

Diplomarbeit

Immundefizienz als Folge eines akuten Schlaganfalls

Übersicht über die immunologischen Prozesse
nach akutem Schlaganfall

eingereicht von

Viktoria Galler

Mat.Nr.: 0310310

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Neurologie

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Dr. Thomas Seifert-Held

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, im April 2009

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	II
Abkürzungen	VI
1 Zusammenfassung	1
2 Abstract	2
Part I: Pathomechanismus der Schlaganfall-induzierten Immundefizienz	3
3 Interaktion zwischen Nervensystem und Immunsystem	4
3.1 Afferenz: Übermittlung des Immunstatus an das ZNS	5
3.1.1 Zentrale Rezeptoren.....	5
3.1.2 Periphere Rezeptoren.....	6
3.2 Efferenz: Immunregulation durch das ZNS.....	8
3.2.1 Efferenz über das sympathische Nervensystem	8
3.2.2 Efferenz über das parasympathische Nervensystem	15
3.2.3 Efferenz über die Hypothalamus-Hypophysen-NNR-Achse	17
3.2.4 Efferenz über immunologische Mediatoren	18
4 Infektkomplikationen nach akutem ischämischem Insult	19
4.1 Infektionen bei PatientInnen nach akutem ischämischem Insult.....	19
4.1.1 Immunologische Veränderungen bei PatientInnen nach akutem ischämischem Insult	21
4.2 Infektionen nach akutem ischämischem Insult im Tiermodell.....	24
4.2.1 Immunologische Veränderungen nach akutem ischämischem Insult im Tiermodell	25
5 Pathomechanismen der Immundefizienz nach akutem ischämischem Insult	26
5.1 Immunologische Reaktionen nach akutem ischämischem Insult	26
5.2 Rolle der Regulationsmechanismen.....	27
5.2.1 Sympathikus versus HHNNR-Achse	27
5.2.2 Sympathikus versus Parasympathikus.....	27
6 Immundepression als Schutz vor Autoimmunität	30
7 Einfluss der Lokalisation des ischämischen Infarktareals	32
8 Ansatzpunkte für therapeutische Interventionen	35
8.1 Antibiotika-Prophylaxe.....	35
8.2 Kausale Therapieansätze.....	37

8.2.1	Propranolol	38
8.2.2	Zytokine.....	38
Part II: Mediatoren des Immunsystems nach ischämischem Insult.....		40
9	Interleukin-10	41
9.1	Allgemeines zu IL-10	41
9.2	Daten aus dem Tiermodell.....	44
9.2.1	Zeitliches Profil und Quelle der IL-10-Expression nach zerebraler Ischämie.....	44
9.2.2	Hinweise auf protektive Effekte von IL-10.....	45
9.2.3	Therapieoptionen.....	46
9.3	Klinische Daten.....	47
9.3.1	Serumspiegel und Quelle von IL-10 nach zerebraler Ischämie.....	47
9.3.2	Relevanz als prädiktiver Marker.....	48
9.3.3	Hinweise auf schädigende Effekte von IL-10	48
10	Interleukin-6 (IL-6)	49
10.1	Allgemeines zu IL-6.....	49
10.2	Daten aus dem Tiermodell	50
10.2.1	Zeitliches Profil und Quelle der IL-6-Expression nach zerebraler Ischämie	50
10.2.2	Hinweise auf schädigende Effekte von IL-6	51
10.2.3	Hinweise auf protektive Effekte von IL-6.....	52
10.3	Klinische Daten.....	53
10.3.1	Serumspiegel und Quelle von IL-6 nach zerebraler Ischämie.....	53
10.3.2	Hinweise auf schädigende Effekte von IL-6	54
10.3.3	Hinweise auf protektive Effekte von IL-6.....	55
11	Interleukin-17 (IL-17)	57
11.1	Allgemeines zu IL-17.....	57
11.2	Daten aus dem Tiermodell	57
11.2.1	Zeitliches Profil und Quelle der IL-17-Expression nach zerebraler Ischämie.....	57
11.3	Klinische Daten.....	58
11.3.1	Zeitliches Profil und Quelle der IL-17-Expression nach zerebraler Ischämie.....	58
11.3.2	Wirkung und Funktion von IL-17 nach zerebraler Ischämie	59
12	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α)	60

12.1	Allgemeines zu TNF- α	60
12.1.1	TNF-Rezeptoren	61
12.2	Daten aus dem Tiermodell	63
12.2.1	Zeitliches Profil der TNF- α -Expression nach zerebraler Ischämie.....	63
12.2.2	Quelle der TNF- α -Produktion nach zerebraler Ischämie.....	63
12.2.3	Wirkung von TNF- α nach akutem ischämischem Insult	64
12.3	Klinische Daten.....	68
12.3.1	Serumspiegel von TNF- α nach zerebraler Ischämie	68
12.3.2	Quelle der TNF- α -Produktion nach zerebraler Ischämie.....	68
12.3.3	Therapieoptionen.....	69
13	Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1; CCL2)	70
13.1	Allgemeines zu Chemokinen	70
13.2	Allgemeines zum Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1; CCL2)	71
13.3	Daten aus dem Tiermodell	71
13.3.1	Zeitliches Profil und Quelle der CCL2-Expression nach zerebraler Ischämie.....	71
13.3.2	Hinweise auf schädigende Effekte von CCL2.....	72
13.3.3	Hinweise auf protektive Effekte von CCL2	73
13.4	Klinische Daten.....	74
13.4.1	Serumspiegel und Quelle von CCL2 nach zerebraler Ischämie.....	74
13.4.2	Therapieoptionen.....	75
14	Matrix Metalloproteinasen (MMP)	76
14.1	Allgemeines zu MMPs.....	76
14.2	MMP-9	78
14.2.1	Daten aus dem Tiermodell.....	78
14.2.2	Klinische Daten	81
14.3	MMP-13	84
15	Toll-like-Receptors (TLR)	85
15.1	Allgemeines zu TLRs.....	85
15.2	Daten aus dem Tiermodell	87
15.2.1	Allgemeines zu TLRs nach zerebraler Ischämie	87
15.2.2	Expression von TLR4 nach zerebraler Ischämie.....	89
15.2.3	Expression von TLR2 nach zerebraler Ischämie.....	89

15.2.4	Hinweise auf schädigende Effekte von TLR4.....	89
15.2.5	Hinweise auf schädigende Effekte von TLR2.....	91
15.2.6	Bedeutung anderer TLR-Subtypen.....	92
15.2.7	Therapieoptionen.....	92
15.3	Klinische Daten.....	93
15.3.1	Expression von TLRs im humanen ZNS.....	93
16	Zelladhäsionsmoleküle.....	94
16.1	Selektine.....	95
16.1.1	P-Selektin.....	95
16.1.2	E-Selektin.....	96
16.1.3	L-Selektin.....	98
16.2	Integrine.....	98
16.2.1	Allgemeines.....	98
16.2.2	Tierexperiment.....	99
16.2.3	Klinische Studien.....	100
16.3	Proteine der Immunglobulin-Superfamilie.....	100
16.3.1	Allgemeines.....	100
16.3.2	ICAM-1.....	101
16.4	Adhäsionsmoleküle als Marker für das neurologische Outcome.....	104
17	Referenzen.....	105
18	Lebenslauf.....	130

Abkürzungen

ACh-R: Acetylcholin-Rezeptor
ACM: Arteria cerebri media
ACTH: Adrenocorticotropes Hormon
AK: Antikörper
AMPA: α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
AP: Area postrema
AP-1: activator protein-1
APC: Antigen-präsentierende-Zellen
ATP: Adenosintriphosphat
 β 2-AR: β 2-Adrenorezeptor
BHS: Blut-Hirnschranke
BrdU: Bromdesoxyuridin
C: Cystein
cAMP: cyclisches Adenosinmonophosphat
cFn: cellular Fibronectin
CGRP: Calcitonin gene-related peptid
CIDS: CNS-induced-immunodeficiency-syndrom
CK: Creatinkinase
COMT: Catechol-O-Methyl-Transferase
COX2: Cyclooxygenase-2
CRH: Corticotropin-Releasing-Hormon
CRP: C-reaktives Protein
CSF: cerebrospinal fluid = cerebrospinaler Liquor
DC: dendritic cells = dendritische Zellen
DD: death domain
DMN: dorsal motor nucleus = dorsales motorisches Kerngebiet des Nervus vagus
DVC: dorsal vagal complex = dorsaler vagaler Komplex
EAE: experimentelle Autoimmun-Enzephalitis
ECM: extrazelluläre Matrix
Epinephrin: Adrenalin

FADD: Fas-associated protein with Death Domain
GABA: γ -Aminobuttersäure
G-CSF: Granulozyten-colony-stimulation-factor
Gp9: Glykoprotein 9
GSK 3 β : Glycogen synthase kinase-3 β
HH-NNR-Achse: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
HMGB1: high-mobility group box 1
HRV: heart-rate-variability
HSP: Hitze-Schock-Protein
IAP: inhibitor-of-apoptosis proteins
ICAM: Inter-Cellular Adhesion Molecule
IFN: Interferon
IL: Interleukin
iNOS: inducible Nitric Oxide Synthase
IRF: IFN-regulatory-factor
JNK: C-Jun N-terminal kinase
kD: Kilodalton
KHK: Koronare-Herz-Krankheit
LC: Locus coeruleus
LFA-1: Leukocyte function associated Antigen
LPS: Lipopolysaccharide
MAdCAM-1: mucosal cell adhesion molecular-1
MALT: Mucosa-assoziiertes-lymphatisches-Gewebe
MAO: Monoamino-Oxidase
MAP: mitogen activated protein
MAPK8: mitogen-activated protein kinase 8
MCAO: Middle cerebral artery occlusion
MCP-1: Monocyte chemotactic protein-1 = CCL2
MIP: Macrophage Inflammatory Protein
MOG: myelin oligodendrocyte glycoprotein
MS: Multiple Sklerose
MSH: Melanozyten-stimulierendes-Hormon
MyD88: Myeloid differentiation primary response gen 88
nACh-R: nicotinerger-Acetylcholin-Rezeptor

NF- κ B: nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NK-Zellen: Natürliche Killerzellen
NMDA-Rezeptor: N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NNM: Nebennierenmark
NNR: Nebennierenrinde
NO: Stickstoffmonoxid
Norepinephrin: Noradrenalin
NOS: Stickstoffmonoxid- (NO) Synthase
NPY: Neuropeptid Y
NSD: neutral sphingomyelinase domain
NTS: Nucleus tractus solitarius
PAI-1: Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1
PAMPs: pathogen associated molecular patterns
PECAM-1: platelet-endothelial cell adhesion molecular-1
PGE2: Prostaglandin E2
PI3K: Phosphatidylinositol-3-Kinase
PKA: Phosphokinase-A
Präfix: s-: solube
PRR: pattern-recognition receptor
PVN: periventriculäre Nuclei
ROS: reactive oxygen species
RSV: Respiratory syncytial virus
RVM: rostrale ventrolaterale Medulla
SAA: Serum-Amyloid-A
SAP: stroke associated pneumonia
SCF: stem-cell-factor
SNS: sympathische Nervensystem
TCR: T-cell-receptor
TGF: transforming-growth-factor
Th-Zellen: T-Helferzellen
TIMP: tissue inhibitor of MMP
TLR: Toll-like-receptor
tMCAO: transienter Okklusion der Arteria cerebri media
TNF: Tumor-Nekrose-Faktor

TNFR: Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor
tPA: tissue-Plasminogen-Aktivator
TRADD: TNF-Rezeptor assoziierte Death Domain
TRAF2: TNF receptor-associated factor 2
Treg: regulatorische T-Zellen
TRID: TNFR1 internalization domain
VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1
VEGF: vascular epithelial growth factor
VIP: vasoaktives intestinales Peptid
VNS: vegetatives Nervensystem
ZNS: zentrales Nervensystem

1 Zusammenfassung

Der Schlaganfall gehört zu den führenden Todesursachen und ist oft mit irreversiblen Langzeitschäden bis hin zur Bettlägerigkeit und Pflegebedürftigkeit verbunden. Die bisherigen Therapieoptionen beschränken sich allerdings noch immer weitgehend auf die Fibrinolyse. Die Effektivität dieser Behandlung ist allerdings durch ihr enges Zeitfenster und ihre hohe Komplikationsrate limitiert und kann nur bei einem geringen Prozentsatz der PatientInnen erfolgreich angewandt werden. Daher ist die Suche nach weiteren therapeutischen Ansatzpunkten und die Entwicklung neuer Therapeutika von großer klinischer Bedeutung.

In diesem Zusammenhang beschäftigt sich die Forschung derzeit besonders mit den immunologischen Veränderungen, die nach einem Schlaganfall auftreten und den Verlauf der Erkrankung entscheidend mitbestimmen. Diese immunologische Reaktion beschränkt sich neueren Erkenntnissen zur Folge nicht nur auf eine lokale Entzündungsreaktion als Antwort auf den ischämischen Gewebsschaden, sondern führt auch zu einer systemischen Reaktion des Immunsystems in Form einer Immundepression. Folge dieser Immundepression ist eine Häufung von Infektionen, welche für die Mortalität in der subakuten postischämischen Phase hauptverantwortlich sind. Nähere Informationen über die Mechanismen, durch die es nach einer ZNS-Schädigung zur Immundepression, genannt „CNS-injury-induced immunodeficiency-syndrom“ (CIDS), kommt, sind daher von großem Interesse, zumal der Sinn dieser ZNS-getriggerten Immunregulation noch nicht eindeutig geklärt ist.

In der vorliegenden Arbeit werden die bisherigen Erkenntnisse über die lokalen und systemischen immunregulatorischen Prozesse nach einem Schlaganfall zusammengefasst. Die Resultate aus klinischen Studien und Tierversuchen werden dabei gesondert behandelt und miteinander verglichen. Der erste allgemeine Teil beschäftigt sich mit dem Pathomechanismus, der der Immundepression zugrunde liegt. Im zweiten speziellen Teil wird genauer auf die lokale und systemische Beteiligung wichtiger immunologischer Mediatoren (IL-10, IL-6, IL-17, CCL2) sowie anderer, am immunologischen Prozess beteiligter Strukturen und Enzyme (TLRs, Integrine, Matrix-Metalloproteinasen) eingegangen.

Schlagwörter: Schlaganfall, Immundefizienz, CIDS (CNS-injury-induced immunodeficiency-syndrom), Infektkomplikationen, Autoimmunität, Lateralisation, IL-10, IL-6, IL-17, TNF- α , CCL2 (MCP-1), TLR, MMP, Adhäsionsmoleküle

2 Abstract

Stroke is still one of the most common causes of death and is often associated with irreversible long-lasting deficits. But up to now therapeutic opportunities are more or less limited to Fibrinolysis, which is only practicable in a low percentage of stroke-patients. Due to this reason it is important to search for new therapeutic strategies.

In this context immunological changes following ischemic stroke are of special interest because they could affect the course of disease. On the one hand the immunsystem triggers an inflammatory process within the ischemic area that enlarges the lesion and worsen neurological outcome. On the other hand stroke induces a systemic immunodepression that is called “CNS-injury-induced immunodeficiency-syndrom” (CIDS). This immunosuppressive state contributes to multiple infections that are the most common cause of mortality in the postacute phase after stroke. The question whether stroke-induced immunodepression has not only a detrimental but also a beneficial effect has not been elucidated yet and needs further investigations.

The present work reviews the current knowledge of the local and systemic immunological response to stroke. The results based on experimental and clinical studies are discussed separately and compared with each other. The first part serves the pathophysiological understanding of the crosstalk between the central nervous system (CNS) and the immune system that leads to an immunosuppressive state in response to CNS-injury. The second, more specific part reviews the local and systemic implications of important immunological mediators (IL-10, IL-6, IL-17, TNF- α , CCL2) and other structural proteins and encymes (toll like receptors, cell adhesion molecules, mmp-9).

Key words: stroke, immunodeficiency, CIDS (CNS-injury-induced immunodeficiency-syndrom), infection, autoimmunity, lateralisation, IL-10, IL-6, IL-17, TNF- α , CCL2 (MCP-1), TLR, MMP, cell adhesion molecules,

Part I:
Pathomechanismus der Schlaganfall-
induzierten Immundefizienz

3 Interaktion zwischen Nervensystem und Immunsystem

Bakterielle und virale Infekte, aber auch Gewebsdefekte führen zur Aktivierung von Immunzellen, welche mit der Sekretion verschiedenster Zytokine auf diesen Stimulus reagieren. Dies führt zu einer lokalen Entzündungsreaktion, aber wie Berkenbosch et al. [23] bereits 1989 im Tierversuch gezeigt haben, auch zu einer Reaktion des Nervensystems, welches immunmodulatorisch eingreift. Diese nervale Immunregulation erfolgt systemisch über einen großen, das ZNS einschließenden, Reflexbogen sowie regional über direkte Interaktion zwischen Entzündungsmediatoren und peripheren Nerven. Während das periphere Nervensystem über die Freisetzung von vornehmlich proinflammatorischen Neuropeptiden, wie z.B. CRH (Corticotropin-Releasing-Hormon), Substanz P und CGRP (Calcitonin gene-related peptid) [212], die lokale angeborene Immunreaktion verstärkt um einwandernde Pathogene zu eliminieren, wirkt das ZNS über neuronale und humorale Effenzen immunsuppressiv um einen exzessiven Entzündungsprozess oder ein systemisches Übergreifen zu verhindern.

Der sensorische Nervus vagus ist die wichtigste Afferenz, die das ZNS über peripher ablaufende Entzündungsprozesse informiert. Aktiviert wird der Nervus vagus über die im Entzündungsareal freigesetzten Zytokine. Bei deren Ausschwemmung in die Blutbahn kann das ZNS auch durch zentrale Rezeptoren im Hirn oder an der Blut-Hirn-Schranke aktiviert werden. Messungen des Aktivitäts-Zustandes einzelner Hirnregionen haben ergeben, dass vor allem der Hypothalamus auf diese immunologische Stimulation reagiert [115]. Dies ist nicht weiter verwunderlich, denn der Hypothalamus ist das wichtigste Kontroll- und Steuerungszentrum des vegetativen Nervensystems (VNS). Außerdem kontrolliert der Hypothalamus über die Sekretion von Releasing- und Inhibiting-Hormonen die Freisetzung von Hormonen aus der Adenohypophyse bzw. bildet selbst Hormone, die über die Neurohypophyse freigesetzt werden. Der Hypothalamus kann daher, als Reaktion auf einen peripheren Entzündungsprozess, sowohl nerval, über sympathische und parasympathische Efferenzen als auch neurohumoral über Hypophysenhormone reagieren ([238]; S.543ff). Beide Efferenzen weisen einen immunsuppressiven Effekt auf und erfüllen somit den Zweck, die periphere Immunreaktion zu dämpfen und ein systemisches Übergreifen eines lokalen Entzündungsprozesses im Sinne einer Sepsis zu vermeiden.

Im Folgenden werden die Afferenzen, über die das ZNS Informationen über immunologische Vorgänge in der Peripherie bekommt, und die Efferenzen, durch die das ZNS seine immunmodulierende Wirkung entfaltet, genauer vorgestellt.

3.1 Afferenz: Übermittlung des Immunstatus an das ZNS

Die Afferenz, durch die das ZNS über den Immunstatus in der Peripherie informiert wird, erfolgt über Zytokine [23] [115], die von Antigen-stimulierten Immunzellen freigesetzt werden und an Rezeptoren des Nervensystems binden. Diese Rezeptoren können an folgenden Strukturen lokalisiert sein [115]:

- Zentral
 - Blut-Hirn-Schranke
 - Zentral im ZNS
 - Peripher
 - Sympathische Nervenendigungen
 - Parasympathische Nervenfasern
- } humorale Afferenz
- } neuronale Afferenz

3.1.1 Zentrale Rezeptoren

An der Blut-Hirn-Schranke (BHS) befinden sich saturierende Carrier-mediierte Transporter [179], unter anderem für TNF und IL-1 β . Diese wichtigen pro-inflammatorischen Zytokine werden demnach aktiv ins ZNS eingeschleust [57].

Des Weiteren finden sich an den Endothelien der Hirnkapillaren Rezeptoren für immunologische Mediatoren, deren Aktivierung zur Freisetzung von löslichen Mediatoren, wie Prostaglandinen und Stickoxiden führen [179], die im ZNS als eine Art second messenger wirken (siehe unten).

Humorale Mediatoren, für die es an der Blut-Hirn-Schranke keine eigenen Rezeptoren gibt, können über die sogenannten „circumventrikulären Regionen“ direkt ins ZNS gelangen und dort zentrale Rezeptoren aktivieren. Zu den circumventrikulären Organen gehören Teile der Epiphyse (Zirbeldrüse) und des Hypothalamus, die Neurohypophyse, der Plexus choroideus, die Area postrema, das Subfornikalorgan, das Organum vasculosum laminae terminalis und das Subcommissuralorgan ([238]; S.548f). Das Charakteristikum der circumventrikulären Organe ist die Diskontinuität der Blut-Hirn-Schranke in diesen Arealen, die durch ein fenestriertes Endothel zustande kommt ([238]; S.548f). Letzteres ermöglicht

das oben erwähnte Eindringen humoraler Mediatoren (z.B. von IL1- α [57]) in das ZNS auch ohne spezifischen Rezeptor. In weiterer Folge können diese Mediatoren über die Aktivierung von second messengers eine spezifische Reaktion des ZNS bewirken. So z.B. über die Wirkung von COX2 (Cyclooxygenase2), welches PGE2 (Prostaglandin E2) aus Arachnoidonsäure abspaltet und damit einen Mediator freisetzt, der wahrscheinlich maßgeblich an der Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-NNR-Achse beteiligt ist [57].

3.1.2 Periphere Rezeptoren

Man geht davon aus, dass vor allem der Nervus vagus für die Perzeption eines inflammatorischen Prozesses und die Weiterleitung dieser Information an das ZNS verantwortlich ist. Einzelheiten über die Mechanismen, über welche der Nervus vagus immunologische Reaktionen wahrnimmt sind noch nicht bekannt. Man geht aber davon aus, dass der Nervus vagus Rezeptoren für Endotoxine und die verschiedensten inflammatorischen Mediatoren exprimiert. Diese These stützt sich auf den Nachweis der mRNA-Expression des IL-1-Rezeptors in Neuronen des Nervus vagus. Des Weiteren können auch Mechanorezeptoren, Chemorezeptoren, Temperaturrezeptoren und Osmorezeptoren den Nervus vagus aktivieren. Jene könnten im Zuge eines inflammatorischen Prozesses lokal gereizt werden und somit zur Aktivierung des Nervus vagus führen [57].

Die afferenten Fasern des Nervus vagus enden im Nucleus tractus solitarius (NTS) sowie in der Area postrema. Beide Areale sind im Falle von peripheren Entzündungsvorgängen besonders aktiv, was die Bedeutung des Nervus vagus in diesem Zusammenhang unterstreicht [57]. Der Nucleus tractus solitarius (NTS) bildet die Spitze des vasovagalen Reflexbogens, welcher für die Regulation der parasympathisch gesteuerten Funktionen viszeraler Organe verantwortlich ist. Zu diesen Funktionen zählen demnach aber nicht nur die altbekannten autonomen Regelkreise, die kardiovaskuläre, respiratorische und digestive Funktionen modulieren, sondern auch die Steuerung des Immunsystems. Die sensorische Afferenz über immunologische Vorgänge im Körper könnte sogar, wie auch die motorischen und sensiblen Funktionen des Körpers, somatotop organisiert sein. Dies würde eine gezielte, lokal umschriebene Immunsuppression als Antwort auf einen peripheren Entzündungsherd, im Sinne eines vago-vagalen Reflexbogens, ermöglichen [57].

Der NTS steht in enger bidirektionalen Verbindung mit dem dorsalen motorischen Nucleus des Nervus vagus (DMN = dorsal motor nucleus), der das Kerngebiet der parasympathischen Efferenz darstellt, und der Area postrema (AP). Zusammen bilden der NTS, die Area

postrema und der DMN den dorsalen vagalen Komplex (DVC = dorsal vagal complex) [179].

Neben dem direkten Umschalten der Afferenz im NTS auf den efferenten parasympathischen Schenkel des Reflexbogens über den DMN, können die eingehenden Informationen über den Status des Immunsystems auch an die Formatio reticularis, den Locus coeruleus, die rostrale ventrolaterale Medulla (RVM), den Hypothalamus und wahrscheinlich auch an höhere Hirnareale weitergeleitet werden [57] [226] [179]. Die rostrale ventrolaterale Medulla (RVM) und der Locus coeruleus (LC) sind zwei funktionell wichtige Strukturen des sympathischen Nervensystems. Über diese neuronale Verbindung kommt es offensichtlich zur Aktivierung der sympathischen immunmodulatorischen Efferenz nach Aktivierung des NTS durch den sensorischen Nervus vagus. Die rostrale ventrolaterale Medulla (RVM) und der Locus coeruleus (LC) sind nicht nur untereinander und mit dem NTS verlinkt sondern unterhalten auch eine enge bidirektionale Kommunikation mit den paraventriculären Kerngebieten des Hypothalamus [179]. Der Hypothalamus, der auch in direkter Verbindung mit dem NTS steht, ist bekanntlich die übergeordnete Schaltstelle vieler vegetativer und hormoneller Regulationssysteme ([238]; S.410f), darunter ist er auch für die Steuerung der humoralen Antwort durch die HH-NNR-Achse verantwortlich.

Die im NTS eingehenden Afferenzen des Nervus vagus führen demnach über Verschaltungen zu parasympathischen, sympathischen und neuroendokrinen Kerngebieten zur Reaktionen verschiedener Regulationssysteme, mit dem Ziel das immunologische Geschehen im Körper in Balance zu halten und bestmöglich zu modulieren.

Während die humorale Afferenz aber nur funktioniert wenn ausreichend hohe Zytokin-Level im Blut vorhanden sind, funktioniert jene über nervale Afferenzen auch bei Vorhandensein nur geringer Zytokin-Mengen. Zudem erfolgt die neuronale Afferenz schneller und ermöglicht auch eine Lokalisation des Entzündungsherd, während humorale Mediatoren dem ZNS nur allgemein die Information eines entzündlichen Vorganges im Körper übermitteln können. Der Nervus vagus empfiehlt sich als Afferenz besonders weil er alle wichtigen Organe innerviert, welche eine Barrierefunktion zur Außenwelt innehaben. Darunter befinden sich Lunge, GIT (Gastrointestinaltrakt), Niere, Leber und andere viszerale Organe, welche unter anderem als Eintrittspforte für Erreger oder Toxine dienen können. Entzündliche Prozesse in diesen Arealen können daher über den Nervus vagus rasch registriert und dem ZNS übermittelt werden, welches dann reflektorisch im Sinne einer immunregulatorischen Reaktion auf den Reiz reagiert [57].

3.2 Efferenz: Immunregulation durch das ZNS

- Neuronal:
 - Sympathisches Nervensystem: → v.a. Noradrenalin
 - Parasympathisches Nervensystem: → Acetylcholin
- Humoral:
 - Hypophysen-Nebennieren-Achse: → Cortisol
 - Mediatoren: zentral gebildete Zytokine aus dem geschädigten Hirngewebe

3.2.1 Efferenz über das sympathische Nervensystem

Das sympathische Nervensystem reguliert immunologische Funktionen über zwei Funktionswege. Zum einen über die Freisetzung von Neurotransmittern, vor allem Noradrenalin, aus sympathischen Nervenendigungen in lymphatischen Organen und zum anderen über die Freisetzung von Catecholaminen aus dem Nebennierenmark.

Insgesamt gibt es mehrere Transmitter, die der Signalübertragung im sympathischen Nervensystem dienen [115]:

- Catecholamine: Noradrenalin, Adrenalin und Neuropeptid Y
- Endogene Opiode: Enkephaline, Endorphine, Adenosine und ATP

Jedes dieser Hormone kann die Aktivität von Immunzellen auf direktem Weg beeinflussen [115]. Der primäre Neurotransmitter des sympathischen Nervensystems ist aber das Noradrenalin, ein biogenes Amin, das durch das Enzym β -Hydroxylase aus Tyrosin und seinem Metaboliten Dopamin entsteht [212].

Der sympathische Neurotransmitter Adrenalin, wird vor allem aus dem Nebennierenmark freigesetzt und entsteht aus dem Noradrenalin durch das Enzym Phenylethanolamin-*N*-Methyl-Transferase [212].

Wie bereits 1989 in einem Tierversuch von Berkenbosch et al. [23] gezeigt, reagiert der Körper auf Stimulation durch IL-1 mit einem Anstieg der Plasmakonzentration von Adrenalin und Noradrenalin. Diese Studie dient als erster Anhaltspunkt einer Kommunikation zwischen Immunsystem und sympathischen Nervensystem.

Zu den Zentren des sympathischen Nervensystems im Hirn gehören der Locus coeruleus, der rostrale Anteile der ventrolateralen Medulla [45] sowie der Hypothalamus, der das oberste Kontrollzentrum aller vegetativen Funktionen darstellt.

3.2.1.1 Das Nebennierenmark als Effektororgan des sympathischen Nervensystems

Die chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks entstammen embryologisch der Neuralleiste. Das Nebennierenmark als solches entspricht demnach einem umgebauten sympathischen Ganglion [45]

Aber im Gegensatz zu den sympathischen Nervenendigungen, die hauptsächlich Noradrenalin und Neuropeptid Y (NPY) freisetzen, sezerniert das Nebennierenmark (NNM), neben dem NPY, hauptsächlich Adrenalin, in einer Relation von 4:1 zu Noradrenalin [45]. Im Unterschied zum Noradrenalin aus den sympathischen Nervenendigungen, das nur lokal innerhalb des innervierten Organs eine immunologische Reaktion hervorruft, wirkt das vom Nebennierenmark (NNM) freigesetzte Adrenalin wie ein Hormon systemisch [212]. Daher ist es auch nicht weiter verwunderlich, dass die im peripheren Blut messbaren Catecholamine hauptsächlich aus dem NNM stammen [45].

Der Metabolismus der Catecholamine erfolgt über die Catechol-O-Methyl-Transferase (COMT) und die Monoamino-Oxidase (MAO). Als Endprodukte der COMT entstehen Metanephrin und Normetanephrin [45]. Sympathische Nerven besitzen selbst keine COMT, weshalb man aus Messungen dieser metabolischen Endprodukte auf die Aktivität nicht-neuraler Catecholamin-Quellen schließen kann. Daher lässt sich sagen, dass unter Stress bis zu 90% des Plasma-Normetanephrins und bis zu 40% des Plasma-Metanephrins aus dem NNM stammt, was u.U. einen Hinweis auf eine stärkere Stressantwort des NNMs als des sympathischen Nervensystems darstellt [45].

Der dämpfende Einfluss des Adrenalins auf das Immunsystem ist seit langem bekannt.

In in-vivo-Versuchen an Mensch und Tier führte die Applikation von Adrenalin zu einer verminderten Anzahl von Monozyten, T- und B-Lymphozyten sowie von NK-Zellen [101] [165].

Diese Effekte werden über den β -Adrenorezeptor (β -AR) vermittelt (siehe Kapitel: 3.2.1.3 Wirkung des sympathischen Nervensystems auf Immunzellen).

Messungen der Catecholamin-Metaboliten bei SchlaganfallpatientInnen bestätigen, dass eine verstärkte Aktivierung des Nebennierenmarks nach einem Schlaganfall mit einer peripheren Immundepression und damit mit einem höheren Infektionsrisiko assoziiert ist. Denn PatientInnen, die eine postischämische Infektion akquirierten, wiesen bei Messungen innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem akuten Ereignis höhere Level an Metanephrin

und Normetanephrin auf [42]. In dieser Studie zeigte sich zudem, dass eine hohe Plasmakonzentration von Normetanephrin zu diesem Zeitpunkt mit einer erhöhten Mortalität innerhalb der ersten drei Monate einhergeht.

Eine hohe extraneuronale Catecholaminfreisetzung aus dem NNM ist demnach ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer postischämischen Infektion und für die Mortalität in der postakuten Phase.

Interessanterweise enthält das NNM auch große Mengen an IL-6 und TNF, proinflammatorische Zytokine, welche bei Stimulation durch LPS oder durch andere proinflammatorische Zytokine wie IL-1 freigesetzt werden [212]. Diese und antimikrobiell wirksame Peptide, die ebenfalls von den chromaffinen Zellen gebildet werden, zeigen, dass das NNM neben seiner immunsuppressiven Wirkung durch das Adrenalin, auch proinflammatorische, antimikrobielle Wirkungen entfalten kann [212].

3.2.1.2 Lymphatische Organe als Effektororgane des sympathischen Nervensystems

Sympathische Nervenfasern sind in allen lymphatischen Geweben zu finden [45] [115] [162]. Sympathische Efferenzen finden sich in Thymus, Milz, Lymphknoten und dem Knochenmark [162]. Eine afferente sympathische Innervation, konnte unter den lymphatischen Organen allerdings nur in den Lymphknoten und im Knochenmark nachgewiesen werden [162]. Diese afferenten sensorischen Nervenfasern sollen für die Regulation des Ausmaßes und für die Effektivität der lokalen Immunreaktion verantwortlich sein [162].

Die Endigungen der sympathischen Nervenfasern im lymphatischen Gewebe befinden sich vor allem in Arealen, in denen sich hauptsächlich CD4⁺ T-Zellen, Makrophagen und B-Zellen befinden. Der Rezeptor des sympathischen Neurotransmitters Noradrenalin, der sogenannte β 2-Adrenorezeptor (β 2-AR), befindet sich auf nahezu allen Immunzellen [115] [45].

Die Aktivierung des Sympathikus führt zur Freisetzung von Noradrenalin aus den sympathischen Nervenendigungen und bewirkt somit die Aktivierung der umliegenden Immunzellen über den β 2-Adrenorezeptor.

Welche Wirkung die β 2-AR-Aktivierung auf die verschiedenen Immunzellen hat, wird in den folgenden Kapiteln näher erörtert.

Neben den Neurotransmittern des sympathischen Nervensystems, werden in lymphatischen Organen aber auch andere Neuropeptide, die die Aktivität von Immunzellen beeinflussen,

aus sensorischen Nervenfasern freigesetzt [115]. Zu diesen Neuropeptiden zählen Somatostatin, das Calcitonin-related-peptid, das vasoaktive intestinale Peptid (VIP) und die Substanz-P.

3.2.1.3 Wirkung des sympathischen Nervensystems auf Immunzellen

Soweit bisher bekannt, wird der β 2-Adrenorezeptor (β 2-AR) von folgenden Zellen des Immunsystems exprimiert:

- Lymphozyten [115] [45]:
 - T-Zellen: Naive CD4⁺ T-Zellen [115] sowie in Richtung Th1 differenzierte T-Helferzellen exprimieren den β 2-Adrenorezeptor. Im Gegensatz dazu weisen in Richtung Th2 differenzierte T-Helferzellen, zumindest im Tierexperiment, keine β 2-Adrenorezeptor-Expression auf [115].
 - B-Zellen: Auch B-Zellen exprimieren β 2-Adrenorezeptoren, die Anzahl derer auf B-Zellen ist sogar doppelt so hoch wie auf CD4⁺ T-Zellen [115].
- Granulozyten [45]
- Monozyten / Makrophagen [45] und dendritische Zellen (DC) [212]: Adrenalin und Noradrenalin inhibieren über den β 2-AR die Aktivität von Makrophagen [45] und dendritischen Zellen (DC) und supprimieren ihre Produktion proinflammatorischer Zytokine (wie TNF, IL-1, IL-6, IL-12) [212], während sie die Synthese von IL-10 steigern [231] [212].
- Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) [45]: Bereits in mehreren Studien konnte die hemmende Wirkung von Catecholaminen auf die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen nachgewiesen werden [151] [212].

Die Aktivierung des β 2-Adrenorezeptors führt nicht zur initialen Aktivierung von immunologischen Zellen, ebenso wenig können über den β 2-Adrenorezeptor neue Aktivitäten vermittelt werden, er reguliert nur das Ausmaß der Aktivität. Die Aktivierung selbst erfolgt durch das Immunsystem. [115]

Intrazellulär kommt es nach der Stimulation des β 2-Adrenorezeptors über die Erhöhung des intrazellulären cAMP mit konsekutiver Aktivierung der Phosphokinase-A (PKA) zu einer verminderten Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen wie TNF- α , IL-1, IL-12 und IFN- γ durch Hemmung des Transkriptionsfaktors NF- κ B [212] sowie zur verminderten Bildung von Sauerstoffradikalen wie Stickstoffmonoxid (NO) [45].

Des Weiteren vermittelt Noradrenalin die vermehrte Produktion des anti-inflammatorischen IL-10 und des IL-6, das sowohl eine pro- als auch eine anti-

inflammatorische Komponente besitzt [45]. Vor allem der Anstieg von IL-10 ist in diesem Zusammenhang von Bedeutung, da IL-10 gleich auf mehreren Ebenen immunsuppressiv wirkt. Denn unter anderem inhibiert IL-10 in höheren Konzentrationen die Fähigkeit von Monozyten/Makrophagen und dendritischen Zellen zur Antigen-Präsentation und damit zur Initiierung einer pro-inflammatorischen Th1-Zellantwort [151]. (siehe unter „Mediatoren des Immunsystems nach ischämischem Insult“)

Zudem zeigen Untersuchungen an einer unfraktionierten CD4⁺ T-Zell-Population einen Abfall der IL-2-Expression und Sekretion sowie eine verminderte IL-2-Rezeptor-Expression als Reaktion auf β 2-Adrenorezeptor-Aktivierung [115]. IL-2 wird, neben IFN- γ und TNF, von Th1-Zellen exprimiert und aktiviert Makrophagen zum intrazellulären Killing ([205]; S.517). Da die Phagozytose von mikrobiellen Erregern durch Makrophagen in der ersten unspezifischen Abwehr von großer Bedeutung ist, stellt die Schwächung dieses Abwehrmechanismus eine weitere wichtige Erklärung für die Infektanfälligkeit in der postischämischen Phase dar. Ob dieser Effekt auch cAMP vermittelt ist oder dieser direkt über die Inhibierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B vermittelt wird, ist noch unklar [115].

In Summe ergibt sich aus diesen β 2-Adrenorezeptor vermittelten Effekten die immunsupprimierende Wirkung des sympathischen Nervensystems auf Immunzellen.

Einfluss des Sympathikus auf naive CD4⁺ T-Zellen und Th1-Zellen

Inwieweit die Stimulation des β 2-Adrenorezeptors auf CD4⁺ naiven T-Zellen ihre weitere Differenzierung in Richtung pro-inflammatorischer Th1- oder anti-inflammatorischer Th2-Zellen direkt beeinflusst ist noch unklar. In einer Studie von Swanson et al. [218] zeigte sich durch Stimulation des β 2-Adrenorezeptors auf naiven CD4⁺ T-Zellen kein Effekt auf die Menge, der sich daraus entwickelnden, Th1-Zellen, sehr wohl aber auf deren IFN- γ Produktion. Dem widerspricht eine Studie von Panina-Bordignon et al. [176], in der die Aktivierung des β 2-Adrenorezeptors über einen IL-12 abhängigen Mechanismus zu einer Hemmung der Differenzierung von naiven CD4⁺ T-Zellen zu proinflammatorischen Th1-Zellen führte. Gleich wie bei Swanson et al. [218] ergab β 2-AR-Stimulation auch in dieser und anderen Studien eine supprimierende Wirkung auf die IFN- γ -Produktion von Th1-Zellen [115] [151]. Die Hemmung der Produktion von IFN- γ , einem wichtigen proinflammatorischen Zytokin, durch die Schlaganfall-induzierte Sympathikusaktivierung gilt

als einer der wichtigsten pathogenetischen Mechanismen, die zur postischämischen Immundepression führen.

Der Effekt des Noradrenalins auf die Th1-Zellen hängt allerdings von der zeitlichen Korrelation zwischen der immunologischen T-Zell-Aktivierung via T-Zell-Rezeptor (TCR) und der Aktivierung des β 2-Adrenorezeptors ab [115]:

- β 2-AR-Stimulation vor TCR-Stimulation: verminderte IFN- γ -Produktion
- β 2-AR-Stimulation gleichzeitig zur TCR-Stimulation: keine veränderte IFN- γ -Produktion
- β 2-AR-Stimulation nach TCR-Stimulation: erhöhte IFN- γ -Produktion

Zudem zeigte sich, dass eine Steigerung der IFN- γ -Produktion auch immer mit einer erhöhten IL-12-Konzentration einhergeht. Die Präsenz von IL-12 erwies sich sogar als ein essentieller Co-Faktor bei der Steigerung der IFN- γ -Produktion [115]. Die positive Korrelation zwischen der IL-12- und der IFN- γ -Konzentration im Blut könnte ein Hinweis darauf sein, dass der Sympathikus nur indirekt über die IL-12-Konzentration auf die Produktion von IFN- γ Einfluss nimmt.

IL-12 wird von Antigen-präsentierenden-Zellen (APC) produziert und ist das entscheidende Zytokin, das die Differenzierung naiver CD4⁺ T-Zellen in Richtung proinflammatorische Th1-Zellen fördert, welche die Hauptproduzenten des IFN- γ darstellen.

