

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

DISSERTATION

„Immunsuppression nach akuter zerebraler Ischämie beim Menschen“

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Wolf Ulrich Herbert Schmidt
aus Rostock

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. A. Villringer
 2. Prof. Dr. med. O. Witte
 3. Prof. Dr.med. H.-D. Volk

Datum der Promotion: 29.01.2010

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	3
1. EINLEITUNG	5
1.1. Epidemiologie und Semiologie des Schlaganfalls	5
1.3. Infektionen als Ursache und Folge eines akuten Schlaganfalls.....	7
1.4. Basisparameter der Immunkompetenz.....	9
1.5. Immunologische Veränderungen nach akutem ischämischen Schlaganfall	11
1.6. Herleitung der Aufgabenstellung und Zielsetzung der Arbeit	13
2. METHODEN	14
2.1. Studienpopulation und Studienkriterien	14
2.2. Studienprotokoll.....	15
2.3. Immunologische Diagnostik.....	16
Bestimmung von TNF- α , IL-6, IL-10, Kortisol und Procalcitonin in vivo	16
Messung der monozytären TNF- α Sekretion ex vivo	16
Bestimmung der monozytären HLA-DR- Expression	17
Messung der T- Zell Zytokin- Sekretion ex vivo mittels CBA.....	18
2.4. MRT und volumetrische Untersuchungen	19
2.5. Statistik.....	19
3. ERGEBNISSE	20
3.1 Charakteristika der Studienpopulation.....	20
3.2. Immunmonitoring bei Schlaganfallpatienten und Kontrollen.....	21
Klinische und Paraklinische Entzündungsparameter und Kortisol	21
Monozytäre HLA-DR- Expression und Stimulationstests ex vivo	24
3.3. Klinische Einflussgrößen auf die Immunantwort bei Schlaganfallpatienten	25
3.4. Inzidenz und Risikofaktoren nosokomialer Infektionen nach Schlaganfall	26
3.5. Frühe Veränderungen der Immunantwort bei Patienten mit nosokomialer Infektion nach akutem Schlaganfall.....	30

3.6. Prädiktiver Wert von Immunparametern, zerebraler Bildgebung und klinischen Parametern für eine nosokomiale Infektion	31
4. DISKUSSION	34
Analyse der Immunantwort nach akutem Schlaganfall	35
Auftreten nosokomialer Infektionen nach akutem Schlaganfall.....	37
Analyse der Immunantwort im Hinblick auf nosokomiale Infektionen.....	37
Prädiktoren für die Entwicklung einer Infektion nach akuter zerebraler Ischämie ...	40
Limitationen der prospektiven Studie	40
5. Zusammenfassung	42
6. Literatur	43
7. ANHANG	50
7.1. Sequenzparameter der MRT- Bildgebung	50
7.2. Erläuterungen zur neurologischen Befunderhebung mittels NIHSS	51
7.3. Glossar	52
7.4. Lebenslauf.....	53
7.5. Erklärung an Eides statt	53

1. EINLEITUNG

1.1. Epidemiologie und Semiologie des Schlaganfalls

Anhand epidemiologischer Studien wurde für die deutsche Bevölkerung unlängst eine jährliche Schlaganfall-Inzidenz von 219 pro 100000 Einwohner errechnet [1, 2]. Somit treten in Deutschland pro Jahr rund 150- 200000 Schlaganfälle auf, wobei mehr als 50% aller Schlaganfallpatienten älter als 75 Jahre sind [3]. Im Hinblick auf die demographische Entwicklung wird die Schlaganfall-Prävalenz weiterhin steigen [1]. Mit einer Mortalität von 20- 25% steht der Schlaganfall, nach Herzerkrankungen und malignen Tumorerkrankungen an Platz drei der Todesursachen in Deutschland (Statistisches Bundesamt Wiesbaden, 2004). Darüber hinaus sind Schlaganfälle die führende Ursache dauernder Invalidität und gehören medizinökonomisch zur teuersten Krankheitsgruppe in westlichen Industrieländern [4, 5].

Etwa 85 % aller Schlaganfälle werden durch eine zerebrale Ischämie und etwa 15% durch eine intrakranielle Blutung bedingt [6]. Anhand der TOAST-Kriterien [7] werden zerebrale Ischämien gemäß ihrer wahrscheinlichen Ätiologie in Schlaganfälle durch

- „Arteriosklerose großer hirnversorgender Arterien“,
- eine „kardiale Embolie“,
- den „Verschluss kleiner Hirngefäße“,
- „andere definierte Ursachen“ (z.B. Dissektionen oder Gerinnungsstörungen) bzw.
- „ungeklärter Ätiologie“ unterteilt.

Dabei stellen kardioembolische Ursachen mit 25% und eine zerebrale Mikro- und Makroangiopathie mit je 20% die häufigsten Ursachen dar. Bei weiteren 20% aller Schlaganfallpatienten kann bisher keine ätiologische Zuordnung erfolgen [8].

Bei vollständiger Regredienz der fokal-neurologischen Defizite innerhalb von 24 Stunden wurden zerebrale Ischämien bislang als transitorisch ischämische Attacke (TIA) bezeichnet. Ein Wandel der TIA- Definition mit einer Dauer des fokal-neurologischen Defizits unter 1 Stunde ohne Nachweis pathologischer Veränderungen in der zerebralen Magnetresonanztomographie (MRT) zeichnet sich jedoch ab [9].

1.2. Pathophysiologie des Schlaganfalls und Akuttherapie

Der Energieverbrauch des Gehirns ist im Hinblick auf den relativ geringen Anteil am Körpergewicht sehr hoch und beträgt mehr als 20% des Körperbedarfs. Die sich im Zuge einer zerebralen Ischämie des Gehirns ausbildende Gewebeschädigung resultiert aus einem Ischämie- bedingten Absinken des intrazellulären ATPs, das zu einer Wiederaufnahmestörung des exzitatorisch wirksamen Neurotransmitters Glutamat und einer verminderten Aktivität der membranständigen Na^+/K^+ -ATPase führt. Das konsekutive zytotoxische Ödem führt zu einem nekrotischen Zelluntergang. Das den Infarktkern in der Frühphase umgebende Hirnareal mit gestörtem Funktions- jedoch erhaltenem Strukturstoffwechsel wird als „Penumbra“ bezeichnet (zur Übersicht [10]).

Im vom Schlaganfall betroffenen Hirngewebe kommt es darüber hinaus zu einer lokalen Entzündungsreaktion mit Einwanderung von Leukozyten und Aktivierung von Astrozyten, Endothelzellen und Mikrogliazellen. Die konsekutive Freisetzung von Zyto- und Chemokinen unterliegt komplexen Regelkreisen, kann jedoch zu einer Progression des ischämisch bedingten Schaden führen [11].

Die zerebrale Reperfusion durch Wiedereröffnung des verschlossenen Hirngefäßes, beispielsweise durch eine „Lysetherapie“ mittels eines rekombinanten Plasminogen-Aktivators (rt-PA (zur Übersicht [12]), stellt daher einen Kernpunkt der bisherigen Akuttherapie nach einem ischämischen Schlaganfall dar, um durch Reperfusion nach Thrombolyse den Funktionsstoffwechsel der Penumbra wiederherzustellen. Aufgrund möglicher Blutungskomplikationen ist eine Lysetherapie jedoch nur in einem Zeitfenster von wenigen Stunden nach Symptombeginn und unter Beachtung der vielfältigen Kontraindikationen möglich, so dass derzeit nur etwa 5 % aller Schlaganfallpatienten eine Lysetherapie erhalten [13, 14].

Trotz vielversprechender Ergebnisse im Tiermodell der zerebralen Ischämie konnte bisher kein neuroprotektiv wirksames Medikament etabliert werden, so dass die Akuttherapie neben der Lysetherapie auf die Normierung von Blutzucker und Körpertemperatur sowie eine bedarfsgerechte Blutdruckeinstellung begrenzt ist [12, 15-18]. Durch die Behandlung von Schlaganfallpatienten auf spezialisierten Behandlungseinheiten, sogenannten „stroke units“, konnten die Schlaganfall-assoziierte Mortalität und Morbidität in den letzten Jahren deutlich gesenkt werden [19].

1.3. Infektionen als Ursache und Folge eines akuten Schlaganfalls

Anhand epidemiologischer Studien konnte belegt werden, dass neben kardiovaskulären Risikofaktoren wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus und Fettstoffwechselstörung [20] auch akute und chronische Infektionen als Risikofaktor für einen ischämischen Schlaganfall anzusehen sind [21-29].

In sowohl retrospektiven wie auch prospektiven Studien zeigte sich, dass innerhalb der ersten Wochen 2- 24% aller Schlaganfallpatienten eine Pneumonie und 6- 24% einen Harnwegsinfekt entwickeln [30-44]. Dabei weisen retrospektive Studien mit größeren Patientenzahlen durchschnittlich geringere Infektionsraten als prospektive Beobachtungsstudien auf.

Autoren	Fallzahl	Studiendesign	Harnwegs- infekt	Pneumonie	Ref.
Aslanyan et al.	1455	Prospektiv	17 %	14 %	[30]
Davenport et al.	597	Retrospektiv	16 %	12 %	[31]
Georgilis et al.	330	Retrospektiv	12 %	10 %	[32]
Grau et al.	119	Prospektiv	11 %	2 %	[33]
Hamidon et al.	163	Prospektiv	12 %	4 %	[34]
Heuschmann et al.	13440	Retrospektiv	(*)	6 %	[35]
Hilker et al.	124	Prospektiv	(*)	21 %	[36]
Johnston et al.	279	Retrospektiv	11 %	5 %	[37]
Katzan et al.	14293	Retrospektiv	(*)	7 %	[38]
Langhorne et al.	311	Prospektiv	23 %	22 %	[39]
Ovbiagele et al.	663	Prospektiv	13 %	10 %	[40]
Smithard et al.	121	Prospektiv	(*)	24 %	[41]
Tirschwell et al.	4757	Retrospektiv	9 %	6 %	[42]
Vargas et al.	229	Prospektiv	6 %	18 %	[43]
Weimar et al.	3866	Retrospektiv	6,3 %	7,4 %	[44]

Tabelle 1: Studien zum Auftreten von Pneumonien und Harnwegsinfekten bei Schlaganfallpatienten in einem Beobachtungszeitraum von 2 bis 90 Tagen, modifiziert nach [45, 46]. (*) keine Angaben.

Im Hinblick auf die Arbeit von Langhorn et al., der kumulativ bei 65% aller prospektiv beobachteten Patienten eine Infektion nach Schlaganfall konstatierte, ist anzumerken, dass die Definitionskriterien für eine „Infektion“ bezüglich des Überwachungszeitraumes und der diagnostischen Verfahren deutlich von denen anderer Studien differierten [39].

Festzustellen ist jedoch, dass die Prävalenz nosokomialer Infektionen nach akutem Schlaganfall weit über der anderer Krankheitsbilder liegt [30-44, 47].

Als Risikofaktoren einer Schlaganfall- assoziierten Pneumonie sind eine Schluckstörung (Dysphagie) mit konsekutivem Aspirationsrisiko, eine invasive Beatmung und die dauerhafte Immobilisation aufgrund der fokal-neurologischen Ausfälle identifiziert worden [36].

Da einerseits die Prävalenz von Pneumonien auch nach Schlaganfällen ohne bleibendes fokal- neurologisches Defizit erhöht ist [48] und andererseits etwa die Hälfte aller Erwachsenen im Schlaf wiederholt aspiriert ohne an einer Pneumonie zu erkranken [49, 50], sind offenbar weitere Faktoren für das hohe Pneumonierisiko nach akutem Schlaganfall verantwortlich. Das Alter des Patienten und auch die Lokalisation und Ätiologie des Schlaganfalles scheinen diesbezüglich beeinflussende Faktoren zu sein. So konnten insbesondere ältere Patienten über 75 Jahre und Patienten mit nicht-lakunären ischämischen Infarkten im Bereich der A. cerebri media (offenbar unabhängig von der betroffenen Hemisphäre) als Risikopatienten identifiziert werden [36, 51].

Es ist bisher nicht abschließend geklärt, ob nosokomiale Infektionen einen unabhängigen Risikofaktor ein schlechteres medizinisches Outcome darstellen [36, 37, 43, 46]. Unstrittig ist hingegen, dass Pneumonien in der postakuten Phase des Schlaganfalls die führende Todesursache darstellen [35, 38].

Basierend auf diesen Beobachtungen wurden bislang drei kontrollierte, randomisierte Studien durchgeführt, die den Einfluss einer präventiven Antibiotikatherapie auf den Krankheitsverlauf nach akuter zerebraler Ischämie untersuchten.

Die von Chamorro et al. publizierte ESPIAS- Studie (500 mg Levofloxacin per os pro Tag über 3 Tage) ist methodisch umstritten [46, 52] und konnte bei mittelschwerem fokal-neurologischem Defizit nach ischämischem oder hämorrhagisch- transformiertem Schlaganfall keinen Nutzen einer präventiven Antibiotikatherapie zeigen. Die an der Charité Berlin durchgeführte PANTHERIS- Studie (400 mg Moxifloxazin i.v. pro Tag über 5 Tage bei schwerem fokal-neurologischem Defizit) führte in der Intention- to -treat Analyse zwar zu einer Senkung der Infektionsrate, jedoch nicht zu einer Reduktion der

Mortalität, einer Verbesserung neurologischen Defizits oder des Grades der Behinderung [53]. In der von Schwarz et al. vorgestellten MISS- Studie (3x 2 g Mezlocillin plus Sulbactam für vier Tage) konnte die Infektionsrate signifikant reduziert werden (54). Da in der behandelten Gruppe dennoch 15 von 30 Patienten und in der in der Kontrollgruppe 27 von 30 Patienten von einer Infektion betroffen waren, ist das Studiendesign und die Aussagekraft der Studie jedoch stark anzuzweifeln. Der nach drei Monaten postulierte signifikant niedrigere Grad der Behinderung [54] kann somit nicht als gegeben angesehen werden. Weitere diesbezügliche Studien sind somit notwendig, um eine mögliche Effizienz einer präventiven Antibiotikagabe zu klären, die im Hinblick auf die zunehmenden Antibiotika-Resistenzen verschiedener Bakterien als nicht unkritisch zu sehen ist.

1.4. Basisparameter der Immunkompetenz

Das Immunsystem des Menschen umfasst neben dem angeborenen Immunsystem (geprägt durch phagozytierende Zellen wie bspw. Makrophagen) das adaptive Immunsystem (durch Lymphozyten getragene Antikörper-vermittelte Immunantwort). Im Folgenden sollen die für die vorliegende Arbeit wichtigsten immunologischen Parameter kurz charakterisiert werden.

T-Zellen werden je nach Präsentation von CD-Molekülen (Cluster of differentiation) in CD8+ zytotoxische T-Zellen und CD4+ T-Helferzellen (Th) unterschieden. Allen T-Zellen ist gemein, dass sie CD3+ sind und Antigene nur nach deren Präsentation durch Major histocompatibility complex (MHC) Proteine erkennen. Während CD8+ Th Fremdantigen-präsentierende Zellen attackieren, prägen CD4+ Th durch die Freisetzung von Zytokinen zum einen die B-Zell-vermittelte humorale Immunantwort, zum anderen die Aktivierung von Makrophagen. T-Helferzellen werden dabei anhand der von ihnen sezernierten Zytokine in Typ 1 (Th₁) [Interleukin (IL)-2, IL-12 und Interferon (IFN)- γ] und Typ 2 (Th₂) [IL-4, IL-5 und IL-10] unterteilt [55-57]. Während Th₁-Zellen vornehmlich für die Abwehr mikrobieller Pathogene von Bedeutung sind und damit vornehmlich die zelluläre Immunität verantworten, steuern Th₂-Zellen über die

o.g. Effektorzytokine die humorale Immunantwort über eine Aktivierung von B-Zellen, Eosinophilen und Mastzellen.

