Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Immunantwort nach akuter zerebraler oder koronarer Ischämie beim Menschen“

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Fabian Föhring

aus Wolfenbüttel

Datum der Promotion: 27.02.2015

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS 2
ZUSAMMENFASSUNG 4
ABSTRACT 6
1. EINLEITUNG 8
1.1 Terminologie und Klassifikation des Schlaganfalls 8
1.2 Pathophysiologie der akuten zerebralen Ischämie 9
1.3 Diagnostik und Therapie der akuten zerebralen Ischämie 10
1.4 Immunologische Veränderungen nach akuter zerebraler Ischämie 11
1.5 Bakterielle Infektionen nach akuter zerebraler Ischämie 12
1.6 Terminologie und Klassifikation des akuten Herzinfarktes 13
1.7 Pathophysiologie des akuten Herzinfarktes 14
1.8 Diagnostik und Therapie des akuten Herzinfarktes 15
1.9 Immunologische Veränderungen nach akutem Herzinfarkt 16
1.10 Immunparameter 17
1.11 Aufgabenstellung 20
2. METHODEN 21
2.1 Studienpopulation und Studienkriterien 21
2.2 Studienprotokoll 24
2.3 Einteilung von Subgruppen gemäß Schweregrad 25
2.4 Immunologische Diagnostik 26
2.5 Kraniale Magnetresonanztomographie (MRT) 31
2.6 Statistik 31
3. ERGEBNISSE 32
3.1 Studienpopulation 32
3.2 Laborwerte nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt 35
3.3 Laborwerte im stationären Verlauf nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt 37
3.4 Inzidenz nosokomialer Infektionen nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt 41

3.5 Laborwerte im stationären Verlauf nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt in Abhängigkeit vom Auftreten nosokomialer Infektionen 41
3.6 Einfluss der Ausdehnung einer zerebralen Ischämie bzw. der Myokardischämie auf die Immunantwort 46
4. DISKUSSION 53
4.1 Immunologische Veränderungen nach zerebraler oder kardialer Ischämie 53
4.2 Limitationen dieser Arbeit 58
4.3 Schlussfolgerung 59
5. LITERATURLISTE 60
X. ANHANG 66
X.I Glossar 66
X.II MRT-Bildgebung, Sequenzparameter und Messzeiten 67
X.III NIHSS-Skala. Erläuterungen und Definitionen zur Befunderhebung 68
XI. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG 69
XII. LEBENSLAUF 70
XIII. ANTEILSERKLÄRUNG 70
XIV. DANKSAGUNG 72

Zusammenfassung

Sowohl der ischämischer Schlaganfall als auch der akute Herzinfarkt zählen in Deutschland zu den häufigsten Todesursachen. Bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall konnte auch anhand der dieser Arbeit zugrunde liegenden prospektiven „Immunsuppression after stroke“ (ISAS)-Studie nachgewiesen werden, dass aufgrund einer Schlaganfall-induzierten Immunsuppression, die durch eine zumindest partielle funktionelle monozytäre Deaktivierung und eine Lymphopenie gekennzeichnet ist, ein erhöhtes Risiko für nosokomiale Infektionen besteht. Im Rahmen dieser Promotionsarbeit konnte zudem anhand eines standardisierten Immunmonitorings bei 20 Patienten mit akutem Herzinfarkt, 20 Patienten nach akuter Ischämie im Versorgungsgebiet der A. cerebri media und 20 alters- und geschlechtsgematchten gesunden Probranden gezeigt werden, dass eine signifikante Lymphozytopenie nur bei Schlaganfallpatienten innerhalb der ersten sechs Tage nach Symptombeginn zu beobachten war. Eine Leuko- und Monozytose war hingegen bei Herzinfarktpatienten in der Akutphase ausgeprägter nachweisbar, und insbesondere dann, wenn es sich in Bezug auf labor- und echokardiographischen Kriterien um einen vergleichsweise schweren Herzinfarkt handelte. Eine reduzierte monozytäre HLA-DR-Expression sowie eine verminderte lymphozytäre IFN-γ Sekretion war wenige Stunden nach einem Herzinfarkt bzw. nach zerebraler Ischämie nachweisbar. Im Vergleich zu Herzinfarktpatienten traten nosokomiale Infektionen bei Schlaganfallpatienten hingegen wesentlich häufiger auf, insbesondere, wenn ein ausgedehntes zerebrales Ischämieareal bzw. ein schweres neurologisches Defizit bei Aufnahme vorlag. Inwiefern die beobachtete partielle Varianz der Immunantwort nach akutem Herzinfarkt bzw. nach akuter zerebraler Ischämie die Unterschiede in der Prävalenz nosokomialer Infektionen in einem signifikantem Ausmaß bedingt, muss anhand großer multizentrischer Studien

verifiziert werden. Auch die Wertigkeit eines standardisierten Immunmonitorings in der Akutphase nach Herzinfarkt bzw. nach zerebraler Ischämie kann anhand der vorliegenden Ergebnisse der Pilotstudie nicht abschließend beurteilt werden. Die Ergebnisse der ISAS-Studie legen jedoch die Vermutung nahe, dass ein Immunmonitoring dazu beitragen könnte, Schlaganfallpatienten mit einem hohen Risiko für das Auftreten nosokomialer Infektionen frühzeitig zu identifizieren, was möglicherweise neuen therapeutischen Ansätzen zur Infektionsprophylaxe Vorschub leisten könnte.

Abstract

Acute ischemic stroke as well as acute myocardial infarction are leading causes of death in Germany. For patients with acute ischemic stroke we demonstrated within the prospective study „Immunsuppression after stroke“ (ISAS), which this thesis is based on, that a stroke-induced immunodepression with at least partial functional deactivation of monocytes and depression of lymphocyte counts increases the risk of nosocomial infections. In the context of this thesis, 20 patients with acute middle artery stroke and 20 patients with acute myocardial infarction were prospectively investigated based on a standardized immunmonitoring and were compared with 20 healthy controls matched in age and gender. A significant lymphopenia was only observed in patients with acute ischemic stroke within the first six days after onset of symptoms. A leukocytosis and monocytosis, however, was more pronounced in patients with acute myocardial infarction, especially if it was a comparatively severe myocardial infarction in terms of laboratory tests and echocardiographic criteria. A reduction of monocytic HLA-DR expression and a defective lymphocytic IFN-γ production was detectable within hours after ischemic stroke or myocardial infarction. Nosocomial infections were much more often detected in patients with ischemic stroke than in patients with acute myocardial infarction, especially in patients with large infarction or severe clinical deficit on admission. To which extent this disparity of the immune response after acute ischemic stroke or acute myocardial infarction determines the prevalence of nosocomial infections in a significant state has to be verified in large multicenter studies. A closing evaluation of the significance of a standardized immunmonitoring during the acute phase after myocardial infarction or ischemic stroke based on the results of this pilot study is not possible. However, the results of the ISAS-study led to the assumption that an immunmonitoring could support the identification of ischemic stroke patients at risk

for nosocomial infections, which might open the door to new therapeutic approaches to prevent infectious complications after stroke.

1. Einleitung

Die akute zerebrale Ischämie und der akute Herzinfarkt sind schwerwiegende Erkrankungen mit weltweit hoher Inzidenz und Prävalenz. Anhand von Registerstudien [1-3] ist allein für Deutschland eine jährliche Zahl von 196000 erstmaligen Schlaganfällen, 66000 Schlaganfallrezidiven und circa 63000 konsekutiven Todesfällen anzunehmen. In der „Todesursachenstatistik 2011“ des Bundesamtes für Statistik Wiesbaden wurde bei 4,8% aller Sterbefälle als Ursache ein Schlaganfall angegeben. Darüber hinaus sind Schlaganfälle die häufigste Ursache für dauerhafte Invalidität und Behinderung in westlichen Industrienationen, ein Umstand der erhebliche gesellschaftliche und ökonomische Bedeutung besitzt [4-5]. Im Jahr 2009 erlitten circa 240000 Bundesbürger einen akuten Herzinfarkt, woran etwa 52000 Menschen verstarben. Im gleichen Jahr wurden zudem circa 410000 Bundesbürger in Deutschland aufgrund eines akuten Koronarsyndroms (ACS) behandelt [6]. In der „Todesursachenstatistik 2011“ des Bundesamtes für Statistik Wiesbaden wurde bei 6,1% aller Fälle ein akuter Herzinfarkt angegeben [7]. Die Prävalenz der koronaren Herzerkrankung (KHK) liegt bei über 65-Jährigen in Deutschland derzeit bei etwa 23% [8].

1.1 Terminologie und Klassifikation des Schlaganfalls

Der Ausdruck „Schlaganfall“ wird als Sammelbegriff für neurologische Erkrankungen benutzt, bei denen es aufgrund einer Durchblutungsstörung zu einem plötzlichen Funktionsverlust von Teilen des Gehirnes kommt. Das klinische Bild ist mannigfaltig, typisch sind jedoch Symptome wie eine Lähmung einer Körperseite (Hemiparese), eine Sprachstörung (Aphasie) oder eine Sensibilitätsstörung. Die akute zerebrale Ischämie stellt mit 85% den Hauptteil aller Schlaganfälle dar [9]. Die übrigen 15% aller Schlaganfälle machen intrazerebrale und subarachnoidale Blutungen aus.

Anhand der TOAST-Klassifikation [10] werden ischämische Schlaganfälle gemäß ihrer wahrscheinlichen Genese in folgende Gruppen eingeteilt:

- Makroangiopathie (Arteriosklerose der großen hirnversorgenden Arterien)
- kardiale Embolie
- Mikroangiopathie (Verschluss kleiner Hirngefäße)
- andere Ätiologien (z.B. Gefäßdissektion, Gerinnungsstörung)
- unklare Ätiologie („kryptogener Schlaganfall“)

Eine Makroangiopathie wird bei circa 15% aller ischämischen Schlaganfälle, eine Mikroangiopathie bei circa 25%, eine kardioembolische Genese bei etwa 25-30% und eine sonstige definierte Ursache bei circa 5% angenommen. Bei circa 25-30% aller Schlaganfallursachen bleibt die Ursache kryptogen [11-12].

1.2 Pathophysiologie der akuten zerebralen Ischämie

Die Nervenzellen des Gehirns sind aufgrund ihres hohen Energieumsatzes in besonderem Maße abhängig von einer permanenten und ausreichenden Versorgung mit Sauerstoff und Glukose. Nervenzellen des Gehirns reagieren innerhalb von Sekunden auf eine gestörte Blutzirkulation. Durch die dann gestörte Produktion von ATP kommt es zum Erliegen der membranständigen Na^+/K^+-ATPase und zur Störung des Glutamat-Haushaltes. Konsekutiv tritt im sogenannten „Infarktkern“ ein irreversibler Zelluntergang ein. Im Randbereich desselben findet sich in der Frühphase ein als „Penumbra“ beschriebener Bereich mit gestörter Funktion aber noch erhaltener Zellstruktur. Bei dauerhaft fehlender Durchblutung weitet sich der Infarktkern auf die Penumbra aus [13]. Durch den Ischämie-assoziierten Zelluntergang wird eine lokale Entzündungsreaktion induziert, die von aktivierten Mikrogliazellen und den über die kompromittierte Blut-Hirnschranke eingewanderten Leukozyten unterhalten wird. Konsekutiv werden Zyto- und Chemokinen freigesetzt, welche die weitere

Immunantwort orchestrieren und zu einer weiteren Schädigung des betroffenen Hirnareals beitragen können [14].

1.3 Diagnostik und Therapie der akuten zerebralen Ischämie

Zur Abgrenzung einer zerebralen Ischämie von einer intrazerebralen oder subarachnoidalen Blutung ist eine zerebrale Bildgebung erforderlich. Hierfür eignet sich neben der kranialen Computertomographie (CT) die kraniale Magnetresonanztomographie (MRT), die zerebrale Ischämien bereits innerhalb der ersten Stunden nach Symptombeginn sicher nachweisen kann und als diagnostischer Goldstandard anzusehen ist [13].

Mit der Einführung der Lysetherapie durch die Gabe eines rekombinanten gewebsspezifischen Plasminogenaktivators (rt-PA) steht ein Medikament zur kausalen Therapie des ischämischen Schlaganfalles zur Verfügung, das auf eine Wiedereröffnung der thrombosierten Hirnarterie(n) abzielt. Aufgrund möglicher Blutungskomplikationen ist diese Therapieform jedoch auf die ersten Stunden nach Symptombeginn begrenzt, so dass derzeit nur 5-15% aller Schlaganfallpatienten eine Lysetherapie erhalten [15]. Weitere Kernpunkte der Akuttherapie sind eine Behandlung auf einer Stroke Unit, um eine optimierte Einstellung des Blutzuckers, der Körperkerntemperatur und des Blutdruckes realisieren zu können [16-20], was zu einer signifikanten Senkung der Schlaganfall-assoziierten Mortalität und Morbidität führt [21]. Neuroprotektive oder immunmodulatorische Substanzen haben bisher keinen Eingang in die Akuttherapie gefunden.

1.4 Immunologische Veränderungen nach akuter zerebraler Ischämie

Erste Untersuchungsergebnisse zu diesem Thema wurden beim Menschen bereits Ende der siebziger Jahre veröffentlicht und konnten eine zell-vermittelte Immunreaktion mit einem Abfall der peripheren Lymphozytenzahlen sowie einer reduzierten T-Zell-Antwort nach Stimulation zeigen [22]. Im Mausmodell fand sich nach induzierter fokaler zerebraler Ischämie [23] eine akut einsetzende und über Tage anhaltende Immunsuppression, die vornehmlich durch eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems und der Hypophysen-Hypothalamus-Nebenierenachse bedingt wurde. Charakteristika der zu beobachtenden Immunsuppression waren eine funktionelle Deaktivierung von Monozyten, eine Lymphopenie und eine Verschiebung des von T-Zellen freigesetzten Zytokinspektrums hin zu einer durch T-Helferzellen Typ 2 (T_H2)-Zellen vermittelten Immunantwort. Konsekutiv wurde ein vermehrtes Auftreten von bakteriellen Infektionen beobachtet, welche durch eine Gabe von Moxifloxacin signifikant reduziert werden konnte [24]. Ähnliche Immunveränderungen wurden zuvor auch nach akuten traumatischen Verletzungen des zentralen Nervensystems bzw. nach neurochirurgischen Eingriffen beobachtet [25-26]. Diese als Central Nervoues System injury-induced deficiency syndrome (CIDS) bezeichnete Immundefizienz betraf sowohl die angeborene als auch die erworbene Immunantwort [27].

Während der Datenerhebung dieser Arbeit wurden einzelne, zumeist kleine prospektive Studien zu immunologischen Veränderungen nach akuter zerebraler Ischämie beim Menschen veröffentlich [28]. So wurde durch Chamorro et al. 2006 und 2007 ein Abfall der Monozyten im Blut und eine erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems nach zerebraler Ischämie publiziert [29-30]. Nach online-Veröffentlichung unserer ersten Ergebnisse im Jahr 2007 [31] wurden diese von anderen Arbeitsgruppen bestätigt [27, 32]. In den letzten Jahren konnte in weiteren klinischen Untersuchungen [33-35] und tierexperimentellen Studien [36-38] die Charakterisierung der

Immunsuppression nach akuter zerebraler Ischämie noch weiter vertieft werden [27, 39].

1.5 Bakterielle Infektionen nach akuter zerebraler Ischämie

Einen großen Anteil an der Schlaganfall-assoziierten Mortalität haben Komplikationen im Verlauf der Erkrankung. Wird die Akutphase des Schlaganfalles überlebt, stellen Infektionen die Hauptursache für Tod oder eine verzögerte Rekonvaleszenz dar [33, 39-42]. In zumeist retrospektiven Studien wurde das Auftreten von Pneumonien (5-22%) oder Harnwegsinfektionen (3-24%) bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall vergleichsweise häufig beobachtet, wobei die Varianz der berichteten Prävalenzen auf die unterschiedlichen Definitionen einer Infektion und die Heterogenität des Krankheitsbildes zurückzuführen sind [33, 39-40, 42-46].

Als mögliche Ursachen der erhöhten Infektanfälligkeit bei Schlaganfallpatienten werden die Schlaganfall-bedingte Immobilisation mit häufigem Einsatz von Blasendauerkathetern oder die selten notwendige invasive Beatmung und eine konsekutive Schluckstörung mit konsekutiver Aspiration diskutiert [47]. Für eine erhöhte Infektanfälligkeit spricht jedoch die Tatsache, dass eine wiederholte Aspiration auch bei einem Grossteil der gesunden Erwachsenen im Schlaf nachgewiesen werden kann [48-49], ohne dass eine Pneumonie auftritt bzw. dass eine erhöhte Pneumonie-Prävalenz auch bei Schlaganfallpatienten ohne bleibendes fokal-neurologisches Defizit nachgewiesen werden konnte [50]. Zudem erscheint eine Korrelation des Infektionsrisikos mit der Ausdehnung der zerebralen Ischämie möglich [47].

Drei kontrollierte randomisierte und prospektive Studien haben anhand einer präventiven Antibiotikatherapie versucht, das Infektionsrisiko bei Patienten mit akutem ischämischem Schlaganfall zu senken, um somit die Prognose dieser Patienten zu verbessern. Während eine aufgrund der geringen Tagesdosis des eingesetzten

Antibiotikums methodisch umstrittene Studie diesbezüglich keinen Nutzen zeigte [51], konnte in zwei dieser Studien eine Senkung der Schlaganfall-assoziierten Infektionsrate in der Verumgruppe gezeigt werden [33, 52], ohne dass daraus eine Verbesserung des neurologischen Outcome resultierte.

1.6 Terminologie und Klassifikation des akuten Herzinfarktes

Der akute Herzinfarkt ist eine Manifestation des akuten Koronarsyndroms und wird nach den aktuellen Leitlinien anhand des EKGs in ST-Strecken-Hebungsinfarkte (STEMI) und Nicht-ST-Strecken-Hebungsinfarkte (NSTEMI) unterteilt [53]. Weiterhin ist eine ergänzende Beschreibung anhand des betroffenen Versorgungsgebietes der verschlossenen Herzkranzarterie möglich. Die Lokalisation wird üblicherweise mit Vorder-, Hinter, oder Seitenwandinfarkt beschrieben. Das akute Koronarsyndrom ist durch infarkttypische Brustschmerzen gekennzeichnet, die länger als 20 Minuten andauern. Anhand des klinischen und paraklinischen Verlaufes kann die Diagnose anhand des in Abbildung 1 gezeigten Algorithmus gestellt werden.