Somit könnte die Senkung der IFN- γ -Produktion durch den Sympathikus, wie dies nach einem Schlaganfall beobachtet wird, auch indirekt über die Hemmung der IL-12-Produktion durch Antigen-präsentierenden-Zellen erfolgen [115]. Kommt es also im Zuge eines Schlaganfalls zur Stimulation des β 2-Adrenorezeptors auf Antigen-präsentierenden-Zellen, führt dies zu einer reduzierten IL-12-Produktion und damit zu einem Übergewicht der T-Zell-Differenzierung in Richtung Th2-Zelltyp. Dieser Lymphozyten-Subtyp sezerniert im Gegensatz zum Th1-Typ kein IFN- γ sondern hauptsächlich antiinflammatorische Zytokine wie IL-10, IL-4 und IL-13. (siehe Abbildung 1)

Einfluss des Sympathikus auf Th2-Zellen

Th2-Zellen exprimieren, im Gegensatz zu Th1-Zellen, wahrscheinlich keinen β 2-Adrenorezeptor [115] und sind demnach nicht direkt durch den Sympathikus beeinflussbar. Dies würde auch erklären, warum Th2-Zellen, im Gegensatz zu Th1-Zellen, auf Catecholamine nicht mit einer Reduktion der Zytokin-Produktion reagieren [151]. Die Studien über die β 2-Expression auf Th2-Zellen beschränken sich bisher allerdings nur auf das Tiermo-

dell, weshalb eine Expression auf humanen Th2-Zellen nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann [115].

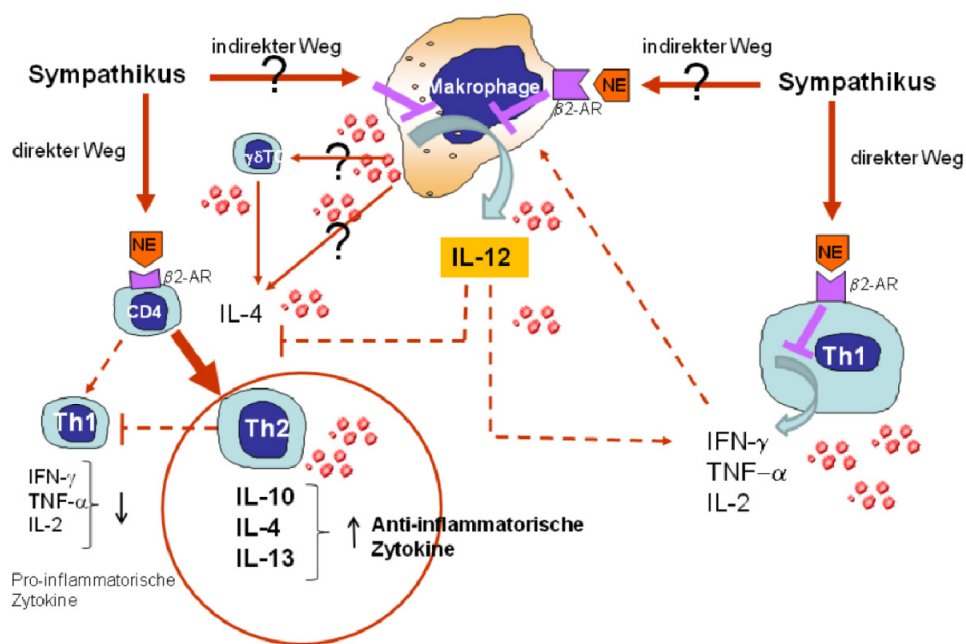


Abbildung 1: Wirkung des Sympathikus auf periphere Immunzellen

Noradrenalin könnte aber in jedem Fall indirekt auf die Entstehung von Th2-Zellen Einfluss nehmen. Über die Wirkung von Noradrenalin auf die Zytokinproduktion von Makrophagen und dendritischen Zellen (DC) könnte es durch ein verändertes Mediatorenprofil, mit verminderter IL-12- und gesteigerter IL-4-Sekretion, zu einer Prädominanz der Differenzierung von ungeprägten Th0-Zellen in Richtung Th2-Zelltyp kommen. Zumindest sprechen Ergebnisse aus dem Tierexperiment für diese These [115]. Da die Th2-Antwort eher anti-inflammatorisch ausgerichtet ist, würde dies die erhöhte Empfindlichkeit von SchlaganfallpatientInnen gegenüber Infektionen in der postischämischen Phase mit erklären.

3.2.1.4 Das Knochenmark als Effektororgan des sympathischen Nervensystems

Eine Sympathikus-Aktivierung im Knochenmark bedingt eine:

- Verminderung der [45]:
 - Granulopoese
 - Monozytopoese

- Förderung der [45]:
 - Lymphopoese
 - Erythropoese

Die inhibitorische Wirkung des Sympathikus auf die Produktion von Granulozyten und Makrophagen hat eine dementsprechend gravierende Auswirkung auf die Abwehrfähigkeit des Immunsystems, da diese die primären Effektorzellen des angeborenen Immunsystems darstellen. Eine verminderte Produktion derer aufgrund der erhöhten Sympathikusaktivität nach einem akuten Schlaganfall erklärt die erhöhte Infektanfälligkeit in der postischämischen Phase.

3.2.2 Efferenz über das parasympathische Nervensystem

Für die Funktion des Parasympathikus als Immunmodulator sind vor allem seine Efferenzen zu Organen von Bedeutung, die Teil des retikuloendothelialen Systems sind. Zu diesen vagal innervierten Organen des retikuloendothelialen Systems gehören die Leber, die Lunge, die Milz, die Nieren und der Gastrointestinaltrakt [179].

Eine gesteigerte Aktivität des Parasympathikus scheint vor allem über die Deaktivierung von Makrophagen und einer Reduktion deren TNF-Produktion eine immunsuppressive Wirkung zu haben. Dies wird als „cholinerg anti-inflammatorischer Pathway“ bezeichnet und repräsentiert einen physiologischen Mechanismus der Kontrolle des ZNS über das angeborene Immunsystem, um überschießende Entzündungsreaktionen zu inhibieren [187].

Der cholinerge anti-inflammatorische Pathway kann experimentell durch elektrische Vagusstimulation oder durch den Einsatz von Acetylcholin-Rezeptor-Agonisten stimuliert werden. Elektrische Stimulation des Nervus vagus führt im Tiermodell zu einer verminderten TNF-Produktion in Leber [31], Milz [57] und Myocard [25], die durch Deaktivierung der ortsansässigen Makrophagen zustande kommt. Weiters kommt es zu einer Senkung der maximalen TNF-Konzentration im Blut sowie zur Prävention eines Schockgeschehens bei Endotoxämie [31] [25] und nach Ischämie-Reperfusionsschaden [24].

In-vitro-Versuche an tierischen und humanen Zellkulturen zeigen die Effekte des Parasympathikus auf Makrophagen im Detail. Exposition gegenüber Acetylcholin oder Nicotin, einem selektiven cholinergen Rezeptoragonisten, führt zu einer verminderten Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF, IL-1 β , IL-6, IL-18 [31] sowie von

HMGB1 (high-mobility group box 1) [241] und MIP-2 (macrophage inflammatory protein-2) [41], beeinträchtigte aber nicht die Produktion von anti-inflammatorischen Zytokinen, wie IL-10 [31] [41]. Dieser Effekt konnte allerdings nur bei Gewebsmakrophagen und nicht bei zirkulierenden Monozyten nachgewiesen werden. Nur überphysiologische Konzentrationen von ACh-R-Agonisten können bei Monozyten die Synthese von Zytokinen inhibieren [226].

Die antiinflammatorische Wirkung des Parasympathikus wird durch nicotinerge Rezeptoren an der Oberfläche von Makrophagen vermittelt. Hiervon existieren beim Menschen 16 verschiedene Subtypen. Die Hauptfunktion dieser Rezeptorengruppe liegt in der Signaltransmission an der motorischen Endplatte. Durch Markierung des α -Bungarotoxins, eines Rezeptorantagonisten, konnten die spezifischen Subtypen des nACh-Rs an Makrophagen nachgewiesen werden. Als der für die cholinerg-anti-inflammatorische Wirkung auf Makrophagen verantwortliche Rezeptor wurde der α 7-Subtyp des nicotineren Acetylcholin-Rezeptors (nACh-R) identifiziert [180]. Bei experimentellen Untersuchungen an Genknockout-Mäusen zeigten α 7-ACh-R-defiziente Mäuse eine höhere Sensitivität gegenüber entzündlichen Stimuli sowie höhere Level pro-inflammatorischer Zytokine (TNF, IL-1, IL-6) während Endotoxämie [180]. Elektrische Vagusstimulation [180] bzw. die Applikation eines nACh-R-Agonisten [178] führte bei α 7-nACh-R-defizienten Mäusen auch nicht zur charakteristischen Senkung des TNF-Serumspiegels.

Der zweite wichtige Subtyp des nicotineren ACh-Rs, der α 4- β 2-nACh-R, der hauptsächlich von alveolären Makrophagen exprimiert wird [147], scheint nicht essentiell an der Vermittlung des vagalen anti-inflammatorischen Effekts beteiligt zu sein. Dafür sprechen mitunter die Ergebnisse der elektrischen Vagusstimulation am Tiermodell. Denn während die TNF-Produktion nach Vagusstimulation in Herz, Milz und Leber sinkt, zeigt sich keine Veränderung der TNF-Produktion in der Lunge [25].

Die intrazellulären Mechanismen, über welche es nach Aktivierung des α 7-nicotineren-Rezeptors zu den oben genannten anti-inflammatorischen Effekten kommt, wurden von Jonge et al. [41] mit Hilfe tierischer Zellkulturen näher untersucht. Ihren Ergebnissen zufolge kommt es nach Bindung von Nicotin an den α 7-nACh-R auf Makrophagen zur Aktivierung der Tyrosinkinase Jak2, welche den Transkriptionsfaktor STAT3 aktiviert. STAT3 wird eine anti-inflammatorische Wirkung zugeschrieben da dieses offensichtlich auch an

der intrazellulären Vermittlung der anti-inflammatorischen Effekte des IL-10 beteiligt ist [134] [251]. Diese Wirkung wird wahrscheinlich über die Blockade von NF- κ B, durch direkte Interaktion zwischen STAT3 und der p56-Untereinheit des NF- κ Bs, vermittelt [41]. Durch die nicotinerge-induzierte Hemmung des Transkriptionsfaktors NF- κ B, der für die Transkription pro-inflammatorischer Zytokine verantwortlich ist, ließen sich die oben angeführten Änderungen der Zytokinexpression schlüssig erklären.

Zusammengefasst imitiert der Nervus vagus in Makrophagen den intrazellulären Signaltransduktionsweg des IL-10-Rezeptors und erzielt damit ähnliche anti-inflammatorische Effekte, bedarf dazu aber nicht der Beteiligung von IL-10 [41].

3.2.3 Efferenz über die Hypothalamus-Hypophysen-NNR-Achse

Über die Bildung von Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) in den periventriculären Nuclei (PVN) des Hypothalamus und der Bildung von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) in der Adenohypophyse kommt es zur Stimulation der Nebennierenrinde, die mit der Bildung und Freisetzung von Glukokortikoiden (Cortisol) reagiert.

Glukokortikoide wirken über folgende Mechanismen anti-inflammatorisch [45]:

- Suppression der Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen (IL-1- β , IL-11, IL-12, IFN- γ , TNF- α), Chemokinen (IL-8), Prostaglandinen und Sauerstoffradikalen
- Förderung der Bildung von anti-inflammatorischen Zytokinen wie IL-4, IL-10 und TGF- β
- Antiproliferative Wirkung
- Proapoptotische Wirkung auf Immunzellen

Cortisol als Endprodukt der aktivierten HHNNR-Achse stellt mit seinem anti-inflammatorischen Wirkspektrum einen negativen Feedbackmechanismus nach Stimulation des ZNS durch proinflammatorische Zytokine (IL-1 [23], IL-6, TNF- α) dar [45].

In klinischen Studien mit SchlaganfallpatientInnen zeigte sich allerdings, dass auch dieser Regulationskreislauf streng balanciert ablaufen muss, da sich jedes Extrem in der Reaktion der HHNNR-Achse negativ auf das PatientInnenoutcome auswirkt [45]. Sowohl massiver Anstieg als auch eine abnormal geringe Sekretion von ACTH und Cortisol sind mit einem komplizierteren Krankheitsverlauf assoziiert, sei es ein größeres Infarktareal, ein schlechteres neurologisches Outcome oder höhere Mortalität.

3.2.4 Efferenz über immunologische Mediatoren

Zytokine

Bei PatientInnen nach einem akuten Schlaganfall wurde ein rapider Anstieg an zirkulierenden Zytokinen im peripheren Blut beobachtet [45]. Ob diese hauptsächlich peripher in lymphatischen Organen oder durch zirkulierende Immunzellen gebildet werden, oder ob sie im Zuge des Entzündungsprozesses innerhalb des ischämisch-geschädigten Hirnareals gebildet und nur sekundär ausgeschwemmt werden, ist noch unklar. Fest steht aber, dass sie entscheidend an den systemischen immunologischen Reaktionen nach dem akuten zerebralen Insult teilhaben. Entscheidend ist dabei das Verhältnis zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen, denn ein Überwiegen der antiinflammatorisch-wirksamen Mediatoren, wie z.B. von IL-10, geht mit einer reduzierten Immunabwehr und damit mit einem erhöhten Risiko für Infektionen einher.

Genauer über die Serumkonzentrationen wichtiger Zytokine und deren immunologischer Funktionen findet sich unter „Mediatoren des Immunsystems nach ischämischem Insult“.

4 Infektkomplikationen nach akutem ischämischem Insult

4.1 Infektionen bei PatientInnen nach akutem ischämischem Insult

Die häufigste Komplikation eines akuten Schlaganfalls sind Infektionen [249] [108], die bei 23-65% [61] [185] der PatientInnen nachgewiesen werden können. Die großen Unterschiede bzgl. der Inzidenzangaben lassen sich durch unterschiedliche Observanzperioden, Infektionsdefinitionen und Infektionsnachweismethoden erklären [200]. Trotz der hohen zahlenmäßigen Variabilität zwischen den einzelnen Studien ist die Inzidenz von Infektionen unter SchlaganfallpatientInnen signifikant höher als die Gesamtprävalenz der im Krankenhaus neu-auftretenden Infektionen („hospital-acquired-infections“), die im Vergleich dazu nur bei 4 -9 % liegt [150]. Dass hierfür ein immunsuppressiver Status verantwortlich ist, der durch den akuten Schlaganfall ausgelöst wird, wurde bereits 1974 von Howard et al. postuliert [150].

Infektionen des Urogenitaltrakts mit einem Auftreten bei 16% [59] bzw. 17,2% [14] der PatientInnen, und Pneumonien mit einem Auftreten bei zw. 5% und 22% (5% [102]; 6,9% [110]; 7,4% [249]; 12% Thoraxinfektionen [59]; 13,6% [14]; 22% [239]) der PatientInnen sind am häufigsten. Während Infektionen des Urogenitaltrakts nicht mit einer erhöhten Mortalität einhergehen, stellt die bakterielle Pneumonie die häufigste Todesursache in der postakuten Phase nach einem Schlaganfall dar [14] [61] [184]. PatientInnen, die eine solche entwickeln, haben ein dreifach erhöhtes Risiko, innerhalb der ersten 30 Tage zu versterben [110].

Das Risiko, an einer Pneumonie zu erkranken, ist zwar in der akuten Phase am höchsten [14], bleibt aber insgesamt für einige Monate erhöht [119]. Besonders hoch ist das Risiko, wenn weitere prädisponierende Faktoren wie höheres Alter und Begleiterkrankungen hinzukommen [184].

Als Ursachen für die nach Schlaganfall gehäuft auftretende Pneumonie wurden lange Zeit herabgesetzte bulbäre Reflexe, Benommenheit und die dadurch erhöhte Aspirationsgefahr sowie invasive therapeutische Eingriffe verantwortlich gemacht [182].

Diese Faktoren stellen aber, den neuesten Erkenntnissen über die immunologischen Prozesse nach einem Schlaganfall zur Folge, nur einen Ko-Faktor dar. In erster Linie soll die systemische Schlaganfall-induzierte Immundepression, genannt CIDS (CNS-injury-induced immunodeficiency syndrom), für die erhöhte Infektanfälligkeit verantwortlich sein [83]. Ein akuter ischämischer Insult führt innerhalb der ersten Wochen nach dem akuten Ereignis sowohl bei PatientInnen mit klinisch manifester Infektion als auch bei jenen ohne Infektionszeichen zu einer vorübergehenden Herabsetzung der Immunkompetenz [83]. Das Ausmaß der dabei detektierten Immundepression steigt mit der Infarktgröße, dem klinischen Schweregrad des neurologischen Defizits und dem Alter der PatientInnen [83]. Die Erkenntnis, dass Aspiration nicht die Hauptursache für die nach Schlaganfall erhöhte Pneumoneanfälligkeit sein kann, wird durch die Tatsache unterstrichen, dass auch die Hälfte der gesunden Bevölkerung in der Nacht aspiriert, ohne eine Pneumonie zu entwickeln [184]. Als ein Pneumonie-begünstigender Faktor hat die Aspiration allerdings, schon auf Grund ihrer Häufigkeit, sehr wohl Relevanz. Zwischen 40-70% der Schlaganfall-PatientInnen entwickeln eine Dysphagie, unter diesen PatientInnen kommt es bei 40% auch zur Aspiration [184].

Das Auftreten von Pneumonien nach einem Schlaganfall korreliert nicht nur (wie oben erwähnt) mit dem klinischen Schweregrad des Insults [110] sondern ist auch mit einem schlechteren neurologischen Outcome assoziiert [184]. Letzteres wirft die Frage auf, wie Infektionen an ganz anderer Stelle im Körper die neurologische Regeneration beeinflussen können. Denn das neurologische Outcome der PatientInnen, die in der postischämischen Phase eine Infektion akquirierten, ist auch dann schlechter, wenn diese Infektion suffizient behandelt werden konnte [76]. Das schlechtere neurologische Outcome kann daher nicht direkte Folge infektionsspezifischer Komplikationen oder fehlender bzw. mangelnder Rehabilitierungsmaßnahmen in der Krankheitsphase sein.

Aslanyan et al. [14] führen die schlechte neurologische Regeneration auf das Infektionsassoziierte Auftreten von Fieber und toxischen Substanzen im Blut zurück, welche die Wundheilung im ischämisch geschädigten Areal beeinträchtigen. Die Entwicklung einer Pneumonie geht wiederum mit Hypoxie einher, welche zur sekundären Progression des Hirnschadens beitragen kann [14]. Infektionen des Urogenitaltraktes auf der anderen Seite beeinträchtigen die Ausscheidung und können somit zu einer homöostatischen Inbalance führen [14].

Gee et al. [76] liefern durch ihre Ergebnisse aus dem Tiermodell neue mögliche Erklärungsansätze, wie Infektionen zu einer Verschlechterung des neurologischen Outcomes führen können. In ihren Versuchen wurde nach experimentellem Verschluss der Arteria cerebri media zum Zeitpunkt der Reperfusion eine intraperitoneale Lipopolysaccharid-(LPS) Injektion verabreicht. LPS sind Bestandteil der Zellmembran Gram-negativer Bakterien, welche hauptsächlich für die Schlaganfall-assoziierten Infektionen verantwortlich sind [188] [90]. Das Modell entspricht einer Infektion in der postischämischen Phase und dient dem Vergleich des immunologischen Status nach einem Monat zwischen den mit LPS-„infizierten“ Mäusen und jenen, die keine LPS-Injektion erhalten haben. Auch wenn das Ausmaß der Infiltration der ischämischen Hemisphäre mit mononukleären Zellen in beiden Gruppen ähnlich war, so unterschieden sich die beiden Gruppen doch im Phänotyp ihrer Immunantwort. 67% der mit LPS-behandelten Tiere entwickelten bei Kontakt mit einem Hirn-spezifischen Antigen eine Th1-geprägte autoimmunologische Reaktion. Unter den Tieren, die keine LPS-Injektion erhielten, reagierten nur 22% auf ähnliche Weise. Ob es zur Entstehung von autoimmunologischen Prozessen kommt oder nicht, scheint demnach stark von den immunologischen Begleitprozessen beeinflusst zu werden [76]. Die durch eine Infektion getriggerte Immunantwort scheint nach einem Schlaganfall zu einer zusätzlichen autoimmunologischen Schädigung des Hirnparenchyms zu führen, welche das schlechtere neurologische Outcome von PatientInnen mit Infektkomplikationen erklären würde.

4.1.1 Immunologische Veränderungen bei PatientInnen nach akutem ischämischem Insult

Die Veränderungen des Immunsystems nach einem akuten Schlaganfall im Sinne einer Immundepression prädisponieren zum Auftreten von Infektionen. Der in dieser Phase supprimierte Immunstatus beinhaltet sowohl numerische als auch funktionelle immunologische Veränderungen [83].

Numerische Veränderungen:

- Lymphopenie [83]: Innerhalb weniger Stunden nach dem akuten ischämischen Ereignis kommt es zur Lymphopenie, welche bis zu 6 Tagen besteht.
- Verminderung der Anzahl von Th1-Lymphozyten [83]: Die Abschwächung der proinflammatorischen Th1-Immunantwort gehört zu den wichtigsten Faktoren, die zur Immunsuppression führen und wird auch im Tierexperiment bei Prass et al.

[185] beschrieben. Ursächlich hierfür soll ein Switch der Th1-/Th2-Balance in Richtung Prädominanz der vornehmlich antiinflammatorischen Th2-Immunantwort sein.

- Im Gegensatz zum Tierexperiment zeigte sich beim Menschen allerdings keine Suppression von B-Zellen und NK-Zellen [83].

Funktionelle Veränderungen:

- Verminderte Expression von MHC-II-Molekülen (=HLA-DR) durch Monozyten/Makrophagen [83] [84]: Mit Hilfe der MHC-II-Moleküle an ihrer Oberfläche präsentieren Monozyten/Makrophagen Antigene an T-Zellen und aktivieren sie dadurch zu einer Antigen-spezifischen T-Zell-Antwort. Durch die verminderte Expression von MHC-II-Molekülen ist die Funktion der Monozyten/Makrophagen stark beeinträchtigt [83].
- Verminderte Produktion von IFN- γ durch Th1-Zellen [83]: Der Switch der T-Zell-Antwort in Richtung dominierender Th2-Zell-Antwort führt bereits zu einer verminderten Anzahl von IFN- γ -produzierenden Th1-Zellen. Die Senkung von IFN- γ wird aber durch eine FunktionseinbuÙe der Th1-Zellen noch potenziert. Diese sind nach einem Schlaganfall nur noch beschränkt zur IFN- γ -Produktion fähig. Das IFN- γ hat, neben seinen antiviralen und anti-tumorösen Eigenschaften, einen entscheidenden Einfluss auf das immunologische Geschehen. Zu seinen, weitgehend proinflammatorischen Effekten gehören ([205]; S.542f):
 - Aktivierung von Makrophagen, die zu einer höheren lysosomalen Aktivität und zu einer verstärkten Antigenpräsentation führt.
 - Aktivierung von Neutrophilen, was sich mitunter in einer gesteigerten Produktion von Sauerstoffradikalen manifestiert.
 - Förderung der Zellaktivität von NK-Zellen
 - Suppression der antiinflammatorischen Th2-Immunantwort
 - Förderung der Leukozytenmigration durch eine gesteigerte Adhäsivität an vaskulären Endothelzellen

Die verminderte IFN- γ -Produktion durch Th1-Zellen scheint eine der Hauptursachen der Schlaganfall-induzierten Immunsuppression zu sein [185].

4.1.1.1 Prädiktive Marker zur Identifikation von Hochrisiko-PatientInnen für Infektionen nach einem Schlaganfall

Da Infektionen als Komplikation eines Schlaganfalls häufig sind, und ihr Beitrag zur Gesamtmortalität auch nicht zu unterschätzen ist, wäre die frühzeitige Identifikation von Hochrisiko-PatientInnen für Infektionen von großem klinischen Nutzen.

IL-6 wurde in diesem Zusammenhang als Marker diskutiert. Die Konzentration von IL-6 im peripheren Blut steigt nach einem Schlaganfall zwar signifikant an [1] [68] [69], zeigte aber nach Haeusler et al. [83] keine ausreichende Korrelation mit dem Auftreten von Infektionen. Daher ist dieser Marker für die Abschätzung des Infektionsrisikos wahrscheinlich nicht geeignet.

Die beste Methode nach heutigem Wissensstand ist laut Haeusler et al. [83] eine Kombination aus:

- Schwere der klinischen Symptomatik nach dem Infarkt, gemessen am NIH-stroke-score
- zusammen mit:
 - Alter oder
 - LPS-induzierter TNF- α -Sekretion durch T-Zellen

Bei frühzeitiger Identifikation der Hochrisiko-PatientInnen für Infektionen könnte mittels Antibiotika-Prophylaxe interveniert werden.

Die prophylaktische Gabe von Antibiotika nach einem Schlaganfall erzielte im Tiermodell vielversprechende Ergebnisse. Neben der Prävention postischämischer Infektionen zeigte sich auch eine Reduktion der Mortalität sowie eine Verbesserung des neurologischen Outcomes [150]. Die Ergebnisse aus klinischen Studien sind allerdings ambivalent und konnten bisher den hohen Erwartungen aus dem Tiermodell nicht gerecht werden (siehe Kapitel: 8 Ansatzpunkte für therapeutische Interventionen).

Die sich daraus ableitende Expertenmeinung empfiehlt eine Antibiotika-Prophylaxe, wenn überhaupt, nur bei PatientInnen mit hohem Infektionsrisiko.

Da Pneumonien, neben den Infektionen des Urogenitaltrakts, die häufigste Manifestation von Infektionen nach einem Schlaganfall darstellen und sie auch hauptverantwortlich für die Mortalität in der subakuten Phase sind, haben Walter et al. [239] gesondert nach Prädiktoren für eine Schlaganfall-assoziierte Pneumonie (SAP=stroke associated pneumonia) gesucht.

Dabei ergaben sich, mit einer Sensitivität von 76% und einer Spezifität von 88%, folgende klinische Merkmale als unabhängige Risikofaktoren:

- Dysphagie
- Schwere klinische Symptomatik (NIHSS \geq 10)
- Nicht lakunärer Basalganglien-Infarkt
- Gleichzeitiges Vorhandensein anderer Infektionen zum Zeitpunkt der Aufnahme

Als weitere Risikofaktoren, wenngleich nicht als unabhängige, gelten die Größe des Infarktareals sowie die Lokalisation derselben. PatientInnen mit lakunären Infarkten haben insgesamt ein geringeres Risiko, eine SAP zu entwickeln [239].

Im Gegensatz zu Vorstudien hatten bei Walter et al. [239] die Zugehörigkeit zum männlichen Geschlecht sowie Diabetes mellitus als Grundkrankheit keinen Einfluss auf die Entstehung Schlaganfall-assoziiertes Pneumonien.

4.2 Infektionen nach akutem ischämischen Insult im Tiermodell

Auch im Tiermodell bestätigte sich eine erhöhte Anfälligkeit für Infektionen nach artifizell induzierter zerebraler Ischämie. Im Mäusemodell bei Prass et al. [185] kam es bei allen Tieren innerhalb der ersten drei Tage nach experimenteller Okklusion der ACM spontan zur Septikämie und zur Entwicklung einer Pneumonie.

Da die bakterielle Pneumonie in der Klinik die häufigste postischämische Infektion darstellt und für die Prognose am bedeutendsten ist, widmet sich auch die Forschung am Tiermodell hauptsächlich der Pneumonie.

Prass et al. [184] zeigten an Mäusen, wie durch einen Schlaganfall aus einer harmlosen intranasalen Kolonisation mit *Streptococcus pneumoniae* durch die postischämische Immundepression eine schwere Pneumonie entstehen kann. Während bei gesunden Mäusen 200 000 Kolonie-bildende Einheiten *Streptococcus pneumoniae* nötig waren, reichten nach experimenteller Okklusion der ACM schon 200 Kolonie-bildende Einheiten, um eine vergleichbar schwere Pneumonie auszulösen.

Untersuchungen der immunologischen Vorgänge im Lungenparenchym nach zerebraler Ischämie zeigten eine erhöhte Produktion von IL-10 durch Lungen-Makrophagen, eine verminderte Anzahl an Lymphozyten im Lungenparenchym sowie eine verminderte IFN- γ und erhöhte IL-4-Produktion derer [89]. Diese veränderte immunologische Situation im

Lungengewebe ist den unten angeführten systemischen immunologischen Veränderungen nach akutem ischämischen Insult ähnlich.

Zudem scheint dieser neuen Studie von Schulte-Herbrüggen et al. [89] zufolge auch das α -Melanozyten-stimulierende-Hormon (MSH) an der postischämisch erhöhten Infektanfälligkeit des Lungengewebes beteiligt zu sein [89].

Die Ursache für die postischämisch erhöhte Inzidenz von Pneumonien scheint demnach, konkordant mit den Ergebnissen aus klinischen Studien, in einer Kombination aus Aspiration und Immundepression zu liegen. Durch die Aspiration gelangen Bakterien der physiologischen Nasalflora in den unteren Respirationstrakt (Infektionsweg), durch die Immundepression wiederum erhöht sich die Anfälligkeit für Infektionen. Letzteres scheint aber laut Prass et al. [184] von größerer klinischer Bedeutung zu sein.

4.2.1 Immunologische Veränderungen nach akutem ischämischen Insult im Tiermodell

Die immunologischen Veränderungen nach einem akuten Schlaganfall entsprechen im Tiermodell weitgehend denen beim Menschen. Zerebrale Ischämie induziert auch beim Tier eine langanhaltende Immundepression, die durch folgende Mechanismen ausgelöst wird:

- Lymphopenie [45]: Durch Schlaganfall-induzierten exzessiven apoptotischen Untergang von Lymphozyten [185] kommt es zur Lymphopenie. Zudem führt die zerebrale Ischämie zu einer insuffizienten Funktion der verbleibenden T-Zellen, die sich in einer verminderten IFN- γ -Produktion äußert [185].
- Herabgesetzter Funktion von Monozyten [45] und NK-Zellen [185]
- TH1-/Th2-Shift [45]: Verlagerung der T-Zellantwort vom pro-inflammatorischen Zytokinprofil der Th1-Zellen Richtung Dominanz der anti-inflammatorischen Th2-Zellantwort [185].

5 Pathomechanismen der Immundefizienz nach akutem ischämischem Insult

5.1 Immunologische Reaktionen nach akutem ischämischem Insult

Die bidirektionale Kommunikation zwischen Peripherie und ZNS hat, wie oben erläutert, den Sinn das ZNS über einen peripheren Entzündungsprozess zu informieren, damit dieses über einen negativen Feedback-Mechanismus das lokale Immungeschehen modulieren kann. Zur Detektion des Entzündungsgeschehens dienen Zytokinen, die das ZNS über den Nervus vagus oder über zentrale Rezeptoren aktivieren und damit reflektorisch eine zentral induzierte Immundepression auslösen. Das Ziel dieses Reflexbogens ist es, ein systemisches Übergreifen eines lokalen Entzündungsprozesses mit Ausbildung einer Sepsis zu vermeiden.

Im Falle eines Schlaganfalls kommt es nun aber im Hirn zu einer Immunreaktion mit Freisetzung verschiedenster Zytokine. Durch die hohen lokalen Konzentrationen von Zytokinen werden nun wahrscheinlich die Hirnstrukturen, die für die Immunregulation verantwortlich sind, direkt und maximal stimuliert. Dadurch kommt es zur zentralen Aktivierung des efferenten Schenkels des Immunmodulations-Regelkreises und zur peripheren Immunsuppression. Aber während eine Afferenz über den Parasympathikus wahrscheinlich somatotop zugeordnet werden kann und zu einer lokalisierten Immunsuppression führt, bedingt die zentrale Aktivierung des efferenten Schenkels eine generalisierte systemische Immundepression.

Ob dies eine unerwünschte Nebenwirkung durch die beim Schlaganfall zentral freigesetzten Zytokine darstellt oder die Immundepression einen physiologischen Grund hat, ist bis heute nicht geklärt. Während die Immundepression einerseits zur erhöhten Infektanfälligkeit führt, könnte sie gleichzeitig aber auch einen Schutzmechanismus gegen Autoimmunreaktionen darstellen. (siehe Kapitel: 6 Immundepression als Schutz vor Autoimmunität)

5.2 Rolle der Regulationsmechanismen

5.2.1 Sympathikus versus HHNR-Achse

Bei der Vermittlung der postischämischen Immundepression scheint bisherigen Erkenntnissen zufolge das SNS gegenüber der HHNR-Achse von größerer klinischer Relevanz zu sein [61]. Denn nur die Hemmung des SNSs durch Einsatz des β -Blockers Propranolol, nicht aber die Blockade der HHNR-Achse durch einen Glukokortikoid-Rezeptor-Antagonisten führte zu einer Reduktion der bakteriellen Infektionen und darüber hinaus zu einer drastisch verminderten Mortalität [185].

Da aber sowohl β -Blocker als auch Glukokortikoid-Antagonisten die Schlaganfall-induzierte Lymphopenie und Monozytendeaktivierung inhibieren, können diese Effekte nicht ausschlaggebend für die Senkung der Infektanfälligkeit sein. Diese geht demnach vor allem auf die Hemmung der Lymphozytendysfunktion, die durch β -Blocker, nicht aber durch Glukokortikoid-Antagonisten vermittelt wird und sich in einer verminderten IFN- γ -Produktion äußert, zurück [61] [185]. Die Verbesserung der bakteriellen Abwehr bei früher Administration von rekombinantem IFN- γ nach einem Schlaganfall [185] bestätigt diese Theorie.

Der für die postischämische Immunsuppression ausschlaggebende Faktor scheint demnach die Störung der frühen Aktivierung von Lymphozyten (v.a. von Th1-Zellen und NK-Zellen) zu sein, die zu einer verminderten IFN- γ -Produktion führt. IFN- γ ist ein charakteristisches Zytokin aus dem Mediatorenprofil der Th1-Zellen [185], weshalb die IFN- γ -Konzentration ein guter Marker für die Aktivität von Th1-Zellen bzw. für das Ausmaß der Differenzierung naiver T-Zellen in Richtung proinflammatorischer Th1-Zellen ist. Nachdem die immunsuppressive Wirkung des Sympathikus, wie oben beschrieben, vor allem auf dessen Hemmung von Th1-Zellen zurück zu führen ist, kann die Senkung der peripheren IFN- γ -Konzentration auch als indirektes Zeichen der Sympathikusaktivierung gedeutet werden.

5.2.2 Sympathikus versus Parasympathikus

Sowohl der Sympathikus als auch der Parasympathikus vermitteln über ihre Efferenzen, mit den jeweiligen Neurotransmittern, eine immunsuppressive Wirkung. Während es durch den Parasympathikus zu einer abgeschwächten Immunantwort des angeborenen Immunsystems kommt (Deaktivierung von Makrophagen mit verminderter TNF- α -Produktion),

führt die Aktivierung des Sympathikus zusätzlich zu einer Hemmung der proinflammatorischen Komponente des erworbenen Immunsystems (Hemmung der Th1-Zellen, mit verminderter IFN- γ -Produktion). In diesem Zusammenhang scheinen Sympathikus und Parasympathikus synergistisch zu wirken.

Welche Achse des autonomen Nervensystems ist nun aber ausschlaggebend bzw. stärker für die systemische Immundepression nach einem Schlaganfall verantwortlich? Um diese Frage zu beantworten, kann man Messungen der Herzfrequenzvariabilität bei PatientInnen mit traumatischer Hirnschädigung heranziehen. Da sowohl Sympathikus als auch Parasympathikus efferente Fasern zum Herzen senden, um die Herzfrequenz zu regulieren, reflektiert diese anschaulich die Balance der Aktivität dieser beiden Subsysteme [122]. Die Analyse der Herzfrequenz-Variabilität (HRV = heart-rate-variability) dient demnach indirekt der Messung autonomer Aktivitäten. Zur Erfassung der Herzfrequenzvariabilität dient das EKG, mit dessen Hilfe man den zeitlichen Abstand zwischen zwei R-Zacken und die Fluktuation dieses RR-Abstandes darstellen kann. Die Herzfrequenzvariabilität ist Ausdruck der Anpassungsfähigkeit des Herzens, die es ermöglicht, auf die unterschiedlichen Anforderungen der Umwelt adäquat zu reagieren. Vereinfacht bedeutet dies einen Anstieg der Herzfrequenz in physischen oder psychischen Stresssituationen und ein Absinken in Ruhe.

Mittels Spektralanalyse kann man zwischen den verschiedenen Frequenzbereichen differenzieren, innerhalb derer sich die Herzfrequenz verändert. Um den Einfluss des Sympathikus von dem des Parasympathikus zu unterscheiden, benötigt man die Unterteilung des Frequenzbereichs in low frequency (LF) und high frequency (HF). Low frequency (0,04-0,15 Hz) entspricht der rhythmischen Veränderung der Herzfrequenz innerhalb einer Zeitspanne von 25-7 sec. Dieser Frequenzbereich entspricht einem vorwiegend sympathischen Einfluss auf das Herz. Der high frequency Anteil (0,15-0,4 Hz) entspricht rhythmischen Veränderungen der Herzfrequenz innerhalb einer Zeitspanne von 7-4 sec. und repräsentiert das Überwiegen des Parasympathikus [86].

Zur Messung der sympatho-vagalen Balance hat man die HF/LF-Ratio eingeführt [122]. In den bereits erwähnten klinischen Studien, in denen die Herzfrequenzvariabilität nach traumatischer Hirnschädigung gemessen wurde, zeigte sich ein Anstieg der HF/LF-Ratio in der akuten Phase. Dies spricht für ein Überwiegen der parasympathischen Aktivität in der akuten Phase nach einer Hirnschädigung. Ursächlich hierfür könnte ein erhöhter Hirndruck sein, den ein Anstieg der HF/LF-Ratio korrelierte zumeist mit erhöhten Hirndruckwerten.

Dadurch könnte es zur Kompression des Hirnstammes oder höherer vagaler Kerne kommen, was in einem unkontrollierten Feuern der Neurone der medulla oblongata, dem Kerngebiet der vagalen Efferenzen, resultiert [122].

6 Immundepression als Schutz vor Autoimmunität

Schon des längeren wird der Schutz vor Autoimmunität als Ursache für die Immundepression, die nach jeder ZNS-Schädigung beobachtet werden kann, diskutiert. Dies gilt natürlich auch für den akuten Schlaganfall. Der theoretische Kern hinter dieser Hypothese liegt in der Offenlegung hirnspezifischer Antigene durch die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke bei den verschiedensten Arten der akuten ZNS-Verletzung. Gegen diese hirnspezifischen-Antigene wurde allerdings im Laufe der Zeit keine Immunität aufgebaut, da sie sich in einem durch die Blut-Hirn-Schranke vom systemischen Immunsystem abgeschiedenen Kompartiment befinden. Ihre Offenlegung könnte daher zu einer autoimmunologischen Reaktion gegen hirninterne Strukturen führen. Solche Autoimmunreaktionen im Sinne einer experimentellen Autoimmun-Enzephalitis (EAE), welche das Analog zur Multiplen Sklerose (MS) beim Menschen darstellt, konnten bisher nur im Tiermodell nachgewiesen werden [76]. In Untersuchungen an Menschen, die bereits einen Schlaganfall erlitten haben, fanden sich ZNS-spezifische-Immunglobuline (z.B. gegen Neurofilamente [30] und NMDA-Rezeptoren [58]) sowie autoreaktive Zellen [246] gegen ZNS-Strukturen. Die Bildung von spezifischen Immunglobulinen setzt eine erworbene Antigen-spezifische-Immunantwort gegen das ZNS voraus. Auch wenn diese autoreaktiven Veränderungen des Immunsystems nach bisherigem Stand der Wissenschaft nicht ausreichen, um zu einer Autoimmunreaktion gegen das ZNS zu führen, weiß man doch wenig über potenzielle Langzeitfolgen. Ein derartiges „Priming“ der Immunzellen auf hirnspezifische-Antigene könnte bei einem Rezidivinfarkt zu einer Aggravierung des Hirnschadens führen [76].

Im folgenden Absatz sollen die Vorgänge, die zur Autoreaktivität führen können, zum näheren Verständnis genauer erläutert werden. Dazu ist es wichtig zu verstehen, wie es unter normalen Umständen im Körper zur Ausbildung immunologischer Toleranz gegenüber körpereigenen Strukturen kommt.

Eine T-Zell-medierte Immunantwort, wie sie als Reaktion auf einen akuten Schlaganfall im ischämischen Gewebe typisch ist, bedarf verschiedener Mechanismen, um in Gang gesetzt zu werden. Das die T-Zelle umgebende Mikroenvironment trägt ganz entscheidend an der Art der folgenden Immunantwort bei. Zur Aktivierung der T-Zelle muss das Antigen von einer Antigen-präsentierenden Zelle in Verbindung mit einem Major Histocompatibili-

ty Complex (MHC-II) präsentiert werden. Zudem bedarf die T-Zelle eines zusätzlichen co-stimulierenden Signals. Zu diesen co-stimulierenden Molekülen gehört unter anderem das Molekül B7.1. Eine derartige Präsentation des Antigens mit entsprechender Co-Stimulierung führt zur Sensibilisierung der T-Zelle und resultiert in einer Th1-medierten Immunreaktion, die durch die Expression von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-2, IL-12, TNF- α , und IFN- γ charakterisiert ist [76]. Bleibt aber ein solches co-stimulierendes Signal aus oder erfolgt ein zusätzliches inhibitorisches Signal, kommt es zur immunologischen Toleranz gegenüber diesem Antigen. Zukünftige Interaktionen zwischen diesem Antigen und darauf tolerisierten T-Zellen führen zu einer Th2-/Th3-gewichteten Immunantwort, welche durch die Freisetzung von antiinflammatorischen Zytokinen wie IL-4, IL-10 und TFG- β 1 gekennzeichnet ist [76].

