Age Scan im Blut – Laborparameter zur Einschätzung des biologischen Alters

Wolfgang Mayer

Die Anti-Aging Medizin hat sich in den letzten Jahren neu aufgestellt, sowohl was das Verständnis von Alterungsvorgängen angeht als auch was die Ziele angeht, die erreicht werden sollen. Das ursprüngliche Ziel, die Verlängerung des Lebens um möglichst viele Jahre, ist der Steigerung der Lebensqualität im letzten Lebensdrittel gewichen. Hat man am Anfang Altern doch sehr einseitig primär als ein Defizit von Hormonen betrachtet, steht dem heute ein Verständnis eines multifaktoriellen Geschehens gegenüber, bei dem biochemische und soziale Faktoren ineinander greifen. Erkenntnisse aus der Zwillingforschung zeigen, dass nur etwa 20 % des Alterungsprozesses genetisch bedingt sind, ein sehr großer Teil also abhängig von Umwelteinflüssen ist, und lassen einen großen Spielraum für eine medizinische Beeinflussung des Vorganges vermuten. In den letzten Jahren wurde die Anti-Aging Medizin zudem durch Aufsehen erregende Erkenntnisse bereichert, insbesondere sind hier die Parabioseexperimente an Nagern zu erwähnen, die im Jahr 2014 publiziert wurden. Durch Kopplung der Blutkreisläufe von jungen und alten Tieren wurde bei den alten Tieren eine physische und kognitive Verjüngung erreicht, die offensichtlich durch Bestandteile des Blutes der jüngeren Tiere vermittelt werden konnte. Als vielversprechendster Kandidat galt bezeichnenderweise kein Hormon, sondern im weitesten Sinne ein Immunbotenstoff, der GDF11 (Growth Differentiation Factor 11), genannt wird. Die Hoffnung, damit den Stein der Weisen der Anti-Aging Medizin gefunden zu haben, hat sich leider bisher nicht bestätigen können. Offensichtlich ist es neben GDF11 eine Vielzahl von Komponenten, die den verjüngenden Effekt des Blutes junger Tiere ausmacht. Ein ähnliches Aufsehen bei der Anti-Aging Medizin hat eine Substanz hervorgerufen, die aus einem Bakterium isoliert wurde, welches auf den Osterinseln im Pazifik vorkommt. Rapamycin, unter dem Namen Sirolimus/Rapamune als Immunsuppressivum bei Transplantationen zugelassen, ist eine der wenigen Substanzen, die nachweislich die Lebensspanne von Labormäusen verlängert. Allerdings sieht es so aus, dass dies alleine durch den Hemmeffekt von Rapamycin auf Tumorzellen bedingt ist, es zeigen sich so gut wie keine Effekte auf den Alterungsprozess an sich (Rapamycin extends murine lifespan but has limited effects on aging. Frauke Neff, Diana Flores-Dominguez u. a., Journal of Clinical Investigation 2013).

Die Erkenntnisse der Anti-Aging Medizin der letzten Jahre stellen das Altern als komplexen und höchst individuellen Prozess dar, der sich nicht auf einzelne Summenparameter reduzieren lässt. Patientenabhängig spielen jeweils andere Faktoren eine Rolle, klassische endokrinologische Blickwinkel müssen durch immunologische Aspekte, Stoffwechselbetrachtungen und neuronale Faktoren ergänzt werden. Im Folgenden

