



## **Der Alcat Test prognostiziert die Freisetzung von DNA aus peripheren Immun-Leukozyten des angeborenen Immunsystems, vermittelt durch einen PKC<sup>1</sup> abhängigen Immunpfad**

### **Yale School of Medicine**

**Autoren:** Irma Garcia-Martinez PHD<sup>1</sup>, Theresa R. Weiss MPH<sup>2</sup>, Ather Ali ND MPH mhs<sup>2</sup>, Wajahat Mehal MD phd<sup>1</sup>

Departments of (1) Internal Medicine (Digestive Diseases), and (2) Pediatrics (General Pediatrics), Yale School of Medicine, New Haven, Connecticut

**Studienziel:** Der Alcat Test identifiziert Lebensmittel, die eine zelluläre Reaktion von peripheren Blut-Leukozyten stimulieren und wird zur Erstellung von individualisierten Patienten-Diätplänen bei multiplen medizinischen Beschwerden verwendet. **Unser Ziel war es, die Beziehungen zwischen Alcat-Reaktionen und immunologischen Parametern zu beurteilen.** Extrazelluläre DNA führt zu einer entzündlichen Immunantwort. Wir wollten die Hypothese verifizieren, dass die Alcat-positiven Immunreaktionen, die durch Lebensmittelstoffe initiiert werden, auf die Freisetzung von DNA aus den Immunzellen zurückzuführen sind.

**Methodik:** Vollblutproben von 20 gesunden Probanden wurden einer Standard-Alcat-Untersuchung bei Cell Science Systems, Corp. (Deerfield Beach, FL) unterzogen. Weitere Analysen wurden an der *Yale University* (New Haven, CT) durchgeführt. Die Quantifizierung der Gesamt-DNA<sup>2</sup> und der Myeloperoxidase (MPO)<sup>3</sup> im Überstand erfolgte in Gegenwart und Abwesenheit spezifischer Inhibitoren der Schlüssel-Signalwege (Phosphoinositide 3-Kinase, nuclear factor-κβ, c-Jun N-terminal Kinase, mitogen aktivierte Proteinkinase P38, Proteinkinase C und Calmodulin).

**Ergebnisse:** Alcat-positive Nahrungsmittel zeigten einen **signifikant höheren DNA-Überstand** in 53 von 76 Proben (70%) und erhöhte MPO Konzentrationen in 18 von 28 Proben (64%) - statistische Signifikanz P <0,05. PKC-Inhibitoren führten zu einer Hemmung der Alcat-positiven Lebensmittel-stimulierten DNA-Freisetzung (P <0,05). Die Aktivierung von neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten wurde mit Hilfe von etablierten Zelloberflächenmarkern und durchflusszytometrischen Analysen identifiziert. Im Vergleich zu Alcat-negativen Proben führten Alcat-positive Proben bei 76% (p <0,02) der eosinophilen Granulozyten zu erhöhten CD63 Konzentrationen, bzw. 47% und 41% der neutrophilen und basophilen Granulozyten (NS).

**Conclusio:** Der Alcat-Test identifiziert Lebensmittel, die durch Aktivierung der peripheren angeborenen Immunzellen, vermittelt durch einen PKC-abhängigen Immunpfad, zur Freisetzung von DNA<sup>2</sup> und MPO<sup>3</sup> führen. **Dies beweist, dass der Alcat Test die Lebensmittel identifiziert, die zur Freisetzung von pro-entzündlichen Markern und zur Aktivierung von angeborenen Immunzellen führen.**

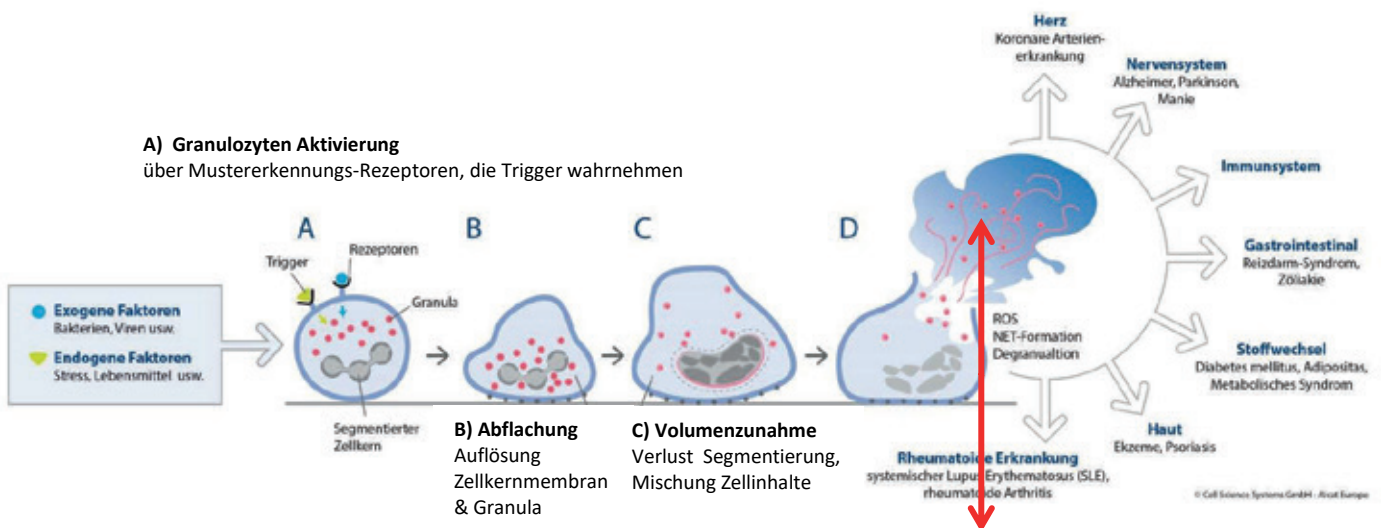
**Kontakt:** Theresa R. Weiss, [theresa.weiss@yale.edu](mailto:theresa.weiss@yale.edu)

