

**Aus dem Zentrum der Kinderheilkunde des Klinikums der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main**

Schwerpunkt: Pädiatrische Pneumologie, Allergologie
Leitender Oberarzt: Prof.Dr. Stefan Zielen

**Der Einfluß von körperlicher Leistung auf das Immunsystem bei
Patienten mit variablem Immundefekt (CVID)**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereiches Medizin
der Johann Wolfgang Goethe – Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Peter Walz
aus
Gaildorf

Frankfurt am Main, 2001

Dekan: Herr Prof.Dr.J. Pfeilschifter
Referent: Herr Prof.Dr.S. Zielen
Koreferent: Herr Prof.Dr.L. Bergmann

Tag der mündlichen Prüfung: 05.03.2003

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG	6
1.1 Allgemeines	6
1.2 Der Einfluß von Sport auf das Immunsystem	7
1.3 HIV und sportliche Belastung	10
1.4 Common variable Immunodeficiency	10
1.5 Aufgabenstellung der Arbeit	12
II. MATERIAL UND METHODEN	13
2.1 Patientenkollektiv	13
2.2 Kontrollen	14
2.3 Reagenzien	14
2.4 Monoklonale Antikörper	15
2.4.1 CD3	16
2.4.2 CD4	16
2.4.3 CD8	16
2.4.4 CD19	16
2.4.5 CD45RA	17
2.4.6 CD45RO	17
2.4.7 CD56	17
2.4.8 CD95	17
2.5 Methode	18
2.5.1 Versuchsablauf	18
2.5.2 Grundlagen	18
2.5.3 Durchführung der Markierung	19
2.5.4 Graphische Auswertung	20
2.5.5 Statistische Auswertung	20

III. ERGEBNISSE	22
3.1 B-Zellen	22
3.2 Zytotoxische T-Zellen	23
3.3 T ₄ -Helferzellen	25
3.4 Natürliche Killerzellen	26
3.5 Naive T ₄ -Helferzellen	28
3.6 T ₄ -Memory-Zellen	30
3.7 CD95 positive T ₄ -Helferzellen	31
3.8 CD4 – CD8 – Ratio	32
3.9 Besondere individuelle Verläufe	34
IV. DISKUSSION	36
4.1 Allgemeines	36
4.2 Diskussion der Studienergebnisse	38
4.2.1 B-Zellen	38
4.2.2 Zytotoxische bzw. Suppressor T-Zellen	38
4.2.3 T ₄ -Helferzellen	40
4.2.4 Natürliche Killerzellen	42
4.3 Konsequenzen der Zellmobilisierung	43
V. ZUSAMMENFASSUNG	45
VI. LITERATUR	47

VII. ANHANG	53
7.1 Patientendaten	53
7.2 Kontrollendaten	54
VIII. DANKSAGUNG	56
IX. EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	57
X. LEBENSLAUF	58

Der Einfluß von körperlicher Leistung auf das Immunsystem bei Patienten mit variablem Immundefekt (CVID)

I. EINLEITUNG

1.1 Allgemeines

Das menschliche Immunsystem ist ein hochkomplizierter und anpassungsfähiger Komplex aus unterschiedlichsten Mechanismen, der sich im Laufe mehrerer Millionen Jahre entwickelt hat. Es bietet dem menschlichen Organismus sowohl Schutz gegen Gefahren von außen, in Form von Pilzen, Bakterien und Viren, als auch von innen, in Form von entartenden Zellen.

Seit der Entdeckung des HI-Virus wurden auf dem Gebiet der immunologischen Diagnostik große Fortschritte erzielt. Entwicklungen, wie der Einsatz monoklonaler Antikörper zur Unterscheidung verschiedener Abwehrzellen durch Koehler und Milstein, haben Meilensteine in der Immunforschung gesetzt. So liefern neue, genauere Methoden immer tiefere Einblicke in die Komplexität des menschlichen Abwehrsystems.

Ausgehend von seiner Wirkungsweise läßt sich das menschliche Immunsystem in zwei Bereiche unterteilen. Es gibt ein unspezifisches Immunsystem, das einerseits durch die Haut als erste Schutzbarriere, durch unspezifische zelluläre Systeme (Granulozyten, Monozyten-Makrophagensystem und Natürliche Killerzellen), lösliche Faktoren (Lysozym , Akute-Phase-Protein, CRP , Interferon) und das Komplementsystem gebildet wird.

Davon unterscheidet man das spezifische Immunsystem, das sich zusammensetzt aus den T-Lymphozyten, die die zelluläre Komponente darstellen, und B-Lymphozyten, die für die Antikörperproduktion verantwortlich sind.

Beide Teilsysteme bilden eine Einheit, die dafür sorgt daß unser Körper vor schädlichen Einflüssen geschützt ist. Allerdings ist dieser Schutz nicht hundertprozentig, und so gelingt es immer wieder Krankheitserregern, diese Barriere zu durchbrechen. Dies kann dann z.B. dazu führen, daß auch in den hochentwickelten westlichen Staaten fast jeder Mensch mindestens ein- bis zweimal

jährlich über einen Infekt der oberen Atmungsorgane zu klagen hat. Desweiteren zeigt sich auch, daß zwar die infektiösen Erkrankungen ihren Schrecken als Todesursache ziemlich verloren haben, jedoch die Tumorerkrankungen mit steigender Tendenz sich auf Rang 2 der Todesursachen befinden.

Hierbei ist zu beachten, daß das Immunsystem nur ein System innerhalb des Gesamtorganismus darstellt und in Wechselwirkung mit anderen Körpersystemen steht, beispielsweise dem Hormonsystem. Der Ausstoß von Streßhormonen wie Adrenalin und Cortisol scheint, je nach Ausmaß, erhebliche Wirkungen auf die Körperabwehr zu besitzen.

1.2 Der Einfluß von Sport auf das Immunsystem

Die körperliche Belastung beim Sport steht in engem Zusammenhang mit dem Ausstoß von Streßhormonen. Die Einwirkungen auf die körperliche Abwehr zeigen, je nach Intensität der praktizierten sportlichen Betätigung, ein sehr unterschiedliches Bild. Sport, in moderatem Maß betrieben, scheint einen positiven Einfluß auf das Immunsystem zu haben, extrem betriebener Hochleistungssport dagegen kann zu einer starken Immunsuppression führen. Bei Hochleistungssportlern äußert sich dies sehr häufig durch rezidivierende Infekte, vor allem der oberen Atemwege. NIEMAN und NEHLSSEN-CANNARELLA (42) zeigen in ihrer Arbeit, daß Personen, die regelmäßig Sport in geringem Ausmaß betreiben, über weniger Infekte der oberen Atemwege klagen als Personen, die überhaupt keinen Sport ausüben. Andererseits treten bei intensiv trainierenden Sportlern häufiger Infekte auf.

PEDERSEN und ULLUM (47) verfolgen die Hypothese, daß sowohl moderat als auch intensiv betriebener Sport initial zu einer Stimulation der Immunfunktion führt, und daß bei moderater Belastung dieser Zustand sogar noch kurze Zeit über den Stimulus hinaus anhält. Bei intensiver Belastung führt dies zu einer länger andauernden Suppression des Immunsystems. In dieser Phase ist dann der Athlet einer erhöhten Infektionsanfälligkeit ausgesetzt. Bei Hochleistungssportlern, die täglich mehrere Trainingseinheiten durchführen, besteht die Möglichkeit, daß das Immunsystem in den Pausenphasen gar nicht mehr ausreichend in der Lage ist, sich zu regenerieren und der Athlet sich deshalb in einem immunsupprimierten Dauerzustand befindet.

SMITH und WEIDEMANN (57) fanden, daß eine mäßige körperliche Belastung zu einer Freisetzung von immunstimulierenden Hormonen, wie Wachstumshormonen, Prolaktin und Endorphinen, sowie stimulierenden Zytokinen führt. Wird jedoch eine kritische Leistungsgrenze überschritten, kommt es zur Freisetzung von Stresshormonen wie Catecholaminen und Cortisol, die eine immunsuppressive Wirkung ausüben.

Interessant ist die Betrachtung einzelner Immunparameter unter körperlicher Aktivität.

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, daß sich zwar die Leukozytengesamtzahl innerhalb einer längeren und intensiveren Trainingsperiode verringert, diese jedoch immer innerhalb des klinischen Referenzbereiches bleibt (22,32,38). Ein akutes Belastungsereignis kann jedoch zu erheblichen Veränderungen in der Anzahl der zirkulierenden Leukozyten und zu einer Verschiebung des Gleichgewichtes in der Zusammensetzung der verschiedenen Lymphozytensubpopulationen führen. Dabei kann die Anzahl der zirkulierenden Leukozyten bis auf das Fünffache ansteigen und die Erhöhung bis zu 24 Stunden lang andauern. Dieser Anstieg scheint abhängig von der Dauer und der Intensität der Belastung zu sein (10,38). Weiterhin können Veränderungen im Aktivierungsvermögen von Lymphozyten auftreten.

Der Anstieg der Zellzahl ist in erster Linie durch eine Zunahme der neutrophilen Granulozyten und in geringerem Ausmaß durch einen Zuwachs an Lymphozyten bedingt.

Diese können sogar unter den Ausgangswert abfallen und dort bis zu 24 Stunden verbleiben (13,44). Hauptsächlich tritt dies bei der Subpopulation der Natürlichen Killerzellen auf.

Die Natürlichen Killerzellen scheinen innerhalb der Lymphozyten eine Sonderrolle einzunehmen. Bei ihnen ist, im Vergleich zu B- und T-Lymphozyten, ein rascher Anstieg zu beobachten, gefolgt von einem ebenso schnellem Absinken der Zellzahl unter Belastung (12,13).

Bei den T-Zellen kommt es zu einer Veränderung der CD4-CD8-Ratio. Die Gesamtzahl der CD3-Zellen steigt an, wobei die Zunahme auf Seiten der CD8 Zellen überwiegt (10). Zusätzlich konnte anhand von Proliferationstests gezeigt werden, daß

die Aktivierbarkeit der T-Zellen von Marathonläufern bis zu 3 Stunden nach dem Lauf supprimiert war.

Das weiße Blutzellsystem reagiert auf sportliche Belastung mit einer vorübergehenden Umverteilung der Zellen, zwischen den verschiedenen lymphatischen Organen und dem Blut.

Studien der B-Zellpopulation ergaben, daß es, sowohl nach akuten körperlichen Belastungssituationen (61) als auch nach Langzeittrainingsphasen (14,61), zu einem signifikanten Anstieg der Zellzahl kommen kann.

Messungen der Antikörperkonzentration unter körperlicher Aktivität führten zu unterschiedlichen Ergebnissen. Eine Studie, die die Immunglobulinproduktion während einer dreimonatigen intensiven Trainingseinheit beschreibt, fand ein konstantes Absinken des IgM, des Gesamt-IgG sowie der IgG-Subklassen 1 und 2, vom Beginn bis zum Ende der Bestimmung, wobei der Abfall der beiden IgG-Subklassen am stärksten war. (14).

Weitere Studien belegen, daß die Serum- Immunglobulinkonzentrationen bei Athleten innerhalb der klinischen Referenzbereiche liegen (20,44). Beobachtungen der IgG₂ – Subklassen von Gleeson (16) und Gmunder (17) ergaben jedoch ein Absinken der Serumkonzentration unterhalb des Referenzbereiches bei Athleten verschiedener Sportarten.

Nach einer akuten körperlichen Belastung zeigen die Serum-Immunglobulinkonzentrationen so gut wie keine Änderung. Sawka et al. (54) konnten darlegen, daß erhöhte Immunglobulinspiegel bei Läufern allein durch die Dehydrierung zu begründen waren. Weitere Studien sind nötig, um diesen Sachverhalt eindeutig zu klären.

Anders scheint der Sachverhalt beim sekretorischen IgA zu sein. Es konnte gezeigt werden, daß die Konzentration von sekretorischem IgA während eines Wettkampfes bei Hochleistungssportlern gegenüber Nichtsportlern erniedrigt war .

Eine Studie (37) über eine 5 minütige Extrembelastung ergab ein Absinken des IgA-Level um bis zu 50%. Andererseits konnte wiederum gezeigt werden, daß eine mäßige Belastung (36,39) kaum zu Veränderungen der IgA-Sekretionsrate führt.

1.3 HIV und sportliche Belastung

Verschiedene Studien konnten nachweisen, daß moderates regelmäßiges Training bei HIV-Infizierten, bzw. AIDS-Kranken in den verschiedenen Krankheitsstadien zu einer signifikanten Zunahme der CD4+ Helferzellen führt (30,31,51,34). In keinem Fall hat die sportliche Betätigung zu einer Verschlechterung des Immunzustandes der Probanden geführt. Die stärkste Zunahme der Zellzahl wurde bei Patienten in den früheren Erkrankungsphasen festgestellt.

Im Unterschied zu HIV-Erkrankten scheint bei gesunden Probanden kein signifikanter Anstieg der CD4-Zellzahl unter einer längeren Trainingsbelastung vorzuliegen (40,43).

LA PERRIERE et al. (29) konnten in ihrer Studie zeigen, daß es bei gestreßten HIV-positiven Probanden anschließend an eine 12 Wochen dauernde aerobe Trainingsphase ebenfalls zu einer signifikanten CD4-Zellzahlerhöhung kommt. Eindeutige Klarheit darüber, ob die vermehrte Mobilisierung von Helferzellen bei HIV-Infizierten Patienten, die fast eine Normalisierung der Zellzahl darstellt, wirklich zu einer verbesserten Immunabwehr führt, konnte bisher jedoch noch nicht ausreichend belegt werden, und es bedarf noch weiterführender funktioneller Studien.

SOLOMON et al. (58) rechnen der körperlichen Aktivität von einigen Langzeit-Überlebenden HIV-Patienten eine große Bedeutung für deren überdurchschnittlich lange Überlebenszeit zu.

1.4 Common variable Immunodeficiency

Das variable Immundefektsyndrom (CVID) ist eine heterogene Gruppe von Krankheiten, denen eine inadäquate Produktion von Immunglobulinen gemeinsam ist. Klinisch manifest wird das Syndrom durch häufig rezidivierende Infektionen des Respirationstraktes .

CVID wird oftmals erst recht spät als Krankheitsursache erkannt, so daß rezidivierende bronchopulmonale Infektionen bereits zur Bildung von Bronchiektasien geführt haben. Auch die Entwicklung eines Cor pulmonale, bedingt durch die chronischen Lungenerkrankungen, wird in diesem Zusammenhang beschrieben (15,21).

