

Sandra Vera Hill
Dr. med.

Chemotaxis von neutrophilen Granulozyten und deren Expression von L-Selektin, CD11b und den Interleukin-8-Rezeptoren CXCR1 und CXCR2 bei Neugeborenen

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dipl. chem. Johannes Pöschl

Bakterielle Infektionen stellen ein wichtiges Krankheitsbild in der Neonatologie dar. Eine bedeutende Rolle in der Abwehr bakterieller Infektionen spielen die neutrophilen Granulozyten (PMN = polymorphonuclear cells), die den größten Teil der Phagozyten im Blut ausmachen. Der erste Schritt in deren Infektionsabwehr ist die Auswanderung aus der Blutbahn und die chemotaktische Wanderung zum Entzündungsherd, was durch die Regulation verschiedener Adhäsionsmoleküle vermittelt wird. Störungen der Chemotaxis und der Adhäsionsmolekül-Expression können zu schweren Infektionen führen.

In dieser Studie wurde in einer funktionellen durchflusszytometrischen Methode die Fähigkeit neutrophiler Granulozyten von Neugeborenen zur Chemotaxis als erstem Schritt der Infektionsabwehr untersucht. Neutrophile Granulozyten aus Nabelschnurblut und aus in der ersten Lebensstunde entnommenen peripher-venösen Blutproben wurden durch die Stimulantien fMLP und Interleukin-8 zur Migration angeregt und danach die Anzahl der durch eine Membran gewanderten PMN durchflusszytometrisch bestimmt. Als Zeichen für eine Voraktivierung wurde die spontane Granulozytenmigration gegenüber Phosphatpuffer bestimmt. In allen Ansätzen wurden auch der Zelldurchmesser als Aktivierungsmarker und die Expression des Adhäsionsmoleküls L-Selektin auf neutrophilen Granulozyten durchflusszytometrisch gemessen. Bei Aktivierung kommt es zu einem gesteigerten Zelldurchmesser durch Formwandel der PMN und zu einer Downregulation von L-Selektin (L-Selektin-Shedding). Zusätzlich wurde die basale Expression des Adhäsionsmoleküls CD11b und der Interleukin-8-Rezeptoren CXCR1 und CXCR2 auf neutrophilen Granulozyten durchflusszytometrisch bestimmt.

Es wurden insgesamt 101 Neugeborene und 35 gesunde erwachsene Kontrollprobanden untersucht. Die durchflusszytometrische Methode erwies sich hierbei als zuverlässige und gut objektivierbare Methode, mit der sich verschiedene funktionelle Parameter der Neutrophilenmigration auch in sehr kleinen Probenvolumina untersuchen ließen, was besonders in der Neonatologie bedeutsam ist. Verglichen wurden die Ergebnisse von Neonaten und Erwachsenen sowie der Einfluss von Geburtsmodus (Vaginalgeburt, Sectio caesarea ohne und mit Wehentätigkeit), verschiedener Anästhesiearten bei der Sectio caesarea (Periduralanästhesie, Spinalanästhesie und Intubationsnarkose), Gestationsalter und Unterschiede im Probenmaterial (Nabelschnurblut vs. peripher-venöses Blut aus der ersten Lebensstunde).

Im Nabelschnurblut gesunder reifer Neonaten nach Vaginalgeburt zeigte sich eine signifikant höhere spontane Neutrophilenmigration verglichen mit Erwachsenen. Andererseits war die durch fMLP und IL-8 stimulierte Chemotaxis bei den Erwachsenen höher. Dies spricht für eine bestehende Voraktivierung der Neutrophilen von Neugeborenen bei geringerer Stimulierbarkeit durch chemotaktische Substanzen. Unterstützt wurde diese Beobachtung durch die signifikant verminderte basale L-Selektin-Expression, größere Zelldurchmesser und höhere Expression des Adhäsionsmoleküls CD11b der Nabelschnurblut-PMN, alles Zeichen für Aktivierung.

In einem gepaarten Vergleich von Nabelschnurblut und in der ersten Lebensstunde entnommenem peripher-venösem Blut beim gleichen Individuum zeigte sich eine signifikant höhere Zahl der Leukozyten im peripher-venösen Blut. Die neutrophile Expression der beiden untersuchten Interleukin-8-Rezeptoren war im peripher-venösen Blut ebenfalls signifikant höher als im Nabelschnurblut. Es schien also unmittelbar nach der Geburt bereits zu immunologischen Veränderungen zu kommen. Dies deutet darauf hin, dass die Probenmaterialien Nabelschnurblut und peripher-venöses Blut aus der ersten Lebensstunde nicht gleichzusetzen sind, da sich quantitative und qualitative Unterschiede der neutrophilen Granulozyten zeigten.