<sup>1</sup>**Protein Kinase C (PKC):** Entzündlicher Immunpfad durch inflammatorische Zellreaktionen des angeborenen Immunsystems; nach aktuellem Stand der Wissenschaft steht dieser bei Fehlsteuerung mit einigen Krebsarten und kardiometabolischen Risikofaktoren (z.B. Metabolisches Syndrom: Diabetes, Übergewicht, Fettstoffwechselstörungen und Bluthochdruck) sowie einer Fettleber in Verbindung.

<sup>2</sup>**extrazelluläre DNA** wird bei der vollständigen Degranulation von z.B. Granulozyten freigesetzt. Durch das Platzen der Zelle bilden die hochtoxischen Zellinhalte anhand „extrazellulärer Fallen“ (ET) ein „Tötungs-Milieu“. Die extrazellulär freigesetzte DNA ist als Entzündmarker bekannt.

<sup>3</sup>**Myeloperoxidase (MPO)** ist ein Enzym in neutrophilen Granulozyten. Es spielt bei der Regulation und Terminierung von Entzündungsprozessen eine bedeutende Rolle. Es trägt zur Erkennung und Aufnahme von abgestorbenen Zellfragmenten durch Entzündungsprozesse durch Phagozyten bei.

**A) Granulozyten Aktivierung**  
über Mustererkennungs-Rezeptoren, die Trigger wahrnehmen



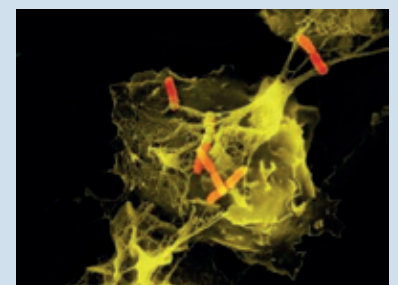
**D) Platzen → extrazelluläres „Tötungsmilieu“**  
Herausschleudern der *ET* (*extracellular trap*)-Komponenten:

- **Mitochondriale / nukleäre DNA-Fragmente**
- reaktive Sauerstoffspezies (ROS)
- pro-inflammatorische Zytokine
- lytische Enzyme, Interleukine, TNF $\alpha$ , Chemokine u.a.

**Erklärung: Was bedeutet „Freisetzung von DNA aus peripheren Immun-Leukozyten des angeborenen Immunsystems“?**

Granulozyten bilden mit 60-85% der Leukozyten die vorherrschende Immunzellpopulation im menschlichen Blut. Sie bilden die Erstabwehr gegen **eindringende Pathogene<sup>4</sup>** oder **körperinnere Moleküle<sup>5</sup>**. Das direkte unspezifische Vorgehen ist ein entscheidendes Charakteristikum der nativen Immunabwehr, wohingegen das spezifische Immunsystem (Antikörperbildung) weitgehend von der Erkennung von Proteinstrukturen abhängt. (Industrielle) Lebensmittel beinhalten jedoch auch Komponenten, wie Fette, Kohlenhydrate, Wirk- und Vitalstoffe, Zusatzstoffe, Antibiotika uvm.

Somit entsteht **außerhalb der Zelle ein „Tötungs-Milieu“**, in dem die zelleigenen antimikrobiellen Mediatoren, Granulate und reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) die „Gefahr“ neutralisieren sollen.



NET (*neutrophil extracellular trap*) und gefangene Shigellen (Max Planck Institut)

Granulozyten verwenden Neutralisierungsstrategien, wie Phagozytose, Degranulation, Inflammasom, oder die Bildung von *ET* (*extracellular traps*). Die Formation von *ET* durch neutrophile/eosinophile Granulozyten u. Mastzellen ist ein wichtiger Mechanismus der angeborenen Immunabwehr, wobei DNA freigesetzt wird. Bei der **ETosis** platzt die Immunzelle und setzt ihre toxischen Inhalte frei. Dabei entsteht eine **spezielle „Falle“**, bestehend aus dekondensierten Chromatinfasern und den antimikrobiellen Mediatoren aus den Granulaten inkl. **freigesetzter proentzündlich wirkender DNA**.

Eine Überaktivierung des Immunsystems (z.B. durch Ernährung) kann zu Gewebeschäden oder zur **Dauerinflammation** (*silent inflammation*) führen. Alle Leukozyten-Reaktionstypen gehen mit charakteristischen Veränderungen des Zellvolumens/-Anzahl einher, welche mit dem Alcat Test mittels präziser Impedanz-Durchflusszytometrie gemessen werden. Ziel ist es, einer Überaktivierung des Immunsystems und den Folgen effektiv entgegen zu wirken.

**Grafik:** Zellabwehr (Degranulation) neutrophiler Granulozyt in verschiedenen Reaktionsstadien: Auslöser sind **4exogene Faktoren**, d.h. **eindringende Pathogene**, Mikroorganismen, Fremdpartikel oder mikrobielle Strukturen (**PAMP**; pathogen-associated molecular patterns) oder **5endogene Faktoren**, d.h. **körperinnere Moleküle** (**DAMP**; danger/damage associated molecular pattern): Host-Moleküle initiieren/unterhalten eine Entzündungsreaktion, z.B. durch DNA, ATP, Stress, cytosolische Enzyme, UV-Strahlung, thermische Schäden, Nahrungsmoleküle, u.a.