Zytokine sind lösliche Polypeptide und Glykoproteine, die pleiotrope Effekte auf Zellen des lymphatischen und hämatopoetischen Systems vermitteln [58]. Sie werden gemäß funktioneller und struktureller Eigenschaften und Synthesorten in Interleukine (IL), Chemokine, Interferone (IFN) sowie Wachstums- und Tumornekrosefaktoren (TNF) unterteilt. Interleukine vermitteln pluripotente Effekte zwischen Leukozyten [59]. Sie sind auch an der Entwicklung und Differenzierung von Lymphozyten beteiligt. Beispielsweise induziert IL-12 die Differenzierung von Th₁ [60, 61], und IL-4 die Differenzierung von Th₂ [62, 63].

Interferon- γ (IFN- γ) wird vornehmlich von Th₁-Zellen, NK-Zellen und Makrophagen, aber auch Mikrogliazellen freigesetzt und verstärkt u.a. durch die zelluläre Expression von MHC- Proteinen die Antigenen- Präsentation durch Makrophagen [64].

Tumornekrosefaktor α (TNF- α) wird u.a. von monozytären Zellen, B- und T-Zellen sezerniert. Das im Rahmen der angeborenen, unspezifischen Immunreaktion freigesetzte TNF- α steigert die sekretorische und phagozytotische Aktivität sowie die Antigen- Expression und Zytotoxizität monozytärer Zellen [65]. Die monozytäre Sekretionskapazität wird dabei als Ausdruck der adäquaten Reaktion des Immunsystems auf pathogene Stimuli im Rahmen der angeborenen, unspezifischen Immunreaktion betrachtet [66-68].

Major histocompatibility complex (MHC) Proteine sind membranständige polymorphe Glykoproteine, die Antigene präsentieren. Von MHC Klasse I- Molekülen (*Human Leucocyte Antigen* (HLA), HLA-A, HLA-B und HLA-C), die auf fast allen kernhaltigen Zellen exprimiert werden und intrazellulär prozessierte Antigene präsentieren, werden MHC Klasse II- Moleküle (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP) unterschieden, die von antigenpräsentierenden Zellen exprimiert werden und vornehmlich extrazelluläre Antigene präsentieren. CD8⁺ T-Zellen binden an MHC- I- Komplexe, CD4⁺ T-Zellen hingegen an den MHC-II-Komplex.

Die HLA-DR Expression von Monozyten konnte bei einer Vielzahl von infektiösen Erkrankungen, insbesondere jedoch bei Sepsispatienten als für die Prognose relevanter Marker einer Immunsuppression identifiziert werden [66, 69-72]. Bei Patienten nach Organtransplantation wurde eine andauernde Reduktion der monozytären HLA-DR-Expression < 5000 Antigene pro Monozyt als „Immunparalyse“ bezeichnet [72], die mit einem schlechten Outcome assoziiert war. Auch nach Polytraumata [73], schweren Verbrennungen [74] und nach neurochirurgischen Eingriffen [75] konnte gezeigt werden, dass eine verminderte HLA-DR Expression mit einer erhöhten Infektanfälligkeit einhergeht.

1.5. Immunologische Veränderungen nach akutem ischämischen Schlaganfall

Bereits 1979 wurde beim Menschen durch Czlonkowska et al. eine verminderte Anzahl und Aktivität von T-Zellen innerhalb der ersten zwei Tage nach akuter zerebraler Ischämie nachgewiesen [76]. Tarkowski et al. beschrieben 1998 zudem eine verminderte allergische Überempfindlichkeitsreaktion (Immunreaktion Typ IV) nach stattgehabtem ischämischen Schlaganfall die von der Lokalisation des Schlaganfalles abhängig und insbesondere bei Beteiligung des rechten frontalen Kortex und des Putamens nachweisbar war. In den Jahren 2006 und 2007 wurden durch Chamorro et al. zwei Studien zur Immunantwort nach zerebraler Ischämie publiziert, die neben einer erhöhten Aktivität des sympathischen Nervensystems eine verminderte Monozytenzahl innerhalb der ersten zwei Tage nach Schlaganfall im Blut postulierten [77, 78].

Im Mausmodell konnten bereits weiterreichende Erkenntnisse gewonnen werden [79]. So wurde gezeigt, dass der ischämische Schlaganfall eine rasche und lang anhaltende Suppression der zellulären Immunantwort nach sich zog, die mit einer hohen Prävalenz bakterieller Pneumonien assoziiert war. Neben einer bereits nach Stunden einsetzenden und über Tage anhaltenden, durch Apoptose-bedingten Lymphopenie, die B-Zellen, T-Zellen und NK-Zellen betraf, konnte in vitro eine führende Th₂- Antwort und eine funktionelle Deaktivierung der numerisch normwertigen Monozyten nachgewiesen und das von T- und NK-Zellen freigesetzte IFN- γ als Mediator der Entstehung einer Pneumonie nach ischämischem Schlaganfall identifiziert werden. Durch die Hemmung des sympathischen Nervensystems (durch Gabe eines β -Rezeptorblockers) oder den

adoptiven Transfer von IFN- γ produzierenden T- und NK-Zellen konnten die beschriebene Schlaganfall- assoziierte Immundepression abgeschwächt, eine Bakteriämie und Pneumonie verhindert und damit die Mortalität drastisch reduziert werden. Eine Blockade der im Zuge des Schlaganfalles aktivierten Hypothalamus-Hypophysen- Nebennierenachse durch den Glukokortikoidrezeptorantagonist RU 486 führte im Tiermodell hingegen nicht zu einer Wiederherstellung der beeinträchtigten Zytokinproduktion [79].

Die Immunantwort nach zerebraler Ischämie weist somit Parallelen zur humanen Immunantwort nach akuten Traumata des ZNS oder des Rückenmarks bzw. nach neurochirurgische Eingriffen auf (zur Übersicht [80]). Das so genannte „*Central Nervous System injury- induced immune deficiency syndrome*“ (CIDS) ist durch eine zelluläre und humorale Immunsuppression charakterisiert und geht mit einem erhöhten Infektionsrisiko einher [81-83]. Für die Interaktionen von ZNS und Immunsystem scheint in erster Linie die Aktivierung des sympathischen und parasympathischen Nervensystems [84] sowie der Hypophysen- Hypothalamus- Nebennieren- Achse von Bedeutung zu sein. Die bidirektionalen Kommunikations- und Interaktionswege sind vielfältig. So zeigen primäre (Thymus, Knochenmark) und sekundäre (Lymphfollikel, Lymphknoten, Milz) lymphatische Organe eine Expression von α und β - Rezeptoren [85]. Der Einfluss des sympathischen Nervensystems beruht in diesem Fall auf einer direkten neuronalen Verbindung. Auch zelluläre Immunfunktionen werden durch auf Immunzellen exprimierten β - Rezeptoren und den Neurotransmitter Noradrenalin modifiziert [86]. Die Hypophysen- Hypothalamus- Nebennieren- Achse stellt einen neuroendokrinen Weg der Interaktion dar, die immunsupprimierenden Eigenschaften des von den Nebennieren freigesetzten Kortisols bereits seit Jahrzehnten bekannt. Darüber hinaus hat das parasympathische Nervensystem über auf Immunzellen wie Makrophagen exprimierten Acetylcholinrezeptoren hemmenden Einfluss auf die Immunfunktion [84].

1.6. Herleitung der Aufgabenstellung und Zielsetzung der Arbeit

Der ischämische Schlaganfall ist aufgrund seiner hohen Prävalenz, der assoziierten Morbidität- und Mortalität und der bisher unzureichenden Möglichkeiten in der Akuttherapie weiterhin ein klinisch ungelöstes Problem [2]. Die Prognose von Schlaganfallpatienten wird derzeit vornehmlich durch das Auftreten von Komplikationen bestimmt, wobei nosokomiale Infektionen in der postakuten Phase die führende Todesursache darstellen [38, 87]. Studien, die den präventiven Einsatz von Antibiotika untersuchten, konnten keinen relevanten Nutzen bezüglich der Mortalität oder des klinischen Outcomes nachweisen [52-54]. Die möglichen Ursachen für die differierenden Ergebnisse dieser Studien sind vielfältig und lassen vermuten, dass eine frühe Identifikation von Schlaganfallpatienten mit hohem Infektionsrisiko die Effizienz präventiver Maßnahmen verbessern und damit möglicherweise die Mortalität und Morbidität senken könnte [35, 38]. Als eine Grundlage für die hohe Rate nosokomialer Infektionen nach einem Schlaganfall sind offenbar immunologische Veränderungen anzusehen, die im Mausmodell der zerebralen Ischämie bereits umfassend charakterisiert werden konnten [79] und mit Veränderungen der humanen Immunantwort nach traumatischen Hirn- und Rückenmarksverletzungen vergleichbar scheinen [80].

Da eine umfassende Analyse der immunologischen Veränderungen nach akuter zerebraler Ischämie beim Menschen bisher nicht publiziert wurde, stellte diese Analyse das Hauptziel der vorliegenden Arbeit zugrunde liegenden prospektiven klinischen Studie dar. Unter Verwendung eines standardisierten Immunmonitorings und der zerebralen MRT sollte geklärt werden, welche akuten Veränderungen der zellulären und humoralen Immunantwort nach zerebraler Ischämie auftreten, inwiefern eine Korrelation der Immunantwort mit dem Schweregrad, der Lokalisation und der Größe der zerebralen Ischämie besteht und ob die im Mausmodell beobachtete Immunodepression nach akuter zerebraler Ischämie auch beim Menschen nachgewiesen werden kann. Darüber hinaus sollten durch die Analyse der Immunantwort prädiktive Parameter für die Vorhersage einer nosokomialen Infektion identifiziert werden, um bereits bei stationärer Aufnahme Schlaganfallpatienten mit besonders hohem Infektionsrisiko identifizieren zu können. Dieses Wissen könnte dazu beitragen neue Therapiestrategien in der Akuttherapie zu etablieren.

2. METHODEN

2.1. Studienpopulation und Studienkriterien

Die hier präsentierten Daten wurden im Rahmen der prospektiven klinischen Studie „Immunosuppression after stroke“ (ISAS) der Neurologischen Klinik der Charité gewonnen. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Charité im März 2002 genehmigt. Zwischen April 2002 und September 2003 wurden insgesamt 52 Patienten mit zerebraler Ischämie nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung in die Studie eingeschlossen. Personenbezogene Daten und die Ergebnisse der im Rahmen der Versuchsteilnahme erfolgten Untersuchungen wurden pseudonymisiert gespeichert. Alle Patienten wurden auf einer Stroke Unit (Campus Virchow Klinikum oder Campus Mitte) der Charité entsprechend den europäischen Richtlinien behandelt [88, 89].

Folgende Einschlusskriterien bestanden:

- Ischämischer Schlaganfall
- Auftreten fokal-neurologischer Defizite < 24 h vor Einschluss
- Alter > 18 Jahre

Die folgenden Ausschlusskriterien wurden definiert:

- intrazerebrale Blutung
- TIA (innerhalb der letzten 6 Monate)
- globale Aphasie
- immunsuppressive Therapie
- Schwangerschaft und Stillzeit
- weitere neurologische Erkrankung
- Tumorleiden
- Erkrankung des autoimmunen oder rheumatischen Formenkreises
- regelmäßige Einnahme von NSAR
- Abhängigkeit von Drogen oder Alkohol
- Organtransplantation
- Operation innerhalb der letzten 6 Monate

Von den unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossenen 52 Patienten wurden 12 Patienten aus der Datenanalyse wegen einer bereits bei Aufnahme bestehenden Infektion (n=5), einer TIA (n=4) oder einer unvollständigen Datenerhebung (n=3) ausgeschlossen, so dass insgesamt 40 Patienten in der Studie verblieben.

Als Kontrollgruppe wurden 30 Probanden eingeschlossen, die älter als 45 Jahre waren, bisher keinen Schlaganfall erlitten hatten und die o.g. Ausschlusskriterien nicht erfüllten.

2.2. Studienprotokoll

Unmittelbar bei Aufnahme (Tag 0) sowie an Tag 2 und 6 des stationären Aufenthaltes erfolgte im Rahmen der Studie eine umfassende Anamneseerhebung, eine neurologische Untersuchung, die Bestimmung der Körpertemperatur, ein zerebrales MRT sowie eine Blutentnahme (Bestimmung von C-reaktivem Protein (CRP), Procalcitonin (PCT), Kortisol, Differentialblutbild, Zytokinsekretion ex vivo).

Eine nosokomiale Infektion wurde als Auftreten einer Entzündung mindestens drei Tage nach stationärer Aufnahme definiert [90]. Ein bronchopulmonaler Infekt erforderte das Vorliegen von Fieber, einen pathologischen Auskultationsbefund und purulenten Auswurf. Für eine Pneumonie wurden zudem spezifische Veränderungen im Röntgen- oder CT- Thorax gefordert. Ein mikrobiologischer Keimnachweis wurde als elektiv betrachtet. Eine typische Klinik ohne radiologischen Nachweis wurde als Bronchitis angesehen. Ein Harnwegsinfekt wurde bei Dysurie, Leukozyturie und positivem Erregernachweis in der Urinkultur diagnostiziert. Bei Auftreten von Infektionen erfolgte eine Antibiotika-Therapie nach Ermessen des behandelnden, nicht an der Studie beteiligten Arztes.

Eine Dysphagie wurde anhand klinischer Kriterien [91] oder anhand einer standardisierten Schluckdiagnostik diagnostiziert.

Anhand der *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS) [92] wurde der Schweregrad des Schlaganfalles bestimmt. Anhand der Skala können die Bewusstseinslage, die Funktion von Sprache und Hirnnerven, der Paresegrad, das Ausmaß einer Sensibilitätsstörung und orientierend auch höhere kortikale Funktionen quantifiziert werden. Der maximal zu erreichende Wert beträgt 42 Punkte. Die deutsche Übersetzung und Validierung der NIHSS [93] befindet sich im Anhang.

2.3. Immunologische Diagnostik

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

Bestimmung von TNF- α , IL-6, IL-10, Kortisol und Procalcitonin in vivo

Die Bestimmung erfolgte unter Verwendung eines semiautomatischen Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) mit hohem Standardisierungsgrad, dem IMMULITE[®]-Chemilumineszenz-Immunoassay. Grundprinzip dieses Assay ist ein „Sandwich-Elisa“. Der zu untersuchende humorale Marker wurde an eine mit hochspezifischen primären Antikörpern beschichtete Polystyrolkugel gebunden. Durch Zugabe einer Pufferlösung, die einen mit alkalischer Phosphatase konjugierten sekundären Antikörper enthielt, kam es zur Ausbildung von sogenannten Sandwichkomplexen. Durch mehrfaches Waschen wurden ungebundene Reagenzien entfernt und dann ein luminogenes Substrat zugefügt, welches durch die alkalische Phosphatase in ein instabiles Zwischenprodukt umgesetzt wurde, das beim Zerfall Photonen aussendete, die mittels eines Verstärkers quantifiziert wurden, wodurch auf die Menge des gebundenen antikörpergekoppelten Enzyms geschlossen werden konnte. Heparinisertes Vollblut wurde unmittelbar nach Entnahme bei 200g und 4°C zentrifugiert und das gewonnene Plasma bei -70°C gelagert. Die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von TNF- α , IL-6, IL-10 und Kortisol erfolgte entsprechend den Herstellerangaben mit dem IMMULITE[®] (DPC, Los Angeles, CA, USA). Die unteren Nachweisgrenzen lagen bei den verwendeten Assays bei 2 pg/ml für IL-6, 4 pg/ml für TNF- α , 5 pg/ml für IL-10, und 5,5 nmol/l für Kortisol.

