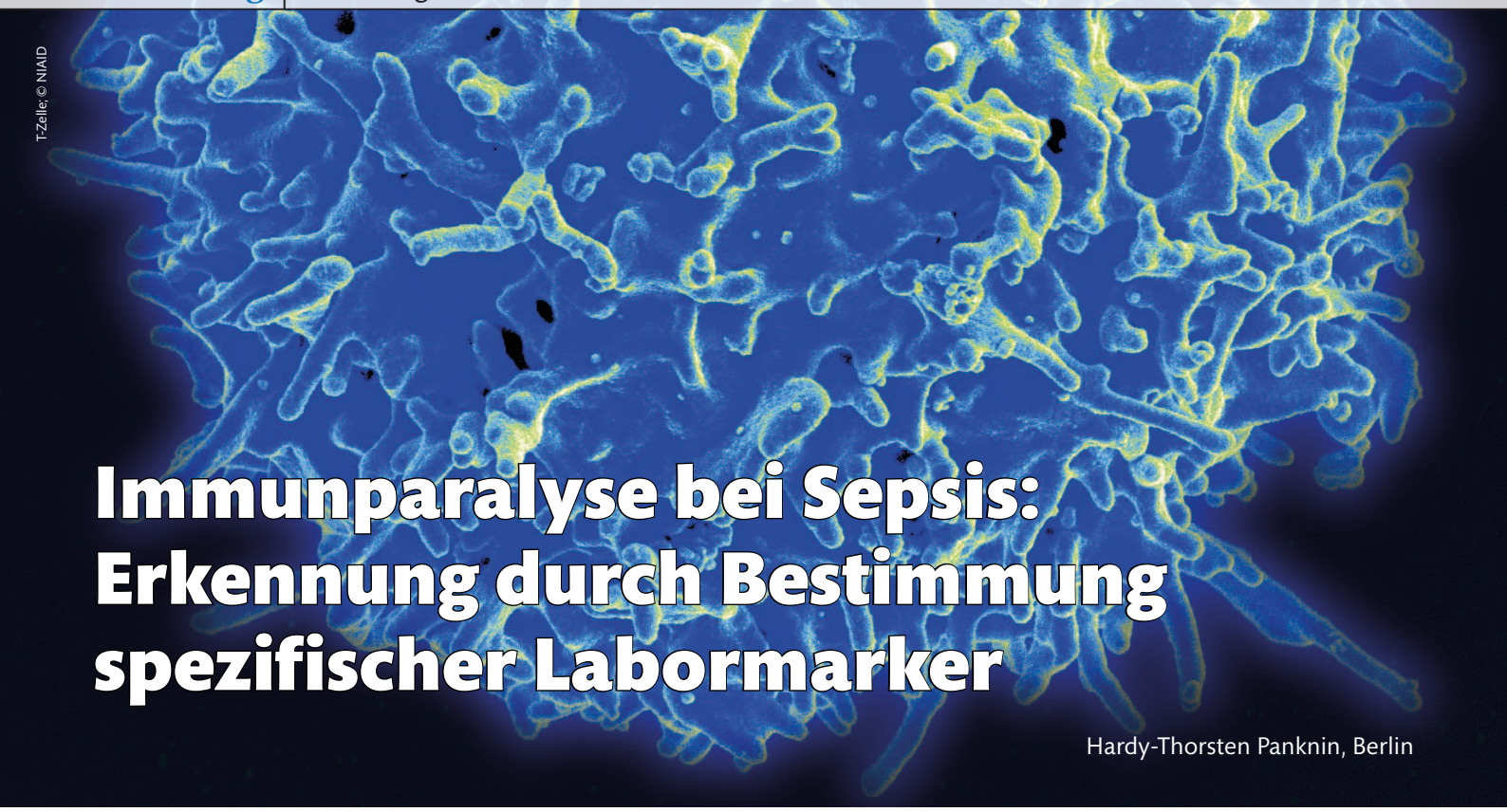

Immunparalyse bei Sepsis: Erkennung durch Bestimmung spezifischer Labormarker

Hardy-Thorsten Panknin, Berlin

Sepsis und septischer Schock sind auch im Zeichen der modernen Intensivmedizin lebensbedrohliche Krankheitsbilder. Für die klinischen Erkrankungsmanifestationen spielen immunologische Abwehrvorgänge eine entscheidende Rolle. Das Überleben einer Sepsis könnte dabei entscheidend von anti-entzündlichen Reaktionen abhängen, die parallel oder zeitlich nachgeschaltet zur primären Entzündungsreaktion ablaufen.

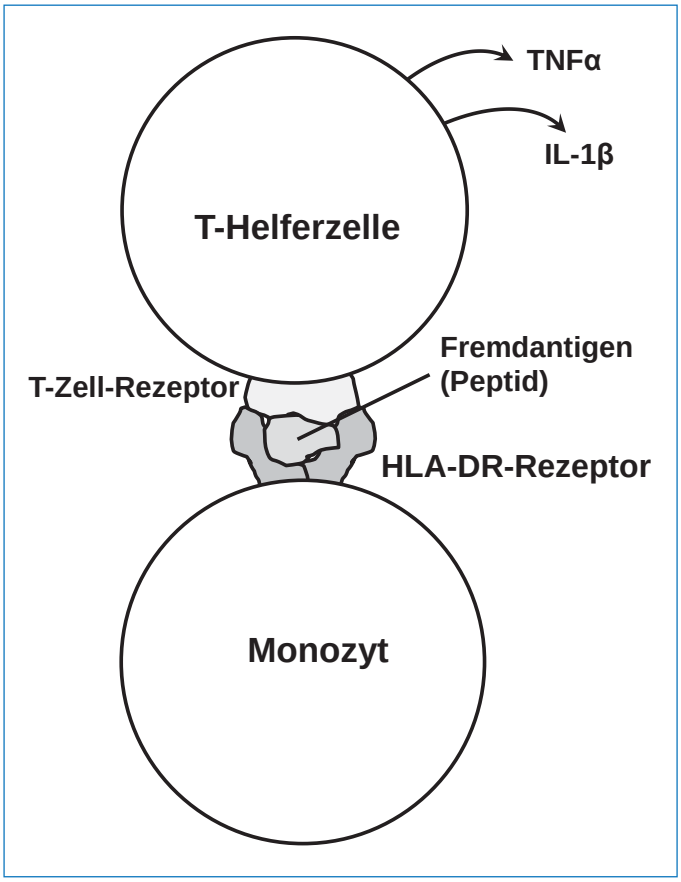

Abb. 1: Präsentation von Fremdantigen durch Monozyten gegenüber T-Helferzellen. Durch die Bindung des Antigen-mHLA-DR-Komplexes über den T-Zellrezeptor kommt es zur Aktivierung der T-Helferzelle, welche unter anderem TNFα und IL-1β ausschüttet.

Bis vor einigen Jahren herrschte die Ansicht vor, dass eine überschießende Reaktion des Immunsystems gegenüber dem Sepsiserreger eine der Hauptursachen für die Entstehung des Sepsis-induzierten Organversagens und die frühzeitig einsetzenden Gerinnungsstörungen darstellt. Diese Phase der Sepsis wird auch als „hyperinflammatorisches" Syndrom, oder englisch als „systemic inflammatory response syndrome" (SIRS) bezeichnet. Laborchemisch ist sie dadurch gekennzeichnet, dass pro-inflammatorische Zytokine wie Tumor-Nekrose-Faktor-α (TNFα), Interleukin-1β (IL-1β) sowie Interleukin 6 (IL-6) in erhöhter Konzentration im Blut nachweisbar sind. Vermutet wurde, dass diese entzündliche (oder „pro-inflammatorische") Reaktion auch für den tödlichen Verlauf einer Sepsis verantwortlich ist.

