

EVALUATION VON IL-2, TNF- α UND IL-22 IM ZYTOKIN-LYMPHOZYTEN-TRANSFORMATIONSTEST

Palmo Gönpentsang, BMA 20-23

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

ADR-AC GmbH, Immunologie

1. Zusammenfassung

Im ADR-AC-Labor wird bei Arzneimittelallergien vom Spättyp der Zytokin-Lymphozyten-Transformationstest (Zyto-LTT) durchgeführt. Der Zyto-LTT unterteilt sich routinemäßig in den zellulären Teil und die Messung der Zytokine (Bead-Assay). Der zelluläre Teil wurde von den zuständigen BMAs bereits durchgeführt. Der Focus dieser Arbeit liegt auf Bead-Assay.

In der Routine werden fünf Zytokine gemessen. Diese sind Interleukin-5 (IL-5), Interleukin-13 (IL-13), Interferon gamma (IFN-g), Granzym B (GzB) und Granulysin (GL). GL hat bisher im Vergleich zu den anderen Zytokinen schlechte Ergebnisse gezeigt. Um dieses zu ersetzen und somit eine bessere Sensitivität des Zyto-LTT zu erreichen, wurden in der vorliegenden Studie die drei neuen Zytokine Interleukin-2 (IL-2), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interleukin-22 (IL-22) getestet. [1]

2. Einleitung

Der Spättypreaktion gehört zu Allergietyp IV und ist eine T-Zell-vermittelte Immunreaktion mit verzögerter Reaktionszeit. Die Symptome treten etwa drei bis mehreren Wochen nach dem Kontakt mit dem Medikament-Allergen auf. Dabei werden T-Helferzellen aktiviert und schütten bestimmte Zytokine aus, die dann unterschiedliche Entzündungsreaktionen einleiten. Makulopapulöse Exanthem (MPE) gehört zu häufigste Form der Spättypreaktion. Im Bead-Assay werden die Zytokine IL-5, IL-13 und IFN-g sowie die zytotoxisitätsmarker GzB und GL bestimmt. Zur Interpretation der Ergebnisse wird der Stimulationsindex (SI) berechnet, wobei ein SI > 2 bei mehr als zwei Konzentrationen i.d.R. als positiv bewertet wird.

Zytokine

IL-2 fördert die Vermehrung von zytotoxischen T-Lymphozyten, T-Helferzellen und NK-Zellen.

TNF- α ist ein Entzündungsmediator, der am Wachstum und Differenzierung vieler Zelltypen beteiligt ist.

IL-22 kann an der Entstehung verschiedener entzündlicher Hauterkrankungen wie Psoriasis beteiligt sein. [2]

3. Ziele und Fragestellungen

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die neuen Zytokine zu bewerten, um GL in der Routinepraxis möglicherweise durch ein alternatives Zytokin zu ersetzen. Dabei wurden zunächst auf die Aussagekraftigkeit der neuen Zytokine überprüft. Danach wurden die Kinetik der Zytokinausschüttung an Tag 2 und Tag 7 untersucht.

4. Methodik

Teil I: Optimierung des technischen Tests

- Proben: Kulturüberstände von bereits positiv getesteten Patienten im Zyto-LTT aus dem Labor. (N = 9)

Teil II: Kinetik der Zytokinausschüttung

- Messung IL-2, TNF- α und IL-22 zu zwei Zeitpunkten: nach dem 2. und nach dem 7. Inkubationstag.
- Proben: Kulturüberstände von neu eingegangenen Patientenproben, bei denen die Sensibilisierung nachgewiesen wurde. (N = 22)