Die Procalcitoninbestimmung (Normwert <500 pg/ml) erfolgte mit Hilfe eines kommerziellen immunochromatographischen Assays (Brahms, Henningsdorf, Deutschland) entsprechend der Herstellerangaben.

Messung der monozytären TNF- α Sekretion ex vivo

50 μ l heparinisertes Vollblut wurden im Verhältnis 1:10 mit einer Stimulationslösung aus RPMI und 500 pg/ml Lipopolysaccharid (LPS, Fa. Sigma- Aldrich Heidelberg, BRD)

des Escherichia coli Serotyp 0127: B8 inkubiert. Bei LPS handelt es sich um Zellwandbestandteile gramnegativer Bakterien, die nach Bindung an das humane LPS-binding- Protein an den CD14+- Rezeptor von Monozyten und Makrophagen binden und diese u.a. zur Sekretion von TNF- α anregen [94]. Nach 4- stündiger Inkubationszeit bei 37°C und 5 % CO₂ erfolgte die Zentrifugation bei 200g für 5 min. Die Überstände wurden abpipetiert und bis zur Analyse mit dem IMMULITE®- Chemilumineszenz-Immunoassay bei -70°C gelagert.

Bestimmung der monozytären HLA-DR- Expression

Die Expression von HLA-DR auf Monozyten wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt, deren Grundprinzip die Messung von Streulicht zuvor markierter Zellen darstellt (FACS™- Methode). Durch eine Kapillare werden Zellen dabei in einer laminaren nicht- turbulenten Strömung an einem Messpunkt vorbeigeführt, auf den im Falle dieser Arbeit ein Argon-Laserstrahl mit einer Wellenlänge von 488 nm fokussiert war. Durch zwei im rechten Winkel zueinander stehende Detektoren wurde zum einen die Absorption des Lichtes in Richtung des Laserstrahls (sogenannter forward scatter), zum anderen die in 90° zum Laserstrahl stehende Streuung des Lichtstrahles (side scatter) gemessen, um die Größe und Granularität der Zellen zu bestimmen und so beispielsweise Monozyten und Lymphozyten zu unterscheiden. Durch die Verwendung Fluoreszenz- gekoppelter Antikörper ist zudem eine weitere Differenzierung der Zellpopulationen anhand ihrer Oberflächenantigene möglich. So konnten CD4+ und CD8+ -Zellen differenziert und die monozytäre HLA-DR Expression bestimmt werden.

50 μ l auf Eis gelagertes EDTA- Blut wurden mit 20 μ l an Phycoerythrin- gebundene Anti- HLA-DR- Antikörper sowie an Peridin Chlorophyll gebundene Anti- CD 14- Antikörper (Quantibrite, Becton Dickinson Biosciences, San Jose, CA, USA) in dunkler Umgebung bei Raumtemperatur für 30 Minuten gelagert. Nach Zentrifugation bei 200g für 5 min wurden die Proben mit 0,5 ml einer FACS®-Lysing-Solution weitere 30 min bei Dunkelheit und Raumtemperatur inkubiert, um Erythrozyten zu lysieren. Nach erneuter Zentrifugation bei 200g für 5 min erfolgte die Waschung der Zellen mit 1 ml FACS- Pufferlösung.

Die Analyse wurde an einem FACS-Calibur™ Durchflusszytometer wie oben beschrieben mit Hilfe der CellQuest™-Software durchgeführt. Es folgte eine

„QuantiBRITE™ PE-Kit“ -Kalibrierung für eine 1:1 Quantifizierung und eine Bestimmung der monozytären HLA-DR- Expression anhand des Programms QuantiCALC™ (BD).

Messung der T- Zell Zytokin- Sekretion ex vivo mittels CBA

Anhand des "Cytometric Bead Array" (CBA) können Zytokine im Serum quantitativ bestimmt werden. Das Prinzip entspricht einem Sandwich-ELISA, bei dem der Capture-Antikörper an Polymerkügelchen (*engl.* bead) gekoppelt ist. Diese beads tragen Fluoreszenzmoleküle, die sie in einem Durchflusszytometer nach Anregung durch einen Laser (488 nm) durch unterschiedliche Fluoreszenzintensitäten identifizierbar machen. Es existieren für jedes Zytokin spezifische capture beads, die sich in ihrer Fluoreszenzeigenschaften (Farbe und Intensität) bzw. ihrer Größe unterscheiden. Standardlösungen mit bekannten Zytokinkonzentrationen sowie Zytokine der zu untersuchenden Proben können an diese Antikörper binden. In einem zweiten Schritt wurde ein spezifischer PE- gebundener Detektionsantikörper, der in einer anderen Fluoreszenz eingesetzt wird, an den Komplex aus capture- bead und Zytokin, gebunden. Durch die Antikörperspezifität und die Eigenfluoreszenz der beads lassen sich zum einen die einzelnen Zytokine diskriminieren, durch die Fluoreszenzaktivität der PE-gebundenen sekundären Antikörper darüber hinaus die Konzentrationen der verschiedenen Zytokine bestimmen. Zur Analyse der T- Zell Sekretion ex vivo wurden 200 µl Vollblut zunächst mit 700 µl RPMI 1640 (Biochrom) und 100 µl einer 100 mg/ml Concanavalin A (*Canavalia ensiformis* der Schwertbohne, Con A, Sigma, Heidelberg, BRD) Lösung für 24h bei 37°C und 5 % CO₂ inkubiert. Nach Zentrifugation bei 200g für 10 min wurden die Überstände bis zur Zytokinbestimmung bei -70 °C gelagert. Als Zytokinstandards wurden 9 Verdünnungen im Bereich von 20 pg/ml bis 5000 pg/ml verwandt. Die Analyse der Konzentrationen von IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 und TNF- α erfolgte entsprechend den Herstellerangaben für den BD CBA Assay (Pharmingen, Hamburg, BRD). Die Messung erfolgte am Durchflusszytometer nach dem oben beschriebenen Grundprinzip (FACS-Calibur™ Durchflusszytometer).

2.4. MRT und volumetrische Untersuchungen

Die seriellen MRT- Messungen erfolgten an zwei verschiedenen 1.5 Tesla Systemen am Campus Mitte bzw. am Campus Virchow der Charité durch diesbezüglich erfahrene Radiologen bzw. Neurologen. Es wurden T1-, T2-, T2*-, Diffusions- und nach Gabe eines Kontrastmittels (20 ml 0.5M- Gd-DTPA + 20 ml NaCl- Lösung als Spüllösung, Injektionsgeschwindigkeit 4 ml/s) Perfusions- gewichtete Sequenzen sowie eine *Time-of-flight* (TOF) Angiographie akquiriert. Mit Hilfe des Programms „Analyze 5.0 (Mayo Clinic, USA) wurde die Infarktgröße bestimmt. Die semiautomatische Markierung der Region of Interest (ROI) erfolgte durch Festlegung eines relativen Schwellenwertes im Falle der DWI, die volumetrische Analyse mit Hilfe von Microsoft Excel Software. Die ausführlichen Sequenzparameter der MRT-Bildgebung finden sich im Anhang.

2.5. Statistik

Die statistische Beratung erfolgte durch Frau Dr. B. Wegner aus dem Institut für Medizinische Biometrie und klinische Epidemiologie Charité (Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Peter Martus, ehemals Prof. Dr. rer. nat. Klaus-Dieter Wernecke).

Für metrische, nicht normal-verteilte Daten wurde der Mann-Whitney U- Test angewendet. Der χ^2 - Test wurde zur Erfassung von wahrscheinlichen Zusammenhängen nominalskalierter Daten genutzt. Ein p-Wert < 0.05 wurde als signifikant angesehen. Im Falle multipler Vergleiche wurde das Signifikanzniveau mit der Holm-Bonferroni- Ungleichung adjustiert, um eine α - Fehlerinflation zu korrigieren [95]. Dabei wird das globale α - Niveau zu gleichen Teilen auf die Einzeltests verteilt.

Zur Ermittlung von Cut- Off Punkten wurden ROC- Kurven (receiver operating characteristics) erstellt. Um den Einfluss verschiedener Immunparameter auf die Entwicklung einer Infektion im Verlauf zu interpretieren, wurde eine multivariate logistische Regression (MANOVA) angewandt. Sämtliche statistischen Analysen wurden unter Verwendung von SPSS® 13.0 und SAS (r) Software durchgeführt.

3. ERGEBNISSE

3.1 Charakteristika der Studienpopulation

40 Schlaganfallpatienten (SP) mit einem Altersdurchschnitt von 66,6 (\pm 14,3) Jahren, sowie 30 Gesunde Probanden (GK) als Kontrollgruppe mit einem Altersdurchschnitt von 56,0 Jahren (\pm 7,7) gingen in die statistische Datenanalyse ein. Die Geschlechterverteilung unterschied sich in beiden Gruppen nicht signifikant (Tabelle 3).

Anamnestisch ergaben sich folgende Vorerkrankungen der SP:

- 65 % arterielle Hypertonie,
- 25 % koronare Herzkrankheit,
- 25 % Dyslipoproteinämie,
- 23 % Diabetes mellitus Typ II,
- 15 % Vorhofflimmern,
- 10 % ischämischer Schlaganfall.

Die SP, die bereits einen Schlaganfall (12, 7, und 2 Jahre bzw. 11 Monate vor dem aktuellem Schlaganfall) erlitten hatten, waren vor dem aktuellen Ereignis in der Lage sich selbständig zu versorgen.

Entsprechend der TOAST- Kriterien ließ sich die Ätiologie des akuten Schlaganfalles wie folgt zuordnen:

- 32,5 % kardoembolische Ursache,
- 30 % Atherosklerose der großen Gefäße,
- 10 % andere definierte Ursache,
- 27,5 % unbekannte Ätiologie.

Die zerebrale Magnetresonanztomographie erfolgte unmittelbar nach stationärer Aufnahme und im Durchschnitt 8,3 h (1-22 h) nach Auftreten der Schlaganfall-Symptome. Der ischämische Schlaganfall war den folgenden Hirngefäßen beziehungsweise Versorgungsgebieten zuzuordnen:

3. Ergebnisse

Stromgebiet Seite	A. cerebri anterior	A. cerebri media	A. cerebri posterior	A. basilaris A. vertebralis
Links	2	18	5	2
Rechts	0	10	0	3

Tabelle 2: Magnetresonanztomographisch erfasste Lokalisation der zerebralen Ischämie.

Dementsprechend war der Schlaganfall bei 35 SP im vorderen Stromgebiet und bei 5 SP im hinteren Stromgebiet, bzw. bei 27 SP links- und bei 13 SP rechts hemisphäriell lokalisiert.

Eine systemische Thrombolysetherapie mit rt-PA erhielten 7 SP (17,5 % der Gesamtpopulation).

Der mediane NIHSS- Score aller SP lag bei 5 (Spannweite 2-18) Punkten bei Aufnahme und verringerte sich (einer klinischen Besserung der neurologischen Defizite im Durchschnitt entsprechend) auf 4 Punkte (1-25) an Tag 2 und 2,5 Punkte (0-25) an Tag 6 nach stattgehabtem Schlaganfall (siehe Tabelle 3).

3.2. Immunmonitoring bei Schlaganfallpatienten und Kontrollen

Klinische und Paraklinische Entzündungsparameter und Kortisol

Verglichen mit den GK waren die CRP- Spiegel bei SP bei Aufnahme signifikant erhöht und überschritten den laborchemisch validierten Normalwert von 0,5 mg/dl. Die Körpertemperatur, Kortisol- und Procalcitonin- Konzentration zeigten hingegen keinen signifikanten Unterschied und befanden sich im Normbereich (Tabelle 3).

Differentialblutbild

Bei Aufnahme waren die Gesamtleukozytenzahlen bei den SP im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht (Abbildung 1A). Dabei zeigt im Vergleich sich vor allem eine Erhöhung der Granulozytenzahlen (Abbildung 1B) bei signifikanter Erniedrigung der absoluten Lymphozytenzahlen (Abbildung 1D).

	Gesunde Kontrollen	Schlaganfall-	
	[n=30]	Patienten [n=40]	p
Alter (Jahre)	56,0 ± 7,7	66,6 ± 14,3	<0,001
Geschlecht (weiblich)	23 %	30 %	0,53
Körpertemperatur (°C)	36,5 ± 0,3	36,6 ± 0,4	0,32
CRP (mg/dl) [<small>< 5 mg/dl</small>]	0,12 ± 0,2	0,58 ± 0,9	<0,001
Procalcitonin (ng/ml) [<small><500 pg/ml</small>]	169 ± 98	192 ± 85	0,61
Kortisol (nmol/l) [<small>200-690 nmol/l</small>]	354 ± 98	428 ± 266	0,33

Tabelle 3 : Klinische Charakteristika, Infektionsparameter im Blut und Kortisolspiegel von 30 gesunden Kontrollen und 40 Schlaganfallpatienten bei Aufnahme. Normbereiche in eckigen Klammern.

Die Gesamtzahl der CD3+ Zellen war bei SP ebenso signifikant reduziert wie die der CD4+ Th (Abbildung 1GH). Sowohl CD8+ T-Zellen (Abbildung 1I) als auch die absoluten Monozytenzahlen (Abbildung 1C) sowie CD19+ B-Zellen, CD16+ NK-Zellen (Abbildung 1 EFI) wiesen bei Aufnahme keine signifikanten Unterschiede zu GK auf. Die Monozytenzahlen stiegen im Verlauf bei SP deutlich an, ohne eine statistische Signifikanz zu erreichen.

Die Gesamtleukozytenzahlen der SP befanden sich zu allen Messzeitpunkten im Referenzbereich und zeigten eine im Verlauf fallende Tendenz (1A). Auch die Zahl der Granulozyten fiel von Tag der Aufnahme bis Tag 6 innerhalb des Referenzbereiches leicht ab (1B). Die Gesamtzahl der T-Zellen (CD3+ Zellen, 1G) und der CD4+ T-Helferzellen normalisierten sich hingegen bis Tag 6 nicht.