Eine weitere Möglichkeit des Immunsystems zu verhindern, dass ein Antigen zu einer übermäßigen immunologischen Reaktion führt, erfolgt über die immunmodulierende Wirkung von regulatorischen T-Zellen (Treg). Diese werden durch eine besondere Art des Antigen-Processing und der Antigen-Präsentation aktiviert und haben eine dämpfende Wirkung auf die Aktivierung und Funktion von Lymphozyten [76].

Der Vorgang der prä-ischämischen Toleranzinduktion gegenüber ZNS-spezifischen Antigenen, der im Tierversuch vielversprechend erscheint, beruht mitunter auf der Induktion dieser regulatorischen T-Zellen [76].

7 Einfluss der Lokalisation des ischämischen Infarktareals

Neben den infektiösen Komplikationen in der postakuten Phase nach einem Schlaganfall zeigte sich in der Langzeit-Beobachtung auch eine erhöhte Inzidenz an kardialen Komplikationen und Todesfällen. Man vermutete lange, dass dies auf den gleichzeitigen arteriosklerotischen Befall von zerebralen und koronaren Gefäßen zurückzuführen sei, in letzter Zeit zeigte sich aber, dass dies alleine als Erklärung unzureichend ist. Eine Schädigung des ZNS scheint ursächlich an der kardialen Dysfunktion beteiligt zu sein. Evidenz hierfür findet sich in diversen Studien, im Zuge derer man nach einem akuten Schlaganfall EKG-Veränderungen (Arrhythmien [160], verminderte Herzfrequenzvariabilität [224]) sowie erhöhte Serumkonzentrationen von kardialen Enzymen bzw. Strukturproteinen (Creatinkinase (CK) [160], Troponin T [15], Troponin I [16]) fand. Die erhöhte CK-Konzentration, die einen Marker für myokardiale Schädigung darstellt, war bei Myers et al. [160] mit einem Anstieg des Noradrenalin-Plasmaspiegels assoziiert, was den Schluss nahe legt, dass auch die kardialen Komplikationen auf die postischämische Sympathikusaktivierung zurückzuführen sind. Der gesteigerte Sympathikotonus soll über die durch intrakardiale Nerven freigesetzten Katecholamine eine schädigende Wirkung auf das Myocard haben. Bei Obduktionen, nach einem akuten zerebralen Infarkt fand man eine solche myokardiale Schädigung, die im speziellen als Myozytolyse bezeichnet wird. Die Tatsache, dass in diesen Fällen die myokardialen Nekrosen ohne gleichzeitiges Bestehen einer koronaren-Herzkrankheit (KHK) aufgetreten sind, spricht ebenfalls für eine direkte Schädigung des Herzens durch den Schlaganfall.

Die Lateralisation zerebraler Aufgaben soll auch für autonome Funktionen gelten. So zeigte sich bei PatientInnen mit einem Schlaganfall in der rechten Hemisphäre ein Anstieg sowie eine verminderte Variabilität des Blutdrucks im zirkadianen Verlauf, eine verminderte Herzfrequenzvariabilität [224] und höhere Noradrenalin-Konzentrationen [215] im Vergleich zu linksseitigen Infarkten [173].

Eine besonders wichtige Rolle in der autonomen Kontrolle von kardiovaskulären Funktionen soll die Inselregion spielen. Die Insel ist zuständig für die Integration sensorischer, autonomer und limbischer Funktionen. Zu diesem Zweck steht sie in engem bidirektiona-

lem Kontakt mit vielen wichtigen Kerngebieten. Dazu gehören unter anderem der Hypothalamus, als wichtigstes vegetatives Kontrollorgan, und die Amygdala [49], die emotionale Stimuli mit dem Vegetativum verbindet [173].

Im Tierexperiment zeigte sich, dass die Insel auch Afferenzen aus den verschiedensten viszeralen Organen erhält. Dabei handelt es sich um Inputs aus dem Gastrointestinaltrakt, aus dem Respirationstrakt und aus dem kardiovaskulären System [49]. Die Ablation des rechten hinteren Inselkortex bzw. eine Läsionen in diesem Areal führte im Tierexperiment zu einem erhöhten Sympathikotonus, was sich klinisch durch die Steigerung von Herzfrequenz und Blutdruck äußerte [173]. Läsionen des linken hinteren Inselkortex führten auf der anderen Seite zu einer gesteigerten Sensitivität der Barorezeptoren. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in klinischen Studien. Stimulation der rechten Inselregion im Zuge chirurgischer Interventionen führte zu Tachykardie und Hypertonus, während Stimulation der linken Inselregion eine Bradykardie und einen Hypotonus hervorriefen. Diese Beobachtungen implizieren eine Lateralisation der autonomen Funktionen mit Prädominanz des Sympathikus auf der rechten Hemisphäre und des Parasympathikus auf der linken Hemisphäre. Eine Schädigung des rechten hinteren Inselkortex würde demnach, wahrscheinlich über Disinhibition anderer Zentren (vielleicht anteriorer Teilbereiche der Insel) [15], zu einer Steigerung des Sympathikotonus führen. Diese manifestiert sich in einer exzessiven Catecholamin-Freisetzung im Herzen, welche zu einer metabolischen Entgleisung der Zellen führt und damit cardiotoxisch wirkt [173]. Dadurch wären die nach einem Schlaganfall beobachteten kardialen Komplikationen erklärbar. Zu diesen zählen Rhythmusstörungen sowie das erhöhte Risiko einer schweren kardialen Komplikation (plötzlicher Herztod, Myocardinfarkt, Angina pectoris, Herzinsuffizienz) im ersten Jahr nach dem zerebralen Ereignis. Eine aktuelle Studie an SchlaganfallpatientInnen [173] fand eine signifikante Assoziation zwischen einer Insultlokalisation im Bereich der rechten Insel (und dem rechten inferioren Parietallappen) und erhöhten Troponin-T-Werten, die auf eine myokardiale Schädigung hinweisen. Weiters ist ein Infarkt im Bereich der rechten Insel mit einem erhöhten Risiko verbunden innerhalb der ersten zwei Jahre nach dem Schlaganfall an einem vaskulären Ereignis zu versterben [53] [173]. Dieses erhöhte Mortalitätsrisiko geht vor allem auf Schädigungen des Herzrhythmussystems (verlängerte QT-Zeit, linksseitiger Schenkelblock) zurück [173].

Aber auch wenn die Mehrzahl der bisherigen Studien rechtsseitige Infarkte mit einer gesteigerten Sympathikus-Aktivierung und einem erhöhten kardialen Risiko in Verbindung bringen, gibt es auch einige wenige Studien, in denen ein Insult der linken Hemisphäre mit

einem höheren Risiko für kardiale Komplikationen (kardiale Mortalität, Myocardinfarkt, Angina pectoris, Herzinsuffizienz) assoziiert war [194] [126] [6].

Die Beeinflussung der autonomen Regulation durch einen Schlaganfall hat neben den kardialen Auswirkungen auch Einfluss auf den peripheren Immunstatus. Daher versuchte man, auch immunologische Veränderungen und das postischämische Infektionsrisiko mit der Lokalisation des zerebralen Insults in Verbindung zu bringen. Bisher durchgeführte Studien ergaben aber noch keine einheitlichen Ergebnisse. Eine kleine Studie zeigte zwar eine Assoziation zwischen linksseitigem Insult und einem erhöhten Risiko für Infektionen [111], größeren klinischen Studien zu Folge steht aber nur die Größe des Infarktareals, nicht aber dessen Topographie in Beziehung mit dem Infektionsrisiko [42] [45]. Auch eine jüngere Studie von Koch et al. [116] konnte bei linksseitigen Infarkten im Vgl. zu rechtsseitigen keine signifikant erhöhten CRP- und Leukozyten-Werte als Prädiktoren einer beginnenden Infektion nachweisen.

8 Ansatzpunkte für therapeutische Interventionen

Neben dem Versuch der raschen Rekanalisation durch Fibrinolyse versucht man in der Therapie eines Schlaganfalls, negative prognostische Faktoren so weit als möglich auszuschalten, um damit die Rekonvaleszenz zu optimieren. Zu den Faktoren, die den Verlauf nach einem akuten ischämischen Insult komplizieren, gehören Fieber, Infektionen, arterielle Hypotension sowie die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine [152].

Es hat sich gezeigt, dass 61% der SchlaganfallpatientInnen innerhalb der ersten 3 Tage eine Hyperthermie entwickeln [152]. Aus dem Tiermodell ist bekannt, dass sich eine um über ein Grad erhöhte Temperatur deutlich negativ auswirkt. Zu diesen negativen Effekten der Hyperthermie gehört eine drastisch gesteigerte Sekretion des zytotoxischen Neurotransmitters Glutamat, was mitunter für das signifikant vergrößerte Infarktareal bei Hyperthermie verantwortlich ist. Fieber erwies sich aber nicht nur im Tiermodell als negativer prognostischer Faktor nach einem Schlaganfall, sondern führte auch in klinischen Studien zu einer gesteigerten Mortalitäts- und Morbiditätsrate [152]. Eine symptomatische Therapie mittels Antipyretika zeigte aber keine positive Wirkung, was wahrscheinlich auf die Tatsache zurückzuführen ist, dass die häufigste Ursache des Symptoms „Fieber“ eine zugrunde liegende Infektion darstellt, die durch reine Antipyretikatherapie nicht suffizient behandelbar ist [200].

8.1 Antibiotika-Prophylaxe

Die Antibiotika-Prophylaxe stellt, wie auch die Antipyretika-Gabe, keinen kausalen Therapieansatz dar, denn sie greift nicht in die spezifischen Mechanismen ein, die die immunologische Infektabwehr nach einem Schlaganfall herabsetzen. Aber sie kann die in dieser Situation erleichterte Invasion und Ausbreitung von Pathogenen verhindern.

Der Versuch, mittels prophylaktischer Antibiotika-Gabe das Auftreten von Infektionen zu unterbinden, bevor es noch zu klinischen Symptomen gekommen ist, wird schon lange bei den verschiedensten Krankheitsbildern mit hohem Infektionsrisiko angewandt [200].

Die erste klinische Studie über die prophylaktische Anwendung von Antibiotika nach einem Schlaganfall wurde bereits 1982 durchgeführt. Dabei wurden für 10 Tage Penicillin-G oder Ampicillin verabreicht, ein Erfolg blieb allerdings aus. Die Autoren schlossen daraus,

dass die prophylaktische Gabe eines unspezifischen Antibiotikums ohne vorangegangenen Sensitivitätsnachweis für den spezifischen Erreger nicht von klinischem Nutzen sei [145]. Ein Tierversuch von Meisel et al. [150] im Jahr 2004 mit Moxifloxacin erschien allerdings erfolgversprechend. So ergab sich bei den präventiv mit Moxifloxacin behandelten Mäusen nach experimenteller Okklusion der ACM ein signifikant vermindertes Auftreten von Infektionen. Darüber hinaus zeigten sich auch eine Reduktion der Mortalität und ein verbessertes neurologisches Outcome innerhalb der ersten 14 Tage.

Eine 2005 publizierte klinische Studie von Chamorro et al. [44], bei der während der ersten drei Tage nach dem Auftreten eines akuten Schlaganfalls präventiv Levofloxacin verabreicht wurde, konnte das Ergebnis aus dem Tiermodell allerdings nicht bestätigen. Die Studie wurde nach einer Zwischenanalyse vorzeitig beendet, da sich keine signifikante Senkung der Infektinzidenz, dafür aber ein schlechteres neurologisches Outcome nach 90 Tagen in der mit Levofloxacin behandelten Gruppe zeigte. Auch die Mortalitätsrate nach 90 Tagen war in der Levofloxacin-Gruppe höher als in der Placebogruppe, wenn auch nicht signifikant.

Eine Erklärung für die schlechtere Rekonvaleszenz in der Behandlungsgruppe könnte die potentiell neurotoxische Wirkung des Präparates liefern. Levofloxacin verfügt nämlich über einen hemmenden Effekt auf GABAerge Neurone, während es stimulierend auf die exzitatorischen Effekte von Glutamat wirkt [44]. Diese neurotoxischen Nebenwirkungen des Levofloxacins könnten dafür verantwortlich sein, dass Levofloxacin im Gegensatz zu Moxifloxacin im Tiermodell zu keiner Reduktion der Infektanfälligkeit führt, obwohl beide Präparate derselben Substanzgruppe angehören. Unter Umständen verfügt Moxifloxacin aber auch über ein weiteres Wirkspektrum, das für seine positiven Effekte verantwortlich ist. Neben seiner antibakteriellen Funktion könnte Moxifloxacin auch eine anti-exzitatorische oder eine immunmodulierende Wirkung haben [184].

In einer erst kürzlich publizierten klinischen Studie wurde Moxifloxacin statt Levofloxacin zur präventiven antibakteriellen Therapie nach einem Schlaganfall eingesetzt. Moxifloxacin führte dabei zu einer Reduktion der Infektinzidenz, beeinflusste aber im Gegensatz zum Tiermodell weder die Überlebensrate noch das neurologische Outcome nach 6 Monaten [84].

Nur in einer einzigen klinischen Studie konnte bisher auch eine Besserung des neurologischen Outcomes erzielt werden. In dieser Studie wurde den SchlaganfallpatientInnen über

4 Tage ein Breitbandpenicillin mit einem β -Lactamase-Hemmer (Mezlocillin plus Sulbactam) appliziert [200]. Der Erfolg dieser Studie könnte auf das verwendete Antibiotikum zurückzuführen sein, welches eine hohe Effektivität gegenüber den häufigsten Erregern bei SchlaganfallpatientInnen aufweist. Es könnte aber auch an den strengen Studieneinchlusskriterien liegen, denn im Gegensatz zu vorangegangenen Studien (z.B. Chamorro et al. [44]) wurden in diese Studie nur schwer kranke PatientInnen aufgenommen, die bei der Aufnahme bereits bettlägerig waren. Dieses Procedere, das nur PatientInnen mit hohem Infektionsrisiko einer Antibiotika-Prophylaxe zuführt, scheint demnach das erfolgversprechendste zu sein.

Zusammenfassend scheinen folgende Punkte für den Erfolg der Antibiotika-Prophylaxe in der Klinik von Bedeutung zu sein:

- Gute PatientInnen-Selektion (nur high-risk-PatientInnen)
- Richtiges Antibiotikum
- Suffiziente Form der Applikation

8.2 Kausale Therapieansätze

Zu den kausalen Therapieansätzen gehören all jene, die direkt in die immunologischen Prozesse nach dem akuten ischämischen Insult eingreifen. Dies sind zum einen antiinflammatorische Agenzien, die die sekundäre Exazerbation des ischämischen Gewebeschadens durch die lokale Entzündungsreaktion inhibieren. Zum anderen handelt es sich um Therapeutika, die die postischämische Immundepression, die zum vermehrten Auftreten von Infektionen führt, verhindern sollen. Zu diesem Zweck könnte man in jeden der drei immunsuppressiv-wirkenden efferenten Schenkel des Regelkreises eingreifen. Die neuronal vermittelte Hemmung des peripheren Immunsystems durch den Sympathikus könnte durch die Applikation eines β -Blockers, die des Parasympathikus durch die Applikation eines Parasympatholytikums inhibiert werden. Die humorale Immundepression durch das Cortisol aus der HHNNR-Achse könnte, wie im Tierversuch bereits erprobt, durch Glucocorticoid-Rezeptor-Antagonisten gedämpft werden. Neben diesen Mechanismen besteht auch die Möglichkeit, über die Beeinflussung des Zytokinprofils auf das immunologische Geschehen Einfluss zu nehmen.

8.2.1 Propranolol

Durch die Blockade des Sympathikus mit dem β -Blocker Propranolol konnte im Tiermodell eine erhöhte Infektanfälligkeit nach Ischämie verhindert werden [184] [45] [185]. Zudem führte Propranolol zu einer dramatischen Reduktion der Mortalität [185]. Dies unterstreicht die entscheidende Beteiligung der Sympathikusaktivierung an der Schlaganfall-induzierten Immundepression und zeigt eine neue therapeutische Möglichkeit das Auftreten von Infektionen in der postischämischen Phase einzudämmen.

Bisher gibt es noch keine klinischen Studien, in denen Propranolol zur Prävention von infektiösen Komplikationen nach einem Schlaganfall eingesetzt wurde. Davor bedarf es noch weiterer Forschung, zumal man sich noch nicht über einen potentiell physiologischen Sinn der postischämischen Immundepression im Klaren ist. Sollte der Sinn in einer Protektion gegenüber autoimmunologischen Prozessen (siehe Kapitel: 6 Immundepression als Schutz vor Autoimmunität) liegen, so wäre ein Eingreifen in die immunsupprimierenden Prozesse nach einem Schlaganfall kontraproduktiv.

8.2.2 Zytokine

Bisher versuchte man, mit dem Eingreifen in das Zytokinprofil nach akutem ischämischem Insult ein Überwiegen der anti-inflammatorischen Mediatoren zu erzielen. Dies ist durch Blockade proinflammatorischer Zytokine bzw. durch Administration anti-inflammatorischer Zytokine möglich. Die Hemmung der proinflammatorischen Zytokine kann mittels Rezeptor-Antagonisten oder durch den Einsatz löslicher Rezeptoren erfolgen. Die lokale Entzündungsreaktion im ischämisch geschädigten Gewebe könnte allerdings neben den schädigenden Effekten auch einen Nutzen für den Regenerationsprozess haben. Denn der Entzündungsreiz ist in jedem Gewebe ein Stimulus zur Regeneration, zur Angiogenese und zum „tissue remodeling“. Dieser positive Effekt könnte durch eine anti-inflammatorische Therapie verhindert werden.

Neben der lokalen Entzündungsreaktion kommt es aber, wie oben bereits ausführlich beschrieben, auch zu einer systemischen Reaktion des Immunsystems in Form einer Immundepression. Diese geht mitunter auf eine erhöhte Konzentrationen des anti-inflammatorischen Zytokins IL-10 im peripheren Blut zurück und führt zu einer gesteigerten Inzidenz von Infektionen, die die häufigste Ursache für die Mortalität in der postakuten

Phase nach einem Schlaganfall darstellen. Eine anti-inflammatorische Therapie im Sinne einer Substitution des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 oder der Blockade von proinflammatorischen Zytokinen könnte diese Problematik noch verstärken.

Näheres über die lokale und systemische Wirkung wichtiger immunologischer Mediatoren und die Möglichkeit, auf diesem Gebiet therapeutisch zu intervenieren, findet sich im 2. Teil der Arbeit unter: "Mediatoren des Immunsystems nach ischämischen Insult"

Part II:
Mediatoren des Immunsystems nach
ischämischem Insult

9 Interleukin-10 (IL-10)

9.1 Allgemeines zu IL-10

IL-10 gilt als eines der wichtigsten antiinflammatorischen Zytokine und als wichtiger Regulator zur Aufrechterhaltung der Homöostase im Verlauf eines inflammatorischen Prozesses. Seine Wirkung beschränkt sich aber nicht nur auf immunologische Zellen, sondern umfasst, wie im Folgenden näher erörtert, auch Zellen des ZNS sowie der BHS.

Wirkung von IL-10 auf immunologische Zellen

Seine antiinflammatorischen Effekte erzielt IL-10 zu einem großen Teil über die Hemmung von Antigen-präsentierenden Zellen wie Monozyten, dendritische Zellen und Makrophagen, die alle über einen IL-10-Rezeptor verfügen. Neben der Suppression ihrer Phagozytose-Aktivität hemmt IL-10 auch deren Produktion von pro-inflammatorischen Mediatoren (IL-1, IL-12, TNF- α) und Chemokinen (CCL2 und IL-8) und unterdrückt die Expression von MHC-II-Molekülen und Adhäsionsmolekülen wie CD80 (Co-Stimulations-Signal von Monozyten und B-Zellen bei der Aktivierung von T-Zellen [216]). Dadurch geht ihre Antigen-präsentierende bzw. co-stimulierende Funktion verloren, was in einer verminderten T-Zell-Stimulation resultiert. [80] ([205]; S.543)

Des Weiteren fördert IL-10 die Differenzierung von CD4⁺ T-Zellen zu antiinflammatorischen Th2-Zellen, während es deren Differenzierung zu proinflammatorischen Th1-Zellen inhibiert [72]. Da die nun vermehrt gebildeten Th2-Zellen hauptsächlich IL-10 produzieren, potenziert sich dieser Effekt. Das Überwiegen des antiinflammatorischen Mediatorprofils der Th2-Antwort inhibiert rückwirkend die Th1-Zelldifferenzierung und die Aktivität von Antigen-präsentierenden Zellen (APC). Im Zuge dessen wird auch die durch Antigen-präsentierende-Zellen medierte Aktivierung von Th1-Zellen vermindert und es erfolgt ein Shift der T-Zell-Antwort in Richtung antiinflammatorische Th2-Zellantwort [72].

Darüber hinaus führt IL-10-Exposition zur Generierung eines spezifischen CD4⁺ T-Zellsubtyps, den sogenannten regulatorischen T-Zellen (Tr1-Zellen), welche ein spezifisches Repertoire an Interleukinen produzieren. Tr1-Zellen und deren Mediatoren wirken ebenfalls hemmend auf die pro-inflammatorisch-wirksamen Th1-Zellen [80].

Im Gegensatz zu seiner hemmenden Wirkung auf T-Lymphozyten wirkt IL-10 stimulierend auf die B-Zellpopulation. IL-10 steigert die B-Zell-Proliferation, fördert deren Differenzierung in Plasmazellen und steigert deren Antikörperproduktion. Während IL-10 die MHC-II-Expression auf Monozyten/Makrophagen und dendritischen Zellen hemmt, stimuliert es B-Zellen zur MHC-II-Aufregulierung [80]. Ähnlich stimulierend auf Proliferation und Funktionstüchtigkeit wirkt IL-10 auch auf zytotoxische CD8⁺ T-Zellen und auf Mastzellen [80]. Auf der anderen Seite wirkt IL-10 supprimierend auf Granulozyten, natürliche Killerzellen und Endothelzellen, woraus sich zusammen mit seiner hemmenden Wirkung auf Antigen-präsentierende Zellen eine vorwiegend dämpfende Funktion des IL-10 auf entzündliche Vorgänge ableiten lässt [80].

Wirkung von IL-10 auf Zellen des ZNS

IL-10 hat eine antiapoptotische Wirkung auf Neurone und alle Typen von Gliazellen [216]. Diese Wirkung entfaltet sich durch eine Blockade von proapoptotischen Mediatoren und/oder durch die Aktivierung von intrazellulären „Überlebenssignalwegen“ [170]. Eine Überexpression von IL-10 hat eine Senkung der Konzentration von IL-1 β sowie einen Anstieg von TNF- α im Liquor zur Folge. Dies spricht für eine proapoptotische Wirkung des IL-1 β und für einen antiapoptotischen Effekt des kontroversiell diskutierten TNF- α [170]. Für die Aktivierung von „Überlebenssignalwegen“ ist das Protoonkogen Bcl-2 von entscheidender Bedeutung. IL-10 vermittelt die vermehrte Expression von Bcl-2 und könnte damit durch das Eingreifen in den Apoptose-Pathway einen direkten protektiven Effekt auf das Überleben der Zellen haben [170]. Die antiapoptotische Wirkung von IL-10 soll besonders der Minderung von hippocampalen Schäden dienen, da diese hauptsächlich auf Apoptose zurückzuführen sind.

Verschiedene Experimente sprechen auch dafür, dass IL-10 zu einer Deaktivierung von Astrozyten und Makrophagen-ähnlichen-Zellen im Hirn führt. Da diese Zellen am sekundären Entzündungsprozess im ischämisch geschädigten Hirnareal beteiligt sind, hat deren Hemmung eine neuroprotektive Wirkung [72] [210].

Wirkung von IL-10 auf das Mediatorenprofil und Mikroenvironment

IL-10 wirkt hemmend auf proinflammatorische Zytokine wie IL-1- β , IL-6, IFN- γ , TNF- α und Chemokine wie IL-8 (Chemoattractant für Neutrophile) und CCL2 (Chemoattractant v.a. für Monozyten). Dies geschieht über unterschiedliche Mechanismen. Zum einen ver-

mindert IL-10 die Synthese der oben genannten Mediatoren durch Inaktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B sowie durch Blockade der Gentranskription. Zum anderen wird die Wirkung dieser proinflammatorischen Mediatoren durch Aufregulierung von Antagonisten sowie Suppression der Expression und Aktivität ihrer Rezeptoren abgeschwächt [216] [170] [43].

Von besonderer Bedeutung für die IL-10-vermittelte Immunsuppression scheint die Abregulierung der TNF- α -Produktion durch Monozyten sowie die Abregulierung der INF- γ -Produktion durch Th1-Lymphozyten zu sein [43].

Wirkung von IL-10 auf die Leukozyteninfiltration

IL-10 vermindert die Infiltration von Leukozyten in das ischämisch geschädigte Hirnareal, v.a. von neutrophilen Granulozyten in der Frühphase nach einem Schlaganfall [170]. Dafür sind wahrscheinlich zwei IL-10-abhängige Mechanismen verantwortlich. Zum einen die IL-10-vermittelte Abregulierung des Adhäsionsmoleküls ICAM-1 an Endothelzellen [234], und zum anderen eine Reduktion des Chemokins MIP-1 (CCL3), einem starken Chemoattractant für neutrophile Granulozyten [210].

Wirkung von IL-10 auf die Integrität der Blut-Hirn-Schranke

Durch die IL-10-assoziierte Down-Regulation der Matrix-Metalloproteinasen MMP-2 und MMP-9 (siehe Kapitel: 14 Matrix Metalloproteinasen (MMP)), welche nach einem Schlaganfall maßgeblich am Aufbrechen der Blut-Hirn-Schranke (BHS) beteiligt sind, wirkt IL-10 stabilisierend auf die Integrität der BHS [234]. Auch dadurch wird eine unkontrollierte Infiltration des Hirnparenchyms durch Entzündungszellen reduziert.

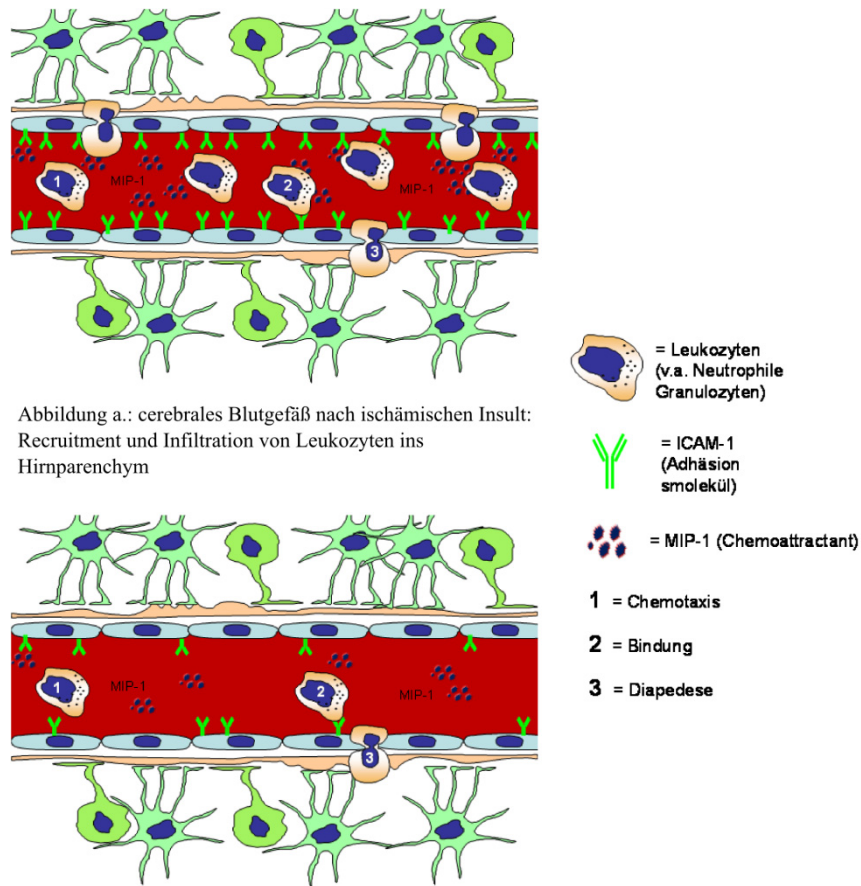


Abbildung 2: Wirkung von IL-10 auf die Leukozyteninfiltration

9.2 Daten aus dem Tiermodell

9.2.1 Zeitliches Profil und Quelle der IL-10-Expression nach zerebraler Ischämie

Messungen der Genexpression von Zytokinen in der Frühphase nach Okklusion der Arteria cerebri media (MCAO), zeigen bereits nach 6 Stunden einen Anstieg der IL-10-Expression in der ischämischen Hemisphäre. Die IL-10-Aufregulierung erfolgt 4 Stunden nach der von TNF- α und IL-1 β , was den Schluss nahe legt, dass die IL-10-Expression durch TNF- α gefördert wird. IL-10 hemmt daraufhin, im Sinne einer negativen Rückkoppelung, die weitere Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und inhibiert somit eine Exazerbation des Entzündungsvorganges [262].

Messungen des IL-10-Serumspiegels von Witt et al. [252] ergaben im Tierexperiment, im Gegensatz zum Großteil der Messungen am Menschen, keine signifikanten Veränderungen. Die IL-10-Konzentration blieb, ebenso wie die von TNF- α , während der ersten 36 Stunden nach Ischämie/Reperfusion auf undetektierbarem Level.

Daher muss man von einer lokalen Produktion des IL-10 im Hirn ausgehen. Als Quelle der IL-10-Produktion wurden im Tierexperiment CD4⁺ Th2-Zellen, CD8⁺T-Zellen, B-Zellen und aktivierte Makrophagen identifiziert [80]. Diese infiltrieren nach dem Insult das ischämische Areal und tragen zur erhöhten zerebralen IL-10-Expression bei. Einer neuen Studie von Verma et al. [233] zur Folge scheinen sich nach Ischämie aber auch zerebrale Endothelzellen an der Zytokinproduktion zu beteiligen und neben proinflammatorischen Mediatoren (IL-1 α , GM-CSF, IL-6 und TNF- α) auch IL-10 zu produzieren.

9.2.2 Hinweise auf protektive Effekte von IL-10

IL-10 reduziert, unabhängig von der zerebralen Durchblutung, die Infarktgröße [170]. Der ischämischen Schädigung nach einem Schlaganfall folgt eine inflammatorische Reaktion, die eine sekundäre Expansion der ischämischen Läsion in den ersten 24 bis 168 Stunden bewirkt. Diese erfolgt unter Einwirkung verschiedener proinflammatorischer Mediatoren, Gewebs-abbauender Enzyme und freier Radikale. IL-10 wirkt gegenregulatorisch abschwächend auf diese inflammatorische Reaktion, scheint aber auch einen direkten protektiven Effekt auf die Vulnerabilität der Zellen zu haben.

Dieser Rückschluss ergibt sich aus Studien unter Zuhilfenahme genetisch manipulierter Tiere. IL-10-knock-out-Mäuse zeigten darin größere Infarktläsionen und eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Exzitotoxizität und kombinierter Sauerstoff-Glukose-Deprivation [79]. Im Gegensatz dazu führte die Applikation von IL-10 im in-vitro-Versuch zu einer konzentrationsabhängigen Prävention des neuronalen Schadens. Dies spricht für eine modulierende Wirkung des IL-10 auf die Vulnerabilität des nervalen Gewebes [79] [234], eine Funktion, die vor allem im Hippocampus von großer Bedeutung zu sein scheint. Höhere Konzentrationen von IL-10 im Hippocampus bewirken eine Reduktion der Nervenzellschädigung im hippocampalen Parenchym [170]. Hierfür könnte die bei IL-10-Applikation beobachtete verminderte DNA-Schädigung verantwortlich sein [170].

Ein weiterer Faktor, durch den IL-10 die Infarktgröße reduziert, ist die verminderte Leukozyteninfiltration. Durch die bereits oben angeführten Mechanismen hemmt IL-10 über geringere Level an Chemokinen und Adhäsionsmolekülen sowie über eine verbesserte BHS-

Integrität das Einwandern von Entzündungszellen in das Ischämiegebiet. Dadurch wird die Entzündungsreaktion abgeschwächt und die damit assoziierte sekundäre Ausbreitung des geschädigten Areals eingedämmt [170] [234].

9.2.3 Therapieoptionen

Im Hinblick auf die oben beschriebenen positiven Effekte des IL-10 im Falle einer zerebralen Ischämie wurden in den letzten Jahren verschiedene therapeutische Möglichkeiten am Tiermodell untersucht, die zu einer Steigerung des IL-10 Spiegels führen.

Sowohl die systemische als auch die intraventrikuläre Applikation von IL-10 führte im Tierversuch zu einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße. Dieser Effekt zeigte sich nicht nur bei prä-ischämischer Applikation, sondern auch bei postischämischer Applikation in einem Zeitraum von 30 min bis 3 Stunden nach Okklusion der ACM [79] [210] [170].

Ein postischämischer IL-10-Gentransfer in die Wand des Seitenventrikels innerhalb der ersten 60-90 min nach Verschluss führte über eine gesteigerte Sekretion von IL-10 in den Liquor ebenfalls zur Reduktion der Infarktgröße. Die Wand des Seitenventrikels ist eine besonders günstige Lokalisation für den Gentransfer, da subependymale Zellen zur Neurogenese befähigt sind. Ein Gen-Transfer ins Zentrum der ischämischen Läsion zeigte im Gegensatz dazu keinen positiven Effekt [170].

Interessanterweise führte auch die subkutane Applikation von G-CSF und SCF (stem-cell-factor) über eine Steigerung der IL-10-Konzentration zur verbesserten Neuroregeneration und sekundär zu einem besseren neurologischen Outcome. Die neuroprotektive Wirkung scheint auf das unter IL-10-Einfluss verbesserte Mikroenvironment rückführbar zu sein und war sowohl bei Applikation in der akuten Phase (Tag 1-10) als auch bei Applikation in der subakuten Phase (Tag 11-20) nachweisbar [158].

Eine weitere hochinteressante Möglichkeit der therapeutischen Immunmodulation funktioniert ähnlich wie eine Impfung und wird als Toleranzinduktion bezeichnet. Zur Toleranzinduktion wird die nasale Mukosa mit MOG (= myelin oligodendrocyte glycoprotein) [72] oder E-Selektin [48] sensibilisiert. Dies bewirkt ein Priming von T-Zellen mit Präferenz zum „Switch“ zur Th2-Zelllinie und zur Th3-Zelllinie. Das Mediatorenprofil von Th2-Zellen (IL4 und IL-10) und Th3-Zellen (TGF- β) wirkt antiinflammatorisch und supprimiert zudem Th1-Zellen und andere proinflammatorische Immunzellen.

Durch Toleranzinduktion aktivierte T-Zellen können die Blut-Hirn-Schranke (BHS) permeieren, wandern ins ZNS ein, werden dort durch lokale Mediatoren supprimiert und ruhen vor Ort. Erst bei Auftreten einer Hirnschädigung, z.B. eines ischämischen Infarkts, werden diese ruhenden T-Zellen durch das „Aufdecken“ der ZNS-spezifischen Antigene und Präsentation dieser, durch lokale Antigen-präsentierende Zellen (Mikroglia) aktiviert. Aktivierung dieser geprägten Th2-Zellen führt zu einer Th2-spezifischen Entzündungsreaktion, deren antiinflammatorische Wirkung vor allem auf einer gesteigerten IL-10-Sekretion basiert [72] [48]. Die Sicherheit dieser Behandlungsmethode ist allerdings noch umstritten, da es im Tierversuch, als Folge der MOG-Toleranzinduktion, zum Auftreten klinischer Zeichen einer milden EAE (experimental autoimmune Encephalitis), dem Pendant der Multiplen Sklerose im Tiermodell, gekommen ist [61].

9.3 Klinische Daten

9.3.1 Serumspiegel und Quelle von IL-10 nach zerebraler Ischämie

IL-10 stellt ein wichtiges antiinflammatorisches Zytokin dar, das im Zuge der postischämischen Entzündungsreaktion von essenzieller Wichtigkeit sein könnte, um das Gleichgewicht zwischen pro- und anti-inflammatorischen Mediatoren aufrecht zu erhalten. Die Ergebnisse bezüglich der IL-10-Serumkonzentration nach einem Schlaganfall sind aber in den verschiedenen klinischen Studien nicht einheitlich.

Einigen Studien zufolge steigt IL-10 nach einem zerebralen Infarkt sowohl im Plasma als auch im Liquor an [234] [79], bei anderen wiederum finden sich verminderte [181] oder gar undetektierbare [252] IL-10-Plasma-Spiegel. Erklärbar wäre die Inkohärenz der IL-10-Konzentrationen in den verschiedenen Studien durch Unterschiede zwischen systemischem und zerebralem Kompartiment [181] sowie durch Genpolymorphismen. Erstere würden nur Unterschiede zwischen den Messungen in Plasma und Liquor erklären. Genetische Polymorphismen könnten aber auch die uneinheitlichen Plasma-Spiegel durch interindividuelle Unterschiede der IL-10-Produktion erklären.

IL-10 Polymorphismen könnten in der Zukunft auch bei der Detektion von Risikopatienten eine Rolle spielen. Eine Studie von van Exel et al. [232] zeigt, dass ein niedriges Grundniveau der IL-10-Plasmakonzentration für akute vaskuläre Syndrome prädisponiert. Dies beinhaltet ein erhöhtes Schlaganfall-Risiko sowie ein höheres Risiko eines tödlichen

Ausganges bei stattgehabtem Insult. Bei solchen RisikopatientInnen könnte eine prophylaktische Behandlung mit rekombinantem IL-10 von Nutzen sein [148] [234].

IL-10 wird beim Menschen von T-Zellen, B-Zellen [80] und von Monozyten bzw. Makrophagen [234] gebildet, wobei letztere eine ganz besonders wichtige IL-10-Quelle darstellen. Aber nicht nur zirkulierende immunologische Zellen [234] tragen nach zerebralem Infarkt zur IL-10-Produktion bei, sondern auch ortsansässige Zellen des Hirnparenchyms. Williams et al. [250] zeigten schon 1996, dass aktivierte Mikrogliazellen im Hirn die lokale Hauptquelle für IL-10 darstellen.

9.3.2 Relevanz als prädiktiver Marker

Die Wertigkeit von IL-10 als prädiktiver Marker für das neurologische Outcome nach einem Schlaganfall ist noch umstritten.

Einigen Studien zufolge stellt IL-10 einen von Hyperthermie, Hyperglykämie und neurologischen Konditionen unabhängigen prognostischen Marker dar [234] [148].

So sind verminderte IL-10-Plasma-Werte nach subkortikalen oder lakunären Infarkten bei Vila et al. [234] mit einem schlechteren neurologischen Outcome nach 48 Stunden assoziiert. Waje-Andreassen et al. [237] konnten auf der anderen Seite keine Korrelation zwischen der IL-10-Konzentration und der Infarktgröße und dem neurologischen Outcome nachweisen, wobei die Wertigkeit dieser Studie aufgrund ihrer geringen Teilnehmerzahl (11 PatientInnen) eher minder einzustufen ist.

Die prognostische Aussagekraft der IL-10-Plasmakonzentration ist demnach beschränkt und bei weitem nicht so signifikant wie die Aussagekraft erhöhter IL-6- und TNF- α -Plasma-Konzentrationen [148].

9.3.3 Hinweise auf schädigende Effekte von IL-10

Während IL-10 lokal offensichtlich protektiv wirkt, scheint eine gesteigerte IL-10-Plasmakonzentration mit einem erhöhten Infektionsrisiko assoziiert zu sein [43]. Dieses Erkenntnis ist konkordant mit der anfangs bereits ausführlich erläuterten Theorie der postischämischen Immundepression, welche mutmaßlich durch das Überwiegen des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 zustande kommt.

10 Interleukin-6 (IL-6)

10.1 Allgemeines zu IL-6

IL-6 ist schon seit langem als proinflammatorisches Zytokin bekannt, jüngere Studien wiesen aber auch einen anti-inflammatorischen Effekt von IL-6 nach. IL-6 gilt daher heute als Zytokin mit sowohl pro- als auch anti-inflammatorischem Wirkspektrum. Welche dieser ambivalenten Wirkungen nun aber die, nach einem Schlaganfall, dominierende ist und von welchen Bedingungen dies abhängt, ist noch nicht eindeutig geklärt und bedarf weiterer Untersuchungen.

Viele Zellen des Körpers sind zur Produktion von IL-6 befähigt, darunter Fibroblasten, Endothelzellen und aktivierte T-Zellen, die Hauptquelle bilden allerdings mononukleäre Zellen. Die IL-6-Produktion erfolgt nach Stimulation durch IL-1 und/oder TNF- α , welche als wichtige regulatorische Zytokine die Freisetzung einer Vielzahl von Mediatoren initiieren ([205]; S540f). IL-1, TNF- α und IL-6 stellen die wichtigsten proinflammatorischen Zytokine dar und teilen sich auch die Mehrzahl ihrer Funktionen. Die meisten der unten angeführten Funktionen von IL-6 gelten daher auch für das IL-1 und den TNF- α .