Es kommen auch Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes vor, wie z. B. Lambliasis, Sprue-ähnliche Syndrome mit schwerer Malabsorption (23,24,45,62).

Als weitere schwerwiegende Komplikation ist die Entwicklung von Autoimmunkrankheiten zu sehen. Besonders zu erwähnen sind hierbei die autoimmune Thrombozytopenie, autoimmune hämolytische Anämie, rheumatoide Arthritis, Siccasyndrom und Perniziöse Anämie (5,21).

Desweiteren ist eine erhöhte Anfälligkeit für maligne neoplastische Erkrankungen, besonders des lymphatischen Systems und des Gastrointestinaltraktes bei CVID-Patienten beschrieben.

Das klinische Erscheinungsbild ist sehr unterschiedlich und wird deshalb oft erst spät als primärer Immundefekt erkannt. Dies führt dazu, daß häufig die Erstdiagnose erst im Erwachsenenalter gestellt wird.

Man geht beim CVID von verschiedenen pathogenetischen Entstehungsmechanismen aus (3) :

1. Defekt der B-Zelldifferenzierung bei normaler B-Zellzahl
2. verminderte B-Zellzahl (relativ selten)
3. Autoantikörper gegen B-Zellen
4. defekte T-Helfer-Funktion
5. vermehrte Suppressoraktivität von T-Zellen
6. Defekte von Monozyten/Makrophagen und T-Zellen
7. Seruminhibitoren

Bei den meisten CVID-Patienten liegt eine normale, bzw. eher leicht erhöhte B-Zellzahl vor, es zeigen sich jedoch in der Mehrzahl der Fälle funktionelle Defekte (9,52,53).

Die T-Zellenverteilung weist bei einem Teil der CVID-Patienten deutliche Veränderungen auf (63). Auffällig ist hierbei eine, zum Teil stark verminderte CD4/CD8-Ratio sowie eine signifikante Vermehrung der NK-Zellen.

Bei den Patienten mit erhöhter CD4/CD8-Ratio scheint eine T-Zellaktivierung vorzuliegen, es findet sich ein erhöhter Anteil aktivierter CD45RO+ Zellen (Memory-Zellen) gegenüber ruhenden CD45RA+ Zellen („naive“ Zellen) (6).

Einige der untersuchten Patienten zeigten eine erhöhte Expression von CD95, was ebenfalls für eine erhöhte Aktivierung der Lymphozyten spricht.

1.5 Aufgabenstellung der Arbeit

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluß von körperlicher Aktivität auf die quantitativen Veränderungen der Lymphozytenpopulationen bzw. deren Aktivierungsgrad bei Patienten mit variablem Immundefektsyndrom zu untersuchen.

Es sollte analysiert werden, ob die sportliche Betätigung eine zusätzliche Belastung für das primär angeschlagene Immunsystem darstellt, oder ob vielleicht ein Benefit für die Immunsituation der Patienten erzielt werden kann.

Hierfür wurden die Untersuchungsergebnisse denen einer Kontrollgruppe gegenübergestellt und auf signifikante Unterschiede untersucht.

Um einen Bezug zu alltäglichen Situationen herzustellen, wählten wir bewußt eine mäßig schwere Belastung in Form einer 3,5 km langen Laufstrecke, die in einer Zeit von etwa 20 min absolviert werden mußte.

Als Parameter für die Lymphozytentypisierung wurden folgende Marker gewählt: CD3 (T-Lymphozyten), CD4 (Helferzellen), CD8 (Suppressorzellen), CD19 (B-Lymphozyten), CD56 (NK-Zellen), CD45RA (Naive Zellen), CD45RO (Memory-Zellen), CD95 (Aktivitätsmarker).

Bei der Untersuchung der CD4- und CD8- Zellen interessierte uns speziell, ob sich die erniedrigte CD4:CD8-Ratio bei den Patienten bestätigen würde, bzw. unter sportlicher Belastung zusätzlich zu einer Erniedrigung führt.

Desweiteren interessierte uns noch der Verlauf der Aktivierungsmarker CD45RO und CD95.

II. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patientenkollektiv

Bei der Patientengruppe handelte es sich um sieben Patienten, drei weiblich, vier männlich im Alter von 14 bis 21 Jahren (Mittelwert 17,4 Jahre), mit der Diagnose : Variables Immundefektsyndrom CVID.

Alle sieben Patienten wurden im Zentrum der Kinderheilkunde des Johann-Wolfgang-Goethe-Universitätsklinikums betreut.

Alle Patienten wurden regelmäßig in dreiwöchigem Abstand in der immunologischen Ambulanz mit Immunglobulinen substituiert.

Zum Zeitpunkt des Versuches konnten bei keinem der Patienten Anzeichen eines Infektes festgestellt werden

Patient	Alter Jahre	Geschlecht m/w	Erkrankung bekannt seit	IGIV-Substitutions- intervall
GO	20	m	1994	3 Wochen
HPe	16	m	1985	3 Wochen
HPa	22	w	1988	3 Wochen
KA	18	w	1996	3 Wochen
RK	17	m	1995	3 Wochen
TS	12	m	1996	3 Wochen
VM	14	w	1994	3 Wochen

Alle Patienten betrieben regelmäßig Sport, drei davon (GO, HPe, TS) mit größerem Trainingsaufwand.

2.2 Kontrollen

Die Kontrollgruppe bestand aus sieben Probanden im Alter zwischen 22 und 32 Jahren (Mittelwert 24 Jahre).

Es handelte sich hierbei um gesunde Patienten, die auch sonst keine immunologischen und physischen Erkrankungen aufwiesen.

Am Tag des Versuchs lagen bei den Probanden klinisch keine Anzeichen eines Infektes vor.

2.3 Reagenzien

Lösungen:

- | | |
|------------------------|--|
| - PBS | Fa. Gibco BRL Life Technologie
Cat No. 14190-094
PBS Dulbecco ohne Ca und Mg |
| - Na-Azid | Fa. Riedel de Haan
Cat No. 13412 |
| - PBS-Azid 0,1 % | |
| - FACS Lysing Solution | Fa. Becton Dickinson
Cat No. 349202 |
| - Paraformaldehyd | Merck Cat No. 236 K18323105 |

Geräte:

- | | |
|----------------------------|-------------------------------|
| - Durchflußcytometer | Fa. Becton Dickinson, FACScan |
| - FACScan Software | Fa. Becton Dickinson |
| - FACS-Röhrchen | Fa. Becton Dickinson |
| - Pipetten, Pipettenhalter | Fa. Eppendorf |
| - Zentrifuge | Fa. Hereus |
| - Zentrifugeneinsätze | Fa. Hereus |
| - Vortex-REAX 2000 | Fa. Heidolph |

Monoklonale Antikörper:

- CD3-FITC	IMMUNOTECH Cat No. PN IM 1281
- CD4-FITC	Pharmingen Cat No. 30154X
- CD4-PE	Becton Dickinson Cat No. 347747
- CD8-PE	IMMUNOTECH PNIM0452
- CD19-PE	IMMUNOTECH Cat No. PNIM1285
- CD45Ra-FITC	IMMUNOTECH Cat No. 0584
- CD45Ro-PE	IMMUNOTECH Cat No. 1307
- CD56-PE	Becton Dickinson Cat No. 347747
- CD95-FITC	Pharmingen Cat No. 33454X

2.4 Monoklonale Antikörper

Folgende monoklonale Antikörper (mAK) wurden für die Untersuchung der Zelloberfläche am FACScan eingesetzt:

CD-Nomenklatur	IgG-Isotyp	Klon	Antigenexpression
CD3	IgG1	UCHT-1	reife T-Zellen, Thymozyten
CD4	IgG1	RPA-T4	T-Helferzellen, Monozyten, Thymozyten
CD8	IgG1	B9.11	T-Suppressor / Zytotoxische Zellen Thymozyten, Nk-Zellen
CD19	IgG1	J4.119	Pan B-Zellen, ab Progen-B-Zellen, prä B-All
CD45Ra	IgG1	ALB11	Naive T-Zellen, B-Zellen, Monozyten
CD45Ro	IgG1		Memory T-Zellen, B-Zellen, Monozyten

CD56	IgG1		NK-Zellen
CD95	IgG1	DX2	Vielzahl von Zelllinien

2.4.1 CD3

Das CD3 – Antigen ist ein Teil des T-Zell-Rezeptor-Komplexes.

Es besteht aus drei in der Membran verankerten Polypeptidketten, die mit dem T-Zell-Rezeptor (TZR) eng assoziiert sind. Beide Strukturen dienen der Signaltransduktion nach erfolgter Antigenstimulation.

2.4.2 CD4

Der CD4 - Rezeptor ist für die MHC - Klasse II – abhängige Immunerkennung verantwortlich. Er befindet sich auf ca. 45 % der normalen peripheren Blutlymphozyten, die man als T-Helferzellen bezeichnet. Ebenso ist er auf 80 % aller Thymozyten sowie wenigen Monozyten und Makrophagen exprimiert.

2.4.3 CD8

Der CD8 – Rezeptor ist für die MHC – Klasse I – abhängige Immunerkennung und T – Zellaktivierung verantwortlich. Monoklonale Antikörper gegen CD8 markieren eine Subpopulation der T – Zellen, die aus zytotoxischen und supprimierenden Zellen (20 - 35 % aller normalen peripheren Blutlymphozyten) besteht.

2.4.4 CD19

CD 19 ist ein Protein, das alle B-Zellen ab einer frühen Phase ihrer Ontogenese exprimieren. Es spielt bei der B-Zell-Aktivierung eine entscheidende Rolle. Es

handelt sich um ein integrales Membranglykoprotein mit einem Molekulargewicht von 35 kDa.

2.4.5 CD45RA

Das CD45RA-Antigen wird auf naiven T-Zellen, B-Zellen und Monozyten exprimiert. Es handelt sich um eine Isoform von CD45, einer Tyrosinphosphatase, die die Signalvermittlung über den Antigenrezeptor von B- und T-Zellen steuern. Es wird durch alternatives Spleißen gebildet. CD45RA enthält das A - Exon.

2.4.6 CD45RO

CD45RO wird auf aktivierten T-Zellen , B-Zellen, NK-Zellen, Monozyten und Makrophagen exprimiert. Wenn eine CD45RA positive T-Zelle Kontakt mit ihrem spezifischen Antigen hatte, wird durch alternatives Spleißen des RNA-Transkripts des CD45-Gens die Isoform CD45RO exprimiert. Das hat zur Folge, daß die T-Zelle empfindlicher für eine Stimulierung durch geringere Konzentrationen von Antigen wird, weshalb man CD45RO positive Zellen dann auch als Memory-Cells bezeichnet.

2.4.7 CD56

Das CD56-Antigen wird auf etwa 10% bis 25% der peripheren Blutlymphozyten exprimiert. Es kommt auf allen NK-Zellen vor und wird auf etwa 5% der CD3 positiven Lymphocyten gefunden. Die CD56-Dichte nimmt zu bei Aktivierung der NK-Zellen.

2.4.8 CD95

Das CD-95 Antigen ist ein 48 kDa schweres Transmembran-Glykoprotein. Es zählt zur Superfamilie der Rezeptoren für neuronale Wachstums-/ Tumornekrosefaktoren

und ist durch eine zysteinreiche extrazelluläre Domäne charakterisiert. Dieses auf der Zelloberfläche befindliche Molekül vermittelt die Apoptose, den programmierten Zelltod.

2.5 Methode

2.5.1 Versuchsablauf

Die Patienten und Kontrollen fanden sich morgens im Klinikum der Universität Frankfurt am Main ein. Gegen 10 Uhr wurde der Versuch gestartet.

Den Probanden wurde vor dem Lauf zum Zeitpunkt Null 2 x 2ml EDTA-Blut entnommen. Nach dem 30 minütigen Lauf wurden erneut 2 x 2ml EDTA-Blut entnommen, dann nochmals nach weiteren 90 Minuten und 150 Minuten.

Um Absolutwerte der Lymphozytenzahlen zu bekommen, wurde neben der FACS-Analyse ein Differentialblutbild durchgeführt.

Anhand der FACS-Analyse wurden die relativen Werte der B-Zellen, der T-Helferzellen, der zytotoxischen T-Zellen bzw. T-Suppressorzellen und NK-Cells ermittelt und zusammen mit der Gesamtlymphozytenzahl auf Absolutwerte umgerechnet.

Die T-Helferzellpopulation wurde zusätzlich hinsichtlich ihrer Aktivierung mit den Markern CD45RO, CD45RA und CD95 untersucht.

2.5.2 Grundlagen

Die verschiedenen Gruppen von Lymphozyten und deren Subklassen sind lichtmikroskopisch nicht voneinander zu unterscheiden. Um dennoch eine, sowohl qualitative als auch quantitative Differenzierung zwischen diesen Zellgruppen und Untergruppen zu unternehmen, hat man sich die Tatsachen zunutze gemacht, daß Lymphozyten spezifische membranständige Proteine exprimieren, die sogenannten Zelloberflächenantigene, die durch spezifische monoklonale Antikörper markiert werden können, an die verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe gebunden sind.

Die Oberflächenmarker menschlicher Zellen werden einheitlich nach der CD-Nomenklatur (CD = Cluster of Differentiation) benannt, die aufgrund der Bindung monoklonaler Antikörper an ein bestimmtes Antigen definiert werden.

Als Fluoreszenzfarbstoffe werden Fluoresceinisothiocyanat (FITC) und Phycoerythrin (PE) verwendet.

Die Fluoreszenzen der markierten Zellen werden mit einem Durchflußzytometer (FACScan, **F**luorescence **A**ctivated **C**ell **S**orter; Becton Dickinson, Heidelberg) bei einer Wellenlänge von 520 nm (grüne FITC-Fluoreszenz) und 580 nm (rot-orange PE-Fluoreszenz) gemessen, und die Zellpopulationen mit Hilfe eines Computer-Analyse-Programmes graphisch dargestellt und differenziert .