3. Ergebnisse

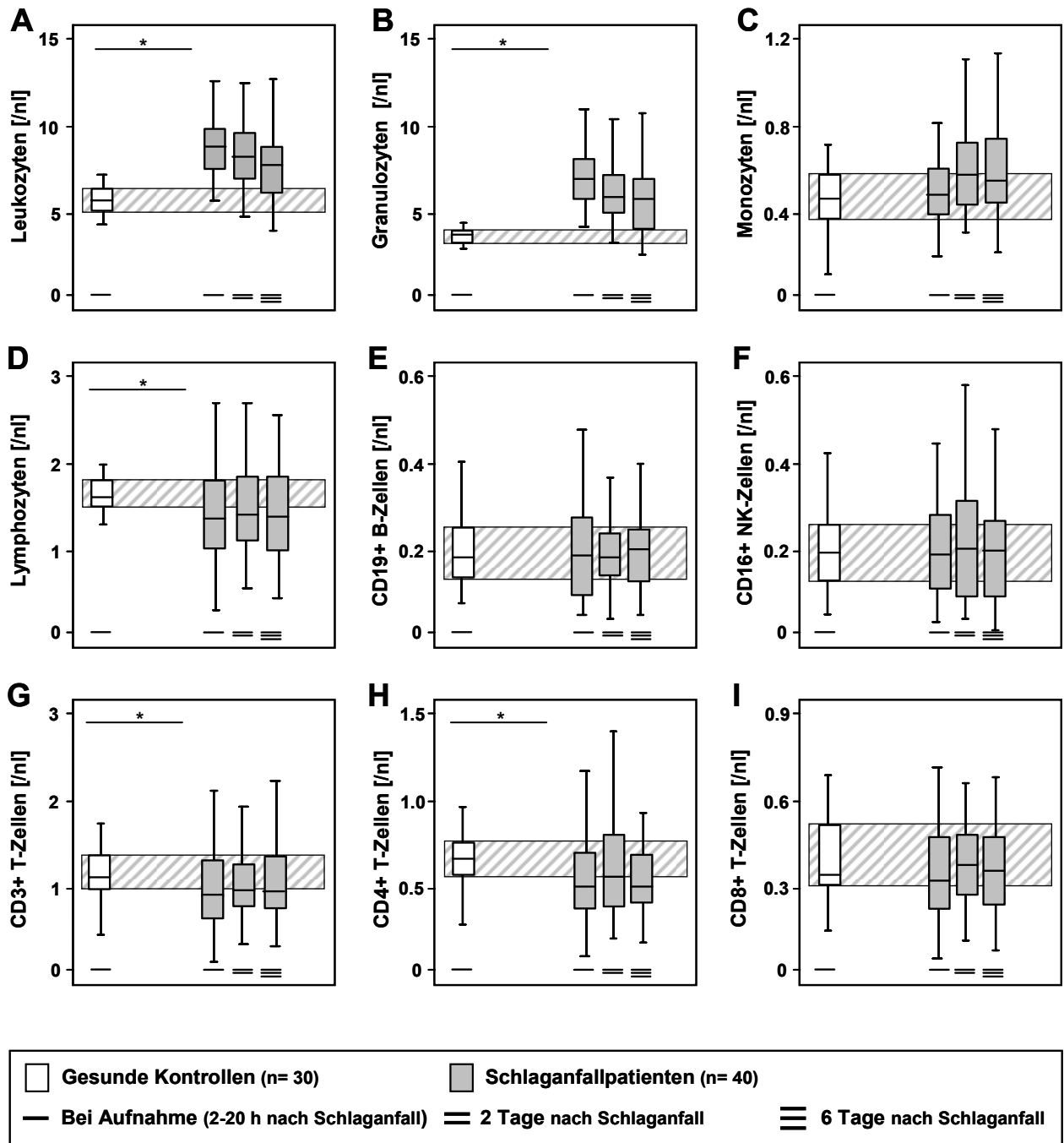


Abbildung 1: Veränderungen des Differentialblutbildes und der Lymphozytenpopulationen bei gesunden Kontrollen (weiß, n= 30) und Schlaganfallpatienten (grau, n= 40). Boxplots (Median, 25 % und 75 % als Box, Minimum und Maximum innerhalb der inneren Grenzen) von Leukozyten (A), Granulozyten (B), Monozyten (C), Lymphozyten (D), CD19+ (E)-, CD16+ (F)-, CD3+ (G)-, CD4+ (H)-, CD8+ (I)- T-Zellen an Tag 0, 2 und 6. Schraffiert der Bereich der gesunden Kontrollen. * = $p < 0,05$

Monozytäre HLA-DR- Expression und Stimulationstests ex vivo

Die quantitative Analyse der monozytären HLA-DR Expression zeigte unmittelbar nach stationärer Aufnahme eine signifikante Erniedrigung bei SP im Vergleich zu den GK, die sich anhand einer Verschiebung der Expressionskurve der Gesamtpopulation im flusszytometrischen Histogramm nachvollziehen ließ (nicht dargestellt) und in Abbildung 2A als Boxplot dargestellt ist. Ein weiterer Abfall der monozytären HLA-DR Expression war an Tag 2 zu verzeichnen und persistierte an Tag 6.

Die in erster Linie von Monozyten getragene Freisetzung von TNF- α nach Stimulation mit LPS ex vivo bei GK und SP wies keine signifikanten Unterschiede auf (Abbildung 2B). Im Untersuchungszeitraum zeigte sich bei großen individuellen Unterschieden ein nicht- signifikanter Anstieg der monozytären TNF- α Sekretion bei einem Teil der SP.

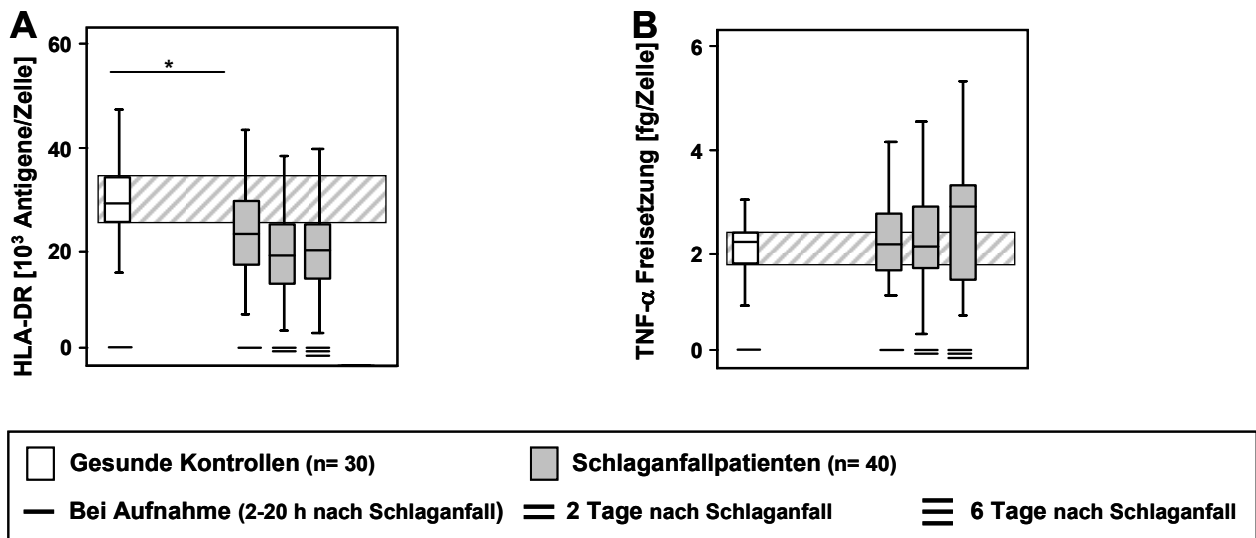


Abbildung 2: Monozytäre HLA-DR-Expression und monozytäre TNF- α Freisetzung nach LPS- Stimulation bei gesunden Kontrollen (weiß, n=30) und Schlaganfallpatienten (grau, n=40). Boxplots (Median, 25 % und 75 % als Box, Minimum und Maximum innerhalb der inneren Grenzen). Schraffiert der Bereich der gesunden Kontrollen. * = p < 0,05.

3.3. Klinische Einflussgrößen auf die Immunantwort bei Schlaganfallpatienten

Wie in Tabelle 4 dargestellt, zeigten SP mit großem Infarktareal (DWI oder PWI ≥ 20 cm³ bei Aufnahme) im Vergleich zu SP mit kleinem Infarktareal (DWI oder PWI < 20 cm³ bei Aufnahme) zu allen Messzeitpunkten höhere Kortisolspiegel und Leukozytenzahlen, geringere CD3+ Lymphozytenzahlen sowie eine signifikant herabgesetzte monozytäre HLA-DR Expression und eine reduzierte ex vivo Zytokinfreisetzung.

	[Tag]	DWI oder PWI <20 cm ³ [n=27]	DWI oder PWI ≥ 20 cm ³ [n=13]	p
Kortisol nmol/l)	[0]	410 \pm 304	469 \pm 154	0,09
	[2]	343 \pm 113	472 \pm 289	0,04
	[6]	321 \pm 105	379 \pm 116	0,13
Leukozyten (1/nl)	[0]	8,8 \pm 2,2	9,7 \pm 2,5	0,53
	[2]	8,0 \pm 1,4	9,6 \pm 3,2	0,07
	[6]	7,4 \pm 2,0	8,6 \pm 2,7	0,32
Lymphozyten (1/nl)	[0]	1,54 \pm 0,68	1,20 \pm 0,48	0,19
	[2]	1,58 \pm 0,65	1,36 \pm 0,45	0,41
	[6]	1,52 \pm 0,66	1,39 \pm 0,67	0,46
CD3+ T-Zellen (1/nl)	[0]	1,11 \pm 0,59	0,83 \pm 0,38	0,23
	[2]	1,13 \pm 0,48	0,96 \pm 0,42	0,20
	[6]	1,11 \pm 0,49	0,99 \pm 0,55	0,31
HLA-DR Expression (Antigene/Monozyt)	[0]	25500 \pm 8525	19208 \pm 12845	0,01
	[2]	21888 \pm 10250	13037 \pm 7734	0,01
	[6]	22660 \pm 8813	13882 \pm 7761	<0,01
LPS-induziertes TNF-α (fg/Monozyt)	[0]	2,36 \pm 1,07	1,79 \pm 0,81	0,20
	[2]	2,24 \pm 0,97	1,73 \pm 0,98	0,31
	[6]	3,08 \pm 1,95	1,69 \pm 1,04	0,06
ConA-induziertes IFN-γ (pg/ml)	[0]	9656 \pm 9090	5167 \pm 4580	0,11
	[2]	9068 \pm 7372	7872 \pm 5872	0,63
	[6]	10698 \pm 10150	9245 \pm 10854	0,22

Tabelle 4: Kortisol- Spiegel und ausgewählte Immunmarker bei Schlaganfallpatienten in Abhängigkeit von der Größe des Schlaganfalls bei Aufnahme (Tag 0). Werte dargestellt als Mittelwerte \pm Standardabweichung.

Der mittels der NIHSS- Skala erhobene Schweregrad der neurologischen Beeinträchtigung korrelierte dabei in der Kovarianzanalyse mit der volumetrisch bestimmten Größe des Infarktes.

Ebenso wie bei Patienten mit großen Infarktarealen waren bei einem NIHSS ≥ 9 Punkten bei Aufnahme (n = 9) Kortisolspiegel und Leukozytenzahlen bei Aufnahme erhöht, während CD3+ Lymphozytenzahlen, HLA-DR Expression und Zytokinsekretion ex vivo signifikant vermindert waren (Daten nicht dargestellt).

Bei älteren Schlaganfallpatienten (≥ 75 Jahre) waren Kortisolspiegel, Leukozytenzahlen, die LPS- induzierte TNF- α - Freisetzung sowie die monozytäre HLA-DR- Expression vergleichbar mit jüngeren Schlaganfallpatienten, während Lymphozytenzahlen, CD3+ T-Zellen und Concanavalin A induzierte IFN- γ - Freisetzung nicht- signifikant niedriger waren (Daten nicht dargestellt). Eine Kovarianzanalyse zeigte, dass das Alter der Patienten weder bei GK noch bei SP mit Veränderungen immunologischen Parameter assoziiert war.

3.4. Inzidenz und Risikofaktoren nosokomialer Infektionen nach Schlaganfall

Innerhalb von 14 Tagen entwickelten 27.5 % (n=11) aller SP eine nosokomiale Infektion. Sechs SP (15 %) erkrankten an einer Pneumonie oder Bronchitis, zwei (5 %) an einer Harnwegsinfektion und drei (7.5 %) sowohl an einer Pneumonie als auch an einer Harnwegsinfektion. Der klinisch apparente Beginn der Infektion lag durchschnittlich an Tag 4,8 (3-11) nach stattgehabtem Schlaganfall.

Um den Einfluss verschiedener Risikofaktoren auf die Entwicklung einer Infektion nachvollziehen zu können, wurden die eingeschlossenen Schlaganfallpatienten retrospektiv in **Schlaganfallpatienten mit** nosokomialer Infektion (SPI+) und **Schlaganfallpatienten ohne** nosokomiale Infektion (SPI-) unterteilt (siehe Tabelle 5).

SPI+ waren durchschnittlich älter, zeigten bereits bei Aufnahme signifikant höhere NIHSS- Scores und größere zerebrale Läsionen (DWI + PWI beziehungsweise T2-Volumina).

3. Ergebnisse

	[Tag]	SPI - [n=29]	SPI + [n=11]	p
Alter (Jahre)		64,0 ± 14	73,5 ± 12	0,07
Geschlecht (weiblich)		31 %	27 %	0,89
Thrombolyse		14 %	27 %	0,53
Dysphagie		17 %	73 %	0,06
Katheterisierung		14 %	100 %	<0,001
Körpertemperatur (°C)	[0]	36,5 ± 0,4	36,7 ± 0,6	0,34
CRP (mg/dl)	[0]	0,44 ± 0,4	0,93 ± 1,6	0,51
Procalcitonin (ng/ml)	[0]	185 ± 89	219 ± 70	0,22
Kortisol (nmol/l)	[0]	416 ± 57	466 ± 43	0,14
	[2]	345 ± 22	492 ± 98	<0,05
	[6]	304 ± 16	444 ± 35	0,001
NIHSS (Punkte)*	[0]	4 (2-9)	9 (4-18)	<0,001
	[2]	3 (1-7)	10 (3-25)	<0,001
	[6]	2 (0-6)	10 (3-25)	<0,001
DWI (cm ³)	[0]	8,5 ± 12	61,3 ± 51	0,01
	[2]	14,3 ± 19	116,4 ± 138	<0,005
PWI (cm ³)	[0]	21,8 ± 25	80,3 ± 91	<0,05
	[2]	12,8 ± 20	57,5 ± 69	<0,01
T2 (cm ³)	[6]	18,4 ± 23	107,9 ± 97	0,02
IFN-γ ex vivo (pg/ml)	[0]	9300 ± 8894	5258 ± 4766	0,20
	[2]	9452 ± 7587	6559 ± 3855	0,44
	[6]	12418 ± 11271	4445 ± 2156	0,02
IL-4 ex vivo (pg/ml)	[0]	27,1 ± 25	26,9 ± 42	0,32
	[2]	19,9 ± 13	23,5 ± 32	0,49
	[6]	24,2 ± 24	16,9 ± 23	0,44
IL-5 ex vivo (pg/ml)	[0]	36,5 ± 59	59,6 ± 161	0,25
	[2]	24,4 ± 27	62,4 ± 130	0,72
	[6]	39,0 ± 59	40,2 ± 105	0,10
IL-6 in vivo (pg/ml) [^=n; cut off >2 pg/ml]	[0]	4,1 ± 3,0 [13^]	9,2 ± 4,5 [7^]	<0,01
	[2]	6,7 ± 3,3 [15^]	32,9 ± 50 [9^]	<0,01
	[6]	8,4 ± 13,3 [10^]	29,4 ± 34 [10^]	<0,01

Tabelle 5: Klinische, MRT und laborchemische Ergebnisse von Schlaganfallpatienten mit (SPI+) und ohne nosokomiale Infektion (SPI-). Werte dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung oder als Median (Spannweite).