Forschungen aus jüngerer Zeit haben jedoch gezeigt, dass im Sepsisverlauf auch eine anti-entzündliche Reaktion bis hin zu einer Lähmung des Immunsystems auftreten kann. Diese als „Immunparalyse" bezeichnete Reaktion könnte für die unzureichende Beherrschung des Infektionsherdes und das Auftreten von Sekundärinfektionen im späteren Sepsisverlauf eine Rolle spielen. Studien zeigen, dass die Mortalität bei Sepsis signifikant mit einer solchen Immunparalyse assoziiert ist. Insofern könnte es von großer Bedeutung sein, diese Phase frühzeitig zu erkennen und mit therapeutischen Gegenmaßnahmen abzumildern. In einer Übersichtsarbeit haben kürzlich Dr. Linda Hamers und Mitarbeiter von der Intensivstation der Radboud Universitätsklinik in Nijmegen, Niederlande, die Diagnostik der Sepsis-induzierten Immunparalyse mit Hilfe von Labormarkern dargestellt [1].

Labormarker in der immunparalytischen Phase

In der immunparalytischen Phase werden typischerweise anti-inflammatorische Zytokine ins Blut freigesetzt. Im Einzelnen handelt es sich hierbei um die Interleukine IL-4, IL-10, IL-13 und

Tabelle 1: Zytokinkonzentrationen bei Sepsisbeginn von Patienten mit S. aureus-Sepsis: Korrelation mit der Mortalität

Labormarker	Überlebende Patienten (n=51)	Verstorbene Patienten (n=8)	p-Wert
TNFα, pg/ml*	4,5 ± 4,7	15,2 ± 15,4	0,011
IL-1β, pg/ml*	9,9 ± 13,7	10,0 ± 7,5	0,511
IL-10, pg/ml*	18,8 ± 3,6	84,1 ± 97,1	0,001
TNFα >2,8 pg/ml, n (%)	25/51 (49)	6/8 (75)	0,259
IL-10 >7,8 pg/ml, n (%)	27/51 (52,9)	8/8 (100)	0,016

* Mittelwert ± Standardabweichung

den Interleukin-Rezeptorantagonisten IL-ra. Besonders das Zytokin IL-10 hat in der neueren Forschung als Labormarker dieser Phase Interesse gefunden. IL-10 wird vor allem von Monozyten gebildet und wirkt in einer Regulationsschleife auf diese Zellen zurück. Es fördert einerseits deren Phagozytosebereitschaft, hemmt aber die Antigenpräsentation. Dadurch wird die Entzündungsantwort des Körpers gebremst. Da IL-10 auch die Interferon-γ-Freisetzung aus natürlichen Killerzellen hemmt, kommt es auf verschiedenen Wegen zu einer Herabregulation der Immunreaktion.