Die in Suspension vorliegenden Zellen werden in einer Pufferlösung einzeln an einem Meßpunkt vorbeigeführt, um dann das monochromatische Licht eines Argonlasers (Exzitationswellenlänge: $\lambda = 480 \text{ nm}$) zu passieren. Dabei wird die zelluläre Größe im Durchlicht durch Vorwärtslichtstreuung (Forward-Scatter) und die Granularität der Zelle in einer 90°- Ablenkung durch die Seitlichtstreuung (Side-Scatter) bei der Anregungswellenlänge detektiert. Die emittierte Fluoreszenz der spezifisch gefärbten Zellen wird durch Winkelstrahlenteiler spektral getrennt und zur Erfassung an Hochleistungsvervielfachungsröhren weitergeleitet. Die simultan detektierten zellulären Parameter werden digital gemessen, gespeichert und Computergestützt analysiert.

2.5.3 Durchführung der Markierung

Zur Phänotypisierung peripherer Lymphozyten aus Vollblut wurden verschiedene Doppelmarkierungen durchgeführt. Als Negativ-Kontrolle wurde eine unmarkierte Probe ohne Zusatz von fluoreszenzmarkierten Antikörpern mitgeführt und nach dem gleichen Verfahren wie die markierten Proben behandelt.

Für die Phänotypisierung wurden je 5 μl mAK in FACS-Röhrchen vorgelegt, nach Zugabe von je 100 μl EDTA- Blut gründlich mit dem VORTEX-Mixer gemischt und 15 Minuten bei 4°C unter Lichtausschluß inkubiert.

Das Lysieren der Erythrozyten erfolgte durch Zugabe von je 2 ml Lysing-Solution / H₂O bidest. (1:10) , anschließendem Mischen und 10-minütigem Inkubieren bei 4°C im Kühlschrank.

Die Proben wurden dann 5 Minuten bei 1500 Upm zentrifugiert und nach vorsichtigem Dekantieren des Überstandes zweimal mit jeweils 2 ml PBS / 0,1% Natriumazid – Lösung gewaschen. Anschließend erfolgte die Fixierung der Zellen in jeweils 50 µl Paraformaldehydlösung 1,0%

Bis zur Messung wurden die Röhrchen luftdicht bei 4°C im Dunkeln aufbewahrt.

2.5.4 Graphische Auswertung

Die Auswertung erfolgt durch Eingrenzen der gewünschten Zellpopulationen, was auch als Setzen von Fenstern oder „Gates“ bezeichnet wird. Dadurch können die Zelloberflächen–Antigene der Populationen, die sich durch Größe und Granularität unterscheiden, bestimmt und nicht lymphozytäre Zellen, tote Zellen sowie Zelltrümmer von der Analyse ausgeschlossen werden. Die Zellen sind nach Größe (x-Achse) und Granularität (y-Achse) aufgetrennt und anhand ihrer Fluoreszenz in einem Dotplot dargestellt.

Durch Setzen von Quadranten anhand von Negativ-Kontrollen können die einzelnen Lymphozytenpopulationen getrennt voneinander berechnet werden. Der Anteil der Oberflächenmarker wird, bezogen auf die Gesamtlymphozytenzahl, in Prozent angegeben.

2.5.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikcomputerprogrammes BIAS.

Als statistische Tests wurden der Friedman-Test und der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verwendet.

Der Friedman-Test dient zum Vergleich eines Parameterverlaufs innerhalb einer Gruppe. Dieser Test ermöglichte es uns, eventuell signifikante Lymphozytenzahlveränderungen im zeitlichen Verlauf vor und nach Belastung innerhalb der Patienten- bzw. Kontrollgruppe zu ermitteln.

Der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test dient zum Vergleich zweier unabhängiger Gruppen, bezüglich einer mindestens ordinalskalierten Zielgröße.

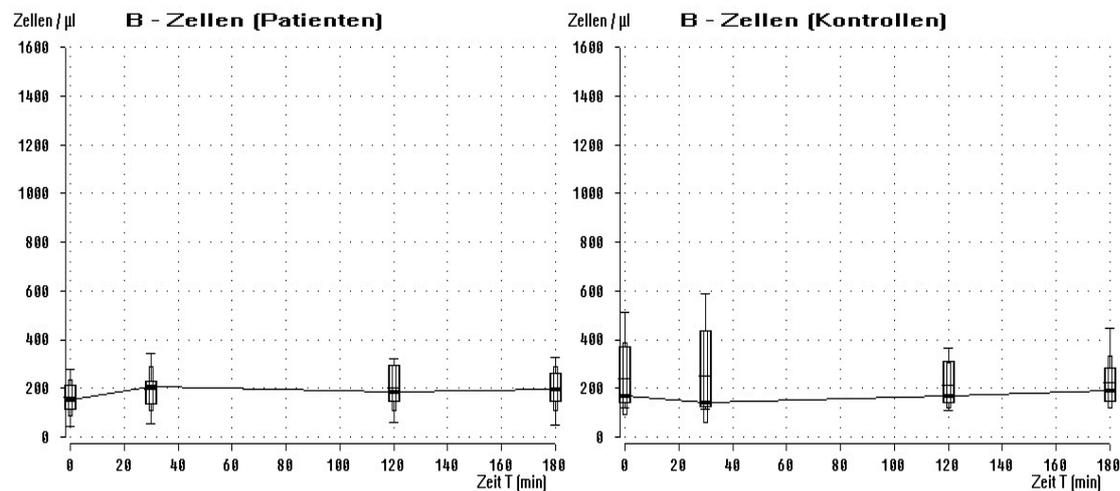
Mit diesem Test verglichen wir die absolute Zellzahl der Lymphozytensubpopulationen in den beiden Gruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten.

III. ERGEBNISSE

3.1 B-Zellen

Die Untersuchung der B-Lymphozyten von Patienten mit CVID und Kontrollen zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen, weder hinsichtlich der Zellzahl zu den einzelnen Zeitpunkten noch in der Zellzahländerung im Verlauf. Dieses Ergebnis fand sich sowohl vor als auch zu allen Zeitpunkten nach der Belastung. Die B-Zellzahl beider Gruppen blieb im Verlauf der Messung weitgehend konstant.

Abb.3.1.1 B-Zellen



Tab.3.1.1

B-Zellen (CD3 ⁺ /CD19 ⁺)	Patienten			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	152	207	183	197
Minimum	42	57	59	50
Maximum	278	343	319	326
Wilcoxon-Mann-Whitneytest p=	0,53	0,90	1,00	1,00
	Kontrollen			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	166	142	168	188
Minimum	120	112	111	145
Maximum	511	589	365	445

3.2 Zytotoxische T-Zellen

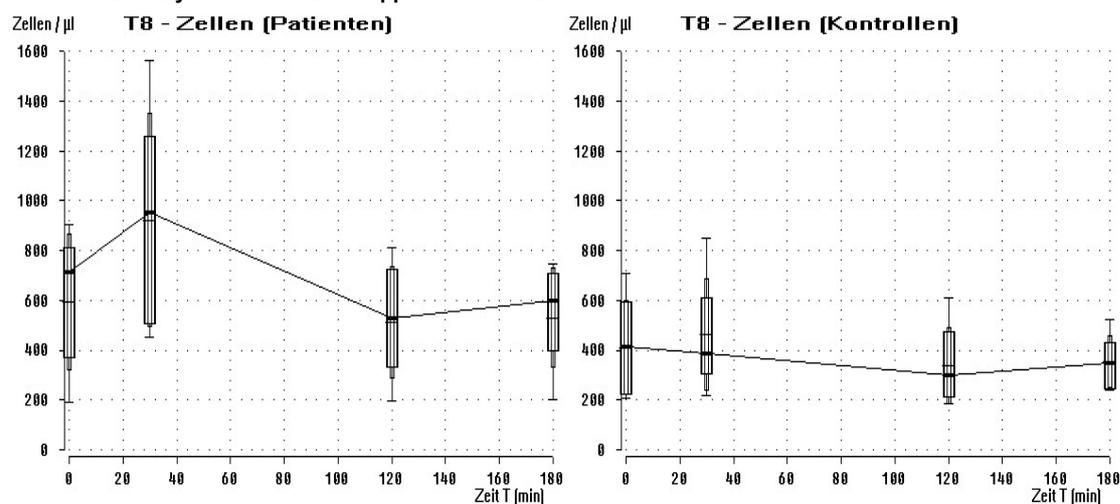
Im Gegensatz zu den B-Zellen fand sich bei den Zytotoxischen T-Zellen zum Ausgangszeitpunkt T_0 ein deutlicher Unterschied in der Zellzahl zwischen Patienten- (Median: 714 Zellen / μl ; Spannweite 188-903 Zellen/ μl) und Kontrollgruppe (Median: 414 Zellen / μl ; Spannweite 208-706 Zellen/ μl).

Nach Belastung kam es bei der Patientengruppe zu einem Anstieg (Median: 855 Zellen / μl ; Spannweite 449-1560 Zellen/ μl), bei der Kontrollgruppe hingegen zu einem leichten Abfall der Zellzahl (Median: 384 Zellen / μl ; Spannweite 218-706 Zellen/ μl). Dies führte zu einem signifikanten Unterschied im Vergleich ($p < 0,05$) der Zellzahl beider Gruppen zum Zeitpunkt T_{30} .

Im weiteren Verlauf fiel in der Patientengruppe die Zellzahl zum Zeitpunkt T_{120} signifikant ab (Median: 528 Zellen / μl ; Spannweite 196-810 Zellen/ μl ; $p < 0,01$). Bei der Kontrollgruppe kam es ebenfalls zu einem weiteren Abfall der Zellzahl, jedoch in geringerem Ausmaß als bei der Patientengruppe. Zum Zeitpunkt T_{120} lag ein deutlicher Unterschied der Zellzahl in beiden Gruppen vor.

Zum letzten Kontrollzeitpunkt T_{180} war die Zellzahl in beiden Gruppen leicht, aber nicht signifikant angestiegen und im Vergleich zum Ausgangswert immer noch erhöht. (siehe dazu Tab.3.2.1). Bei der Betrachtung der Ergebnisse ist die Heterogenität innerhalb der Patientengruppe zu berücksichtigen (Abb. 3.2.2).

Abb.3.2.1 Zytotoxische bzw. Suppressor – T – Zellen



Tab.3.2.1

T8-Zellen (CD3+/CD8+)	Patienten			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	714	855	528	599
Minimum	188	449	196	203
Maximum	903	1560	810	743
Wilcoxon-Mann-Whitneytest p=	0,25 0,037 0,097 0,097			
	Kontrollen			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	414	384	302	349
Minimum	208	218	186	240
Maximum	706	849	607	520

Abb.3.2.2 T8 - Zellen

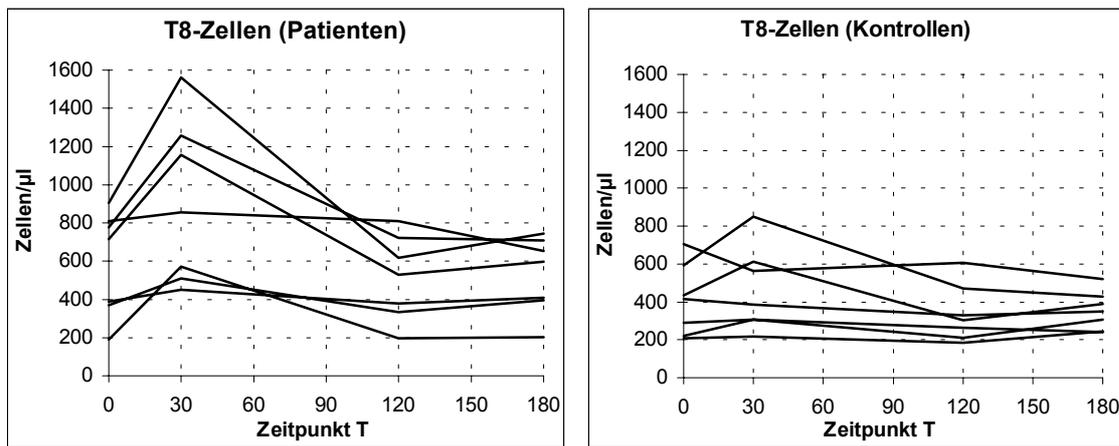


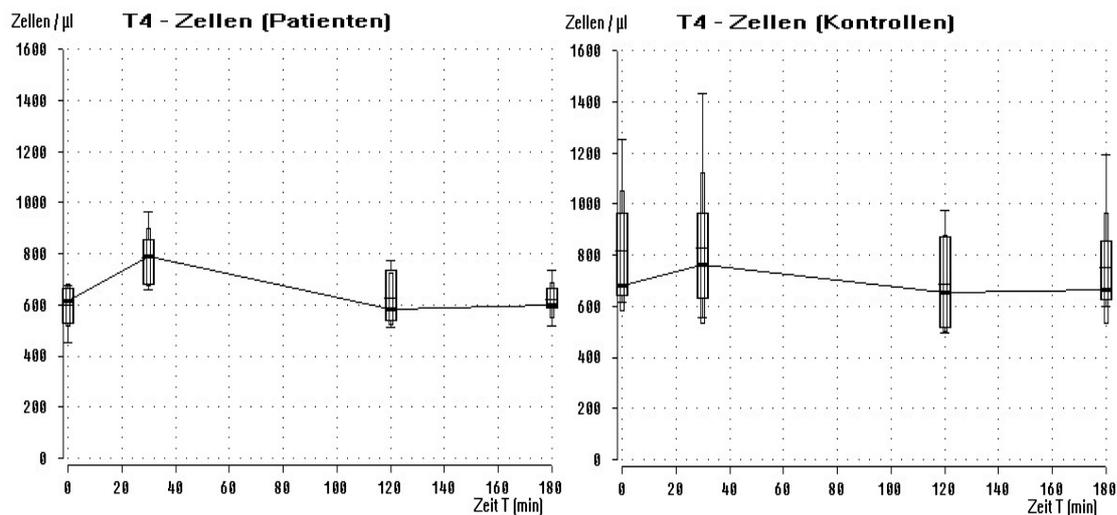
Abbildung 3.2.2 verdeutlicht die starke Heterogenität innerhalb der Patientengruppe. Bei der Kontrollgruppe ist diese interindividuelle Abweichung nicht so stark ausgeprägt.