3. Ergebnisse

Es entwickelten 43% der über 75-jährigen (n=14) und nur 12% der unter 75-jährigen einen Infekt (p= 0,02). Bezug nehmend auf den medianen NIHSS aller SPI+ entwickelten 89% aller Schlaganfallpatienten mit einem NIHSS ≥ 9 (n=9) und nur 9,7% aller Schlaganfallpatienten mit einem NIHSS < 9 bei Aufnahme eine Infektion (p< 0.001). Des weiteren entwickelten 54% aller SP mit großen Infarktarealen (DWI oder PWI bei Aufnahme $>20 \text{ cm}^3$, n=13) aber nur 15% aller SP mit kleineren Infarktarealen eine nosokomiale Infektion (p = 0,04).

Unter Verwendung der Multivariaten logistischen Regression bestätigte sich, dass das Auftreten einer Infektion nach akutem ischämischem Schlaganfall bei Aufnahme mit:

- Alter (OR 1,14; 95 % CI: 1,0- 2,8),
- Schweregrad der neurologischen Beeinträchtigung (NIHSS- Score)(OR 1,7; 95 % CI: 1,17- 25,10),
- und LPS- induzierten TNF- α Sekretion ex vivo (OR 0,31; 95 % CI: 0,00- 0,88)

korrelierte.

Für die bei Aufnahmen bestimmte Körpertemperatur, den CRP- Wert sowie die Zytokin-Konzentrationen in vivo konnten diese Assoziation hingegen nicht nachgewiesen werden. Obwohl in der Gruppe der SPI+ eine höhere Rate an transurethralen Harnwegskatheterisierungen und diagnostizierter Dysphagie zu verzeichnen war (Tabelle 5), zeigt sich in der Betrachtung der Gesamtheit aller SP, dass eine Dysphagie bei 33 % aller SP diagnostiziert wurde, allerdings nur 46 % dieser SP eine Pneumonie entwickelten. 38 % aller SP wurden transurethral katheterisiert, wobei nur ein Drittel dieser SP einen Harnwegsinfekt entwickelte.

Die Zuordnung der SPI+ entsprechend der jeweiligen Lokalisation des ischämischen Schlaganfalles findet sich in Tabelle 6. Dabei zeigt sich, dass vor allem SP mit Infarkten im Stromgebiet der A. cerebri media vom Auftreten nosokomialer Infektionen betroffen waren.

Stromgebiet Seite	A. cerebri anterior	A. cerebri media	A. cerebri posterior	A. basilaris
Links	50 % (n=1)	22 % (n=4)	0	50 % (n=1)
Rechts	0	50 % (n=5)	0	0

Tabelle 6: Prozent der von einer Infektion betroffenen Patienten abhängig vom jeweiligen Stromgebiet; Fallzahl in runden Klammern.

3. Ergebnisse

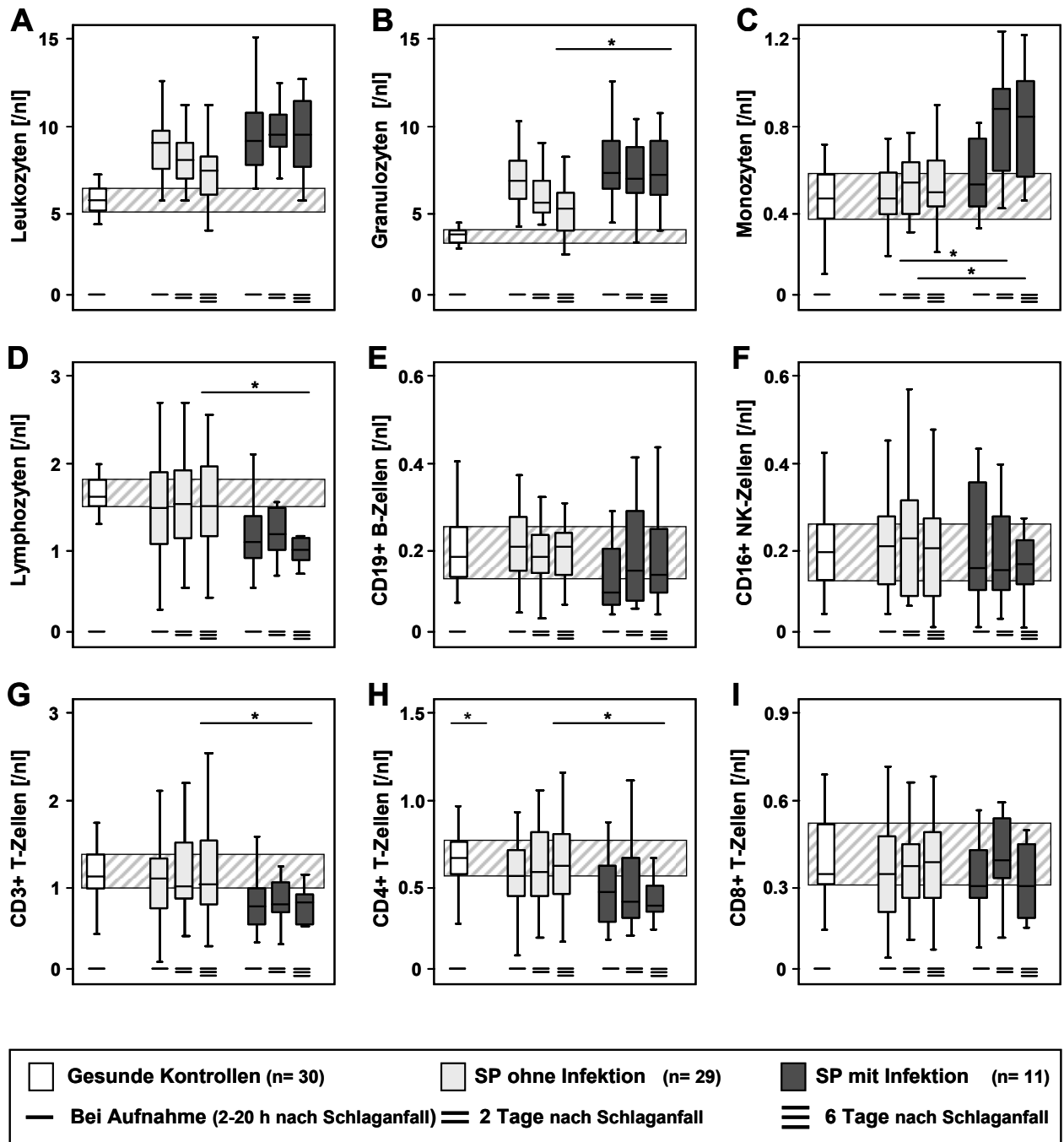


Abbildung 3: Veränderungen des Differentialblutbildes und der Lymphozyten-subpopulationen bei gesunden Kontrollen (weiß, n=30) und Schlaganfallpatienten mit (dunkelgrau, n=11) und ohne Infektion (hellgrau, n=29). Boxplots (Median, 25 % und 75 % als Box, Minimum und Maximum innerhalb der inneren Grenzen) von Leukozyten (A), Granulozyten (B), Monozyten (C), Lymphozyten (D), CD19+ (E)-, CD16+ (F)-, CD3+ (G)-, CD4+ (H)-, CD8+ (I)- T-Zellen an Tag 0, 2 und 6. Schraffiert der Bereich der gesunden Kontrollen. * p < 0,05.

3.5. Frühe Veränderungen der Immunantwort bei Patienten mit nosokomialer Infektion nach akutem Schlaganfall

Im Vergleich zu SPI- zeigten SPI+ zu allen Messzeitpunkten - und somit bereits deutlich vor klinischer Manifestation einer nosokomialen Infektion - erhöhte Leukozyten-, Granulozyten- und Monozytenzahlen (Abbildung 3 ABC). Die absolute Lymphozytenzahl, CD3+ T-Zellen und CD4+ T-Helferzellen waren bei SPI+ zu allen Messzeitpunkten signifikant erniedrigt (Abbildung 3 DGH), während sich die B-Zellen, NK-Zellen und CD8+ T-Zellen in beiden Gruppen auf ähnlichem Niveau befanden (Abbildung 3 EFI).

Die in vivo Plasmaspiegel von IL-6 lagen bei 64 % aller SPI+ und 45 % aller SPI- bei Aufnahme über der Nachweisgrenze von 2 pg/ml (Tabelle 5) und waren, wenn nachweisbar, bei SPI+ signifikant höher als bei SPI-.

TNF- α - Plasmaspiegel in vivo konnten weder bei SPI+ noch SPI- nachgewiesen werden. Die IL-10 Spiegel im Plasma lagen nur bei wenigen SP (n= 7) über der Nachweisgrenze (Daten nicht gezeigt).

Die Vollblutstimulation mit Concanavalin A ex vivo wies eine niedrigere und im Verlauf weiter fallende IFN- γ Freisetzung bei SPI+ nach, die an Tag 6 im Vergleich zu SPI- statistische Signifikanz erreichte. IL-5, als Marker der Th₂- Funktion, zeigte bei SPI+ zu allen Messzeitpunkten höhere Spiegel. Die Freisetzung von IL-4, welches in erster Linie von Th₂- Zellen sezerniert wird, zeigte keine signifikanten Veränderungen im Verlauf bei vergleichbaren Spiegeln (siehe Tabelle 5).

Bezüglich der funktionellen Eigenschaften der Monozyten war die LPS- induzierte TNF- α Freisetzung bei SPI+ im Vergleich zu SPI- bereits bei Aufnahme signifikant vermindert, fiel im Verlauf weiter ab und zeigte damit gegenüber den SPI- eine gegenläufige Tendenz. Auch die monozytäre HLA-DR Expression war bei SPI+ bereits bei Aufnahme und an Tag 2 im Vergleich zu SPI- signifikant reduziert. An Tag 6 zeigte sich bei SPI+ und SPI- ein nicht- signifikanter Anstieg (Abbildung 4). Die gemessenen Kortisol- Plasmaspiegel waren bei SPI+ an Tag 2 und 6 signifikant höher als bei SPI- und im Zeitverlauf auf konstantem Niveau (Tabelle 5).

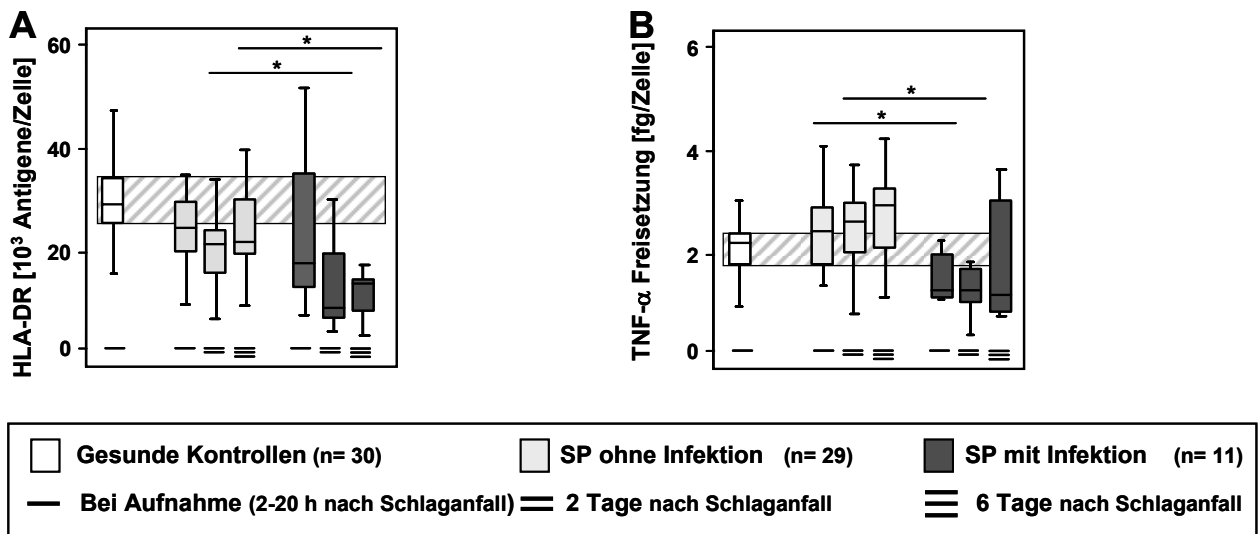


Abbildung 4: Monozytäre HLA-DR- Expression (4A) und monozytäre TNF- α Freisetzung (4B) nach LPS- Stimulation bei gesunden Kontrollen (weiß, n= 30) und Schlaganfallpatienten mit (dunkelgrau, n= 11) und ohne Infektion (hellgrau, n= 29). Boxplots (Median, 25 % und 75 % als Box, Minimum und Maximum innerhalb der inneren Grenzen). Schraffiert der Bereich der gesunden Kontrollen. * = $p < 0,05$.

3.6. Prädiktiver Wert von Immunparametern, zerebraler Bildgebung und klinischen Parametern für eine nosokomiale Infektion

Um mögliche Prädiktoren für die Entwicklung einer Infektion nach akuter zerebraler Ischämie zu identifizieren, wurden die bei Aufnahme erhobenen verschiedenen Immun- und klinische Parameter analysiert (Tabelle 7). Cut- Off Werte wurden durch Erstellen einer ROC-Analyse bestimmt, die exemplarisch in Abbildung 5 für TNF- α und die monozytäre HLA-DR- Expression dargestellt ist.

Bezüglich der Immunparameter konnte bei einer ex vivo Freisetzung von TNF- α < 1.6 fg pro Monozyt der höchste prädiktive Wert mit einer Spezifität von 0,89 sowie einem negativen prädiktivem Wert von 0,89 und einer Sensitivität sowie einem positivem prädiktiven Wert von 0,71 ermittelt werden (zum Vergleich Tabelle 7A).

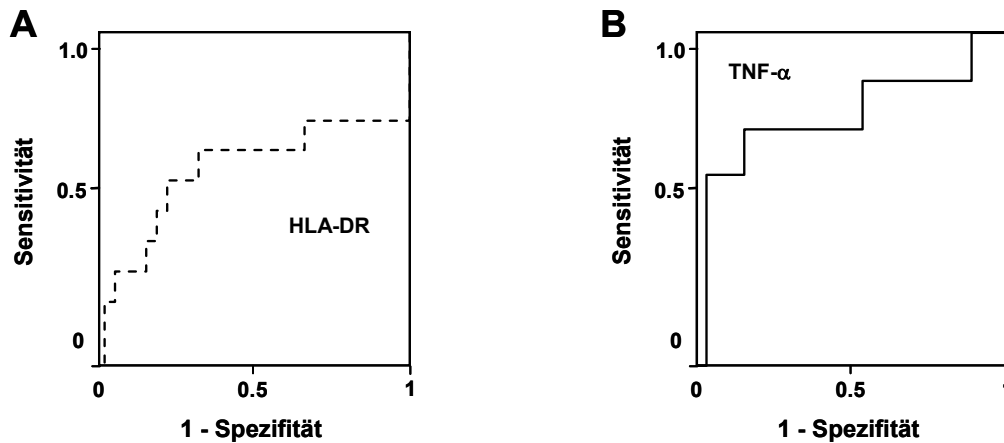


Abbildung 5: Darstellung der Sensitivität und Spezifität bezügliche der monozytären HLA-DR- Expression (A) und der monozytären TNF- α Sekretion (B) als ROC- Kurve.

Das relative Risiko für einen SP eine Infektion zu entwickeln, ist in der untersuchten Population unterhalb des Cut- Off Wertes der induzierten TNF- α - Sekretion um das 6,4-fache erhöht.

Eine Kombination der Cut- Off Punkte von TNF- α ex vivo, IFN- γ ex vivo oder der absoluten Zahl CD3+ T-Zellen erreichte eine Sensitivität und einen negativen prädiktiven Wert von 1,0 bei Aufnahme, während die Spezifität im Vergleich zu TNF- α ex vivo abnahm. Die Kombination weiterer Immunparameter konnte den prädiktiven Wert nicht verbessern (Tabelle 7A).

