

Intrazelluläre Zytokine (T-Helfer-1, 2 und 17 Zellen)

Für die Bestimmung der absoluten Zellzahlen benötigen wir ein Differenzialblutbild, bitte faxen unter: 0731/500-57102

Material	Heparinblut	10 ml
Präanalytik	Transport	innerhalb \leq 24 h bei Raumtemperatur
Besonderheiten	gesunde Kontrolle erforderlich!	
Methode	Durchflusszytometrie	
Analysendauer	2 - 3 Tage	
Durchführung	täglich von Montag-Donnerstag, nicht Freitags , da Übernacht-Inkubation	
Akkreditiert	ja	

Indikation	<ul style="list-style-type: none">• V.a. Hyper-IgE Syndrom• Hypereosinophilie• entzündliche Darmerkrankung / Autoinflammation• unklare Immundefekterkrankungen
-------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

untersuchte Populationen	<ul style="list-style-type: none">• Interferon gamma+ T_H1 (T-Helfer 1) Zellen• Interleukin-4+ T_H2 Zellen• Interleukin-17+ T_H17 Zellen
---------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Referenzbereiche	IL17	MW	min	max
von allen	<i>CD4+ T-Helfer</i>	2,8	1,5	6,6
	<i>CD4+CD45RO+ (memory)</i>	3,7	1,9	7,4
	IL4			
von allen	<i>CD4+</i>	1,2	0,3	3,0
	<i>CD4+CD45RO+</i>	1,9	0,4	4,0
	IFNg			
von allen	<i>CD4+</i>	31	14	45
	<i>CD4+CD45RO+</i>	41	29	55
	<i>CD4- (CD8+) CD3+</i>	71	55	85
	<i>CD4-CD45RO+</i>	84	76	91

Zusätzliche Informationen

Memory T-Zellen entwickeln sich nach vorangegangener Aktivierung und Proliferation z.B. durch eine Infektion. Während naive T-Zellen immer 2 Signale benötigen: 1. Interaktion T-Zell-Rezeptor (TCR)- mit MHC+Peptid auf antigenpräsentierenden Zellen und 2. Costimulation (z.B. über CD28), genügt Memory T-Zellen nur das 1. Signal, um stimuliert zu werden, die Reaktion auf eine wiederholte Infektion erfolgt deutlich schneller als beim primären Kontakt mit dem Erreger. Memory T-Zellen sind langlebig und bieten jahrzehntelangen Schutz.

Unter den memory- CD4+ T-Helfer Zellen unterscheidet man verschiedene Populationen, die sich unter dem Einfluss von unterschiedlichen Zytokinen differenzieren.

T_{H1} Zellen stellen dabei die vorherrschende memory CD4+ Population dar. Sie sind verantwortlich für zell-vermittelte Immunität, Entzündungsreaktionen und die Abwehr gegen v.a. intrazelluläre Pathogene (Viren aber auch einige Bakterien). Sie exprimieren und sezernieren IFN γ (und IL2, TNF α).

T_{H2} Zellen interagieren mit B-Zellen und spielen eine große Rolle für die humorale Immunität und die Abwehr von Parasiten. Sie sind mit verantwortlich für die Entstehung von Allergien und sind im Normalfall nur in einem geringen Anteil im peripheren Blut nachzuweisen. Th2 Zellen exprimieren und sezernieren IL4 (und IL10, IL5 und IL13). Sie sind erhöht z.B. in Patienten mit DOCK8 Defekt.

T_{H17} Zellen findet man v.a. in der Darmschleimhaut, der Lunge und in entzündetem Gewebe. Die Funktion von T_{H17} Zellen besteht in der Immunantwort gegen extrazelluläre Bakterien und Pilze, indem sie bei Aktivierung über IL-17 Granulozyten und Monozyten am Ort der mikrobiellen Invasion stimulieren. Das Fehlen dieser Stimulationsschleife (Fehlen von T_{H17}-Zellen oder Antikörper gegen IL-17) führt u.a. zu chronischer Candidiasis der Schleimhäute. Über den Beitrag zur antimikrobiellen Immunität an den Schleimhäuten tragen T_{H17} Zellen somit zur Wahrung der Integrität von deren Barrierefunktion bei. Durch die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen wird T_{H17}-Zellen jedoch auch eine Rolle in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen wie der Rheumatoiden Arthritis, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und der Multiplen Sklerose zugeschrieben. Eine Reduktion wird bei Patienten mit Hyper IgE-Syndrom beobachtet und wird durch die direkte (autosomal dominante Mutation in STAT3) oder indirekte (DOCK8 kooperiert mit STAT3) Verminderung der STAT-3-Aktivität als Transkriptionsfaktor verursacht.

Intrazelluläre Zytokine sind in T-Zellen erst nach Aktivierung nachweisbar. Daher werden die Zellen mit dem Mitogen PMA (Phorbol 12-Myristate 13-Acetate) in Kombination mit Calcium-Ionophore (Ca-Ionophore) unter Zugabe von Brefeldin A, einem Protein-Transport-Inhibitor stimuliert. Die Zugabe von Brefeldin A ist nötig, damit die produzierten Zytokine im Golgi Komplex/ endoplasm. Retikulum akkumulieren und nicht freigesetzt werden.