Wirkung auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse

IL-6 wird auch als Stresszytokin bezeichnet, da es die ACTH-Sekretion aus der Hypophyse fördert und damit zu einer vermehrten Sekretion von Cortisol aus der Nebennierenrinde führt ([205]; S541f). Näheres über die Wirkung von Cortisol auf das Immunsystem findet sich im Kapitel: 3.2.3 Efferenz über die Hypothalamus-Hypophysen-NNR-Achse.

Wirkung auf den Hypothalamus

Im Tierexperiment wurde IL-6 auch als Schlüssel-Regulator der Körpertemperatur identifiziert [190]. Als Reaktion auf IL-6 kommt es im Hypothalamus zu einer Verschiebung des „Sollwertes“ der Körpertemperatur nach oben. Dadurch soll die Ausbreitung einer Infektion verhindert werden, da sich die meisten Pathogene bei höheren Temperaturen nicht so gut vermehren können ([100]; S.383ff). Im Zuge eines Schlaganfalls hat die durch IL-6 induzierte Hyperthermie aber einen schädigenden Effekt auf das Hirnparenchym [190].

Wirkung auf die Leber

IL-6 stimuliert die Hepatozyten zur Bildung von Akute-Phase-Proteinen wie CRP (C-reaktives Protein), Fibrinogen, Serum-Amyloid-A (SAA) und α 2-Makroglobulin [205]. Diese sind in der Lage, Pathogene zu opsonieren und erhöhen somit die Effektivität der Immunabwehr. Das CRP ist darüber hinaus auch zur Aktivierung der Komplementkaskade befähigt. Die Funktionen der Akute-Phase-Proteine sind denen von Immunglobulinen ähnlich, der Unterschied liegt allerdings darin, dass Akute-Phase-Proteine eine viel weitere Bandbreite von Bakterien binden und keine Spezifität für bestimmte pathogene Moleküle aufweisen ([100]; S.383ff). Aufgrund der direkten Wirkung von IL-6 auf die Leber korrelieren erhöhte IL-6-Werte auch immer mit erhöhten CRP- und SAA-Werten im Blut. Die IL-6-induzierte Steigerung der hepatischen Fibrinogenproduktion hat auch einen prokoagulativen Effekt, was wiederum zu Komplikationen führen kann.

Wirkung auf das Knochenmark

IL-6 stimuliert Endothelzellen des Knochenmarks zur Freisetzung von neutrophilen Granulozyten, welche als Phagozyten eine wichtige Rolle in der ersten unspezifischen Immunabwehr eines Pathogens spielen ([100]; S.383ff).

10.2 Daten aus dem Tiermodell

10.2.1 Zeitliches Profil und Quelle der IL-6-Expression nach zerebraler Ischämie

Übereinstimmend mit den klinischen Studien (siehe unten) zeigt sich auch im Tiermodell nach ischämischem Insult ein Anstieg der zerebralen IL-6-Expression [28] [7] [248] [52] sowie des IL-6-Plasma-Spiegels [191] [166]. Nur die Transkription der IL-6-Rezeptoren, IL-6R α und gp130, verändert sich im Tiermodell im Gegensatz zum Menschen nicht [7].

Bezüglich des zeitlichen Profils der IL-6-Expression bzw. der IL-6-Aktivität im Hirnparenchym nach einem Schlaganfall liegen unterschiedliche Ergebnisse vor.

Messungen der IL-6-Bioaktivität durch Loddick et al. [140] im Hirn von Ratten, zeigten bereits 2 Stunden nach MCAO eine erhöhte IL-6-Aktivität in der ischämischen Hemisphäre mit weiterem Anstieg nach 8 Stunden und nach 24 Stunden. Da es innerhalb der ersten 12 Stunden nach MCAO noch zu keiner massiven Infiltration des ischämischen Gewebes durch Immunzellen kommt, sprechen diese Daten für eine intrazerebrale Quelle von IL-6

[140]. Eine moderat gesteigerte Bioaktivität von IL-6 wurde auch in der kontralateralen Hemisphäre gefunden. Grund hierfür könnte eine mechanische Alteration der kontralateralen Hemisphäre durch ödematöse Schwellung und Raumforderung der ischämischen Hemisphäre sein [140].

Auch bei Wang et al. [248] zeigte sich bereits nach 3 Stunden ein signifikanter IL-6-mRNA-Anstieg im ischämischen Gewebe mit einem Peak nach 12 Stunden.

Im Gegensatz dazu kam es bei Block et al. [28] zu einer verzögerten, dafür aber langanhaltenden IL-6-Expression im ischämischen Randgebiet. Am ersten Tag nach dem Infarkt fanden sich in dieser Studie nur einige wenige IL-6-positive Zellen in der Penumbra. Zu einem deutlichen Anstieg kam es erst nach 3 Tagen. Die gesteigerte zerebrale IL-6-Expression hielt in dieser Studie aber im Sinne einer Langzeiterhöhung bis zum 14. Tag an.

Die zerebrale Quelle für das nach einem Schlaganfall im Hirn vermehrt exprimierte IL-6 sind Neurone [190] [140] [2] und Gliazellen [140], wobei man unter den Gliazellen bisher nur bei Astrozyten mit Sicherheit die Fähigkeit zur IL-6-Produktion nachweisen konnte [2]. Block et al. [28] schließen aber aufgrund der Zytomorphologie der IL-6-exprimierenden Zellen im Hirn auch auf eine IL-6-Produktion durch Mikroglia-Zellen.

Des Weiteren sind auch zerebrale Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke zur Sekretion von IL-6 befähigt. Stimuliert wird die Sekretion durch Lipopolysaccharide, welche Bestandteil der bakteriellen Zellmembran sind [233] [192], aber auch durch Hypoxie [192].

Der IL-6-Plasma-Spiegel steigt bereits 6 bis 24 Stunden nach experimentellem Ischämie-/Reperfusionsschaden signifikant an [191]. Zu diesem Anstieg des IL-6 kann sowohl die Ausschwemmung von zerebral gebildetem IL-6 ins periphere Blut als auch eine periphere IL-6-Produktion beitragen. Zerebrale Schädigung induziert auch in peripheren lymphatischen Organen die Produktion von Zytokinen [166]. Bereits 6 Stunden nach MCAO produzieren aktivierte Splenozyten, neben anderen proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen, auch signifikant mehr IL-6 [166].

10.2.2 Hinweise auf schädigende Effekte von IL-6

IL-6 gehört zu den wichtigsten proinflammatorischen Zytokinen und ist in dieser Funktion auch am lokalen Entzündungsprozess beteiligt, welcher auf einen Insult folgt und zur Exazerbation des ischämischen Hirnschadens führt. Transgene Mäuse mit IL-6-

Überexpression weisen demnach nach Ischämie auch schwerere neurologische Schäden auf als Mäuse mit normaler IL-6-Expression [37].

IL-6 führt zudem, wie bereits bei den allgemeinen Effekten angemerkt, zur Hyperthermie, welche eine zusätzliche schädigende Wirkung auf das Hirnparenchym hat. Nachgewiesen wurde dies im Tiermodell durch intracerebroventrikuläre Injektion von rekombinantem IL-6, das zu einem dosisabhängigen Anstieg der Körpertemperatur führte [140] [133]. Dieser trat 4 Stunden nach Applikation auf, erreichte nach 5 Stunden seinen Höhepunkt und normalisiert sich nach ca. 10 Stunden [140].

Die Wirkung des nach MCAO freigesetzten IL-6 auf die Körpertemperatur zeigt sich im Tierversuch als durchaus relevanter Faktor für die Prognose. IL-6-defiziente Mäuse zeigten nach MCAO eine verlängerte Hypothermie, die zu einer deutlich höheren Überlebensrate führte. Bei IL-6-defizienten Mäusen, deren normale Körpertemperatur nach MCAO künstlich aufrechterhalten wurde, verschwand dieser positive Effekt auf die Mortalität [4].

10.2.3 Hinweise auf protektive Effekte von IL-6

IL-6 zeigt in-vitro [253] als auch in-vivo [7] [225] eine Dosis-abhängige protektive Wirkung gegenüber Glutamat-induziertem exzitotoxischem, neuronalem Zelltod. Bei Ali et al. [7] führte die striatale Injektion von NMDA (N-methyl-D-Aspartat), einem spezifischen Agonisten des Glutamat-Rezeptors, zu einer gesteigerten IL-6-mRNA-Expression. IL-6 wird offensichtlich von zerebralen Neuronen gezielt als Reaktion auf Glutamat gebildet, um den Glutamat-induzierten exzitotoxischen Zelltod zu verhindern. Diese neuroprotektive Funktion des IL-6 beschränkt sich aber auf die NMDA-mediierte Toxizität und gilt nicht für die Exzitotoxizität, die von den beiden anderen Subgruppen des Glutamat-Rezeptors (AMPA- und Kainat-Rezeptor) vermittelt wird. Der in dieser Versuchsanordnung erzielte neuroprotektive Effekt konnte durch kompetitive Hemmung von IL-6 rückgängig gemacht werden. IL-6-Blockade führte bei Yamashita et al. [255] sogar zu einem deutlich größeren Infarktareal, einer Steigerung der apoptotischen Zellmasse und einem schlechteren neurologischen Outcome. Konkordant zu diesem Ergebnis zeigen auch IL-6-defiziente Mäuse nicht die zu erwartende verminderte Infarktgröße sondern entweder gleich große oder sogar größere Läsionen [4].

Auch ein in-vivo-Versuch von Loddick et al. [140] spricht für eine neuroprotektive Wirkung von IL-6, denn die intraventrikuläre Applikation von rekombinantem IL-6 nach MCAO führte zu einer drastischen Reduktion des ischämischen Hirnschadens.

Neben dem postulierten Schutz gegenüber Exzitotoxizität könnte IL-6 auch die Sensibilität der Neurone auf Veränderungen des Blutdruckes und des Blutflusses herabsetzen und eine antiapoptotische Wirkung auf Neurone entfalten. Dieser antiapoptotische Effekt könnte intrazellulär über den IL-6-Rezeptor-aktivierten Stat3-Transkriptionsweg vermittelt werden. Denn aktiviertes Stat3 induziert die Expression von Bcl2 und Bcl-xL, zweier wichtiger anti-apoptotischer Faktoren [255].

Krizanac-Bengez et al. [22] beschreiben zudem eine Senkung der Gefäßpermeabilität durch IL-6, was zu einer Reduktion des postischämischen Hirnödems führt.

10.3 Klinische Daten

10.3.1 Serumspiegel und Quelle von IL-6 nach zerebraler Ischämie

Es liegen bereits einige Studien vor, in denen die Serum -Konzentration von IL-6 nach einem akuten Schlaganfall gemessen wurde [208] [1] [68] [69].

Dabei zeigte sich fast durchwegs bereits am ersten Tag nach dem Insult ein Anstieg der IL-6-Konzentration [1] [68] [69]. Bezüglich des weiteren Verlaufs ist die Datenlage aber uneinheitlich. Fassbender et al. [68] zeigten bereits 6 Stunden nach Auftreten der ersten Symptome eine signifikante Erhöhung des IL-6-Serum-Spiegels, welcher die ersten 5 Tage persistierte und erst am 7. Tag wieder auf das Ursprungsniveau zurückkehrte. Ungleich dazu fand sich bei Ferrarese et al. [69] auch 90 Tage nach dem Infarkt noch ein erhöhter IL-6-Serumspiegel, wobei die maximale IL-6-Expression durch periphere Immunzellen auch in dieser Studie um den vierten Tag lag.

Der postischämische Anstieg des IL-6 im Serum könnte aber auch auf eine koexistierende Infektion zurückzuführen sein, denn bei Emsley et al. [64] kam es zu einem Verlust der beobachteten Unterschiede der IL-6-Plasma-Spiegel zwischen SchlaganfallpatientInnen und gesunden Kontrollen, wenn alle PatientInnen mit evidenter Infektion ausgeschlossen wurden.

Aber nicht nur der Serum-Spiegel von IL-6 steigt nach zerebralem Insult an, auch im Liquor kommt es zu einem IL-6-Anstieg, der am 2. und 3. Tag seinen Höhepunkt erreicht [222].

Die Herkunft des nach Ischämie gesteigerten IL-6 ist noch unklar. Entweder wird es aus zirkulierenden und ins Hirn übergetretenen Monozyten freigesetzt, oder es stammt von Zellen des ischämischen Hirnparenchyms, wie es im Tiermodell den Anschein hat [190].

Als lokale Quellen der IL-6-Produktion im Hirn kommen v.a. Astrozyten und Neuronen in Frage (vgl. Tiermodell).

Für die Hypothese, dass die Hauptquelle der IL-6-Produktion im ischämischen Hirn selbst liegt, spricht die positive Korrelation zwischen IL-6-Serumkonzentration und Infarktgröße sowie die Tatsache, dass die IL-6-Konzentration im Liquor höher ist als im Serum [1].

10.3.1.1 Polymorphismen der IL-6-Expression

Die Expression von IL-6 hängt vom Haplotyp des IL-6-Promotors ab [1]. Hiervon gibt es in der Bevölkerung vier Subtypen, zu diesen gehören [1]:

- Subtyp F: Dieser ist der häufigste Subtyp und wirkt protektiv da er mit der geringsten IL-6-Expression vergesellschaftet ist.
- Subtyp B und E: Diese beiden Typen gehen mit einer hohen Expression von IL-6 einher und stellen damit im Falle eines Schlaganfalls ein erhöhtes Risiko dar.

Im normalen, unaktivierten Zustand gibt es keine interindividuellen Unterschiede in der IL-6-Expression, zu diesen kommt es erst nach vorangegangener Stimulation, z. B. durch einen ischämischen Insult [1].

10.3.1.2 Rezeptoren von IL-6

IL-6 hat zwei verschiedene Rezeptoren, den IL-6R und den gp130. Beide Rezeptoren sind nicht nur wandständig, sondern auch in löslicher Form (Präfix s- für soluble) im Serum zu finden:

- sIL-6R: Der sIL-6R wirkt als Agonist und verstärkt den Effekt von IL-6.
- sgp130: Der sgp130 wirkt als Antagonist, das heißt er verhindert die Bindung von IL-6 an einen membranständigen Rezeptor. Dieser antagonisierende Effekt wurde aber bisher nur im in-vitro-Versuch nachgewiesen.

In einer Studie von Acalovschi et al. [1] wurde neben einem signifikanten Anstieg von IL-6 nach ischämischem Insult auch eine transiente Reduktion des sgp130-Serumspiegels festgestellt. Die sIL-6R-Konzentration im Serum blieb unverändert.

Die Abregulierung des sgp130 könnte zu einer Verstärkung der inflammatorischen Reaktion durch IL-6 führen [1]

10.3.2 Hinweise auf schädigende Effekte von IL-6

Erhöhte Serumkonzentrationen von IL-6 nach zerebraler Ischämie sind in den meisten klinischen Studien mit einer Entzündungsreaktion assoziiert, die sich in einem Anstieg der

„akute Phase Proteine“ wie CRP und einem Anstieg der Körpertemperatur manifestiert [255]. Zudem korrelieren erhöhte IL-6-Serumspiegel in einigen Studien mit größeren Infarktarealen und einem schlechteren neurologischen Outcome [255]. Daher wird IL-6 auch als möglicher Marker zur Abschätzung der Schwere des Infarkts und der Prognose bzgl. der Mortalität und der neurologischen Rehabilitation in Betracht gezogen (siehe unten).

10.3.2.1 Relevanz von IL-6 als prädiktiver Marker

Als mögliche Marker der frühen Mortalität (in-hospital-Mortalität) nach einem Schlaganfall wurden bisher vor allem IL-6, CRP und SAA (Serum-Amyloid-A) untersucht.

Messungen dieser Parameter 12 Stunden nach Infarkt bei Rallidis et al. [190] zeigten, dass sich IL-6 davon am besten als prädiktive Marker für die postischämische Krankenhaussterblichkeit eignet. Als PatientInnen mit besonders hohem Risiko ließen sich mit einer Sensitivität von 85% und einer Spezifität von 93% jene mit Serumwerten über 13µg/ml identifizieren.

Auch in anderen Studien wurde ein erhöhter IL-6-Serumspiegel als wichtiger Marker für ein schlechteres klinisches Outcome nach 3 Monaten [207] bzw. nach einem Jahr [237] bestätigt und eine positive Korrelation mit der Schwere und der Größe des Infarkts nachgewiesen [207] [148] [237].

Dasselbe gilt laut Smith et al. [207] mit geringerer Signifikanz auch für das CRP und die Leukozytenzahl.

10.3.3 Hinweise auf protektive Effekte von IL-6

Im Gegensatz zu der Vielzahl an Tierexperimenten und in-vitro-Versuchen, die auf eine neuroprotektive Potenz des IL-6 hinweisen, gibt es bisher nur wenige klinische Daten, die für einen protektiven Effekt des IL-6 bei SchlaganfallpatientInnen sprechen.

Dazu gehört eine klinische Studie von Sotgiu et al. [209] mit 50 PatientInnen, in der Marker im peripheren Blut nach Insult evaluiert wurden. Dabei zeigte die IL-6-Konzentration eine inverse Korrelation mit der Schwere des Infarkts. Das bedeutet höhere IL-6-Serumkonzentrationen waren mit einer geringeren Infarktgröße und einem besseren neurologischen Outcome assoziiert und umgekehrt.

Auch in der Diabetes-Literatur wird dem IL-6 ein eher anti-inflammatorischer Effekt zugeschrieben, der einen suppressiven Effekt auf TNF- α ausüben soll [209]. IL-6 ist zudem in der Lage, die Synthese von IL-1 zu inhibieren und die Produktion eines endogenen IL-1-

Rezeptor-Antagonisten zu stimulieren. IL-1 gehört neben TNF- α zu den wichtigsten proinflammatorischen Zytokinen, gilt als neurotoxisch und führt nach zerebralem Infarkt zu einer Exazerbation des ischämischen Hirnschadens [140].

Über diese Wirkung, als „Regulator“ der wichtigen proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-1 könnte IL-6 stärker anti-inflammatorisch und neurotroph als proinflammatorisch und neurodestruktiv wirken [209].

11 Interleukin-17 (IL-17)

11.1 Allgemeines zu IL-17

IL-17 ist ein Wachstumsfaktor, der aus aktivierten CD4-pos. T-Zellen freigesetzt wird. Lange hielt man IL-17 für ein T-Zell-spezifisches Zytokin. Erst in letzter Zeit zeigte sich, dass auch andere Zellen zur IL-17-Produktion befähigt sind (siehe unten).

IL-17 induziert Stromazellen wie Epithelzellen, Endothelzellen und Fibroblasten zur Produktion von proinflammatorischen Mediatoren wie IL-6, PGE2 und IL-8 [135] [121]. Letzteres stellt einen Chemoattractant für neutrophile Granulozyten dar. Da IL-17 auch die Aufregulierung von endothelialen Adhäsionsmolekülen stimuliert, erleichtert IL-17 zudem den Übertritt der chemotaktisch angelockten Entzündungszellen ins Hirnparenchym.

Neutrophile sind die ersten Immunzellen, die nach einem Schlaganfall reagieren und ins ZNS einwandern. Dies geschieht bereits am ersten postischämischen Tag und erreicht am 2. und 3. Tag sein Maximum. Bei permanentem Gefäßverschluss ist die Neutrophilen-Infiltration nur moderat, kommt es aber zur Reperfusion kann sie dermaßen ausgeprägt sein, dass sie zu einem sogenannten „no-reflow“-Phänomen führt. Das bedeutet, dass die Kapillarlumina, auf Grund der massiven Akkumulation von Neutrophilen verstopfen und die Reperfusion somit verhindert wird [159].

Zudem produzieren die infiltrierenden neutrophilen Granulozyten Sauerstoff-Radikale, proinflammatorische Zytokine und zytolytische Enzyme, die zu einer chemischen Destruktion des ischämisch geschädigten Gewebes führen [135] [121]. IL-17 stimuliert aber nicht nur die Chemotaxis und Migration von Neutrophilen, sondern induziert über eine gesteigerte Freisetzung von G-CSF (Granulozyten-colony-stimulating-factor) auch deren Bildung [135] [121].

11.2 Daten aus dem Tiermodell

11.2.1 Zeitliches Profil und Quelle der IL-17-Expression nach zerebraler Ischämie

Die meisten Studien bzgl. der Funktion von IL-17 im Zusammenhang mit zerebraler Ischämie konzentrieren sich auf das Tiermodell. Bei diesen kommt es bereits eine Stunde

nach Insult zu einem Anstieg der IL-17-Expression in der ischämischen Läsion. Maximale Konzentrationen fanden sich allerdings erst nach 6 Tagen, wobei die IL-17-Expression nicht nur in der ischämischen Hemisphäre aufreguliert wurde, sondern in geringerem Ausmaß auch in der kontralateralen nicht-ischämischen Hemisphäre [135].

Als Quelle des nach Ischämie erhöhten IL-17 wurden lange Zeit T-Zellen angenommen, die im Zuge der Reperfusion und des postischämischen Entzündungsgeschehens vermehrt einwandern. Diese Theorie wird allerdings durch eine jüngere Studie von Li et al. [135] in Frage gestellt. Mit Hilfe der Immunhistochemie konnte nachgewiesen werden, dass auch Astrozyten IL-17 produzieren. Da der IL-17-Peak erst am 6. Tag erreicht wird, wenn das ischämische Gewebe bereits gänzlich von der Blutzufuhr abgeschnitten ist und keine zusätzliche T-Zell-Infiltration mehr stattfindet, geht man heute davon aus, dass Gliazellen sogar die Hauptquelle des zerebral erhöhten IL-17 darstellen [135].

Ein ischämischer Insult induziert aber auch peripher in mononukleären Zellen des Blutes, der Milz und der Lymphknoten eine gesteigerte IL-17-Produktion [136].

IL-17 gehört zu den proinflammatorischen Zytokinen. Daher könnte eine Blockade von IL-17 die Entzündungsreaktion und somit den ischämischen Hirn-Schaden mindern. Da es aber auf diesem Gebiet noch kaum Untersuchungen gibt, bleibt dies reine Spekulation. Es sollten daher weiterführende Untersuchungen mit Anti-IL-17-Antikörpern im Tierexperiment durchgeführt werden.

11.3 Klinische Daten

11.3.1 Zeitliches Profil und Quelle der IL-17-Expression nach zerebraler Ischämie

Wie bereits im Tiermodell beschrieben, zeigt sich auch beim Menschen als Reaktion auf zerebrale Ischämie ein Anstieg der IL-17-Expression im Hirn. Diese erfolgt ebenfalls bilateral, aber mit Betonung der ischämischen Hemisphäre [135].

Der Peak der IL-17-mRNA-Expression im ischämischen Hirn-Gewebe liegt beim Menschen zwischen dem 3. und 5. Tag und somit früher als im Tiermodell [135].

Aber nicht nur im lokalen Parenchym sondern auch in peripheren, zirkulierenden Monozyten zeigt sich wie im Tiermodell eine erhöhte IL-17-Expression als Reaktion auf den Schlaganfall [121].

11.3.2 Wirkung und Funktion von IL-17 nach zerebraler Ischämie

Was die Wirkung und Funktion von IL-17 im Zuge eines ischämischen Insults betrifft, gibt es bisher nur sehr wenige Daten. Die Ergebnisse von Li et al. [135] sprechen aber für eine Beteiligung des IL-17 an der postischämischen Entzündungsreaktion und damit an der Progression des ischämischen Hirnschadens.

12 Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α)

12.1 Allgemeines zu TNF- α

TNF- α gehört neben dem IL-1 zu den wichtigsten proinflammatorischen Zytokinen und spielt als primärer Aktivator der postischämischen Immunreaktion auch beim Schlaganfall eine essenzielle Rolle.

TNF wird von aktivierten Makrophagen als Reaktion auf Pathogene oder nach Kontakt mit geschädigtem Gewebe gebildet und ist hauptverantwortlich für die darauf folgende Entzündungsreaktion. Ausschlaggebend hierfür ist die Potenz des TNF, andere Zellen zur Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1, HMGB1 (high mobility group B1) und anderen Mediatoren wie Eicosanoiden, Stickstoffmonoxid und reaktiven Sauerstoffradikalen zu aktivieren, welche die Entzündungsreaktion weiter unterhalten [226]. Neben der Tatsache, dass TNF- α die Sekretion von IL-1 stimuliert und damit die proinflammatorische Kaskade initiiert, teilen sich diese beiden Zytokine auch den Großteil ihrer Wirkungen. Die meisten der unten angeführten Wirkungen des TNFs gelten also auch für das IL-1, auch wenn dieses hier nicht extra besprochen wird ([100]; S.383ff).

Wirkung auf das Endothel

Die Wirkung von TNF auf das Endothel umfasst sowohl die Expression von Adhäsionsmolekülen, die Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke, die Beeinflussung der Gerinnung, als auch die Angiogenese [240] [94] [229] [229].

TNF-Exposition bedingt eine erhöhte Permeabilität des Endothels sowie eine Aufregulierung von Adhäsionsmolekülen, was zu einer vermehrten Infiltration von Lymphozyten und Monozyten ins Hirngewebe führt.

Zusätzlich scheint TNF das Endothel in einen prothrombotischen Zustand zu überführen. Dies erfolgt durch Induktion einer tissue-factor-ähnlichen Aktivität der Endothelzellen, wie dies in-vitro an einer humanen Endothel-Zellkultur nachgewiesen wurde. Weiters bedingt TNF die Suppression des antikoagulativen Systems durch Hemmung des Protein-C, Reduktion des tissue-Plasminogen-Aktivators sowie über die gesteigerte Synthese von PAI-1 (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1) [229].

In geringen Konzentrationen kann TNF auch die Angiogenese stimulieren, was unter Umständen essenziell für das Überleben des nicht unmittelbar geschädigten Gewebes im

Umfeld des Infarkts ist. In hohen Konzentrationen bewirkt TNF allerdings das Gegenteil und inhibiert die Angiogeneese [240] [94].

Wirkung auf Astrozyten und Mikroglia

Sowohl Astrozyten als auch Mikrogliazellen sind in der Lage, TNF zu sezernieren, welcher wiederum autokrin aktivierend und proliferationsfördernd auf die Gliazellen wirkt [240] [94]. Die in in-vitro- sowie auch in-vivo-Studien nachgewiesene proliferationsfördernde Wirkung von TNF auf Astrozyten bringt sowohl positive als auch negative Aspekte mit sich. Auf der einen Seite könnte die Astroglieose der Wundheilung nach ZNS-Verletzungen dienen, auf der anderen Seite verhindert sie durch Narbenbildung die axonale Remyelinisierung und Regeneration. Dadurch wird eine funktionelle Restitution z.B. nach Rückenmarksverletzungen unmöglich.

Wirkung auf Oligodendrozyten

TNF hat eine schädigende Wirkung auf Oligodendrozyten. Dies konnte sowohl im Tierexperiment als auch in-vitro nachgewiesen werden. Der Grad der Toxizität variiert allerdings unter den verschiedenen TNF-Subtypen und ist für TNF- β stärker ausgeprägt als für TNF- α [240].

12.1.1 TNF-Rezeptoren

Die oben beschriebenen Wirkungen des TNF- α auf die verschiedenen körpereigenen Zellen erfolgen über Aktivierung seiner spezifischen Rezeptoren auf diesen Zellen. Es gibt zwei Typen von TNF-Rezeptoren, den p55-Rezeptor (TNFR1) und den p75-Rezeptor (TNFR2), namensgebend ist die Masse der den Rezeptor bildenden Proteinstruktur mit ihren 55kD bzw. 75kD. Der Struktur nach handelt es sich bei beiden Rezeptoren um ein transmembranöses Glycoprotein mit homologer extrazellulärer Domäne. Unterschiede finden sich nur im intrazellulär liegenden Part des Rezeptors. Dieser Unterschied ist aber von höchster Relevanz, da nur der p55-Rezeptor (TNFR1) an seiner intrazellulären Domäne ein Segment namens „death domain“ (DD) enthält, welches für die Initiierung der Apoptose verantwortlich ist. Die Mehrzahl der TNF-spezifischen Bioaktivitäten wird vom p55-Rezeptor vermittelt, dazu gehören die Zytotoxizität, die Freisetzung von Arachidonsäure aus der Zellmembran sowie die Modulation der Genexpression [240] [175].

Die Aktivierung des TNFR1 führt zum Recruitment von verschiedenen Rezeptor-assoziierten-Proteinen. Die Zelle kann entsprechend der aktivierten zytoplasmatischen Domäne auf verschiedene Weise reagieren. Die Reaktionsbreite reicht von der Aktivierung der Caspase-8, die zur Apoptose führt, bis hin zur Induktion von „cell survival genes“ über den TRAF2 Signalweg [175].

Der TNFR1 hat drei zytoplasmatische Domänen [175]:

- TRID = „TNFR1 internalization domain“: Die Aktivierung der TRID führt über Rezeptorinternalisierung zur Initiation der Apoptose.
- NSD = „neutral sphingomyelinase domain“: Die NSD ist verantwortlich für die Bildung von Ceramiden. Dies geschieht durch Spaltung von Sphingolipiden der Zellmembran mittels einer spezifischen Phospholipase namens Sphingomyelinase. Ceramide wiederum aktivieren Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B und mitogen activated protein (MAP)-Kinase, welche die Synthese von proinflammatorischen Zytokinen vermitteln [240] [175].

Des Weiteren kann durch die NSD die Caspase-3 aktiviert werden, welche zur Apoptose führt [175].

- DD = „death domain“: Bei Aktivierung der DD können zwei unterschiedliche Wege der intrazellulären Signalübermittlung in Gang gesetzt werden, diese erfolgen entweder über die Aktivierung der FADD oder des TRAF2.
 - FADD (Fas-Associated protein with Death Domain) bindet die Procaspase-8 und initiiert damit eine Procaspasen-Caspasen-Kaskade (Caspase-8 \rightarrow Caspase-3), die mit der Freisetzung von Caspase-3 endet, welche zum apoptotischen Zelltod führt [175].
 - TRAF2 = TNF receptor-associated factor 2: Dieses Protein bildet mit IAP (= „inhibitor-of-apoptosis proteins“) einen Komplex, der zur Aktivierung der proinflammatorischen MAPK8/JNK- und NF- κ B-Pathways führt und antiapoptotisch wirkt. Diese antiapoptotische Wirkung wird durch eine direkte Hemmung der Caspasen-Aktivierung erzielt [175].

12.2 Daten aus dem Tiermodell

12.2.1 Zeitliches Profil der TNF- α -Expression nach zerebraler Ischämie

Während der embryonalen Wachstums- und Entwicklungsphase zeigt sich bei Mäusen eine hohe Expression von TNF- α sowohl im Hirngewebe als auch im Rückenmark und in den peripheren Nerven. Bei gesunden ausgewachsenen Tieren wird die TNF- α -Expression im ZNS zwar nicht ganz eingestellt, erfolgt aber nur mehr auf sehr niedrigem Niveau [240]. Dies ändert sich bei nahezu jeder Form der ZNS-Schädigung wie Verletzungen, Infektionen, degenerativen ZNS-Erkrankungen sowie Ischämie [240].

Innerhalb weniger Stunden nach einem zerebralen Insult kommt es zu einer massiven Auf-Regulation der TNF- α -Produktion, ebenso wie dies auch für IL-6 und IL-1 bekannt ist [94] [78] [127] [125] [229] [198].

Dieser gemeinsamen Auf-Regulation liegt wahrscheinlich ein gemeinsamer Signalweg zugrunde, der durch Ischämie stimuliert wird. Einer dieser gemeinsamen Transkriptionsfaktoren ist NF- κ B [94].

Bezüglich des zeitlichen Profils der TNF- α -Expression zeigen sich Unterschiede zwischen globaler und fokaler Ischämie. Bei globaler Ischämie kommt es im Mäusemodell nach einem akuten Anstieg zu einem vorübergehenden Absinken der TNF-Expression im Hirn, bis diese nach ca. 3 Tagen erneut ansteigt. Im Gegensatz dazu bleibt die TNF- α -Expression nach fokaler Ischämie für einige Tage konstant erhöht [240].

Aber nicht nur die Produktion von TNF wird nach zerebraler Ischämie aufreguliert sondern auch die Expression seiner Rezeptoren. Untersuchungen der TNF-Rezeptor-Expression ergaben, dass es nach permanenter Okklusion der ACM bereits nach 6 Stunden zur Aufregulierung von TNFR1 kommt, gefolgt von einer TNFR2-Aufregulierung nach 24 Stunden [175].

12.2.2 Quelle der TNF- α -Produktion nach zerebraler Ischämie

Nach einem akuten ischämischen Insult kommt es sowohl zentral als auch peripher zur Produktion von TNF- α [175]. Zentral geschieht dies durch Neurone, Astrozyten, Mikroglia

lia/Makrophagen, Zellen des choroidalen Plexus, Endothelzellen sowie durch infiltrierende Leukozyten (v.a. neutrophile Granulozyten) [175] [138] [17] [78].

Mikroglia/Makrophagen stellen nach Lambertsen et al. [125] und Gregersen et al. [78] die zerebrale Hauptquelle der postischämischen TNF-Produktion dar, welche in den ersten 12-24 Stunden am höchsten ist [125]. Als zweite wichtige TNF-Quelle gelten die nach zerebralem Insult ins Hirngewebe infiltrierenden Leukozyten [124].

Darüber hinaus findet sich, übereinstimmend mit den Beobachtungen aus klinischen Studien, aber auch eine periphere Produktion von TNF- α [175].

So wurde 6 und 22 Stunden nach MCAO die Sekretion von TNF- α und anderen Zytokinen aus aktivierten Splenozyten nachgewiesen [166]. Dies entspricht der Theorie der bilateralen Kommunikation zwischen ZNS und peripherem Immunsystem, welche besagt, dass ZNS-Schädigung eine Zytokin-Produktion in peripheren immunologischen Organen bedingt, welche wiederum die Pathophysiologie des ZNS-Schadens beeinflusst.

12.2.2.1 Transport von TNF- α über die BHS

Die nach einem zerebralen Insult erhöhte Konzentration von TNF im Hirngewebe geht neben dessen zentraler Produktion auch auf die vermehrte Einschwemmung von TNF aus dem Blut zurück. Diese erfolgt zum einen durch die direkte Schädigung der Blut-Hirn-Schranke und zum anderen durch einen gesteigerten aktiven Transport von TNF- α über die BHS. Dazu dienen Rezeptor-medierte, saturierende Transport-Systeme sowie die Generierung von sekundären Signalen, die die Permeation erleichtern [175].

Die Aktivierung dieser Transportsysteme für TNF- α erfolgt bilateral, also der Neuroplastizität Rechnung tragend auch auf der nicht-ischämischen Hemisphäre [175].

12.2.3 Wirkung von TNF- α nach akutem ischämischen Insult

Die Wirkung von TNF- α nach einem akuten ischämischen Insult wird in der Literatur kontroversiell diskutiert. Neben Studien, die eindeutig neurotoxische Effekte durch TNF- α nachgewiesen haben gibt es auch Untersuchungen, in denen die Antagonisierung von TNF- α zu einer Exazerbation des postischämischen Hirnschadens führt [4].

12.2.3.1 Hinweise auf schädigende Effekte von TNF- α

Zur Neutralisierung des Effekts von TNF- α können Anti-TNF- α -Antikörper oder TNF- α -bindende Proteine verwendet werden. Letztere sind lösliche Proteine, die durch Abspal-

tung der extrazellulären Bindungsdomäne des TNF- α -Rezeptors entstehen und im Sinne einer negativen Rückkoppelung vom Körper als endogene Inhibitoren gebildet werden [4]. Verschiedene Studien, bei denen entweder TNF- α -Antikörper oder TNF- α -bindende Proteine appliziert wurden, zeigen eine Abschwächung der postischämischen inflammatorischen Reaktion und einen verminderten neuronalen Schaden [4].

Übereinstimmend mit diesen Daten zeigten auch TNF- α -defiziente Mäuse eine signifikante Reduktion des Infarktolumens, während die Applikation von TNF- α bei diesen Mäusen zu einer Exazerbation der Infarktgröße führte [4].

12.2.3.2 Hinweise auf protektive Effekte von TNF- α

Als Beispiel der widersprüchlichen Ergebnisse bezüglich der TNF- α -Wirkung sei ein Versuch mit transgenen Mäusen angeführt, die zwar, im Unterschied zu den oben erwähnten Versuchen, TNF- α exprimierten, nicht aber seine Rezeptoren p55R und p75R [33]. In diesem Fall erwies sich die Rezeptor-Deletion als ein schädigender Faktor, der nach transientser Okklusion der Arteria cerebri media (tMCAO) zu einem größeren Infarktschaden führte. Ob dieser Effekt durch das Fehlen des TNFR1 oder des TNFR2 zustande kam, ging aus dieser Untersuchung allerdings nicht hervor und ist bis heute nicht geklärt, denn die Ergebnisse der verschiedenen Studien zu diesem Thema sind uneinheitlich.

Bei Adibhatla et al. [4] und Gary et al. [74] zeigten TNFR1-defiziente Mäuse, nicht aber TNFR2-defiziente Mäuse, eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Ischämie. Dies würde für eine neuroprotektive Wirkung des TNFR1 sprechen.

Dem widersprechend heißt es bei Marchetti et al. [146], dass der p55R (TNFR1) für die Vermittlung der neurodegenerativen Prozesse verantwortlich ist, während der p75R (TNFR2) die neuroprotektiven Effekte des TNF- α vermittelt. Marchetti et al. machten den TNF-Rezeptor-induzierten NF- κ B-Anstieg für die neuroprotektiven Effekte des TNFR2 verantwortlich. Obwohl sowohl TNFR1 als auch TNFR2 ihre Wirkung über dieselbe intrazelluläre Signaltransduktionskaskade, unter Aktivierung von NF- κ B, entfalten, gibt es wirkungsrelevante Unterschiede in der Dauer des NF- κ B-Anstieges.

Die neuroprotektive Wirkung des TNFR2 soll demnach durch eine PI3K- (Phosphatidylinositol-3-Kinase) abhängige langanhaltende NF- κ B-Aktivierung erfolgen, die die Sensibilität der Zellen auf Glutamat herabsetzt. Im Gegensatz dazu führt die Aktivierung von

TNFR1 laut Marchetti et al. nur zu einem kurzanhaltenden Anstieg von NF- κ B, was die exzitotoxischen Wirkung von Glutamat nicht abzuschwächen vermag [146].

Eine erst unlängst publizierte Studie von Lambertsen et al. [124] zeigte im Gegensatz zu den oben (unter 12.2.3.1 Hinweise auf schädigende Effekte von TNF- α) zitierten Studien auch bei TNF-defizienten Mäusen eine Exazerbation der Infarktgröße und des neurologischen Defizits. Die sich daraus ableitende neuroprotektive Wirkung des TNFs wurde allerdings wiederum vom p55R (TNFR1) vermittelt und scheint über eine supportive Wirkung auf Mikrogliazellen und eine gesteigerte Expression von TLR2 (Toll-like receptor 2) vermittelt zu werden [124]. Diese Erkenntnisse sind konkordant mit den Hinweisen auf eine neuroprotektive Wirkung der Mikrogliazellen nach ischämischem Insult, welche über noch nicht identifizierte Wege das Überleben der geschädigten umliegenden Neurone fördern [87]. Zu diesen neuroprotektiven Mechanismen scheint Lambertsen et al. [124] zufolge auch eine frühe TNF-Sekretion von Mikrogliazellen zu gehören.

Diese widersprüchlichen Daten zeigen, dass die Effekte und Wirkungen von TNF- α und seiner Rezeptoren nach akutem ischämischem Insult noch nicht geklärt sind.

12.2.3.3 Therapieoptionen

Eine der vielversprechendsten Therapieoptionen im Zusammenhang mit TNF- α ist das Gebiet der Präkonditionierung. Im Tiermodell reduzierte die Applikation kleiner Mengen von TNF- α den postischämischen Hirnschaden bei nachfolgendem Infarkt signifikant [175]. Geringe Dosen von TNF- α scheinen demnach eine zytoprotektive Wirkung im Sinne einer Präkonditionierung der neuronalen Antwort auf ischämischen Insult zu haben.

Ein gutes Beispiel für den Effekt der Präkonditionierung ist ein Tierversuch von Nawashiro et al. [163], bei dem die Vorbehandlung mit intrazisternal appliziertem TNF- α zu einer verminderten Infarktgröße führte. Dieser Effekt ist allerdings vom Zeitpunkt der nachfolgenden Ischämie abhängig.

Erfolgt diese 48 Stunden nach TNF- α -Applikation, so führt dies zu einer erhöhten ischämischen Toleranz mit verminderter Hirngewebsschädigung [163]. Erfolgt der ischämische Insult allerdings schon nach 24 Stunden, so kommt es zu einer dramatischen Aggravierung des ischämischen Schadens [17], ähnlich dem Effekt einer TNF- α -Applikation zum Zeitpunkt der MCAO. Dies impliziert, dass der protektive Effekt der TNF-Vorbehandlung wahrscheinlich durch eine Veränderung der Genexpression zustande kommt, die einen

Zeitraum von ca. 48 Stunden benötigt [4]. Diese Veränderung der Genexpression könnte die Expression von TNF-Rezeptoren betreffen, die im in-vitro-Versuch nach Präkonditionierung abreguliert war [175]. Dadurch wäre die Übermittlung der proinflammatorischen, neurotoxischen Wirkung des TNF auf die Zellen nicht mehr in dem Ausmaß möglich.