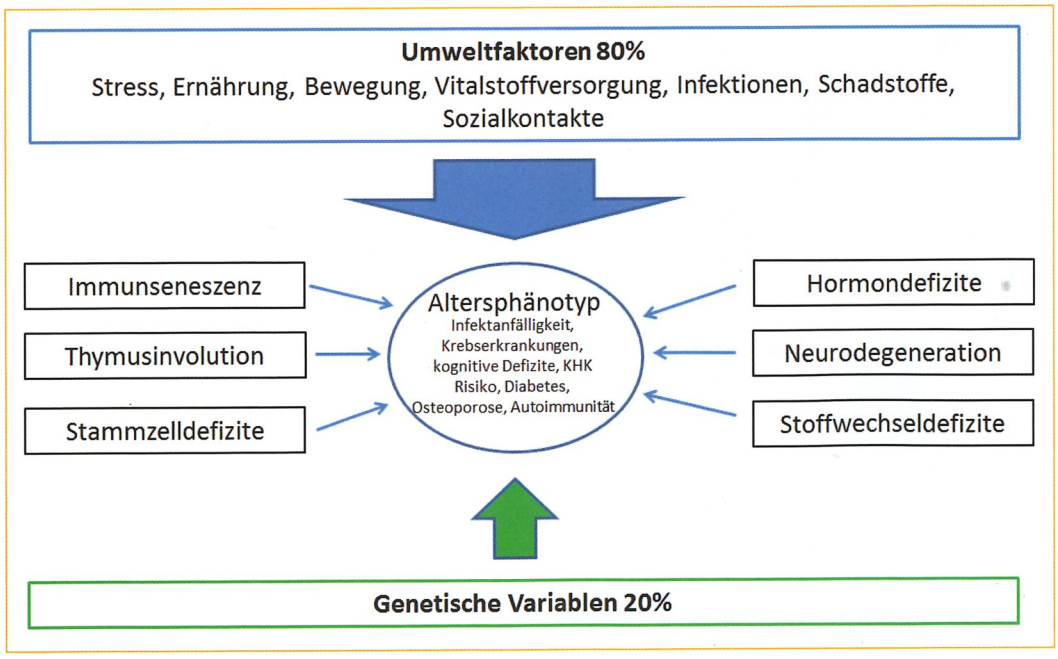

Abb. 1 *Altern – mehr als nur ein Mangel an Hormonen*

IMMUN STATUS ALTER

Naive CD4-Zellen	68	/µl	150 - 600
nCD4-Zellen %	7	% CD3	30 - 44
Memory CD4-Zellen	435	/µl	220 - 747
mCD4-Zellen %	47	% CD3	30 - 58
Ratio CD4 Memory/Naiv	6,71	Ratio	< 1,5
Naive CD8-Zellen	27	/µl	38 - 513
nCD8-Zellen %	6	% CD8	20 - 45
Memory CD8-Zellen	209	/µl	66 - 798
mCD8-Zellen %	44	%	35 - 70
CD8-Effektorzellen	204	/µl	19 - 285
efCD8-Zellen %	43	% CD8	10 - 25
Ratio CD8 Effektor/Naiv	7,00	Ratio	< 1,5
CD8-Zellen senesc (CD57)	382	/µl	10 - 387
senCD8-Zellen (CD57) %	41	% T-Zellen	1 - 15
CD8-Zellen PD1:relativ	5	% CD8	< 1

Abb. 2a *Lymphozytentypisierung mit dem Abschnitt von speziellen Parametern zur Altersbeurteilung der Immunabwehr: man sieht eine selektive Verminderung der naiven Zellen sowohl auf T4 als auch auf T8 Ebene, die T8 Effektorzellen nehmen einen zu großen Anteil an der CD8-Population ein, ebenso die T8 Zellen mit CD57-Expression (seneszente T8), sowie die suppressiven T8 mit PD-1 Rezeptor-Expression.*

sollen deshalb ausgewählte labordiagnostische Parameter abseits der klassischen Hormondiagnostik in den Bereichen Immunsystem, Thymusfunktion, Stoffwechsel, kardiovaskuläre Reparaturkapazität und neuronale Plastizität vorgestellt werden, die einen Bezug zum Alterungsprozess haben und eine Bewertung des biologischen Alters erlauben.

