

Moritz Benedikt Merbecks
Dr. med.

Dynamik spezifischer Mustererkennungsrezeptoren in der systemischen Entzündungsreaktion auf kinderherzchirurgische Eingriffe mit kardiopulmonalem Bypass

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Matthias Gorenflo

Kongenitale Vitien betreffen etwa eines von 100 Neugeborenen und können heutzutage durch die stetige Weiterentwicklung chirurgischer und interventioneller Prozeduren in den letzten Jahrzehnten zum überwiegenden Teil mit guter Prognose therapiert werden, meist bereits in den ersten Lebensjahren zur Prävention von Folgeschäden. Im Kleinkind- und Säuglingsalter erfolgen circa 40 % der kinderherzchirurgischen Eingriffe unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine.

Nahezu jedes vierte Kind bis zu einem Alter von etwa zwei Jahren weist im postoperativen Intervall nach kardiopulmonalem Bypass eine nosokomiale Infektion auf, ein Systemisches Inflammatorisches Response-Syndrom (SIRS) kann bei circa einem Drittel der Kinder festgestellt werden. Die Unterscheidung stellt im klinischen Alltag häufig eine Herausforderung dar, ein Auftreten kann die Behandlungsdauer erheblich verlängern. Neben der gesundheitlichen Belastung für die Patienten und möglicher Spätfolgen, entsteht mit jedem zusätzlichen Verweiltag auf der pädiatrischen Intensivstation ein weiterer Kostenaufwand von mehreren Tausend Euro.

Ein postoperatives Systemisches Inflammatorisches Response Syndrom steht neben einer längeren intensivmedizinischen Behandlungsdauer im Zusammenhang mit organischen Dysfunktionen, einem höheren Bedarf an Inotropika sowie Transfusionen. Die entzündliche Reaktion wird maßgeblich durch den Kontakt des Blutes mit der Fremdoberfläche der Herz-Lungen-Maschine, sowie durch Schädigungs-assoziierte molekulare Strukturen (DAMPs), die durch Gewebeschädigung und ischämische Reperfusion freigesetzt werden, provoziert. Schädigungs-assoziierte Strukturen werden durch Mustererkennungsrezeptoren (PRR), beispielsweise auf gewebeständigen Makrophagen und eingewanderten Monozyten erkannt. Zytokin-Freisetzung und Signalkaskaden der Zellen führen zur Initiation einer Immunantwort.

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, immunologische Marker deskriptiv im zeitlichen Zusammenhang mit kardiochirurgischen Eingriffen unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine im Alter unter zwei Jahren zu beschreiben. Der Fokus lag hierbei auf der Messung ausgewählter Oberflächenexpressionen zirkulierender Leukozyten, insbesondere Neutrophiler Granulozyten sowie der monozytären Subpopulationen: Klassische (CD14⁺⁺/CD16⁻), Intermediäre (CD14⁺⁺/CD16⁺) und Nichtklassische (CD14⁺/CD16⁺⁺) Monozyten.

Hierzu wurden zwischen Juni 2016 und Juni 2017 in einer prospektiven monozentrischen Beobachtungsstudie 21 Patienten der Klinik für Pädiatrische Kardiologie und angeborene Herzfehler im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Heidelberg mit schriftlicher Einwilligung der Erziehungsberechtigten untersucht. Die Studie beeinflusste den regulären Ablauf der Behandlung der teilnehmenden Patienten nicht und wurde zuvor als klinische Studie von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Heidelberg zustimmend bewertet.

Von jedem Probanden wurden 14 serielle Blutproben zu definierten Zeitpunkten, beginnend am Tag der stationären Aufnahme bis zum zweiten postoperativen Tag, entnommen und ohne Zwischenlagerung prozessiert. Die durchflusszytometrische Analyse der Proben umfasste die leukozytären Oberflächenexpressionen der Merkmale CD14, CD16, CD64, TLR-2, TLR-4 und Dectin-1. Außerdem erfolgte die Bestimmung der Blutplasmaspiegel der Zytokine G-CSF, GM-CSF, IL-1 β , IL-1Ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL12p40, IL12p70, TNF- α , IFN- γ , MIP-1 β und TGF- β 1 mittels Multiplex Zytokin Analyse an sieben ausgewählten Zeitpunkten im selben Zeitraum. Die

Messungen wurden mit etablierten klinischen Parametern verknüpft, um die postoperativen Verläufe zu quantifizieren.