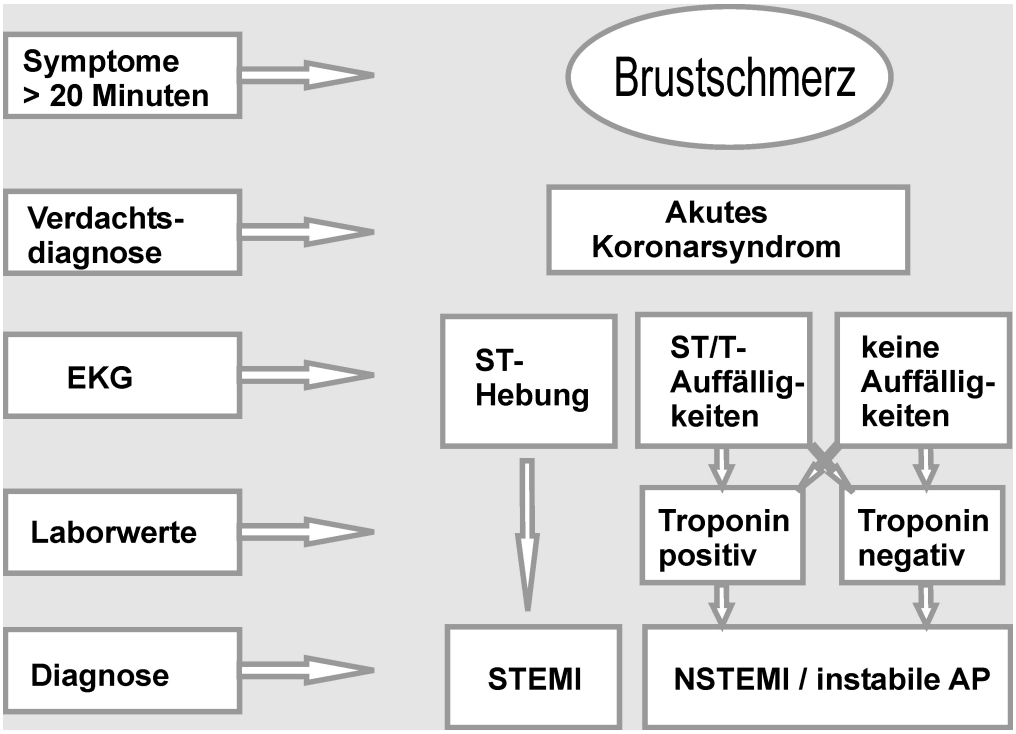

Abb. 1 Diagnosealgorithmus des akuten Koronarsyndroms [53]

1.7 Pathophysiologie des akuten Herzinfarktes

Zu Grunde liegt eine Durchblutungsstörung der Herzkranzgefäße, meist auf dem Boden einer koronaren Herzerkrankung in Folge einer Arteriosklerose. Ross et al. beschrieb bereits 1976 die grundlegende Pathogenese der Arteriosklerose als eine Proliferation der Intima aufgrund von Endothelverletzungen mit nachfolgender Ablagerung von Lipiddebris als Ursache der Plaquebildung [54]. In den letzten zwei Jahrzehnten hat sich das Modell der Arteriosklerose weiter zu einem komplexen lokalen und systemischen inflammatorischen Geschehen entwickelt, in dessen Mittelpunkt die Plaqueentwicklung und Gefäßwandproliferation stehen [55-56]. Begünstigt durch eine arterielle Hypertonie, Nikotinkonsum und eine diabetogene Stoffwechsellage kommt es zu einer endothelialen Dysfunktion, Ablagerungen von Lipoproteinen in der Gefäßwand und zur Migration von Makrophagen und Lymphozyten in die Intima. Dieser chronisch-

inflammatorische Prozess führt schließlich zur Bildung eines instabilen koronaren Plaque [57].

Durch Ruptur der Plaqueoberfläche mit nachfolgender lokaler Thrombusbildung, kann insbesondere im Bereich einer vorbestehenden Stenose ein akuter Verschluss eines Herzkranzgefäßes auftreten. Bei fehlender Kollateralisierung kommt es zur kardialen Gewebshypoxie. Ähnlich den Nervenzellen reagieren kardiale Myozyten sehr sensibel auf eine gestörte Sauerstoffversorgung und werden bei ausbleibender Revaskularisierung nekrotisch, was wiederum eine inflammatorische Reaktion hervorruft [58].

1.8 Diagnostik und Therapie des akuten Herzinfarktes

Beim akuten Koronarsyndrom (ACS) ist der Übergang zwischen STEMI, NSTEMI und instabiler Angina pectoris fließend (Abb. 1). In der akuten Phase des akuten Herzinfarktes basiert die apparative Diagnostik in der Regel aus EKG, der Bestimmung herzspezifischer Laborparameter und der Echokardiographie [59]. Folgende Laborparameter sind in diesem Kontext besonders relevant [60]:

Kreatininkinase (CK): ist als Enzym des ATP-Stoffwechsels ubiquitär in Muskelzellen und Nervenzellen des ZNS vorhanden. Es sind vier CK-Isoenzyme beschrieben, wobei für die kardiale Diagnostik das Verhältnis von CK-MM (Skelettmuskel) zu CK-MB (Herzmuskel) relevant ist. Als Zeichen einer myokardialen Schädigung gilt ein erhöhter CK-Gesamt-Spiegel mit einem Anteil der CK-MB >6%. Eine Freisetzung ist zwei bis sechs Stunden nach Beginn des ACS messbar.

Troponin: ist aktuell der Goldstandard zum Nachweis einer myokardialen Schädigung. Aufgrund der Spezifität zum Herzmuskel ist eine Serumkonzentration oberhalb der 99. Perzentile einer gesunden Vergleichspopulation mit einer Myokardnekrose gleichzusetzen [61-62]. Ein Troponin-Anstieg im Blut ist drei Stunden, die maximale

Konzentration 12-36 Stunden und eine Normalisierung in der Regel 10-14 Tage nach einem akuten Herzinfarkt nachweisbar.

Als diagnostischer Goldstandard eines Herzinfarktes und als Mittel der Wahl zur Initiierung einer koronaren Revaskularisierung gilt die Koronarangiographie mit perkutaner Koronarintervention. Bei hauptstammnahen Stenosen kommt die primäre kardiochirurgische Revaskularisierung in Betracht. In der Akutphase stellt eine Lysetherapie mittels Fibrinolytika eine weitere Therapieoption dar, die nachweislich die Mortalität senkt [63]. Aufgrund von Kontraindikationen wie Kreislaufinstabilität, erhöhtem Blutungsrisiko oder schwerwiegenden Begleiterkrankungen ist ein Teil der Patienten den vorgenannten Therapien nicht zugänglich, hier verbleibt in der Regel eine konservative Therapie [64].

1.9 Immunologische Veränderungen nach akutem Herzinfarkt

Im Zuge eines akuten Herzinfarktes werden Monozyten, T-Lymphozyten, Thrombozyten und Fibroblasten aktiviert, nekrotisches Material phagozytiert und eine Narbenbildung initiiert. Eine proinflammatorische Reaktion mit Anstieg von Akute-Phase-Proteinen und einer Leukozytose wurde, wie bei Patienten mit akuter zerebraler Ischämie [65-66], nach Beginn der dieser Arbeit zugrunde liegenden Datenerhebung durch Brunetti et al. 2006 bei Patienten mit ACS beschrieben [67-68]. Das Ausmaß der Leukozytose korrelierte dabei mit der Größe des Myokardschadens und wurde als Prädiktor der Mortalität nach kardiovaskulären Erkrankungen diskutiert [69-70]. Eine Neutrophilie oder eine hohe Ratio von neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten korrelierten in mehreren klinischen Studien bei Patienten mit akutem Herzinfarkt mit einer erhöhten Mortalität [71-72]. Die Höhe einer nach einem Myokardinfarkt nachweisbaren Monozytose korrelierte 2006 in einer prospektiven, klinischen Studie von Mariani et al. gegenläufig mit myokardialer Reperfusion und Erholung der systolischen Pumpfunktion

[73]. Die zirkulierenden Monozyten bei Patienten mit ACS zeigten in einer Studie aus dem Jahr 2007 von Del Fresno et al. eine erhöhte mRNA-Synthese für TNF-α, IL-6 und IL-10 aber eine reduzierte Ausschüttung von TNF-α und IL-6 nach LPS-Stimulation ex vivo [74].

Valide Daten zur Veränderung der Immunitätslage nach kardialer Ischämie, analog zur vorbeschriebenen Immunantwort nach zerebraler Ischämie, lagen zu Beginn der Datenerhebung dieser Arbeit nicht vor.

1.10 Immunparameter

Das humane Immunsystem umfasst zum einen das sogenannte „angeborene" Immunsystem, welches die zellvermittelte Phagozytose durch organspezifische Makrophagen und im Blut zirkulierende Monozyten vermittelt. Zum anderen gibt es das „adaptive" Immunsystem, das eine Antigen-spezifische Vermehrung von T-Lymphozyten und eine spezifische Antikörper-Produktion durch B-Lymphozyten umfasst. Nachfolgend sind die für diese Arbeit wesentlichen Parameter des Immunsystems beschrieben:

Lymphozyten machen beim Erwachsenen etwa 25-40% der Leukozyten im peripheren Blut aus und setzen sich aus den folgenden Subpopulationen zusammen:

T-Zell-Lymphozyten: Eine Differenzierung der Lymphozyten erfolgt anhand der Cluster of Differentiation (CD) Glykoproteine der Zelloberfläche. T-Zell-Lymphozyten präsentieren CD3, dessen zentraler Bestandteil der T-Zell-Rezeptor (TCR) ist. T-Zellen erkennen Antigene über die Präsentation im Major histocompatibility complex (MHC) und werden in CD8 positive (CD8+) zytotoxische T-Zellen und CD4 positive T-Helferzellen unterschieden. Zytotoxische T-Zellen identifizieren über den MHC-Klasse-I Fremdantigen-präsentierende Zellen und induzieren deren Apoptose.

T-Helferzellen (T_H) sind entsprechend ihres Zytokin-Profils in T_H1 {Freisetzungen von Interleukin (IL)-2, IL-12 und Interferon (IFN)- γ}, T_H2 {Freisetzungen von IL-4, IL-5 und IL-10} und T_H0 {Freisetzung eines unspezifischen Zytokin-Musters vor Ausdifferenzierung in T_H1 oder T_H2} zu differenzieren. T_H1-Zellen vermitteln in der zellulären Immunantwort und tragen zur direkten Abwehr pathogener Keime bei. Die Population der T_H2-Helferzellen steuert durch die Freisetzung von Zytokinen die B-Zell-vermittelte humorale Immunantwort sowie die Aktivität von Eosinophilen und Mastzellen.

Beschrieben sind weitere Subgruppen der T-Zellen, z.B. regulatorische T-Zellen (T_{REG}). Hierzu gehören unter anderem CD4+CD25+T_{REG}-Zellen, die nach Aktivierung die Zytokine IL-4, IL-10 und TGF-β sezernieren und eine regulatorische Funktion bei der Prozessierung von körpereigenen Antigenen ausüben [75].

Major histocompatibility complex (MHC)-Proteine sind Zelloberflächenkomplexe, die Protein-Fragmente präsentieren und beim Menschen auch als HLA (Human Leucocyte Antigen, HLA-A, HLA-B und HLA-C) bezeichnet werden. MHC Klasse-I-Moleküle werden auf nahezu allen kernhaltigen Zellen exprimiert. Der Rezeptor präsentiert im Zytosol prozessierte, aus 8-10 Aminosäuren bestehende Peptide an CD8+T-Lymphozyten. Dieser Mechanismus dient u. a. zur Identifizierung von viral veränderten körpereignen Zellen. MHC Klasse-II-Moleküle (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP) werden von sogenannten Antigen Präsentierenden Zellen (APCs) ausgebildet und dienen zur Präsentation von extrazellulären Antigenen an CD4+Zellen. Bei MHC Klasse-III-Molekülen handelt es sich um eine heterogene Gruppe aus löslichen Stressproteinen, Komplementfaktoren und Tumornekrosefaktoren. Als signifikanter Marker für die Prognose von Patienten, an einer bakteriellen oder mykotischen Infektion zu erkranken, gilt die Dichte der HLA-DR-Expression auf Monozyten [76]. Die Expressionsdichte korreliert mit der Fähigkeit von Monozyten, nach Stimulation mit der Freisetzung von

proinflammatorischen Zytokinen zu reagieren. So wird die Expressionsdichte des HLA-DR als Marker der Immunkompetenz bei Sepsispatienten oder nach Organtransplantation genutzt, wobei eine andauernde Reduktion als Immunsuppression interpretiert wird. Eine verminderte monozytäre HLA-DR-Expression auf weniger als 5000 Antigene pro Monozyt wird als „Immunparalyse“ bezeichnet [77]. Auch bei Patienten nach einem Polytrauma, mit schweren Verbrennungen und nach neurochirurgischen Eingriffen [78] konnte gezeigt werden, dass eine verminderte HLA-DR Expression mit einem erhöhten Infektionsrisiko einhergeht.

Zytokine sind eine Gruppe von Signaltransmittern in Form löslicher Polypeptide und Glykoproteine. Sie steuern die Aktivität und Differenzierung von Zellen des hämapoetischen und lymphatischen Systems [79]. Entsprechend ihrer Funktion und Wirkungs- bzw. Syntheseort erfolgt eine Einteilung in Chemokine, Interleukine (IL), Interferone, Wachstumsfaktoren und Tumornekrosefaktoren.

Interleukine wirken als Mediatoren und sind unter anderem an der Aktivierung und Differenzierung von Lymphozyten beteiligt. So wird durch IL-12 eine Differenzierung von T_H1-Zellen [80] und durch IL-4 eine T_H2-Differenzierung [81-82] induziert.

Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α) ist ein multifunktionales proinflammatorisches Zytokin [83], das zu der sogenannten Superfamilie der Tumornekrosefaktoren/Tumornekrosefaktor-Rezeptoren gehört. Es spielt bei der Induktion und Steuerung von lokalen und systemischen Prozessen des unspezifischen Immunsystems eine zentrale Rolle. So wird durch TNF-α unter anderem die zytotoxische- und sekretorische Aktivität sowie die Antigenpräsentation von monozytären Zellen gesteigert [84].

Interferon-gamma (IFN-γ) steigert über verschiedene Funktionswege die Antigenpräsentation durch MHC-I (für eine Aktivierung von CD8+T-Zellen) als auch über MHC-II auf APCs. Es wird durch T_H1-Helferzellen, NK-Zellen, B-Zellen und APCs

ausgeschüttet und fördert über eine Autostimulation unter anderem die lokale unspezifische Immunantwort und die Differenzierung von T_H1-Zellen [85].

1.11 Aufgabenstellung

Der akute Herzinfarkt und die akute zerebrale Ischämie haben trotz verfügbarer Präventionsmaßnahmen weiterhin eine weltweit hohe Prävalenz und stellen im klinischen Alltag eine große therapeutische Herausforderung dar. Bei beiden Krankheitsbildern spielen inflammatorische Prozesse pathophysiologisch eine wichtige Rolle, was in Grundzügen bereits zu Beginn der Datenerhebung dieser Promotionsarbeit bekannt war. Eine systematische Analyse der immunologischen Veränderungen im Zuge eines akuten Koronarsyndroms bzw. einer akuten zerebralen Ischämie existierte jedoch zu diesem Zeitpunkt noch nicht.

Ziel der dieser Arbeit zugrundeliegenden prospektiven Pilotstudie „Immunsuppression after stroke“ (ISAS) war es daher, die Immunantwort von Patienten mit akuter zerebraler Ischämie bzw. akutem Herzinfarkt anhand eines einheitlichen Studienprotokolls innerhalb der ersten sechs Tage nach Symptombeginn seriell zu erfassen und miteinander zu vergleichen. Die beobachtende Immunantwort sollte mit der Immunparametern einer Gruppe alters- und geschlechtsgleicher gesunder Probanden verglichen werden. Zudem sollte analysiert werden, inwiefern die Immunantwort nach zerebraler Ischämie Rückschlüsse auf die bei Schlaganfallpatienten bekanntermaßen hohe Rate nosokomialer Infektionen geben kann und ob die Ausdehnung der zerebralen bzw. kardialen Ischämie in der Akutphase einen relevanten Einfluss auf die Immunantwort besitzt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sollten zu einem besseren pathophysiologischen Verständnis des akuten ischämischen Schlaganfalls bzw. der akuten Myokardischämie beitragen, um somit möglicherweise der Etablierung neuer Therapiekonzepte Vorschub leisten zu können.

2. Methoden

2.1 Studienpopulation und Studienkriterien

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Daten wurden im Zuge der prospektiven Studie „Immunsuppression after stroke“ (ISAS) an der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Charité Berlin erhoben. Im März 2002 wurde der Studienantrag von der Ethikkommission der Charité genehmigt. Zwischen April 2002 und September 2003 wurden 52 Patienten mit akuter zerebraler Ischämie, 20 Patienten mit akutem Herzinfarkt und 30 gesunde Probanden nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung in die ISAS-Studie eingeschlossen. Die Ein- und Ausschlusskriterien der ISAS-Studie sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Speicherung personenbezogener Daten erfolgte pseudonymisiert. Die Schlaganfallpatienten wurden entweder auf der Stroke Unit der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Charité am Campus Virchow Klinikum oder am Campus Mitte behandelt. Die Patienten mit akutem Herzinfarkt wurden in der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie und Angiologie der Charité am Campus Mitte stationär behandelt. Die Behandlung erfolgte gemäss der zu diesem Zeitpunkt geltenden Leitlinien [86-89].

Von den 52 eingeschlossenen Schlaganfallpatienten wurden 12 Patienten von der Datenanalyse ausgeschlossen. Bei vier Patienten war retrospektiv eine TIA zu konstatieren, fünf Patienten entwickelten bereits vor dem dritten stationären Tag eine Infektion und bei drei Patienten lag eine unvollständige Datenerhebung aufgrund einer vorzeitigen stationären Entlassung vor.

Um eine bessere Vergleichbarkeit der Daten zu ermöglichen, wurden von den verbleibenden 40 Patienten mit akutem Schlaganfall für die vorliegende Arbeit 20 Patienten mit einem mittels MRT gesicherten ischämischem Infarkt im Versorgungsgebiet der Arteria cerebri media ausgewählt, die gemäß Alter und Geschlecht den 20 Patienten mit akutem Herzinfarkt in etwa entsprachen.

Aus der Kohorte der gesunden Probanden der ISAS-Studie wurden 20 gemäß Alter und Geschlecht annähernd übereinstimmende Personen als Kontrollgruppe ausgewählt [90].

Tabelle 1. Ein- und Ausschlusskriterien der ISAS-Studie.