Immunparameter – Immunoseneszenz

Immunoseneszenz – die Veränderung des Immunsystems mit zunehmendem Alter – ist durch eine Vielzahl an qualitativen und quantitativen Veränderungen der Immunabwehr gekennzeichnet *[Gruver et al 2007: Immunosenescence of ageing]*. Klinisch äußert sich die nachlassende Immunkompetenz, insbesonder der TH1-Achse, z. B. durch ein gehäuftes Auftreten von Herpesvirusreaktivierungen (Zoster) und Tumorerkrankungen im Alter. Die damit verbundenen Veränderungen von Immunorganen (Rückgang der Thymusdrüse) und in der Zusammensetzung der zellulären Immunabwehr werden mit zunehmendem Lebensalter und mit einer zu starken und/oder chronischen Antigenkonfrontation/Immunaktivierung assoziiert, z. B. bei chronischen Systemerkrankungen (CFS, MCS, Autoimmunerkrankungen, rheumatische Erkrankungen, chronische Virusinfektionen), bei Störungen der Darmschleimhautfunktion und dadurch bedingter bakterieller Translokation und Inflammation, wie auch bei HIV-Infektion.

Der Anteil der naiven (ungeprägten) CD4-Zellen nimmt zugunsten des Anteils an CD4-Gedächtniszellen ab. Die resultierende verminderte Anpassungsfähigkeit der Immunabwehr auf neue, unbekannte Erreger kann durch den Quotienten CD4memory/CD4naiv dargestellt werden, der dann über das 1,5 fache ansteigt. Auch bei dem schweren primären Immundefekt dem CVID (Common Variable Immuno-Deficiency) sowie bei HIV-Infektion ist insbesondere die Population der naiven CD4-Zellen vermindert. Ebenso findet man bei den CD8-Zellen eine Zunahme der Effektorzellen zu Lasten der reagiblen naiven Zellpopulation. Einen guten Überblick über diese Zunahme der CD8-Zellen in der Endphase des zellulären Lebenszyklus gibt das Verhältnis der CD8-Effektorzellen zu den naiven CD8-Zellen, bei Immunoseneszenz steigt diese Ratio deutlich über den Wert von 1,5. Weitere wertvolle Marker für Immunoseneszenz durch chronische Immunaktivierung stellen die CD57- und PD-1 Expression auf T-Zellen dar. Das Oberflächenantigen CD57 repräsentiert mit verminderter CD28 Expression nicht mehr teilungsfähigen T8-Zellen mit verkürzten Telomeren (replikative Seneszenz). Diese Zellen sind nicht mehr in der Lage zu proliferieren oder Effektorzytokine wie IFN-gamma zu bilden, hemmen die zytolytische Aktivität von NKT und NK-Zellen über ein lösliches Glykoprotein (ICF: Inhibitor of Cytolytic Function). Die spezifische Aktivierung dieser Zellen führt zum programmierten Zelltod (Apoptose). In diesem Zusammenhang steht auch der PD-1-Rezeptor auf T-Zellen (programmed cell death protein 1), der maßgeblich an regulatorischen Prozessen beteiligt ist, zur Apoptoseinduktion bei antigen-spezifischen T-Zellen führt und gleichzeitig aber die Apoptose regulativer T-Zellen (Treg) reduziert.

Thymusfunktion – Recent Thymic Emigrants (RTE)

Die Thymusdrüse spielt bei der Reifung und Selektion von T-Zellen eine zentrale Rolle. Im Thymus werden unter anderem autoreaktive T-Zellen eliminiert und damit eine wichtige Funktion der Eigentoleranz erbracht. Mit zunehmendem Alter degeneriert das Thymusgewebe und wird durch Fettgewebe ohne Funktion ersetzt (Thymusinvolution). Typische Alterserscheinungen der Immunabwehr, wie Infektanfälligkeit, prolongierte Infekte, Zunahme des autoimmunen Potentials oder die Reaktivierung latenter Infektionen (z. B. VZV) werden auch mit dem Rückgang der Thymusfunktion in Zusammenhang gebracht. T-Zellen verlassen den Thymus als jungfräuliche, naive Zellen. Diese T-Zellen tragen neben dem Oberflächenmolekül CD45RA auch den Oberflächenmarker CD31 (PECAM-1), der charakteristisch für diese auch Recent Thymic Emigrants (RTE) genannten Zellen ist. Über das Adhäsionsmolekül CD31 lassen sich naive Zellen aus dem Thymus eindeutig von naiven Zellen in der Peripherie differenzieren, die durch postthymische Selektion entstehen und kein CD31-Glykoprotein tragen. Mit zunehmendem Lebensalter nimmt der Anteil an RTEs am Gesamtpool der peripheren naiven T-Zellen kontinuierlich von über 90 % bis etwa 50 % ab, entsprechend der Aktivität des Thymusgewebes. Damit sinkt auch die Anpassungsfähigkeit und Flexibilität der T-Zellulären Immunabwehr gegenüber neuen, bisher unbekannten Erregern. Eine überproportionale Reduktion der RTEs unter 50 % findet man bei chronischen Infektionen, sekundären Immundefekten, immunsuppressiver Therapie oder fortgeschrittener Immunseneszenz. Therapeutisch bietet sich bei vermindertem RTE-Anteil z. B. eine Substitution von Thymuspeptiden an, um die T-Zell-Differenzierung aus dem Thymus zu stimulieren.