Weiters könnte durch TNF- α -Präkonditionierung auch die TNF- α -induzierte Infiltration des ischämischen Gewebes durch Leukozyten beeinflusst werden. So zeigt sich bei Nawashiro et al. [163] in dem soeben beschriebenen Versuch ein mit TNF- α -Präkonditionierung korrelierender Abfall der Mac-1 (CD11b/ CD18) Expression in der ischämischen Hemisphäre. Mac-1 ist ein Integrin, das von Neutrophilen, aber auch von Monozyten/Makrophagen und Mikrogliazellen exprimiert wird. Eine verminderte Expression von Mac-1 ist demnach Ausdruck einer reduzierten Infiltration des Hirngewebes durch Leukozyten und einer verminderten Aktivierung der ortsansässigen Mikroglia. Ein weiterer Faktor, der für die verminderte Leukozyteninfiltration nach Präkonditionierung mitverantwortlich sein könnte, ist die Hemmung der NF- κ B-medierte Signaltransduktion in den zerebralen Endothelzellen. NF- κ B führt nämlich unter anderem zur vermehrten Expression von ICAM-1, dem Gegenrezeptor der durch Leukozyten exprimierten Integrine, zu denen Mac-1 gehört [163]. (siehe Kapitel: 16 Zelladhäsionsmoleküle)

Versuche, durch Präkonditionierung den postischämischen Hirnschaden zu reduzieren, wurden bereits mit verschiedenen Agenzien, darunter LPS (Lipopolysaccharid), TLR4-Liganden und TLR9-Liganden, erfolgreich durchgeführt. Die in diesen Versuchen nachgewiesene Neuroprotektion war immer mit einem Anstieg von TNF- α assoziiert. Dieser TNF- α -Anstieg scheint demnach den entscheidenden pathophysiologischen Mechanismus der Präkonditionierung darzustellen. Dieser Zusammenhang wurde bei Stevens et al. [213] näher untersucht. Die in dieser Studie durchgeführte Präkonditionierung mittels TLR-9-Liganden reduzierte den ischämischen Hirnschaden um bis zu 60% und wurde, wie erwartet, von einem TNF- α -Anstieg begleitet. Dasselbe Präkonditionierungs-Prozedere bei genmanipulierten TNF-defizienten Mäusen zeigte im Gegensatz dazu keine erhöhte Ischämietoleranz. Dies zeigt, welche essenzielle Rolle TNF- α in diesem Prozess spielt.

12.2.3.4 Zusammenfassung der ambivalenten TNF- α -Wirkungen

Die bisherigen Ergebnisse zusammenfassend scheint TNF- α sowohl neurotoxisch als auch neuroprotektiv wirken zu können: Dies hängt offensichtlich vom quantitativen Ausmaß sowie vom Zeitpunkt seiner Expression ab. Während eine frühe massiv gesteigerte TNF- α

-Expression im ischämisch geschädigten Hirn noch zusätzlich schädigend wirkt, könnten geringere Konzentrationen von TNF- α zu einem späteren Zeitpunkt die neurologische Regeneration unterstützen, wie dies bei Scherbel et al. [199] für ZNS-Verletzungen bereits nachgewiesen wurde. TNF- α -defiziente Mäuse zeigten in dieser Studie zwar sieben Tage nach der Verletzung geringere neurologische Defizite, nach zwei bis drei Wochen stellte sich aber heraus, dass diese Mäuse im Genesungsprozess schlechter abschnitten und bei einer Überprüfung des neurologischen Outcomes nach vier Wochen ausgeprägtere Defizite aufwiesen als der Wildtyp mit normaler TNF- α -Produktion. Ob dieses Phänomen auch auf einen ischämischen Hirnschaden zutrifft, kann aufgrund der mangelnden Untersuchungen auf diesem Gebiet noch nicht gesagt werden [4].

12.3 Klinische Daten

12.3.1 Serumspiegel von TNF- α nach zerebraler Ischämie

Der Großteil der klinischen Studien zeigt auch beim Menschen einen Anstieg der TNF-Konzentration nach einem Schlaganfall. TNF- α ist nach zerebralem Insult (1 Tag, 1 und 2 Wochen) sowohl im peripheren Blut als auch im Liquor erhöht, wobei die Höhe des TNF-Spiegels zumeist mit der Größe des Infarkts sowie mit der Schwere der neurologischen Beeinträchtigungen korreliert [175] [94] [148].

Aber auch diese Daten sind nicht einheitlich. Emsley et al. [65] fanden keinen Anstieg der TNF- α -Konzentration nach akutem ischämischem Insult, dafür aber erhöhte Plasma-Konzentrationen der löslichen Form des TNF- α -R1 (sTNF-R1), welche sowohl mit der Infarktgröße als auch mit dem neurologischen Outcome nach 3 bzw. 12 Monaten korrelierten. Intiso et al. [98] wiederum fanden zwar eine signifikante Erhöhung des TNF- α im Serum mit einem Peak am 7. postischämischen Tag, jedoch keine Korrelation der TNF- α -Serum-Konzentration mit der Läsionsgröße oder der neurologischen Beeinträchtigung.

12.3.2 Quelle der TNF- α -Produktion nach zerebraler Ischämie

TNF- α wird auch beim Menschen sowohl von peripheren Leukozyten als auch von parenchymalen Zellen des ZNS produziert. In Neuronen kommt es nach einem ischämischen Insult bereits sehr rasch zu einer Aufregulierung der TNF- α -Produktion mit einem Peak am 2. und 3. Tag. Astrozyten, die ebenfalls TNF- α exprimieren, reagieren im Gegensatz

zu Neuronen erst später, mit einer maximalen Expression um den 17. und 18. Tag [175]. Der unterschiedliche Zeitpunkt der TNF- α -Produktion in den verschiedenen Parenchymzellen spricht auch beim Menschen für eine neuroprotektive Funktion des astrozytären TNF- α im Zuge des Regenerationsprozesses.

Da die Blut-Hirn-Schranke bei den meisten PatientInnen aber nur minimal alteriert zu sein scheint, was sich in einem niedrigen CSF/Serum-Albumin-Quotienten niederschlägt, und stimulierte Leukozyten nach Insult nachgewiesenerweise auch TNF- α produzieren können, liegt der Schluss nahe, dass der erhöhte TNF- α -Plasmaspiegel vor allem auf eine periphere Produktion zurückzuführen ist [175].

Dagegen sprechen wiederum Ergebnisse von Emsley et al. [65], die nach einem Schlaganfall nur eine minimale spontane Expression von TNF- α (sowie IL-1 und IL-6) durch periphere Leukozyten gefunden haben, welche auch nach Stimulation durch LPS nicht in dem Ausmaß wie bei gesunden Menschen gesteigert werden konnte. Das verminderte Ansprechen der Zytokin-Produktion auf LPS-Stimulation unterstreicht wiederum die Theorie der postischämischen Immunsuppression.

12.3.3 Therapieoptionen

In der Frühphase nach akutem ischämischem Insult könnten die schädigenden Effekte des TNF- α durch dessen Blockade inhibiert werden. Dazu könnten Anti-TNF- α -Antikörper oder ein TNF- α -bindendes Protein verwendet werden [175].

Zu einem späteren Zeitpunkt, an dem TNF- α eine neuroregenerative Funktion entfalten könnte, sollte der TNF- α -Transport über die BHS gefördert werden, da die in-situ-Produktion zu diesem Zeitpunkt bereits gering ist [175].

Mit einer Kombination dieser therapeutischen Ansätze würde die primär schädigende Wirkung des TNF- α vermindert und seine benefizielle Wirkung in der Regenerationsphase ausgenutzt werden.

13 Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1; CCL2)

13.1 Allgemeines zu Chemokinen

Chemokine sind Polypeptide, die an der Zellkommunikation und dem Zellrekrutement beteiligt sind [245]. Funktionell werden sie den proinflammatorischen Zytokinen zugeordnet ([205]; S.545f), da sie im Zuge immunologischer Prozesse durch ihre chemotaktische Funktion maßgeblich an der Migration von Entzündungszellen in das entzündete Gewebe beteiligt sind.

Unter den Chemokinen unterscheidet man, basierend auf der Position des Cystein- (C) Restes, vier Subgruppen [245] ([205]; S.545f):

- CC = Rantes-Familie: Chemokine der Rantes-Familie vermitteln die Chemotaxis von Monozyten und T-Zellen. Einer der wichtigsten Vertreter der CC-Chemokine ist das Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1 = CCL2).
- CXC: Diese Chemokinsubgruppe dient der Chemotaxis von Granulozyten. Der wichtigste Vertreter der CXC-Chemokine ist das IL-8, welches vor allem für die Neutrophilen-Aktivierung zuständig ist.
- CX3C = Fraktalkin: Fraktalkin ist membranständig und wird, im Gegensatz zu den anderen Chemokinen, nicht sezerniert.
- C: Lymphotactin

Ihre Wirkung entfalten Chemokine durch Bindung an spezifische Rezeptoren, die der Gruppe der GTP-gekoppelten-Rezeptoren angehören, und die sie sich zum Teil teilen [245]. Unter den oben angeführten Chemokinen sind v.a. IL8, das Fraktalin und CCL2 von Bedeutung.

Die Aufregulierung von Chemokinen nach einem Schlaganfall wird für die sekundäre Progression des primären ischämischen Hirnschadens mitverantwortlich gemacht [245], da sie für das Rekrutement von Leukozyten verantwortlich sind, die Leukozyten-Adhäsion an Endothelzellen fördern und indirekt auch am Aufbrechen der BHS beteiligt sind [60].

13.2 Allgemeines zum Monocyte chemotactic protein-1

CCL2 ist das am besten charakterisierte Chemokin der CC-Chemokin-Subgruppe. Die Hauptaufgabe des CCL2 die Chemotaxis von Monozyten, welche durch den Kontakt mit CCL2 auch zu einer gesteigerten Produktion von Zytokinen (IL-1 β , IL-6, TNF) stimuliert werden [261]. CCL2 wirkt aber auch chemotaktisch auf T-Zellen und NK-Zellen, wenngleich diese auch nicht die Hauptadressaten des CCL2 darstellen [261] [71]. Unter den Granulozyten wirkt CCL2 nur auf Basophile, die es zur Degranulation und Histaminausschüttung stimuliert, ohne auf sie eine chemotaktische Wirkung zu entfalten ([205]; S.545f).

Neben seiner chemotaktischen und aktivierenden Wirkung auf Entzündungszellen, induziert CCL2 auch die Expression von Adhäsionsmolekülen [261], wodurch sich CCL2 auch an der Adhäsion und Migration der angelockten Leukozyten beteiligt.

CCL2 kann an CCR2 und CCR5 binden [139], der wichtigerere Rezeptor des CCL2 ist aber der CCR2, der auf Monozyten und Endothelzellen exprimiert wird [9] [8] [66].

13.3 Daten aus dem Tiermodell

13.3.1 Zeitliches Profil und Quelle der CCL2-Expression nach zerebraler Ischämie

Gesunde Tiere zeigen keine zerebrale Expression von CCL2 [114], erst nach experimenteller Ischämie wird diese aufreguliert. Eine geringe Expression zeigt sich bereits nach 6 bis 12 Stunden, maximale Konzentrationen werden aber erst nach ca. 48 Stunden erreicht [243] [254] [247] [114] [46]. Danach fällt die CCL2-Expression kontinuierlich ab, bleibt aber insgesamt für ca. 5 Tage nachweisbar [247] [46].

Produziert wird CCL2 nicht nur von einwandernden Makrophagen und Endothelzellen [114] sondern auch von Neuronen [46], Astrozyten [46] und Mikrogliazellen [153].

Das zeitliche Profil der CCL2-Aufregulierung spiegelt die zeitliche Abfolge der Leukozyteninfiltration wider. Während in der ersten akuten Phase (1.-3.Tag) nach dem ischämischen Insult vor allem neutrophile Granulozyten in das geschädigte Hirngewebe einwandern, folgt mit dem Peak der CCL2-Konzentration am 2. Tag auch die Monozyten-/Makrophageninfiltration, welche für ca. 7 Tag persistiert [254].

13.3.2 Hinweise auf schädigende Effekte von CCL2

Anhand von Studien mit genetisch manipulierten Mäusen konnte eine schädigende Wirkung von CCL2 im Rahmen einer zerebralen Ischämie nachgewiesen werden.

CCL2- [261] [95] bzw. CCR2- [60] defiziente Mäuse zeigen nach experimentellem Ischämie-/Reperfusionsschaden im Vgl. zum Wild-Typ eine geringere Infarktgröße [261] [60] [95]. Dies kann auf die durch CCL2-Defizienz abgeschwächte Entzündungsreaktion und ein geringeres Hirnödem zurückgeführt werden [60].

Ersteres beruht auf einem reduzierten Rekrutment von Leukozyten und einer verminderten Astrozytenaktivierung, Wirkungen, die zu den wichtigsten Aufgaben des CCL2 im Zuge einer Entzündungsreaktion gehören [47]. Neben dem geringeren Einwandern von Monozyten [261] [60] ist bei CCR2-Defizienz auch die Neutrophileninfiltration reduziert [60]. Hierfür könnte die verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen an Endothelzellen verantwortlich sein. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit ergibt sich aus der Interaktion der Expression von CCL2 mit anderen Chemokinen und Zytokinen. CCL2 wirkt nämlich im Sinne eines proinflammatorischen Mediators up-regulierend auf die Produktion von inflammatorischen Zytokinen und Chemokinen der CXC-Subgruppe (z.B. IL-8), die für das Neutrophilenrekrutment verantwortlich sind [60].

Neben dem Leukozytenrekrutment beteiligt sich CCL2 über eine modulierende Wirkung auf die T-Zellantwort auch am Ausmaß des Entzündungsgeschehens. Die Hemmung der CCL2/CCR2-Achse bei CCR2-Deletion verschiebt die Balance zwischen Th1- und Th2-Antwort in Richtung Th2 und dessen Zytokinprofil (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) [60]. Da die Th2-Zellantwort mit ihrem spezifischen Zytokinprofil eher antiinflammatorisch wirkt, erklärt sich die reduzierte Entzündungsreaktion und Infarktgröße auch dadurch.

CCL2-defiziente Mäuse produzieren in der akuten Phase nach ischämischem Insult (nach 6 Stunden) auch signifikant weniger IL-1 β [95]. Da die verminderte CCL2-vermittelte Monozyten/Makrophagen-Invasion erst in der subakuten Phase (ab 2.-3. Tag) nach einem Schlaganfall relevant wird, könnte die Reduktion des IL-1 β im geschädigten Hirnareal die entscheidende Rolle für die akute Reduktion der Infarktgröße bei CCL2-Defizienz spielen [95].

Der zweite Punkt, der bei Hemmung der CCL2/CCR2-Achse zur verminderten Infarktgröße beiträgt, ist die Reduktion des Hirnödems [60]. Das postischämische Hirnödem wird zum einen durch die vermehrte Permeabilität und Extravasation durch die geschädigte Blut-Hirn-Schranke (BHS) und zum anderen durch ein Zellödem hervorgerufen. Das Zell-

ödem der Frühphase entsteht durch Energiemangel, erst später kommt es zu einem sekundären zytotoxischen Zellödem [60]. Sowohl im in-vitro-Versuch an kultivierten Endothelzellen und Astrozyten (entspricht in-vitro der BHS) als auch in-vivo (Tiermodell) zeigte sich durch Beigabe/intrazerebrale bzw. intraventrikuläre Applikation von CCL2 eine massive Steigerung der Permeabilität [211]. Eine Wirkung, die offensichtlich durch CCR2 vermittelt wird, denn CCR2-Deletion führte zur Aufhebung dieses Effekts [211]. Zum Teil scheint die Alteration der BHS durch CCL2 auf das Rekrutment von Monozyten zurückzuführen zu sein, die vor Ort durch die Bildung proinflammatorischer Zytokine die BHS schädigen. Zytokine wie IL-1, TNF- α , IL-6 und GM-CSF werden hauptsächlich für den Zusammenbruch der Blut-Hirnschranke im Zuge inflammatorischer Hirnprozesse verantwortlich gemacht [211]. Zum Anderen scheint CCL2 aber auch einen direkten Effekt auf die tight-junction-Proteine der Endothelzellen zu haben [211] und über Alteration derer am Aufbruch der BHS beteiligt zu sein.

13.3.3 Hinweise auf protektive Effekte von CCL2

Neueren Erkenntnissen zufolge spielt CCL2 nicht nur im postischämischen Entzündungsprozess eine Rolle, sondern ist auch an der Neuroregeneration beteiligt. CCL2 könnte neben seiner Funktion als Chemoattractant für Immunzellen auch für das Einwandern von Stammzellen in das geschädigte Gewebe verantwortlich sein und damit maßgeblich am Regenerationsprozess teilhaben. Im reifen Gehirn wurden zwei Regionen identifiziert, die neurale Stammzellen und Progenitorzellen beherbergen. Zum einen handelt es sich dabei um die subventrikuläre Zone der Seitenventrikel [142] [36] und zum anderen um die subgranuläre Zone des Gyrus dentatus [63]. Von diesen Regionen geht im Erwachsenenalter die Regeneration neuronalen Gewebes nach Verletzungen aus. Auch im Falle eines ischämischen Insults kommt es zur Proliferation neuronaler Progenitorzellen, zur Migration derer in das geschädigte Gewebe und zur Differenzierung in „neue“ Nervenzellen [139]. Es ist bekannt, dass Chemokine die Migration neuronaler Progenitorzellen im Zuge der Hirnentwicklung mediieren. In letzter Zeit zeigte sich allerdings, dass Chemokine auch im reifen Gehirn für die Migration von Progenitorzellen verantwortlich sind [21]. Die neuronalen Progenitorzellen exprimieren eine Vielzahl von Rezeptoren für Chemokine, darunter CCR1, CCR2, CCR5, CXCR3 und CXCR4 [227]. CCL2 und sein Rezeptor CCR2 sollen beim „Homing“ der neuronalen Progenitorzellen in geschädigte Hirnareale eine besonders wichtige Rolle spielen [21] [244] [243]. Transiente Okklusion der Arteria cerebri media (MCAO) führt

zur Aufregulierung der CCL2-Expression durch Astrozyten und Mikrogliazellen in Kortex und Striatum und ist assoziiert mit dem Einwandern von Neuroblasten, welche CCR2 exprimieren [256]. Die Neuroblastenmigration ist bei CCL2/CCR2-knockout-Mäusen signifikant vermindert [256] [21]. Die Applikation von CCL2 in das Striatum gesunder Tiere induziert im Gegensatz dazu das Einwandern von Neuroblasten in das (CCL2-) infiltrierte Gewebe [256]. Diese Beobachtungen sprechen für eine entscheidende Funktion von CCL2 im Prozess der Neuroblastenmigration. CCL2 scheint aber auch an der Differenzierung neuronaler Stamm- und Progenitorzellen beteiligt zu sein. Die Expression von CCL2 wird laut Liu et al. [139] nach MCAO auch von Stammzellen und Gliazellen in der subventrikulären Zone aufreguliert. In dieser neurogenen Zone des erwachsenen reifen Hirns fördert CCL2 die Differenzierung der Progenitorzellen in neuronale Zellen. Die Blockade von CCL2 durch Anti-CCL2-Antikörper inhibiert die durch CCL2 vermittelten Effekte auf Differenzierung und Migration [139].

13.4 Klinische Daten

13.4.1 Serumspiegel und Quelle von CCL2 nach zerebraler Ischämie

Während im Tiermodell eindeutig ein Anstieg der zerebralen CCL2-Expression nach einem Schlaganfall nachgewiesen werden konnte [261], sind die Ergebnisse beim Menschen, was die CCL2-Serumkonzentration betrifft, widersprüchlich. Bei Zaremba et al. [261] fand sich unter den gemessenen Chemokinen lediglich ein Serumanstieg von CCL3, nicht aber von CCL2 und CCL5. Auch Losy et al. [141] fanden innerhalb der ersten 24 Stunden nach zerebralem Insult ausschließlich einen Anstieg der CCL2-Konzentration im Liquor, nicht aber im Serum. Im Gegensatz dazu ergaben jüngere Studien bei Arakelyan et al. [11] und Reynolds et al. [193] sehr wohl einen signifikanten Anstieg der CCL2-Serumkonzentration nach ischämischem Insult.

Basierend auf den Erkenntnissen aus Tierexperimenten, die eine intrazerebrale Produktion von CCL2 nachwiesen, und den Ergebnissen von Kostulas et al. [120], die nach Insult keine erhöhte CCL2-Produktion in peripheren Monozyten feststellen konnten, geht man von einer hauptsächlich intrazerebralen Produktion des CCL2 nach Ischämie aus [261].

Noch ist allerdings unklar, ob die in manchen Studien postischämisch gesteigerte CCL2-Serumkonzentration auf eine Ausschwemmung des zerebral gebildeten CCL2 zurückgeht

oder ob sie, bereits vor dem Infarkt, im Zuge einer atherosklerotischen Gefäßerkrankung erhöht war. Sicher ist allerdings, dass CCL2 eine essenzielle Rolle in der Entstehung und Progression der Atherosklerose spielt [97] und dessen Serumkonzentration bei AtherosklerosepatientInnen bereits vor Eintreten eines Schlaganfalls erhöht ist [11]. CCL2 könnte demnach auch als Marker für Schlaganfall-RisikopatientInnen dienen. Chronische Entzündungsvorgänge in den atherosklerotischen Plaques führen zur Destabilisierung des Plaques und damit zu einem erhöhten Risiko einer Ruptur mit konsekutiv thrombotischem Verschluss des Gefäßes [97].

Trotz der unterschiedlichen Ergebnisse über die CCL2-Serumkonzentration nach einem Schlaganfall fand sich bei den verschiedenen Autoren doch einheitlich eine starke interindividuelle Variabilität der CCL2-Expression, was seine Aussagekraft als Risikomarker einschränkt. Zu erklären ist die hohe interindividuelle Variabilität möglicherweise durch folgende Punkte:

- Individuelle Bedingungen vor dem ischämischen Ereignis: Atherosklerose führt schon vorab zu einer erhöhten CC-Chemokin-Produktion [261].
- Unterschiede in Zeitpunkt und Effizienz der Reperfusion, die wiederum die postischämische Entzündungsreaktion und damit die Chemokin-Expression beeinflusst [261].
- Genetische Polymorphismen des MCP-1-Gens, die mit verschiedenen hohen MCP-1-Serum-Spiegeln assoziiert sind. Auf Basis dieser Gen-Variationen ergibt sich eine genetische Komponente in der Abschätzung des Risikos von Atherosklerose-PatientInnen, einen ischämischen Insult zu erleiden. Dieser Zusammenhang wurde von Braunersreuther [32] für den Myocardinfarkt beschrieben, gilt aber wahrscheinlich auch für zerebrale Gefäßerkrankungen und ihre Komplikationen [32].

13.4.2 Therapieoptionen

Wie im Tiermodell zeigte sich auch bei PatientInnen mit Myocardinfarkt eine Reduktion des CCL2-Serum-Spiegels bei medikamentöser Therapie mit ACE-Hemmern. Ein prophylaktischer Therapieversuch mit Ramipiril zur Prävention der Atherosklerose brachte allerdings nach 4 Jahren kein signifikantes Ergebnis [214].

14 Matrix Metalloproteinasen (MMP)

14.1 Allgemeines zu MMPs

MMP-9 und MMP-13 gehören in die Gruppe der Zink-abhängigen-Proteinasen, von denen bis heute 25 verschiedene Subtypen identifiziert wurden. Basierend auf ihren bevorzugten Substrat und ihrer molekularen Struktur kann man MMPs noch weiter in Kollagenasen, wie MMP-13, Gelatinasen, wie MMP-9, Stromelysine und membrangebundene Matrix Metalloproteinasen unterteilen. Ihre Aktivität wird durch spezifische Inhibitoren, TIMPs (= tissue inhibitor of MMPs) reguliert [156] ([205]; S.988f)

Die Metalloproteinasen spielen in vielen physiologischen Prozessen eine essentielle Rolle (Embryogenese, Wundheilung, Umbau von normalem Gewebe; Angiogenese). Durch Degradation von Proteinen der extrazellulären Matrix (ECM) ermöglichen Metalloproteinasen die Penetration von Zellen durch das Gewebe bzw. die Extravasation.

Die Expression der MMPs unterliegt strenger Kontrollmechanismen, Störungen dieser Regulation resultieren in einer Vielzahl von Pathologien wie Arthritis, Nephritis, Gewebsulcerationen, Malignomen, kardiovaskulären und neurodegenerativen Erkrankungen [267]. Im ZNS entfalten Metalloproteinasen nach ischämischer Schädigung sowohl schädigende als auch neuroprotektive Eigenschaften.

Schädigende Wirkung von MMPs

Die schädigende Wirkung manifestiert sich relativ früh nach dem ischämischen Insult und führt zu einer Schädigung der BHS.

Dies geschieht über proteolytischen Abbau von Kollagen Typ IV, Laminin und Fibronectin, die als wichtige Bestandteile der Basallamina für die Integrität der BHS essenziell sind. Deren Degradation führt daher zu einem erhöhten Risiko für hämorrhagische Komplikationen. Zusätzlich scheinen MMPs an der Induktion des neuronalen Zelltodes beteiligt zu sein [38] [267] [82] [81] [128].

Neuroprotektive Wirkung von MMPs

Die neuroprotektiven Eigenschaften der Metalloproteinasen zeigen sich erst später in der Regenerationsphase. Zu diesem Zeitpunkt scheinen MMPs eine unterstützende Wirkung auf die neuronalen Regenerationsvorgänge zu haben [267].

Wirkung und Funktion der verschiedenen MMP-Subtypen

Metalloproteinasen alterieren die Permeabilität der BHS zum einen über die Spaltung von Proteinen in der Basallamina, zum anderen durch Abbau der tight-junctions [258], die für den Zusammenhalt zwischen den Endothelzellen verantwortlich sind.

Der Aufbruch der Blut-Hirn-Schranke nach ischämischem Insult erfolgt biphasisch. Die initiale Schädigung erfolgt überwiegend durch MMP-2 und entwickelt sich bereits nach wenigen Stunden. Diese primäre Öffnung der BHS durch MMP-2 ist allerdings reversibel. Die endothelialen tight-junction-Proteine werden durch MMP-2 wahrscheinlich nur gelockert, verbleiben aber im interendothelialen Spaltraum. Erst im Zuge der fortschreitenden postischämischen Entzündungsreaktion, die mit der Freisetzung von MMP-9 einhergeht, kommt es zu einem proteolytischen Abbau der sich im Spaltraum befindlichen tight-junction-Proteine. Auch freie Radikale und andere Proteasen könnten an diesem Prozess beteiligt sein. Produziert wird das in der Frühphase bedeutsame MMP-2 von Astrozyten und Neuronen. Die Bedeutung der MMP-2-Expression durch Astrozyten könnte in der Induktion von Permeabilitätsänderungen der BHS liegen. Diese logische Schlussfolgerung ergibt sich aus der hohen Expression von MMP-2 in den die BHS-bildenden Fußfortsätzen der Astrozyten. Der Sinn der MMP-2-Expression durch Neuronen ist im Gegensatz dazu noch unklar [258]. Die initiale Reversibilität der BHS-Schädigung erklärt die Effektivität von Breit-Spektrum-MMP-Inhibitoren in der Frühphase. Breit-Spektrum-MMP-Inhibitoren vermindern den Schaden an der BHS durch Hemmung der proteolytischen Spaltung von tight-junction-Proteinen und reduzieren damit die Toxizität der Behandlung mit rekombinantem tissue-Plasminogen-Aktivator, einem Aktivator der Fibrinolyse [258].

Der zweite Aufbruch der BHS erfolgt nach ca. 24 Stunden und ist komplikationsträchtiger. Zum einen ist er irreversibel und zum anderen geht er mit einem größeren Gewebsschaden einher. Diese Spätschädigung geht mit einer exzessiven Expression von MMP-9 einher, wie dies bereits in mehreren Studien nachgewiesen wurde [258]. Neben anderen Mediatoren der nach 24 Stunden florierenden postischämischen Entzündungsreaktion, und neben MMP-3, scheint MMP-9 der wichtigste Faktor in der Pathogenese des Spätschadens zu sein [258].

14.2 MMP-9

14.2.1 Daten aus dem Tiermodell

14.2.1.1 Zeitliches Profil und Quelle der MMP-9-Expression nach zerebraler Ischämie

Als Reaktion auf einen zerebralen ischämischen Insult steigt die MMP-9-Expression im Hirnparenchym rasch an [195] [217] [12] [128] [38] und führt nach ca. 2 Stunden auch im Plasma zu einem transient erhöhten MMP-9 Spiegel [88]. Die gesteigerte MMP-9-Aktivität im Hirn ist bereits nach 12 Stunden signifikant und erreicht nach ca. 24 Stunden ihr Maximum. Dieser hohe Expressionslevel bleibt ca. 5 Tage bestehen und senkt sich dann langsam bis zum 15. Tag auf das Basalniveau [195]. Innerhalb der ersten 24 Stunden wird MMP-9 hauptsächlich von Endothelzellen exprimiert, nach 7-14 Tagen verändert sich diese Verteilung und MMP-9 wird vor allem in der Peripherie der Infarktzone gefunden, wo es von Neuronen und Astrozyten exprimiert wird [267]. Diese Umverteilung der MMP-9-Expression nach dem ischämischen Insult im Laufe der Zeit korreliert mit der phasenabhängig veränderten Wirkung ihrer Inhibition [267].

Nicht alle Studien zeigen allerdings eine allgemein erhöhte MMP-9-Expression nach zerebraler Ischämie. Bei Heo et al. [88] kam es z.B. nur bei jenen Mäusen zu einem signifikanten Anstieg, bei denen es auch zu hämorrhagischen Transformationen kam.

Auch neutrophile Granulozyten sind in der Lage, MMP-9 zu produzieren und könnten daher im Zuge ihrer postischämischen ZNS-Infiltration für den MMP-9-Anstieg mitverantwortlich sein. Diesbezüglich gibt es in der Literatur divergierende Ansichten.

Laut Maier et al. [144] stellen neutrophile Granulozyten nicht die Hauptquelle der MMP-9-Produktion dar, denn es konnte keine zeitliche Korrelation zwischen maximaler MMP-9-Konzentration im Hirn und maximaler Neutrophilen-Infiltration, für gewöhnlich 24-72 Stunden nach Reperfusion, nachgewiesen werden. Übereinstimmend mit Zhao et al. [265] zeigte sich auch in dieser Studie eine hohe MMP-9-Expression durch Astrozyten und Mikrogliazellen in der Peri-Infarkt-Zone. Diese ortsansässigen Zelltypen werden daher von Maier et al. auch als Hauptproduktionsstätte von MMP-9 im Hirn angenommen [144].

Dagegen sprechen wiederum Ergebnisse von Gidday et al. [77]. Genetisch manipulierte Tiere, deren Fähigkeit zur MMP-9-Produktion entweder in Leukozyten oder in Hirnparenchymzellen blockiert wurde, wurden miteinander verglichen. Dabei stellte sich heraus, dass nur jene, deren leukozytäre MMP-9 Produktion defekt war, auch die erwartete Besserung bzgl. des Infarktolumens, der BHS-Schädigung und des klinischen Zustandes zeigten. Das aus Leukozyten freigesetzte MMP-9 schien demnach für die assoziierten Schädigungen hauptverantwortlich zu sein. [77]

14.2.1.2 Hinweise auf protektive Effekte

Die Hemmung von MMPs (vor allem von MMP-9) zu einem späteren Zeitpunkt, ca. 7-14 Tage nach dem ischämischen Insult, erhöht das Risiko für intrazerebrale Blutungen [267] und behindert die Reparatur des geschädigten Hirnparenchyms, was sich in einem größeren geschädigten Hirnvolumen manifestiert [265].

Wie diese Effekte zu erklären sind, ist bisher noch unklar. Zum Teil könnte sich die gestörte Regeneration durch eine Störung der Zytokin- und Chemokin- Homöostase erklären [267]. Von noch größerer Relevanz ist aber wahrscheinlich die Hemmung der MMP-9-vermittelten Bildung und Aktivierung von Wachstumsfaktoren. So zeigte sich in einer Studie von Zhao et al. [265] eine Hemmung der VEGF- (vascular endothelial growth factor) Aktivierung durch MMP-9-Inhibition. VEGF wird durch MMPs von Strukturen der extrazellulären Matrix (ECM) oder von Molekülen der Zelloberfläche abgespalten und hat, neben seinen angiogenetischen Eigenschaften, offensichtlich auch eine neurotrophe und neuroprotektive Wirkung [264]. Die verminderte VEGF-Aktivität durch MMP-9-Inhibitoren führt nach einem Schlaganfall zu einem schlechteren neurologischen Recovery [265].

Die neurotrophe Wirkung von MMP-9 und anderen Metalloproteinasen scheint aber, zumindest zum Teil, auch auf deren migrationsfördernde Wirkung auf Neuroblasten zurück zu gehen [264]. Nach einem Schlaganfall kommt es zur Bildung von Neuroblasten in den neurogenen Zonen des reifen Hirns, diese sind in den subventrikulären Zonen der Seitenventrikel und in der subgranulären Zone des Hippocampus lokalisiert. Zwei Wochen nach einem zerebralen ischämischen Insult fanden sich in der subventrikulären Zone erhöhte Konzentrationen von MMP-9. Dieser MMP-9-Anstieg war assoziiert mit dem Auftreten von BrdU- und Doublecortin-positiven-Neuroblasten in diesem Areal [264]. Die BrdU-Positivität spricht für die Mitoseaktivität und damit für die Proliferation neurogener Vorläuferzellen, während Doublecortin ein Mikrotubuli-assoziiertes Protein ist, das während der neuronalen Migration exprimiert wird. Bei reifen Neuronen nimmt die Doublecortin-

Expression massiv ab [70]. Die MMP-9-Hemmung nach einem Schlaganfall führt zu einer reduzierten Migration der neugebildeten Neuroblasten in das geschädigte Areal [264]. Zudem scheint MMP-9 auch am Rekrutment von endothelialen und hämatopoetischen Stammzellen beteiligt zu sein, was zur Neoangiogenese führt [264]. Auch über diese Wirkung könnte MMP-9 einen positiven Einfluss auf die Reparatur des nach einem Schlaganfall geschädigten Gewebes nehmen.

14.2.1.3 Hinweise auf schädigende Effekte

Die Aufregulierung von MMP-9 steht in zeitlicher Korrelation mit einem Anstieg der Permeabilität der BHS, wie dies bereits 1999 in einer Studie von Gasche et al. [75] gezeigt wurde. Auf der anderen Seite führt MMP-9-Defizienz bei genetisch manipulierten Tieren [12] bzw. die Hemmung von MMP-9 durch neutralisierende Anti-MMP-9-Antikörper [195] zu einer deutlichen Reduktion der Ischämie-/Reperfusionsschaden bedingten BHS-Schädigung [75], was sich in einer reduzierten Infarktgröße äußert. Neben MMP-9 führen aber auch andere Faktoren wie reaktive Sauerstoff-Radikale (ROS = reactive oxygen species) und infiltrierende Leukozyten nach Ischämie-/Reperfusionsschaden zu einer gesteigerten vaskulären Permeabilität und müssen daher in die Betrachtungen miteinbezogen werden, zumal oxidativer Stress über die Bildung von freien Radikalen die Aktivität und Expression von MMP-9 stimulieren kann [75]. Dies unterstreicht auch eine Studie von Gürsoy-Ozdemir et al. [172], bei der die Gabe von nicht-selektiven NOS-Inhibitoren zu einer deutlichen Reduktion der MMP-9-Expression und des vaskulären Schadens führte.

Zum Wirkungsprofil von MMP-9 gehört auch eine proinflammatorische Aktivität. Gidday et al. [77] fanden bei MMP-9-defizienten Mäusen eine reduzierte Adhärenz von Leukozyten am Endothel sowie eine verminderte Neutrophilen-Infiltration in das Ischämiegeschädigte Hirnparenchym. MMP-9 ist demnach, sowie auch andere MMPs, an der Migration von Leukozyten beteiligt, die den postischämischen Entzündungsprozess aggravieren [77].

Einige Studien, darunter auch die von Asahi et al. [12], liefern Hinweise darauf, dass MMP-9-Defizienz nicht nur aufgrund des reduzierten Hirnödems zu einer geringeren Infarktgröße führt, sondern dass MMP-9-Defizienz auch einen protektiven Effekt auf den neuronalen Zelltod hat. Das impliziert einen direkten neurotoxischen Effekt von MMP-9.

Zudem scheint MMP-9 auch in der Pathogenese der tPA- (tissue-Plasminogen-Aktivator) assoziierten Hämorrhagie eine entscheidende Rolle zu spielen. In einem Rattenmodell von

Sumii et al [217] kam es bei experimenteller fokaler Ischämie zu zwei interessanten Entdeckungen bezüglich der Wechselwirkung zwischen MMP-9-Aktivität und tPA-Behandlung. Erstens zeigte sich durch die tPA-Gabe ein Anstieg von MMP-9, und zweitens konnte das Ausmaß der Hämorrhagie durch MMP-9-Inhibitoren signifikant reduziert werden. Dies spricht für einen Nutzen von MMP-9-Inhibitoren zur Reduktion der durch tPA-Therapie induzierten hämorrhagischen Komplikationen [217].

Diese Schlussfolgerung wird auch durch eine Studie von Tsuji et al. [228] mit tPA-defizienten-knockout Mäusen untermauert, bei denen man geringere MMP-9-Level, eine verminderte Infarktgröße und eine Reduktion des postischämischen Hirnödems fand. Administration von exogenem tPA zum phänotypischen Ausgleich der genetischen Defizienz veränderte zwar nicht die Infarktgröße, erhöhte aber die MMP-9-Expression auf das Vergleichslevel von Wildtyp-Mäusen und verschlechterte das begleitende Ödem [228].

14.2.1.4 Zusammenfassung der zeitabhängig-veränderten Wirkungen von MMP-9

Wirkungsweise von MMP-9 in der Frühphase nach Insult [267]:

- Schädigung der BHS
- Stimulation des neuronalen Zelltodes
- Steigerung des Risikos für Hämorrhagien, v.a. bei tPA-Behandlung

Wirkungsweise von MMP-9 in der Spätphase nach Insult [267]:

- Förderung der Regeneration des Hirnparenchyms durch Stimulation der Neurogenese bzw. der Neuroblastenmigration
- Förderung des neurovaskulären Remodelings durch Stimulation der Angiogenese

14.2.2 Klinische Daten

14.2.2.1 Serumspiegel und zerebrale Expression von MMP-9 nach Ischämie

Wie die im Tierversuch nachgewiesene Steigung der zerebralen MMP-9-Expression bereits vermuten lässt, kommt es auch im Zuge von klinischen Studien nach zerebralem Insult zu einem Anstieg des MMP-9-Serumspiegels [235] [91] [156]. Sowohl die MMP-9-Konzentration als auch das Verhältnis zu dessen natürlichem Inhibitor TIMP-1 (MMP-9/TIMP-1-ratio) sind bereits 24 Stunden nach Auftreten der ersten Symptome deutlich er-

höht [235]. Einer Gewebsuntersuchung von Clark et al. [51] an Verstorbenen zur Folge bleibt die MMP-9-Aktivität im Hirn sogar mehrere Monate lang erhöht.

Den MMP-9-Anstieg begleitend steigt auch die Konzentration von Laminin-Abbauprodukten, die beim Aufbrechen der Blut-Hirn-Schranke frei werden [91]. Wie bereits oben erwähnt ist Laminin ein wichtiger Bestandteil der Basallamina und ein Substrat der MMP-9. Durch therapeutische Hypothermie reduziert sich die Serumkonzentration der Lamininabbauprodukte. Eine Beobachtung, die durch die Temperatursensitivität der Metalloproteinasen erklärbar ist [91].

Analog zum Tiermodell steigt MMP-9 auch beim Menschen nach tPA-Thrombolyse an, wie Konzentrationsmessungen im Blut zeigen [164]. Die Ursache hierfür könnte in der tPA-medierten Adhärenz und Degranulation von Neutrophilen liegen, die bekanntlich zur MMP-9-Produktion befähigt sind. Das durch tPA-induzierte Plasmin wiederum ist in der Lage, pro-MMPs in ihre aktive Form zu überführen, dies gilt natürlich auch für MMP-9 [91]. Neutrophile scheinen einer erst kürzlich erschienenen Studie von Cuadrado et al. [56] zufolge die Hauptquelle des, nach tPA-Therapie gesteigerten, MMP-9 zu sein. In diesem in-vitro Versuch wurde die Wirkung von tPA auf humane Granulozyten untersucht. Dabei zeigte sich, dass neutrophile Granulozyten durch tPA zur Sekretion von MMP-9 stimuliert werden.

14.2.2.2 Hinweise auf schädigende Effekte

Erhöhte Plasma-Spiegel von MMP-9 nach Insult korrelieren mit einem schlechteren neurologischen Outcome [267] und einer höheren Rate an hämorrhagischen Komplikationen nach tPA-Therapie [267]. Außerdem kommt es bei höheren MMP-9-Plasma-Spiegeln zu einer stärkeren Extension des Infarktareals innerhalb der ersten 24 Stunden. Dies impliziert eine Hirnschädigung durch MMP-9 (auch durch MMP-13) bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt [196].

14.2.2.3 MMP-9 als prädiktiver Marker

Bei Rosell et al. [196] wurde in der akuten Phase nach zerebralem Insult der Serumspiegel der verschiedenen Metalloproteinasen im peripheren Blut bestimmt und mit der Größe des Infarktareals im MR verglichen. Dabei zeigte sich initial keine Assoziation zwischen der Infarktgröße und der Expression von MMPs. Dafür ergab sich aber eine starke Korrelation zwischen erhöhten Serumkonzentrationen von MMP-9 und MMP-13 und einer sekundären Extension der ischämischen Läsion im diffusionsgewichteten MR.