3.3 T₄- Helferzellen

Die Untersuchung der T₄- Helferzellen zeigte bereits bei der Ausgangszellzahl einen signifikant niedrigeren Wert in der Patientengruppe ($p=0.02$). Nach der Belastung kam es zu einem signifikanten Anstieg ($p<0.01$) innerhalb dieser Gruppe, so daß sich zum Zeitpunkt T₃₀ die Zellzahl beider Gruppen einander annäherte (siehe Tab.3.3.1). Im weiteren Verlauf fand sich in der Patientengruppe ein signifikanter Abfall der Zellzahl unter den Ausgangswert. Zum Zeitpunkt T₁₈₀ war die Ausgangszellzahl wieder erreicht.

Bei der Kontrollgruppe zeigte sich von der Tendenz her ein ähnlicher Zellzahlverlauf, der jedoch deutlich weniger stark ausgeprägt war (siehe dazu auch Abb.3.3.1 und Tab.3.3.1).

Abb.3.4.1 T₄ - Helferzellen



Tab.3.3.1

T₄-Zellen (CD3+ / CD4+)	Patienten			
	T₀	T₃₀	T₁₂₀	T₁₈₀
Median	616	791	585	601
Minimum	450	657	514	518
Maximum	677	963	772	735
Wilcoxon-Mann-Whitneytest p=	0,026	0,71	0,80	0,097
	Kontrollen			
	T₀	T₃₀	T₁₂₀	T₁₈₀
Median	681	764	653	666
Minimum	616	554	494	596
Maximum	1254	1429	974	1194

Abb.3.3.2

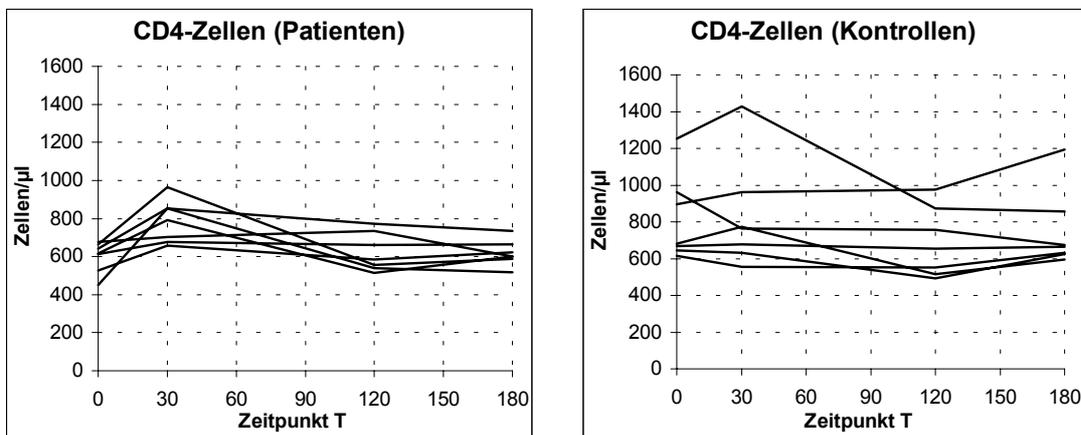


Abbildung 3.3.2 zeigt, daß der belastungsabhängige Zellzahlverlauf in der T₄ - Lymphozytensubpopulation bei der Patientengruppe eine höhere interindividuelle Homogenität aufweist als der in der Kontrollgruppe.

Bei der Patientengruppe ist auch eine eindeutigere Tendenz im Verlauf zu erkennen als bei der Kontrollgruppe.

3.4 Natürliche Killerzellen (NK – Zellen)

Zum Zeitpunkt T₀ lag kein Unterschied (p=0.13) in der NK-Zellzahl zwischen Patienten- und Kontrollgruppe vor (siehe Tab.3.4.1).

Direkt nach der Belastung, zum Zeitpunkt T₃₀, zeigte sich ein leichter

Anstieg der Zellzahl in beiden Gruppen.

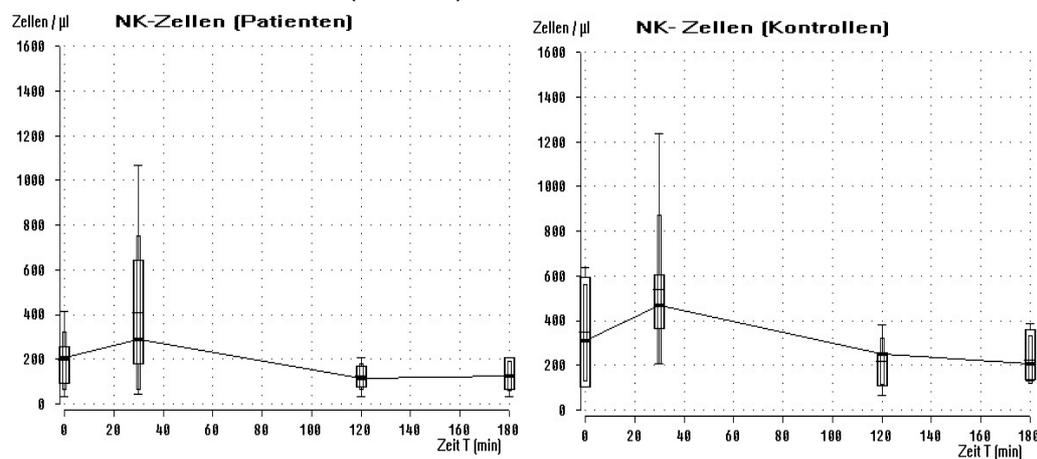
Im weiteren Verlauf kam es in beiden Gruppen innerhalb der folgenden 90 Minuten zu einem signifikanten Abfall der Zellzahl unterhalb der jeweiligen Ausgangswerte.

Zum Zeitpunkt T_{120} und T_{180} stellte sich dann eine deutlichere Abweichung zwischen den beiden Gruppen ein ($p_{T_{120}}=0,07$; $p_{T_{180}}=0,05$).

Wie auch aus Abb.3.4.1 ersichtlich, ist bei der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt T_{180} noch eine Abwärtstendenz der NK-Zellzahl zu erkennen, die in der Patientengruppe zu diesem Zeitpunkt schon wieder ansteigt.

In beiden Gruppen erreicht die NK-Zellzahl innerhalb von 150 min nicht wieder den Ausgangswert (Werte siehe Tab.3.4.1)

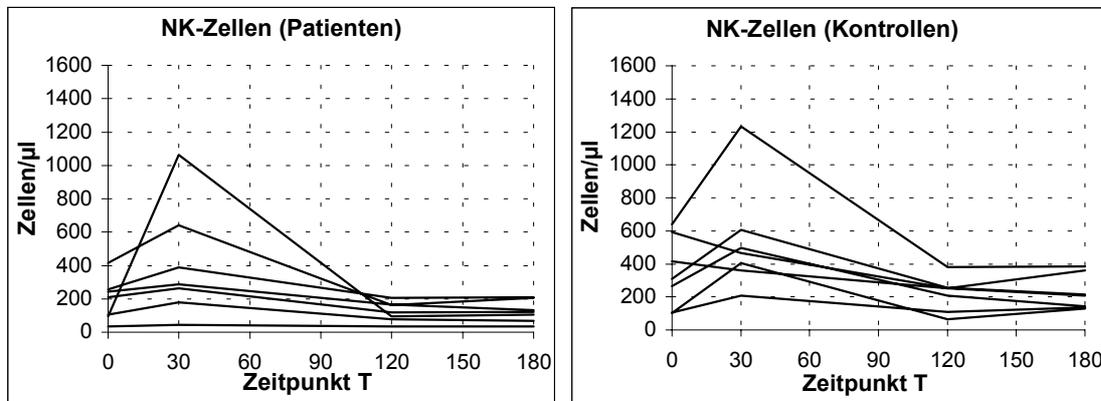
Abb.3.4.1 Natural Killerzellen (NK-Zellen)



Tab.3.4.1 Einzelwerte siehe Anhang Tab. 6

NK-Zellen (CD3 ⁻ / CD56 ⁺)	Patienten			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	208	286	117	123
Minimum	35	43	34	33
Maximum	414	1064	205	208
Wilcoxon-Mann-Whitneytest p=	0.128	0.317	0,073	0.053
	Kontrollen			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	309	468	252	206
Minimum	101	206	66	130
Maximum	639	1233	380	385

Abb. 3.4.2



Eine wichtige Tatsache lässt sich aus Abbildung 3.4.1, jedoch besser noch aus Abbildung 3.4.2 entnehmen. Es besteht eine starke Heterogenität des Zellzahlverlaufs innerhalb der beiden Gruppen. Ein Patient zeigt beispielsweise Zellzahlen im Bereich unter $100/\mu$ l, wohingegen die Zellen eines anderen Patienten unter Belastung Werte über $1000/\mu$ l annehmen.

Bei einer Kontrollperson kommt es sogar zu einem Zellzahlanstieg auf 1233 Zellen / μ l.

Man sieht also, daß im Bereich der Natürlichen Killerzellen eine deutliche interindividuelle Variabilität sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe vorliegt.

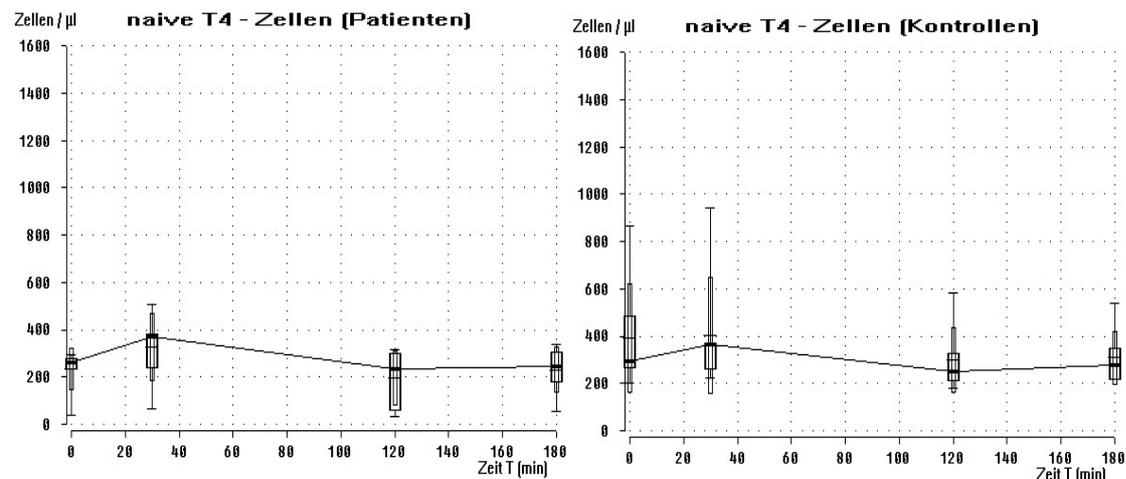
3.5 T_4 Naive T_4 – Helferzellen

Die naiven T_4 -Helferzellen folgen nach Belastung den Veränderungen der Gesamt - T_4 -Helferzellen.

Es kommt bei der Patientengruppe zu einem signifikanten Zellzahlanstieg ($p < 0,05$), der jedoch nicht so stark ausgeprägt ist wie bei den Gesamt - T_4 - Helferzellen,

wohingegen es bei der Kontrollgruppe zu keinen signifikanten Veränderungen kommt, siehe dazu Abb.3.5.1 und Tab.3.5.1 .

Abb. 3.5.1 naive T4 - Helferzellen



Tab.3.5.1

naive T4-Zellen (CD45RA+ / CD4+)	Patienten			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	262	371	232	247
Minimum	40	63	33	57
Maximum	292	506	317	337
Wilcoxon-Mann-Whitneytest p=	0.072	0.8	0.25	0.38
	Kontrollen			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	292	363	248	278
Minimum	204	223	178	219
Maximum	868	944	581	538

Beim Vergleich der Gesamtzellzahlen zu den vier Zeitpunkten zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Probandengruppen.

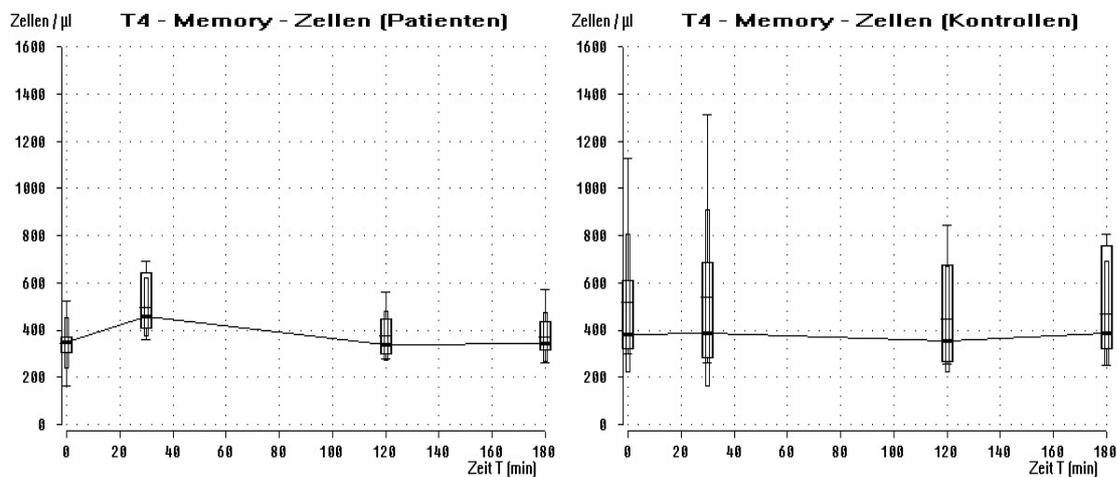
Abbildung 3.5.2 zeigt mit Ausnahme eines Ausreißers eine homogene Zellzahlverteilung in beiden Gruppen.

3.6 T₄-Memory-Zellen

Der Ausgangswert der Memoryzellenpopulation unterschied sich bei den beiden Gruppen nicht signifikant. Nach Belastung kam es jedoch bei der Patientengruppe zu einem signifikanten Anstieg ($p < 0,01$) der Zellzahl.

Der weitere Verlauf zeigte dann einen signifikanten Zellzahlabfall ($p < 0,05$) auf den Ausgangswert. Der Verlauf innerhalb der Kontrollgruppe ergab keine Veränderungen der Zellzahl nach Belastung.