Bezüglich der nicht- laborchemischen Parameter bei Aufnahme zeigte sich, dass die prädiktiven Werte für die Schwere der neurologischen Einschränkung (NIHSS \geq 9 Punkte) mit einem relativen Infektions-Risiko von 9,2 einher geht, die Infarktgröße (DWI oder PWI >20 cm³) mit einem relativen Risiko von 3,6 und ein höheres Alter (>75 Jahre) mit einem relativen Risiko von 1,7 assoziiert ist (Tabelle 7B).

Die Kombination von NIHSS- Score und Alter konnten eine Sensitivität sowie einen negativen prädiktiven Wert von 1,0 erreichen. Für SP > 75 Jahre mit einem NIHSS-Score > 9 Punkte betrug das relative Risiko für eine Infektion damit 25,4.

Wie in Tabelle 7C dargestellt, konnte durch Kombination von des NIHSS-, TNF- α Sekretion und Alter die höchste prädiktive Wertigkeit ermittelt werden und erreichte ein 22-fach erhöhtes relatives Infektionsrisiko.

3. Ergebnisse

A

Immunparameter	[cut off]	SEN	SPE	PPW	NPW	RR _i
CD3+ T-Zellen	[<1,05 /nl]	0,82	0,52	0,39	0,88	3,3
ConA induziertes IFN- γ	[<4500 pg/ml]	0,64	0,64	0,41	0,82	2,3
HLA-DR	[<18000 Antigene/ Zelle]	0,54	0,79	0,5	0,82	2,8
LPS-induziertes TNF- α	[<1,6 fg/Monozyt]	0,71	0,89	0,71	0,89	6,4*
ind. TNF- α & ind. IFN- γ		1,0	0,59	0,50	1,0	10,9*
ind. TNF- α & CD3 +		1,0	0,39	0,39	1,0	7,8

B

Nicht- Laborparameter	[cut off]	SEN	SPE	PPV	NPV	RR _i
DWI oder PWI Volumen	[>20 cm ³]	0,64	0,79	0,54	0,85	3,6*
NIHSS	[\geq 9 Punkte]	0,73	0,97	0,89	0,90	9,2*
Alter	[\geq 75 Jahre]	0,46	0,72	0,39	0,78	1,7
DWI + PWI & NIHSS		0,82	0,76	0,56	0,92	6,8*
NIHSS & Alter		1,0	0,72	0,58	1,0	25,4*
DWI + PWI & NIHSS & Alter		1,0	0,57	0,48	1,0	17,1*

C

Kombinierte Parameter	[cut off]	SEN	SPE	PPV	NPV	RR _i
ind. TNF- α & DWI/ PWI		0,86	0,78	0,60	0,93	9,0*
ind. TNF- α & NIHSS		1,0	0,83	0,70	1,0	22,1*
ind. TNF- α & Alter		1,0	0,67	0,54	1,0	13,9*
ind. TNF- α & DWI/PWI & NIHSS		1,0	0,72	0,58	1,0	16,2*
ind. TNF- α & NIHSS & Alter		1,0	0,67	0,54	1,0	13,9*
ind. TNF- α & DWI/PWI & Alter		1,0	0,56	0,48	1,0	10,2*

Tabelle 7: Sensitivität (SEN), Spezifität (SPE), positive prädiktiver Wert (PPW), negative prädiktiver Wert (NPW), und relatives Risiko (RR_i) für eine nosokomiale Infektion ausgewählter Immunparameter (A), nicht- laborchemischer Parameter (B) und kombinierter Parameter (C) für Schlaganfallpatienten bei Aufnahme (Tag 0). [Cut- Off Wert]. * p <0,05.

4. DISKUSSION

In den letzten Jahren konnte das Wissen über die pathophysiologischen Grundlagen des ischämischen Schlaganfalls deutlich erweitert werden. Neben einer lokalen Inflammationsreaktion im Gehirn finden sich zudem systemische Veränderungen des Immunsystems, die zumindest partiell die erhöhte Inzidenz nosokomialer Infektionen nach einem akuten Schlaganfall bedingen und das Outcome negativ zu beeinflussen scheinen [31, 38, 87].

Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass eine präventive antibiotische Therapie innerhalb von 12 Stunden nach ischämischem Schlaganfall Infektionen verhindern, die Mortalität signifikant reduzieren und das neurologische Outcome nach Schlaganfall verbessern kann [96]. Darüber hinaus scheinen bestimmte Antibiotika auch neuroprotektive Effekte zu vermitteln [97]. Erste klinische Studien zur präventiven Antibiotikatherapie beim Menschen nach akutem Schlaganfall konnten die im Tiermodell nachgewiesenen Effekte jedoch nur bedingt reproduzieren [52-54] (siehe 1.3.). Die Analyse der Immunantwort nach akuter traumatischer ZNS- Verletzung, nach neurochirurgischen Eingriffen oder im tierexperimentellen Schlaganfallmodell [79, 82, 98] führten zum Modell des *Central Nervous System induced immune deficiency syndrome* (CIDS), das durch eine zelluläre und humorale Immunsuppression mit einer Apoptose- bedingten Lymphopenie, Verschiebung der T- Helferzellen (Th)- Antwort von Th₁ zu Th₂ und einer funktionellen Deaktivierung der Monozyten gekennzeichnet ist, die offenbar eine überschießende lokale Inflammationsreaktion unterbindet, die zu einer Vergrößerung des zerebralen Schadens führen würde [99]. Die zelluläre und humorale Immunsuppression wird offenbar durch eine Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse und des sympathischen und parasympathischen Nervensystems bedingt [81-83]. Eine umfassende Analyse der Immunantwort nach humanem Schlaganfall stand bisher jedoch aus, da eine von Chamorro et al. unlängst publizierte Arbeit nur einzelne immunologische Parameter darstellte [78].

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit stand daher die Analyse der Immunantwort von 40 Schlaganfallpatienten (SP) nach akuter zerebraler Ischämie, die im Rahmen einer prospektiven klinischen Beobachtungsstudie erfasst wurden [100]. Retrospektiv sollten zudem Prädiktoren für das Auftreten einer Infektion identifiziert werden. Um eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden wurden SP mit akuten oder chronischen

Infektionen, malignen Erkrankungen oder einer vorbestehenden Suppression des Immunsystems nicht in die Studie eingeschlossen.

Analyse der Immunantwort nach akutem Schlaganfall

Verglichen mit gesunden Kontrollen zeigt sich eine Akute Phase- Reaktion bei Patienten mit akutem ischämischen Schlaganfall [100], was bereits wiederholt publiziert wurde [101-103]. Als Akute- Phase Reaktion wird die systemische oder lokal ausgelöste, schnell einsetzende Immunreaktion bezeichnet, die neben Fieber, Neutrophilie und Veränderungen verschiedener komplexer Stoffwechselfunktionen auch die Induktion der Akuten Phase Proteine wie bspw. des CRP beinhaltet [104-106]. Diese Induktion unterliegt komplexen Mechanismen, in denen IL-6 eine Schlüsselrolle als Induktor der hepatischen Protein-Synthese zukommt [107]. Da das Auftreten von Fieber bei Patienten nach akutem Schlaganfall mit einem schlechteren neurologischen Outcome assoziiert ist [17, 32, 33, 108-110], hat sich die frühe antipyretische Therapie nach akutem Schlaganfall bereits seit Jahren etabliert [13].

Als Ursache der Akute Phase- Reaktion nach Schlaganfall wird in der Literatur neben dem Auftreten von Infektionen eine autochthone inflammatorische Reaktion des geschädigten Hirngewebes diskutiert, die zum Abbau des im Verlauf nekrotischen Hirngewebes führt [111, 112]. Zudem konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Akuten Phase Reaktion innerhalb der ersten 24 Stunden nach akuter zerebraler Ischämie mit der Größe des Infarktes und dem neurologischen Outcome korreliert [110, 111, 113]. An Hand unserer Daten konnte letzteres durch eine multivariate logistische Regression jedoch nicht bestätigt werden [100].

Die genauen physiologischen und pathophysiologischen Ursachen und Folgen der Interaktion zwischen geschädigtem Hirngewebe und Immunsystem sind bislang nicht vollständig verstanden. Einerseits könnte eine systemische Immunsuppression, die für Infektionen prädisponiert, das klinische Outcome negativ beeinflussen. Andererseits könnte diese Immunsuppression eine überschießende lokale Inflammationsreaktion unterbinden, die zu einer Vergrößerung des zerebralen Schadens führen könnte [99].

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte bei Patienten bereits wenige Stunden nach akutem ischämischen Schlaganfall eine signifikante Lymphopenie nachgewiesen

werden, die die CD3⁺- T-Zellen und insbesondere CD4⁺- T- Helferzellen (Th) betraf und zumindest über 6 Tage anhielt [100]. Unsere Ergebnisse wurden mittlerweile von anderen Arbeitsgruppen reproduziert [114] und stimmen mit den Erkenntnissen aus dem Mausmodell [79, 115] und mit dem kürzlich vorgestellten Konzept der „Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome“ (CIDS) überein [11, 80].

Die im Tiermodell gezeigte Suppression von B-Zellen und NK-Zellen konnte im Rahmen der Studie nicht nachgewiesen werden [100]. Da auch bei Vogelgesang et al. bei 46 Patienten mit akutem ischämischen Schlaganfall sowohl die absolute als auch relative B- und NK- Zellzahlen nicht beeinträchtigt waren [114], ist zu postulieren, dass sich die Immunantwort bei Mäusen und Menschen diesbezüglich unterscheidet.

In Stimulationstests *ex vivo* fanden wir Hinweise für eine vornehmlich durch eine funktionelle Deaktivierung von Monozyten getragene zelluläre Immundepression, wie bereits im Mausmodell [79] und bei Patienten nach traumatischer Verletzung des ZNS, nach neurochirurgischen Eingriffen an Gehirn und Rückenmark und unter hochdosierter Steroidtherapie gezeigt wurde [75, 82, 98]. Trotz nachgewiesener Monozytose waren sowohl die monozytäre TNF- α Sekretion als auch die monozytäre HLA-DR Expression reduziert [100]. Die Expression dieser monozytären Oberflächenantigene, die als Grundlage einer Antigen- spezifischen T- Zell Immunantwort anzusehen ist, stellt einen validierten und standardisierten Parameter der Kompetenz der Immunantwort dar [116]. Auch Vogelgesang et al. konnten eine reduzierte HLA-DR Expression bei Schlaganfallpatienten nachweisen, die ihren Tiefpunkt im Gegensatz zu unseren Daten erst an Tag 6 erreichte und unter quantitativen Aspekten deutlicher ausgeprägt war [114].

Das Ausmaß der Immunsuppression korrelierte in der multivariaten logistischen Regression mit dem Schweregrad der neurologischen Defizite und der Größe des ischämischen Infarktareals, wie auch kürzlich von Chamorro et al. beschrieben [78].

Da auch bei etwa einem Drittel der Patienten ohne Infektion nach Schlaganfall (SPI-) eine zumindest temporäre Erniedrigung der *ex vivo* IFN- γ - Sekretion und der monozytären HLA-DR- Expression nachgewiesen werden konnte, scheint eine zumindest intermittierende Immunsuppression vorzuliegen, die jedoch nicht in jedem Fall zu einer Infektion führt.

Auftreten nosokomialer Infektionen nach akutem Schlaganfall

Insgesamt erlitten 28 % aller in die Studie eingeschlossenen SP im Beobachtungszeitraum von 14 Tagen eine nosokomiale Infektion, was in etwa den bisher publizierten Prävalenzen in anderen Schlaganfall-Studien entsprach [30-44]. Eine direkte Vergleichbarkeit dieser Studien ist jedoch aufgrund der differierenden Beobachtungszeiträume und des unterschiedlichen klinischen Settings eingeschränkt. Wie bereits publiziert [31, 35, 78, 82, 117, 118] zeigte sich auch im Rahmen der Studie eine höhere Inzidenz von Infekten bei SP mit großen Infarktarealen, bei SP mit schwerem neurologischem Defizit und bei älteren SP (99). Eine Assoziation des Infektionsrisikos mit dem in einigen anderen Studien [17, 34, 40, 43, 119] postulierten Faktoren (Nachweis von Vorhofflimmern, Herzinsuffizienz, weibliches Geschlecht, Infarkt im vorderen Stromgebiet) konnte anhand der vorliegenden Daten und der entsprechenden Fallzahl hingegen nicht bestätigt werden.

In Übereinstimmung mit einer Publikation von Marik et al. [49] entwickelten im Rahmen der Studie weniger als die Hälfte aller SP mit Dysphagie im weiteren Verlauf von einer Bronchitis oder Pneumonie. Im Hinblick auf die Studie von Dziewas et al., die trotz frühzeitiger Ernährung über eine nasogastrale Sonde bei bestehender Dysphagie nach akutem Schlaganfall bei 44 % der Patienten eine Pneumonie fanden, ist abzuleiten, dass eine Dysphagie für eine nosokomiale Infektion prädisponiert, aber weitere Faktoren für die hohe Infektanfälligkeit entscheidend sind. Diese These wird auch durch die Tatsache gestützt, dass nur etwa ein Drittel aller Harnwegs-katheterisierten Patienten in unserer Studie im Beobachtungszeitraum einen Harnwegsinfekt entwickelten [100].

Analyse der Immunantwort im Hinblick auf nosokomiale Infektionen

Die anhand unserer Studie mögliche Analyse der Immunantwort bei Schlaganfallpatienten mit nosokomialer Infektion (SPI+) und Schlaganfallpatienten ohne nosokomiale Infektion (SPI-) zeigte, dass bereits wenige Stunden nach dem stattgehabten Schlaganfall grundlegende Unterschiede in der zellulären Immunantwort bestanden.

Im Gegensatz zu einer Publikation von Chamorro et al. [78] war die Lymphozytenzahl und insbesondere die der CD-3+ T-Helferzellen (Th) und CD-4+ Th bei SPI+ bereits

nach durchschnittlich 8 Stunden signifikant reduziert. Dieser Verlust der CD4⁺ Th persistierte bei SPI⁺ für zumindest 6 Tage. Diese Ergebnisse konnten auch unlängst von Vogelgesang et al. bestätigt werden [114] und scheinen für die erhöhte Infektrate mitverantwortlich zu sein.

Additiv zur Lymphopenie wurde in der Gruppe der SPI⁺ eine funktionelle Dysfunktion der Th₁- Achse der Immunabwehr anhand einer verringerten Sekretion von IFN- γ nach Stimulation mit Concanavalin A ex vivo beobachtet. Der zu Ungunsten der Th₁- Antwort verschobene Th₁/ Th₂ Quotient war im Mausmodell jedoch noch deutlicher ausgeprägt [79]. Dass insbesondere IFN- γ in der Abwehr bakterieller Infektionen nach stattgehabtem Schlaganfall von Bedeutung ist, konnte im Mausmodell durch adoptiven Zelltransfer IFN- γ - produzierender T- und NK-Zellen gezeigt werden [79]. Therapeutische Interventionen erscheinen zumindest denkbar, da durch eine Boosterung des Immunsystems mit IFN- γ in Sepsis- Studien eine Konsolidierung der Immunfunktion erreicht werden konnte [66, 120].