Interleukin-10 im Blut: Ein Marker für erhöhte Mortalität

In einer kürzlich durchgeführten Studie an Patienten mit Sepsis durch Staphylococcus aureus hat sich IL-10 als relevanter Marker für die prognostische Abschätzung der Mortalität erwiesen. Die Studie wurde an der Universitätsklinik von Madison, Wisconsin, USA, durchgeführt [2]. Insgesamt wurden 59 Patienten mit S.-aureus-Sepsis in die Studie aufgenommen. Ursachen der Sepsis waren Pneumonien, Weichteilinfektionen oder Gefäßkatheter-assoziierte Infektionen. Der Nachweis von S. aureus erfolgte aus Blutkulturen. Insgesamt 8 Patienten verstarben im Krankenhaus. Die Zytokinkonzentrationen im peripheren Blut wurden bei allen Patienten täglich mit ELISA-Assays der Firma R&D Systems (Minneapolis, Michigan, USA) bestimmt. Dabei zeigte sich, dass ein erhöhter Wert für TNFα beim Auftreten der Sepsis signifikant mit der Mortalität korrelierte. Gleichzeitig konnte aber bei den später an der Sepsis verstorbenen Patienten auch ein stark erhöhter Wert für IL-10 nachgewiesen werden (Tabelle 1). Als Normalwert für IL-10 gelten Messwerte bis 7,8 pg/ml. Sepsispatienten, bei denen dieser Wert zu Beginn des Sepsisgeschehens überschritten wurde, hatten eine Mortalität von 8/35 (22,9 %). Demgegenüber verstarb niemand, der diesen Messwert unterschritt (p=0,016). Ein IL-10-Wert von >7,8 pg/ml bei Krankenhausaufnahme konnte daher in dieser Studie als trennscharfer Prognoseparameter ermittelt werden. Für TNFα können bei gesunden Normalpersonen Werte bis 2,8 pg/ml gefunden werden. Eine Überschreitung dieses Wertes bei Patienten mit S.-aureus-Sepsis korrelierte ebenfalls mit erhöhter Mortalität, jedoch erreichte der Unterschied keine Signifikanz (Tabelle 1).

Bedeutung des mHDL-DR-Antigens

Ein charakteristisches Zeichen der immunparalytischen Sepsisphase ist auch die verminderte Expression eines immunologisch wichtigen Oberflächenmoleküls auf Monozyten, des HLA-DR-Moleküls. HL-Antigene (human leukocyte antigens) sind in der Zellmembran von Leukozyten verankerte Glykoproteine, welche genetisch determiniert sind und ein spezifisches Gewebs- bzw. Zellcharakteristikum individueller Personen darstellen. Die HL-Antigene spielen daher für die Gewebetypisierung und Transplantationsmedizin eine große Rolle. Die HLA-DR-Moleküle sind ein spezieller Typ dieser Antigene. Auf der Oberfläche von Monozyten haben sie die Funktion, Fremdantigene zu binden und gegenüber T-Helfer-Zellen zu präsentieren. HLA-DR-Moleküle auf der Oberfläche von Monozyten werden auch als mHLA-DR-Rezeptoren (=monozytäre HLA-DR-Rezeptoren) bezeichnet.

Nach Bindung des mHLA-DR-Antigen-Komplexes durch den T-Zell-Rezeptor bilden die T-Zellen proinflammatorische Zytokine, welche dabei mitwirken, die Immunantwort gegen eingedrungene Erreger oder Antigene in Gang zu setzen (Abb. 1). Bei diesen proinflammatorischen Zytokinen handelt es sich beispielsweise um die oben bereits genannten Moleküle TNFα oder IL-1β. Eine verminderte Expression des mHLA-DR-Rezeptors vermindert somit indirekt die Bildung der beiden letztgenannten Zytokine.

Die Anzahl HLA-DR-tragender Monozyten kann mittels Durchflusszytometrie bestimmt werden. Eine gegenüber Normalpersonen erniedrigte Konzentration HLA-DR-positiver Zellen signalisiert eine Immunparalyse und korreliert bei Sepsispatienten mit einer erhöhten Mortalität. Neuere Studien zeigen, dass nicht so sehr die Absolutwerte der mHLA-DR-Expression von prognostischer Bedeutung sind, als vielmehr der zeitliche Verlauf in den ersten 7 Tagen der Sepsis. Nahezu alle Sepsispatienten haben zu Beginn des septischen Geschehens eine erniedrigte Konzentration HLA-DR-exprimierender Monozyten im peripheren Blut. Kommt es in den ersten Tagen zur Erholung der Monozyten mit einem Anstieg der HLA-DR-Expression, so korreliert dies mit dem Überleben der Patienten. Bleibt der Anteil HLA-DR-tragender Monozyten dagegen niedrig, so ist die Prognose signifikant schlechter.