Allgemein	Einschluss	- Alter >18 Jahre - Schriftlich dokumentierte Einwilligung durch die Patientin / den Patienten - Vollständige Basisvisite innerhalb von 24 Stunden nach Symptombeginn möglich
	Ausschluss	- Koinzidenz Schlaganfall und akuter Herzinfarkt - Tumorleiden, immunsuppressive Therapie - Autoimmunerkrankung - Akute oder chronische Infektion bei Aufnahme: Körpertemperatur > 38,5° Celsius; C-reaktives-Protein (CRP) > 5 mg/dl - Abhängigkeit von Drogen oder Alkohol - Operation innerhalb der letzten 180 Tage
Akuter Schlaganfall	Einschluss	- Mittels MRT gesicherter ischämischer Schlaganfall
	Ausschluss	- Intrazerebrale Blutung, ischämischer Schlaganfall oder TIA innerhalb der letzten 180 Tage - globale Aphasie
Akuter Myokard-infarkt	Einschluss	- STEMI oder NSTEMI
	Ausschluss	- Herzinfarkt in den letzten 6 Monaten - Instabile Herz-Kreislaufsituation

2.2 Studienprotokoll

Das Studienprotokoll sah für Patienten mit akuter zerebraler Ischämie bzw. akutem Herzinfarkt drei Zeitpunkte der Datenerhebung vor:

- Messzeitpunkt 1: unmittelbar nach stationärer Aufnahme und <24 Stunden nach Symptombeginn (Tag 1)
- Messzeitpunkt 2: am zweiten stationären Tag und somit zwischen 24 und 48 Stunden nach Symptombeginn (Tag 2)
- Messzeitpunkt 3: am sechsten Tag des stationären Aufenthaltes oder ggf. poststationär; zwischen 120 und 144 Stunden nach Symptombeginn (Tag 6)

Die Patienten mit Schlaganfall oder Herzinfarkt erhielten zu jedem Messzeitpunkt eine neurologische und internistische Untersuchung, eine Messung der Körperkerntemperatur, eine zerebrale MRT (nur Schlaganfallpatienten) bzw. ein EKG (nur Herzinfarktpatienten) sowie eine venöse Blutentnahme mit Bestimmung von CRP, Procalcitonin, Kortisol, Differentialblutbild und verschiedenen Zytokinen. Der Schweregrad des Schlaganfalles wurde anhand der „National Institute of Health Stroke Scale“ (NIHSS) erfasst (siehe Anhang) [91]. Mit Hilfe dieser Skala können die Bewusstseinslage, Sprache, Hirnnervenfunktion, der Paresegrad, das Ausmaß einer Sensibilitätsstörung und orientierend höhere kortikale Funktionen bewertet werden. Eine Dysphagie wurde bei Schlaganfallpatienten anhand klinischer Kriterien und anhand einer standardisierten Schluckdiagnostik festgestellt [92].

Alle Herzinfarktpatienten wurden innerhalb von 24 Stunden nach Symptombeginn koronarangiographiert. Eine Infektion, die frühestens drei Tage nach Symptombeginn auftrat, wurde als eine nosokomiale Infektion gewertet [93]. Ein Harnwegsinfekt erforderte einen positiven Erregernachweis in der Urinkultur bei Leukozyturie und Dysurie. Eine Bronchitis wurde durch Fieber, einen entsprechenden pulmonalen Auskultationsbefund oder eitriges Sputum definiert. Ein zusätzlicher radiologischer

Nachweis pneumonischer Infiltrate per CT-Thorax oder konventionellem Röntgenbild zog die Diagnose einer Pneumonie nach sich. Bei bronchopulmonalen Infekten war ein Erregernachweis nicht obligat. Die Therapie der Infektion mit oder ohne Antibiotikagabe erfolgte nach alleinigem Ermessen durch den primär behandelnden Arzt, der nicht an der ISAS-Studie beteiligt war.

2.3 Einteilung von Subgruppen gemäß Schweregrad

Wir unterschieden Schlaganfallpatienten mit einem größeren Infarktareal (definiert als Diffusion weighted imaging (DWI) oder Perfusion weighted imaging (PWI) > 20 cm^3 im zerebralen MRT unmittelbar nach stationärer Aufnahme) und einem kleineren Infarktareal (definiert als DWI oder PWI ≤ 20 cm^3 unmittelbar nach stationärer Aufnahme). Gemäß dieser Einteilung wurden Schlaganfallpatienten mit einem größeren Infarktvolumen als SPV+ bzw. Schlaganfallpatienten mit einem kleineren Infarktvolumen als SPV- bezeichnet. Eine Einteilung nach klinischem Schweregrad gemäß NIHSS spiegelt hingegen nicht das Infarktvolumen wieder und könnte so zu einem Bias führen, da zerebrale Ischämien die die dominante Hemisphäre betreffen zu höheren NIHSS-Werten führen [94].

In der Gruppe der Herzinfarktpatienten konnte die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) nicht als alleiniges Maß des Schweregrades herangezogen werden, da die LVEF vor Auftreten des Herzinfarktes nicht bekannt war. Eine Abschätzung der Größe des vom Infarkt betroffenen Myokards wurde daher anhand des indirekten Nachweises des Zelluntergangs mittels herzspezifischer Enzyme durchgeführt. Herzinfarktpatienten mit einer während des stationären Aufenthaltes 10-fach oberhalb des Normbereiches (150 U/l) liegenden maximalen Erhöhung der Kreatininkinase (CK) wurden als schweres Ereignis mit hohem Verlust von Herzmuskelgewebe gewertet und wurden in der weiteren Darstellung als Herzinfarktpatienten mit schwerem Ereignis

(HPs) bezeichnet. Herzinfarktpatienten mit einer maximalen Kreatininkinase-Erhöhung unterhalb von 1500 U/l wurden als Herzinfarktpatienten mit nicht-schwerem Ereignis (HPn) bezeichnet

2.4 Immunologische Diagnostik

Die laborchemischen Untersuchungen wurden am Institut für Medizinische Immunologie der Charité (Direktor: Prof. H.-D. Volk) am Campus Mitte durchgeführt.

In-vivo Bestimmung von TNF-α, IL-6, IL10, Kortisol und Procalcitonin

Die Bestimmung von TNF-α, IL-6, IL-10, Kortisol und Procalcitonin erfolgte aus Blutplasma, das nach Entnahme aus heparinisierten Vollblut mit 200g bei 4°C zentrifugiert und bei –70°C zwischengelagert wurde. Zur Quantifizierung wurde ein hochstandardisierter, halbautomatischer Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA), der Immulite®-Chemilumineszenz-Immunoassay (Biermann GmbH Bad Nauheim, BRD) eingesetzt. Die Anwendung erfolgte gemäss Herstellerangaben. Grundprinzip dieses Nachweisverfahrens ist ein Sandwich-ELISA mit Coating- und Detektionsantikörper. Im ersten Schritt wurde das zu messende Substrat mittels spezifischen (Coating-)Antikörper aus dem hinzugegebenen Plasma an einer Polystyroloberfläche fixiert. Mit Zugabe des Detektionsantiköpers, der an ein anderes Epitop des Substrates bindet, entsteht das sogenannte „Sandwich“. Durch mehrfache Waschvorgänge werden ungebundene Reagenzien entfernt. Der Detektionsantiköper ist mit alkalischer Phosphatase konjungiert, die eine hinzugegebene luminogene Substanz aktiviert, die bei ihrem Zerfall Photonen aussendet. Anhand der Quantifizierung der emittierten Photonen mittels eines Verstärkers ließ sich die Konzentration des Substrates errechnen.

Für die verwendeten Assays galten gemäß Hersteller folgende untere Nachweisgrenzen.

Interleukin 6: 2,0 pg/ml

Interleukin 10: 5,0 pg/ml

TNF-α: 4,0 pg/ml

Kortisol : 5,5 pg/ml

Die Bestimmung des Procalcitonin wurde unter Verwendung eines immunochromatographischen Verfahrens (Fa. Brahms, Henningsdorf, BRD) entsprechend den Spezifikationen des Herstellers durchgeführt.

Ex-vivo Messung der monozytären TNF-α Sekretion

Mit Hilfe dieses Assays wurde die TNF-α Sekretion durch Monozyten nach Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS; Zellwandbestandteile des gramnegativen Bakteriums Escherichia coli vom Serotyps 0127:B8 (Fa. Sigma-Aldrich, Heidelberg, BRD) gemessen. LPS bindet über das akute Phase Protein LPS-binding-Protein (LBP) an den CD14-Rezeptor von Monozyten und kann so die TNF-α Ausschüttung induzieren [95].

Für die vorliegende Arbeit wurden 50 µl Vollblut im Verhältnis 1:10 mit einem Zellmedium aus RPMI 1640 (Biochrome, Berlin, BRD) [96] und 500 pg/ml LPS für 4 Stunden bei 37°C und 5% CO_2 inkubiert. Anschließend erfolgte die Zentrifugation bei 200 g für 5 Minuten und eine Zwischenlagerung der gewonnenen Überstände bei –70°C. Die quantitative Analyse wurde mit dem Immulite®-Chemilumineszenz-Immunoassay durchgeführt, wie oben beschrieben.

Durchflusszytometrische Bestimmung der HLA-DR-Expression

Die Messung der HLA-DR-Expression auf Monozyten erfolgte mittels Fluoreszenz-Durchflusszytometrie. Das Prinzip beruht auf der Messung des Streulichtes (engl. „scatter“), das von einzelnen an einem Laserstrahl vorbeigeführten Zellen ausgeht. Zellarten haben ein charakteristisches Streulicht-Muster, über das die Identifikation erfolgt. Die Registrierung des Streulichtes erfolgt durch zwei Detektoren (Photomultiplier), die annähernd im rechten Winkel zueinander stehen. Der in Achse zum Laser stehende sogenannte forward-scatter dient zur Messung des Zellvolumens, wobei eine Zunahme des Volumens zu einer vermehrten Streuung führt. Ein Side Scatter steht im rechten Winkel zum Laserstrahl und registriert das seitlich emittierte Streulicht, welches hauptsächlich zur Interpretation der Granularität der Zelle genutzt wird. Mit dieser Messung ist es bereits möglich, die einzelnen leukozytären Zellen (Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten) zu unterscheiden. Zusätzlich können Oberflächenantigene der Zellen mit fluoreszierenden Antikörpern markiert werden, um eine Quantifizierung zu ermöglichen. Durch den Laserstrahl werden die Fluoreszenzmoleküle zur Emission eines spezifischen Wellenlängenspektrums angeregt. Zur Detektion des emittierten Lichts stehen im verwendeten FACS-Calibur®-Durchflusszytometer vier weitere Detektoren, sogenannte Photomultiplier-Tubes, zur Verfügung. Die Wellenlängenspektren der einzelnen Fluoreszenzmoleküle können sich in den Anfangs- und Endbereichen überlagern, sodass eine Registrierung eines einzelnen Moleküls bzw. einer einzelnen Zelle durch mehr als einen Detektor auftreten kann. Die elektronische Korrektur dieses Phänomens wird als Kompensation bezeichnet. Für die Quantifizierung von Oberflächenmolekülen wurden Standardkurven genutzt, die durch die Messung von synthetischen Partikeln mit einer fest definierten Anzahl von Fluoreszenzmolekülen (sog. Beads) erstellt wurden.

EDTA-Blut wurde nach Entnahme auf Eis gelagert. 50 µl Vollblut wurden mit 20 µl Anti-HLA-DR-Antikörper (Phycoerythrin „PE“, Emissionsmaximum bei 580 nm) und Anti-CD14-Antikörper (Peridin-Chlorophyll „PerCP“, Emissionsmaximum bei 670 nm) versetzt (beide QuantiBRITE®; Fa. Becton Dickinson, Heidelberg, BRD). Danach wurde die Probe bei Raumtemperatur dunkel für 30 Minuten gelagert. Nach Zentrifugation für 5 Minuten bei 200 g und Entfernung des Überstandes wurden die Erythrozyten durch Zugabe der Facs®-Lysing-Solution lysiert. Nach erneuter Zentrifugation mit nachfolgender Überstand-Entfernung erfolgte eine abschließende Waschung der verbleibenden Zellen mit 1 ml FACS-Pufferlösung. Die Messung der Probenansätze erfolgte an einem FACS-Calibur®-Durchflusszytometer mit einem Argon-Laser mit einer Wellenlänge von 488 nm unter Verwendung der CellQuest®-Software. Eine Kalibrierung wurde mit der Software FACSComp® und messtechnisch mit dem „CaliBRITE®-Beads-Kit“ durchgeführt. Die 1:1-Quantifizierung erfolgte mittels des „QuantiBRITE®-PE-Kit“. Mit der Software QuantiCALC® wurde jede Probe ausgewertet und die durchschnittliche Anzahl gebundener Antikörper pro Zelle angegeben (alle Geräte, Software, Substrate: BD Biosciences, San Jose, USA).

Ex-vivo-Messung der Zytokin-Sekretion mittels Cytometric Bead Array

Mit dem Cytometric Bead Array (CBA; Fa. Becton Dickinson, Heidelberg, BRD) können bis zu sechs unterschiedliche Substrate in einer Probe simultan quantitativ bestimmt werden. Das zu Grunde liegende Prinzip ist die Kombination eines Sandwich-ELISA mit einer nachfolgenden Durchflusszytometrie. Für jedes zu messende Substrat gibt es eine spezielle „Beadpopulation“: eine Polymerkugel mit gekoppeltem fluoreszierenden Capture-Antikörper gegen das zu messende Substrat. Anhand der Fluoreszenzintensität nach Anregung per Laser und der Beadgröße können die

einzelnen Substrate qualifiziert werden. Die Quantifizierung erfolgt mit Hilfe eines Phycoerythrin(PE)-gekoppelten Coating-Antikörpers. Die Fluoreszenzaktivität des Coating-Antikörpers ermöglicht unter Verwendung von standardisierten Vergleichslösungen die Konzentrationsbestimmung des Substrates. Nach Herstellung des Sandwiches werden die Lösungen im Durchflusszytometer gemessen. Dieses Verfahren wurde zur Quantifizierung der Sekretion von IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-4, IL-5 und IL-10 durch T-Zellen nach Stimulation mit dem Lektin Concavalin A (Canavalia ensiformis der Schwertbohne, ConA; Sigma-Aldrich, Heidelberg, BRD) eingesetzt.

200 µl Vollblut wurden mit 700 µl RPMI 1640 (Biochrome, Berlin, BRD) und 100 µl einer Lösung aus 100 mg/ml ConA für 24 Stunden bei 37°C und 5% CO_2 inkubiert. Die Überstände wurden nach Zentrifugation (200 g, 10 Minuten) bei –70°C gelagert. Zur Herstellung des Sandwich-ELISA wurde das „Human T_H1/T_H2 Cytokine Kit" mit sechs Beadpopulationen für die oben genannten Zytokine (BD Pharmingen, San Jose, USA) verwendet. Als Referenzlösungen dienten Zytokin-Standardlösungen in 9 Verdünnungen von 5000 pg/ml (Top-Standard) bis 20 pg/ml (1:256-Dilution). Die Messungen der Proben erfolgten am Durchflusszytometer (FACS-Calibur®).

Laborparameter aus der klinischen Routine

Die Bestimmung von Differentialblutbild, CRP (Normbereich <5 mg/dl), Creatinikinase (Normbereich <171 U/l) und Troponin I (Normbereich <0,03 µg/l) wurde seriell am Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité (Direktor: Prof. E. Köttgen) am Campus Mitte und Campus Virchow vorgenommen.

2.5 Kraniale Magnetresonanztomographie (MRT)

Sämtliche MRT-Messungen wurden an 1,5 Tesla Geräten (Siemens Vision, Erlangen, BRD) am Campus Mitte oder am Campus Virchow der Charité durchgeführt. Folgende MRT-Sequenzen wurden gemessen: T1, T2, T2*, Diffusions- und Perfusionswichtung, MR-Angiographie (Time-of-flight). Die volumetrische Quantifizierung der Infarktgröße erfolgte unter Verwendung des Programmes Analyze 5.0 (Mayo Clinic, USA) und Microsoft Excel Software. Eine Auflistung der verwendeten MRT-Sequenzparameter findet sich im Anhang.

2.6 Statistik

Die statistische Auswertung der dieser Arbeit zu Grunde liegenden Daten wurde durch Frau Dr. rer. nat. B. Wegner (Institut für Medizinische Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité, Campus Mitte) unterstützt.

Alle Daten wurden entweder als Mediane mit Spannweite, als Mittelwert mit Standardabweichung oder als Boxplots (Median, 25. und 75. Perzentile als Box, Minimum und Maximum als Antenne (Whisker) dargestellt. Der Mann-Whitney U-Test kam für metrische, nicht-normalverteilte Daten zur Anwendung. Bei normalverteilten Daten wurde der t-Test benutzt. Für nominalskalierte Daten wurde der χ^2-Test zur Berechnung der Wahrscheinlichkeiten von Zusammenhängen genutzt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von <5% ($p<0,05$) wurde als signifikant bewertet [97]. Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe der Software SPSS 18.0® und SAS 9.1® durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

Patienten mit Herzinfarkt

In die Auswertung gingen 20 Patienten mit einem akuten Herzinfarkt und einem Durchschnittsalter von 61,1 ± 9,4 Jahren ein, vier (25%) dieser Patienten waren weiblich (Tabelle 2). Das Elektrokardiogramm zeigte bei 15 (75%) Herzinfarktpatienten eine ST-Hebung (somit STEMI) und bei fünf (25%) Herzinfarktpatienten keine ST-Hebung (somit NSTEMI). Mittels Koronarangiographie wurde die myokardiale Ischämie als akuter Verschluss im Versorgungsgebiet der A. coronaria dextra bei 7 (35%) Patienten und bei dreizehn (65%) Patienten im Versorgungsgebiet der A. coronaria sinistra nachgewiesen. Bei vier (20%) Patienten lag eine koronare Drei-Gefäßerkrankung (KHK_3), bei 11 (55%) Patienten eine KHK_2 und bei fünf (25%) Patienten eine KHK_1 vor. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion betrug im Durchschnitt 51% (Spannweite 34-67%).

Schlaganfallpatienten:

Der Altersdurchschnitt der Schlaganfallpatienten betrug 63,5 ± 11,5 Jahre, vier (25%) Schlaganfallpatienten waren weiblich (Tabelle 2). Zwölf (60%) aller Schlaganfallpatienten hatten eine zerebrale Ischämie im Versorgungsgebiet der Arteria cerebri media links, acht (40%) Schlaganfallpatienten im Versorgungsgebiet der Arteria cerebri media rechts.

Die ätiologische Zuordnung der zur Aufnahme führenden zerebralen Ischämie gemäss TOAST-Klassifikation [10] ergab für die 20 Patienten folgende Verteilung:

Kardioembolische Genese	40%
Makroangiopathie	40%
Definierte Ursache (Gefäßdissektion)	10%
Unbekannte Ursache	10%

Fünf (25%) Schlaganfallpatienten erhielten eine systemische Lysetherapie mittels rt-PA. Ein Schlaganfallpatient wurde etwa 72 Stunden nach Aufnahme aufgrund einer Pneumonie beatmungspflichtig. Der NIHSS betrug im Median bei Aufnahme sechs Punkte (Spannweite 2-17) und verringerte sich auf vier Punkte (Spannweite 1-24) an Tag 2 und auf drei Punkte (Spannweite 0-13) an Tag 6. Insgesamt 13 Schlaganfallpatienten zeigten während des stationären Aufenthaltes eine Abnahme des NIHSS bei Aufnahme um ≥ 2 Punkte, ein Schlaganfallpatient wies eine Verschlechterung von drei Punkten auf, sechs Schlaganfallpatienten blieben in der seriellen NIHSS-Beurteilung innerhalb einer Spannweite von zwei Punkten.