Abb. 2b *Durchflusszytometrische Bestimmung der RTEs als Marker der Thymusfunktion: deutlich reduzierter Anteil von RTEs an den naiven T-Zellen bei einem 45-jährigen Patienten mit Infektanfälligkeit*

Stoffwechsel – Alpha-Klotho

Alpha-Klotho ist ein hochinteressanter, aussagekräftiger Parameter für den Alterungszustand des Organismus und kann heute routinegängig im Serum bestimmt werden. Der Japaner Makoto Kuro'o beschrieb 1997 am Nationalen Institut für Neurowissenschaften in Tokio ein neues Gen, welches in der Maus die Lebensspanne um bis zu 30 % verlängert, wenn es vermehrt exprimiert wird. Das Gen codiert für ein Proteohormon mit dem Namen α-Klotho, welches ausschließlich in der Niere oder dem Gehirn produziert wird. Ein Defekt in diesem Gen führt zu einem Syndrom, das dem menschlichen Altern ähnelt. Die betroffenen Tiere haben eine verminderte Lebenserwartung, sind unfruchtbar und entwickeln typische Alterskrankheiten wie Arteriosklerose, Hautatrophie, Osteoporose und Lungenemphysem. Bei Abwesenheit von a-Klotho ist die Knochendichte wesentlich verringert *[Kuro-o M et al. Nature. 1997 Nov 6; 390(6655):45-51]*. Diese Erkenntnisse haben dazu geführt, dass a-Klotho als „Botenstoff gesunder Organismen" *[Fantuzzi G Front Immunol. 2014 Jul 21;5:351]* bezeichnet wird, der Name nach der griechischen Göttin Klotho, die den Lebensfaden spinnt, spricht für sich. α-Klotho-Level in der Zirkulation nehmen mit zunehmendem Alter ab *[Yamazaki Y et al. Biochem Biophys Res Commun. 2010 Jul 30;398(3):513-8]*, niedrige Level gehen einher mit altersbedingten Erkrankungen. Die Funktionen von a-Klotho sind vielschichtig, so hemmt a-Klotho die Rückresorption von Phosphat in den proximalen Tubuluszellen durch direkte Bindung an den FGF-Rezeptor, regelt die Calcium-Rückresorption der Zellen, hemmt die 1α-Hydroxylase und damit die Aktivierung von 25(OH) Vitamin zu Calcitriol, reguliert mehrere Signalwege, darunter den Insulin/IGF-1-Weg sowie die Aktivität vieler Ionenkanäle und schützt Zellen und Gewebe vor oxidativem Stress. Erst die Bindung von Klotho an Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptor 1 führt dazu, dass der Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 (FGF23) spezifisch binden kann. FGF23 ist ein Hormon aus dem Knochen, das in der Niere die Rückresorption von Phosphat und die Synthese von Vitamin D hemmt. Mäuse, die mit einem monoklonalen Antikörper gegen Klotho behandelt wurden, sprechen nicht mehr auf FGF23 an. Eine Steigerung des a-Klotho Spiegels ist beschrieben durch körperliche Aktivität *[American Journal Physiology Heart Circulation Physiology Feb 2014]*, Medikamente (Statine, Sartane, Avandia), Vitamin D (25OH und 1,25OH), Magnesium, Cordyceps *[J Centr South Univ. Medic Scienc April 2009]* und Resveratrol *(Int J Biochem Cell Biol. 2014]*.