Der initiale MMP-9-Plasmaspiegel gilt als potentieller Marker für das Risiko einer postischämischen hämorrhagischen Komplikation. Je höher die basale MMP-9-Konzentration ist, desto höher ist das Risiko eines Schlaganfallpatienten, innerhalb der ersten 5 bis 7 Tage eine hämorrhagische Transformation zu entwickeln. Ein MMP-9-Peak nach ca. 24 Stunden geht oft einem frühen parenchymatösen Hämatom voraus [156].

Ähnliches gilt für die Ausbildung von großen parenchymatösen Blutungen als Komplikation nach tPA-Behandlung. Basale MMP-9 Werte (vor der tPA-Behandlung) können demnach auch zur Abschätzung des Risikos, durch tPA-Therapie parenchymatöse Blutungen zu induzieren, zu Rate gezogen werden [156].

In einer klinischen Studie von Castellanos et al. [39] wurde eine Serumkonzentration von MMP-9 \geq 140ng/ml als Cut-off-Wert für ein erhöhtes Risiko einer hämorrhagischen Transformation und parenchymatöser Blutungen bei tPA-Therapie identifiziert (Sensitivität: 92%; Spezifität: 74%). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen aber, dass die Plasmakonzentration von zellulärem Fibronectin (cFn) $>$ 3,6 μ g/mL eine noch höhere Aussagekraft aufweist, als die von MMP-9 [39]. Das beste Ergebnis lässt sich daher durch eine Kombination dieser beiden Werte erzielen. cFn-Plasma-Werte von über 3,6 μ g/mL zusammen mit einem MMP-9-Plasma-Spiegel von über 140 ng/ml ergeben mit einer Spezifität von 87% ein 67-fach erhöhtes Risiko für eine parenchymatöse Blutung [39].

14.2.2.4 Therapieoptionen

Blockade von MMP-9

Eine mögliche Therapieoption, um die Infarktgröße, das begleitende Ödem sowie auch den neuronalen Schaden zu reduzieren, ist die MMP-9-Blockade. Dies sollte aber nur in einem strengen Zeitfenster innerhalb von max. 24 Stunden nach Infarkt erfolgen, um spätere, möglicherweise protektive Effekte nicht zu beeinflussen [267].

Weiters könnte eine Kombination der tPA-Behandlung mit MMP-9-Inhibitoren zur Prävention von tPA-induzierten hämorrhagischen Komplikationen zukünftig von Nutzen sein [155].

Applikation von MMP-9

In der Reparaturphase könnte die Gabe von exogenem MMP-9 dessen potentiell protektive Wirkung verstärken. Dies bedarf allerdings noch genauerer Untersuchungen, da im in-vitro-Modell exogenes MMP-9 zum Untergang von kultivierten Neuronen geführt hat [267].

14.3 MMP-13

Bisher gibt es noch kaum Untersuchungen von MMP-13 im Zusammenhang mit zerebralem Insult. Vorangegangene Studien beschränken sich mehr oder weniger auf die Evaluierung deren Wertes als Biomarker der Malignomprogression, der Dilatation und Ruptur der abdominalen Aorta und als Marker für Knochenbildung bzw. Knochenumbau [196]. Bei Rosell et al. [196] wurde zum ersten Mal ein Zusammenhang dieser Metalloproteinase mit zerebraler Ischämie beschrieben. Diese klinische Studie zeigte, dass hohe basale Konzentrationen von MMP-13, bei nachfolgender tPA-Therapie, mit einer deutlichen Extension der ischämischen Läsion innerhalb der ersten 24 Stunden assoziiert waren.

15 Toll-like-Receptors (TLR)

15.1 Allgemeines zu TLRs

Die Entdeckung der Familie der Toll-like-receptors (TLR) geht auf Hashimoto et al. [85] zurück, der diesen im Jahre 1988 bei Drosophila-Fliegen nachgewiesen hat. Ein homologer Rezeptor bei Säugetieren wurde 1997 von Medzithov et al. [149] entdeckt und aufgrund seiner Ähnlichkeit zum Toll-Protein der Drosophila als Toll-like-receptor bezeichnet. Die Bedeutung von TLRs liegt primär in der unspezifischen Abwehr von Viren und Prokaryoten durch die Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Dieses reagiert nicht, wie das erworbene Immunsystem, auf spezifische Antigene, sondern auf generalisierte Motive auf der Oberfläche von verschiedenen Pathogenen, sogenannten „pathogen associated molecular patterns“ (PAMPs) [5]. Nach Bindung dieser unspezifischen PAMPs an den TLR kommt es zur Aktivierung der Zelle, die mit der Produktion von proinflammatorischen Zytokinen [149] und der Stimulation des Antigen-Processings und der Antigenpräsentation [27] darauf reagiert. Durch die Antigen-Präsentation auf den Immunzellen des angeborenen Immunsystems kommt es zur Aktivierung des erworbenen Immunsystems mit seinen Effektorzellen, in diesem Fall vor allem der Th1-Zellen [220].

Neben dieser Abwehrfunktion des TLRs zeigte sich bei Untersuchungen der immunologischen Prozesse in Folge eines Schlaganfalls, dass der Toll-like-Rezeptor auch in der postischämischen Entzündungsreaktion eine wichtige Rolle spielt. TLR reagiert nämlich nicht nur auf mikrobielle Pathogene sondern auch auf körpereigene Moleküle, die unter anderem bei einem ischämischen Gewebsdefekt freigesetzt werden und führt auch hier zur Initiierung der angeborenen Immunantwort [221].

Folgende Liganden können nach einem zerebralen Insult zu einer TLR-Aktivierung führen [38] [106] [109]:

- Endogene Liganden:
 - Hitze-Schock-Proteine (HSP): HSP 60 [167] [35], HSP 70 [62] [13] [230] und Gp9 [230], die aus nekrotischen Zellen freigesetzt werden
 - Hyaluronsäure [223] und Fibronectin [168] aus der extrazellulären Matrix
 - Fibrin und Fibrinogen [206] aus geschädigten Blutgefäßen
 - HMGB1 (high mobility group box 1) [177]

- Exogene Liganden:
 - Lipopolysaccharide (LPS), welche die Zellmembran von Gram-neg. Bakterien bilden [183] [189]
 - Fusionsprotein des Respiratory syncytial virus (RSV) [103]

Die Expression von TLR wurde primär in Immunzellen nachgewiesen. Entsprechend seiner Funktion als Aktivator des angeborenen unspezifischen Immunsystems wird TLR vor allem von Antigen-präsentierenden Zellen wie Makrophagen und dendritischen Zellen exprimiert und führt über eine NF- κ B-Aktivierung zur Produktion von proinflammatorischen Zytokinen [221].

Erst in jüngerer Zeit zeigte sich, dass auch nicht-immunologische Zellen wie Hepatozyten [137] und Muskelzellen [257] TLR exprimieren. Auch im Hirn konnte eine TLR-Expression nachgewiesen werden, und zwar sowohl durch Astrozyten und Mikrogliazellen [169] [99] als auch durch Nervenzellen selbst [221] [143]. Die TLR-Expression durch Neurone wird durch virale [123] oder bakterielle [143] Antigene stimuliert, erfolgt aber auch als Reaktion auf Ischämie [221]. Unter den Gliazellen exprimieren vor allem Mikrogliazellen in hohem Maß TLR4. Mikrogliazellen sind im Hirn ansässige, immunologische Zellen, die zur Familie der Antigen-präsentierenden Zellen gehören. Nach Ischämie reagieren Mikrogliazellen mit der Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen als erster Zelltyp auf die Hirnschädigung. Diese Funktion scheint zu einem wichtigen Teil TLR-mediert zu sein [131].

Die Beteiligung des TLRs an postischämischen Vorgängen wird auch durch Studien an anderen Organen untermauert:

- Herz: Oyama et al. [171] zeigten im Tiermodell eines Myocard-Ischämie-/Reperfusionsschadens eine verminderte inflammatorische Reaktion sowie eine reduzierte Infarktgröße bei TLR4-defizienten Mäusen.
- Leber: Auch in der Leber erwies sich die TLR4-Defizienz, in einem experimentellen Ischämie-/Reperfusionmodell von Shen et al. [202], als protektiv. 6 Stunden nach Reperfusion zeigte sich bei den TLR4-defizienten Mäusen eine bessere Leberfunktion, eine verminderte Neutrophilen-Infiltration und eine verminderte Produktion von proinflammatorischen Zytokinen. TLR2-Defizienz zeigte im Gegensatz dazu keinen protektiven Effekt.
- Niere: Leemans et al. [129] untersuchten im Tierexperiment die Auswirkungen von TLR2-Defizienz bei renaler Ischämie, da bekannt ist, dass TLR2 an Tubuluszellen

exprimiert wird. Auch hier kam es bei den TLR2-negativen Tieren zu einem verminderten Level an lokalen Zytokinen und Chemokinen, zu einem geringeren renalen Schaden und einem verbesserten funktionellen Outcome.

Die Wirkung von TLR im Hirn erscheint ambivalent, da TLR-Aktivierung auf der einen Seite dem lokalen Schutz vor mikrobiellen Pathogenen dient, auf der anderen Seite aber durch die Aktivierung des angeborenen Immunsystems zu einem weiterführenden Schaden des Hirnparenchyms nach initialer Schädigung führt [131].

Insgesamt sind 13 unterschiedliche Typen von TLR bekannt, wobei nur 10 Subtypen von Säugetieren exprimiert werden. Im Zusammenhang mit zerebralem Insult sind nach bisherigen Erkenntnissen vor allem TLR2 und TLR4 relevant [131].

15.2 Daten aus dem Tiermodell

15.2.1 Allgemeines zu TLRs nach zerebraler Ischämie

Lange Zeit ging man davon aus, dass die TLR-Aktivität im Hirn nur auf Gliazellen und eingewanderte Immunzellen zurückzuführen ist. Tang et al. [221] zeigten allerdings, dass auch Neurone TLR exprimieren. In der Zellkultur konnte die gesamte Bandbreite von TLR1 bis TLR9 an Nervenzellen nachgewiesen werden [221]. Stimulation der Nervenzellen mit IFN- γ führte zu einer Steigerung ihrer TLR-Expression.

Bei Tang et al. [221] wurde des Weiteren die Frage untersucht, inwieweit neuronale TLRs auf ischämische Zustände reagieren. Zu diesem Zweck wurden Neurone in der Zellkultur einer Glucose-Deprivation ausgesetzt, welche in Neuronen zu einer Ischämie-ähnlichen Stresssituation führt. Als Folge kam es zu einem Anstieg der neuronalen TLR2- und TLR4-Expression, während sich die Expression aller anderen TLRs (TLR-1,-3,-5 bis -9) nicht veränderte. TLR2 und TLR4 scheinen demnach die Rezeptorsubtypen innerhalb der TLR-Familie zu sein, die für die TLR-assoziierte immunologische Reaktion nach einem Schlaganfall verantwortlich sind. Die Reaktion auf metabolische Veränderungen, wie Glucose-Deprivation scheint im Übrigen Neuronen-spezifisch zu sein, da Astrozyten in der gleichen Versuchsanordnung nicht mit einer TLR2- und TLR4-Aufregulierung reagierten. Unter experimentell induzierter Ischämie bzw. unter Energieunterversorgung bei Glucose-Deprivation kommt es zum Anstieg von HSP 70. Als einer der endogenen Liganden des

TLRs ist es daher wahrscheinlich, dass HSP 70, neben der Hyaluronsäure der entscheidende Aktivator der unter Ischämie und metabolischem Stress aufregulierten, neuronalen TLR2- und TLR4-Expression ist [221]. Die unter diesen Konditionen ebenfalls erhöhten Level des aktivierten Transkriptionsfaktors JNK implizieren die Verwendung eines JNK-assoziierten intrazellulären Signaltransduktionsweges bei Aktivierung der neuronalen TLR2 und TLR4 [221].

TLR2- und TLR4-Defizienz führte in-vitro zu einer signifikant erhöhten Resistenz gegenüber Glukosedeprivation-induziertem Zelltod [221]. Auch im in-vivo-Modell einer Ischämie zeigten sich bei TLR2- und TLR4-defizienten Mäusen eine deutlich verminderte Parenchymschädigung sowie geringere neurologische Ausfälle [221]. TLR2- oder TLR4-knockout Mäuse wiesen zudem keine erhöhte Aktivität von JNK in Glukose-deprivierten Neuronen auf [221].

Die oben angeführten Erkenntnisse sprechen für die Verwendung unterschiedlicher TLR-induzierter Signalwege in Nervenzellen und Immunzellen:

- Immunologische Zellen: In Immunzellen [3] und Mikrogliazellen [132] kommt es nach TLR-Aktivierung über NF- κ B zur Transkription von:
 - proinflammatorischen Zytokinen, wie IL-6, TNF- α und HMGB-1 (high mobility group box-1), letzteres induziert wiederum die Bildung von TNF- α und IL-1 β [221].
 - Fas, einem TNF-Rezeptor mit einer zytoplasmatisch lokalisierten Death Domain (DD) [221]. Über die DD kommt es zur Aktivierung von Caspasen, die am Ende einer Kaskade zur Apoptose führen [107]. Dieser proapoptotische Pathway ist vor allem im Hippocampus von Bedeutung [221].
- Nervenzellen: Bei Neuronen kommt es nach Aktivierung des TLR2 oder TLR4 zur Induktion des JNK-AP-1-Pathways. Der dabei aktivierte Transkriptionsfaktor AP-1 (activator protein-1) führt zur Aktivierung der Caspase3, welche die neuronale Apoptose einleitet [221].

Dieser Signaltransduktionsweg kann durch JNK-Inhibitoren gehemmt werden, was zu einer erhöhten Resistenz der Neurone auf Energie-Unterversorgung führt [221].

Die unterschiedlichen TLR-assoziierten intrazellulären Pathways reflektieren seine unterschiedlichen Funktionen [221]. In Nervenzellen induziert der TLR wahrscheinlich den schnellen Zelltod innerhalb der ersten Stunden nach Infarkt. Durch seine Wirkung auf

Mikrogliazellen scheint der TLR die verzögerte postischämische Entzündungsreaktion zu fördern.

15.2.2 Expression von TLR4 nach zerebraler Ischämie

Im Hirn wird TLR4 vor allem von Mikrogliazellen und Astrozyten als Antwort auf einen ischämischen oder entzündlichen Stimulus exprimiert [38] und induziert eine neuroinflammatorische Reaktion [38]. Auch Neurone weisen nach experimenteller Ischämie eine erhöhte TLR4-Immunreaktivität auf [221]. Diese ist zwar weniger stark ausgeprägt wie die neuronale TLR2-Immunreaktivität, bleibt aber länger bestehen [221]. Das Ausmaß der TLR4-Expression variiert stark zwischen den verschiedenen Hirnarealen. Verstärkte Immunreaktivität zeigt sich vor allem in der Hippocampus-Formation und im Bereich von Nucleus caudatus und Putamen. Im Vgl. dazu ist die Immunreaktivität in den kortikalen Arealen und in den thalamischen Kernen geringer [92].

15.2.3 Expression von TLR2 nach zerebraler Ischämie

Die TLR2-Expression im Hirn wird nach zerebralem Insult massiv aufreguliert [131] [221]. Bereits 3 bis 48 Stunden nach Reperfusion ist die TLR2-mRNA deutlich erhöht. Die ipsilaterale Expression von TLR2 ist nach Ischämie/Reperfusion sogar deutlich höher als die von TLR4 [221] [266] und TLR9 [266]. Exprimiert wird TLR2 im postischämischen Gewebe hauptsächlich von Mikrogliazellen, aber in geringerem Maß auch von Astrozyten, Oligodendrozyten, Endothelzellen und Neuronen [266] [131]. Die TLR2-Immunreaktivität in Neuronen ist zwar in der Frühphase sehr hoch, sinkt aber bereits nach 36 Stunden wieder, während die erhöhte TLR2-Immunreaktivität in Mikrogliazellen länger besteht [221].

15.2.4 Hinweise auf schädigende Effekte von TLR4

Eine hohe Expression von TLR4 scheint zu größeren Infarktläsionen und einem ausgeprägteren neurologischen Defizit zu führen.

Diese Wirkung lässt sich aus Tierexperimenten mit Einsatz von genetisch manipulierten TLR4-defizienten Mäusen ableiten. Bei diesen äußerte sich die TLR4-Defizienz nach zerebraler Ischämie in einer geringeren Infarktgröße sowie einem besseren neurologischen Outcome [38] [92] [113]. Erklären lässt sich dies mitunter durch eine verminderte postischämische Entzündungsreaktion, die unter normalen Umständen sekundär zur Exazerbation des Ischämie-bedingten neuronalen Schadens führt. Die durch die TLR4-Deletion

verminderte Entzündungsreaktion zeigt sich auch in einer Abschwächung des daraus folgenden oxidativen Stresses. Als Marker hierfür kann Malondialdehyd verwendet werden. Malondialdehyd ist ein zytotoxisches Produkt, das bei Oxidation von Zellmembranbestandteilen durch Sauerstoff- und Stickstoff-reaktive Substanzen entsteht. Diese werden von TLR4-induzierten Enzymen wie iNOS und COX2 freigesetzt (siehe unten) [38].

Zusammenfassend werden folgende Mechanismen für die neuroprotektive Wirkung der TLR4-Deletion verantwortlich gemacht:

- Niedrigerer Level an IRF-1 (IFN-regulatory-factor-1) [38] und IRF-3 [105]: IRF-1 und IRF-3 sind in die Abläufe von Inflammation und Apoptose involviert. IRF-1-Defizienz bewirkt im Tierexperiment eine Reduktion der Läsionsgröße nach zerebraler Ischämie [96].
TLR-4-Defizienz und damit das Fehlen der IRF-3-medierten Effekte vermindert die Apoptose von Mikrogliazellen und damit ebenfalls die Größe des Infarktareals. Der IRF-3-Signalweg scheint der entscheidende Unterschied in der intrazellulären Signaltransduktion zwischen TLR2 und TLR4 zu sein. Denn nur TLR4-Aktivierung, nicht aber TLR2-Aktivierung, führt zur autoregulatorischen Apoptose von aktivierten Mikrogliazellen. Dieser Prozess muss demnach auf den TLR4 spezifischen IRF-3-Signalweg zurückgehen, der zur Induktion der IFN- β -Produktion führt. Das so produzierte Interferon- β scheint autokrin bzw. parakrin als Apoptose-Sensitizer auf die umliegenden Mikrogliazellen zu wirken [105].
- Reduzierte Werte von iNOS (inducible nitric oxid synthase) [38] [113]: iNOS ist eines der proinflammatorischen Enzyme, das durch den TLR-induzierten NF- κ B-Signalweg transkribiert wird. iNOS führt zu zytotoxischem Zelltod, ein Effekt, der durch iNOS-Inhibitoren verhindert werden kann [38].
- Verminderte COX2 Expression: Die Transkription von COX2 wird nach TLR4-Stimulation ebenfalls durch NF- κ B vermittelt. TLR4-Deletion verhindert die unter normalen Umständen nach Ischämie gesteigerte COX2-Wirkung und führt damit zu einer reduzierten Bildung von freien Radikalen [38]. TLR4-Defizienz wirkt daher ähnlich neuroprotektiv wie COX2-Inhibitoren [161] [38].

- Erhöhte Aktivität des PI3K (Phosphoinositid-3-Kinase)/AKT-Signalwegs: Dies hat eine protektive Wirkung auf neuronales Gewebe, v.a. auf den Hippocampus, der bei TLR4-Defizienz eine deutlich geringere Schädigung aufweist.
Der zugrunde liegende Mechanismus erfolgt über die Aktivierung der Proteinkinase „AKT“. AKT phosphoryliert GSK 3 β (Glycogen synthase kinase 3 β) und inaktiviert sie dadurch. GSK 3 β ist im aktivierten Zustand ein proapoptotischer Faktor, der am verzögerten neuronalen Zelltod im Hippocampus maßgeblich beteiligt zu sein scheint. Demnach führt die Aktivierung des Akt/GSK3 β -Signalweges in vulnerablen hippocampalen Neuronen zu einer erhöhten Ischämietoleranz [92].
- Geringere Expression von MMP-9, was sowohl den Precursor als auch die aktive Form einschließt [38]: Die schädigenden Effekte von MMP-9 sind bei TLR4-defizienten Mäusen vermindert. Dies kann sowohl auf die reduzierte Expression von MMP-9 zurückzuführen sein als auch auf eine verminderte Aktivierung. Für die MMP-9-Aktivierung sind einigen Studien zufolge erhöhte Konzentrationen an Stickstoffmonoxid (NO) nötig [82] [174]. Dieses ist aber bei TLR4-Deletion durch die reduzierte Aktivität von iNOS vermindert [38]. Für Caso et al. [38] stellt die Kombination von reduzierter MMP-9-Expression und geringerer iNOS-Aktivität einen der Hauptgründe für die neuroprotektive Wirkung der TLR4-Defizienz dar.

Die Mehrzahl der durch TLR4 ausgelösten Effekte erfolgt durch die Aktivierung der NF- κ B-Signalkaskade und der dadurch transkribierten proinflammatorischen Gene. Zu den Transkriptionsprodukten dieses Signalweges gehören proinflammatorische Zytokine, Chemokine und Komplementfaktoren sowie Enzyme wie COX2 und iNOS, MMP-9 und Adhäsionsmoleküle. Über diese Faktoren wirkt TLR4 an der postischämischen Hirnschädigung mit.

15.2.5 Hinweise auf schädigende Effekte von TLR2

Auch TLR2 trägt nach einem Schlaganfall entscheidend zu Hirngewebs-Schädigung bei [131]. Das beweist die Reduktion der Infarktgröße nach transienter Ischämie in TLR2-defizienten Mäusen [221] [266] [131].

Die TLR2 –Aktivierung nach einem Schlaganfall erfolgte nachgewiesenerweise endogen und nicht durch Kontamination durch exogene TLR-Liganden. Diese endogene Aktivie-

rung erfolgt wie bereits im allgemeinen Teil erwähnt durch Matrix-Komponenten des ischämischen Gewebes oder durch Hitze-Schock-Proteine (HSP). Die dadurch in Gang gesetzte intrazelluläre Signalkaskade induziert die Transkription von pro-inflammatorischen und pro-apoptotischen Genen. TLR2-Aktivierung führt demnach ebenfalls zur Exazerbation des primären ischämischen Hirnschadens [266].

15.2.6 Bedeutung anderer TLR-Subtypen

Bisher konzentrierten sich die Studien im Zuge ischämischer Hirnschädigung auf die TLR-Subtypen TLR2 und TLR4. Eine Untersuchung der Entzündungsvorgänge nach akuter Hirnverletzung von Koedel et al. [118] widerspricht allerdings der Annahme, dass TLR2 und TLR4 die entscheidenden Rezeptoren der TLR-Familie sind, welche die sekundäre Entzündungsreaktion nach ZNS-Schädigung vermitteln. In dieser Studie handelte es sich um einen Kälte-induzierten kortikalen Hirnschaden. Sowohl TLR2- als auch TLR4-Defizienz bewirkten keine Veränderung der immunologischen Reaktion auf die ZNS-Verletzung und beeinflussten auch nicht die Größe der Gewebsläsion. Eine abgeschwächte Entzündungsreaktion sowie ein verminderter Gewebsschaden zeigten sich allerdings bei MyD88-defizienten Mäusen. MyD88 ist ein intrazellulärer Signaltransduktor von TLRs (toll-like-receptors). MyD88-abhängig sind TLR7, TLR8 und TLR9. Diese TLR-Subtypen könnten demnach auch eine bedeutendere Rolle in der Pathogenese der Entzündungsreaktion spielen, die einer Hirnverletzung folgt [118].

15.2.7 Therapieoptionen

Schon des längeren sind die neuroprotektiven Effekte der Präkonditionierung mittels LPS und TLR-Liganden bei nachfolgender ischämischer Hirnschädigung bekannt [213]. Der protektive Effekt erfolgt durch Induktion einer gesteigerten ischämischen Toleranz als Reaktion auf die verschiedensten Präkonditionierungs-Stimuli. Ähnlich der endotoxischen Toleranz handelt es sich auch bei der ischämischen Toleranz um die Ausbildung eines immunsupprimierten Status, der durch eine verminderte Immunantwort auf LPS-Stimulus charakterisiert ist [109]. Die ischämische Toleranz ergibt sich laut Kariko et al. [109] aus zwei zeitabhängig unterschiedlichen Mechanismen: einer frühen Ischämietoleranz, die innerhalb weniger Minuten durch Aufbrechen von Lipidstrukturen in der Zellmembran zur Hemmung des TLR-Signalweges führt, sowie einer verzögerten Toleranzentwicklung, die erst nach einigen Stunden bis Tagen einsetzt. Diese Form führt nach initialer Aufregulie-

rung der TLR-induzierten Entzündungsreaktion sekundär zu einer Aufregulierung der antiinflammatorischen Feedback-Mechanismen. Zu diesen Mechanismen gehören Signaltransduktions-Inhibitoren, lösliche antagonisierende Rezeptoren sowie antiinflammatorische Zytokine [109].

Neben der Präkonditionierung mittels TLR4-Liganden wurde von Stevens et al. [213] auch ein protektiver Effekt durch Präkonditionierung mit TLR9-Liganden nachgewiesen. Die Reduktion des ischämischen Schadens durch Präkonditionierung scheint über eine Steigerung von TNF- α vermittelt zu werden.

15.3 Klinische Daten

15.3.1 Expression von TLRs im humanen ZNS

Auch beim Menschen konnte die Expression von TLRs im ZNS nachgewiesen werden. Bsibsi et al. [34] untersuchten in einer in-vitro-Kultur humane Gliazellen mittels Immunhistochemie. Dabei zeigten Mikrogliazellen eine ausgeprägte mRNA-Synthese der verschiedensten Rezeptoren der TLR-Familie. Astrozyten und Oligodendrozyten exprimierten im Gegensatz dazu hauptsächlich TLR2 und TLR3.

Auch an humanen Nervenzellen konnte analog zum Tiermodell die Expression von TLRs nachgewiesen werden. Sowohl Prehaud et al. [186] als auch Lafon et al. [123] zeigten eine Expression von TLR3 durch Neurone und ihre Fähigkeit, auch in Abwesenheit von Gliazellen mit einer ausgeprägten Entzündungsreaktion auf einen viralen Stimulus (dsRNA = Ligand des TLR3) zu reagieren. Die durch TLR3-Aktivierung hervorgerufene Immunantwort ähnelt der im Tiermodell und ist durch die vermehrte Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α und IL-6, Chemokinen wie CCL5 sowie antiviralen Molekülen wie IFN- β gekennzeichnet [123]. Wadachi & Hargreaves [236] beschreiben im Zusammenhang mit der Schmerzforschung auch eine Expression von TLR4 an peripheren sensorischen Nerven. Weiterführende Untersuchungen von Bsibsi et al. [34] an humanen Hirn- bzw. Rückenmarksschnitten fokussierten auf mögliche Unterschiede in der in-vivo-Expression von TLR3 und TLR4 zwischen PatientInnen mit Multipler Sklerose (MS) und einer gesunden Kontrollgruppe. Dabei zeigte sich eine erhöhte Expression von TLR3 und TLR4 im entzündlich veränderten ZNS-Gewebe der MS-PatientInnen.

TLRs scheinen demnach an einer Vielzahl von entzündlichen Prozessen im Hirn beteiligt zu sein [34].

16 Zelladhäsionsmoleküle

Zelladhäsionsmoleküle sind Transmembranproteine, die den Zellkontakt zwischen zwei Zellen bzw. die Verbindung einer Zelle mit der extrazellulären Matrix ermöglichen ([205]; S.499ff). Im Zusammenhang mit einem zerebralen ischämischen Insult sind Zelladhäsionsmoleküle von besonderer Bedeutung, weil sie die Infiltration von Leukozyten in das ischämisch geschädigte Gewebe ermöglichen und damit entscheidend an der Exazerbation der postischämischen Entzündungsreaktion teilhaben. Die Expression von Adhäsionsmolekülen durch Endothelzellen der BHS wird durch proinflammatorische Zytokine (z.B. IL-1 und IL-6) stimuliert [94].

Die Durchwanderung des Endothels durch die chemotaktisch „angelockten“ Leukozyten erfolgt in drei Schritten. Der erste Schritt wird als „rolling“ bezeichnet und beschreibt einen ersten lockeren Kontakt zwischen Leukozyt und Endothel. Nach diesem ersten losen Kontakt kommt es zur festen Bindung, der „Adhäsion,“ und schließlich zur transendothelialen Migration des Leukozyten durch die Gefäßwand [245].

Wie bereits oben angeführt kommt es im Zuge der Reperfusion nach einem ischämischen Insult zur Migration von Leukozyten, in erster Linie von Neutrophilen, in das Hirnparenchym, welche eine zusätzliche entzündliche Schädigung hervorrufen [245]. Genmanipulierte Tiere mit Adhäsionsmolekül-Defizienz weisen dementsprechend eine geringere Infarktgröße auf [245]. Die Entwicklung und Testung von Therapeutika, die diese Adhäsionsmolekül-vermittelte Leukozytenmigration verhindern, ist daher von großem klinischem Interesse.

Adhäsionsmoleküle lassen sich in drei Hauptgruppen unterteilen:

- Selektine
- Integrine
- Proteine aus der Immunglobulin-Superfamilie

16.1 Selektine

Selektine sind für die Zell-Zell-Adhäsion verantwortlich. Im Zuge der Leukozytenmigration durch die Blut-Hirn-Schranke vermitteln Selektine das „rolling“, die lockere Bindung der Leukozyten an das Endothel der postkapillären Venolen [245]. Unter den Selektinen wurden drei Subtypen identifiziert: P-Selektin, E-Selektin und L-Selektin [245]. Im Folgenden werden die Aufgaben und Wirkungen der einzelnen Selektin-Subtypen im Zusammenhang mit einem ischämischen Insult erörtert.

16.1.1 P-Selektin

16.1.1.1 Allgemeines

P-Selektin wird von Thrombozyten und Endothelzellen exprimiert. Der Name P-Selektin kommt vom englischen Begriff für Thrombozyten „platelets“, an denen seine Expression als erstes nachgewiesen wurde. Das P-Selektin ist das bestuntersuchte und wichtigste Molekül unter den Selektinen.

Neutrophile binden mit ihrem Rezeptor, dem sogenannten „sialyl Lewis X“-Rezeptor, an das P-Selektin (oder E-Selektin) der Endothelzellen [94] ([205]; S.502). Dadurch kommt es zur ersten losen Bindung der neutrophilen Granulozyten an die Gefäßwand des Kapillarstromgebietes in der Nähe des Infarktes. Dies geschieht bereits innerhalb weniger Minuten nach dem ischämischen Ereignis, was für einen intrazellulären Pool an präformierten P-Selektinen in Endothelzellen spricht [94].

Exprimiert werden die intrazellulär gespeicherten P-Selektine bei Aktivierung der Endothelzelle durch Thrombin (F II), Komplement oder Histamin [94]. Moleküle, die im Zuge des Gefäßverschlusses bzw. der darauf folgenden inflammatorischen Reaktion freigesetzt werden.

Nach dem zeitlichen Profil der P-Selektin-Expression zu urteilen spielt P-Selektin nicht nur in der initialen Phase der Ischämie eine entscheidende Rolle, sondern scheint auch an den Reperfusionsschäden beteiligt zu sein. Die P-Selektin-Expression persistiert auch in der Reperfusionsphase [268]. Als Stimulus hierfür dienen wohl die im Zuge der Reperfusion von Granulozyten und Endothelzellen freigesetzten Zytokine und Sauerstoff-Radikale [94].

Das durch P-Selektin vermittelte „Rolling“ von Leukozyten an der Gefäßwand trägt zur Obstruktion des Gefäßlumens durch die adhärenenten Leukozyten bei. Dadurch kommt es

zum Status des lokalen „no reflow“ im Kapillargebiet der reperfundierten Gefäßstrombahn [94] [268].

16.1.1.2 Tierexperiment

Im Tierversuch wurde nicht nur eine Aufregulierung von P-Selektinen nach experimentellem ischämischem Insult nachgewiesen, sondern diese auch mit einer verstärkten Entzündungsreaktion und einem größeren Hirnschaden in Zusammenhang gebracht [245]. Die Unterbindung der Wirkung von P-Selektinen unter Verwendung von P-Selektin-knock-out-Mäusen oder durch Blockade von P-Selektinen durch Fucoidin (Inhibitor von P- und L-Selektinen) [197] oder Anti-P-Selektin-Antikörper [154] führte zu einer verminderten Neutrophilen-Akkumulation [55], einer reduzierten Infarkt-Größe [94] [245] und einem besseren funktionellen Outcome [197]. Zudem verbessern monoklonale Antikörper gegen P-Selektine den „frühen Reflow“ [245].

Die Funktion von P-Selektinen und die Effektivität ihrer Blockade scheint sich aber zwischen fokalen und globalen Ischämien zu unterscheiden [245]. Während P-Selektindefiziente Mäuse nach fokaler Ischämie eine höhere Überlebensrate aufwiesen als der Wildtyp, führte der Einsatz von Anti-P-Selektin-Antikörpern bei globaler zerebraler Ischämie paradoxerweise zu einer geringeren Überlebensrate [130]. Die Gründe hierfür sind bislang noch ungeklärt, die unterschiedliche Auswirkung der P-Selektin-Blockade bei fokaler und globaler Ischämie könnte aber auf Unterschiede in der darauffolgenden Entzündungsreaktion hinweisen [245].

16.1.1.3 Klinische Studie

Da die Effektivität und Sicherheit von P-Selektin-Blockern im Tiermodell noch nicht ausreichend untersucht ist, gibt es noch keine klinischen Studien auf diesem Gebiet. Es zeigte sich aber auch beim Menschen, dass eine verstärkte P-Selektin-Expression auf Thrombozyten nach Insult mit einer klinischen Verschlechterung assoziiert ist [94]. Hierfür dürfte der durch gesteigerte Thrombozytenadhäsion hervorgerufene post-ischämische „no-reflow“ verantwortlich sein [94], der zum Untergang der Zellen in der potenziell noch revitalisierbaren Penumbra führt.

16.1.2 E-Selektin

E-Selektine werden von Endothelzellen und Leukozyten exprimiert. Im Gegensatz zu den P-Selektinen gibt es von E-Selektinen keinen präformierten intrazellulären Pool [94]. Die

Aufregulierung der E-Selektin-Expression nach zerebraler Ischämie erfolgt daher erst nach 7-24 Stunden und ist sowohl im ischämisch geschädigten Areal als auch in ipsi- und kontralateralen nicht-ischämischen Hirnregionen nachweisbar [268]. Wie das P-Selektin können auch E-Selektine nur an Endothel mit intakter Basalmembran exprimiert werden [268]. Die Relevanz von E-Selektinen im postischämischen Entzündungsprozess ist noch unklar, sie scheinen in ihrer Funktion aber weniger wichtig zu sein wie die P-Selektine [94].

16.1.2.1 Tierexperiment

Im Tierexperiment zeigte sich, nach einem ischämischen Insult in den Gefäßen des Peri-Infarktareals ein Anstieg der E-Selektin-Expression. Dieser manifestierte sich innerhalb von zwei bis vier Stunden nach Reperfusion und hielt für ca. 70 Stunden an [94].

Versuche, die Wirkung von E-Selektinen durch den Einsatz von spezifischen Antikörpern bzw. Antagonisten zu inhibieren, zeigten positive Effekte. Neben der Reduktion der Infarktgröße ergab sich durch die E-Selektin-Blockade auch ein Anstieg des zerebralen Blutflusses in der Reperfusionsphase [157] [93] und eine verminderte Neutrophilen-Infiltration [93]. Dosis-abhängig zeigte sich zudem eine Verbesserung des neurologischen Outcomes sowie eine Reduktion der Mortalität [93].

Auf diese experimentellen neuroprotektiven Effekte stützt sich die Hoffnung, durch E-Selektin-Toleranzinduktion ein Vakzin gegen zerebrale Ischämie zu finden. In letzter Zeit wurden einige solcher Versuche am Tiermodell durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die intranasale Applikation von E-Selektin eine Immuntoleranz hervorruft. Diese führt im Tiermodell sowohl zur primären Prävention von ischämischen und hämorrhagischen Infarkten [219] als auch zu einer drastischen Reduktion der Infarktgröße und einem verbesserten neurologischen Outcome im Falle eines Schlaganfalls [48] [260]. Der verminderte Ischämie-induzierte-Hirnschaden geht neben der drastischen Abregulierung der E-Selektin-Expression auch auf eine Reduktion der CD8⁺-T-Zellen und eine gesteigerte IL-10-Produktion zurück. Die gesteigerte IL-10-Produktion zeigte sich bei tolerisierten Tieren sowohl lokal im geschädigten Hirnareal als auch in Organen des peripheren Immunsystems [48] [260]. Zudem zeigte sich bei E-Selektin-tolerisierten Tieren auch ein Trend zur Abregulierung anderer Adhäsionsmoleküle wie ICAM-1 und LFA-1 (= Leukocyte function associated Antigen = Anti-CD11a) [260].

16.1.2.2 Klinische Studien

Messungen von löslichem E-Selektin (sE-Selektin) im peripheren Blut ergaben widersprüchliche Ergebnisse. In einigen Studien wurden nach Insult erhöhte sE-Selektin-Serumkonzentrationen gefunden, in anderen nicht [94].

Die lösliche, im Blut zirkulierende Form von Selektinen kommt wahrscheinlich durch Abspaltung der Adhäsionsmoleküle von aktivierten Oberflächen zustande. Inwieweit die Konzentration an löslichen Selektinen aber tatsächlich mit der Menge, der an der Oberfläche exprimierten Selektinen korreliert ist noch unklar und beschränkt die Aussagekraft solcher Messungen [94].

16.1.3 L-Selektin

L-Selektin wird wie das E-Selektin von Endothelzellen und Leukozyten exprimiert. Aber während E- und P-Selektine das Neutrophilen-, „rolling“ vermitteln, scheint L-Selektin eher als Wegweiser für noch nicht stimulierte Leukozyten zu fungieren [245]. Die Rolle des L-Selektin im Zuge eines Schlaganfalls ist noch nicht eindeutig geklärt. Den bisherigen Erkenntnissen zufolge scheint sein Einfluss allerdings beschränkt, denn Versuche mit selektiven Anti-L-Selektin-Antikörpern zeigten weder eine Auswirkung auf das Neutrophilen-Rekrutment noch auf den ischämischen Schaden. [259].

16.2 Integrine

16.2.1 Allgemeines

Integrine bestehen aus einer innerhalb einer Subgruppe konstanten β -Subunit und einer variablen α -Subunit. Es gibt drei Untergruppen der β -Subunit, welche mit dem Kürzel $\beta 1-3$ angegeben werden.

Integrine der $\beta 1$ -Untergruppe sind für den Zusammenhalt von Kollagen, Laminin und Fibronectin und damit für den Aufbau der extrazellulären Matrix zuständig [245]. Besonders wichtig ist in diesem Zusammenhang die Vermittlung der Verbindung zwischen Endothelzellen, Astrozyten und Basalmembran, was für die Integrität der Blut-Hirn-Schranke essenziell ist [94]. Zudem vermitteln $\beta 1$ -Integrine auch die Bindung von Zellen an Proteine der extrazellulären Matrix (z.B. von-Willebrand-Faktor).

$\beta 2$ -Integrine (=CD18) vermitteln die Zelladhäsion von Leukozyten und sind damit im Zusammenhang mit dem postischämischen Entzündungsprozess von besonderem Interesse.

Mitglieder der β 3-Untergruppe sind hauptsächlich an der Thrombozytenaggregation beteiligt. So gehört z.B. das Glykoprotein IIb/IIIa an der Oberfläche von Thrombozyten zu dieser Gruppe von Integrinen [245].

Im Bereich der Schlaganfall-Forschung beschäftigt man sich vor allem mit den β 2-Integrinen, da diese für die postischämische Leukozyteninfiltration hauptverantwortlich sind. Während Selektine nur eine erste lose Verbindung zwischen Endothel und Leukozyten herstellen können, vermitteln β 2-Integrine die feste Bindung von Leukozyten an das Endothel und in weiterer Folge die Transmigration in das ischämische Gewebe ([205]; S.499ff).

β 2-Integrine befinden sich ausschließlich auf Leukozyten, wobei man, je nach Aufbau der dazugehörigen α -Subunit, drei Typen von β 2-Integrinen unterscheidet ([205]; S.499ff):

- CD11a/CD18 (α -Subunit/ β -Subunit): Das CD11a/CD18-Integrin wird auch als LFA-1 (Lymphozyten funktionsassoziiertes Antigen) bezeichnet und wird auf T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, NK-Zellen, neutrophilen Granulozyten und Monozyten exprimiert. Als Liganden dienen die, am Endothel exprimierten, Integrine der Immunglobulin-Superfamilie ICAM-1, ICAM-2 und ICAM-3 ([205]; S.499ff).
- CD11b/CD18: Das CD11b/CD18-Integrin wird auch als Mac-1 bezeichnet und bindet am Endothel an ICAM-1 [94].
- CD11c/CD18

Die Expression von Integrinen auf Leukozyten wird durch den Kontakt mit Chemokinen (IL-8 =Chemoattractant für Neutrophile; MIP-1 = Chemoattractant für Monozyten) oder anderen Entzündungsmediatoren aufreguliert ([205]; S.499ff). Die Bindung von LFA-1 an dessen Liganden am Endothel (z.B. ICAM-1) führt zur Stimulation der Leukozyten und ermöglicht damit die Diapedese, das Hindurchwandern durch die Endothelzellen. Hierfür bedarf es vor allem die Interaktion zwischen dem CD11b/CD18-Integrin der Leukozyten mit dem Fibronektin des Bindegewebes bzw. dem Laminin der Basalmembran ([205]; S.499ff).