Auch Monozyten wiesen numerische und funktionelle Veränderungen auf: Eine verminderte monozytäre Sekretionsfähigkeit von TNF- α nach LPS- Stimulation ex vivo deutet dabei ebenso wie die signifikant erniedrigte monozytäre HLA-DR Expression auf einen Verlust der monozytären Immunkompetenz nach Schlaganfall hin. Im Gegensatz zu den Veränderungen der Leukozytensubpopulationen und Beobachtungen von Vogelgesang et al. [114] zeigen sich diese Veränderungen in unserer Studie erst an Tag 2. Bei den SPI⁺ war der Abfall der monozytären HLA-DR- Expression deutlicher ausgeprägt als bei SPI⁻ und zeigte zudem eine abfallende Tendenz. Bei SPI⁻ stieg die HLA-DR Expression zwischen Tag 2 und Tag 6 wieder an. An Tag 6 fanden sich bei SPI⁺ durchschnittlich weniger als 15000 Antigene/ Monozyt, dies entspricht einer als „Immunparalyse“ bezeichneten Reduktion der Oberflächenantigene [72]. Die absolute und auch relative Monozytenzahl selbst war im Vergleich zu SPI⁻ und den Gesunden Kontrollen (GK) erhöht, wie auch von Chamorro et al. in den Jahren 2006 und 2007 beschrieben [46, 78, 100].

Unter Verwendung hochsensitiver ELISA- Techniken konnten anhand der vorliegenden Arbeit die von Beamer et al. [102] und Chamorro et al. [78] publizierte generalisierte Erhöhung der Serumspiegel für IL-6 nicht bestätigt werden, da sich erhöhte IL-6 Werte nur bei einem Teil der SP, zumeist bei solchen mit einer Infektion zeigten, wie auch durch Emsley et al. [28] postuliert.

Serielle Bestimmungen der in vivo Serumspiegel von TNF- α und IL-10 im untersuchten Patientenkollektiv ergaben keine detektierbaren Veränderungen, was Publikationen von Chamorro et al. [78] und Zaremba et al. [121] widerspricht. Die prädiktive Wertigkeit der Zytokin- Bestimmung zur Vorhersage einer Infektion nach einem ischämischen Schlaganfall ist somit in Frage zu stellen.

Dem Konzept des „CIDS“ folgend untersuchten wir zudem Serumkortisolwerte, die bei SPI+ an Tag 2 und 6 nach Schlaganfall signifikant höher als bei SPI- waren. Durch Bestimmung der Serumwerte am Morgen konnte eine Verzerrung der Ergebnisse durch die zirkadiane Fluktuation der Kortisolfreisetzung weitestgehend vermieden werden. Die erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems nach akutem Schlaganfall konnte anhand dieser Studie nicht beurteilt werden, da eine valide Bestimmung der diesbezüglichen Parameter einen zu hohen methodischen Aufwand bedeutet hätte.

Der Einfluss der Lokalisation des ischämischen Schlaganfalles wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Dass linke und rechte Hemisphäre unterschiedlichen Einfluss auf die Immunfunktion haben, konnte sowohl durch tierexperimentelle Arbeiten als auch anhand klinischer Studien beim Menschen festgestellt werden [122, 123]. So finden sich Arbeiten, die eine Verbindung zwischen dem von der Ischämie betroffenen vaskulären Stromgebiet und der nachfolgenden Suppression des Immunsystems herstellen [124-127]. Die Größe und Ätiologie des Infarktes wurden dabei jedoch außer acht gelassen und die Veränderungen der Immunitätslage teils erst Monate nach dem Infarkt beschrieben. Koch et al. postulierten, dass linkshemisphärielle Schlaganfälle eine verminderte Immunantwort nach Schlaganfall bedingen [128]. Tarkowski et. al zeigten 1998, dass ein Schlaganfall mit Schädigung des frontalen Kortex und des Putamens auf der kontralateralen paretischen Seite eine stärkere T- Zell vermittelte Immunreaktion Typ IV (delayed type of hypersensitivity) hervorrief [126]. Anhand der von uns erhobenen Daten ließ sich keine sichere Aussage zum Einfluss der hemisphäriellen Lokalisation treffen. Allerdings waren vorrangig Patienten mit Infarkten im Stromgebiet der rechten A. cerebri media vom Auftreten einer Infektion betroffen [100]. Weitere prospektive klinische Studien sind nötig, um Aussagen über den Einfluss der Lokalisation des Schlaganfalls auf die Immunfunktion treffen zu können.

Prädiktoren für die Entwicklung einer Infektion nach akuter zerebraler Ischämie

Anhand der Sensitivität, Spezifität, dem positiven und negativen prädiktiven Wert für verschiedener Parameter konnte anhand dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine standardisierte Überwachung zellulärer Immunfunktionen verlässliche Voraussagen über das Auftreten einer nosokomialen Infektion nach einem akuten Schlaganfall zulässt.

Bei Unterschreiten eines festgelegten Cut- Off- Wertes der monozytären TNF- α - Sekretion ex vivo bei stationärer Aufnahme war das relative Risiko für das Auftreten einer nosokomialen Infektion im Verlauf um das 6-fache erhöht.

Fanden sich darüber hinaus die ex vivo bestimmten IFN- γ Spiegel oder die Zahl der CD3+ Zellen unterhalb der in der ROC- Analyse bestimmten Cut- Off- Werte, erreichte die Sensitivität 100 %. Daher kann angenommen werden, dass der Schweregrad der Immunsuppression das Auftreten einer nosokomialen Infektion beeinflusst. Die monozytäre HLA-DR Expression zeigte bereits bei Aufnahme und vor klinisch apparentem Beginn einer Infektion signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen der SPI+ und SPI-, was durch Harms et al. [53] bestätigt wurde, blieb jedoch bezüglich der prädiktiven Wertigkeit bei Aufnahme hinter anderen Parametern zurück (Tabelle 7).

Unter Verwendung der Multivariaten Analyse konnte festgestellt werden, dass das Auftreten einer Infektion nach akutem Schlaganfall mit dem Ausmaß der neurologischen Defizite, Alter und LPS- induzierter TNF- α Sekretion ex vivo, jedoch nicht mit dem Vorhandensein einer Dysphagie oder der Schlaganfallgröße assoziiert ist. Im Hinblick auf die klinische Anwendbarkeit der Ergebnisse ist insbesondere der hervorragende prädiktive Wert des Schweregrades des Schlaganfalls (NIHSS-Skala) in Kombination mit dem Alter des Patienten oder der TNF- α - Sekretion ex vivo relevant.

Limitationen der prospektiven Studie

Der ischämische Schlaganfall kann aufgrund der variierenden Ätiologie und der individuell differenten Risikofaktoren nicht als homogenes Krankheitsbild eingeordnet werden. So wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit Patienten mit leichten bis mittelschweren klinischen Defiziten und variierenden Schlaganfalllokalisationen

untersucht. Die hier vorgelegten Ergebnisse können somit keine allgemeine Gültigkeit besitzen.

Aufgrund des hohen methodischen Aufwands konnte zudem nur eine bestimmte Zahl an SP eingeschlossen und über eine begrenzte Zeitdauer nachverfolgt werden. Zudem war eine Limitation der geplanten Untersuchungen notwendig, um die Belastungen für die Studienteilnehmer in einem vertretbaren Rahmen zu halten. So wurde auf eine liquorologische und tägliche laborchemische Untersuchung verzichtet. Anhand der vorliegenden Daten konnten somit keine dezidierten Aussagen über eine Assoziation einer klinischen Verschlechterung und dem Auftreten von Infektionen, die Aktivität des sympathischen und parasympathischen Nervensystems oder über den Einfluss der Lokalisation der zerebralen Ischämie auf die Immunantwort getroffen werden. Ein weiterer Kritikpunkt ist das signifikant niedrigere Alter der herangezogenen Kontrollgruppe. Eine Kovarianzanalyse zeigte jedoch, dass das Alter in der Kontrollgruppe keinen unabhängigen Einflussfaktor auf den gegenwärtigen Immunstatus darstellte.

5. Zusammenfassung

Der ischämische Schlaganfall zählt zu den häufigsten Todesursachen in Deutschland und ist der häufigste Grund einer bleibenden Behinderung. Insbesondere in der postakuten Phase haben nosokomiale Infektionen, deren Inzidenz bei Schlaganfallpatienten deutlich höher ist als bei anderen Erkrankungen, einen bedeutenden Einfluss auf die Mortalität und Morbidität. Als Ursachen der erhöhten Infektsuszeptibilität konnte im Mausmodell der akuten zerebralen Ischämie eine akut einsetzende und andauernde Immunsuppression nachgewiesen werden, die durch Aktivierung der Hypothalamus- Hypophysen- Nebennieren- Achse und eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems induziert wird. Um den Einfluss einer akuten zerebralen Ischämie auf das humane Immunsystem zu analysieren, wurden 40 Patienten mit ischämischem Schlaganfall einem standardisierten Immunmonitoring sowie seriellen MRT- und klinischen Untersuchungen unterzogen. Als Vergleichsgruppe dienten 30 gesunde Probanden ohne bestehende Immunsuppression.

Es zeigte sich bei den von einer Infektion betroffenen Schlaganfallpatienten eine bereits bei Aufnahme und vor Auftreten eines Infektes bestehende und über zumindest 6 Tage anhaltende Immunsuppression, die durch eine Depression der Zahl der CD3+ und CD4+ Lymphozyten sowie eine funktionelle Deaktivierung von Monozyten und Th₁-Zellen charakterisiert wurde. Die Analyse der erhobenen volumetrischen, immunologischen und paraklinischen Parameter zeigte eine direkte Korrelation der Immunsuppression mit dem klinischen Schweregrad, dem Alter der Patienten und dem Infarkt volumen. Bezüglich der prädiktiven Wertigkeit für nosokomiale Infektionen zeigte die Kombination der monozytären TNF- α Freisetzung ex vivo und der klinische Schweregrad (NIHSS- Wert) die höchste Sensitivität und Spezifität, die durch etablierte Parameter wie CRP, IL-6 oder die monozytäre HLA-DR Expression nicht erreicht werden konnte. Im Rahmen dieser Arbeit konnte das sogenannte „Central Nervous System injury- induced immune deficiency syndrome“ nach akutem ischämischem Schlaganfall beim Menschen gezeigt werden, das offenbar für die erhöhte Inzidenz nosokomialer Infektionen nach akuter zerebraler Ischämie mitverantwortlich ist. Sollten sich die Ergebnisse dieser Arbeit in weiteren Studien bestätigen, könnten neue therapeutische Ansätze dazu beitragen, die Schlaganfall-assoziierte Morbidität und Mortalität zu senken.

6. Literatur

1. 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.
2. 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.
3. Diener, H.C., *Zerebrale Ischämie*. In: Brandt, T., Dichans, J., Diener, H.C. (Hrsg.). *Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen*. Verlag Kohlhammer, Stuttgart, , 1998(3. Auflage): p. 271-295.
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. Markus, H.S., *Current treatments in neurology: stroke*. *J Neurol*, 2005. **252**(3): p. 260-7.
7. 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.
8. Grau, A.J., et al., *Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke: the German stroke data bank*. *Stroke*, 2001. **32**(11): p. 2559-66.
9. Christopher, A.L., P.V.R. Chethan, and S. Brian, *Transient Ischemic Attack: Definitions and Clinical Presentations*. *Annals of emergency medicine*, 2008. **52**(2): p. S7-S16.
10. Dirnagl, U., C. Iadecola, and M.A. Moskowitz, *Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view*. *Trends Neurosci*, 1999. **22**(9): p. 391-7.
11. Dirnagl, U., et al., *Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance*. *Stroke*, 2007. **38**(2 Suppl): p. 770-3.
12. 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.
13. Khaja, A.M. and J.C. Grotta, *Established treatments for acute ischaemic stroke*. *Lancet*, 2007. **369**(9558): p. 319-30.
14. Wardlaw, J.M., et al., *Thrombolysis for acute ischaemic stroke*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2003(3): p. CD000213.
15. 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.
16. Candelise, L., et al., *Prognostic significance of hyperglycemia in acute stroke*. *Arch Neurol*, 1985. **42**(7): p. 661-3.
17. 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.

18. 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.
19. Candelise, L., et al., *Stroke-unit care for acute stroke patients: an observational follow-up study.* *Lancet*, 2007. **369**(9558): p. 299-305.
20. Romero, J.R., *Prevention of ischemic stroke: overview of traditional risk factors.* *Curr Drug Targets*, 2007. **8**(7): p. 794-801.
21. Nencini, P., et al., *Acute inflammatory events and ischemic stroke subtypes.* *Cerebrovasc Dis*, 2003. **15**(3): p. 215-21.
22. Grau, A.J., et al., *Helicobacter pylori infection as an independent risk factor for cerebral ischemia of atherothrombotic origin.* *J Neurol Sci*, 2001. **186**(1-2): p. 1-5.
23. Goldstein, L.B., *Novel risk factors for stroke: homocysteine, inflammation, and infection.* *Curr Atheroscler Rep*, 2000. **2**(2): p. 110-4.
24. Grau, A.J., et al., *Recent bacterial and viral infection is a risk factor for cerebrovascular ischemia: clinical and biochemical studies.* *Neurology*, 1998. **50**(1): p. 196-203.
25. Syrjanen, J., *Infection as a risk factor for cerebral infarction.* *Eur Heart J*, 1993. **14 Suppl K**: p. 17-9.
26. Lindsberg, P.J. and A.J. Grau, *Inflammation and infections as risk factors for ischemic stroke.* *Stroke*, 2003. **34**(10): p. 2518-32.
27. Grau, A.J., et al., *Recent infection as a risk factor for cerebrovascular ischemia.* *Stroke*, 1995. **26**(3): p. 373-9.
28. Emsley, H.C. and P.J. Tyrrell, *Inflammation and infection in clinical stroke.* *J Cereb Blood Flow Metab*, 2002. **22**(12): p. 1399-419.
29. Czlonkowska, A. and G. Gromadzka, *[The relationship between immunological parameters with etiopathogenesis and clinical course of stroke].* *Neurol Neurochir Pol*, 2000. **34**(3 Suppl): p. 13-26.
30. 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.
31. Davenport, R.J., et al., *Complications after acute stroke.* *Stroke*, 1996. **27**(3): p. 415-20.
32. Georgilis, K., et al., *Aetiology of fever in patients with acute stroke.* *J Intern Med*, 1999. **246**(2): p. 203-9.
33. Grau, A.J., et al., *Fever and infection early after ischemic stroke.* *J Neurol Sci*, 1999. **171**(2): p. 115-20.
34. Hamidon, B.B., et al., *The predictors of early infection after an acute ischaemic stroke.* *Singapore Med J*, 2003. **44**(7): p. 344-6.
35. 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.
36. Hilker, R., et al., *Nosocomial pneumonia after acute stroke: implications for neurological intensive care medicine.* *Stroke*, 2003. **34**(4): p. 975-81.
37. 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.
38. Katzan, I.L., et al., *The effect of pneumonia on mortality among patients hospitalized for acute stroke.* *Neurology*, 2003. **60**(4): p. 620-5.
39. Langhorne, P., et al., *Medical complications after stroke: a multicenter study.* *Stroke*, 2000. **31**(6): p. 1223-9.