Neuronales Alter: BDNF

BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) wird im ZNS (Hippocampus) gebildet, aber auch außerhalb des ZNS z. B. von Immunzellen, Muskelzellen oder Thrombozyten. Es ist einer der wichtigsten neurothrophen Wachstumsfaktoren mit schützenden Eigenschaften für zentrale und periphere Nervenzellen, er hemmt deren Apoptose und fördert Differenzierung und Überleben, zudem ist BDNF an Gedächtnisbildung und Schmerzabwehr beteiligt. BDNF gilt als maßgeb-

licher Faktor für die Neuroplastizität. Damit bietet sich BDNF als idealer Biomarker für die Einschätzung der neuronalen Leistungs- und Regenerationsfähigkeit sowie der kognitiven Reserve an. Da die Blut-Hirnschranke durchlässig für BDNF ist, sind Serumspiegel repräsentativ für die BDNF-Situation im ZNS und können deshalb als aussagekräftiger Laborparameter für die BDNF-Bildung herangezogen werden.
Stress, Schlafmangel, chronische Entzündungen und körperliche Überlastung reduzieren die BDNF-Bildung, auch mit zunehmendem Lebensalter und bei neurodegenerativen Erkrankungen sind die BDNF-Spiegel erniedrigt. Es konnte bei älteren Menschen gezeigt werden, dass die Geschwindigkeit des kognitiven Abbaus mit der Höhe des BDNF-Spiegels invers korreliert *[Neurology February 23, 2016; 86 (8)]*. Eine Stimulierung der BDNF-Produktion wird z. B. durch Sozialkontakte, Kalorienrestriktion, Sport, Mikronährstoffe und Serotonin beschrieben.

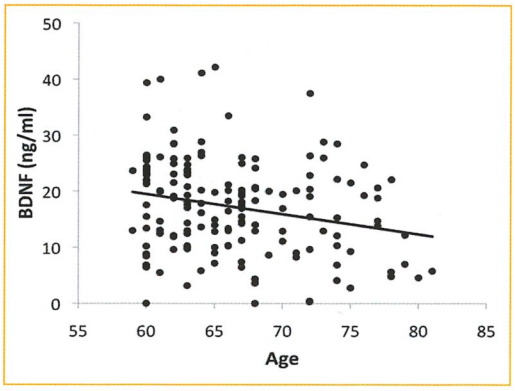

Abb. 3 *Negative Assoziation von BDNF-Serumspiegeln und Lebensalter (aus: Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume.J Neurosci. 2010 Apr 14; 30(15): 5368-5375)*

Kardiovaskuläres Aging: Stammzellen/ Endotheliale Progenitorzellen (EPC)

Das regenerative Potential des Organismus kann über die Anzahl an peripher zirkulierenden Stammzellen (CD34) eingeschätzt werden, bei älteren Menschen nimmt die Anzahl an Stammzellen im Blut ab *[Bagnara et al., 2000]*. Für das kardiovaskuläre Aging ist insbesondere die Stammzell-Subpopulation endothelialer Progenitorzellen (EPC,CD133/VEGFR2) diagnostisch interessant *[Werner 2007]*. EPCs stammen aus dem Knochenmark und sind an der Neovaskularisation und Reendothelialisierung von Gefäßen maßgeblich beteiligt. Die Menge an endothelialen Progenitorzellen im peripheren Blut stellt ein Maß für die Reparaturkapazität von Endothelgewebe dar und hat sich als eigenständiger Risikomarker für kardiovaskuläre Erkrankungen bewährt. Im Alter wird eine Reduktion der Anzahl und der Funktion von EPCs beschrieben, verbunden mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse. Die EPC-Population im peripheren Blut wird durch Rauchen vermindert, körperliche Aktivität, Vitamin C steigern die Anzahl von EPCs im peripheren Blut. Die Quantifizierung von EPCs im peripheren Blut (EDTA) ist mittels durchflusszytometrischer Messtechnik im immunologischen Speziallabor möglich.