Abb.3.6.1



Tab.3.6.1

T4-Memory-Zellen (CD45R0+ / CD4+)	Patienten			
	T₀	T₃₀	T₁₂₀	T₁₈₀
Median	350	455	335	341
Minimum	161	358	278	262
Maximum	522	691	560	569
Wilcoxon-Mann-Whitneytest p=	0.21	0.53	1.0	0.38
	Kontrollen			
	T₀	T₃₀	T₁₂₀	T₁₈₀
Median	383	363	352	387
Minimum	298	223	256	249
Maximum	1126	944	841	808

3.7 CD95 positive T₄-Helferzellen

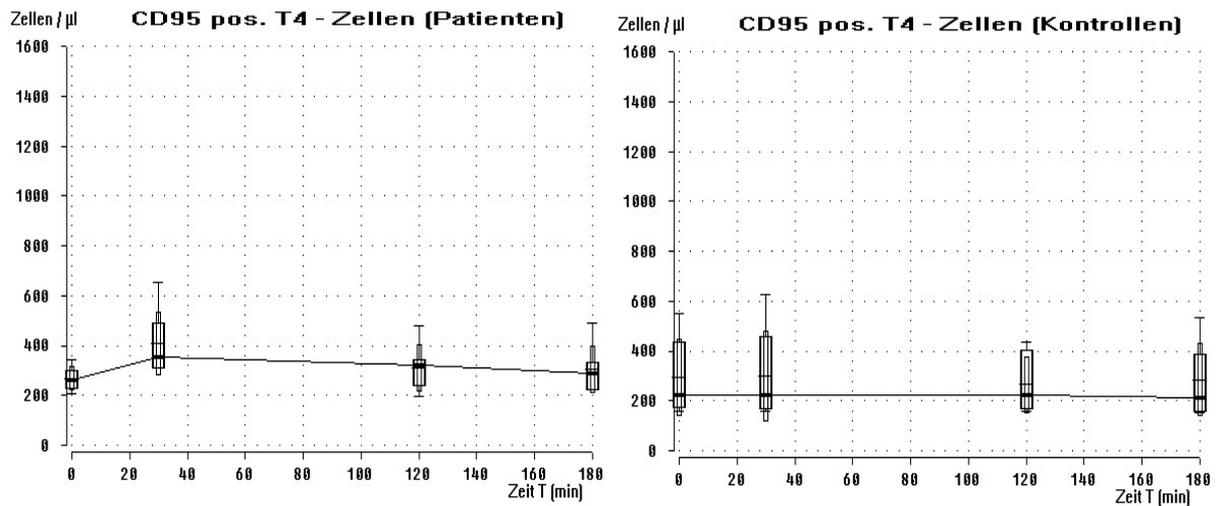
Der Aktivitätsmarker CD95 verhält sich in den beiden Probandengruppen in Abhängigkeit von der Belastung recht unterschiedlich.

Zum Ausgangszeitpunkt liegt bei der Zellzahl kein signifikanter Unterschied vor. In der Patientengruppe zeigt der Friedman–Test dann während der Belastung einen hochsignifikanten Anstieg der CD95–CD4-doppelt–positiven Zellen (<0,01). Im weiteren Verlauf kommt es zu einem langsamen Abfall der Zellzahl, die nach 150 min noch nicht wieder den Ausgangswert erreicht hat.

In der Kontrollgruppe zeigt sich im Verlauf kaum eine Veränderung der Zellzahlen (siehe dazu Tab.3.7.1 und Abb.3.7.1).

Anhand der Abbildung 3.7.1 könnte man erwarten, daß zu den verschiedenen Zeitpunkten signifikante Unterschiede der Zellzahl der Patienten- und Kontrollgruppe vorliegen, diese lassen sich jedoch statistisch nicht bestätigen.

Abb.3.7.1



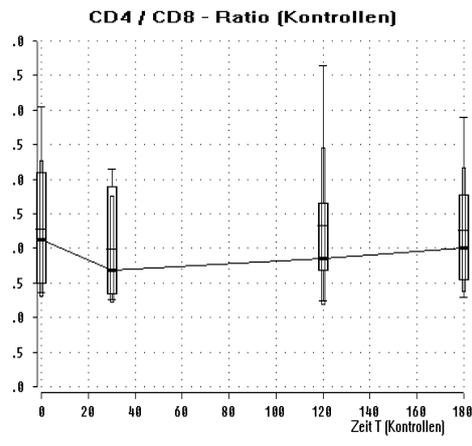
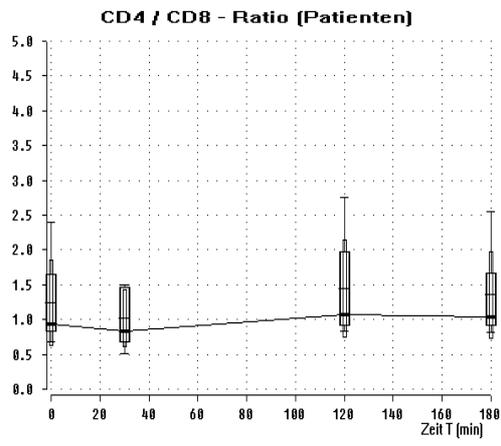
Tab. 3.7.1

CD95 pos. T4-Zellen (CD95+ / CD4+)	Patienten			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	260	354	319	290
Minimum	207	310	194	223
Maximum	344	653	478	488
Wilcoxon-Mann- Whitneytest p=	0.71	0.09	0.31	0.53
	Kontrollen			
	T ₀	T ₃₀	T ₁₂₀	T ₁₈₀
Median	224	222	225	210
Minimum	159	157	160	155
Maximum	552	626	433	533

3.8 CD4 – CD8 – Ratio

Bereits zum Ausgangszeitpunkt T₀ ergab die Untersuchung der CD4–CD8–Ratio einen signifikanten Unterschied (p<0,05) zwischen Patienten- und Kontrollgruppe, d.h. die Patientengruppe wies einen deutlich niedrigeren Wert auf. Direkt nach der körperlichen Belastung, zum Zeitpunkt T₃₀, zeigten beide Gruppen einen leichten Abfall der Ratio, der Unterschied zwischen beiden Gruppen war dabei weiterhin signifikant. Im Verlauf der folgenden 90 Minuten kam es in der Patientengruppe zu einem hochsignifikanten Anstieg der CD4–CD8–Ratio gegenüber T₀, so daß sich zum Zeitpunkt T₁₂₀ die Ratio der der Kontrollgruppe annäherte. Zum Zeitpunkt T₁₈₀ waren annähernd wieder die Ausgangsverhältnisse erreicht.

Abb.3.8.1



3.9 Besondere individuelle Verläufe

Da sich bei einigen Patienten sehr markante Zellzahlveränderungen im Verlauf des Versuches gezeigt haben, sollen diese hier gesondert hervorgehoben werden.

Abb.3.9.1 Zellzahl im Verlauf bei Patient GO

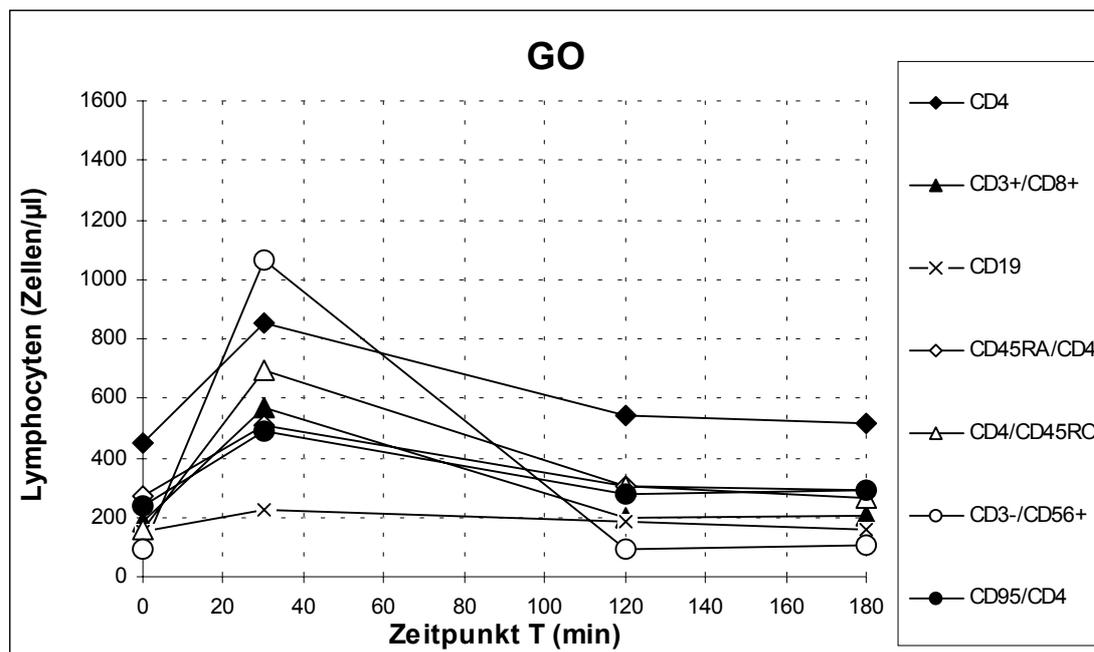
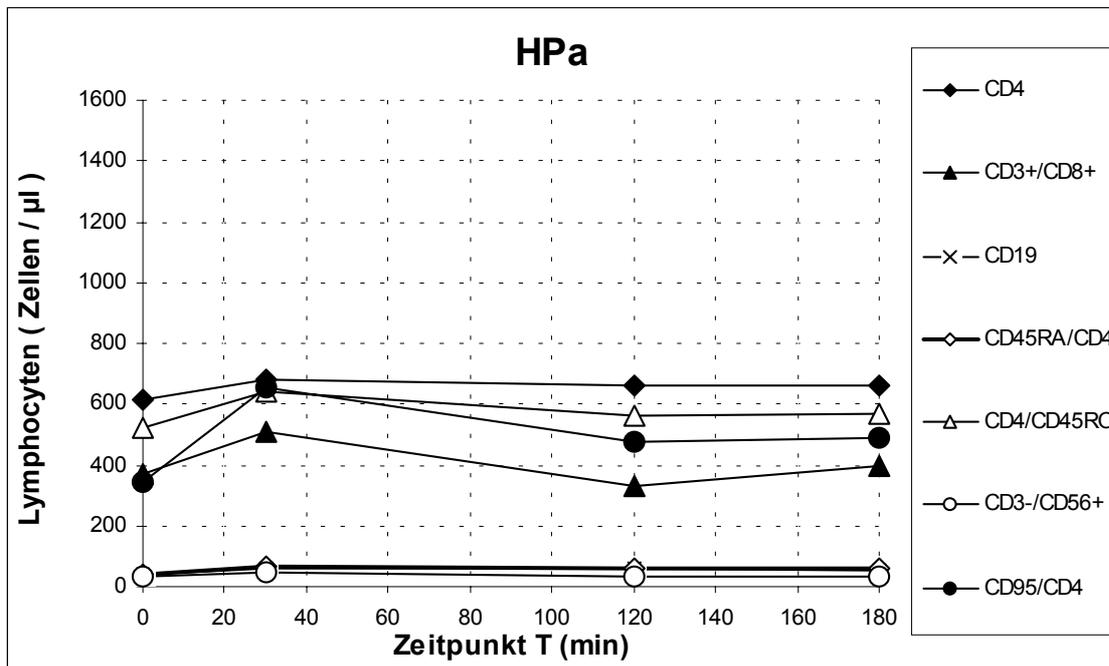


Abbildung 3.9.1 zeigt, daß es bei dem Patienten GO nach Belastung zu einem massiven Zellanzug, besonders der Natürlichen Killerzellen (Zellanzug von 93 Zellen / μ l auf 1064 Zellen / μ l) kommt. Ein Laborfehler ist auszuschließen, da eine Doppelbestimmung durchgeführt wurde.

Beachtlich ist, daß nur die eine Zellpopulation so auffällig ausbricht, wohingegen sich die anderen Populationen nicht auffällig von denen anderer Probanden unterscheiden. Die NK-Zellen übernehmen vorübergehend sogar den Hauptanteil an den Gesamtlymphozyten.

Andererseits ist natürlich aus der Literatur her bekannt, wie auch schon in der Einleitung erwähnt wurde, daß die NK-Zellpopulation am empfindlichsten auf physische Belastungen reagiert.

Abb.3.9.2 Zellzahl im Verlauf bei Patient HPa



Bei Patient HPa fällt auf, daß nach Belastung nahezu alle T_4 -Helferzellen CD95 exprimieren. Zu erwähnen ist auch, daß hier T_4 -Helferzellen größtenteils als Memory- und nicht als naive Zellen vorliegen. Andererseits fällt auch auf, daß bei dem Patienten auch kaum NK-Zellen vorhanden sind.

IV. DISKUSSION

4.1 Allgemeines

In Übereinstimmung mit früheren Studien, konnte diese Arbeit bestätigen, daß es unter körperlicher Belastung zu einer teilweise erheblichen Mobilisierung von peripheren Lymphozytensubpopulationen kommt. Danach kehren die Zellzahlen wieder zum Ausgangsniveau zurück, teilweise wird dieses sogar unterschritten. Hierbei stellt sich die Frage, woher innerhalb sehr kurzer Zeit so viele Zellen mobilisiert werden können und über welche Mechanismen diese Freisetzung stattfindet.

Es ist eindeutig, daß es sich nicht um eine Zellproliferation im Sinne einer Neubildung von Zellen handeln kann, sondern daß es sich um eine Freisetzung aus Zellspeichern handeln muß, was sich allein durch die Schnelle der Zellzunahme erklärt.

Das wirft die Frage auf, um welche Speicherkompartimente es sich hierbei handelt. Primär ist an die großen lymphatischen Organe wie bspw. die Milz zu denken. Eine Studie konnte zeigen (60), daß es bei splenektomierten Probanden zu einer gleich großen Zellmobilisierung unter körperlicher Belastung kommt.

Im Tierversuch an Mäusen wurde weiterhin die entscheidende Rolle des Knochenmarks als Zellreservoir gezeigt (60). Das Knochenmark würde auch die nötige Kapazität besitzen, um eben die zum Teil erheblichen Zellzahlzunahmen zu erklären.