Beim Vergleich der Geburtsmodi reifgeborener gesunder Neonaten ließ sich nach Vaginalgeburt eine signifikant stärkere spontane und durch fMLP und IL-8 stimulierte Neutrophilenmigration als nach primärer Sectio caesarea in Periduralanästhesie nachweisen. Dies zeigte sich auch im jeweils signifikant größeren Zelldurchmesser der PMN, niedrigerer L-Selektin-Expression und erhöhtem CD11b nach Vaginalgeburt als Aktivitätsparameter. Am deutlichsten ließen sich diese Unterschiede im Nabelschnurblut beobachten. Im peripher-venösen Blut der ersten Lebensstunde waren sie zwar tendenziell ebenfalls zu erkennen, allerdings waren sie hier weniger stark ausgeprägt. Der Geburtsmodus schien also offensichtlich einen starken, aber nur kurzfristigen Effekt auf die Neutrophilenmigration auszuüben. Der Einfluss der Wehentätigkeit auf diese Unterschiede ließ sich nicht eindeutig klären, da nur eine kleine Stichprobe von Neonaten nach sekundärer Sectio caesarea untersucht werden konnte. Tendenziell hatten sich hier eine schwächere spontane und stimulierte Neutrophilenmigration sowie eine niedrigere Expression von CXCR2 gezeigt.

In einem zweiten Studienabschnitt konnte der Einfluss verschiedener zur Sectio caesarea eingesetzter Narkosemethoden untersucht werden, da das Standardnarkoseprotokoll von Periduralanästhesie (PDA) auf Spinalanästhesie umgestellt worden war. Es zeigte sich, dass nach Sectio caesarea in Spinalanästhesie die Neutrophilenchemotaxis aus Nabelschnurblut signifikant stärker war als nach PDA oder Intubationsnarkose und gegenüber der Vaginalgeburt nur geringfügig vermindert. Die Spinalanästhesie schien also unter den genannten Anästhesieverfahren die Neutrophilenmigration am wenigsten zu beeinflussen.

Um den Einfluss des Gestationsalters zu untersuchen, erfolgte ein Vergleich von Frühgeborenen und Reifgeborenen. Nach Vaginalgeburt waren die spontane und stimulierte

Neutrophilenmigration bei den Reifgeborenen deutlich stärker als bei den Frühgeborenen. Auch der größere Zelldurchmesser und die verstärkte CD11b-Expression zeigten eine stärkere Aktivierung der PMN von Reifgeborenen an. Nach primärer Sectio caesarea war die Neutrophilenmigration insgesamt wesentlich niedriger und unterschied sich kaum zwischen den Neonaten verschiedener Gestationsalter. Der Einfluss des Gestationsalters schien sich also nach Vaginalgeburt stärker bemerkbar zu machen und die zuvor beschriebene starke Vorstimulierung der Neutrophilen durch Vaginalgeburt schien vor allem bei reifen Neugeborenen zuzutreffen. Allerdings ist zu betonen, dass auch bei Frühgeborenen eine deutliche Reaktion auf chemotaktische Stimulierung mit Anstieg des Zelldurchmessers und Downregulation von L-Selektin stattfand. Der Formwandel und das L-Selektin-Shedding schienen also nicht die limitierenden Faktoren bei der Neutrophilenmigration Frühgeborener zu sein.

Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass bei reifen gesunden Neugeborenen die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten schwächer als bei Erwachsenen ist. Es liegt jedoch bei ihnen eine verstärkte Spontanmigration als Zeichen für eine Voraktivierung vor. Schon innerhalb der ersten Lebensstunde lassen sich Veränderungen der immunologischen Funktionen beobachten, wie der Vergleich von Nabelschnurblut und von in der ersten Lebensstunde entnommenem Venenblut zeigt. Der Geburtsmodus beeinflusst die Neutrophilenmigration und Expression der untersuchten Oberflächenrezeptoren, wobei sich bei der primären Sectio caesarea deutliche Unterschiede je nach eingesetzter Anästhesiemethode ergaben und die Spinalanästhesie einen geringeren Einfluss als die Periduralanästhesie und Intubationsnarkose zeigte. Auch das Gestationsalter beeinflusst die Funktionen der neutrophilen Granulozyten. Diese Studienergebnisse können also zur Erklärung der erhöhten Infektanfälligkeit Neugeborener beitragen und Hinweise auf verschiedene klinische Einflussfaktoren geben.