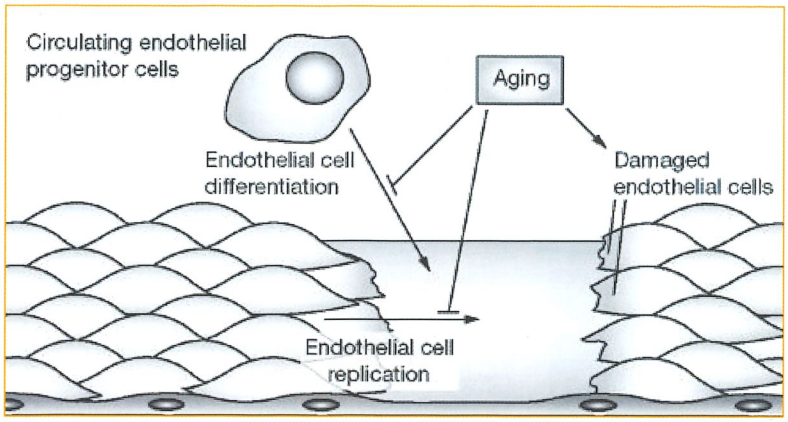

Abb. 4 *Cardiac Aging: Endotheliale Progenitorzellen sind für die Reparatur von Endothleschäden essentiell, mit zunehmendem Alter sinkt deren Anzahl, gleichzeitig treten Schäden häufiger auf. (aus: T. Minamino, Issei Komuro: Vascular aging: insights from studies on cellular senescence, stem cell aging, and progeroid syndromes. Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine 2008 volume 5, pages 637-648)*

Die vorgestellten Read-Out Parameter im Blut erlauben vor allem in Kombination einen Abgleich von biologischem zu chronologischem Alter und empfehlen sich daher im Sinne einer personalisierten Präventions- und Agingdiagnostik. Es bestehen zudem klare Optionen, mittels therapeutischer Interventionen oder

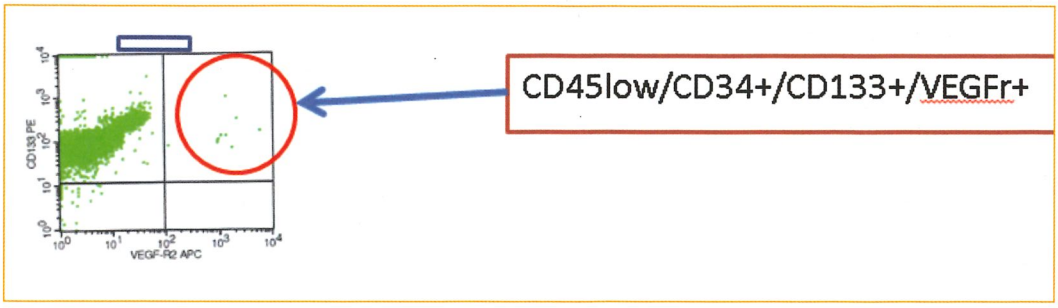

Abb. 5 *Durchflusszytometrische Quantifizierung von EPCs, einer Untergruppen von Stammzellen, im Blut eines Patienten*

Life-Style-Modifikationen Defiziten an diesen Aging Checkpoints zu begegnen. Das Verständnis des Patienten für die Notwendigkeit von präventiven Maßnahmen wird durch die labordiagnostische Darstellung von Defiziten unterstützt, ebenso fördert die Möglichkeit einer Visualisierung und Objektivierung des Therapieerfolges die nachhaltige Compliance.