Neue Studie zur mHLA-DR-Expression bei Sepsispatienten

Eine kürzlich hierzu durchgeführte klinische Studie fand auf der chirurgischen Intensivstation der Su-Yatsen Universitätsklinik in Guangzhou, China, statt [3].

In die Studie wurden 107 Patienten mit schwerer Sepsis aufgenommen, die nach internationalen Diagnosekriterien diagnostiziert wurden. Da einige Patienten im weiteren Verlauf nicht komplett dokumentiert werden konnten, wurden letztlich 79

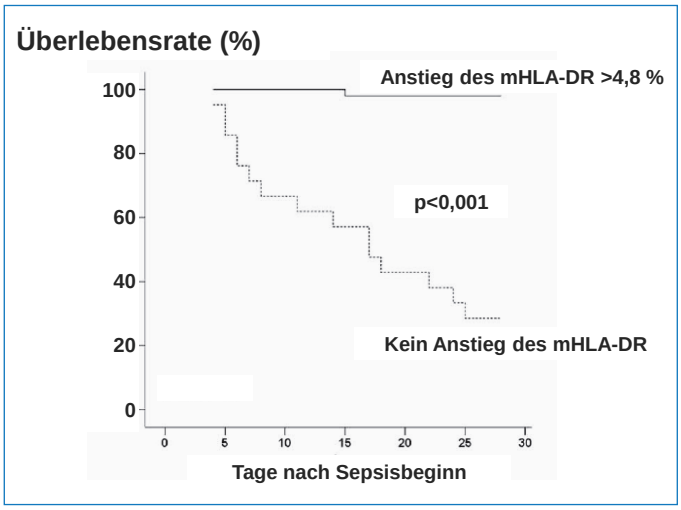

Abb. 2: Entwicklung der 28-Tage-Mortalität bei Sepsispatienten (n=79) auf einer chirurgischen Intensivstation. Patienten, bei denen der Anteil HLA-DR-positiver Monozyten bis zum Tag 3 nach Sepsisbeginn um >4,8 % zunahm, hatten eine signifikant verringerte Mortalität (nach [3]).

Tabelle 2: Weitere Marker der immunparalytischen Phase

Labormethode	Durchführung	Befund in der immunparalytischen Phase
Quotient IL-10:TNFα	Bestimmung beider Zytokine im peripheren Blut mittels ELISA, Berechnung des Quotienten	Der Quotient ist in der immunparalytischen Phase erhöht
TNFα-Stimulation ex vivo	Periphere Leukozyten von Sepsispatienten werden in der Zellkultur mit bakteriellem Lipopolysaccharid (LPS) stimuliert. Die Freisetzung von TNFα wird im Kulturüberstand gemessen	Signifikant reduzierte TNFα-Freisetzung gegenüber Kontroll-Leukozyten
PD-1-Ligand-Bestimmung auf T-Zellen und Monozyten	Markierung auf der Oberfläche der Zellen mit spezifischen monoklonalen Antikörpern, durchflusszytometrische Bestimmung	PD-1 und der Ligand für PD-1 (PD-L1) sowie verwandte Moleküle werden in der immunparalytischen Sepsisphase gegenüber gesunden Kontrollen verstärkt exprimiert
CD163	CD163 ist ein membrangebundener Rezeptor auf Monozyten und Makrophagen.	Die Konzentration von löslichem CD163 (sCD163) im peripheren Blut ist bei tödlichen Sepsisverläufen erhöht

PD = programmed death molecule, ein Oberflächenmarker auf Lymphozyten, der den Zelltod bestimmter Zellen determiniert; CD = cluster of differentiation. Es handelt sich um Differenzierungsmarker verschiedener Typen von Blutzellen und Tumorzellen.