Kontrollgruppe:

Der Altersdurchschnitt der Kontrollgruppe (n=20) betrug 59,6 ± 6,9 Jahre, fünf Probanden waren weiblich (25%).

In Tabelle 2 werden die Vorerkrankungen der Herzinfarktpatienten, Schlaganfallpatienten und der Kontrollgruppe dargestellt. Eine Fettstoffwechselstörung (Hypercholesterinämie und / oder Hypertriglyceridämie) fand sich signifikant häufiger bei Patienten mit Herzinfarkt (n=13) im Vergleich zu Schlaganfallpatienten (n=5). Für alle übrigen kardiovaskulären Risikofaktoren und die Vormedikationen fand sich kein Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen.

Tabelle 2. Epidemiologische Daten, Prävalenz kardiovaskulärer Risikofaktoren und Vormedikation der in die Analyse eingeschlossenen Patienten mit zerebraler Ischämie bzw. akutem Herzinfarkt und der aus gesunden Probanden bestehenden Kontrollgruppe. # p<0,05 vs. Schlaganfallpatienten

	Kontroll-gruppe [n=20]	**Schlag-anfall** [n=20]	**Herz-infarkt** [n=20]
Alter (Jahre) [Mittelwert ± Standardabweichung]	59,6 ± 6,9	63,5 ± 11,5	61,1 ± 9,4
Weibliches Geschlecht, n (%)	5 (25%)	5 (25%)	5 (25%)
Arterieller Hypertonus, n (%)	0 (0%)	16 (80%)	13 (65%)
Diabetes mellitus, n (%)	0 (0%)	6 (30%)	2 (10%)
Fettstoffwechselstörung, n (%)	0 (0%)	5 (25%)	13 (65%) #
Herzinfarkt in Anamnese, n (%)	0 (0%)	7 (35%)	2 (10%)
Schlaganfall in Anamnese, n (%)	0 (0%)	2 (10%)	1 (5%)
Vormedikation, n (%)			
Statin	0 (0%)	3 (15%)	2 (10%)
Beta-Blocker	0 (0%)	5 (25%)	6 (30%)
Acetylsalicylsäure	0 (0%)	5 (25%)	4 (20%)
Vitamin-K-Antagonist	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

3.2 Laborwerte nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt

Die Ergebnisse der unmittelbar nach stationärer Aufnahme und innerhalb von 24 Stunden nach Symptombeginn durchgeführten Blutuntersuchungen sind für Schlaganfallpatienten und Herzinfarktpatienten in Tabelle 3 zusammengefasst, die zudem die Ergebnisse der einmalig erfolgten Blutuntersuchung der Kontrollgruppe beinhaltet. Bei Patienten mit Herzinfarkt (p=0,02) bzw. Schlaganfall (p=0,01) wurden im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere CRP-Spiegel gemessen. Die Körpertemperatur, sowie die PCT- und Kortisol-Werte unterschieden sich hingegen nicht signifikant.

Bei 15 (75%) der Herzinfarktpatienten und bei acht (40%) der Schlaganfallpatienten war IL-6 am Tag 1 im Serum nachweisbar. In der Kontrollgruppe waren bei keinem Probanden IL-6-Spiegel oberhalb der Nachweisgrenze nachweisbar. Weder in den Patientengruppen noch in der Kontrollgruppe konnten mit dem verwandten Assay messbare Konzentrationen von TNF-α und IL-10 im Serum bestimmt werden.

Die Gesamtzahl der Leukozyten war bei Aufnahme bei Herzinfarktpatienten und Schlaganfallpatienten ebenfalls signifikant höher als in der Kontrollgruppe, was überwiegend auf einer erhöhten Granulozytenzahl beruhte, wie Tabelle 3 verdeutlicht. Die Leukozytenzahl war in der Gruppe der Herzinfarktpatienten zudem signifikant höher als in der Gruppe der Schlaganfallpatienten. Weiterhin zeigte sich bei Patienten mit Schlaganfall ein Trend zu einer Reduktion der Lymphozytenzahl (p=0,11), überwiegend hervorgerufen durch eine Verminderung der CD3+T-Zellen. Darüber hinaus war in der Gruppe der Schlaganfallpatienten ein Trend bzgl. einer Verminderung der CD16+NK-Zellen gegenüber Herzinfarktpatienten (p=0,17) und der Kontrollgruppe (p=0,15) festzustellen. Zum Zeitpunkt der Blutabnahme nach stationärer Aufnahme

unterschieden sich die absoluten Zahlen von CD8+T-Zellen, CD19+B-Zellen und CD4+T-Zellen nicht zwischen den Patientengruppen und der Kontrollgruppe.

Während die Monozytenzahlen der Herzinfarktpatienten im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant (p=0,01) höher waren (Tabelle 3), konnte eine signifikant niedrigere quantitative HLA-DR-Expression auf der Monozytenoberfläche bei Schlaganfallpatienten (p<0,001) und Herzinfarktpatienten (p<0,001) gegenüber der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die niedrigste HLA-DR-Expression wurde in der Gruppe der Herzinfarktpatienten beobachtet, die auch im Vergleich zu der Gruppe der Schlaganfallpatienten am ersten Messzeitpunkt signifikant (p=0,009) niedriger war (Tabelle 3). Die ex-vivo Stimulation der Monozyten mit LPS zeigte am ersten Messzeitpunkt keinen signifikanten Unterschied der TNF-α Ausschüttung zwischen Kontrollgruppe, Herzinfarkt- oder Schlaganfallpatienten.

Tabelle 3. Entzündungsmarker und immunologische Parameter der Herzinfarktpatienten und Schlaganfallpatienten zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme (Tag 1) und der Kontrollgruppe. Werte dargestellt als Median mit Spannweite. #p<0,05 vs. Kontrollgruppe; *p<0,05 vs. Schlaganfallpatienten

	Kontrollgruppe [n=20]	**Schlaganfall [n=20]**	**Herzinfarkt [n=20]**
Körpertemperatur °Celsius	36,3 ± 0,7	36,6 ± 1,2	36,4 ± 2,0
CRP mg/dl	0,07 ± 0,69	0,26 ± 1,6 #	0,37 ± 1,1 #
Procalcitonin pg/ml	140 ± 196	201 ± 238	211 ± 482
Kortisol nmol/l	313 ± 383	393 ± 711	416 ± 843
IL-6 pg/ml [n>2 pg/ml]	< 2,0 [0]	6,9 ± 13,0 [8]	8,1 ± 215 [15]
Leukozyten 1/nl	5,9 ± 6,3	8,9 ± 5,9 #	10,5 ± 10,8 #,*
Granulozyten 1/nl	3,8 ± 4,4	7,1 ± 8,4 #	7,3 ± 9,2 #
Lymphozyten 1/nl	1,7 ± 2,1	1,5 ± 3,0	1,8 ± 3,2
CD3+T-Zellen 1/nl	1,2 ± 1,6	1,0 ± 2,7	1,1 ± 3,0
CD4+T-Zellen 1/nl	0,79 ± 1,1	0,75 ± 1,5	0,71 ± 1,3
CD8+T-Zellen 1/nl	0,33 ± 0,54	0,32 ± 1,3	0,38 ± 1,4
CD16+T-Zellen 1/nl	0,23 ± 0,38	0,17 ± 0,39	0,21 ± 0,57
CD19+B-Zellen 1/nl	0,18 ± 0,39	0,22 ± 0,54	0,20 ± 2,1
Monozyten 1/nl	0,52 ± 0,45	0,46 ± 1,1	0,83 ± 2,2 #,*
HLA-DR Antigen/Monozyt	29445 ± 31997	19609 ± 27069 #	14547 ± 16534 #,*
TNF-α nach LPS-Stimulation ex vivo pg/Monozyt	2,1 ± 1,2	1,7 ± 2,0	1,3 ± 7,5

3.3 Laborwerte im stationären Verlauf nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse der durchgeführten Blutuntersuchungen von Tag 2 und Tag 6 des stationären Aufenthaltes für Schlaganfallpatienten und Herzinfarktpatienten zusammengefasst. Bei Patienten mit Schlaganfall wurden an Tag 2 und Tag 6 weiterhin signifikant (p=0,001) erhöhte CRP-Spiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen.

In der Gruppe der Herzinfarktpatienten war ein signifikant (p=0,001) erhöhter CRP-Spiegel an Tag 2 zu verzeichnen. Zwischen den Patientengruppen war kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Körpertemperatur, PCT- und Kortisol-Werte unterschieden sich auch im Verlauf nicht zur Kontrollgruppe.

An Tag 2 wurde bei 11 (55%) und an Tag 6 bei neun (45%) Schlaganfallpatienten IL-6 im Serum oberhalb der Nachweisgrenze bestimmt. In der Gruppe der Herzinfarktpatienten war an Tag 2 bei 15 (75%) und an Tag 6 bei sechs (30%) Patienten IL-6 messbar. Analog zu Tag 1 konnte auch im Verlauf in den Patientengruppen keine messbare Konzentrationen von TNF-α oder IL-10 bestimmt werden.

In beiden Patientengruppen blieben die Granulozytenzahlen signifikant zur Kontrollgruppe auch an Tag 2 und Tag 6 erhöht. In den Lymphozytensubpopulationen fand sich im Verlauf kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe oder zwischen den Patientengruppen. Die Monozytenzahlen blieben bei Schlaganfallpatienten an Tag 2 signifikant (p=0,02) erhöht und wiesen (bei ansteigenden Absolutzahlen an Tag 6) an Tag 2 (p<0,001) und Tag 6 (p=0,001) eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verminderte HLA-DR-Expression auf. In der Gruppe der Herzinfarktpatienten war ebenfalls eine anhaltende, signifikant verminderte HLA-DR-Expression auf Monozyten an Tag 2 (p<0,001) und Tag 6 (p=0,002) nachweisbar. Hier war im Gegensatz zu den Schlaganfallpatienten auch an Tag 7 noch eine erhöhte Monozytenzahl festzustellen, bei ebenfalls abfallender Tendenz. Die LPS-induzierte ex-vivo Stimulation der Monozyten zeigten auch im Verlauf keinen signifikanten Unterschied der TNF-α Ausschüttung zwischen Kontrollgruppe, Herzinfarkt- oder Schlaganfallpatienten.

Eine Vollblutstimulation mit Concavalin A (ConA) ex vivo ergab am Tag 1 für die Gruppe der Herzinfarkt- und Schlaganfallpatienten eine im Vergleich zur Freisetzung am Tag 6 in den jeweiligen Kohorten niedrige IFN-γ-Freisetzung als Hinweis auf eine reduzierte

T_H1-Antwort. Die ex vivo Freisetzung von IL-4 oder IL-5 änderte sich im stationären Verlauf nicht signifikant.

Tabelle 4. Immunparameter im klinischen Verlauf (Tag 2 und Tag 6) von Patienten mit akutem Schlaganfall oder Herzinfarkt. Werte dargestellt als Median mit Spannweite. *p<0,05 vs. Kontrollgruppe (siehe Tabelle 3); #p<0,05 vs. Schlaganfall oder Herzinfarkt.

	Tag	**Schlaganfall** [n=20]	**Herzinfarkt** [n=20]
CRP mg/dl [n]	2	1,3 ± 13,3 *	1,8 ± 3,2 [14] *
	6	1,2 ± 12,1 *	7,4 ± 0,63 [2]
Procalcitonin pg/ml	2	0,14 ± 1,5	0,08 ± 0,22
	6	0,15 ± 0,32	0,08 ± 0,29
Kortisol nmol/l	2	389 ± 1134	357 ± 408
	6	305 ± 508	341 ± 680
IL-6 pg/ml	2	10,9 ± 160 [11]	6,2 ± 44,7 [17]
	6	5,5 ± 92,1 [9]	4,0 ± 8,3 [8]
Leukozyten 1/nl	2	8,0 ± 10,9 *	8,5 ± 8,6 *
	6	7,6 ± 8,8	7,8 ± 7,1
Granulozyten 1/nl	2	5,7 ± 11,8 *	6,0 ± 7,1 *
	6	5,2 ± 8,3 *	4,9 ± 6.1 *
Lymphozyten 1/nl	2	1,5 ± 1,7 #	1,9 ± 2,7
	6	1,5 ± 2,0	1,9 ± 1,8
CD3+T-Zellen 1/nl	2	1,0 ± 1,7	1,4 ± 2,5
	6	0,96 ± 1,9	1,4 ± 1,4
CD4+T-Zellen 1/nl	2	0,68 ± 1,0	0,79 ± 1,2
	6	0,75 ± 1,1	0,79 ± 0,96
CD8+T-Zellen 1/nl	2	0,34 ± 0,90	0,46 ± 1,1
	6	0,34 ± 0,96	0,46 ± 0,63
CD16+T-Zellen 1/nl	2	0,17 ± 0,36	0,20 ± 0,59
	6	0,15 ± 0,32 #	0,28 ± 0,41
CD19+B-Zellen 1/nl	2	0,20 ± 0,40	0,24 ± 1,3
	6	0,21 ± 0,53	0,19 ± 0,47
Monozyten 1/nl	2	0,66 ± 0,87 *	0,74 ± 1,0 *
	6	0,50 ± 1,3	0,68 ± 0,80 *
HLA-DR Antigen/Monozyt	2	16566 ± 26317 *	15323 ± 22208 *
	6	19894 ± 34499 *	20733 ± 24650 *
TNF-α nach LPS-Stimulation ex vivo pg/Monozyt	2	1028 ± 1529	1062 ± 3261
	6	1135 ± 1722	1209 ± 1872

3.4 Inzidenz nosokomialer Infektionen nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt

Während des Krankenhausaufenthaltes entwickelten sechs (30%) der 20 Schlaganfallpatienten eine nosokomiale Infektion (siehe 2.2). Je zwei (10%) Schlaganfallpatienten erkrankten an einer Infektion der tiefen Atemwege, einem Harnwegsinfekt oder einer Infektion der tiefen Atemwege und einem Harnwegsinfekt. Die klinische Manifestation der Atemwegsinfektionen lag durchschnittlich bei 3,5 Tagen nach Aufnahme (Spannweite 3-4 Tage). Harnwegsinfekte traten bei den betroffenen Patienten im Durchschnitt an Tag 6 (Spannweite 3-11 Tage) klinisch in Erscheinung. In der Gruppe der Herzinfarktpatienten erlitten zwei (10%) der 20 Patienten eine nosokomiale Infektion, wobei ein (5%) Herzinfarktpatient einen Harnwegsinfekt und ein Herzinfarktpatient eine Pneumonie erlitt, die jeweils am vierten stationären Tag diagnostiziert wurden.

3.5 Laborwerte im stationären Verlauf nach akutem ischämischem Schlaganfall oder akutem Herzinfarkt in Abhängigkeit vom Auftreten nosokomialer Infektionen

Gemäß des Auftretens einer nosokomialen Infektion wurden die Patientengruppen in Untergruppen eingeteilt. Aufgrund der geringen Infektionsrate bei Herzinfarktpatienten (n=2) wurden die Gruppen Schlaganfallpatienten ohne Infektion (SPI-), Schlaganfallpatienten mit Infektion (SPI+) und Herzinfarktpatienten ohne Infektion (HPI-) gebildet.

An Tag 1 war kein signifikanter Unterschied der CRP-, PCT-, Kortisol-Werte bzw. der Leukozyten-, Granulozyten- sowie Monozytenzahlen zwischen SPI+ und SPI- festzustellen. Am zweiten Messzeitpunkt waren CRP-Werte (p=0,003), Leukozyten- (p=0,003), Granulozyten- (p=0,002) und Monozytenzahlen (p=0,004) in der Gruppe SPI+ erstmalig gegenüber SPI- signifikant erhöht (Tabelle 4a/b). Der CRP-Spiegel war in der Gruppe SPI- gegenüber der Kontrollgruppe an Tag 1 erhöht (p=0,04), ohne dass

dies im Verlauf mit einer Infektion korrelierte. Schlaganfallpatienten mit Infektion (SPI+) hatten an Tag 6 weiterhin erhöhte Granulozyten- (p=0,01) und Monozytenzahlen (p=0,006) sowie erhöhte CRP-Spiegel (p=0,01) gegenüber Schlaganfallpatienten ohne Infektion (SPI-) (Tabelle 5a/b). Die LPS-induzierte TNF-α Ausschüttung war in der Gruppe SPI+ bereits an Tag 1 (p=0,02) geringer gegenüber SPI-, und zeigte eine weitere Abnahme an Tag 2 (p=0,01) und Tag 6 im Verlauf, während in der Gruppe SPI- eine Zunahme der LPS-induzierten TNF-α Ausschüttung von Tag 1 zu Tag 2 und zu Tag 6 im Vergleich zu SPI+ zu verzeichnen war. Der bereits an Tag 2 ansteigende Trend des IL-6-Spiegels bei SPI+ setzte sich auch an Tag 6 fort (p=0,01; Tabelle 5a). Die HLA-DR-Expression auf Monozyten war am ersten Messzeitpunkt bei SPI+ und SPI- unabhängig vom Infektionsstatus signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Gleichzeitig war an Tag 1 bei SPI+ bereits eine signifikant (p=0,004) reduzierte HLA-DR-Expression gegenüber SPI- festzustellen, die im Verlauf (Tag 2 und Tag 7: p<0,001) nachweisbar blieb.

In der Gruppe HPI- waren am ersten Messzeitpunkt die Leukozyten- (p<0,001), Granulozyten- (p<0,001) und Monozytenzahlen (p<0,001) sowie der CRP-Wert (p=0,03) gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht ohne dass im Verlauf eine Infektion auftrat. Die HLA-DR-Expression auf Monozyten bei HPI- war an Tag 1 signifikant (p<0,001) gegenüber der Kontrollgruppe vermindert und blieb auch unter Berücksichtigung der Bonferoni-Korrektur im weiteren Verlauf signifikant reduziert. In der Gruppe HPI- war im Verlauf kein signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten bezüglich des IL-6-Spiegels auszumachen.

Tabelle 5a. Labor- und Immunparameter im Verlauf. Schlaganfallpatienten mit nosokomialer Infektion, Schlaganfallpatienten ohne nosokomiale Infektion und Herzinfarktpatienten ohne nosokomiale Infektion an Tag 2 und Tag 6 der Krankenhausaufnahme. Werte dargestellt als Median mit Spannweite. *p<0,05 vs. Schlaganfallpatienten ohne Infektion zum selben Untersuchungszeitpunkt; #p<0,05 vs. Kontrollgruppe (Werte siehe Tabelle 3).