16.2.2 Tierexperiment

Die meisten experimentellen Schlaganfallstudien beziehen sich auf das CD11b/CD18-Integrin. So konnte im in-vitro-Versuch nachgewiesen werden, dass Hypoxie zu einer Aufregulierung von CD11b/CD18-Integrinen auf Neutrophilen führt. Eine Blockade des gesamten Moleküls oder einer Subunit (CD11b oder CD18) durch

monoklonale Antikörper führte nach experimenteller Ischämie zu einer verminderten Neutrophilen-Infiltration und zu einer geringeren Infarktgröße [245] [263]. Zum Teil scheint diese Wirkung auf verminderte Apoptose der Zellen im geschädigten Areal rückführbar zu sein, wie sich unter Verwendung des Anti-CD11b/CD18-Antikörpers herausstellte [50]. Der Einsatz von Anti-CD11b-Antikörpern war sogar noch effektiv, wenn sie erst zwei Stunden nach der Reperfusion appliziert wurden [263].

16.2.3 Klinische Studien

Bisher gibt es nur wenige klinische Studien, in denen die Wirkung eines Anti-CD11/CD18-Antikörpers nach einem Schlaganfall untersucht wurde. Eine klinische Studie mit Rovelizumab [104], einem monoklonalen Antikörper gegen das CD11/CD18-Adhäsionsmolekül an Leukozyten, erwies sich als sicher in der Anwendung, zeigte aber keine signifikant positiven Effekte. Eine Studie von Becker et al. [19] unter Verwendung eines humanisierten Anti-CD11/CD18-Antikörpers (LeukArrest) wurde aufgrund der beträchtlichen Nebenwirkungen bei mangelnder Wirksamkeit vorzeitig beendet [19].

Die Gründe, warum eine solche Therapie im Tierversuch gute Ergebnisse erbrachte und beim Menschen nicht, sind jedoch noch unklar. Mitunter könnten Unterschiede der Integrin-Expression von Neutrophilen zwischen Mensch und Tier dafür verantwortlich sein. Denn während die CD11b-Expression im Tiermodell nach zerebraler Ischämie anstieg, zeigte sich bei SchlaganfallpatientInnen tatsächlich eine verminderte CD11b-Expression [245].

Unter Umständen ist auch das Phänomen des „No-reflows“ bei Tieren relevanter als beim Menschen [94].

16.3 Proteine der Immunglobulin-Superfamilie

16.3.1 Allgemeines

Die dritte Gruppe unter den Adhäsionsmolekülen gehört zur Familie der Immunglobuline. Zu dieser Gruppe zählen fünf verschiedene Adhäsionsmoleküle, welche an der Oberfläche aktivierter Endothelien exprimiert werden und die Leukozyten-Adhäsion ermöglichen.

- ICAM-1: wird auch als CD54 bezeichnet und wird in geringen Konzentrationen kontinuierlich an Endothelzellen, Leukozyten, Epithelzellen und Fibroblasten exprimiert [245]. Bei Stimulation der Zellen durch Zytokine, vor allem durch proin-

flammatorische wie IL-1 α und TNF- α , kommt es zur Aufregulierung deren Expression an der Zelloberfläche [94].

- ICAM-2 (CD102): wird ausschließlich von Endothelzellen exprimiert, und im Gegensatz zu den meisten anderen Adhäsionsmolekülen, nach Stimulation nicht aufreguliert [245].
- PECAM-1 (platelet-endothelial cell adhesion molecular-1; CD31): Funktion als Kontaktmolekül zwischen Endothelzellen; Vermittlung der Diapedese von Leukozyten [245].
- MAdCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule-1; CD 146): ist der Ligand für das von Leukozyten exprimierte L-Selektin an Gefäßendothel und Mucosa. In Bezug auf letzteres hat sich dieses Adhäsionsmolekül als besonders wichtig für das selektive „homing“ von Lymphozyten in das Mucosa-assoziierte-lymphatische-Gewebe (MALT) des Gastrointestinaltrakts herausgestellt [245].
- VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1; CD106): wird ebenfalls ausschließlich von aktivierten Endothelzellen exprimiert. Stimuliert wird dessen Expression durch die proinflammatorischen Zytokine IL-1 und TNF- α [245] ([100]; S.267)

16.3.2 ICAM-1

16.3.2.1 Allgemeines

ICAM-1 dient als Ligand für die verschiedensten β 2-Integrine, darunter auch LFA-1, einem Adhäsionsmolekül, das auf vielen Entzündungszellen (T-Lymphozyten, B- Lymphozyten, NK-Zellen, neutrophilen Granulozyten und Monozyten) exprimiert wird. Die ICAM-1-Expression erfolgt v.a. durch Endothelzellen, nach Zytokin-Stimulation aber auch vermehrt durch Astrozyten und Neurone [204] [26].

Den bisherigen Untersuchungsergebnissen zur Folge scheint ICAM-1 vor allem in der ersten Phase nach Ischämie und Reperfusion eine Rolle zu spielen.

Im in-vitro-Experiment mit kultivierten humanen Endothelzellen zeigt sich bereits nach einer Stunde Ischämie ein Anstieg der ICAM-1-Expression mit einem Peak innerhalb der ersten vier bis zehn Stunden nach Reperfusion. Die Expression bleibt insgesamt für ca. eine Woche erhöht. In dieser Phase geht die erhöhte ICAM-1-Expression mit dem vermehrten Einwandern von neutrophilen Granulozyten einher. Erst nach der Senkung des ICAM-1-Spiegels nach ca. zweieinhalb Wochen kommt es zum massiven Einwandern von Monozyten/Makrophagen, was den Schluss nahe legt, dass ICAM-1 nur an der Neutrophi-

leninvasion in der Frühphase, nicht aber an der Monozyteninvasion in der Spätphase involviert ist [94]. In der zeitlichen Folge der Aufregulierung von Adhäsionsmolekülen nach Ischämie folgt der Peak von ICAM-1 nach 4 Stunden, dem P-Selektin, welches auf Grund des intrazellulären Pools an vorgefertigten P-Selektin-Molekülen als erstes innerhalb kürzester Zeit am Endothel exprimiert wird. ICAM-1 muss im Gegensatz dazu erst de-novo synthetisiert werden. Die zeitliche Reihenfolge der Adhäsionsmolekülexpression entspricht ihren Funktionen. Während das P-Selektin den ersten losen Kontakt zwischen Endothel und den chemotaktisch angelockten Leukozyten (v.a. Neutrophile) herstellt, kommt es durch die Interaktion des β 2-Integrins (CD18) an Leukozyten mit dessen Rezeptor, dem ICAM-1 Molekül an Endothelzellen, zur festen Bindung. Durch die nun feste Adhäsion der Leukozyten am Endothel trägt ICAM-1 entscheidend am Phänomen des „no-reflow“ bei, das durch die Akkumulation von Leukozyten zu Stande kommt, die das Lumen kleiner Gefäße verstopfen [94].

Neben dem durch Adhäsionsmoleküle vermittelten negativen Effekt des no-reflow, kommt es durch ICAM-1 auch zum Influx von Neutrophilen, die durch ihr zytotoxisches Potenzial zu einer zusätzlichen Schädigung des ischämischen Areals führen. Die Inhibierung von ICAM-1 könnte diese schädlichen Effekte reduzieren.

16.3.2.2 Tierexperiment

Obwohl die durch Thrombolyse ermöglichte Reperfusion von unschätzbarem Wert ist, da nur so das Überleben der Zellen im ischämisch geschädigten Areal möglich wird, führt sie über das vermehrte Einschwemmen von Entzündungszellen auch zu einer zusätzlichen Schädigung. Dieser Reperfusionsschaden kommt durch die Freisetzung von freien Radikalen und proteolytischen Enzymen zustande und wird in der ersten Phase der Reperfusion vor allem durch neutrophile Granulozyten vermittelt [18] [54]. Im Tierversuch konnte die Invasion von Neutrophilen in das postischämische Gewebe eindeutig mit einer Progression des Hirnschadens, einem reduzierten Blutfluss und einem schlechteren neurologischen Outcome in Verbindung gebracht werden [20] [117] [55]. ICAM-1-Gen-Deletion führt im Mäusemodell zu einem geringeren Infarkt volumen, einem verminderten neurologischen Defizit und höheren Überlebensraten. Die Tatsache, dass das Fehlen der ICAM-1-Expression bei diesen Tieren auch eine deutliche Steigerung des Blutflusses zur Folge hatte, unterstreicht die Wichtigkeit von ICAM-1 bei der Vermittlung des „no-reflow“ [55]. Auch der Einsatz von Anti-ICAM-1-Antikörpern führte zu einem reduzierten Gewebeschaden [94]. Interessanterweise zeigte sich durch Anti-ICAM-1-Antikörper aber auch eine

signifikante Reduktion der apoptotischen Zellmasse im ischämischen Areal [50]. Die protektive Wirkung von Anti-ICAM-1-Antikörpern scheint demnach nicht nur auf dem verbesserten Blutfluss und der abgeschwächten Entzündungsreaktion zu basieren, sondern auch auf einem antiapoptotischen Effekt. Dieser könnte durch einen direkten Effekt des Antikörpers auf die Parenchymzellen vermittelt werden oder indirekt über die Reduktion von Neutrophilen und anderen Entzündungszellen. Diese setzen im Zuge des Entzündungsprozesses Sauerstoffradikale und Proteasen frei, Substanzen, die die Apoptose induzieren [50].

Eine ähnlich neuroprotektive Wirkung, wie durch die Applikation von spezifischen Anti-ICAM-1-Antikörpern, ergab sich durch Ibuprofen [10] oder Stickstoff-Donoren [112]. In beiden Fällen scheint die protektive Wirkung auf einer Senkung der ICAM-1-Expression zu beruhen.

16.3.2.3 Klinische Studien

Durch Messungen der Serumkonzentration von löslichen Adhäsionsmolekülen (Präfix s- für soluble), die durch proteolytische Abspaltung von aktivierten Endothelzellen und Leukozyten frei werden, versucht man, indirekt auf die Konzentration der intrazerebral exprimierten Adhäsionsmoleküle rückzuschließen. Dabei zeigte sich bei SchlaganfallpatientInnen im Vergleich zur gesunden Normalpopulation eine erhöhte Konzentration von sICAM-1 sowohl im peripheren Blut als auch im Liquor cerebrospinalis [242] [201]. Für die Konzentration von sVCAM-1 und sE-Selektin nach einem Schlaganfall sind die Ergebnisse uneinheitlich. Während die Konzentration von sVCAM-1 und sE-Selektin bei Selakovic et al. [201] in Serum und Liquor ebenfalls anstieg, zeigte sich bei Wang et al. [242] keine Veränderung ihrer Konzentration.

Auch bei Fassbender et al. [67] fanden sich erhöhte Serumkonzentrationen von sICAM-1 bei SchlaganfallpatientInnen. Es zeigte sich aber, dass sICAM auch bei RisikopatientInnen für Atherosklerose (Raucher, Hypertoniker, PatientInnen mit Diabetes mellitus oder Hypercholesterinämie) noch vor dem Auftreten eines Infarktes erhöht waren [67] [68]. Der Schlaganfall selbst führte zu keinem weiteren Anstieg der Serumkonzentration [67]. ICAM-1, als Vermittler der Leukozytenadhäsion und deren transendothelialer Migration, scheint demnach auch an der Pathogenese der Atherosklerose beteiligt zu sein. Zur Aktivierung des Endothels mit Aufregulierung des Adhäsionsmoleküls ICAM-1 kommt es wahrscheinlich aufgrund der chronischen Reizung des Endothels durch die vaskulären Risikofaktoren. Die mit Hilfe des ICAM-1 einwandernden Entzündungszellen führen über

die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffradikalen und Enzymen zu vaskulären Schäden, die die Entstehung von atherosklerotischen Plaques und deren Destabilisierung begünstigen [67]. Die Aussagekraft dieser und anderer Studien mit Messungen von löslichen Adhäsionsmolekülen ist allerdings nur eingeschränkt, da unsicher ist, ob zerebrale Endothelzellen die Quelle der löslichen Adhäsionsmoleküle darstellen, da diese auch aus postischämisch aktivierten Endothelzellen und Leukozyten anderer Lokalisation stammen könnten [242]. Die wenigen bisher durchgeführten klinischen Studien, deren Ziel es war, die Neutrophilen-Invasion durch Anti-ICAM-1-Antikörper (ENLIMOMAB [203]) oder andere Mechanismen (Anti-Leukozyten-Antikörper: LeukArrest (HU23F2G) [19]) zu inhibieren, waren erfolglos. Eine große Studie unter Verwendung eines murinen Antikörpers (ENLIMOMAB) gegen ICAM-1, welcher in mehreren experimentellen Versuchen am Tier sehr gute Ergebnisse erzielte, musste aufgrund der negativen Auswirkungen vorzeitig beendet werden. PatientInnen, die Enlimomab erhielten, wiesen in der postischämischen Phase eine höhere Rate an Komplikationen auf, darunter vor allem Fieber und Infektionen, die mit einer höheren Mortalität assoziiert waren [203]. Ursache hierfür könnte die Verwendung eines nicht-humanisierten Antikörpers sein. Dies könnte zu einer inflammatorischen Reaktion mit Bildung von humanen spezifischen Antikörpern gegen den monoklonalen Antikörper ENLIMOMAB, mit unspezifischer Aktivierung des Komplementsystems oder Überstimulation anderer Adhäsionsmoleküle, führen [40] [94] [73].

16.4 Adhäsionsmoleküle als Marker für das neurologische Outcome

In einigen klinischen Studien wurden lösliche Adhäsionsmoleküle im peripheren Blut gemessen und deren Konzentration mit dem klinischen Outcome verglichen.

Hohe Konzentrationen von sICAM-1 am Tag der stationären Aufnahme waren dabei mit größeren ischämischen Läsionen und einer sekundären neurologischen Verschlechterung assoziiert [242], während ein Abfall der Serumkonzentration der verschiedensten löslichen Adhäsionsmoleküle (sICAM-1, sVCAM-1 und sE-Selektin) zwischen dem 1. und 4. Tag nach Infarkt mit einer klinischen Verbesserung einherging [29]. Bei Stagnation bzw. Verschlechterung der klinischen Symptomatik zeigte sich kein Abfall der Adhäsionsmolekül-Konzentrationen im Serum [29].

Lösliche Adhäsionsmoleküle könnten demnach auch als Marker für das klinische Outcome verwendet werden.

17 Referenzen

- [1] D. Acalovschi, T. Wiest, M. Hartmann, M. Farahmi, U. Mansmann, G. U. Auffarth, A. J. Grau, F. R. Green, C. Grond-Ginsbach, and M. Schwaninger. Multiple levels of regulation of the interleukin-6 system in stroke. *Stroke*, 34(8):1864–1869, August 2003.
- [2] L. Acarin, B. Gonzalez, and B. Castellano. Neuronal, astroglial and microglial cytokine expression after an excitotoxic lesion in the immature rat brain. *European Journal of Neuroscience*, 12(10):3505–3520, 2000.
- [3] A. Aderem and R. J. Ulevitch. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *pathways*, 2:3.
- [4] R. M. Adibhatla, R. Dempsy, and J. F. Hatcher. Integration of cytokine biology and lipid metabolism in stroke. *Front Biosci*, 13:1250–1270, 2008.
- [5] S. Akira and S. Sato. Toll-like receptors and their signaling mechanisms. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35(9):555–562, 2003.
- [6] A. Algra, P. C. Gates, A. J. Fox, V. Hachinski, and H. J. M. Barnett. Side of brain infarction and long-term risk of sudden death in patients with symptomatic carotid disease. *Stroke*, 34(12):2871, 2003.
- [7] C. Ali, O. Nicole, F. Docagne, S. Lesne, E. T. Mackenzie, A. Nouvelot, A. Buisson, and D. Vivien. Ischemia-induced interleukin-6 as a potential endogenous neuroprotective cytokine against nmda receptor-mediated excitotoxicity in the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 20:956–966, 2000.
- [8] A. V. Andjelkovic and J. S. Pachter. Characterization of binding sites for chemokines mcp-1 and mip-1 [alpha] on human brain microvessels. *Journal of Neurochemistry*, 75(5):1898, 2000.
- [9] A. V. Andjelkovic, D. D. Spencer, and J. S. Pachter. Visualization of chemokine binding sites on human brain microvessels, 1999.
- [10] D. F. Antezana, R. E. Clatterbuck, N. J. Alkayed, S. J. Murphy, L. G. Anderson, J. Frazier, P. D. Hurn, R. J. Traystman, and R. J. Tamargo. High-dose ibuprofen for reduction of striatal infarcts during middle cerebral artery occlusion in rats. *JOURNAL OF NEUROSURGERY*, 98(4):860–866, 2003.
- [11] A. Arakelyan. Serum levels of the mcp-1 chemokine in patients with ischemic stroke and myocardial infarction. *Mediators of Inflammation*, 2005(3):175–179, 2005.

- [12] M. Asahi, K. Asahi, J. C. Jung, Del G. J. Zoppo, M. E. Fini, and E. H. Lo. Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: Effects of gene knockout and enzyme inhibition with bb-94. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 20:1681–1689, 2000.
- [13] A. Asea, M. Rehli, E. Kabingu, J. A. Boch, O. Bare, P. E. Auron, M. A. Stevenson, and S. K. Calderwood. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular hsp70 role of toll-like receptor (tlr) 2 and tlr4. *Journal of Biological Chemistry*, 277(17):15028–15034, 2002.
- [14] S. Aslanyan, C. J. Weir, H. C. Diener, M. Kaste, and K. R. Lees. Pneumonia and urinary tract infection after acute ischaemic stroke: a tertiary analysis of the gain international trial. *European Journal of Neurology*, 11:49–53, 2004.
- [15] H. Ay, W. J. Koroshetz, T. Benner, M. G. Vangel, C. Melinosky, E. M. Arsava, C. Ayata, M. Zhu, L. H. Schwamm, and A. G. Sorensen. Neuroanatomic correlates of stroke-related myocardial injury. *Neurology*, 66(9):1325–1329, 2006.
- [16] M. Barber, J. J. Morton, P. W. Macfarlane, N. Barlow, G. Roditi, and D. J. Stott. Elevated troponin levels are associated with sympathoadrenal activation in acute ischaemic stroke. *Cerebrovasc Dis*, 23(4):260–266, 2007.
- [17] F. C. Barone, B. Arvin, R. F. White, A. Miller, C. L. Webb, R. N. Willette, P. G. Lysko, and G. Z. Feuerstein. Tumor necrosis factor- α A mediator of focal ischemic brain injury. *Stroke*, 28(6):1233–1244, 1997.
- [18] J. Beck, W. Stummer, J. Lehmborg, A. Baethmann, and E. Uhl. Activation of leukocyte–endothelial interactions and reduction of selective neuronal death after global cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*, 414(2):159–164, 2007.
- [19] K. J. Becker. Anti-leukocyte antibodies: Leukarrest (hu23f2g) and enlimomab (r6.5) in acute stroke. 2002.
- [20] M. M. Bednar, S. Raymond, T. McAuliffe, P. A. Lodge, and C. E. Gross. The role of neutrophils and platelets in a rabbit model of thromboembolic stroke. *Stroke*, 22(1):44–50, 1991.
- [21] A. Belmadani, P. B. Tran, D. Ren, and R. J. Miller. Chemokines regulate the migration of neural progenitors to sites of neuroinflammation. *Journal of Neuroscience*, 26(12):3182–3191, 2006.
- [22] Krizanac L. Bengez, M. Kapural, F. Parkinson, L. Cucullo, M. Hossain, M. R. Mayberg, and D. Janigro. Effects of transient loss of shear stress on blood–brain barrier endothelium: role of nitric oxide and il-6. *Brain Research*, 977(2):239–246, 2003.

- [23] F. Berkenbosch, D. E. C. de Goeij, A. Del Rey, and H. O. Besedovsky. Neuroendocrine, sympathetic and metabolic responses induced by interleukin-1. *Neuroendocrinology*, 50(5):570–6, 1989.
- [24] T. R. Bernik, S. G. Friedman, M. Ochani, R. Diraimo, S. Susarla, C. J. Czura, and K. J. Tracey. Cholinergic antiinflammatory pathway inhibition of tumor necrosis factor during ischemia reperfusion. *Journal of Vascular Surgery*, 36(6):1231–1236, 2002.
- [25] T. R. Bernik, S. G. Friedman, M. Ochani, R. Diraimo, L. Ulloa, H. Yang, S. Sudan, C. J. Czura, S. M. Ivanova, and K. J. Tracey. Pharmacological stimulation of the cholinergic antiinflammatory pathway. *Journal of Experimental Medicine*, 195(6):781–788, 2002.
- [26] H. H. Birdsall. Induction of icam-1 on human neural cells and mechanisms of neutrophil-mediated injury. *American Journal of Pathology*, 139(6):1341–1350, 1991.
- [27] J. M. Blander and R. Medzhitov. Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors, 2004.
- [28] F. Block, M. Peters, and M. Nolden-Koch. Expression of il-6 in the ischemic penumbra. *Neuroreport*, 11(5):963–967, April 2000.
- [29] A. Blum, K. Khazim, M. Merei, A. Peleg, N. Blum, and V. Vaispapir. The stroke trial - can we predict clinical outcome of patients with ischemic stroke by measuring soluble cell adhesion molecules (cam)? *Eur Cytokine Netw*, 17(4):295–298, December 2006.
- [30] N. M. Bornstein, B. Aronovich, A. D. Korczyn, S. Shavit, D. M. Michaelson, and J. Chapman. Antibodies to brain antigens following stroke, 2001.
- [31] L. V. Borovikova, S. Ivanova, M. Zhang, H. Yang, G. I. Botchkina, L. R. Watkins, H. Wang, N. Abumrad, J. W. Eaton, and K. J. Tracey. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405(6785):458–62, 2000.
- [32] V. Braunersreuther, F. Mach, and S. Steffens. The specific role of chemokines in atherosclerosis. *Thromb Haemost*, 97(5):714–721, May 2007.
- [33] A. J. Bruce, W. Boling, M. S. Kindy, J. Peschon, P. J. Kraemer, M. K. Carpenter, F. W. Holtsberg, and M. P. Mattson. Altered neuronal and microglial responses to excitotoxic and ischemic brain injury in mice lacking TNF receptors. *Nature Medicine*, 2(7):788–794, 1996.
- [34] M. Bsibsi, R. Ravid, D. Gveric, and J. M. van Noort. Broad expression of toll-like receptors in the human central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*, 61(11):1013–21, 2002.
- [35] Y. Bulut, E. Faure, L. Thomas, H. Karahashi, K. S. Michelsen, O. Equils, S. G. Morrison, R. P. Morrison, and M. Arditì. Chlamydial heat shock protein 60 activates

macrophages and endothelial cells through toll-like receptor 4 and md2 in a myd88-dependent pathway 1. *The Journal of Immunology*, 168(3):1435–1440, 2002.

[36] Alvarez A. Buylla and Garcia J. M. Verdugo. Neurogenesis in adult subventricular zone, 2002.

[37] I. L. Campbell, C. R. Abraham, E. Masliah, P. Kemper, J. D. Inglis, M. B. Oldstone, and L. Mucke. Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6. *Proc Natl Acad Sci US A*, 90(21):10061–5, 1993.

[38] J. R. Caso, J. M. Pradillo, O. Hurtado, P. Lorenzo, M. A. Moro, and I. Lizasoain. Toll-like receptor 4 is involved in brain damage and inflammation after experimental stroke. *Circulation*, 115(12):1599, 2007.

[39] M. Castellanos, T. Sobrino, M. Millán, M. García, J. Arenillas, F. Nombela, D. Brea, Perez, J. Serena, J. Vivancos, J. Castillo, and A. Dávalos. Serum cellular fibronectin and matrix metalloproteinase-9 as screening biomarkers for the prediction of parenchymal hematoma after thrombolytic therapy in acute ischemic stroke: a multicenter confirmatory study. *Stroke*, 38(6):1855–1859, June 2007.

[40] J. Castillo and R. Leira. Predictors of deteriorating cerebral infarct: Role of inflammatory mechanisms. would its early treatment be useful? *Logo*, 11:1, 2001.

[41] N. S. Cells. Stimulation of the vagus nerve attenuates macrophage activation by activating the Jak2-STAT3 signaling pathway. *Nature Immunology*, 6:844–851, 2005.

[42] Chamorro, S. Amaro, M. Vargas, V. Obach, Cervera, Gómez M. Choco, F. Torres, and A. M. Planas. Catecholamines, infection, and death in acute ischemic stroke. *Journal of the Neurological Sciences*, 252(1):29–35, 2007.

[43] A. Chamorro, S. Amaro, M. Vargas, V. Obach, A. Cervera, F. Torres, and A. M. Planas. Interleukin 10, monocytes and increased risk of early infection in ischaemic stroke. *British Medical Journal*, 77(11):1279, 2006.

[44] A. Chamorro, J. P. Horcajada, V. Obach, M. Vargas, M. Revilla, F. Torres, A. Cervera, A. M. Planas, and J. Mensa. The early systemic prophylaxis of infection after stroke study a randomized clinical trial, 2005.

[45] A. Chamorro, X. Urra, and A. M. Planas. Infection after acute ischemic stroke. a manifestation of brain-induced immunodepression. *Stroke*, page 01, 2007.

[46] X. Che, W. Ye, L. Panga, D. C. Wu, and G. Y. Yang. Monocyte chemoattractant protein-1 expressed in neurons and astrocytes during focal ischemia in mice. *Brain Research*, 902(2):171–177, 2001.

- [47] Y. Chen, J. M. Hallenbeck, C. Ruetzler, D. Bol, K. Thomas, N. E. J. Berman, and S. N. Vogel. Overexpression of monocyte chemoattractant protein 1 in the brain exacerbates ischemic brain injury and is associated with recruitment of inflammatory cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 23:748–755, 2003.
- [48] Y. Chen, C. Ruetzler, S. Pandipati, M. Spatz, R. M. Mccarron, K. Becker, and J. M. Hallenbeck. Mucosal tolerance to e-selectin provides cell-mediated protection against ischemic brain injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(25):15107–15112, 2003.
- [49] R. T. F. Cheung and V. Hachinski. The insula and cerebrogenic sudden death, 2000.
- [50] M. Chopp, Y. Li, N. Jiang, R. L. Zhang, and J. Probst. Antibodies against adhesion molecules reduce apoptosis after transient middle cerebral artery occlusion in rat brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 16:578–584, 1996.
- [51] A. W. Clark, C. A. Krekoski, S. S. Bou, K. R. Chapman, and D. R. Edwards. Increased gelatinase a (mmp-2) and gelatinase b (mmp-9) activities in human brain after focal ischemia. *Neurosci Lett*, 238(1-2):53–56, November 1997.
- [52] W. M. Clark, L. G. Rinker, N. S. Lessov, K. Hazel, and F. Eckenstein. Time course of il-6 expression in experimental cns ischemia. *Neurol Res*, 21(3):287–92, 1999.
- [53] F. Colivicchi, A. Bassi, M. Santini, and C. Caltagirone. Prognostic implications of right-sided insular damage, cardiac autonomic derangement, and arrhythmias after acute ischemic stroke, 2005.
- [54] E. S. Connolly, C. J. Winfree, C. J. Prestigiacomo, S. C. Kim, T. F. Choudhri, B. L. Hoh, Y. Naka, R. A. Solomon, and D. J. Pinsky. Exacerbation of Cerebral Injury in Mice That Express the P-Selectin Gene Identification of P-Selectin Blockade as a New Target for the Treatment of Stroke. *Circulation Research*, 81(3):304–310, 1997.
- [55] E. S. Connolly, C. J. Winfree, T. A. Springer, Y. Naka, H. Liao, S. D. Yan, D. M. Stern, R. A. Solomon, Gutierrez J. C. Ramos, and D. J. Pinsky. Cerebral protection in homozygous null icam-1 mice after middle cerebral artery occlusion. *J Clin Invest*, 97(1):209–216, 1996.
- [56] E. Cuadrado, L. Ortega, Hernandez M. Guillamon, A. Penalba, Fernandez I. Cadenas, A. Rosell, and J. Montaner. Tissue plasminogen activator (t-PA) promotes neutrophil degranulation and MMP-9 release. *Journal of Leukocyte Biology*, 84(1):207, 2008.
- [57] C. J. Czura and K. J. Tracey. Autonomic neural regulation of immunity. *Journal of internal medicine*, 257(2):156–166, 2005.

- [58] S. A. Dambinova, G. A. Khounteev, G. A. Izykenova, I. G. Zavolokov, A. Y. Ilyukhina, and A. A. Skoromets. Blood test detecting autoantibodies to n-methyl-d-aspartate neuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke. *Clinical Chemistry*, 49:1752–1762, 2003.
- [59] R. J. Davenport, M. S. Dennis, I. Wellwood, and C. P. Warlow. Complications after acute stroke. *Stroke*, 27(3):415–420, 1996.
- [60] O. B. Dimitrijevic, S. M. Stamatovic, R. F. Keep, and A. V. Andjelkovic. Absence of the chemokine receptor ccr2 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *Stroke*, 38(4):1345–1353, April 2007.
- [61] U. Dirnagl, J. Klehmet, J. S. Braun, H. Harms, C. Meisel, T. Ziemssen, K. Prass, and A. Meisel. Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance. *Stroke*, 38:770–773, February 2006.
- [62] B. Dybdahl, A. Wahba, E. Lien, T. H. Flo, A. Waage, N. Qureshi, O. F. M. Sellevold, T. Espevik, and A. Sundan. Inflammatory response after open heart surgery release of heat-shock protein 70 and signaling through toll-like receptor-4, 2002.
- [63] C. T. Ekdahl, Z. Kokaia, and O. Lindvall. Brain inflammation and adult neurogenesis: The dual role of microglia. *Neuroscience*, 2008.
- [64] H. C. Emsley, C. J. Smith, C. M. Gavin, R. F. Georgiou, A. Vail, E. M. Barberan, J. M. Hallenbeck, Del G. J. Zoppo, N. J. Rothwell, P. J. Tyrrell, and Others. An early and sustained peripheral inflammatory response in acute ischaemic stroke: relationships with infection and atherosclerosis. *J Neuroimmunol*, 139(1-2):93–101, 2003.
- [65] Hedley C. A. Emsley, Craig J. Smith, Carole M. Gavin, Rachel F. Georgiou, Andy Vail, Elisa M. Barberan, Karen Illingworth, Sylvia Scarth, Vijitha Wickramasinghe, Margaret E. Hoadley, Nancy J. Rothwell, Pippa J. Tyrrell, and Stephen J. Hopkins. Clinical outcome following acute ischaemic stroke relates to both activation and autoregulatory inhibition of cytokine production. *BMC Neurology*, 7:5+, February 2007.
- [66] L. Fantuzzi, P. Borghi, V. Ciolli, G. Pavlakis, F. Belardelli, and S. Gessani. Loss of ccr2 expression and functional response to monocyte chemoattractant protein (mcp-1) during the differentiation of human monocytes: Role of secreted mcp-1 in the regulation of the chemotactic response. *Blood*, 94(3):875, 1999.
- [67] K. Fassbender, R. Mossner, L. Motsch, U. Kischka, A. Grau, and M. Hennerici. Circulating selectin-and immunoglobulin-type adhesion molecules in acute ischemic stroke. *Stroke*, 26(8):1361–1364, 1995.

- [68] K. Fassbender, S. Rossol, T. Kammer, M. Daffertshofer, S. Wirth, M. Dollman, and M. Hennerici. Proinflammatory cytokines in serum of patients with acute cerebral ischemia: kinetics of secretion and relation to the extent of brain damage and outcome of disease. *J Neurol Sci*, 122(2):135–9, 1994.
- [69] C. Ferrarese, P. Mascarucci, C. Zoia, R. Cavarretta, M. Frigo, B. Begni, F. Sarinella, L. Frattola, and M. G. De Simoni. Increased cytokine release from peripheral blood cells after acute stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 19:1004–1009, 1999.
- [70] F. Francis, A. Koulakoff, D. Boucher, P. Chafey, B. Schaar, M. C. Vinet, G. Friocourt, N. McDonnell, O. Reiner, A. Kahn, and Others. Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *NEURON-CAMBRIDGE MA-*, 23:247–256, 1999.
- [71] N. G. Frangogiannis. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost*, 97(5):738–747, May 2007.
- [72] D. Frenkel, Z. Huang, R. Maron, D. N. Koldzic, W. W. Hancock, M. A. Moskowitz, and H. L. Weiner. Nasal vaccination with myelin oligodendrocyte glycoprotein reduces stroke size by inducing il-10-producing cd4+ t cells. *J Immunol*, 171(12):6549–6555, December 2003.
- [73] K. Furuya, H. Takeda, S. Azhar, R. M. Mccarron, Y. Chen, C. A. Ruetzler, K. M. Wolcott, T. J. Degraha, R. Rothlein, T. E. Hugli, and Others. Examination of several potential mechanisms for the negative outcome in a clinical stroke trial of enlimomab, a murine anti-human intercellular adhesion molecule-1 antibody a bedside-to-bench study, 2001.
- [74] D. S. Gary, Bruce A. J. Keller, M. S. Kindy, and M. P. Mattson. Ischemic and excitotoxic brain injury is enhanced in mice lacking the p55 tumor necrosis factor receptor. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 18:1283–1287, 1998.
- [75] Y. Gasche, M. Fujimura, Morita Y. Fujimura, J. C. Copin, M. Kawase, J. Massengale, and P. H. Chan. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: A possible role in blood-brain barrier dysfunction. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 19:1020–1028, 1999.
- [76] J. M. Gee, A. Kalil, C. Shea, and K. J. Becker. Lymphocytes: Potential mediators of postischemic injury and neuroprotection. *Stroke*, 38(2):783, 2007.
- [77] J. M. Gidday, Y. G. Gasche, J. C. Copin, A. R. Shah, R. S. Perez, S. D. Shapiro, P. H. Chan, and T. S. Park. Leukocyte-derived matrix metalloproteinase-9 mediates blood-brain barrier breakdown and is proinflammatory after transient focal cerebral ischemia.

American Journal of Physiology- Heart and Circulatory Physiology, 289(2):558–568, 2005.

[78] R. Gregersen, K. Lambertsen, and B. Finsen. Microglia and macrophages are the major source of tumor necrosis factor in permanent middle cerebral artery occlusion in mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 20(1):53–65, 2000.

[79] M. Grilli, I. Barbieri, H. Basudev, R. Brusa, C. Casati, G. Lozza, and E. Ongini. Interleukin-10 modulates neuronal threshold of vulnerability to ischaemic damage. *Eur J Neurosci*, 12(7):2265–2272, July 2000.

[80] H. Groux and F. Cottrez. The complex role of interleukin-10 in autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*, 20(4):281–285, 2003.

[81] Z. Gu, J. Cui, S. Brown, R. Fridman, S. Mobashery, A. Y. Strongin, and S. A. Lipton. A highly specific inhibitor of matrix metalloproteinase-9 rescues laminin from proteolysis and neurons from apoptosis in transient focal cerebral ischemia. *Journal of Neuroscience*, 25(27), 2005.

[82] Z. Gu, M. Kaul, B. Yan, S. J. Kridel, J. Cui, A. Strongin, J. W. Smith, R. C. Liddington, and S. A. Lipton. S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: Signaling pathway to neuronal cell death. *Science*, 297(5584), 2002.

[83] K. G. Haeusler, W. U. Schmidt, F. Fohring, C. Meisel, T. Helms, G. J. Jungehulsing, C. H. Nolte, K. Schmolke, B. Wegner, A. Meisel, and Others. Cellular immunodepression preceding infectious complications after acute ischemic stroke in humans. *Cerebrovasc Dis*, 25(1-2):50–58, 2007.

[84] H. Harms, K. Prass, C. Meisel, J. Klehmet, W. Rogge, C. Drenckhahn, J. Göhler, S. Bereswill, U. Göbel, K. D. Wernecke, and Others. Preventive antibacterial therapy in acute ischemic stroke: A randomized controlled trial. *PLoS ONE*, 3(5), 2008.

[85] C. Hashimoto, K. L. Hudson, and K. V. Anderson. The toll gene of drosophila, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell*, 52(2):269–79, 1988.

[86] Autonom Health. *GRUNDLAGEN DER HRV-ANALYSE*, January 2008.

[87] Lalancette M. Hebert, G. Gowing, A. Simard, Y. C. Weng, and J. Kriz. Selective ablation of proliferating microglial cells exacerbates ischemic injury in the brain. *Journal of Neuroscience*, 27(10):2596, 2007.

[88] J. H. Heo, J. Lucero, T. Abumiya, J. A. Koziol, B. R. Copeland, and Del G. J. Zoppo. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 19(6):624–633, June 1999.

- [89] Schulte O. Herbrüggen, D. Quarcoo, T. Brzoska, J. Klehmet, A. Meisel, and C. Meisel. Alpha-msh promotes spontaneous post-ischemic pneumonia in mice via melanocortin-receptor-1. *Experimental Neurology*, 2008.
- [90] R. Hilker, C. Poetter, N. Findeisen, J. Sobesky, A. Jacobs, M. Neveling, and W. D. Heiss. Nosocomial pneumonia after acute stroke: Implications for neurological intensive care medicine. *Stroke(1970)*, 34(4):975–981, 2003.
- [91] S. Horstmann, P. Kalb, J. Koziol, H. Gardner, and S. Wagner. Profiles of matrix metalloproteinases, their inhibitors, and laminin in stroke patients: influence of different therapies. *Stroke*, 34(9):2165–2170, September 2003.
- [92] F. Hua, J. Ma, T. Ha, Y. Xia, J. Kelley, D. L. Williams, R. L. Kao, I. W. Browder, J. B. Schweitzer, J. H. Kalbfleisch, and C. Li. Activation of toll-like receptor 4 signaling contributes to hippocampal neuronal death following global cerebral ischemia/reperfusion. *J Neuroimmunol*, 190(1-2):101–111, October 2007.
- [93] J. Huang, T. F. Choudhri, C. J. Winfree, R. A. Mctaggart, S. Kiss, J. Mocco, L. J. Kim, T. S. Protopsaltis, Y. Zhang, D. J. Pinsky, and Others. Postischemic cerebrovascular e-selectin expression mediates tissue injury in murine stroke editorial comment. *Stroke*, 31(12):3047, 2000.
- [94] J. Huang, U. M. Upadhyay, and R. J. Tamargo. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia. *Surg Neurol*, 66(3):232–245, September 2006.
- [95] P. M. Hughes, P. R. Allegrini, M. Rudin, V. H. Perry, A. K. Mir, C. Wiessner, C. T. Area, Novartis A. G. Pharma, and S. Basel. Monocyte chemoattractant protein-1 deficiency is protective in a murine stroke model. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 22:308–317, 2002.
- [96] C. Iadecola, C. A. Salkowski, F. Zhang, T. Aber, M. Nagayama, S. N. Vogel, and Elizabeth M. Ross. The transcription factor interferon regulatory factor 1 is expressed after cerebral ischemia and contributes to ischemic brain injury. *Journal of Experimental Medicine*, 189(4):719–727, 1999.
- [97] S. Inoue, K. Egashira, W. Ni, S. Kitamoto, M. Usui, K. Otani, M. Ishibashi, K. Hiasa, K. Nishida, and A. Takeshita. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein e-knockout mice, 2002.
- [98] D. Intiso, M. M. Zarrelli, G. Lagioia, F. Di Rienzo, Checchia C. De Ambrosio, P. Simone, P. Tonali, and Cioffi R. P. Dagger. Tumor necrosis factor alpha serum levels

and inflammatory response in acute ischemic stroke patients. *Neurol Sci*, 24(6):390–396, February 2004.

[99] C. S. Jack, N. Arbour, J. Manusow, V. Montgrain, M. Blain, E. Mccrea, A. Shapiro, and J. P. Antel. Tlr signaling tailors innate immune responses in human microglia and astrocytes 1. *The Journal of Immunology*, 175(7):4320–4330, 2005.

[100] Charles Janeway, Paul Travers, Mark Walport, and Donald J. Capra. *Immunobiology the immune system in health and disease*. Current Biology Publications, part of Elsevier Science London and Garland Publishing, a member of the Tayer & Francis Group, 34-42 Cleveland Street, London w1P 6LB, UK bzw. 19 Union Square West, NY 10003, US, 4 edition, 1999.

[101] J. U. Jetschmann, R. J. Benschop, R. Jacobs, A. Kemper, R. Oberbeck, R. E. Schmidt, and M. Schedlowski. Expression and in-vivo modulation of alpha-and beta-adrenoceptors on human natural killer (cd16+) cells. *J Neuroimmunol*, 74(1-2):159–64, 1997.

[102] K. C. Johnston, J. Y. Li, P. D. Lyden, S. K. Hanson, T. E. Feasby, R. J. Adams, R. E. Faught, and E. C. Haley. Medical and neurological complications of ischemic stroke experience from the ranttas trial, 1998.