Andere sehen das Endothel im Bereich der Gefäßwände in der Funktion als Zellreservoir (1) an. Es scheinen Adhäsionskräfte zwischen den Lymphozyten und dem Endothel vorzuliegen, die stärker sind als die durch den Blutfluß bedingten Scherkräfte, so daß die Zellen unter Normalbedingungen an der Gefäßwand anhaften. Unter Belastung kommt es dann durch den gesteigerten Blutfluß und Blutdruck zu einer Zunahme dieser besagten Scherkräfte, so daß es zur Ablösung und Mobilisierung der Zellen kommt. Neben diesem rein mechanischen Mechanismus scheint aber auch der hormonelle Einfluß eine große Rolle zu spielen. Hierbei liegt die entscheidende Rolle bei den Streßhormonen, also den Catecholaminen, Corticoiden und diversen Releasinghormonen.

Der CRH-Ausstoß führt beispielsweise zu einer Hemmung der NK-Zell- Zyotoxizität (46). ACTH hat hingegen negativen Einfluß auf die Reaktivität von T-Lymphozyten auf Antigenstimuli (28). Corticoide führen über Rezeptoren auf diversen Immunzellen wie T-Lymphozyten, Makrophagen und NK-Zellen zu einer Hemmung der zellulären Immunreaktionen (8,26,33).

Außerdem konnte auf Lymphozyten die Präsenz von beta-adrenergen Rezeptoren nachgewiesen werden (27,49).

Speziell eine Aktivierung über den β_2 -Rezeptor scheint, nach BENSCHOP und OOSTVEEN (4), zu einer zusätzlichen Abnahme der Adhäsionskräfte zwischen Lymphozyten und Gefäßwandendothel zu führen, was zusätzlich zu den mechanischen Kräften, bedingt durch den erhöhten Blutfluß bei körperlichem Streß, zu einer verstärkten Lymphozytenmobilisierung führt (4).

SUZUKI (60) beschreibt in seiner Arbeit die circadianen Zellzahlveränderungen, die auch im Zusammenhang mit tageszeitabhängigen Catecholamin- und Cortisolspiegeln stehen. So konnte er zeigen, daß bei adrenaletomierten Mäusen die genannten Erscheinungen ausblieben.

SUZUKI (60) geht in seiner Arbeit desweiteren noch auf die unterschiedliche Rezeptorenexpression auf der Zelloberfläche der Lymphozyten ein. So gibt es neben den oben schon genannten adrenergen auch cholinerge Rezeptoren, die je nach Lymphozytensubpopulation in zahlenmäßig unterschiedlichem Verhältnis auf der Zelloberfläche exprimiert sind. Nach SUZUKI (60) hat dieses Phänomen Einfluß auf die unterschiedlichen circadianen Zellzahlveränderungen der einzelnen Subpopulationen. Interessanter ist für uns jedoch die dadurch mögliche Erklärung, wie es zu dem unterschiedlichen Verhalten der verschiedenen Subpopulationen bei zusätzlich zugeführtem, adrenergem Streß kommt.

Bei den B-Zellen und T_4 - Helferzellen liegt nach SUZUKI(60) ein hoher Anteil an cholinergen Rezeptoren vor, bei den NK-Zellen finden sich dagegen hauptsächlich adrenerge Rezeptoren.

4.2 Diskussion der Studienergebnisse

4.2.1 B-Zellen

Bei der Lymphozytensubpopulation der B-Zellen zeigte sich weder in der Patienten- noch in der Kontrollgruppe eine signifikante Veränderung durch die körperliche Belastung. Die Studien von BAUM und LIESEN (2), TOMASI (61) und GARAGIOLA und BUZETTI (14) beschreiben dagegen eine signifikante B-Zellzunahme durch die körperliche Belastung. Der entscheidende Unterschied zwischen deren Studien und unserer Arbeit ist darin zu finden, daß wir eine sehr moderate körperliche Belastung gewählt haben, sie hingegen ihre Probanden einer wesentlich stärkeren Belastung ausgesetzt haben.

Es hat den Anschein, daß die B-Zellen auf einen geringeren körperlichen und somit auch adrenergen Streß nicht so sensibel reagieren, wie zum Beispiel die Natürlichen Killerzellen.

Warum reagieren NK-Zellen sensibler?

Eine Erklärung bietet die Beobachtung von SUZUKI (60), daß bei B-Zellen die Dichte der adrenergen Rezeptoren deutlich geringer ist als die der cholinergen. Dadurch bedingt ist eine höhere Konzentration an Catecholaminen, wie sie durch eine stärkere oder länger dauernde körperliche Belastung ausgelöst wird, vonnöten, um eine entsprechende Reaktion auszulösen.

Hinsichtlich der B-Zellzahl ergaben sich bei den COVID-Patienten, wie auch in der Literatur beschrieben, im Vergleich zu der Kontrollpopulation unauffällige Werte (9, 52, 53).

4.2.2 Zytotoxische bzw. Suppressor-T-Zellen

Bei der Betrachtung der T₈-Zellen zeigte sich uns im Zusammenhang mit der körperlichen Belastung ein auffälligeres Bild.

Wie in der Literatur bekannt (3), kommt bei COVID-Patienten häufig eine erniedrigte CD4/CD8-Ratio vor, die sich einerseits dadurch ergibt, daß eine erniedrigte CD4-Zellzahl vorliegt, andererseits aber auch eine erhöhte CD8-Zellzahl. Wenn sich bei unserer Studie zum Ausgangszeitpunkt auch kein signifikanter Unterschied ergab, so

ist anhand der Abb.3.2.1 trotzdem eine deutlich unterschiedliche Tendenz in den beiden Gruppen zu erkennen.

Bei unserer Patientengruppe zeigte sich ein starker Anstieg der Zellzahl. Dies stimmt mit den Beobachtungen von FREY et al. (10) überein, die verdeutlichten, daß die Subpopulation der T₈-Zellen, hier jedoch auf starke Belastung, mit einer deutlichen Zellzahlzunahme reagierte. Unsere Kontrollgruppe zeigte diese Reaktion hingegen nicht.

An dieser Stelle sollte jedoch berücksichtigt werden, daß bei vielen Studien nicht klar zwischen NK-Zellen und zytotoxischen T-Zellen getrennt wird. Da einige NK-Zellsubpopulationen auch CD8 exprimieren, ist Vorsicht geboten, da bei alleiniger Betrachtung von CD8, der Zellzahlanstieg nicht nur durch den CD8 exprimierenden Anteil von NK-Zellen bedingt ist. Wenn in dieser Studie die Rede von T₈-Zellen ist, sind immer CD3CD8 doppelt positive Zellen gemeint. NK-Zellen exprimieren kein CD3.

Nach SUZUKI (60) sollen T₈-Zellen vermehrt cholinerge Rezeptoren aufweisen, was unsere Beobachtung bei der Patientengruppe nicht bestätigen kann. Wenn man jedoch die Kontrollgruppe in Betracht zieht, fällt auf, daß es bei dieser, unter dem adrenergen Streß, zu einer Zellzahlabnahme kommt, was wiederum für die geringe Dichte von adrenergen Rezeptoren sprechen könnte. Eigentlich eine Bestätigung der Ergebnisse. Es wäre schwer, mit einer Analyse von Patientenzellen die Behauptung von Suzuki zu widerlegen. Vielleicht haben die Patienten einen Defekt?

Es stellt sich nun die Frage, wie es trotzdem bei der Patientengruppe zu der Zellzahlzunahme kommt. Hierfür gibt es mehrere Ansatzpunkte.

Liegt der vermehrten Zellfreisetzung beispielsweise eine Zunahme der adrenergen Rezeptoren zugrunde, die dann im Rahmen eines Kompensationsmechanismus zu sehen sein könnte?

BAUMERT (3) erwähnt in ihrer Arbeit, daß es bei CVID-Patienten im Rahmen der B-Zell-Differenzierungsstörung zu einer Überstimulation des T-Zellkompartiments kommen kann.

Andererseits, wenn wir von BENSCHOP'S (4) Modell ausgehen, daß die Blutgefäßwände das Hauptreservoir für Lymphozyten sind und die Freisetzung der Zellen abhängig vom Gleichgewicht zwischen Adhäsions- und Scherkräften ist, kann man auch in Betracht ziehen, daß im Rahmen des variablen Immundefektes

auch eine Schädigung oder Schwächung der Adhäsionsmoleküle bei den T₈-Zellen vorliegt.

Der starke Zellzahlabfall bei den Patienten in der Erholungsphase läßt sich dann auch am besten über die nach der Belastung ausbleibende hormonelle Stimulierung durch Catecholamine, bzw. das Umschlagen in die vagale, cholinerge Phase in Verbindung mit den abnehmenden mechanischen Scherkräften erklären. Leider erklärt dieses Modell nicht alle unserer Ergebnisse. Bei einer normal höheren Dichte an cholinergen Rezeptoren müßten wir in der vagal dominierten Erholungsphase eigentlich mit einem Zellzahlanstieg in der Kontrollgruppe rechnen. Es kommt jedoch sogar noch zu einem weiteren Zellzahlabfall.

Wichtig ist noch zu erwähnen, daß 150 min nach der körperlichen Belastung in beiden Gruppen zwar wieder die Tendenz in Richtung der Ausgangszellzahl da ist, diese aber noch nicht erreicht wird.

SHINKAI (55) beschreibt in seiner Studie nach einer Belastung von 21 Probanden auf dem Fahrradergometer die Beobachtung, daß 120 min nach der Belastung, nach einem anfänglichen Zellzahlanstieg, der Ausgangswert ebenfalls noch nicht wieder erreicht ist.

4.2.3 T₄-Helferzellen

Bei CVID-Patienten liegt häufig eine erniedrigte CD4/CD8-Ratio vor, die unter anderem durch die erniedrigte CD4-Zellzahl bedingt ist (3,63). Bei unserer Studie zeigte sich zum Ausgangszeitpunkt eine signifikant erniedrigte Zellzahl der Patientengruppe gegenüber der Kontrollgruppe.

Die Kontrollgruppe zeigte kaum eine Zellzahlveränderung, so wie es in der Literatur für stärkere oder länger andauernde Belastung beschrieben wird (12,18,19,22,41,55). Bei weniger ausgeprägter Belastung scheinen die Veränderungen auf T-Helferzellebene jedoch weitaus geringer auszufallen (50,59), was einen Hinweis auf den Zusammenhang mit der Belastungsintensität gibt.

Die Patientengruppe zeigte nach Belastung einen signifikanten Anstieg der CD4-Population. Hierbei war, ebenso wie bei den CD8-Zellen, eine starke

Zellmobilisierung bereits bei geringer Belastung bei der Patientengruppe zu beobachten.

SUZUKI(60) rechnet in seiner Arbeit die T-Helferzellen zu den „nachtaktiven“, hauptsächlich cholinerge Rezeptoren exprimierenden Zellen. Gerade diese Eigenschaft könnte erklären, weshalb eine größere Belastung, verbunden mit einem größeren Ausstoß an Catecholaminen, notwendig ist, um die Zellmobilisierung zu bewirken. Für die Abweichung von dieser möglichen „Norm“ bei den Patientenzellen können die selben Erklärungsmöglichkeiten herangezogen werden wie bei den CD8-Zellen:

Einerseits die größere Dichte adrenerger Rezeptoren im Rahmen eines Kompensationsmechanismus oder andererseits abgeschwächte Adhäsionskräfte zwischen CD4-Zellen und Gefäßwandendothel.

Bei den T-Helferzellen haben wir zusätzlich noch die Aktivierungsmarker CD45RA, CD45RO und CD95 untersucht.

CD45RA exprimierende Zellen sind „naive“ Zellen, die noch keinen Kontakt hatten mit ihrem entsprechenden Antigen. CD45RO „Memory“-Zellen, sind Zellen nach Antigenkontakt.

Ruhende, naive T-Zellen (CD45RA positiv) exprimieren L-Sekretin, durch das sie in die Lymphknoten dirigiert werden. Bei einer Aktivierung der T-Zelle, durch Kontakt mit dem entsprechenden Antigen wird die Expression des L-Sekretin-homing-Rezeptors gestoppt. Statt dessen wird eine größere Menge des Integrins VLA-4 gebildet. Dieses wirkt als homing-Rezeptor für das vaskuläre Endothel an Entzündungsstellen und stellt sicher, daß aktivierte T-Zellen durch periphere Gewebe zirkulieren, in denen sie auf Infektionsherde stoßen können. Schließlich verändert sich auch die Isoform des CD45-Moleküls, so daß CD45RO entsteht (26).

Wie wir nun bei unserer Patientengruppe sehen konnten, kommt es durch den körperlichen Streß zu einer hochsignifikanten Zunahme der CD4-Memory-Zellen, wohingegen bei der Kontrollgruppe kaum eine Veränderung zu sehen ist.

BAUMERT beschreibt in ihrer Arbeit, daß man davon ausgeht, daß durch die bei COVID-Patienten häufig auftretenden Infektionen die T-Zellen vermehrt stimuliert und aktiviert werden, was dann zu der erhöhten Expression von CD45RO führt.

Interessant ist die Erklärung, daß sich, bedingt durch das Integrin VLA-4, die aktivierten Zellen vermehrt im Bereich des Gefäßwandendothels aufhalten und

weniger im Bereich der Lymphknoten. Dadurch kann es dann durch die oben erwähnten Scherkräfte und Stimulation durch Catecholamine zu einer erleichterten Mobilisierung der Zellen in Streßsituationen kommen.

Bei CD95 exprimierenden CD4-Zellen kommt es in der Patientengruppe zu einem ähnlich starken Anstieg wie bei den T₄-Memory-Zellen. Der Apoptose induzierende Rezeptor CD95 (Fas/AP)1 wird fast ausschliesslich auf memory-Zellen exprimiert und spiegelt den fortgeschrittenen Reifungsgrad der Zelle wider (Miyawaki et al. 1992). Seine verstärkte Expression ist ebenfalls auf eine erhöhte Stimulation des T-Zellsystems im Rahmen der Kompensation des geschwächten B-Zellsystems zu sehen .

Bei dem Patienten HPa (siehe auch Abb.3.9.2) exprimieren nach der 20- minütigen Laufbelastung 96 % der CD4-Zellen CD95.

CD95 spielt in Lymphozyten eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase. Mäuse und Menschen mit mutiertem CD95-Gen (Fas-Gen) entwickeln eine Lymphozytose, die mit einer schweren Autoimmunisierung verbunden ist (25). Bei einer Expression von CD95 auf 96 % der CD4 Zellen ist die Homöostase jedoch in der anderen Richtung gestört , so daß die körperliche Belastung, die zu der Steigerung von 56 % auf 96 % CD95-Expression geführt hat, in diesem Falle nicht ganz unbedenklich zu sein scheint.