	Tag	**Schlaganfall mit Infektion** [n=6]	**Schlaganfall ohne Infektion** [n=14]	**Herzinfarkt ohne Infektion** [n=18]
CRP mg/dl [n]	1	0,5 ± 0,7 #	0,2 ± 1,6 #	0,37 ± 1,1 [16]
	2	5,6 ± 12,2 *	0,5 ± 4,9	1,8 ± 3,1 [14]
	6	4,7 ± 11,7 *	0,5 ± 1,8	-
Procalcitonin pg/ml	1	0,27 ± 0,14	0,19 ± 0,23	0,21 ± 0,48
	2	0,15 ± 1,5	0,14 ± 0,16	0,08 ± 0,22
	6	0,27 ± 0,29	0,14 ± 0,11	0,08 ± 0,30
Kortisol nmol/l	1	444 ± 258	298 ± 711	381 ± 843
	2	486 ± 992	354 ± 257	334 ± 407
	6	411 ± 369	293 ± 357	341 ± 680
IL-6 pg/ml	1	9,3 ± 9,0 [4]	3,3 ± 10,7 [4]	8,1 ± 215 [13]
	2	16,8 ± 161 [6]	6,4 ± 7,7 [5]	6,2 ± 39 [5]
	6	42,2 ± 89 * [5]	4,0 ± 3,0 [4]	4,0 ± 5,6 [6]
HLA-DR Antigen/Monozyt	1	12215 ± 12912 *	23171 ± 21891 #	14288 ± 16534 #
	2	6084 ± 5836 *	19531 ± 15845	14754 ± 22208
	6	7541 ± 10825 *	21783 ± 21614	17750 ± 22584
TNF-α nach LPS-Stimulation ex vivo pg/Monozyt	1	1,2 ± 0,57 *	1,9 ± 1,8	1,3 ± 3,0
	2	0,80 ± 1,4 *	2,4 ± 2,0	1,5 ± 7,6
	6	0,82 ± 2,9	2,9 ± 3,5	2,0 ± 2,7

Tabelle 5b. Differentialblutbild und Lymphozytensubpopulationen im Verlauf. Schlaganfallpatienten mit nosokomialer Infektion, Schlaganfallpatienten ohne nosokomiale Infektion und Herzinfarktpatienten ohne nosokomiale Infektion an Tag 2 und Tag 6 der Krankenhausaufnahme. Werte dargestellt als Median mit Spannweite. *p<0,05 vs. Schlaganfallpatienten ohne Infektion zum selben Untersuchungszeitpunkt.

	Tag	**Schlaganfall mit Infektion** [n=6]	**Schlaganfall ohne Infektion** [n=14]	**Herzinfarkt ohne Infektion** [n=18]
Leukozyten 1/nl	1	9,2 ± 7,1	8,6 ± 6,9	10,5 ± 10,8
	2	10,3 ± 8,3 *	7,3 ± 4,5	8,6 ± 9,0
	6	10,8 ± 7,0	6,9 ± 7,4	8,0 ± 7,1
Granulozyten 1/nl	1	7,8 ± 5,9	6,4 ± 5,1	7.3 ± 9,2
	2	8,2 ± 9,7 *	5,3 ± 3,8	6,0 ± 7,1
	6	8,7 ± 6,5 *	4,2 ± 5,3	5,6± 5,8
Lymphozyten 1/nl	1	1,1 ± 0,91 *	1,5 ± 2,9	1,9 ± 3,2
	2	1,3 ± 0,82	1,7 ± 1,5	2,0 ± 2,6
	6	1,0 ± 1,0 *	1,7 ± 2,0	1,9 ± 1,7
CD3+T-Zellen 1/nl	1	0,69 ± 0,62	1,3 ± 2,7	1,1 ± 2,9
	2	0,78 ± 0,90 *	1,2 ± 1,6	1,4 ± 2,4
	6	0,65 ± 0,44 *	1,4 ± 1,9	1,4 ± 1,4
CD4+T-Zellen 1/nl	1	0,49 ± 0,47	0,82 ± 1,6	0,71 ± 1,3
	2	0,44 ± 0,77	0,71 ± 0,91	0,81 ± 1,2
	6	0,48 ± 0,50	0,80 ± 1,1	0,85 ± 0,96
CD8+T-Zellen 1/nl	1	0,23 ± 0,37	0,38 ± 1,3	0,41 ± 1,4
	2	0,32 ± 0,46	0,35 ± 0,90	0,47 ± 1,1
	6	0,21 ± 0,34	0,39 ± 0,96	0,50 ± 0,63
CD16+T-Zellen 1/nl	1	0,14 ± 0,38	0,18 ± 0,24	0,21 ± 0,57
	2	0,14 ± 0,33	0,20 ± 0,31	0,21 ± 0,59
	6	0,14 ± 0,21	0,22 ± 0,32	0,20 ± 0,41
CD19+B-Zellen 1/nl	1	0,13 ± 0,43	0,23 ± 0,54	0,21 ± 2,1
	2	0,18 ± 0,35	0,20 ± 0,36	0,25 ± 1,3
	6	0,18 ± 0,39	0,21 ± 0,48	0,21 ± 0,47
Monozyten 1/nl	1	0,53 ± 0,96	0,44 ± 0,90	0,89 ± 2,2
	2	0,90 ± 0,71 *	0,51 ± 0,36	0,70 ± 1,0
	6	0,99 ± 1,1 *	0,46 ± 0,52	0,68 ± 0,80

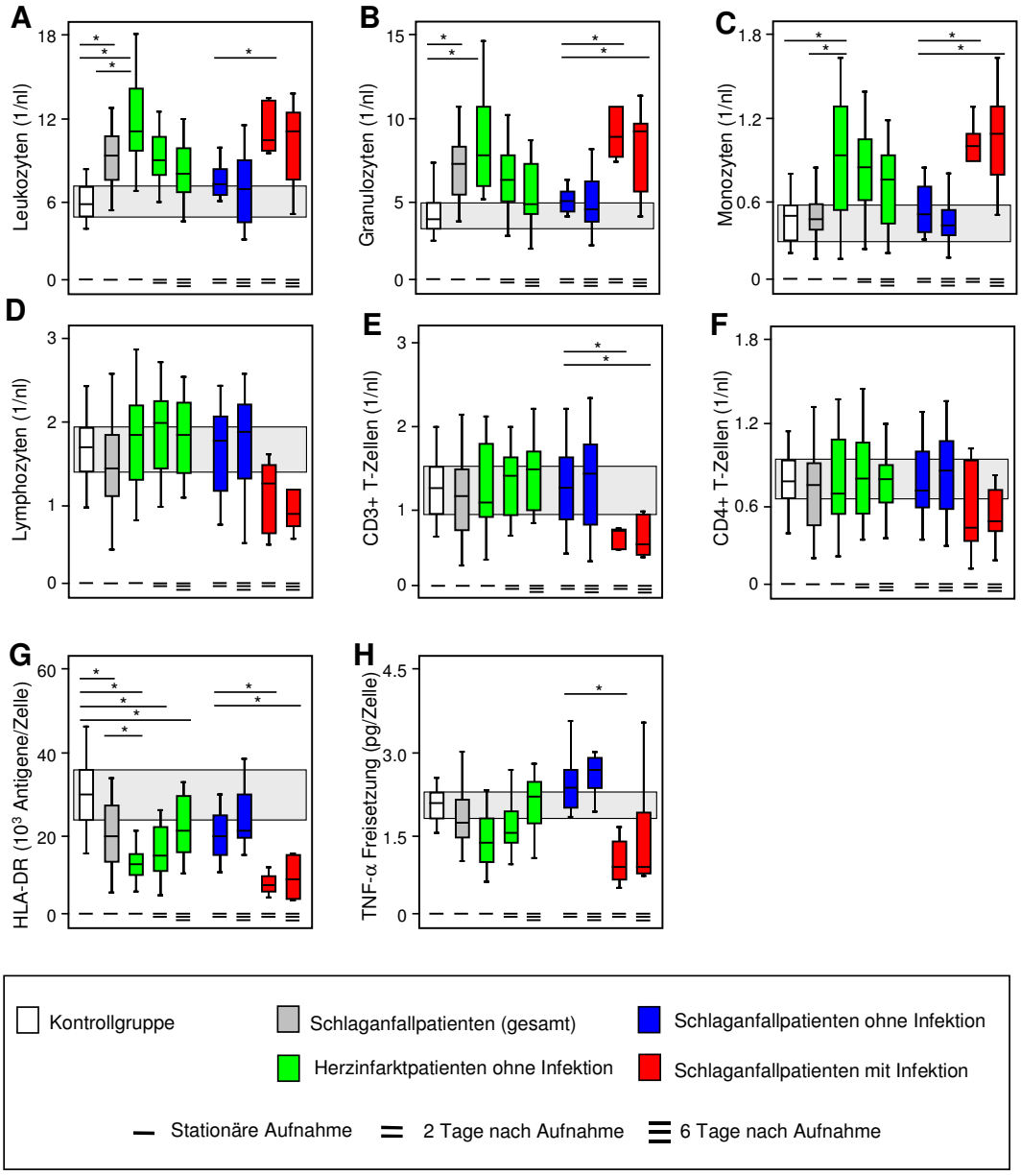

Abbildung 2. Verlaufsdarstellung von ausgewählten Immunparametern und Differentialblutbild. Boxplots (Median, 25% bis 75% als Box, Minimum und Maximum innerhalb der horizontalen Grenzen). Abbildung von Kontrollgruppe (n=20; weiss), Schlaganfallpatienten (n=20; grau) sowie Herzinfarktpatienten ohne Infektion (n=18; grün) und Schlaganfallpatienten mit Infektion (n=6; rot) bzw. ohne Infektion (n=14; blau) für Tag 2 und Tag 6. *p<0,05.

3.6 Einfluss der Ausdehnung einer zerebralen Ischämie bzw. der Myokardischämie auf die Immunantwort

Anhand volumetrischer Kriterien (siehe 2.3) wurden Schlaganfallpatienten in mit einem größeren Infarktareal (Diffusion weighted imaging (DWI) oder Perfusion weighted imaging (PWI) > 20 cm^3 bei erster Bildgebung nach Aufnahme) bzw. mit einem kleineren Infarktareal (DWI oder PWI ≤ 20 cm^3) unterschieden. Gemäß dieser Einteilung werden Schlaganfallpatienten mir schwerem Ereignis als „SPV+“ und Schlaganfallpatienten mit einem nicht-schweren Ereignis als „SPV-“ bezeichnet. Die vorgenommene Einteilung nach der Infarktgröße korrelierte mit dem anhand der NIHSS Skala dokumentierten klinischen Schweregrad (Tabelle 6). Alle Schlaganfallpatienten mit Infektion (n=6) fielen in die Gruppe SPV+.

Anhand eines maximalen CK-Wertes >1500 U/l im stationären Verlauf wurden Herzinfarktpatienten in eine Gruppe mit schwerem Ereignis (HPs; n=8) bzw. nicht-schwerem Ereignis (HPn; n=12) unterschieden. Die Gruppe der HPs schloss Patienten mit STEMI (n=7) sowie NSTEMI (n=1) ein. Die Einteilung des Schweregrades anhand der maximalen CK-Erhöhung korreliert mit der Einschränkung der in der Koronarangiographie gemessenen linksventrikulären Ejektionsfraktion (Tabelle 6). Eine Korrelation zu einer erhöhten Infektsuszeptibilität ließ sich anhand der Schwere des Herzinfarktes nicht nachweisen.

Tabelle 6. Aufteilung der Patientengruppen in „nicht-schweres Ereignis“ vs. „schweres Ereignis“. Herzinfarktpatienten: schweres Ereignis CK>1500 U/l (maximaler Wert). Schlaganfallpatienten: ausgedehnte zerebrale Ischämie DWI und/ oder PWI>20cm^3 (bei Aufnahme). Angabe linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF in %), Volumetrie und NIHSS als Mittelwerte ± Standardabweichung.

	Herzinfarkt		**Schlaganfall**	
	HPn (n=12)	HPs (n=8)	SPV- (n=9)	SPV+ (n=11)
Nosokomiale Infektion n (%)	1 (8)	1 (12)	0 (0)	6 (55)
LVEF (%)	55 ± 8	46 ± 11	-	-
Kreatininkinase (U/l) Maximalwert	604 ± 310	3299 ± 1578	-	-
Troponin I (µg/l) Maximalwert	11,5 ± 15,8	54,4 ± 52,6	-	-
DWI (cm^3) bei Aufnahme	-	-	6,2 ± 5,9	53,4 ± 49,3
PWI (cm^3) bei Aufnahme	-	-	5,2 ± 5,9	88,6 ± 80,3
NIHSS (Punkte) bei Aufnahme	-	-	3,0 ± 1,5	8,3 ± 5,6

Laborveränderungen bei Patienten mit akutem Schlaganfall unter Berücksichtigung der Ausdehnung der zerebralen Ischämie

Bei SPV+ und SPV- fanden sich an Tag 1 keine signifikanten Unterschiede zwischen Körpertemperatur, CRP-Wert und IL-6-Konzentration im Serum, während der mittlere Kortisol-Wert bei SPV+ signifikant erhöht war (p=<0,001) Die Granulozytenzahlen waren bei SPV+ an Tag 1 signifikant (p=0,02) erhöht, welche zu einer im Mittel erhöhten Leukozytenzahl in dieser Subgruppe beitrugen. Die absoluten Lymphozytenzahlen waren an Tag 1 aufgrund einer Reduktion der CD3+, und CD4+T-Zellen bei SPV+ gegenüber SPV- signifikant (p=0,04) vermindert. An Tag 1 unterschieden sich die absoluten Zahlen von CD8+T-Zellen und CD19+B-Zellen nicht signifikant zwischen SPV+ und SPV-. Die Monozytenzahlen waren in der Gruppe der SPV+ und SPV- vergleichbar, jedoch konnte auf den Monozyten der SPV+ eine signifikant (p=0,03) geringere HLA-DR-Expression nachgewiesen werden. Bei SPV+ wurde an Tag 1 gegenüber SPV- ebenfalls eine verringerte LPS-induzierte TNF-α-Ausschüttung durch Monozyten gemessen, die nur am ersten Messzeitpunkt Signifikanzniveau (p=0,02) erreichte. Im weiteren Verlauf wurden an Tag 2 signifikante höhere Körpertemperaturen (p=0,03) und CRP-Spiegel (p=0,02) in der Gruppe der SPV+ gemessen, die an Tag 6 nicht mehr vorlagen. In der Gruppe SPV- trat ein Abfall der Leukozytenzahlen und Granulozytenzahlen zu Tag 2 und Tag 7 auf, so dass an Tag 2 zur SPV+ ein signifikanter Unterschied bei Granulozyten (p=0,01) vorlag.

Bei einem Anstieg der CD3+, und CD4+T-Zellen war an Tag 2 und 6 kein signifikanter Unterschied der Lymphozytenzahlen zwischen den Patientengruppen der beiden Schweregrade mehr nachweisbar. In den Verlaufbestimmungen war kein signifikanter Unterschied der absoluten Monozytenzahlen zwischen SPV+ und SPV- festzustellen, aber es zeigte sich weiterhin eine signifikante Reduktion der monozytären HLA-DR-Expression in der Gruppe SPV+ an Tag 2 (p=0,01) und Tag 6 (p=0,007).

Die Auswertung der Zytokinprofile nach ConA-Stimulation ergab, dass bei SPV+ am Tag 1 eine signifikant niedrigere Sekretion von IFN-γ (p=0,4) und an Tag 6 für IL-2 und IL-10 (beides p=0,03) vorlag. Im weiteren Vergleich waren die Werte von TNF-α, IL-4 und IL-5 bei SPV- im Median insgesamt höher, erreichten bei hoher Streubreite aber nicht das Signifikanzniveau.

Laborveränderungen nach akutem Herzinfarkt unter Berücksichtigung des Schweregrades

In der Gruppe der Herzinfarktpatienten waren an Tag 1 in der Subgruppe mit schwerem Ereignis (HPs) höhere Leukozytenzahlen gegenüber Herzinfarktpatienten mit nicht-schwerem Ereignis (HPn) nachweisbar (p=0,05), die überwiegend durch eine höhere Granulozytenzahl bedingt wurden (Tag 1 p=0,03) (Tabelle 7).

Die gemessenen Kortisol-Werte im Plasma waren bei HPs gegenüber HPn am Tag 1 signifikant (p=0,009) erhöht. Die Monozytenzahlen, die monozytäre HLA-DR-Expression, sowie die LPS-induzierte TNF-α-Ausschüttung in vitro wiesen am Tag 1 zwischen beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied auf. Ebenso wenig unterschieden sich die absoluten Zahlen der CD8+T-Zellen, CD19+B-Zellen und CD4+T-Zellen bzw. der IL-6-Spiegel im Serum zwischen HPs und HPn.

Nach ConA-Stimulation von T-Lymphozyten in vitro konnten an Tag 1 zwischen HPn und HPs keine signifikanten Unterschiede für die Freisetzung von IFN-γ, TNF-α und IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 gemessen werden.

Laborveränderungen im stationären Verlauf nach akutem Herzinfarkt unter Berücksichtigung des Schweregrades

Eine nosokomiale Infektion trat jeweils bei einem HPn (5%) und einem HPs (5%) auf. Im Verlauf waren an Tag 2 bei HPs noch erhöhte Leukozyten gegenüber HPn

feststellbar (p=0,02), überwiegend bedingt durch eine vermehrte Anzahl an Granulozyten (Tabelle 6). In beiden Gruppen fielen die Leukozytenzahlen im Verlauf ab. An Tag 2 war zwischen HPn und HPs kein signifikanter Unterschied zwischen den gemessenen Kortisol-Werten mehr nachweisbar, da sich ein Abfall der Kortisol-Werte bei HPs und ein Anstieg bei HPn zeigte. An Tag 6 waren die Kortisol-Werte im Mittel unverändert zu Tag 2. An Tag 6 wurde bei HPn und HPs ein Abfall der Monozytenzahlen beobachtet. Demgegenüber war ein kontinuierlicher Anstieg der monozytären HLA-DR-Expression um im Mittel 50% bei HPn und HPs zu verzeichnen. Die LPS-induzierte TNF-α-Ausschüttung stieg im Verlauf bei HPn und HPs kontinuierlich an (Tabelle 7). Es war ein vom Schweregrad unabhängiger Anstieg der IFN-γ- und TNF-α-Ausschüttung der T-Zell-Lymphozyten nach ConA-Stimulation zu beobachten, während die induzierte Freisetzung von IL-2, IL-4 und IL-10 im Verlauf bei HPn und HPs unverändert blieb.

Tabelle 7. Entzündungsmarker und Immunparameter bei Herzinfarktpatienten HPs bzw. HPn und analog der Schlaganfallpatientengruppen SPV+ bzw. SPV- bei stationärer Aufnahme (Tag 1) und im Verlauf (Tag 2 und 6). Werte dargestellt als Median mit Spannweite. #p<0,05 vs. HPn; *p<0,05 vs. SPV-.

