

T-Zell Funktionen

Material	Heparinblut	10 ml (bei Lymphopenie 15 ml)
Präanalytik	Transport	innerhalb \leq 24 h bei Raumtemperatur
Besonderheiten		
Methode	Lymphozytentransformationstest (LTT)	
Analysendauer	2-6 Wochen	
Durchführung	ca. 1x/ Monat, Zellen werden für die Untersuchung zunächst kryokonserviert, die Kryokonservierung erfolgt täglich	
Akkreditiert	ja	

Indikation	<ul style="list-style-type: none"> • Klinischer Verdacht auf eine Immundefekt Erkrankung • Verlaufskontrolle bei Immundefizienz oder Patienten nach Stammzelltransplantation
-------------------	--

untersuchte Populationen	In der Analyse der T-Zell Funktionen wird der Einbau des radioaktiven Isotops ^3H Thymidin (überschwerer Wasserstoff, Tritium) zum Nachweis proliferierender T-Zellen nach mitogener (unspezifische) und antigenere (spezifische) Stimulation bestimmt. Sowohl die gemessenen counts per minute (cpm), als auch der Stimulationsindex (SI), (Quotient cpm stimulierte/ nicht stimulierte Zellen) werden im Befund angegeben.
---------------------------------	---

Referenzbereiche

	Unspezifische Stimulation			Spezifische Stimulation			Virale Antigene		
	IL-2	PHA	CD3/CD28	Tetanus	MLC	Candidin	PPD	CMV	Adeno
SI- Kontroll-Mittelwerte	13	226	181	52	45	33	24	48	39
Ko- mindestens:	≥ 3	≥ 80	≥ 60	≥ 15	≥ 15	≥ 5	≥ 5	≥ 5	≥ 5
Pathologisch:	< 30% der Tageskontrolle			*		*	*	*	*

* Interpretation abhängig vom Impf-/ Expositionsstatus

Die Stimulationsindices der spezifischen Antigene (außer MLC) sind abhängig von einer früheren Exposition mit diesen Antigenen (Tetanusimpfung, Candida-Exposition/ Infektion, PPD Impfung bzw. mykobakterielle Infektion z.B. Tuberkulose, Exposition/ Infektion mit Cytomegalie- (CMV) bzw. Adenoviren). Die Proliferationsrate und damit der Stimulationsindex der T-Zellen nach erneuter Exposition in vitro ist dabei **individuell different**. Als positiv gelten Stimulationsindices ≥ 3 . Die kryokonservierten Kontrollen (aus Buffy Coats) werden vor der Verwendung getestet und danach ausgewählt, dass eine möglichst hohe Proliferationsrate erreicht wird.

Zusätzliche Informationen

Die Proliferation der T-Zellen als Reaktion auf einen Antigenstimulus ist ein zentraler Vorgang in der Expansion der spezifischen Immunleistungen. Hierzu müssen der T-Zell-Rezeptor und T-Zell-Corezeptoren (CD3, CD4 bzw. CD8, CD28...) auf der Oberfläche der T-Zellen an ihre Liganden auf antigenpräsentierenden Zellen binden. Diese Bindung kann Folge der Präsentation eines spezifischen (Erreger-) Antigens sein. Wird dies *in vitro* durch Zugabe eines einzelnen Antigens simuliert, bezeichnet man die Messung dieser Leistungen als **spezifische T-Zellfunktion**. Eine spezifische T-Zellfunktion lässt sich i.d.R. dann nachweisen, wenn bereits antigen-spezifische Gedächtnis-T-Zellen vorhanden sind, sie ist also abhängig von der vorangegangenen Konfrontation mit den betreffenden Erregern bzw. Impfstoffen. Die für die T-Zell Stimulation notwendigen Signale können auch „künstlich“ simuliert werden, indem unabhängig von einem spezifischen Antigen, TCR und Corezeptoren an der T-Zell-Oberfläche unspezifisch durch sogenannte Mitogene vernetzt werden. Die Proliferationsantwort auf diese Reize wird dann als **unspezifische T-Zellfunktion** bezeichnet.

Zur unspezifischen Stimulation („Mitogene“) werden die Stimulanzen Interleukin 2 (IL2), Phythämagglutinin (PHA) und magnetische beads, die mit einer Kombination aus anti-CD3 (zur T-Zell Rezeptor Stimulation) und dem Costimulator anti-CD28 beladen sind, verwendet.

Die antigenspezifische Stimulation („Antigene“) wird mit den bakteriellen Antigenen Tetanus-Toxoid, Candidin (Candida albicans - Antigen), Tuberkulin-Toxoid (PPD) und den viralen Antigenen CMV (Cytomegalie Virus) und Adenovirus-Antigen, sowie einem Pool von MNC fremder Spender als allogene Antigene in einer „gemischten Lymphozytenkultur (MLC)“ durchgeführt.

Die Zellen werden für eine definierte Zeitperiode (3 bzw. 5 Tage) bei 37°C inkubiert. Durch die Stimulation werden die T-Zellen zur Proliferation angeregt, die DNA-Synthese Rate ist erhöht.

Nach der Stimulation wird den Ansätzen ³H Thymidin zugefügt und für weitere 16-20h bei 37°C inkubiert. Während der Zellteilung inkorporieren die Zellen nun anstatt der natürlichen Base Thymin das radioaktive Isotop in die neu synthetisierte DNA. Je mehr Zellteilungen, desto mehr ³H Thymidin wird eingebaut.

Die Grenzen der Methode liegen v.a. in hohen Interassay Abweichungen (unter Verwendung der gleichen kryokonservierten Buffy-Coat Tageskontrolle Standardabweichung je nach Stimulanz 20-80%) begründet. Die Gründe hierfür können nicht immer determiniert werden. Die Beurteilung der Patientenansätze ist daher nur im Vergleich zur Tageskontrolle möglich.