Das Testprinzip auf Beads-basierendes Immunoassay

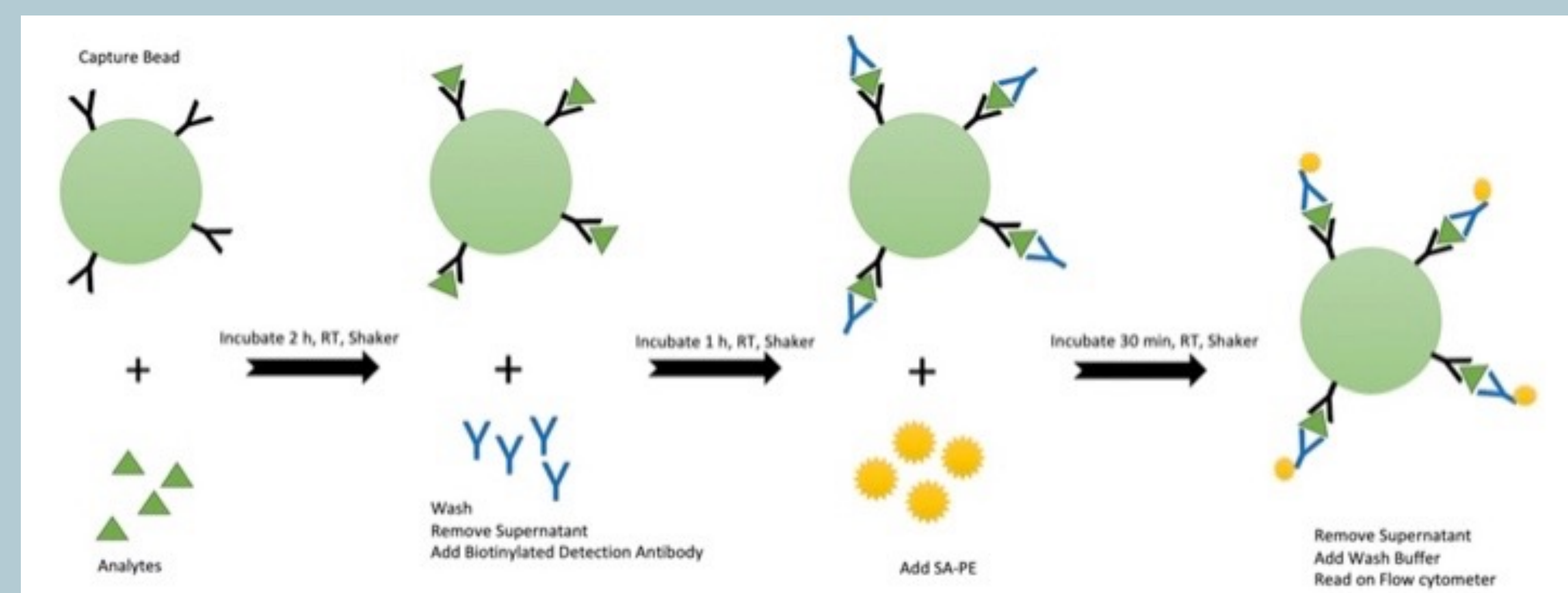


Abb. 1 Bead-Based Immunoassay (Gönpentsang, 2023)

Im Durchflusszytometer werden die Beads wegen ihrer unterschiedlichen Größe in zwei Populationen getrennt. Weiterhin werden sie anhand ihrer Fluoreszenzintensität in die einzelnen Analyten differenziert. Die dabei gemessene Intensität des Fluoreszenzsignals ist proportional zur Menge der gebundenen Analyten.

5. Ergebnisse / Resultate

Teil I: Die höchste Freisetzung zeigten IL-22 mit einem Durchschnittindex der Stimulation von etwa 10. Sowohl IL-2 als auch TNF- α fallen hingegen im negativen Bereich auf.

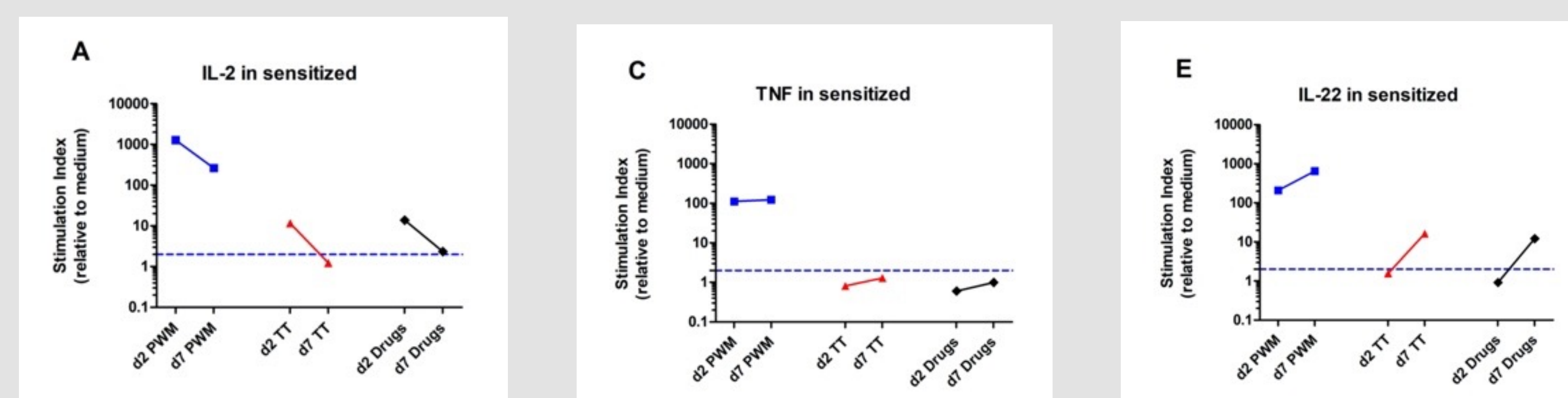


Abb. 2 Kinetik der Zytokine an Tag 2 und Tag 7. Positive Kontrollen: Pokeweed Mitogen (PWM) und Tetanus Toxoid (TT) (Gönpentsang, 2023)

Teil II: Von den drei getesteten Zytokinen lieferte IL-22 das vielversprechendste Ergebnis mit einer optimalen Freisetzung an Tag 7. Im Gegensatz dazu wurde die optimale Zytokinfreisetzung für IL-2 an Tag 2 erreicht, während TNF- α insgesamt schlechte Ergebnisse lieferte.

6. Diskussion und Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Studie wurde festgestellt, dass die Freisetzung von IL-2 und IL-22 im Zusammenhang mit einer Arzneimittelallergie durch die spezifische T-Zell-vermittelte Immunantwort erfolgt. Der Grund für die unterschiedlichen Freisetzungsoptima ist, dass IL-2 zu Beginn der Immunantwort freigesetzt wird. Es fördert seinerseits die Proliferation sowie die Differenzierung der T-Zellen und wird daher verbraucht. Folglich wird aufgrund der Vermehrung der T-Zellen mehr IL-22 freigesetzt. Die Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit können durch weiterführende Forschungsvorhaben ergänzt werden.

Referenzen

- [1] Lochmatter, P., Zawodniak, A. & Pichler, W. J. (2009) In Vitro Tests in Drug Hypersensitivity Diagnosis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 29(3), 537- 554. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2009.04.009>
- [2] Hodi, F. S. & Soiffer, R. J. (2002). Interleukins. In *Elsevier eBooks* (S. 523 – 535) <https://doi.org/10.1016/B0-12-227555-1/00110-6>

Abbildungen

- Abb. 1 Gönpentsang, P. (2023). Bead-Based Immunoassay. *medi*.
- Abb. 2 Gönpentsang, P. (2023). Kinetik der Zytokine an Tag 2 und Tag 7. *medi*.