	Tag	**HPn** n=12	**HPs** n=8	**SPV-** n=9	**SPV+** n=11
CRP mg/dl	1	0,43 ± 0,77	0,21 ± 1,1	0,22 ± 1,6	0,30 ± 1,3
	2	1,1 ± 3,2	3,1 ± 0,36	0,36 ± 4,9	3,6 ± 13,0 *
	6	-	-	0,52 ± 1,0	3,2 ± 12,1
Kortisol nmol/l	1	278 ± 435	561 ± 706 #	242 ± 293	450 ± 558 *
	2	357 ± 343	348 ± 366	324 ± 281	396 ± 1134
	6	341 ± 366	324 ± 680	273 ± 357	363 ± 460 *
IL-6 pg/ml	1	6,8 ± 23,5 [7]	9,3 ± 214 [8]	7,6 ± 10,7 [2]	6,8 ± 12,9 [6]
	2	5,5 ± 44,7 [9]	12,4 ± 37,3 [8]	6,4 ± 7,6 [3}	15,2 ± 161[8]
	6	4,1 ± 8,3 [4]	3,4 ± 5,3 [4]	3,5 ± 2,9 [2]	5,9 ± 91,3 [7]
Leukozyten 1/nl	1	9,9 ± 9,1	13,8 ± 10,8 #	8,6 ± 4,3	9,1 ± 8,0
	2	8,2 ± 4,3	10,9 ± 6,9 #	7,2 ± 2,9	9,1 ± 8,0 *
	6	7,8 ± 6,9	7,42 ± 6,0	7,34 ± 4,6	9,28 ± 7,8
Granulozyten 1/nl	1	6,7 ± 7,6	10,9 ±9,2 #	5,6 ± 3,8	7,5 ± 7,4 *
	2	5,3 ± 3,9	8,2 ± 5,6 #	5,3 ± 2,1	6,8 ± 11,8 *
	6	4,9 ± 5,0	5,2 ± 4,5	4,5 ± 4,4	6,1 ± 7,3
Lymphozyten 1/nl	1	2,0 ± 2,2	1,5 ± 3,2	1,8 ± 2,3	1,3 ± 1,8 *
	2	2,1 ± 1,8	1,7 ± 2,7	1,6 ± 1,4	1,6 ± 1,5
	6	2,1 ± 1,8	1,5 ± 0,72	1,7 ± 1,2	1,2 ± 2,0
CD3+T-Zellen 1/nl	1	1,4 ± 1,5	1,0 ± 3,0	1,1 ± 1,3	0,8 ± 1,3 *
	2	1,4 ± 1,2	1,3 ± 2,5	1,1 ± 1,6	0,8 ± 1,3
	6	1,5 ± 1,5	1,1 ± 0,61	1,3 ± 1,1	0,80 ± 1,9
CD4+T-Zellen 1/nl	1	0,78 ± 1,3	0,68 ± 1,3	0,84 ± 1,3	0,57 ± 0,80 *
	2	0,77 ± 1,2	0,82 ± 0,95	0,71 ± 0,74	0,66 ± 0,86
	6	0,85 ± 0,96	0,70 ± 0,55	0,83 ± 0,87	0,59 ± 1,1
CD8+T-Zellen 1/nl	1	0,42 ± 0,49	0,28 ± 1,4	0,40 ± 1,1	0,25 ± 0,67
	2	0,48 ± 0,56	0,30 ± 1,1	0,33 ± 0,85	0,36 ± 0,71
	6	0,53 ± 0,52	0,29 ± 0,41	0,37 ± 0,74	0,26 ± 0,96
Monozyten 1/nl	1	0,78 ± 1,5	1,1 ± 2,1	0,45 ± 0,23	0,50 ± 1,1
	2	0,66 ± 0,61	0,96 ± 0,95 #	0,50 ± 0,36	0,71 ± 0,83
	6	0,59 ± 0,80	0,83 ± 0,65	0,48 ± 0,42	0,67 ± 1,2
HLA-DR Antigen/Monozyt	1	14547 ± 14680	14863 ± 14361	29044 ± 21891	19086 ± 17946 *
	2	16520 ± 15858	12294 ± 17500	23348 ± 15845	9019 ± 17372 *
	6	23143 ± 17162	18323 ± 24650	22701 ± 18581	13683 ± 26029 *
TNF-α n. LPS-Stimulation ex vivo pg/Monozyt	1	1,4 ± 7,0	1,1 ± 1,4	2,1 ± 1,4	1,2 ± 0,8 *
	2	1,8 ± 7,1	1,5 ± 1,1	2,4 ± 2,0	1,6 ± 2,5
	6	2,2 ± 3,4	1,8 ± 2,6	2,9 ± 3,0	1,8 ± 2,9

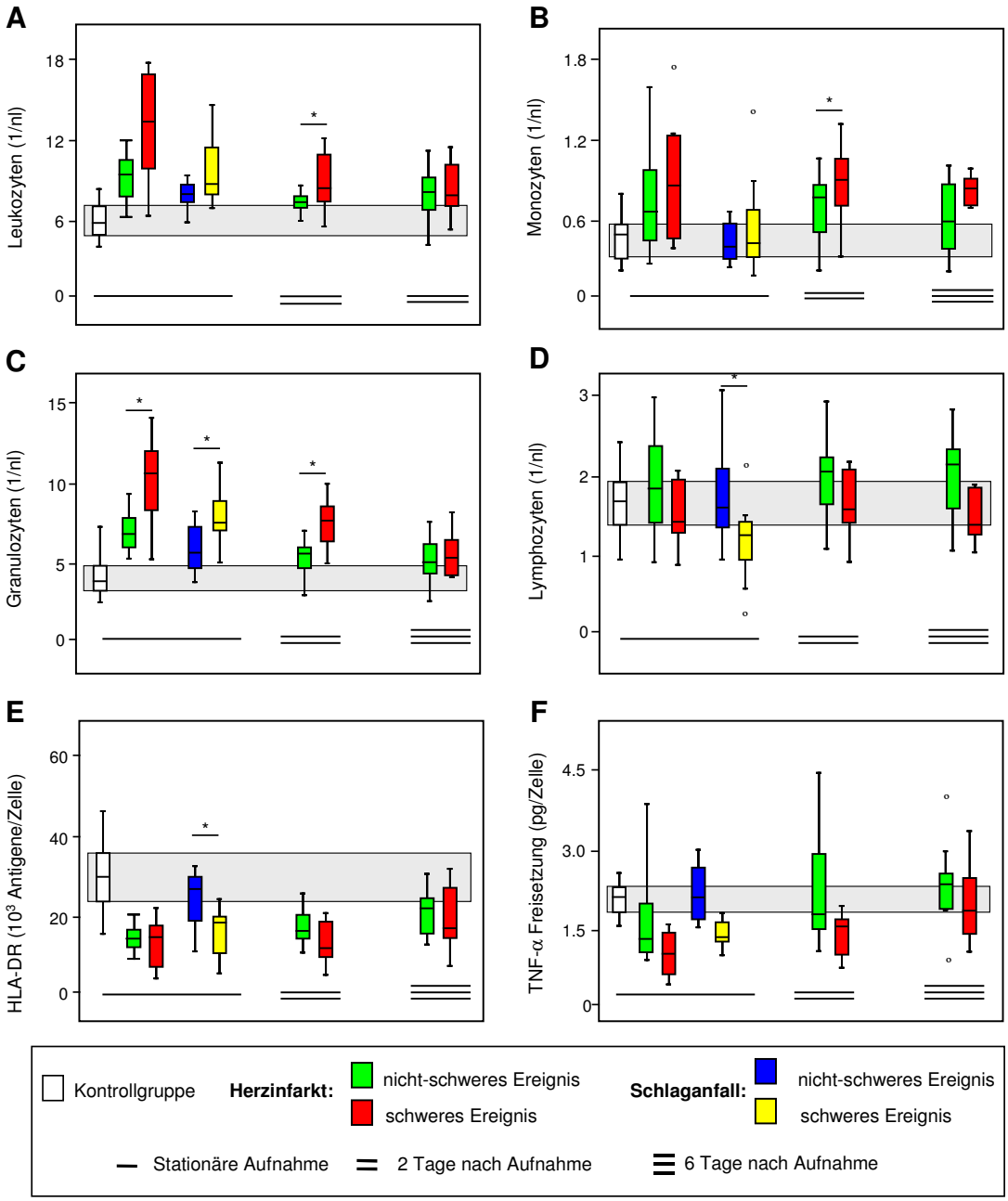

Abbildung 3. Verlaufsdarstellung von ausgewählten Immunparametern und Parametern des Blutbildes in Boxplots (Median, 25% bis 75% als Box, Minimum und Maximum innerhalb der horizontalen Grenzen). Abbildung von Kontrollgruppe (n=20; weiss), Herzinfarktpatienten (HP), aufgeteilt in HP mit nicht-schwerem Ereignis (HPn) (n=8; grün) bzw. schwerem Ereignis (HPs) (n=12; rot), sowie Schlaganfallpatienten (SP), aufgeteilt in SP mit nicht-schwerem Ereignis (SPV-) (n=9; blau) bzw. schwerem Ereignis (SPV+) (n=11; gelb), für Tag 2 und Tag 6. *p<0,05.

4. Diskussion

In den letzten Jahren konnte das Verständnis der immunologischen Vorgänge im Rahmen eines akuten ischämischen Schlaganfalls bzw. eines akuten Myokardinfarktes deutlich erweitert werden. Bei beiden Krankheitsbildern wurden neben einer lokalen und systemischen Entzündungsreaktion auch über eine induzierte Immunsuppression berichtet [27-28, 58, 90]. Das so genannte „Central Nervous System induced immune deficiency syndrom (CIDS)“ bezeichnet eine nach einem ischämischen Schlaganfall auftretende zelluläre und humoralen Immunsuppression, die durch eine Lymphopenie, eine Deaktivierung von Monozyten und eine Verschiebung der T-Helferzellen(T_H)-Antwort zugunsten von T_H2 gekennzeichnet ist [23, 25, 78].

Im Rahmen der dieser Promotionsarbeit zugrunde liegenden prospektiven *Immunosuppression after Stroke* (ISAS)-Studie, die an zwei Krankenhäusern der Charité – Universitätsmedizin Berlin durchgeführt wurde, wurde die systemische Immunantwort bei Patienten nach akutem Herzinfarkt bzw. nach akutem ischämischen Schlaganfall anhand eines standardisierten Protokolls seriell erfasst und mit gesunden Blutspendern verglichen. Die hier vorgelegten und in peer-review Journalen publizierten Daten [31, 90] weisen auf eine bereits in der Akutphase nachweisbare Immunsuppression in beiden Patientengruppen hin, die jedoch Unterschiede bezüglich der Dauer und Ausprägung erkennen ließ.

4.1 Immunologische Veränderungen nach zerebraler oder kardialer Ischämie

Im Vergleich zur Kontrollgruppe war zudem eine Akute-Phase-Reaktion innerhalb weniger Stunden nach Symptombeginn bei Herzinfarkt oder ischämischen Schlaganfall nachweisbar, was bereits wiederholt publiziert worden war [65-66, 68] und nach Publikation unserer Daten erneut bestätigt wurde [27, 98].

Wenige Stunden nach Symptombeginn lagen die Procalcitonin-Spiegel im Serum bei Herzinfarkt- oder Schlaganfallpatienten im Normbereich, so dass nicht von einer

systemischen Inflammationsreaktion auszugehen war. Die Kortisol-Werte - als Marker einer systemischen Stress-Reaktion - waren nur in der Subgruppe der Patienten mit vergleichsweise schwerem Herzinfarkt (HP+) gemäß laborchemischen Kriterien (CK > 1500 U/l) oder schwerem Schlaganfall (SPV+) gemäß volumetrischen Kriterien (Diffusion weighted imaging (DWI) oder Perfusion weighted imaging (PWI) > 20 cm^3 bei erster MRT Bildgebung nach Aufnahme) signifikant höher. Bei der Mehrheit der Herzinfarktpatienten waren IL-6-Spiegel bereits wenige Stunden nach Symptombeginn im Serum messbar, jedoch nur bei 40% der Schlaganfallpatienten und bei keinem gesunden Probanden. Ein in der Gruppe der Herzinfarktpatienten zu beobachtender rascher Abfall des IL-6-Spiegels im Verlauf deutet hingegen auf eine initial verstärkte Stressreaktion hin [99]. Bei Schlaganfallpatienten [32, 100] wie auch bei Herzinfarktpatienten [101] wurde im Serum eine vermehrte TNF-α Ausschüttung beschrieben, was anhand des im Rahmen der ISAS-Studie verwandten Assays nicht bestätigt werden konnte.

Die Bedeutung der Leukozyten- [69-71] und Monozytenzahl [73] als Prognoseindikator bei Patienten mit ACS unterstreichend, lagen bei Herzinfarktpatienten bei Aufnahme signifikant erhöhte Leukozyten- und Monozytenzahlen im Vergleich zur Gruppe der Schlaganfallpatienten und zur Kontrollgruppe vor. Trotz einer quantitativ erhöhten Monozytenzahl war eine akute und anhaltende funktionelle Inaktivierung der Monozyten bei den im Rahmen der ISAS-Studie untersuchten Schlaganfallpatienten nachweisbar [102]. Im Vergleich zur Kontrollgruppe war sowohl bei Patienten nach akutem Schlaganfall als auch bei Patienten mit akutem Herzinfarkt die HLA-DR-Expression auf Monozyten, die essentiell für die antigenspezifische T-Zell-Abwehr ist, über den gesamten Beobachtungszeitraum von sechs Tagen signifikant reduziert. Vergleichbare Ergebnisse fanden sich beispielsweise im Rahmen der prospektiven multizentrischen PANTHERIS Studie [33] und in einer prospektiven klinischen Arbeit von Zhang et al.

[103], nicht jedoch in einer monozentrischen Studie von Vogelgesang et al. [104], die nach akutem ischämischem Schlaganfall eine vermehrte HLA-DR-Expression auf T-Zellen nachwiesen. Bei Vogelgesang et al. war die Altersverteilung der 93 Patienten mit zerebraler Ischämie mit denen der ISAS-Studie vergleichbar, es wurden aber ischämische Schlaganfälle aller Lokalisationen eingeschlossen und NIHSS (Median 15 Punkte) sowie die computertomographisch bestimmte Infarktgröße (Median 141 cm^3) wichen deutlich von den ISAS-Daten ab und wiesen auf einen zumeist höheren Schweregrad der Studienpatienten hin. Die Infektionsrate lag bei Vogelgesang et al. mit circa 11% hingegen niedriger als in der ISAS-Population obwohl auch Katheter-assoziierte Infektionen mit erfasst wurden. Unsere Beobachtung zur verminderten HLA-DR Expression stehen jedoch im Einklang mit publizierten Ergebnissen über Patienten nach neurochirurgischen Eingriffen [102] bzw. kardiopulmonalen Bypass [105], ischämischem Schlaganfall [27] oder Patienten mit einer Sepsis [106]. Im Vergleich zu Schlaganfallpatienten war in der Gruppe der Herzinfarktpatienten bereits unmittelbar nach stationärer Aufnahme und somit nur wenige Stunden nach Symptombeginn eine niedrigere monozytäre HLA-DR-Expression nachweisbar, die sich im weiteren Beobachtungszeitraum nicht mehr signifikant unterschied.

Die führend durch Monozyten erfolgende Freisetzung von TNF-α nach LPS-Stimulation ex vivo war dahingegen wenige Stunden nach Symptombeginn bei Patienten nach akutem Schlaganfall als auch bei Patienten mit akutem Herzinfarkt im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant verändert, was einen nur partiellen Funktionsverlust der immunologischen Kompetenz der Monozyten unterstreicht und von Urra et al. für Schlaganfallpatienten bestätigt wurde [107]. In diesem Zusammenhang ist jedoch zu erwähnen, dass die monozytäre TNF-α Freisetzung bei Schlaganfallpatienten mit nachfolgender nosokomialer Infektion bereits wenige Stunden nach Symptombeginn im Vergleich zu Schlaganfallpatienten ohne nachfolgende nosokomiale Infektion signifikant

reduziert war und diesem Immunparameter somit eine prädiktive Wertigkeit für das Auftreten nosokomialer Infektionen zukommt [31].

Zum Aufnahmezeitpunkt konnte im Rahmen der ISAS-Studie hingegen nur bei Schlaganfallpatienten eine überwiegend CD3+T-Zellen getragene Lymphozytopenie beobachtet werden [31], was bereits vor etwa 10 Jahren im Tiermodell der zerebralen Ischämie [23] beschrieben worden war und nunmehr auch von Liesz et al. [108] und anhand der PANTHERIS-Studie [100] für CD4+T-Zellen nachgewiesen werden konnte. Auch bei Herzinfarktpatienten wurde zuvor eine Reduktion der CD3+T-Zellen berichtet [71], was anhand der ISAS-Studie jedoch nicht verifiziert werden konnte. In der Literatur wurde eine CD3+T-Zell-Reduktion im Zusammenhang mit dem Ausmaß des kardialen Gewebeschadens diskutiert [71, 109], was bei vergleichsweise weniger stark betroffenen Herzinfarktpatienten in der ISAS-Studie, auch die durch uns gemachte Beobachtung erklären könnte.

Die während der ersten sechs Tage nach Symptombeginn in beiden Patientengruppen stabile Sekretion von IL-4 und IL-5 nach Mitogenstimulation ex vivo wies auf eine unbeeinträchtige T_H2-Immunfunktion hin, was für Herzinfarktpatienten bereits beschrieben wurde [110]. Unsere Ergebnisse bei Schlaganfallpatienten [31] wurden von Harms et al. [33] und Chamorro [27] bestätigt. Ein Funktionsverlust der T_H1-Immunfunktion zeigte sich durch eine am Tag 1 in Relation zum Tag 2 und 6 verminderte IFN-γ Ausschüttung nach Mitogenstimulation bei Schlaganfallpatienten [31] und Herzinfarktpatienten [90]. Vogelgesang et al. hingegen beschrieben bei verminderter CD4+T-Zellen-Population eine intakte T_H1-Immunfunktion nach zerebraler Ischämie bezüglich der Freisetzung von TNF-α im Serum. Gleichzeitig wiesen in dieser Studie Patienten mit nachfolgender Infektion bereits sehr früh während des stationären Aufenthaltes eine ausgeprägte und länger anhaltende CD4+T-Zellen-Depletion auf [32, 104], was sich auch anhand der ISAS-Daten und PANTHERIS -Studie zeigte, die

ebenfalls eine verminderte IFN-γ Ausschüttung bei Patienten mit ischämischen Schlaganfall nachwies [100].

Unter Berücksichtigung der nachteiligen Effekte einer vermehrten IFN-γ Freisetzung durch eine Aktivierung von T-Lymphozyten nach zerebraler Ischämie [106] könnte sich eine Ischämie-bedingte Immunsuppression durch eine Limitierung der fokalen Entzündungsreaktion im ischämischen Gewebe positiv auf das Ausmaß der zerebralen Schädigung auswirken [28]. Darüber hinaus gibt es aber auch Hinweise auf einen möglicherweise benefitären Effekt in einer supprimierten autoimmunologischen Reaktion gegen spezifische Antigene des Gehirns nach ZNS-Verletzungen [14]. Die Ausprägung einer Immunsuppression nach akuter zerebraler Ischämie korrelierte dabei mit der Größe des mittels zerebralem MRT bestimmten ischämischen Infarktareales und dem anhand des NIHSS Scores bestimmten klinischen Schweregrades [31, 34, 111] und prädisponierte diese Patienten offenbar für nosokomiale Infektionen im stationären Verlauf [31, 33]. So fanden sich nosokomiale Infektionen bei 30% aller Schlaganfallpatienten.