[103] Kurt E. A. Jones, L. Popova, L. Kwinn, L. M. Haynes, L. P. Jones, R. A. Tripp, E. E. Walsh, M. W. Freeman, D. T. Golenbock, L. J. Anderson, and Others. Pattern recognition receptors tlr4 and cd14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nature Immunology*, 1:398–401, 2000.

[104] R. Jones. Rovelizumab (ICOS Corp). *IDrugs: the investigational drugs journal*, 3(4):442, 2000.

[105] D. Y. Jung, H. Lee, B. Y. Jung, J. Ock, M. S. Lee, W. H. Lee, and K. Suk. Tlr4, but not tlr2, signals autoregulatory apoptosis of cultured microglia: A critical role of ifn- γ as a decision maker 1. *The Journal of Immunology*, 174(10):6467–6476, 2005.

[106] D. J. Kaczorowski, K. P. Mollen, R. Edmonds, and T. R. Billiar. Early events in the recognition of danger signals after tissue injury. *Journal of leukocyte biology*, 83(3):546, 2008.

[107] K. Kajiwara, A. Saito, S. Ogata, and M. Tanihara. Synthetic peptides corresponding to ligand-binding region of death receptors, dr5, fas, and tnfr, specifically inhibit cell death mediated by the death ligands, respectively. *Biochim Biophys Acta*, 1699(1-2):131–137, June 2004.

- [108] L. Kalra, G. Yu, K. Wilson, and P. Roots. Medical complications during stroke rehabilitation. *Stroke*, 26(6):990–994, 1995.
- [109] K. Karikó, D. Weissman, and F. A. Welsh. Inhibition of toll-like receptor and cytokine signaling—a unifying theme in ischemic tolerance. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 24:1288–1304, 2004.
- [110] I. L. Katzan, R. D. Cebul, S. H. Husak, N. V. Dawson, and D. W. Baker. The effect of pneumonia on mortality among patients hospitalized for acute stroke. *Neurology*, 60(4):620–625, 2003.
- [111] M. Kawaharada and K. Urasawa. Immunological functions and clinical course of elderly patients with cerebrovascular diseases. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi*, 29(9):652–60, 1992.
- [112] M. Khan, M. Jatana, C. Elango, Singh A. Paintlia, A. K. Singh, and I. Singh. Cerebrovascular protection by various nitric oxide donors in rats after experimental stroke. *Nitric Oxide*, 15(2):114–124, 2006.
- [113] U. Kilic, E. Kilic, C. M. Matter, C. L. Bassetti, and D. M. Hermann. Tlr-4 deficiency protects against focal cerebral ischemia and axotomy-induced neurodegeneration. *Neurobiol Dis*, 2008.
- [114] J. S. Kim, S. C. Gautam, M. Chopp, C. Zaloga, M. L. Jones, P. A. Ward, and K. M. Welch. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-1 after focal cerebral ischemia in the rat. *J Neuroimmunol*, 56(2):127–34, 1995.
- [115] N. W. Kin and V. M. Sanders. It takes nerve to tell t and b cells what to do. *Journal of Leukocyte Biology*, 79(6):1093, 2006.
- [116] H. J. Koch, G. Uyanik, U. Bogdahn, and G. W. Ickenstein. Relation between laterality and immune response after acute cerebral ischemia. *Neuroimmunomodulation*, 13(1):8–12, 2006.
- [117] P. M. Kochanek and J. M. Hallenbeck. Polymorphonuclear leukocytes and monocytes/macrophages in the pathogenesis of cerebral ischemia and stroke. *Stroke*, 23(9):1367–1379, 1992.
- [118] U. Koedel, U. M. Merbt, C. Schmidt, B. Angele, B. Popp, H. Wagner, H. W. Pfister, and C. J. Kirschning. Acute brain injury triggers myd88-dependent, tlr2/4-independent inflammatory responses. *American Journal of Pathology*, 171(1), 2007.
- [119] K. H. Kong, K. S. G. Chua, and A. P. Tow. Clinical characteristics and functional outcome of stroke patients 75 years old and older. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 79(12):1535–1539, 1998.

- [120] N. Kostulas, P. Kivisakk, Y. Huang, D. Matusevicius, V. Kostulas, and H. Link. Ischemic stroke is associated with a systemic increase of blood mononuclear cells expressing interleukin-8 mrna, 1998.
- [121] N. Kostulas, S. H. Pelidou, P. Kivisäkk, V. Kostulas, and H. Link. Increased il-1beta, il-8, and il-17 mrna expression in blood mononuclear cells observed in a prospective ischemic stroke study. *Stroke*, 30(10):2174–2179, October 1999.
- [122] M. Kox, J. C. Pompe, P. Pickkers, C. W. Hoedemaekers, A. B. van Vugt, and J. G. van der Hoeven. Increased vagal tone accounts for the observed immune paralysis in patients with traumatic brain injury. *Neurology*, 70(6):480, 2008.
- [123] M. Lafon, F. Megret, M. Lafage, and C. Prehaud. The innate immune facet of brain. *Journal of Molecular Neuroscience*, 29(3):185–194, 2006.
- [124] K. Lambertsen, B. H. Clausen, A. A. Babcock, R. Gregersen, C. Fenger, H. H. Nielsen, L. S. Haugaard, M. Wirenfeldt, M. Nielsen, F. Dagnaes-Hansen, H. Bluethmann, N. J. Færgeman, M. Meldgaard, T. Deierborg, and B. Finsen. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis oftumor necrosis factor. *The Journal of Neuroscience*, 29(5):1319–1330, February 2009.
- [125] K. L. Lambertsen, M. Meldgaard, R. Ladeby, and B. Finsen. A quantitative study of microglial–macrophage synthesis of tumor necrosis factor during acute and late focal cerebral ischemia in mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 25(1):119–135, 2005.
- [126] S. Laowattana, S. L. Zeger, J. A. C. Lima, S. N. Goodman, I. S. Wittstein, and S. M. Oppenheimer. Left insular stroke is associated with adverse cardiac outcome. *Neurology*, 66(4):477–483, 2006.
- [127] S. D. Lavine, F. M. Hofman, and B. V. Zlokovic. Circulating antibody against tumor necrosis factor-alpha protects rat brain from reperfusion injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 18(1):52–58, 1998.
- [128] S. R. Lee, K. Tsuji, S. R. Lee, and E. H. Lo. Role of matrix metalloproteinases in delayed neuronal damage after transient global cerebral ischemia. *Journal of Neuroscience*, 24(3), 2004.
- [129] J. C. Leemans, G. Stokman, N. Claessen, K. M. Rouschop, G. J. D. Teske, C. J. Kirschning, S. Akira, T. van der Poll, J. J. Weening, and S. Florquin. Renal-associated tlr2 mediates ischemia/reperfusion injury in the kidney. *Journal of Clinical Investigation*, 115(10):2894, 2005.

- [130] J. Lehmberg, J. Beck, A. Baethmann, and E. Uhl. Effect of p-selectin inhibition on leukocyteendothelium interaction and survival after global cerebral ischemia. *Journal of Neurology*, 253(3):357–363, 2006.
- [131] S. Lehnardt, S. Lehmann, D. Kaul, K. Tschimmel, O. Hoffmann, S. Cho, C. Krueger, R. Nitsch, A. Meisel, and J. R. Weber. Toll-like receptor 2 mediates cns injury in focal cerebral ischemia. *Journal of Neuroimmunology*, 190(1-2):28–33, 2007.
- [132] S. Lehnardt, L. Massillon, P. Follett, F. E. Jensen, R. Ratan, P. A. Rosenberg, J. J. Volpe, and T. Vartanian. Activation of innate immunity in the cns triggers neurodegeneration through a toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(14):8514, 2003.
- [133] L. G. Lemay, A. J. Vander, and M. J. Kluger. Role of interleukin 6 in fever in rats. *American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 258(3):798–803, 1990.
- [134] D. E. Levy and C. Lee. What does stat3 do? *Journal of Clinical Investigation*, 109(9):1143, 2002.
- [135] G. Z. Li, D. Zhong, L. M. Yang, B. Sn, Z. H. Zhong, Y. H. Yin, J. Cheng, B. B. Yan, and H. L. Li. Expression of interleukin-17 in ischemic brain tissue. *Scandinavian Journal of Immunology*, 62(5):481–486, November 2005.
- [136] H. L. Li, N. Kostulas, Y. M. Huang, B. G. Xiao, P. van der Meide, V. Kostulas, V. Giedraitas, and H. Link. Il-17 and ifn-gamma mrna expression is increased in the brain and systemically after permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neuroimmunol*, 116(1):5–14, May 2001.
- [137] S. Liu, D. J. Gallo, A. M. Green, D. L. Williams, X. Gong, R. A. Shapiro, A. A. Gambotto, E. L. Humphris, Y. Vodovotz, and T. R. Billiar. Role of toll-like receptors in changes in gene expression and nf- κ b activation in mouse hepatocytes stimulated with lipopolysaccharide. *Infection and Immunity*, 70(7):3433, 2002.
- [138] T. Liu, R. K. Clark, P. C. McDonnell, P. R. Young, R. F. White, F. C. Barone, and G. Z. Feuerstein. Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. *Stroke*, 25(7):1481–1488, 1994.
- [139] X. S. Liu, Z. G. Zhang, Zhang, S. R. Gregg, W. A. N. G. Lei, T. Yier, and M. Chopp. Chemokine ligand 2(ccl 2) induces migration and differentiation of subventricular zone cells after stroke. *Journal of neuroscience research*, 85(10):2120–2125, 2007.

- [140] S. A. Loddick, A. V. Turnbull, and N. J. Rothwell. Cerebral interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 18:176–179, 1998.
- [141] J. Losy and J. Zaremba. Monocyte chemoattractant protein-1 is increased in the cerebrospinal fluid of patients with ischemic stroke, 2001.
- [142] M. B. Luskin. Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron(Cambridge, Mass.)*, 11(1):173–189, 1993.
- [143] Y. Ma, J. Li, I. Chiu, Y. Wang, J. A. Sloane, J. Lu, B. Kosaras, R. L. Sidman, J. J. Volpe, and T. Vartanian. Toll-like receptor 8 functions as a negative regulator of neurite outgrowth and inducer of neuronal apoptosis. *Science's STKE*, 175(2):209, 2006.
- [144] C. M. Maier, L. Hsieh, F. Yu, P. Bracci, and P. H. Chan. Matrix metalloproteinase-9 and myeloperoxidase expression: quantitative analysis by antigen immunohistochemistry in a model of transient focal cerebral ischemia. *Stroke*, 35(5):1169–1174, May 2004.
- [145] J. Majkowski, J. Kunicka, K. Szabelska, and W. Cendrowski. Prophylactic use of penicillin g and ampicillin in stroke. i. clinical observations. *Neurol Neurochir Pol*, 16(4):261–7, 1982.
- [146] L. Marchetti, M. Klein, K. Schlett, K. Pfizenmaier, and U. L. Eisel. Tumor necrosis factor (tnf)-mediated neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity is enhanced by n-methyl-d-aspartate receptor activation. essential role of a tnf receptor 2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase-dependent nf-kappa b pathway. pages 32869–32881, 2004.
- [147] K. Matsunaga, T. W. Klein, H. Friedman, and Y. Yamamoto. Involvement of Nicotinic Acetylcholine Receptors in Suppression of Antimicrobial Activity and Cytokine Responses of Alveolar Macrophages to Legionella pneumophila Infection by Nicotine 1. *The Journal of Immunology*, 167(11):6518–6524, 2001.
- [148] G. Mazzotta, P. Sarchielli, V. Caso, M. Paciaroni, A. Floridi, A. Floridi, and V. Gallai. Different cytokine levels in thrombolysis patients as predictors for clinical outcome. *Eur J Neurol*, 11(6):377–381, June 2004.
- [149] R. Medzhitov, Preston P. Hurlburt, and C. A. Janeway. A human homologue of the drosophila toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 388(6640):394–7, 1997.
- [150] C. Meisel, K. Prass, J. Braun, I. Victorov, T. Wolf, D. Megow, E. Halle, H. D. Volk, U. Dirnagl, and A. Meisel. Preventive antibacterial treatment improves the general medical and neurological outcome in a mouse model of stroke, 2004.

- [151] C. Meisel, J. M. Schwab, K. Prass, A. Meisel, U. Dirnagl, and Others. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. *NATURE REVIEWS NEUROSCIENCE*, 6(10):775, 2005.
- [152] P. Mergenthaler, U. Dirnagl, and A. Meisel. Pathophysiology of stroke: Lessons from animal models. *Metabolic Brain Disease*, 19(3):151–167, 2004.
- [153] M. Minami and M. Satoh. Chemokines and their receptors in the brain: Pathophysiological roles in ischemic brain injury. *Life Sciences*, 74(2-3):321–327, 2003.
- [154] J. Mocco, T. Choudhri, J. Huang, E. Harfeldt, L. Efros, C. Klingbeil, V. Vexler, W. Hall, Y. Zhang, W. Mack, and Others. Hucp5c7 as a humanized monoclonal anti-e/p-selectin neurovascular protective strategy in a blinded placebo-controlled trial of nonhuman primate stroke, 2002.
- [155] J. Montaner, C. A. Molina, J. Monasterio, S. Abilleira, J. F. Arenillas, M. Ribo, M. Quintana, and Alvarez J. Sabin. Matrix metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke, 2003.
- [156] J. Montaner, Alvarez J. Sabin, C. A. Molina, A. Angles, S. Abilleira, J. Arenillas, and J. Monasterio. Matrix metalloproteinase expression is related to hemorrhagic transformation after cardioembolic stroke, 2001.
- [157] E. Morikawa, S. M. Zhang, Y. Seko, T. Toyoda, and T. Kirino. Treatment of focal cerebral ischemia with synthetic oligopeptide corresponding to lectin domain of selectin. *Stroke*, 27(5):951–956, 1996.
- [158] Y. Morita, S. Takizawa, H. Kamiguchi, T. Uesugi, H. Kawada, and S. Takagi. Administration of hematopoietic cytokines increases the expression of anti-inflammatory cytokine (il-10) mrna in the subacute phase after stroke. *Neurosci Res*, 58(4):356–360, August 2007.
- [159] K. W. Muir, P. Tyrrell, N. Sattar, and E. Warburton. Inflammation and ischaemic stroke. *Curr Opin Neurol*, 20(3):334–342, June 2007.
- [160] M. G. Myers, J. W. Norris, V. C. Hachinski, M. E. Weingert, and M. J. Sole. Cardiac sequelae of acute stroke. *Stroke*, 13(6):838–842, 1982.
- [161] M. Nagayama, K. Niwa, T. Nagayama, M. E. Ross, and C. Iadecola. The cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398 ameliorates ischemic brain injury in wild-type mice but not in mice with deletion of the inducible nitric oxide synthase gene. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 19(11):1213–1219, 1999.
- [162] D. M. Nance and V. M. Sanders. Autonomic innervation and regulation of the immune system (1987–2007). *Brain Behavior and Immunity*, 21(6):736–745, 2007.

- [163] H. Nawashiro, K. Tasaki, C. A. Ruetzler, and J. M. Hallenbeck. Tnf-alpha pretreatment induces protective effects against focal cerebral ischemia in mice. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 17:483–490, 1997.
- [164] M. Ning, K. L. Furie, W. J. Koroshetz, H. Lee, M. Barron, M. Lederer, X. Wang, M. Zhu, A. G. Sorensen, E. H. Lo, and Others. Association between tPA therapy and raised early matrix metalloproteinase-9 in acute stroke. *Neurology*, 66(10):1550–1555, 2006.
- [165] R. Oberbeck, D. Schmitz, K. Wilsenack, M. Schuler, B. Pehle, M. Schedlowski, and M. S. Exton. Adrenergic modulation of survival and cellular immune functions during polymicrobial sepsis. *Neuroimmunomodulation*, 11(4):214–223, 2004.
- [166] H. Offner, S. Subramanian, S. M. Parker, M. E. Afentoulis, A. A. Vandembark, and P. D. Hurn. Experimental stroke induces massive, rapid activation of the peripheral immune system. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 26:654–665, 2006.
- [167] K. Ohashi, V. Burkart, S. Flohe, and H. Kolb. Cutting edge: Heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex 1, 2000.
- [168] Y. Okamura, M. Watari, E. S. Jerud, D. W. Young, S. T. Ishizaka, J. Rose, J. C. Chow, and J. F. Strauss. The extra domain a of fibronectin activates toll-like receptor 4. *Journal of Biological Chemistry*, 276(13):10229–10233, 2001.
- [169] J. K. Olson and S. D. Miller. Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple tlrs 1. *The Journal of Immunology*, 173(6):3916–3924, 2004.
- [170] H. Ooboshi, S. Ibayashi, T. Shichita, Y. Kumai, J. Takada, T. Ago, S. Arakawa, H. Sugimori, M. Kamouchi, T. Kitazono, and M. Iida. Postischemic gene transfer of interleukin-10 protects against both focal and global brain ischemia. *Circulation*, 111(7):913–919, February 2005.
- [171] J. Oyama, C. Blais, X. Liu, M. Pu, L. Kobzik, R. A. Kelly, and T. Bourcier. Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in toll-like receptor 4-deficient mice, 2004.
- [172] Gursoy Y. Ozdemir, H. Bolay, O. Saribas, T. Dalkara, and J. S. Beckman. Role of Endothelial Nitric Oxide Generation and Peroxynitrite Formation in Reperfusion Injury After Focal Cerebral Ischemia Editorial Comment. *Stroke*, 31(8):1974, 2000.
- [173] O. Ozdemir and V. Hachinski. Brain lateralization and sudden death: Its role in the neurogenic heart syndrome. *Journal of the Neurological Sciences*, 2008.
- [174] Marcet M. Palacios, K. Graham, C. Cass, D. Befus, I. Mayers, and M. W. Radomski. Nitric oxide and cyclic gmp increase the expression of matrix metalloproteinase-9 in vascular smooth muscle. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2003.

- [175] W. Pan and A. J. Kastin. Tumor necrosis factor and stroke: Role of the blood-brain barrier. *Prog Neurobiol*, 83(6):363–374, December 2007.
- [176] P. Panina-Bordignon, D. Mazzeo, P. Di Lucia, D. D’Ambrosio, R. Lang, L* Fabbri, C Self, and F. Sinigaglia. b2-agonists prevent th1 development by selective inhibition of interleukin 12. *J. Clin. Invest.*, 100:1513–1519, September 1997.
- [177] J. S. Park, D. Svetkauskaite, Q. He, J. Y. Kim, D. Strassheim, A. Ishizaka, and E. Abraham. Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *Journal of Biological Chemistry*, 279(9):7370, 2004.
- [178] W. R. Parrish, Rosas M. Ballina, Gallowitsch M. Puerta, M. Ochani, K. Ochani, L. H. Yang, L. Q. Hudson, X. Lin, N. Patel, S. M. Johnson, and Others. Modulation of TNF Release by Choline Requires $\alpha 7$ Subunit Nicotinic Acetylcholine Receptor-Mediated Signaling. *Molecular Medicine*, 14(9-10):567, 2008.
- [179] V. A. Pavlov and K. J. Tracey. Neural regulators of innate immune responses and inflammation. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 61(18):2322–2331, 2004.
- [180] V. A. Pavlov, H. Wang, C. J. Czura, S. G. Friedman, and K. J. Tracey. The cholinergic anti-inflammatory pathway: A missing link in neuroimmunomodulation. *Molecular Medicine*, 9(5-8):125, 2003.
- [181] F. Perini, M. Morra, M. Alecci, E. Galloni, M. Marchi, and V. Toso. Temporal profile of serum anti-inflammatory and pro-inflammatory interleukins in acute ischemic stroke patients. *Neurol Sci*, 22(4):289–296, August 2001.
- [182] L. Perry and C. P. Love. Screening for dysphagia and aspiration in acute stroke: A systematic review. *Dysphagia*, 16(1):7–18, 2001.
- [183] A. Poltorak, X. He, I. Smirnova, M. Y. Liu, C. V. Huffel, X. Du, D. Birdwell, E. Alejos, M. Silva, C. Galanos, and Others. Defective lps signaling in c3h/hej and c57bl/10sccr mice: Mutations in tlr4 gene. *Science*, 282(5396):2085, 1998.
- [184] K. Prass, J. S. Braun, U. Dirnagl, C. Meisel, and A. Meisel. Stroke propagates bacterial aspiration to pneumonia in a model of cerebral ischemia. *Stroke*, 37(10), 2006.
- [185] K. Prass, C. Meisel, C. Hoflich, J. Braun, E. Halle, T. Wolf, K. Ruscher, I. V. Victorov, J. Priller, U. Dirnagl, and Others. Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by post-stroke t helper cell type 1-like immunostimulation. *J Exp Med*, 198(5):725–36, 2003.
- [186] C. Prehaud, F. Megret, M. Lafage, and M. Lafon. Virus infection switches tlr-3-positive human neurons to become strong producers of beta interferon. *Journal of Virology*, 79(20):12893, 2005.

- [187] Gallowitsch M. Puerta and V. A. Pavlov. Neuro-immune interactions via the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Life Sciences*, 80(24-25):2325–2329, 2007.
- [188] J. Puri, B. Mishra, A. Mal, N. S. Murthy, A. Thakur, V. Dogra, and D. Singh. Catheter associated urinary tract infections in neurology and neurosurgical units. *Journal of Infection*, 44(3):171–175, 2002.
- [189] S. T. Qureshi, L. Lariviere, G. Leveque, S. Clermont, K. J. Moore, P. Gros, and D. Malo. Endotoxin-tolerant mice have mutations in toll-like receptor 4 (tlr4). *Journal of Experimental Medicine*, 189(4):615–625, 1999.
- [190] L. S. Rallidis, M. Vikelis, D. B. Panagiotakos, I. Rizos, M. G. Zolindaki, K. Kaliva, and D. T. Kremastinos. Inflammatory markers and in-hospital mortality in acute ischaemic stroke. *Atherosclerosis*, 189(1):193–197, November 2006.
- [191] Martinez S. Revelles, Jiménez F. Altayó, L. Caracuel, Pérez F. J. Asensio, A. M. Planas, and E. Vila. Endothelial dysfunction in rat mesenteric resistance artery after transient middle cerebral artery occlusion. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 325(2):363–369, 2008.
- [192] T. M. Reyes, Z. Fabry, and C. L. Coe. Brain endothelial cell production of a neuroprotective cytokine, interleukin-6, in response to noxious stimuli. *Brain Research*, 851(1-2):215–220, 1999.
- [193] M. A. Reynolds, H. J. Kirchick, J. R. Dahlen, J. M. Anderberg, P. H. Mcpherson, K. K. Nakamura, D. T. Laskowitz, G. E. Valkirs, and K. F. Buechler. Early biomarkers of stroke, 2003.
- [194] F. Rincon, M. Dhamoon, Y. Moon, M. C. Paik, Boden B. Albala, S. Homma, M. R. Di Tullio, R. L. Sacco, and M. S. V. Elkind. Stroke location and association with fatal cardiac outcomes: Northern manhattan study (nomas). *Stroke*, 39(9):2425, 2008.
- [195] A. M. Romanic, R. F. White, A. J. Arleth, E. H. Ohlstein, and F. C. Barone. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke*, 29(5):1020–1030, May 1998.
- [196] A. Rosell, J. Alvarez-Sabín, J. F. Arenillas, A. Rovira, P. Delgado, I. Fernández-Cadenas, A. Penalba, C. A. Molina, and J. Montaner. A matrix metalloproteinase protein array reveals a strong relation between mmp-9 and mmp-13 with diffusion-weighted image lesion increase in human stroke. *Stroke*, 36(7):1415–1420, July 2005.
- [197] M. L. Ruehl, J. A. Orozco, M. B. Stoker, P. F. Mcdonagh, B. M. Coull, and L. S. Ritter. Protective effects of inhibiting both blood and vascular selectins after stroke and reperfusion. *Neurol Res*, 24(3):226–232, April 2002.

- [198] K. Saito, K. Suyama, K. Nishida, Y. Sei, and A. S. Basile. Early increases in TNF-alpha, IL-1 beta levels following transient cerebral ischemia in gerbil brain. *Neurosci Lett*, 206(23):149, 1996.
- [199] U. Scherbel, R. Raghupathi, M. Nakamura, K. E. Saatman, J. Q. Trojanowski, E. Neugebauer, M. W. Marino, and T. K. McIntosh. Differential acute and chronic responses of tumor necrosis factor-deficient mice to experimental brain injury, 1999.
- [200] S. Schwarz, Al F. Shajlawi, C. Sick, S. Meairs, and M. G. Hennerici. 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*, 39(4):1220, 2008.
- [201] V. Selakovic, M. Colic, M. Jovanovic, R. Raicevic, and A. Jovicic. Cerebrospinal fluid and plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1, vascular cell adhesion molecule 1 and endothelial leukocyte adhesion molecule in patients with acute ischemic brain disease. *Vojnosanit Pregl*, 60(2):139–46, 2003.
- [202] X. D. Shen, B. Ke, Y. Zhai, F. Gao, R. W. Busuttil, G. Cheng, and Kupiec J. W. Weglinski. Toll-like receptor and heme oxygenase-1 signaling in hepatic ischemia/reperfusion injury. *American Journal of Transplantation*, 5(8):1793–1800, 2005.
- [203] D. G. Sherman, A. Bes, J. D. Easton, W. Hacke, M. Kaste, S. H. Polmar, J. A. Zivin, C. Fieschi, P. Miller, D. Schoenfeld, and Others. Use of anti-icam-1 therapy in ischemic stroke—results of the enlimomab acute stroke trial. *Neurology*, 57(8):1428–1434, 2001.
- [204] P. Shrikant, I. Y. Chung, M. E. Ballestas, and E. N. Benveniste. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 gene expression by tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interferon-gamma in astrocytes. *J Neuroimmunol*, 51(2):209–20, 1994.
- [205] Walter Siegenthaler, editor. *Klinische Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag, Rüdigerstraße 14 D-70469 Stuttgart Germany, 8 edition, 2001.
- [206] S. T. Smiley, J. A. King, and W. W. Hancock. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J Immunol*, 167(5):2887–94, 2001.
- [207] C. J. Smith, H. C. Emsley, C. M. Gavin, R. F. Georgiou, A. Vail, E. M. Barberan, Del G. J. Zoppo, J. M. Hallenbeck, N. J. Rothwell, S. J. Hopkins, and P. J. Tyrrell. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. *BMC Neurol*, 4, January 2004.

- [208] C. J. Smith, H. C. Emsley, A. Vail, R. F. Georgiou, N. J. Rothwell, P. J. Tyrrell, and S. J. Hopkins. Variability of the systemic acute phase response after ischemic stroke. *J Neurol Sci*, 251(1-2):77–81, December 2006.
- [209] S. Sotgiu, B. Zanda, B. Marchetti, M. L. Fois, G. Arru, G. M. Pes, F. S. Salaris, A. Arru, A. Pirisi, and G. Rosati. Inflammatory biomarkers in blood of patients with acute brain ischemia. *European Journal of Neurology*, 13(5):505–513, May 2006.
- [210] P. A. Spera, J. A. Ellison, G. Z. Feuerstein, and F. C. Barone. Il-10 reduces rat brain injury following focal stroke. *Neurosci Lett*, 251(3):189–192, July 1998.
- [211] S. M. Stamatovic, P. Shakui, R. F. Keep, B. B. Moore, S. L. Kunkel, N. Van Rooijen, and A. V. Andjelkovic. Monocyte chemoattractant protein-1 regulation of blood–brain barrier permeability. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 25:593–606, 2005.
- [212] E. M. Sternberg. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nature reviews. Immunology*, 6(4):318, 2006.
- [213] S. L. Stevens, T. M. P. Ciesielski, B. J. Marsh, T. Yang, D. S. Homen, J. L. Boule, N. S. Lessov, R. P. Simon, and Stenzel M. P. Poore. Toll-like receptor 9: a new target of ischemic preconditioning in the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2008.
- [214] G. Stoll and M. Bendszus. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization. *Stroke*, 37(7):1923–1932, July 2006.
- [215] M. Strittmatter, S. Meyer, C. Fischer, T. Georg, and B. Schmitz. Location-dependent patterns in cardio-autonomic dysfunction in ischaemic stroke. *Eur Neurol*, 50(1):30–38, 2003.
- [216] K. Strle, J. H. Zhou, W. H. Shen, S. R. Broussard, R. W. Johnson, G. G. Freund, R. Dantzer, and K. W. Kelley. Interleukin-10 in the brain. *Crit Rev Immunol*, 21(5):427–449, 2001.
- [217] T. Sumii and E. H. Lo. Involvement of matrix metalloproteinase in thrombolysis-associated hemorrhagic transformation after embolic focal ischemia in rats, 2002.
- [218] M. A. Swanson, W. T. Lee, and V. M. Sanders. Ifn- γ production by th1 cells generated from naive cd4+ t cells exposed to norepinephrine 1. *The Journal of Immunology*, 166(1):232–240, 2001.
- [219] H. Takeda, M. Spatz, C. Ruetzler, R. Mccarron, K. Becker, J. Hallenbeck, N. Feuerstein, S. Goldman, and G. Feuerstein. Induction of mucosal tolerance to e-selectin

prevents ischemic and hemorrhagic stroke in spontaneously hypertensive genetically stroke-prone rats* editorial comment. *Stroke*, 33(9):2156, 2002.

[220] K. Takeda and S. Akira. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology*, 17(1):1–14, 2005.

[221] S. C. Tang, T. V. Arumugam, X. Xu, A. Cheng, M. R. Mughal, D. G. Jo, J. D. Lathia, D. A. Siler, S. Chigurupati, X. Ouyang, T. Magnus, S. Camandola, and M. P. Mattson. Pivotal role for neuronal toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(34):13798–13803, August 2007.

[222] E. Tarkowski, L. Rosengren, C. Blomstrand, C. Wikkelso, C. Jensen, S. Ekholm, and A. Tarkowski. Early intrathecal production of interleukin-6 predicts the size of brain lesion in stroke. *Stroke*, 26(8):1393–1398, 1995.

[223] C. Termeer, F. Benedix, J. Sleeman, C. Fieber, U. Voith, T. Ahrens, K. Miyake, M. Freudenberg, C. Galanos, and J. C. Simon. Oligosaccharides of hyaluronan activate dendritic cells via toll-like receptor 4, 2002.

[224] S. L. Tokgozoglu, M. K. Batur, M. A. Topcuoglu, O. Saribas, S. Kes, and A. Oto. Effects of stroke localization on cardiac autonomic balance and sudden death, 1999.

[225] S. Toulmond, X. Vige, D. Fage, and J. Benavides. Local infusion of interleukin-6 attenuates the neurotoxic effects of nmda on rat striatal cholinergic neurons. *Neurosci Lett*, 144(1-2):49–52, 1992.

[226] K. J. Tracey. The inflammatory reflex. *Nature*, 420(6917):853–859, 2002.

[227] P. B. Tran, G. Banisadr, D. Ren, A. Chenn, and R. J. Miller. Chemokine receptor expression by neural progenitor cells in neurogenic regions of mouse brain. *J Comp Neurol*, 500(6):1007–33, 2007.

[228] K. Tsuji, T. Aoki, E. Tejima, K. Arai, S. R. Lee, D. N. Atochin, P. L. Huang, X. Wang, J. Montaner, and E. H. Lo. Tissue plasminogen activator promotes matrix metalloproteinase-9 upregulation after focal cerebral ischemia, 2005.

[229] A. Tuttolomondo, D. Di Raimondo, R. di Sciacca, A. Pinto, and G. Licata. Inflammatory Cytokines in Acute Ischemic Stroke. *Current Pharmaceutical Design*, 14(33):3574–3589, 2008.

[230] R. M. Vabulas, Ahmad P. Nejad, S. Ghose, C. J. Kirschning, R. D. Issels, and H. Wagner. Hsp70 as endogenous stimulus of the toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 277(17):15107–15112, 2002.

- [231] T. van der Poll, S. M. Coyle, K. Barbosa, C. C. Braxton, and S. F. Lowry. Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin 10 production during human endotoxemia. *Journal of Clinical Investigation*, 97(3):713, 1996.
- [232] E. Van Exel, J. Gussekloo, A. J. M. de Craen, Bootsma A. van der Wiel, M. Frolich, and R. G. J. Westendorp. Inflammation and Stroke The Leiden 85-Plus Study, 2002.
- [233] S. Verma, R. Nakaoke, S. Dohgu, and W. A. Banks. Release of cytokines by brain endothelial cells: A polarized response to lipopolysaccharide. *Brain Behavior and Immunity*, 20(5):449–455, 2006.
- [234] N. Vila, J. Castillo, A. Dávalos, A. Esteve, A. M. Planas, and A. Chamorro. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke. *Stroke*, 34(3):671–675, March 2003.
- [235] I. Vukasovic, A. Tesija-Kuna, E. Topic, V. Supanc, V. Demarin, and M. Petrovic. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in different acute stroke subtypes. *Clin Chem Lab Med*, 44(4):428–434, 2006.
- [236] R. Wadachi and K. M. Hargreaves. Trigeminal nociceptors express tlr-4 and cd14: a mechanism for pain due to infection, 2006.
- [237] U. Waje-Andreassen, J. Krakenes, E. Ulvestad, L. Thomassen, K. M. Myhr, J. Aarseth, and C. A. Vedeler. Il-6: an early marker for outcome in acute ischemic stroke. *Acta Neurol Scand*, 111(6):360–365, June 2005.
- [238] A. Waldeyer. *Anatomie des Menschen*. Walter de Gruyter, 10785 Berlin, 17 edition, 2003.
- [239] U. Walter, R. Knoblich, V. Steinhagen, M. Donat, R. Benecke, and A. Kloth. Predictors of pneumonia in acute stroke patients admitted to a neurological intensive care unit. *Journal of Neurology*, 254(10):1323–1329, 2007.
- [240] C. X. Wang and A. Shuaib. Involvement of inflammatory cytokines in central nervous system injury. *Progress in Neurobiology*, 67(2):161–172, 2002.
- [241] H. Wang, H. Liao, M. Ochani, M. Justiniani, X. Lin, L. Yang, Al Y. Abed, H. Wang, C. Metz, E. J. Miller, and Others. Cholinergic agonists inhibit hmgb1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nature Medicine*, 10:1216–1221, 2004.
- [242] J. Y. Wang, D. H. Zhou, J. Li, M. Zhang, J. Deng, C. Gao, J. Li, Y. Lian, and M. Chen. Association of soluble intercellular adhesion molecule 1 with neurological deterioration of ischemic stroke: The chongqing stroke study. *Cerebrovasc Dis*, 21(1-2):67–73, 2006.

- [243] L. Wang, Y. Li, J. Chen, S. C. Gautam, Z. Zhang, M. Lu, and M. Chopp. Ischemic cerebral tissue and mcp-1 enhance rat bone marrow stromal cell migration in interface culture. *Experimental Hematology*, 30(7):831–836, 2002.
- [244] L. Wang, Y. Li, X. Chen, J. Chen, S. C. Gautam, Y. Xu, and M. Chopp. Mcp-1, mip-1, il-8 and ischemic cerebral tissue enhance human bone marrow stromal cell migration in interface culture. *Hematology*, 7(2):113–117, 2002.
- [245] Q. Wang, X. N. Tang, and M. A. Yenari. The inflammatory response in stroke. *Journal of Neuroimmunology*, 184(1-2):53–68, 2007.
- [246] W. Z. Wang, T. Olsson, V. Kostulas, B. Höjeberg, H. P. Ekre, and H. Link. Myelin antigen reactive t cells in cerebrovascular diseases. *Clinical and Experimental Immunology*, 88(1):157, 1992.
- [247] X. Wang, T. L. Yue, F. C. Barone, and G. Z. Feuerstein. Monocyte chemoattractant protein-1 messenger rna expression in rat ischemic cortex. *Stroke*, 26(4):661–666, 1995.
- [248] X. Wang, T. L. Yue, P. R. Young, F. C. Barone, and G. Z. Feuerstein. Expression of interleukin-6, c-fos, and zif268 mrnas in rat ischemic cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*, 15(1):166–71, 1995.
- [249] C. Weimar, M. P. Roth, G. Zillesen, J. Glahn, M. L. J. Wimmer, O. Busse, R. L. Haberl, and H. C. Diener. Complications following acute ischemic stroke. *European neurology*, 48(3):133–140, 2002.
- [250] K. Williams, N. Dooley, E. Ulvestad, B. Becher, and J. P. Antel. IL-10 production by adult human derived microglial cells. *Neurochemistry international*, 29(1):55–64, 1996.
- [251] L. M. Williams, G. Ricchetti, U. Sarma, T. Smallie, and B. M. J. Foxwell. Interleukin-10 suppression of myeloid cell activation—a continuing puzzle. *Immunology*, 113(3):281–292, 2004.
- [252] Ken A. A. Witt, Karen S. S. Mark, Karin E. E. Sandoval, and Thomas P. P. Davis. Reoxygenation stress on blood-brain barrier paracellular permeability and edema in the rat. *Microvasc Res*, June 2007.
- [253] M. Yamada and H. Hatanaka. Interleukin-6 protects cultured rat hippocampal neurons against glutamate-induced cell death. *Brain Res*, 643(1-2):173–80, 1994.
- [254] S. Yamagami. Differential production of mcp-1 and cytokine-induced neutrophil chemoattractant in the ischemic brain after transient focal ischemia in rats, 1999.
- [255] Toru Yamashita, Kazunobu Sawamoto, Shigeaki Suzuki, Norihiro Suzuki, Kazuhide Adachi, Takeshi Kawase, Masahiko Mihara, Yoshiyuki Ohsugi, Koji Abe, and Hideyuki Okano. Blockade of interleukin-6 signaling aggravates ischemic cerebral damage in

mice: possible involvement of stat3 activation in the protection of neurons. *Journal of Neurochemistry*, 94(2):459–468, July 2005.

[256] Y. P. Yan, K. A. Sailor, B. T. Lang, S. W. Park, R. Vemuganti, and R. J. Dempsey. Monocyte chemoattractant protein-1 plays a critical role in neuroblast migration after focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 27(6):1213–1224, June 2007.

[257] X. Yang, D. Coriolan, V. Murthy, K. Schultz, D. T. Golenbock, and D. Beasley. Proinflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells: role of efficient toll-like receptor 4 signaling. *American Journal of Physiology- Heart and Circulatory Physiology*, 289(3):1069–1076, 2005.

[258] Y. Yang, E. Y. Estrada, J. F. Thompson, W. Liu, and G. A. Rosenberg. Matrix metalloproteinase-mediated disruption of tight junction proteins in cerebral vessels is reversed by synthetic matrix metalloproteinase inhibitor in focal ischemia in rat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 27(4):697–709, April 2007.

[259] M. A. Yenari, G. H. Sun, D. M. Kunis, D. Onley, and V. Vexler. L-selectin inhibition does not reduce injury in a rabbit model of transient focal cerebral ischemia. *Neurological Research*, 23(1):72–78, 2001.

[260] W. Yun, Qing L. Cheng, Y. Lei, and Jia M. Yin. Mucosal tolerance to e-selectin provides protection against cerebral ischemia–reperfusion injury in rats. *Journal of Neuroimmunology*, 2008.

[261] J. Zaremba, J. Ilkowski, and J. Losy. Serial measurements of levels of the chemokines ccl2, ccl3 and ccl5 in serum of patients with acute ischaemic stroke. *Folia Neuropathol*, 44(4):282–289, 2006.

[262] Q. H. Zhai, N. Futrell, and F. J. Chen. Gene expression of il-10 in relationship to tnf-alpha, il-1beta and il-2 in the rat brain following middle cerebral artery occlusion. *J Neurol Sci*, 152(2):119–124, November 1997.

[263] Z. G. Zhang, M. Chopp, W. X. Tang, N. Jiang, and R. L. Zhang. Postischemic treatment (2–4 h) with anti-cd11b and anti-cd18 monoclonal antibodies are neuroprotective after transient (2 h) focal cerebral ischemia in the rat. *Brain Research*, 698(1-2):79–85, 1995.

[264] B. Q. Zhao, E. Tejima, and E. H. Lo. Neurovascular proteases in brain injury, hemorrhage and remodeling after stroke. *Stroke*, 38(2):748, 2007.

[265] Bing-Qiao Zhao, Sophia Wang, Hahn-Young Kim, Hannah Storrie, Bruce R. Rosen, David J. Mooney, Xiaoying Wang, and Eng H. Lo. Role of matrix metallopro-

teinases in delayed cortical responses after stroke. *Nature Medicine*, 12(4):441–445, March 2006.

[266] G. Ziegler, D. Harhausen, C. Schepers, O. Hoffmann, C. Röhr, V. Prinz, J. König, H. Lehrach, W. Nietfeld, and G. Trendelenburg. Tlr2 has a detrimental role in mouse transient focal cerebral ischemia. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 359(3):574–579, 2007.

[267] Berislav V. Zlokovic. Remodeling after stroke. *Nature Medicine*, 12(4):390–391, April 2006.

[268] Del G. J. Zoppo and T. Mabuchi. Cerebral microvessel responses to focal ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 23:879–894, 2003.

18 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Galler Viktoria

Geburtsdatum: 30.01.1985

Geburtsort: Friesach, Kärnten

e-mail: viktorija@galler.cc



Bildungsweg:

1991-1994: Volksschule Dürergasse, 8010 Graz

1995-2003: Bundesgymnasium Seebachergasse 11, 8010 Graz; Reifeprüfung mit Auszeichnung

Seit 09/2003: Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz

September 2004: Abschluss 1.Studienabschnitt

September 2008: Abschluss 2.Studienabschnitt

Seit Oktober 2008: 3. Studienabschnitt