- Immunstatus Alter: T4/T8 memory-naiv, seneszente T8 mit CD57 und PD-1 (EDTA)
- Recent Thymic Emigrants/RTE (EDTA)
- Endotheliale Progenitorzellen (EDTA)
- Alpha Klotho (Serum)
- BDNF (Serum)

Abb. 6 *Labor-Parameter zur Einschätzung des biologischen Alters*

Wolfgang Mayer
Augustenstraße 10
80333 München | Deutschland
wm@lab4more.de
www.lab4more.de

Literatur

Altaabas V. et al: Endothelial progenitor cells (EPCs) in ageing and age-related diseases: How currently available treatment modalities affect EPC biology, atherosclerosis, and cardiovascular outcomes. Mech Ageing Dev. 2016 Oct;159:49-62. doi: 10.1016/j.mad.2016.02.009.

Bagnara GP, Bonsi L, Strippoli P, et al. Hemopoiesis in healthy old people and centenarians: well-maintained responsiveness of CD34cells to hemopoietic growth factors and remodeling of cytokine network. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2000;55:B61–B66

Buchman Aron S. Higher brain BDNF gene expression is associated with slower cognitive decline in older adults. Neurology February 23, 2016; 86 (8)

Chen G et al: α-Klotho is a non-enzymatic molecular scaffold for FGF23 hormone signalling. Nature 2018 Jan 25;553(7689):461–466. doi: 10.1038/nature25451

Erickson et al. Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume. J Neurosci. 2010 Apr 14;30(15):5368–75. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6251-09.2010

Fantuzzi G. The sound of health; Front Immunol. 2014 Jul 21;5:351

Fink PJ. The biology of recent thymic emigrants. Annu Rev Immunol. 2013;31:31–50. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-100010. Epub 2012 Nov 1.

Frauke Neff, Diana Flores-Dominguez u. a.: „Rapamycin extends murine lifespan but has limited effects on aging", Journal of Clinical Investigation (Online-Veröffentlichung vom 25. Juli 2013), http://dx.doi.org/10.1172/JCI67674

Giese et al. The interplay of stress and sleep impacts BDNF level. PLoS One. 2013; 16;8(10)

Gruver et al: Immunosenescence of ageing. J Pathol. 2007 Jan; 211(2): 144–156

Hsu SC et al. Resveratrol increases anti-aging Klotho gene expression via the activating transcription factor 3/c-Jun complex-mediated signaling pathway. Int J Biochem Cell Biol. 2014 Aug;53:361–71. doi: 10.1016/j.biocel.2014.06.002. Epub 2014 Jun 6.

Kaiser J: Aging. 'Rejuvenation factor' in blood turns back the clock in old mice. Science. 2014 May 9;344(6184):570-1. doi: 10.1126/science.344.6184.570

King TF, McDermott JH: Endothelial progenitor cells and cardiovascular disease. J Stem Cells. 2014;9(2):93-106. doi: jsc.2014.9.2.93

Kohler S, Thiel A. Life after the thymus: CD31+ and CD31- human naive CD4+ T-cell subsets. Blood. 2009 Jan 22;113(4):769-74. doi: 10.1182/blood-2008-02-139154

Kuro-o M et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. Nature. 1997 Nov 6; 390(6655):45–51

Matsubara T. eta al. Aerobic exercise training increases plasma Klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2014 Feb;306(3):H348–55

Minhajat R, Nilasari D, Bakri S. The Role of Endothelial Progenitor Cell in Cardiovascular Disease Risk Factors. Acta Med Indones. 2015 Oct;47(4):340–7. Review

T. Minamino et al: Vascular aging: insights from studies on cellular senescence, stem cell aging, and progeroid syndromes. Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine 2008 volume 5, pages 637–648

Ceren Ozek et al: Growth Differentiation Factor 11 treatment leads to neuronal and vascular improvements in the hippocampus of aged mice; Nature (2018) 8:17293 | DOI:10.1038/s41598-018-35716-6

Werner N., Nickenig G: Endothelial progenitor cells in health and atherosclerotic disease. Annals of Medicine 2007, 39:2, 82-90, DOI: 10.1080/07853890601073429

Yamazaki Y et al. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. Biochem Biophys Res Commun. 2010 Jul 30;398(3):513–8