Da lediglich bei 10% der 20 Studienpatienten mit einem Herzinfarkt eine nosokomiale Infektion auftrat, konnten anhand der ISAS-Studie keine vergleichbaren Analysen durchgeführt werden. Ein Einfluss der Ausdehnung der Ischämie-bedingten Myokardschädigung, die anhand von Laborwerten wie der Kreatinkinase (CK) und der echokardiographisch bestimmten kardialen Ejektionsfraktion näherungsweise bestimmt wurde, auf die erhobenen Immunparameter fand sich nicht. Bei Herzinfarktpatienten mit einem vergleichsweise schweren Infarkt fanden sich aber wenige Stunden nach Symptombeginn eine signifikante Erhöhung der Leukozyten und eine vergleichsweise höhere Kortisol-Konzentration als Ausdruck einer stärkeren Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse.

4.2 Limitationen dieser Arbeit

Die dieser Promotionsarbeit zugrunde liegende an den Standorten Campus Virchow und Campus Mitte der Charité Berlin durchgeführte, prospektive ISAS-Studie weist relevante Limitationen auf, die im Folgenden dargestellt werden sollen.

I) Die geringe Fallzahl dieser Pilotstudie ließ eine multivariate Analyse nicht zu, was die Aussagekraft der Ergebnisse einschränkt.

II) Der ischämische Schlaganfall stellt eine heterogene, multifaktorielle Erkrankung dar, wobei in dieser Promotionsarbeit der konsekutive Bias durch eine Selektion von Patienten mit einem ischämischen Schlaganfall im Versorgungsgebiet der Arteria cerebri media reduziert werden konnte. Die Einteilung der Herzinfarktpatienten in verschiedene Schweregrade gemäß einzelner Laborwerte ist in der klinischen Praxis nicht etabliert. Eine dem zerebralen MRT vergleichbare Bestimmung des ischämischen Areals anhand eines kardialen MRTs stand bei Durchführung der ISAS-Studie noch nicht zur Verfügung. Bei den eingeschlossenen Patienten sind unterschiedliche Vormedikationen und Risikofaktoren, sowie in der Gruppe der Herzinfarktpatienten der erfolgte Einschluss von NSTEMI- und STEMI-Patienten, als mögliche Störgrößen in Betracht zu ziehen, für die aufgrund der geringen Fallzahl nicht adaptiert werden konnte.

III) Der Einfluss des sympathischen Nervensystems auf die zu beobachtende Immunantwort konnte anhand der ISAS-Studie nicht verdeutlicht werden, da diesbezüglicher Laborparameter nicht erhoben wurden.

IV) Aufgrund der geringen Zahl nosokomialer Infektionen in der Gruppe der Herzinfarktpatienten konnte keine Aussage über die prädiktive Wertigkeit einzelner Immunparameter für das Auftreten einer nosokomialen Infektion getroffen werden.

4.3 Schlussfolgerung

Im Vergleich zu gesunden Probanden war bei Patienten mit akutem Herzinfarkt bzw. akutem ischämischem Schlaganfall bereits wenige Stunden nach Symptombeginn neben einer Akute-Phase-Reaktion eine zumindest partielle funktionelle Deaktivierung von Monozyten und eine vergleichsweise niedrige lymphozytäre IFN-γ Freisetzung in vitro nachweisbar. Bei Schlaganfallpatienten fand sich zudem eine durch CD3+T-Zellen getragene Lymphozytopenie, die bei Patienten mit nosokomialer Infektion im weiteren Verlauf des stationären Aufenthaltes bereits bei stationärer Aufnahme signifikant ausgeprägter war. Das Ausmaß der Schlaganfall-bedingten zerebralen Schädigung scheint für die Ausprägung der Immunantwort relevant zu sein, wobei aufgrund der geringen Fallzahl keine validen Aussagen zur Bedeutung einzelner anatomischer Regionen getroffen werden konnten.

Die anhand von Labor- und echokardiographischen Daten geschätzte Ausdehnung des Ischämie-bedingten Myokardschadens scheint anhand unserer Ergebnisse für die Immunantwort nicht relevant zu sein, obwohl sich bei Patienten mit vergleichsweise ausgedehnterem Herzinfarkt Hinweise für eine initial stärkere Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse fanden. Im Vergleich zu Schlaganfallpatienten traten bei Patienten mit akutem Herzinfarkt deutlich weniger nosokomiale Infektionen auf, so dass eine diesbezügliche prädiktive Wertigkeit von Immunparametern anhand der vorliegenden Arbeit nicht beurteilt werden konnte.

Größere prospektive Studien sind notwendig, um die Ergebnisse der ISAS-Studie zu bestätigen und die Immunantwort nach akutem Herzinfarkt bzw. ischämischem Schlaganfall noch umfassender zu charakterisieren. Ein tiefgreifendes Verständnis der Immunantwort könnte möglicherweise neuen Therapiestrategien Vorschub leisten, die zumindest nach akuter zerebraler Ischämie zu einer Senkung der nosokomialen Infektionsrate beitragen könnten.

5. Literaturliste

1. Heuschmann, P.U., *Schlaganfallhäufigkeit und Versorgung von Schlaganfallpatienten in Deutschland.* Akt. Neurol, 2010. **37**: p. 333-340.
2. Kolominsky-Rabas, P.L. and P.U. Heuschmann, *[Incidence, etiology and long-term prognosis of stroke].* Fortschr Neurol Psychiatr, 2002. **70**(12): p. 657-62.
3. Lierse, M., et al., *Morbiditäts- und Mortalitätsraten des Schlaganfalls in Deutschland: Eine bevölkerungsbezogene Szenarioanalyse.* Stroke Morbidity and Mortality Rates in Germany: A Population-Based Scenario-Analysis, 2005(3): p. 136-142.
4. Kolominsky-Rabas, P.L., et al., *Lifetime cost of ischemic stroke in Germany: results and national projections from a population-based stroke registry: the Erlangen Stroke Project.* Stroke, 2006. **37**(5): p. 1179-83.
5. Poeck, K. and W. Hacke, *Neurologie*. Vol. 12. Auflage. 2006, Berlin, Heidelberg: Springer.
6. Hamm, C.W., et al., *ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC).* Eur Heart J, 2011. **32**(23): p. 2999-3054.
7. Destatis, *Gesundheitsberichterstattung, Sterbefälle insgesamt 2001 nach den 10 häufigsten Todesursachen der ICD-10*, S.B.d.B. Deutschland, Editor. 2011.
8. Robert-Koch-Institut, *Daten und Fakten: Ergebnisse der Studie "Gesundheit in Deutschland aktuell 2009". Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes.* 2011.
9. Markus, H.S., *Current treatments in neurology: stroke.* J Neurol, 2005. **252**(3): p. 260-7.
10. Adams, H.P., Jr., et al., *Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment.* Stroke, 1993. **24**(1): p. 35-41.
11. Kolominsky-Rabas, P.L., et al., *Epidemiology of ischemic stroke subtypes according to TOAST criteria: incidence, recurrence, and long-term survival in ischemic stroke subtypes: a population-based study.* Stroke, 2001. **32**(12): p. 2735-40.
12. Dietl, M., et al., *[Stroke etiology and long-term need of care in ischemic stroke patients].* Fortschr Neurol Psychiatr, 2009. **77**(12): p. 714-9.
13. Olivot, J.M., *Imaging of brain ischemia.* Rev Neurol (Paris), 2011. **167**(12): p. 873-80.
14. Dirnagl, U., et al., *Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance.* Stroke, 2007. **38**(2 Suppl): p. 770-3.
15. Haeusler, K.G., et al., *Impact of hospital admission during nonworking hours on patient outcomes after thrombolysis for stroke.* Stroke, 2011. **42**(9): p. 2521-5.
16. Adams, H.P., Jr., et al., *Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists.* Stroke, 2007. **38**(5): p. 1655-711.

17. Bruno, A., et al., *Acute blood glucose level and outcome from ischemic stroke. Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Investigators.* Neurology, 1999. **52**(2): p. 280-4.
18. Candelise, L., et al., *Prognostic significance of hyperglycemia in acute stroke.* Arch Neurol, 1985. **42**(7): p. 661-3.
19. Kammersgaard, L.P., et al., *Admission body temperature predicts long-term mortality after acute stroke: the Copenhagen Stroke Study.* Stroke, 2002. **33**(7): p. 1759-62.
20. Weir, C.J., et al., *Is hyperglycaemia an independent predictor of poor outcome after acute stroke? Results of a long-term follow up study.* Bmj, 1997. **314**(7090): p. 1303-6.
21. Candelise, L., et al., *Stroke-unit care for acute stroke patients: an observational follow-up study.* Lancet, 2007. **369**(9558): p. 299-305.
22. Czlonkowska, A., B. Cyrta, and J. Korlak, *Immunological observations on patients with acute cerebral vascular disease.* J Neurol Sci, 1979. **43**(3): p. 455-64.
23. Prass, K., et al., *Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation.* J Exp Med, 2003. **198**(5): p. 725-36.
24. Meisel, C., et al., *Preventive antibacterial treatment improves the general medical and neurological outcome in a mouse model of stroke.* Stroke, 2004. **35**(1): p. 2-6.
25. Asadullah, K., et al., *Immunodepression following neurosurgical procedures.* Crit Care Med, 1995. **23**(12): p. 1976-83.
26. Woiciechowsky, C., et al., *Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury.* Nat Med, 1998. **4**(7): p. 808-13.
27. Chamorro, A., et al., *The immunology of acute stroke.* Nat Rev Neurol, 2012. **8**(7): p. 401-10.
28. Meisel, C., et al., *Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome.* Nat Rev Neurosci, 2005. **6**(10): p. 775-86.
29. Chamorro, A., et al., *Interleukin 10, monocytes and increased risk of early infection in ischaemic stroke.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2006. **77**(11): p. 1279-81.
30. Chamorro, A., X. Urra, and A.M. Planas, *Infection after acute ischemic stroke: a manifestation of brain-induced immunodepression.* Stroke, 2007. **38**(3): p. 1097-103.
31. Haeusler, K.G., et al., *Cellular immunodepression preceding infectious complications after acute ischemic stroke in humans.* Cerebrovasc Dis, 2008. **25**(1-2): p. 50-8.
32. Vogelgesang, A., et al., *Analysis of lymphocyte subsets in patients with stroke and their influence on infection after stroke.* Stroke, 2008. **39**(1): p. 237-41.
33. Harms, H., et al., *Preventive antibacterial therapy in acute ischemic stroke: a randomized controlled trial.* PLoS ONE, 2008. **3**(5): p. e2158.
34. Chamorro, A., et al., *Catecholamines, infection, and death in acute ischemic stroke.* J Neurol Sci, 2007. **252**(1): p. 29-35.
35. Urra, X., et al., *Monocyte subtypes predict clinical course and prognosis in human stroke.* J Cereb Blood Flow Metab, 2009. **29**(5): p. 994-1002.
36. Prass, K., et al., *Stroke propagates bacterial aspiration to pneumonia in a model of cerebral ischemia.* Stroke, 2006. **37**(10): p. 2607-12.

37. Schulte-Herbruggen, O., et al., *Mouse strains differ in their susceptibility to poststroke infections.* Neuroimmunomodulation, 2006. **13**(1): p. 13-8.
38. Griffin, G.D., *The injured brain: TBI, mTBI, the immune system, and infection: connecting the dots.* Mil Med, 2011. **176**(4): p. 364-8.
39. Meisel, A., et al., *Predicting post-stroke infections and outcome with blood-based immune and stress markers.* Cerebrovasc Dis, 2012. **33**(6): p. 580-8.
40. Katzan, I.L., et al., *The effect of pneumonia on mortality among patients hospitalized for acute stroke.* Neurology, 2003. **60**(4): p. 620-5.
41. Heuschmann, P.U., et al., *Predictors of in-hospital mortality and attributable risks of death after ischemic stroke: the German Stroke Registers Study Group.* Arch Intern Med, 2004. **164**(16): p. 1761-8.
42. Johnston, K.C., et al., *Medical and neurological complications of ischemic stroke: experience from the RANTTAS trial. RANTTAS Investigators.* Stroke, 1998. **29**(2): p. 447-53.
43. Weimar, C., et al., *Complications following acute ischemic stroke.* Eur Neurol, 2002. **48**(3): p. 133-40.
44. Grau, A.J., et al., *Fever and infection early after ischemic stroke.* J Neurol Sci, 1999. **171**(2): p. 115-20.
45. Langhorne, P., et al., *Medical complications after stroke: a multicenter study.* Stroke, 2000. **31**(6): p. 1223-9.
46. Aslanyan, S., et al., *Pneumonia and urinary tract infection after acute ischaemic stroke: a tertiary analysis of the GAIN International trial.* Eur J Neurol, 2004. **11**(1): p. 49-53.
47. Hilker, R., et al., *Nosocomial pneumonia after acute stroke: implications for neurological intensive care medicine.* Stroke, 2003. **34**(4): p. 975-81.
48. Marik, P.E., *Aspiration pneumonitis and aspiration pneumonia.* N Engl J Med, 2001. **344**(9): p. 665-71.
49. Perry, L. and C.P. Love, *Screening for dysphagia and aspiration in acute stroke: a systematic review.* Dysphagia, 2001. **16**(1): p. 7-18.
50. Nakagawa, T., et al., *Silent cerebral infarction: a potential risk for pneumonia in the elderly.* J Intern Med, 2000. **247**(2): p. 255-9.
51. Chamorro, A., et al., *The Early Systemic Prophylaxis of Infection After Stroke study: a randomized clinical trial.* Stroke, 2005. **36**(7): p. 1495-500.
52. Schwarz, S., et al., *Effects of prophylactic antibiotic therapy with mezlocillin plus sulbactam on the incidence and height of fever after severe acute ischemic stroke: the Mannheim infection in stroke study (MISS).* Stroke, 2008. **39**(4): p. 1220-7.
53. Van de Werf, F., et al., *Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology.* Eur Heart J, 2008. **29**(23): p. 2909-45.
54. Ross, R. and J.A. Glomset, *The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts).* N Engl J Med, 1976. **295**(7): p. 369-77.
55. Libby, P., P.M. Ridker, and G.K. Hansson, *Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice.* J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(23): p. 2129-38.
56. Woollard, K.J. and F. Geissmann, *Monocytes in atherosclerosis: subsets and functions.* Nat Rev Cardiol, 2010. **7**(2): p. 77-86.
57. Glaudemans, A.W., et al., *Molecular imaging in atherosclerosis.* Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2010. **37**(12): p. 2381-97.
58. Ren, G., O. Dewald, and N.G. Frangogiannis, *Inflammatory mechanisms in myocardial infarction.* Curr Drug Targets Inflamm Allergy, 2003. **2**(3): p. 242-56.

59. Daga, L.C., U. Kaul, and A. Mansoor, *Approach to STEMI and NSTEMI.* J Assoc Physicians India, 2011. **59 Suppl**: p. 19-25.
60. Weber, M. and C. Hamm, *[Redefinition of myocardial infarction--relevance of biomarkers].* Herz, 2008. **33**(2): p. 115-21.
61. Rottbauer, W., et al., *Troponin T: a diagnostic marker for myocardial infarction and minor cardiac cell damage.* Eur Heart J, 1996. **17 Suppl F**: p. 3-8.
62. Howie-Esquivel, J. and M. White, *Biomarkers in acute cardiovascular disease.* J Cardiovasc Nurs, 2008. **23**(2): p. 124-31.
63. Hamm, C.W., et al., *[ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)].* G Ital Cardiol (Rome), 2012. **13**(3): p. 171-228.
64. Sinnaeve, P.R., *Routine invasive versus conservative management in non-ST-elevation acute coronary syndromes.* J Cardiovasc Transl Res, 2012. **5**(1): p. 22-9.
65. Chamorro, A., et al., *Comparison of the acute-phase response in patients with ischemic stroke treated with high-dose heparin or aspirin.* J Neurol Sci, 2000. **178**(1): p. 17-22.
66. Bartosik-Psujek, H., E. Belniak, and Z. Stelmasiak, *Markers of inflammation in cerebral ischemia.* Neurol Sci, 2003. **24**(4): p. 279-80.
67. Brunetti, N.D., et al., *Acute phase proteins in patients with acute coronary syndrome: Correlations with diagnosis, clinical features, and angiographic findings.* Eur J Intern Med, 2007. **18**(2): p. 109-17.
68. Brunetti, N.D., et al., *C-reactive protein in patients with acute coronary syndrome: correlation with diagnosis, myocardial damage, ejection fraction and angiographic findings.* Int J Cardiol, 2006. **109**(2): p. 248-56.
69. Nunez, J., et al., *Prognostic value of leukocytosis in acute coronary syndromes: the cinderella of the inflammatory markers.* Curr Med Chem, 2006. **13**(18): p. 2113-8.
70. Sanchis, J., et al., *Prognostic usefulness of white blood cell count on admission and one-year outcome in patients with non-ST-segment elevation acute chest pain.* Am J Cardiol, 2006. **98**(7): p. 885-9.
71. Nunez, J., et al., *Usefulness of the neutrophil to lymphocyte ratio in predicting long-term mortality in ST segment elevation myocardial infarction.* Am J Cardiol, 2008. **101**(6): p. 747-52.
72. Dragu, R., et al., *Predictive value of white blood cell subtypes for long-term outcome following myocardial infarction.* Atherosclerosis, 2008. **196**(1): p. 405-12.
73. Mariani, M., et al., *Significance of total and differential leucocyte count in patients with acute myocardial infarction treated with primary coronary angioplasty.* Eur Heart J, 2006. **27**(21): p. 2511-5.
74. del Fresno, C., et al., *Inflammatory responses associated with acute coronary syndrome up-regulate IRAK-M and induce endotoxin tolerance in circulating monocytes.* J Endotoxin Res, 2007. **13**(1): p. 39-52.
75. Schwartz, R.H., *Natural regulatory T cells and self-tolerance.* Nat Immunol, 2005. **6**(4): p. 327-30.
76. Hynninen, M., et al., *Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis.* Shock, 2003. **20**(1): p. 1-4.

