde, welche die etablierten Labormethoden zum Ausschluss eines Long-/Post-COVID-Syndroms darstellt, bietet der erweiterte T-Zell-Immunistatus eine Möglichkeit, einen breiteren Einblick in das Immunsystem zu erlangen.

<b>Hinweise zu Präanalytik und Abrechnung</b>			
<b>Methode</b>	Durchflusszytometrie Mit dieser Methode werden quantitative Informationen zu den verschiedenen T-Zell-Subpopulationen vermittelt. Es werden keine antigenspezifischen T-Zellen erfasst.		
<b>Probenmaterial</b>	3 ml EDTA-Blut, nicht älter wie 24h		
<b>Probentransport</b>	Standardtransport (bei Raumtemperatur lagern, nicht kühlen!)		
<b>Analysezeiten</b>	Montag-Freitag		
<b>Befunderstellung</b>	Sie erhalten einen beschreibenden Befund anhand von Erwartungsbereichen von gesunden Kontrollen. Zusätzlich wird ein Blutbild mit mikroskopischer Differenzierung durchgeführt.		
	<b>GOÄ</b>	<b>1,15-fach</b>	<b>1,0-fach (IGeL-Leistung)</b>
<b>Lymphozyten gesamt (CD45+)</b>	3697	€ 16,76	€ 14,57
<b>T-Lymphozyten (CD3+)</b>	3696	€ 38,21	€ 33,22
<b>T-Helferzellen (CD4+)</b>	3696	€ 38,21	€ 33,22
<b>Zytotoxische T-Zellen (CD8+)</b>	3696	€ 38,21	€ 33,22
<b>B-Lymphozyten (CD19+)</b>	3697	€ 16,76	€ 14,57
<b>NK-Zellen (CD3-/CD16+CD56+)</b>	3697	€ 16,76	€ 14,57
<b>Thymusreserve (CD45RA+/CD31+)</b>	3697	1x € 16,76	1x € 14,57
<b>Aktivierte T-Lymphozyten (HLADR+/CD38+)</b>	3697	1x € 16,76	1x € 14,57
<b>TCM mit EFM und naive Lymphozyten (CD45RA/CCR7)</b>	3697	1x € 16,76	1x € 14,57
<b>Effektor T-Zellen (TEFF, CD45RA+/CCR7-)</b>	3697	1x € 16,76	1x € 14,57
<b>Treg-Zellen (CD4+/CD25++/CD127+)</b>	3697	1x € 16,76	1x € 14,57
<b>Immunerschöpfung (CD4/CD8/PD-1+)</b>	3697	1x € 16,76	1x € 14,57
<b>Kleines Blutbild</b>	3550	€ 4,02	€ 3,50
<b>Mikroskopische Differenzierung</b>	3680	€ 6,03	€ 5,25
<b>Maschinelle Differenzierung</b>	3551	€ 1,34	€ 1,17
<b>GESAMT</b>		<b>€ 276,86</b>	<b>€ 240,71</b>

Für weitere Informationen stehen wir Ihnen jederzeit gerne zur Verfügung

Mit freundlichen Grüßen

**Ihr MVZ Labor Ravensburg**

**Abteilung Spezialhämatologie**

Literatur:

1. Grundwissen Immunologie, B. Bröker et al., Springer-Spektrum, 4. Auflage
2. Stressmedizin und Stresspsychologie, A. Wolf, P. Calabrese, Schattauer, 2020
3. Glynn P. et al. Long Covid following mild Sars-Cov-2 infection: characteristic T cell alteration and response to antihistamines. J investig Med 2022;70:61-67
4. Klein J. et. al, Distinguishing features of Long-Covid identified through immune profiling, medRxiv 10/2022
5. Phetsophanh C. et al., Immunological dysfunction persists for 8 month following initial mild to moderate SARS-CoV-2-infection. Nature Immunology Vol 23, Feb.2022, 210-216
6. Choutka J, Jansari V, Hornig M et al. Unexplained post-acute infection syndromes. Nautre Medicine Vor 28, 911-923
7. Mange H, Kneihsl M, Schnedl W, Sendlhofer G, et al, Immune Responses against Sars-Cov-2-Questions and Experiences. Biomedicines 2021, 9, 1342
8. AWMF-S1-Leitlinie Long-/Post-COVID