Im Rahmen dieser Studie war die oberflächliche Expression aller untersuchten Merkmale zirkulierender Leukozyten signifikanten Veränderungen unterworfen nach kardiochirurgischem Eingriff mit kardiopulmonalem Bypass im Alter unter zwei Jahren, als Ausdruck der immunologischen Reaktion. Diese Schwankungen zeigten sich insbesondere für die beschriebenen Mustererkennungsrezeptoren (TLR-2, TLR-4 und Dectin-1) sowie CD64. Nach anfänglich reduzierter Expression wenige Stunden nach dem Eingriff, entwickelte sich teilweise eine erhebliche Überexpression der Marker bereits innerhalb des ersten postoperativen Tages.

Besonders schnell zeigte sich ein Anstieg der Expression gegenüber den präoperativen Werten auf zirkulierenden Intermediären (CD14⁺⁺/CD16⁺) Monozyten. Diese Überexpression, insbesondere hinsichtlich des Mustererkennungsrezeptors TLR4, korrelierte mit zahlreichen Merkmalen klinisch unerwünschter Verläufe (Beatmungsdauer, Vasoaktive Inotropika Score (VIS), höchstes Serumkreatinin, niedrigster mittlerer arterieller Druck (MAD), postoperatives Transfusionsvolumen) bereits in diesem kleinen Studienkollektiv. Ein Anteil von 24 % der Patienten entwickelte nach pädiatrischen Kriterien postoperativ ein systemisches inflammatorisches Response-Syndrom, jedoch ohne signifikante Korrelation zu den untersuchten leukozytären Merkmalen.

Der Anteil Intermediärer (CD14⁺⁺/CD16⁺) sowie klassischer Monozyten an der Gesamtheit aller zirkulierenden Leukozyten reduzierte sich bereits während des Eingriffs sowie in den darauffolgenden ersten zwei bis vier Stunden, wonach ihr Anteil bereits innerhalb des ersten postoperativen Tages den präoperativen Anteil erheblich überstieg. Diese Beobachtung legt die Vermutung nahe, dass auf eine frühe Extravasation in das Gewebe eine Freisetzung weiterer Monozyten, beispielsweise aus dem Milz- und Knochenmarksreservoir folgt.

Die bereits ab dem Eingriff auswandernden Monozyten differenzieren sich im Gewebe weiter aus und tragen zur anschließenden Freisetzung von Zytokinen bei, deren Konzentration zeitlich nachfolgend zunimmt. Die untersuchten Zytokine zeigten die höchsten Konzentrationen vier bis 24 Stunden nach Ende des kardiopulmonalen Bypasses. Die Höhe diverser Zytokinpiegel unterschieden sich im Zusammenhang mit der Verabreichung von Methylprednisolon (IL-8 und IL-10) und dem Vorliegen einer Trisomie 21 (IL-10 und IFN- γ).

Neben dem erheblichen Einfluss eines kinderherzchirurgischen Eingriffs auf die oberflächliche Expression von TLR-2, TLR-4 und CD64, wurde in dieser Studie nun erstmals die Expression von Dectin-1 in diesem Kontext beschrieben. Ferner fand die Heterogenität der Monozyten-Subpopulationen hinsichtlich ihrer verschiedenen Expressionsprofile (für TLR-2, TLR-4, Dectin-1 und CD64) nach kardiopulmonalem Bypass bei Kindern erstmals Beachtung. Aufgrund der hochfrequenten Blutentnahmen konnte zwar der zeitliche Verlauf der beschriebenen Marker angemessen beschrieben werden, jedoch wurde auf stimulatorische Experimente, genetische Analysen und die Betrachtung der intrazellulären Prozesse verzichtet.

Die im Rahmen dieser monozentrischen Beobachtungsstudie getroffenen Schlussfolgerungen haben in erster Linie hypothesengenerierenden Charakter. Die Komplexität der zugrundeliegenden pädiatrischen Krankheitsbilder, der kinderherzchirurgischen Eingriffe sowie der postoperativen Versorgung erschwert bei gleichzeitig kleiner Fallzahl (n = 21) die Vergleichbarkeit der vorliegenden Studie mit den Ergebnissen anderer Arbeiten.

Die Ergebnisse dieser Arbeit legen die Grundlage für künftige Folgestudien mit größerer Fallzahl und weiterführenden Experimenten, welche den diagnostischen Nutzen der untersuchten Biomarker, insbesondere TLR-4 auf Intermediären (CD14⁺⁺/CD16⁺) Monozyten, zur Vorhersage unerwünschter klinischer Verläufe evaluieren oder Ansätze aufdecken könnten für eine gezielte Prophylaxe beziehungsweise Therapie der überschießenden systemischen Inflammationsreaktion nach kardiochirurgischen Eingriffen im Kindesalter.