77. Wolk, K., et al., *Impaired antigen presentation by human monocytes during endotoxin tolerance.* Blood, 2000. **96**(1): p. 218-23.
78. Woiciechowsky, C., et al., *Mechanisms of brain-mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression.* J Mol Med, 1999. **77**(11): p. 769-80.
79. Vilcek, J., *The Cytokines: An Overview.*, in *The cytokine handbook*, J.J. Oppenheim, Editor. 1998, Academic press Limited. p. 1-19.
80. Hsieh, C.S., et al., *Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages.* Science, 1993. **260**(5107): p. 547-9.
81. Le Gros, G., et al., *Generation of interleukin 4 (IL-4)-producing cells in vivo and in vitro: IL-2 and IL-4 are required for in vitro generation of IL-4-producing cells.* J Exp Med, 1990. **172**(3): p. 921-9.
82. Swain, S.L., et al., *IL-4 directs the development of Th2-like helper effectors.* J Immunol, 1990. **145**(11): p. 3796-806.
83. Hehlgans, T. and K. Pfeffer, *The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games.* Immunology, 2005. **115**(1): p. 1-20.
84. Renno, T., M. Hahne, and H.R. MacDonald, *Proliferation is a prerequisite for bacterial superantigen-induced T cell apoptosis in vivo.* J Exp Med, 1995. **181**(6): p. 2283-7.
85. Schroder, K., et al., *Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions.* J Leukoc Biol, 2004. **75**(2): p. 163-89.
86. Hamm, C.W., *[Guidelines: acute coronary syndrome (ACS). 1: ACS without persistent ST segment elevations].* Z Kardiol, 2004. **93**(1): p. 72-90.
87. Hamm, C.W., *[Guidelines: Acute coronary syndrome (ACS). II: Acute coronary syndrome with ST-elevation].* Z Kardiol, 2004. **93**(4): p. 324-41.
88. Kulkens, S., P.A. Ringleb, and W. Hacke, *[Recommendations of the European Stroke Initiative (EUSI) for treatment of ischemic stroke--update 2003. Part 2: prevention and rehabilitation].* Nervenarzt, 2004. **75**(4): p. 380-8.
89. Kulkens, S., P.A. Ringleb, and W. Hacke, *[Recommendations of the European Stroke Initiative (EUSI) for treatment of ischemic stroke--update 2003. I. organization and acute therapy].* Nervenarzt, 2004. **75**(4): p. 368-79.
90. Haeusler, K.G., et al., *Immune responses after acute ischemic stroke or myocardial infarction.* Int J Cardiol, 2012. **155**(3): p. 372-7.
91. Berger, K., et al., *[The reliability of stroke scales. The german version of NIHSS, ESS and Rankin scales].* Fortschr Neurol Psychiatr, 1999. **67**(2): p. 81-93.
92. Daniels, S.K., et al., *Aspiration in patients with acute stroke.* Arch Phys Med Rehabil, 1998. **79**(1): p. 14-9.
93. Myrianthefs, P.M., et al., *Nosocomial pneumonia.* Crit Care Nurs Q, 2004. **27**(3): p. 241-57.
94. Audebert, H.J., et al., *Postthrombolysis hemorrhage risk is affected by stroke assessment bias between hemispheres.* Neurology, 2011. **76**(7): p. 629-36.
95. Mathison, J., et al., *Regulatory mechanisms of host responsiveness to endotoxin (lipopolysaccharide).* Pathobiology, 1991. **59**(3): p. 185-8.
96. Moore, G.E., R.E. Gerner, and H.A. Franklin, *Culture of normal human leukocytes.* JAMA, 1967. **199**(8): p. 519-24.
97. Hochberg, Y. and A.C. Tamhane, *Multiple comparison procedures*. Wiley series in probability and mathematical statistics. Applied probability and statistics,. 1987, New York: Wiley. xxii, 450 p.
98. Correale, M., et al., *Acute phase proteins in atherosclerosis (acute coronary syndrome).* Cardiovasc Hematol Agents Med Chem, 2008. **6**(4): p. 272-7.

99. Dhabhar, F.S., *Stress-induced augmentation of immune function--the role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines.* Brain Behav Immun, 2002. **16**(6): p. 785-98.
100. Klehmet, J., et al., *Stroke-induced immunodepression and post-stroke infections: lessons from the preventive antibacterial therapy in stroke trial.* Neuroscience, 2009. **158**(3): p. 1184-93.
101. Pasqui, A.L., et al., *Pro-inflammatory/anti-inflammatory cytokine imbalance in acute coronary syndromes.* Clin Exp Med, 2006. **6**(1): p. 38-44.
102. Asadullah, K., et al., *Very low monocytic HLA-DR expression indicates high risk of infection--immunomonitoring for patients after neurosurgery and patients during high dose steroid therapy.* Eur J Emerg Med, 1995. **2**(4): p. 184-90.
103. Zhang, D.P., et al., *A decrease of human leucocyte antigen-DR expression on monocytes in peripheral blood predicts stroke-associated infection in critically-ill patients with acute stroke.* Eur J Neurol, 2009. **16**(4): p. 498-505.
104. Vogelgesang, A., et al., *Functional status of peripheral blood T-cells in ischemic stroke patients.* PLoS One, 2010. **5**(1): p. e8718.
105. Strohmeyer, J.C., et al., *Standardized immune monitoring for the prediction of infections after cardiopulmonary bypass surgery in risk patients.* Cytometry B Clin Cytom, 2003. **53**(1): p. 54-62.
106. Docke, W.D., et al., *Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment.* Nat Med, 1997. **3**(6): p. 678-81.
107. Urra, X., et al., *Monocytes are major players in the prognosis and risk of infection after acute stroke.* Stroke, 2009. **40**(4): p. 1262-8.
108. Liesz, A., et al., *Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke.* Nat Med, 2009. **15**(2): p. 192-9.
109. Blum, A. and S. Yeganeh, *The role of T-lymphocyte subpopulations in acute myocardial infarction.* Eur J Intern Med, 2003. **14**(7): p. 407-410.
110. Cheng, X., et al., *TH1/TH2 functional imbalance after acute myocardial infarction: coronary arterial inflammation or myocardial inflammation.* J Clin Immunol, 2005. **25**(3): p. 246-53.
111. Urra, X., et al., *Harms and benefits of lymphocyte subpopulations in patients with acute stroke.* Neuroscience, 2009. **158**(3): p. 1174-83.

X. Anhang

X.I Glossar

ACS	Akutes Koronarsyndrom
ATP	Adenosintriphosphat
CD	Cluster of differentiation
CK	Kreatininkinase
Con A	Concavalin A
CRP	c- reaktives Protein
DWI	Diffusion weighted imaging, Diffusions- gewichtete Bildgebung
ELISA	Enzyme- linked Immunosorbent Assay
EKG	Elektrokardiogramm
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorter
HLA-DR	Human Leukocyte Antigen DR
HPn	Herzinfarktpatienten mit nicht-schwerem Ereigniss
HPs	Herzinfarktpatienten mit schwerem Ereigniss
HPI+	Herzinfarktpatienten mit nosokomialer Infektion
HPI-	Herzinfarktpatienten ohne nosokomialer Infektion
HWI	Harnwegsinfekt
IFN-γ	Interferon-γ
IL	Interleukin
ISAS	Immunosuppression after Stroke [Studie der Charité]
LPS	Lipopolysaccharid
KG	Kontrollgruppe gesunder Probanden
KHK	Koronare Herzkrankheit
MHC	Major histocompatibility complex
MRT	Magnetresonanztomographie
NIHSS	National Institute of Health Stroke Scale
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NSTEMI	Nicht-ST-Strecken-Hebungsinfarkt
PWI	Perfusion weighted imaging, Perfusions- gewichtete Bildgebung
SPV-	Schlaganfallpatienten mit zerebraler Ischämie <20cm^3 (DWI /PWI)
SPV+	Schlaganfallpatienten mit zerebraler Ischämie >20cm^3 (DWI /PWI)
SPI-	Schlaganfallpatienten ohne nosokomiale Infektion
SPI+	Schlaganfallpatienten mit nosokomialer Infektion
STEMI	ST-Strecken-Hebungsinfarkt
T_H	T- Helferzellen
T_H1, T_H2	T- Helferzellen Typ 1 bzw. Typ 2
TNF-α	Tumornekrosefaktor α
ZNS	Zentrales Nervensystem

X.II MRT-Bildgebung, Sequenzparameter und Messzeiten

Die Feldstärke der eingesetzten MRTs betrug einheitlich 1,5 T. Grundeinstellungen für alle akquirierten Sequenzen (bis auf die MR Angiographie) waren: Field-of-view (FoV)=220–260mm, Schichtdicke: 5–6mm, gap ≤ 20%. Die folgenden Angaben zu den einzelnen Sequenzen waren lediglich Richtwerte, die konkreten Einstellungen an den einzelnen MRTs können davon abweichen:

T1-gewichtete MRT:

Vor und nach Kontrastmittelapplikation; Spin-Echo: Echo Time (TE) =14ms; Repetition Time (TR) = 600ms; Matrix=256x256; Akquisitionszeit =2min.

T2-gewichtete MRT:

Turbo spin echo (TSE), drei Echos bei TE=15ms, 75ms, 135ms; TR=2900ms; Matrix=256x256, Akquisitionszeit =4min.

Diffusionsgewichtete Bildgebung (DWI):

Echo planar imaging (EPI): TE=114ms; TR=4700ms; Matrix=256x256, b-Wert=1000 s/mm^2, Akquisitionszeit =1min. Zusätzlich erfolgte die Berechnung von ADC-Maps.

T2*- gewichtete MRT:

Gradient Echo Echo planar imaging (GE-EPI) zur Durchführung einer perfusionsgewichteten Bildgebung (PWI) unmittelbar nach Applikation von 0.1mmol/kg Körpergewicht Gd-DTPA (Injektionsrate 4ml/s und nachfolgender Spülung mit 20ml 0,9%iger Natriumchloridlösung): TE=56ms; TR=1000–1300ms; Matrix 128x128; Akquisitionszeit =1min.

MR- Angiographie:

Time-of-Flight Angiography (TOF-MRA): TE=7ms; TR=35ms; Akquisitionsvolumen: 200x200x150mm^3; Voxelvolumen: 0,4x0,4x0,8mm^3; Akquisitionszeit=6min.

X.III NIHSS-Skala. Erläuterungen und Definitionen zur Befunderhebung

1a	Bewusstseinslage (Vigilanz)	(0) Wach, unmittelbar antwortend. (1) Benommen, aber durch geringe Stimulation zum Befolgen von Aufforderungen, Antworten oder Reaktionen zu bewegen. (2) Somnolent, bedarf wiederholter Stimulation um aufmerksam zu sein, oder ist soporös und bedarf starker oder schmerzhafter Stimulation zum Erzielen von Bewegungen. (3) Koma, antwortet nur mit motorischen oder vegetativen Reflexen oder reagiert gar nicht, ist schlaff und ohne Reflexe. Anmerkung: bei Koma erhält Skala 7 (Extremitätenataxie) 0 Pkte.
1b	Orientierung	Frage nach Monat und Alter (0) beide Fragen richtig beantwortet. (1) eine Frage richtig beantwortet. (2) keine Frage richtig beantwortet.
1c	Befolgung von Aufforderungen	Aufforderung die Augen und die nicht paretische Hand zu öffnen und zu schließen (0) beide Aufforderung richtig befolgt. (1) eine Aufforderung richtig befolgt. (2) keine Aufforderung richtig befolgt.
2	Blick-bewegungen (Okulomotorik)	(0) Normal. (1) Partielle Blickparese = wenn die Blickrichtung von einem oder bd. Augen abnormal ist, jedoch keine forcierte Blickdeviation oder komplette Blickparese besteht (e. g. Augenmuskelparese). Auch bei unzureichender Kooperation 1 Pkt. (2) Forcierte Blickdeviation oder komplette Blickparese, die durch Ausführen des oculocephalen Reflexes nicht überwunden werden kann.
3	Gesichtsfeld	(0) keine Einschränkung. (1) partielle Hemianopsie. (2) komplette Hemianopsie. (3) bilaterale Hemianopsie (Blindheit oder corticale Blindheit). Anmerkung: Bei fehlender Beurteilbarkeit 0 Pkte.
4	Facialisparese	(0) normal. (1) gering (abgeflachte Nasolabialfalte, Asymmetrie beim Lächeln). (2) partiell (vollständige oder fast vollständige Parese des unteren Gesichts). (3) vollständig auf einer oder bd. Seiten (fehlende Bewegungen unterer und oberer Teil des Gesichts).
5	Motorik Arme getrennt für links und rechts z. B. bei Tetraparese	(0) kein Absinken (der Arm wird über 10 Sekunden in der 90º/45º Position gehalten) (1) Absinken (der Arm wird zunächst bei 90º/45º gehalten, sinkt aber im Verlauf von 10 Sek. ab. (2) Anheben gegen Schwerkraft möglich (der Arm kann die 90º/45º Position nicht erreichen oder halten, sinkt auf die Liegefläche ab, kann aber gegen Schwerkraft angehoben werden) (3) Kein (aktives) Anheben gegen Schwerkraft, der Arm fällt nach passivem Anheben sofort auf die Liegefläche. (4) Keine Bewegung. Anmerkung: bei Amputation oder Gelenkversteif. 0 Pkte; bei Plegie erhält Skala 7 (Extremitätenataxie) 0 Pkte.
6	Motorik Beine getrennt für links und rechts z. B. bei Tetraparese	(0) Kein Absinken (das Bein bleibt über 5 Sekunden in der 30º Position). (1) Absinken (das Bein sinkt am Ende der 5 Sekundenperiode, berührt aber die Liegefläche nicht). (2) Aktive Bewegung gegen die Schwerkraft (das Bein sinkt binnen 5 Sek. auf die Liegefläche ab, kann aber gegen die Schwerkraft gehoben werden). (3) Kein (aktives) Anheben gegen die Schwerkraft, das Bein fällt nach passivem Anheben sofort auf die Liegefläche. (4) Keine Bewegung. Anmerkung: bei Amputation oder Gelenkversteif. 0 Pkte; bei Plegie erhält Skala 7 (Extremitätenataxie) 0 Pkte.
7	Extremitäten-ataxie	(0) fehlend. (1) in einer Extremität vorhanden. (2) in zwei Extremitäten vorhanden. Anmerkung: wird bei Verständigungsschwierigkeiten oder Plegie als fehlend (0 Pkte.) gewertet. Wird bei Angabe von Koma (s. Skala 1a) als fehlend (0 Pkte.) gewertet.
8	Sensibilität	(0) Normal; kein Sensibilitätsverlust. (1) Leichter bis mittelschwerer Sensibilitätsverlust; Patient empfindet Nadelstiche auf der betroffenen Seite als stumpf, oder er nimmt diese nur als Berührung wahr. (2) Schwerer bis vollständiger Sensibilitätsverlust; Patient nimmt die Berührung von Gesicht, Arm und Bein nicht wahr.
9	Sprache	(0) normal; keine Aphasie. (1) Leichte bis mittelschwere Aphasie; deutliche Einschränkung der Wortflüssigkeit oder des Sprachverständnisses, keine relevante Einschränkung von Umfang oder Art des Ausdruckes. Die Einschränkung des Sprachvermögens und/oder des Sprachverständnisses macht die Unterhaltung schwierig bis unmöglich. (2) Schwere Aphasie; die Kommunikation findet über fragmentierte Ausdrucksformen statt. Der Untersucher muss das Gesagte in großem Umfang interpretieren, nachfragen oder erraten. Der Untersucher trägt im wesentlichen die Kommunikation. (3) Stumm, globale Aphasie; Sprachproduktion oder Sprachverständnis nicht verwertbar (auch bei Koma).
10	Dysarthrie	(0) Normal. (1) Leicht bis mittelschwer; der Patient spricht zumindest einige Worte verwaschen und kann nur mit Schwierigkeiten verstanden werden. (2) Schwer, anarthrisch; die verwaschene Sprache des Patienten ist unverständlich und beruht nicht auf einer Aphasie. Anmerkung: Bei Intubation o. ä. 0 Punkte
11	Neglekt	(0) Keine Abnormalität. (1) Visuelle, taktile, auditive oder personenbezogene Unaufmerksamkeit oder Auslöschung bei Überprüfung von gleichzeitiger bilateraler Stimulation in einer der sensiblen Qualitäten. (2) Schwere halbseitige Unaufmerksamkeit. Kein Erkennen der eigenen Hand oder Orientierung nur zu einer Seite des Raumes.

XI. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Fabian Föhring, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Immunantwort nach akuter zerebraler oder koronarer Ischämie beim Menschen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -*www.**icmje**.org*) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum Unterschrift

Fabian Föhring

XII. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

XIII. Anteilserklärung

Fabian Föhring hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Haeusler, KG; Schmidt, WU; Foehring, F; Meisel, C; Helms, T; Jungehulsing, JG; Nolte, HC; Schmolke, K; Wegner, B; Meisel, A; Dirnagl, U; Villringer, A; Volk, HD

Cellular immunodepression preceding infectious complications after acute ischemic stroke in humans. Cerebrovasc Dis, 2008. **25**(1-2): p. 50-8.

Beitrag im Einzelnen: Studiendesign (20%), Unterstützung der Patientenrekrutierung (50%), eigenständige Laborarbeit (40%), Erheben von Primärdaten (40%), Datenanalyse (20%), Literaturrecherche (10%).

Publikation 2: Haeusler, KG; Schmidt, WU; Foehring, F; Meisel, C; Guenther, C; Brunecker, P; Kunze, C; Helms, T; Dirnagl, U; Volk, HD; Villringer, A

Immune responses after acute ischemic stroke or myocardial infarction. Int J Cardiol, 2012. **155**(3): p. 372-7.

Beitrag im Einzelnen: Studiendesign (10%), Unterstützung der Patientenrekrutierung (50%), eigenständige Laborarbeit (50%), Erheben von Primärdaten (50%), Datenanalyse (20%), Literaturrecherche (20%), Teilhabe an der Verfassung des Manuskriptes (20%).

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

XIV. Danksagung

An erster Stelle richtet sich mein Dank an Prof. Dr. Arno Villringer für die Überlassung des Themas. Ein besonderer Dank gebührt meinem Betreuer und Doktorvater PD Dr. Georg Häusler für seine wohlwollende Begleitung, seine tatkräftige Unterstützung und unermüdliche Geduld. Seine fachliche Unterstützung und zahlreichen Anregungen stellen einen unschätzbaren Beitrag für diese Arbeit dar.

Bei Chista Liebenthal bedanke ich mich für Ihre stetige Unterstützung im Labor und Hilfestellung bei der Einarbeitung in die einzelnen Methoden. Ebenso möchte ich Dr. Peter Brunecker für seine Hilfe im MRT und für seine fachlichen Hinweise danken.

Die Zusammenarbeit mit meinem Mit-Doktoranden Wolf Schmidt habe ich sehr genossen, für die Tage und Nächte in den Laboren, die Patientenrekrutierung und die Teamarbeit danke ich ihm sehr.

Ohne die Hilfe meiner Ehefrau Andrea wäre der Abschluss dieser Arbeit nicht möglich gewesen. Für ihren Einsatz und ihre Bereitschaft mir im familiären Alltag den Rücken freizuhalten, danke ich ihr von ganzem Herzen. Ihr ist diese Arbeit gewidmet.