Patienten ausgewertet. Diagnose und Therapie der Sepsis erfolgten nach üblichen klinischen Standards. Die Bestimmung der HLA-DR-Expression erfolgte täglich mittels Durchflusszytometrie aus peripher entnommenen Blutproben. Monozyten wurden hierzu mit monoklonalen Antikörpern fluoreszenzoptisch markiert. Dabei wurden Antikörper gegen den Monozytenmarker CD14 (positiv auf allen Monozyten) sowie mHLA-DR (positiv nur auf HLA-DR-exprimierenden Monozyten) verwendet. Somit konnte der Anteil HL-DR-positiver Monozyten als Prozentwert errechnet werden. Als Endpunkt der Studie wurde die 28-Tage-Mortalität ausgewertet. Es zeigte sich, dass eine Zunahme der mHLA-DR-Expression um >4,8 % in den ersten 3 Tagen der Sepsis mit einer erhöhten Überlebenschance korrelierte. Patienten, bei denen die mHLA-DR-Expression dagegen nicht zunahm, verstarben signifikant häufiger (Abb. 2).

Weitere Marker der Immunparalyse

Als geeignet für die Erkennung der immunparalytischen Phase der Sepsis hat sich auch der Quotient von IL-10 und TNFα erwiesen. Ein weiterer Marker, um diese Phase zu erkennen, ist das PD-1. Die Abkürzung bedeutet „Programmed death molecule 1". Es handelt sich um ein Zelloberflächenmolekül, welches auf T-Lymphozyten und Vorstufen von B-Lymphozyten zu finden ist. Das PD-1 hat eine doppelte Funktion. Zum einen bewirkt es den programmierten Zelltod (Apoptose) von antigenspezifischen T-Zellen in Lymphknoten. In Suppressor-T-Zellen (T-Zellen, welche die Immunantwort hemmen) wird die Apoptose jedoch unterdrückt. In der Summe hat PD-1 somit ebenfalls eine die Immunreaktion bremsende Funktion. Eine Auswahl der weiteren, für die Erkennung der immunparalytischen Phase geeigneten Labormarker ist in Tabelle 2 zusammengestellt.

Mögliche Bedeutung der Labormarker für die Therapie

Die Erkennung einer Immunparalyse durch Bestimmung der oben genannten Labormarker könnte in Zukunft dazu führen, dass die Immunfunktion durch bestimmte Medikamente wieder verstärkt wird. Möglichkeiten hierzu sind beispielsweise der Einsatz von anti-IL-10-Antikörpern oder der Einsatz von PD-1-Liganden-spezifischen Antikörpern. Für letztere gibt es in den USA bereits zugelassene Medikamente, welche allerdings derzeit lediglich in der Tumortherapie (malignes Melanom) Verwendung finden. Der Einsatz bei der bakteriellen Sepsis beschränkt sich derzeit auf Tierexperimente, die aber durchaus erfolgreich verliefen (signifikante Senkung der Mortalität). Insgesamt dienen daher die oben genannten Marker zunächst der weiteren klinischen Charakterisierung des immunparalytischen Syndroms bei der Sepsis, um in experimentellen Studien mögliche neue Therapieansätze zu definieren. ■

Literatur

1. Hamers L et al. Sepsis-induced immunoparalysis: mechanisms, markers, and treatment options. Minvera Anestesiol 2014;May 30 (online)
2. Rose WE et al. Elevated serum interleukin-10 is predictive of mortality in patients with Staphylococcus aureus bacteremia. Clin Infect Dis 2012;206:1604-1611.
3. Wu JF et al. Changes of monocyte human leukocyte antigen-DR expression as a reliable predictor of mortality in severe sepsis. Crit Care 2011;15:R220

Link zur Deutschen Sepsis-Gesellschaft www.sepsis-gesellschaft.de

Der Autor:
Hardy-Thorsten Panknin
Fachjournalismus Medizin – Schwerpunkt Klinische Infektiologie und Kongressmanagement Berlin
Badensche Straße 49, D-10715 Berlin
E-Mail: ht.panknin@berlin.de