Auch bei den T-Helferzellen kommt es, wie bereits bei den CD8-Zellen, zu einem Zellzahlabfall in der Erholungsphase nach der Belastung, wofür wiederum die bereits in 4.2.2 erwähnten Mechanismen in Betracht gezogen werden können.

4.2.4 Natürliche Killerzellen

Bei den Natürlichen Killerzellen handelt es sich wahrscheinlich um phylogenetisch früher entwickelte Zellen als die B- und T-Zellen, die keine antigenspezifischen Rezeptoren an der Oberfläche tragen. Ihre Funktion liegt sowohl in der Tumor- als auch in der Infektabwehr.

Die NK-Zellen sind die Lymphozytensubpopulation, die am sensibelsten auf körperliche Belastung reagiert. In der Literatur, hauptsächlich aus dem Bereich der

Sportmedizin, wird berichtet, über, zum Teil massive, Zellzahlanstiege unter sportlicher Belastung (60,19,55,22,18,12,41,59,50).

In seiner Arbeit zeigt SUZUKI (60), daß NK-Zellen hauptsächlich adrenerge Rezeptoren auf der Oberfläche tragen und davon in erster Linie β_2 -Rezeptoren, was einen klaren Zusammenhang mit der empfindlichen Reaktion auf adrenergen Streß darstellt.

Die NK-Zellen reagierten auch in unserer Studie bereits auf die geringgradig gewählte Belastung mit deutlichen Zellzahlzuwächsen, sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe. In diesem Fall liegt auch wieder die Erklärung nahe, daß es über eine Stimulation der β_2 -Rezeptoren durch Catecholamine zu einer Mobilisierung aus Zellreservoirs kommt.

Auch bei den Natürlichen Killerzellen machten wir wieder die Beobachtung wie bei den CD4- und CD8-Zellen, daß es im Anschluß an die Belastungsphase zu einem deutlichen Zellzahlabfall kommt. Bei den NK-Zellen zeigte sich, daß diese abfallende Tendenz bei den Kontrollprobanden über 150 min hinaus anhielt. SUZUKI(60) machte diese Beobachtung ebenfalls bei einem Belastungsversuch von Probanden.

4.3 Konsequenzen der Zellmobilisierung

Eine wichtige Frage, die sich anschließt, ist, welche Konsequenzen diese Zellmobilisierung bzw. der Sport generell auf die Immunabwehr haben.

Man könnte davon ausgehen, daß durch die hohe Präsenz an Zellen die Wahrscheinlichkeit zunimmt, daß eine entsprechende Zelle auf ihr Antigen trifft und dieses auf diesem Wege erfolgreich bekämpft werden kann.

Der entscheidende Punkt hierbei ist jedoch, daß über die Zellzahl noch keine Aussage über die funktionelle Aktivität der Lymphozyten zu treffen ist.

So gibt es Studien, die belegen, daß Catecholamine beispielsweise die NK-Zellzytotoxizität und die T-Zellproliferation hemmen (49,27).

SHAKKAR (56) konnte im Tierversuch zeigen, daß durch β - Sympathomimetika die NK-Zellaktivität erheblich eingeschränkt wird und es zu einer signifikant erhöhten Vermehrung von Metastasen kommt. Anfänglich kann also diese verminderte Aktivität oder Cytotoxizität wahrscheinlich durch die starke Rekrutierung von Zellen kompensiert werden. Problematisch scheint dann nur die Poststreßphase zu sein, in

der es dann, wie wir bei mehreren Lymphozytensubpopulationen sehen konnten, zu einem Abfall der Zellzahl unter den Ausgangswert kommt.

Um jedoch eine genaue Aussage über die Auswirkung von körperlichem Streß auf den Immunstatus des Probanden zu machen, müßte neben der Zellzahl die Zellaktivität bzw. -toxizität der einzelnen Lymphozytensubtypen bestimmt werden. Hierbei stellt sich dann auch die Frage, ob die CD4- und CD8-Zellen, die bei den COVID-Patienten bei uns eine vermehrte Mobilisierung durch Streß zeigten, auch vermehrt in ihrer Aktivität und Cytotoxizität gehemmt sind.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Mit unserer Studie sollte der Einfluß von körperlicher Belastung auf Lymphozytenpopulationen bei Patienten mit variablem Immundefektsyndrom CVID untersucht werden. Um eine Verbindung zu alltäglichen Situationen zu schaffen, wählten wir eine moderate Belastung, in Form einer Laufstrecke von 3.5 km.

Es wurden vielfach signifikante Unterschiede der Zellverteilung zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe deutlich bei der CD8 T-Zellpopulation, bei den CD4 Helferzellen sowie bei den CD45RO – und CD95 – positiven CD4 Helferzellen und bei den Natürlichen Killerzellen

Wir konnten sehen, daß bei den Patienten in der CD8 T-Zellpopulation bereits vor der Belastung eine höhere Zellzahl vorlag als bei den Kontrollpersonen. Die körperliche Belastung hatte bei dieser Zellgruppe dann zur Folge, daß direkt im Anschluß, durch einen Zellzahlanstieg bei den Patienten, ein signifikanter Unterschied der Zellzahl vorlag.

Bei den T₄-Helferzellen war bereits zum Ausgangszeitpunkt eine signifikant erniedrigte CD4-Zellzahl bei der Patientengruppe zu erkennen ($p = 0.02$; Median 616 Zellen/ μ l; Range 450 – 677 Zellen/ μ l). Unter Belastung kam es hierbei zu einem signifikanten Zellzahlanstieg ($p < 0.01$), wohingegen sich bei der Kontrollgruppe keine signifikante Reaktion zeigte ($p > 0.05$).

Bei der näheren Betrachtung der CD4-Untergruppen ergab sich, daß sich die Zellzahlerhöhung in erster Linie in der Population der CD45RO positiven Memory-Zellen abspielte. Desweiteren war ein Anstieg in der Gruppe der CD95 exprimierenden CD4-Zellen zu sehen. In der Kontrollgruppe war hierbei, wie zu erwarten, keine auffällige Entwicklung in der Zellzahl zu erheben.

Bei den Natürlichen Killerzellen, die, wie in der Literatur beschrieben, sehr sensibel auf körperliche Belastung reagieren, zeigte sich ein ähnlicher Verlauf in den beiden Gruppen. Erst zu den Meßpunkten 90 Minuten und 120 Minuten nach Belastung war dann bei den Patienten eine grenzwertig ($p=0.053$) signifikante Zellzahlerniedrigung auffällig.

Inwieweit diese Abweichungen nun als pathologische Erscheinungen bzw. als Kompensationsmechanismen zu werten sind, ist anhand der bislang vorliegenden Daten schwer zu beurteilen.

Weiterführende Studien sollten zusätzlich Bezug auf die Zellaktivität, bzw. die Zytotoxizität nehmen. Andererseits wäre eine Langzeitbetrachtung der Patienten unter körperlicher Leistung wünschenswert, um Entwicklungen erkennen und eventuell nutzen zu können, im Sinne eines gezielten „immununterstützenden“ Trainings.

VI. LITERATUR

- 1 **Atherton A**, Born GV ; QUANTITATIVE INVESTIGATIONS OF THE ADHESIVENESS OF CIRCULATING POLYMORPHONUCLEAR LEUCOCYTES TO BLOOD VESSEL WALLS; J Physiol (Lond). 222(2):447-74, 1972 Apr
- 2 **Baum M**, Liesen H; LEUCOCYTES, LYMPHOCYTES, ACTIVATION PARAMETERS AND CELL ADHESION MOLECULES IN MIDDLE-DISTANCE RUNNERS UNDER DIFFERENT TRAINING CONDITIONS; International Journal of Sports Medicine. 15(3):122-6, 1994 Oct.
- 3 **Baumert E**, Schlesier M; VERÄNDERUNGEN VON LYMPHOZYTENSUBPOPULATIONEN BEI VARIABLEM IMMUNDEFEKTSYNDROM; Immun. Infekt. 20:73-75, 1992 Mar
- 4 **Benschop RJ**, Oostveen FG; BETA-2-ADRENERGIC STIMULATION CAUSES DETACHMENT OF NATURAL KILLER CELLS FROM CULTURED ENDOTHELIUM; Eur J Immunol. 23(12):3242-7, 1993 Dec
- 5 **Clancy RL**, Muller HK; IMMUNODEFICIENCY AND GROUPING WITH THYROIDITIS AND GASTROINTESTINAL DISEASE IN PATIENTS WITH CHRONIC IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA; Aust N Z J Med. 4(3):243-6, 1974 Jun
- 6 **Clement LT**, Grossi CE; MORPHOLOGIC AND PHENOTYPIC FEATURES OF THE SUBPOPULATION OF THE LEU-2+ CELLS THAT SUPPRESSES B CELL DIFFERENTIATION; J Immunol. 133(5):2461-8, 1984 Nov
- 7 **Cunningham-Rundles C** ; CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL ANALYSES OF 103 PATIENTS WITH CVID; Journal of Clinical Immunology, Vol.9, No.1 1989
- 8 **Cupps TR**, Fauci AS; CORTICOSTEROID-MEDIATED IMMUNOREGULATION IN MAN; Immunol Rev. 65:133-55, 1982
- 9 **de la Concha EG**, Oldham G; QUANTITATIVE MEASUREMENTS OF T- AND B-CELL FUNCTION IN VARIABLE PRIMARY HYPOGAMMAGLOBULINAEMIA: EVIDENCE FOR A CONSISTENT B-CELL DEFECT; Clin Exp Immunol. 27(2):208-15, 1977 Feb
- 10 **Frey RW**, Morton AR; CELL NUMBERS AND IN VITRO RESPONSES OF LEUCOCYTES AND LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS FOLLOWING MAXIMAL EXERCISE AND INTERVAL TRAINING SESSIONS OF DIFFERENT INTENSITIES; Eur J Appl Physiol. 64(3):218-27, 1992

- 11 **Gabriel H**, Schwarz L; DIFFERENTIAL MOBILIZATION OF LEUKOCYTE AND LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS INTO THE CIRCULATION DURING ENDURANCE EXERCISE; *European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology*. 65(6):529-34, 1992.
- 12 **Gabriel H**, Urhausen A; CIRCULATING LEUKOCYTE SUBPOPULATIONS BEFORE AND AFTER INTENSIVE ENDURANCE EXERCISE TO EXHAUSTION; *European Journal of Applied Physiologie & Occupational Physiology*. 63(6):449-57, 1991
- 13 **Gabriel H**, Urhausen A; MOBILIZATION OF CIRCULATING LEUCOCYTE AND LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS DURING AND AFTER SHORT, ANAEROBIC EXERCISE; *Eur J Appl Physiol*. 65(2):164-70, 1992
- 14 **Garagiola U**, Buzetti M; IMMUNOLOGICAL PATTERNS DURING REGULAR INTENSIVE TRAINING IN ATHLETES: QUANTIFICATION AND EVALUATION OF A PREVENTIVE PHARMACOLOGICAL APPROACH; *Journal of International Medical Research* 23(2):85-95, 1995 Mar-Apr
- 15 **Geha RS**, Schneeberger E; HETEROGENEITY "ACQUIRED" OR COMMON VARIABLE AGAMMAGLOBULINEMIA; *N Engl J Med*. 291(1):1-6, 1974 Jul
- 16 **Gleeson M**, McDonald WA; THE EFFECT ON IMMUNITY OF LONG-TERM INTENSIVE TRAINING IN ELITE SWIMMERS; *Clin Exp Immunol*. 102(1):210-6, 1995 Oct
- 17 **Gmunder FK**, Joller PW; EFFECT OF A HERBAL YEAST FOOD SUPPLEMENT AND LONG-DISTANCE RUNNING ON IMMUNOLOGICAL PARAMETERS; *Br J Sports Med*. 24(2):103-12, 1990 Jun
- 18 **Gray AB**, Telford RD; THE RESPONSE OF LEUKOCYTE SUBSETS AND PLASMA HORMONES TO INTERVAL EXERCISE; *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 25(11):1252-8, 1993 Nov.
- 19 **Grazzi L**, Salmaggi A; PHYSICAL EFFORT-INDUCED CHANGES IN IMMUNE PARAMETERS; *International Journal of Neuroscience* 68(1-2):133-40, 1993 Jan
- 20 **Green RL**, Kaplan SS; IMMUNE FUNCTION IN MARATHON RUNNERS; *Ann Allergy*. 47(2):73-5, 1981 Aug
- 21 **Hermans PE**, Diaz-Buxo JA; IDIOPATHIC LATE-ONSET IMMUNOGLOBULIN DEFICIENCY; *Am J Med*. 61(2):221-37, 1976 Aug
- 22 **Host CR**, Norton KI; THE EFFECTS OF ALTERED EXERCISE DISTRIBUTION ON LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS; *European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology*. 72(1-2):157-64, 1995
- 23 **Hughes WS**, Cerda JJ; PRIMARY HYPOGAMMAGLOBULINEMIA AND MALABSORPTION; *Ann Intern Med*. 74(6):903-10, 1971 Jun