40. Ovbiagele, B., et al., *Frequency and determinants of pneumonia and urinary tract infection during stroke hospitalization*. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2006. **15**(5): p. 209-13.
41. Smithard, D.G., et al., *Complications and outcome after acute stroke. Does dysphagia matter?* Stroke, 1996. **27**(7): p. 1200-4.
42. Tirschwell, D.L., W.A. Kukull, and W.T. Longstreth, Jr., *Medical complications of ischemic stroke and length of hospital stay: Experience in seattle, Washington*. J Stroke Cerebrovasc Dis, 1999. **8**(5): p. 336-43.
43. Vargas, M., et al., *Clinical consequences of infection in patients with acute stroke: is it prime time for further antibiotic trials?* Stroke, 2006. **37**(2): p. 461-5.
44. Weimar, C., et al., *Complications following acute ischemic stroke*. Eur Neurol, 2002. **48**(3): p. 133-40.
45. Emsley, H.C. and S.J. Hopkins, *Acute ischaemic stroke and infection: recent and emerging concepts*. Lancet Neurol, 2008. **7**(4): p. 341-53.
46. 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.
47. Gastmeier, P., et al., *Prevalence of nosocomial infections in representative German hospitals*. J Hosp Infect, 1998. **38**(1): p. 37-49.
48. Nakagawa, T., et al., *Silent cerebral infarction: a potential risk for pneumonia in the elderly*. J Intern Med, 2000. **247**(2): p. 255-9.
49. Marik, P.E., *Aspiration pneumonitis and aspiration pneumonia*. N Engl J Med, 2001. **344**(9): p. 665-71.
50. Perry, L. and C.P. Love, *Screening for dysphagia and aspiration in acute stroke: a systematic review*. Dysphagia, 2001. **16**(1): p. 7-18.
51. Kong, K.H., K.S. Chua, and A.P. Tow, *Clinical characteristics and functional outcome of stroke patients 75 years old and older*. Arch Phys Med Rehabil, 1998. **79**(12): p. 1535-9.
52. Chamorro, A., et al., *The Early Systemic Prophylaxis of Infection After Stroke study: a randomized clinical trial*. Stroke, 2005. **36**(7): p. 1495-500.
53. Harms, H., et al., *Preventive antibacterial therapy in acute ischemic stroke: a randomized controlled trial*. PLoS ONE, 2008. **3**(5): p. e2158.
54. 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.
55. Abbas, A.K., K.M. Murphy, and A. Sher, *Functional diversity of helper T lymphocytes*. Nature, 1996. **383**(6603): p. 787-93.
56. Kaufmann, S.H., *Immunity to intracellular microbial pathogens*. Immunol Today, 1995. **16**(7): p. 338-42.
57. Spellberg, B. and J.E. Edwards, Jr., *Type 1/Type 2 immunity in infectious diseases*. Clin Infect Dis, 2001. **32**(1): p. 76-102.
58. Vilcek, J., *The Cytokines: An Overview.*, in *The cytokine handbook*, J.J. Oppenheim, Editor. 1998, Academic press Limited. p. 1-19.
59. Aarden, L.A., et al., *Revised nomenclature for antigen-nonspecific T cell proliferation and helper factors*. J Immunol, 1979. **123**(6): p. 2928-9.
60. 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.

61. Seder, R.A., et al., *Interleukin 12 acts directly on CD4+ T cells to enhance priming for interferon gamma production and diminishes interleukin 4 inhibition of such priming*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. **90**(21): p. 10188-92.
62. 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.
63. Swain, S.L., et al., *IL-4 directs the development of Th2-like helper effectors*. J Immunol, 1990. **145**(11): p. 3796-806.
64. Billiau, A., *Interferon-gamma: biology and role in pathogenesis*. Adv Immunol, 1996. **62**: p. 61-130.
65. 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.
66. Docke, W.D., et al., *Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment*. Nat Med, 1997. **3**(6): p. 678-81.
67. Ertel, W., et al., *Release of anti-inflammatory mediators after mechanical trauma correlates with severity of injury and clinical outcome*. J Trauma, 1995. **39**(5): p. 879-85; discussion 885-7.
68. Kox, W.J., et al., *Interferon gamma-1b in the treatment of compensatory anti-inflammatory response syndrome. A new approach: proof of principle*. Arch Intern Med, 1997. **157**(4): p. 389-93.
69. Ditschkowski, M., et al., *HLA-DR expression and soluble HLA-DR levels in septic patients after trauma*. Ann Surg, 1999. **229**(2): p. 246-54.
70. 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.
71. Tschaikowsky, K., et al., *Coincidence of pro- and anti-inflammatory responses in the early phase of severe sepsis: Longitudinal study of mononuclear histocompatibility leukocyte antigen-DR expression, procalcitonin, C-reactive protein, and changes in T-cell subsets in septic and postoperative patients*. Crit Care Med, 2002. **30**(5): p. 1015-23.
72. Volk, H.D., et al., *Monocyte deactivation--rationale for a new therapeutic strategy in sepsis*. Intensive Care Med, 1996. **22 Suppl 4**: p. S474-81.
73. Kampalath, B., et al., *Monocytes with altered phenotypes in posttrauma patients*. Arch Pathol Lab Med, 2003. **127**(12): p. 1580-5.
74. Sachse, C., et al., *Association between reduced human leukocyte antigen (HLA)-DR expression on blood monocytes and increased plasma level of interleukin-10 in patients with severe burns*. Clin Chem Lab Med, 1999. **37**(3): p. 193-8.
75. 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.
76. 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.
77. Chamorro, A., et al., *Catecholamines, infection, and death in acute ischemic stroke*. J Neurol Sci, 2007. **252**(1): p. 29-35.
78. 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.

79. 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.
80. Meisel, C., et al., *Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome*. Nat Rev Neurosci, 2005. **6**(10): p. 775-86.
81. Mutlu, L.K., C. Woiciechowsky, and I. Bechmann, *Inflammatory response after neurosurgery*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2004. **18**(3): p. 407-24.
82. Asadullah, K., et al., *Immunodepression following neurosurgical procedures*. Crit Care Med, 1995. **23**(12): p. 1976-83.
83. 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.
84. Pavlov, V.A., et al., *The cholinergic anti-inflammatory pathway: a missing link in neuroimmunomodulation*. Mol Med, 2003. **9**(5-8): p. 125-34.
85. Wrona, D., *Neural-immune interactions: an integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems*. J Neuroimmunol, 2006. **172**(1-2): p. 38-58.
86. Elenkov, I.J., et al., *The Sympathetic Nerve---An Integrative Interface between Two Supersystems: The Brain and the Immune System*. Pharmacol Rev, 2000. **52**(4): p. 595-638.
87. Heuschmann, P.U., et al., *Predictors of in-hospital mortality in patients with acute ischemic stroke treated with thrombolytic therapy*. Jama, 2004. **292**(15): p. 1831-8.
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. Myrianthefs, P.M., et al., *Nosocomial pneumonia*. Crit Care Nurs Q, 2004. **27**(3): p. 241-57.
91. Daniels, S.K., et al., *Aspiration in patients with acute stroke*. Arch Phys Med Rehabil, 1998. **79**(1): p. 14-9.
92. Brott, T., et al., *Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale*. Stroke, 1989. **20**(7): p. 864-70.
93. 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.
94. Mathison, J., et al., *Regulatory mechanisms of host responsiveness to endotoxin (lipopolysaccharide)*. Pathobiology, 1991. **59**(3): p. 185-8.
95. Hochberg, Y. and A.C. Tamhane, *Multiple Comparison Methods*. 1987, New York: Wiley.
96. 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.
97. Xu, L., et al., *Low dose intravenous minocycline is neuroprotective after middle cerebral artery occlusion-reperfusion in rats*. BMC Neurol, 2004. **4**: p. 7.
98. Woiciechowsky, C., et al., *Mechanisms of brain-mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression*. J Mol Med, 1999. **77**(11): p. 769-80.

99. Schultzberg, M., et al., *Inflammation in the nervous system--physiological and pathophysiological aspects*. *Physiol Behav*, 2007. **92**(1-2): p. 121-8.
100. 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.
101. Bartosik-Psujek, H., E. Belniak, and Z. Stelmasiak, *Markers of inflammation in cerebral ischemia*. *Neurol Sci*, 2003. **24**(4): p. 279-80.
102. Beamer, N.B., et al., *Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke*. *Ann Neurol*, 1995. **37**(6): p. 800-5.
103. 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.
104. Gabay, C. and I. Kushner, *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation*. *N Engl J Med*, 1999. **340**(6): p. 448-54.
105. Kushner, I., *The phenomenon of the acute phase response*. *Ann N Y Acad Sci*, 1982. **389**: p. 39-48.
106. Moshage, H., *Cytokines and the hepatic acute phase response*. *J Pathol*, 1997. **181**(3): p. 257-66.
107. Gauldie, J., et al., *Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987. **84**(20): p. 7251-5.
108. Hajat, C., S. Hajat, and P. Sharma, *Effects of poststroke pyrexia on stroke outcome : a meta-analysis of studies in patients*. *Stroke*, 2000. **31**(2): p. 410-4.
109. Przelomski, M.M., et al., *Fever in the wake of a stroke*. *Neurology*, 1986. **36**(3): p. 427-9.
110. Boysen, G. and H. Christensen, *Stroke severity determines body temperature in acute stroke*. *Stroke*, 2001. **32**(2): p. 413-7.
111. Audebert, H.J., et al., *Systemic inflammatory response depends on initial stroke severity but is attenuated by successful thrombolysis*. *Stroke*, 2004. **35**(9): p. 2128-33.
112. Kogure, K., et al., *Inflammation of the brain after ischemia*. *Acta Neurochir Suppl*, 1996. **66**: p. 40-3.
113. Castillo, J., et al., *Timing for fever-related brain damage in acute ischemic stroke*. *Stroke*, 1998. **29**(12): p. 2455-60.
114. 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.
115. Prass, K., et al., *Stroke propagates bacterial aspiration to pneumonia in a model of cerebral ischemia*. *Stroke*, 2006. **37**(10): p. 2607-12.
116. Docke, W.D., et al., *Monitoring temporary immunodepression by flow cytometric measurement of monocytic HLA-DR expression: a multicenter standardized study*. *Clin Chem*, 2005. **51**(12): p. 2341-7.
117. Kalra, L., et al., *Medical complications during stroke rehabilitation*. *Stroke*, 1995. **26**(6): p. 990-4.
118. Pinto, A.N., et al., *Can a clinical classification of stroke predict complications and treatments during hospitalization?* *Cerebrovasc Dis*, 1998. **8**(4): p. 204-9.
119. Kwan, J. and P. Hand, *Infection after acute stroke is associated with poor short-term outcome*. *Acta Neurol Scand*, 2007. **115**(5): p. 331-8.
120. Pugin, J., *Immunostimulation is a rational therapeutic strategy in sepsis*. *Novartis Found Symp*, 2007. **280**: p. 21-7; discussion 27-36, 160-4.

121. Zaremba, J. and J. Losy, [*Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in patients with ischemic stroke*]. *Neurol Neurochir Pol*, 2001. **35**(1): p. 41-6.
122. Meador, K.J., et al., *Role of cerebral lateralization in control of immune processes in humans*. *Ann Neurol*, 2004. **55**(6): p. 840-4.
123. Neveu, P.J., *Cerebral lateralization and the immune system*. *Int Rev Neurobiol*, 2002. **52**: p. 303-23.
124. Rogers, S.L., C.L. Coe, and J.W. Karaszewski, *Immune consequences of stroke and cerebral palsy in adults*. *J Neuroimmunol*, 1998. **91**(1-2): p. 113-20.
125. Tarkowski, E., C. Blomstrand, and A. Tarkowski, *Stroke induced lateralization of delayed-type hypersensitivity in the early and chronic phase of the disease: a prospective study*. *J Clin Lab Immunol*, 1995. **46**(2): p. 73-83.
126. Tarkowski, E., et al., *Localization of the brain lesion affects the lateralization of T-lymphocyte dependent cutaneous inflammation. Evidence for an immunoregulatory role of the right frontal cortex-putamen region*. *Scand J Immunol*, 1998. **47**(1): p. 30-6.
127. Tarkowski, E., et al., *Lateralization of T-lymphocyte responses in patients with stroke. Effect of sympathetic dysfunction?* *Stroke*, 1995. **26**(1): p. 57-62.
128. Koch, H.J., et al., *Relation between laterality and immune response after acute cerebral ischemia*. *Neuroimmunomodulation*, 2006. **13**(1): p. 8-12.

7. ANHANG

7.1. Sequenzparameter der MRT- Bildgebung

Grundeinstellungen für alle akquirierten Sequenzen bis auf MR- Angiographie: Field of view (FoV) = 240 mm, Schichtdicke =6mm, gap =6mm.

T1 gewichtete MRT:

Vor und nach Kontrastmittelapplikation; Spin-Echo: TE = 14 ms; TR = 600 ms; matrix 256 x 256; Aquisitionszeit = 2 min.

T2 gewichtete MRT :

Turbo spin echo (TSE) mit mutliplen Echos, TE = 15 ms, 75 ms, 135 ms; TR = 2900 ms; matrix 256 x 256, Aquisitionszeit= 4 min.

Diffusionsgewichtete Bildgebung (DWI)

zur Berechnung der ADC maps: Echo planar imaging (EPI): TE = 114 ms; TR = 4700 ms; matrix 256 x 256, Aquisitionszeit=1 min.

T2*- gewichtete MRT

zur Durchführung einer perfusions- gewichteten Bildgebung (**PWI**) unmittelbar nach Applikation von 0.1 mmol/kg Körpergewicht Gd-DTPA (4ml/s) und folgender NaCl 0.9 %- Spülung (20ml, 4ml/s), EPI: TE = 56 ms; TR = 1000 ms; matrix 128 x 128; Aquisitionszeit = 1 min.

MR- Angiographie: time-of-flight angiography (TOF): TE = 7 ms; TR = 35 ms; Aquisitionsvolumen 200 x 200 x 150 mm³; Voxel Grösse 0.4 x 0.4 x 0.8 mm³; Aquisitionszeit= 6 min.

7.2. Erläuterungen zur neurologischen Befunderhebung mittels NIHSS

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	Blickbewegungen (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 90°/45° Position gehalten) (1) Absinken (der Arm wird zunächst bei 90°/45° gehalten, sinkt aber im Verlauf von 10 Sek. ab. (2) Anheben gegen Schwerkraft möglich (der Arm kann die 90°/45° 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 30° 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	Extremitätenataxie	(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.

7.3. Glossar

CD	Cluster of differentiation
Con A	Concavalin A
CRP	c- reaktives Protein
DWI	Diffusion weighted imaging, Diffusions- gewichtete Bildgebung
ELISA	Enzyme- linked Immunosorbent Assay
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorter
Gd	Gadolinium
GK	Gesunde Kontrollen
HLA-DR	Human Leukocyte Antigen DR
HWI	Harnwegsinfekt
IFN- γ	Interferon- γ
IL	Interleukin
LPS	Lipopolysaccharid
MHC	Major histocompatibility complex
MRT	Magnetresonanztomographie
NIHSS	National Institute of Health Stroke Scale
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NPW	Negativ prädiktiver Wert
PNS	Peripheres Nervensystem
PPW	Positiv prädiktiver Wert
PWI	Perfusion weighted imaging, Perfusionsgewichtete Bildgebung
SEN	Sensitivität
SNS	Sympathisches Nervensystem
SP	Schlaganfallpatienten
SPE	Spezifität
SPI-	Schlaganfallpatienten ohne nosokomiale Infektion
SPI+	Schlaganfallpatienten mit nosokomialer Infektion
Th	T- Helferzellen
Th ₁ , Th ₂	T- Helferzellen Typ 1, Typ 2
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
ZNS	Zentralnervensystem

7.4. Lebenslauf

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

7.5. Erklärung an Eides statt

„Ich, Wolf Ulrich Herbert Schmidt, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Immunsuppression nach akuter zerebraler Ischämie beim Menschen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 18. Dezember 2009

Wolf Schmidt