- 24 HYPOGAMMAGLOBULINAEMIA IN THE UNITED KINGDOM. SUMMARY REPORT OF A MEDICAL RESEARCH COUNCIL WORKING-PARTY; Lancet. 1(7587):163-8 , 1969 Jan
- 25 **Janeway CA**, Travers P; IMMUNOLOGIE 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg-Berlin-Oxford; S.270, 7.11
- 26 **Janeway CA**, Travers P; IMMUNOLOGIE 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg-Berlin-Oxford; S.259, 7.22
- 27 **Katz P**, Zaytoun AM; MECHANISMS OF HUMAN CELL-MEDIATED CYTOTOXICITY. MODULATION OF NATURAL KILLER CELL ACTIVITY BY CYCLIC NUCLEOTIDS; J Immunol.129(1):287-96, 1982 Jul
- 28 **Kavelaars A**, Ballieux RE; MODULATION OF THE IMMUNE RESPONSE BY PROOPOMELANOCORTIN DERIVED PEPTIDES. INFLUENCE OF ADRENOCORTICOTROPIC HORMONE ON THE RISE IN INTRACELLULAR FREE CALCIUM CONCENTRATION AFTER T CELL ACTIVATION; Brain Behav Immun. 2(1):57-66, 1988 Mar
- 29 **La Perriere A**, Antoni MH; EFFECTS OF AEROBIC EXERCISE TRAINING ON LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS; Int J Sports Med. 15 Suppl 3:S127-30, 1994 Oct
- 30 **La Perriere A**, Fletcher MA; AEROBIC EXERCISE TRAINING IN AN AIDS RISK GROUP; Int J Sports Med.12 Suppl 1:S53-7 1991 Jun
- 31 **La Perriere A**, Klimas N; CHANGE IN CD4+ CELL ENUMERATION FOLLOWING AEROBIC EXERCISE TRAINING IN HIV-1 DISEASE: POSSIBLE MECHANISMS AND PRACTICAL APPLICATIONS; Int J Sports Med; 18 Suppl 1:S56-61. 1997 Mar
- 32 **Lehmann M**, Dickhuth HH; TRAINING-OVERTRAINING. A PROSPECTIVE, EXPERIMENTAL STUDY WITH EXPERIENCED MIDDLE- AND LONG-DISTANCE RUNNERS; Int J Sports Med. 12(5):444-52, 1991 Oct
- 33 **Levy S**, Herberman R; CORRELATION OF STRESS FACTORS WITH SUSTAINED DEPRESSION OF NATURAL KILLER CELL ACTIVITY AND PREDICTED PROGNOSIS IN PATIENTS WITH BREAST CANCER; J Clin Oncol. 5(3):348-53, 1987 Mar
- 34 **MacArthur RD**, Levine SD; SUPERVISED EXERCISE TRAINING IMPROVES CARDIOPULMONARY FITNESS IN HIV-INFECTED PERSONS; Med Sci Sports Exerc. 25(6):684-8, 1993 Jun
- 35 **Mackinnon LT** ; IMMUNITY IN ATHLETES ; Int J Sports Med 18,S62.68, 1997

- 36 **Mackinnon LT**, Hooper S; MUCOSAL (SECRETORY) IMMUNE SYSTEM RESPONSES TO EXERCISE OF VARYING INTENSITY AND DURING OVERTRAINING; *Int J Sports Med.* 3:S179-83 1994 Oct
- 37 **Mackinnon LT**, Jenkins DG; DECREASED SALIVARY IMMUNOGLOBULINS AFTER INTENSE INTERVAL EXERCISE BEFORE AND AFTER TRAINING; *Med Sci Sports Exerc.*25(6):678-83, 1993 Jun
- 38 **McCarthy DA**, Dale MM; THE LEUCOCYTOSIS OF EXERCISE. A REVIEW AND MODEL ; *Sports Med.* 6(6):333-63, 1988 Dec
- 39 **McDowell SL**, Chaloa K; THE EFFECT OF EXERCISE INTENSITY AND DURATION ON SALIVARY IMMUNOGLOBULIN A; *Eur J Appl Physiol.* 63(2):108-11, 1991
- 40 **Nehlsen-Cannarella SL**, Nieman DC; THE EFFECTS OF MODERATE EXERCISE TRAINING ON IMMUNE RESPONSE; *Med Sci Sports Exerc.* 23(1):64-70, 1991 Jan
- 41 **Nielsen HB**, Secher NH; LYMPHOCYTES AND NK CELL AKTIVITY DURING REPEATED BOUTS OF MAXIMAL EXERCISE; *American Journal of Physiology.* 271(1 Pt 2):R222-7, 1996 July
- 42 **Nieman DC**, Nehlsen-Canarella SL; EXERCISE AND INFECTION in Watson RR, Eisinger M. EXERCISE AND DISEASE Boca Raton, Florida, CRC Press 1992: p 122-148
- 43 **Nieman DC**, Henson DA; PHYSICAL ACTIVITY AND IMMUNE FUNCTION IN ELDERLY WOMEN; *Med Sci Sports Exerc.* 25(7):823-31, 1993 Jul
- 44 **Nieman DC**, Tan SA; COMPLEMENT AND IMMUNGLOBULIN LEVELS IN ATHLETES AND SEDENTARY CONTROLS; *Int J Sports Med.* 10(2):124-8, 1989 Apr.
- 45 **Ochs HD**, Ament ME; STRUCTURE AND FUNCTION OF THE GASTROINTESTINAL TRACT IN PRIMARY IMMUNODEFICIENCY SYNDROMES AND IN GRANULOCYTE DYSFUNCTION; *Birth Defects Orig Artic Ser.* 11(1):199-207, 1975
- 46 **Pawlikowski M**, Zelazowski P; EFFECTS OF TWO NEUROPEPTIDES, SOMATOLIBERIN AND CORTICOLIBERIN ON HUMAN LYMPHOCYTE NATURAL KILLER ACTIVITY; *Brain Behav Immun.* 2(1):50-6, 1988 Mar
- 47 **Pedersen BK**, Ullum H; NK CELL RESPONSE TO PHYSICAL ACTIVITY: POSSIBLE MECHANISMS OF ACTION; *Med Sci Sports Exerc.* 26(2):140-6 1994 Feb
- 48 **Perna FM** ; PSYCHOLOGICAL STRESS, EXERCISE AND IMMUNITY; *Int J Sports Med* 18: S78-83, 1997

- 49 **Plaut M** ; LYMPHOCYTE HORMONE RECEPTORS; Annu Rev Immunol.5:621-69, 1987
- 50 **Rhind SG**, Shek PN; EFFECTS OF MODERATE ENDURANCE EXERCISE AND TRAINING ON IN VITRO LYMPHOCYTE PROLIFERATION, INTERLEUKIN-2 (IL-2) PRODUCTION AND IL-2 RECEPTOR EXPRESSION; European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology. 74(4):348-60, 1996.
- 51 **Rigsby LW**, Dishman RK; EFFECTS OF EXERCISE TRAINING ON MEN SEROPOSITIVE FOR THE HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS-1; Med Sci Sports Exerc. 24(1):6-12, 1992 Jan
- 52 **Rodriguez MA**, Bankhurst AD; CHARACTERIZATION OF THE SUPPRESSOR ACTIVITY IN LYMPHOCYTES FROM PATIENTS WITH COMMON VARIABLE HYPOGAMMAGLOBULINAEMIA: EVIDENCE FOR AN ASSOCIATED PRIMARY B-CELL DEFECT; Clin Immunol Immunopathol. 29(1):35-50, 1983 Oct
- 53 **Saiki O**, Ralph P; THREE DISTINCT STAGES OF B-CELL DEFECTS IN COMMON VARIED IMMUNODEFICIENCY; Proc Natl Acad Sci U S A. 79(19):6008-12, 1982 Oct
- 54 **Sawka MN**, Young AJ, Dennis RC, Gonzalez TR; HUMAN INTRAVASKULAR IMMUNGLOBULIN RESPONSES TO EXERCISE-HEAT AND HYPOHYDRATION; Avat space Environ Med. 60: 634-638, 1989
- 55 **Shinkai S**, Shore S; ACUTE EXERCISE AND IMMUNE FUNCTION. RELATIONSHIP BETWEEN LYMPHOCYTE ACTIVITY AND CHANGES IN SUBSET COUNTS; International Journal of Sports Medicine 13(6):452-61, 1992 Aug.
- 56 **Skakhar G**; IN VIVO BETA_ADRENERGIC STIMULATION SUPPRESSES NATURAL KILLER ACTIVITY AND COMPROMISES RESISTANCE TO TUMOR METASTASIS IN RATS; The Journal of Immunology, 160: 3251-3258, 1998
- 57 **Smith JA**, Weidemann MJ in IMMUNITY IN ATHLETES; Int. J Sports Med. 18 1997
Georg Thieme Verlag Stuttgart
- 58 **Solomon GF**, Temoshok L; AN INTENSIVE PSYCHOIMMUNOLOGIC STUDY OF LONG-SURVIVING PERSONS WITH AIDS; Ann N Y Acad Sci. 496:647-55, 1987
- 59 **Stock C**, Baum M; ELECTROENCEPHALOGRAM ACTIVITY, CATECHOLAMINES AND LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS AFTER RESISTANCE EXERCISE AND DURING REGENERATION; European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology. 72(3):235-41, 1996

- 60 **Suzuki S** ; THE CIRCADIAN RYTHM OF LEUCOCYTES AND LYMPHOCYTE SUBSETS AND ITS POSSIBLE CORRELATION WITH THE FUNCTION OF THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM; Clin Exp Immunol. 110:500-508, 1997
- 61 **Tomasi TB**, Trudeau FB; IMMUNE PARAMETERS IN ATHLETES BEFORE AND AFTER STRENOUS EXERCISE; Journal of Clinical Immunology. 2(3):173-8, 1982 July
- 62 **Webster AD**, Kenwright S; NODULAR LYMPHOID HYPERPLASIA OF THE BOWEL IN PRIMARY HYPOGAMMAGLOBULINAEMIA; Gut. 18(5):364-72, 1977 May
- 63 **Wright JJ**, Wagner DK; CHARACTERIZATION OF COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY: IDENTIFICATION OF A SUBSET OF PATIENTS WITH DISTINCTIVE IMMUNOPHENOTYPIC AND CLINICAL FEATURES; Blood. 76(10):2046-51, 1990

VII. ANHANG

7.1 Patientendaten

GO	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	450	188	152	271	161	93	238
T30	853	570	225	506	691	1064	490
T120	539	196	183	302	307	96	277
T180	518	203	161	289	262	103	290

HPa	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	612	370	42	40	522	35	344
T30	678	508	57	63	642	43	653
T120	662	334	59	60	560	34	478
T180	663	396	50	57	569	33	488

HPe	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	677	809	212	235	369	244	300
T30	704	855	207	241	410	286	310
T120	736	810	319	260	410	166	344
T180	601	653	249	182	341	133	263

KA	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	616	903	146	262	339	414	231
T30	791	1560	230	349	455	641	382
T120	514	617	149	232	278	163	194
T180	599	743	197	247	318	207	224

RK	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	641	776	112	275	350	104	260
T30	854	1257	137	380	477	179	340
T120	772	723	153	311	445	78	319
T180	735	708	148	305	433	67	306

TS	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	528	388	183	292	305	208	301
T30	657	449	184	371	358	262	354

T120	585	378	244	317	335	117	331
T180	622	409	259	337	349	123	334

VM	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	664	714	278	256	362	256	207
T1	963	1156	343	381	447	389	311
T2	555	528	294	173	297	205	237
T3	588	599	326	192	314	208	223

7.2 Kontrollendaten

BN	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	643	208	120	292	298	104	172
T30	630	218	124	303	285	206	157
T120	494	186	111	248	256	108	169
T180	625	244	145	277	319	135	210

HK	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	1254	591	370	868	1126	309	552
T30	1429	849	438	944	1312	606	626
T120	873	471	311	581	841	257	402
T180	857	428	284	538	808	213	389

RJ	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	668	290	144	344	281	266	159
T30	679	307	112	363	261	497	166
T120	653	262	144	328	265	206	160
T180	666	240	146	347	249	142	156

RG	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	681	433	511	265	383	639	196
T30	772	612	589	368	519	1233	222
T120	516	302	365	178	352	380	225
T180	596	388	445	220	416	385	193

SR	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	897	222	144	204	612	101	438
T30	961	306	142	223	683	404	458
T120	974	210	163	212	673	66	433

T180	1194	306	188	219	758	130	533
-------------	------	-----	-----	-----	-----	-----	-----

WP	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	616	414	166	292	322	591	314
T30	554	384	133	259	307	468	289
T120	552	328	168	236	322	253	282
T180	632	349	171	278	356	360	358

WB	CD4	CD3+/CD8+	CD19	CD45RA/CD4	CD4/CD45RO	CD3-/CD56+	CD95/CD4
T0	962	706	236	483	484	415	224
T30	764	564	209	372	388	362	177
T120	756	607	225	312	408	252	185
T180	676	520	197	281	387	206	155

VIII. DANKSAGUNG

Herrn Prof.Dr.med. Stefan Zielen danke ich für die Vergabe des Themas der vorliegenden Dissertation sowie für seine Unterstützung bei der Durchführung.

Desweiteren gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. Ralf Schubert (Biologe) für seine unermüdliche Unterstützung und Hilfe im Laborbereich. Vielen Dank hierbei auch an Frau Gaby Gottwald (MTA) und Frau Tanja Haase (MTA).

Nicht zu vergessen Patienten und Kontrollprobanden, die mir freundlicherweise Ihre Zeit zur Verfügung gestellt haben.

Weiterer Dank gilt Herrn Dr.H.Ackermann für die hilfreichen Anregungen bei der Erstellung der statistischen Auswertungen.

Zuletzt möchte ich noch meiner Familie danken, auf deren Unterstützung ich mich immer verlassen könnte.

IX. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

**Der Einfluß von körperlicher Leistung auf das Immunsystem bei Patienten mit
variablem Immundefekt (CVID)**

im Zentrum für Kinderheilkunde unter der Leitung von Prof.Dr. S. Zielen ohne sonstige Hilfen selbst durchgeführt und bei der Abfassung keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 19.11.2001

X. Lebenslauf:

Name: Peter Walz

Anschrift: Am Gesundbrunnen 28 G6, 74078 Heilbronn

Geburtstag: 28.02.1973

Geburtsort: Gaildorf

Familienstand: ledig

Eltern: Gerhard Walz
geb. 04.08.1939 (Heilbronn)
Grundschullehrer
Gertraud Walz geb. Kleiss
geb. 29.05.1941 (Mährisch-Trübau)

Schulbildung: 1979 – 1983 Grundschule Bühlerzell
1983 – 1992 Gymnasium bei St.Michael Schwäbisch Hall

Abitur: 1992, Durchschnittsnote 1,5

Zivildienst: August '92 – November '93
Pflegedienst in der Abteilung für Innere Medizin
Des Kreiskrankenhauses Gaildorf

Studium: Beginn im Wintersemester 1993/94 im Fachbereich
Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

Ärztliche Vorprüfung: 20.09.1995

1. Abschnitt der
- ärztlichen Prüfung:** 29.08.1996
2. Abschnitt der
- ärztlichen Prüfung:** 24.03.1999
- Praktisches Jahr:** Ab März 1999 nach Wechsel an die Universität Heidelberg
im Klinikum Heilbronn in den Bereichen:
- Kinderheilkunde
 - Innere Medizin
 - Chirurgie
3. Abschnitt der
- ärztlichen Prüfung:** 11.05.2001-11-16
- Beschäftigung:** Seit 01.09.2000 Arzt im Praktikum in der Kinderklinik des
Klinikums Heilbronn