Zytokine – Eine Notwendigkeit in der Diagnostik einer silent inflammation

Wolfgang Mayer

Latente chronische Entzündungsprozesse ohne klinische Manifestation sind an der Ausprägung der häufigsten Volkskrankheiten der Industrienationen maßgeblich beteiligt. Labordiagnostisch sind diese Entzündungen auf niedrigem Niveau schwer zu erkennen, der klassische Labormarker für diese Fragestellung ist das CRP-sensitiv (CRPs). Ein Vergleich von CRPs mit anderen Entzündungsmarkern im Serum zeigt bei über 30 % der Patienten ein unauffälliges CRPs trotz anderer inflammatorischer Signale. Um diese diagnostische Lücke zu schließen, empfiehlt sich in Ergänzung zu CRPs die Bestimmung weiterer inflammatorisch assoziierter Zytokine im Serum zum sicheren Ausschluss einer silent inflammation. Die präanalytische Stabilität der meisten Parameter ist klar zu differenzieren von deren biologischer Halbwertszeit und erlaubt deshalb auch einen Versand des Probenmaterials.

Entzündung hat verschiedene Facetten

Entzündung ist die physiologische Reaktion der Immunabwehr auf einen Infektionserreger, eine Konfrontation mit Fremd-Antigenen, eine physische Verletzung, ein Trauma oder eine Exposition mit Chemikalien bzw. Xenobiotika. Silent inflammation, ein auf den ersten Blick widersprüchlicher Begriff einer stummen Entzündung, bezeichnet einen chronischen, subklinischen pathogenen Entzündungsprozess, der als Risiko für eine Vielzahl von bedeutenden Krankheitsbildern der westlichen Industriegesellschaften (kardiovaskuläre Erkrankungen, neurodegenerative Erkrankungen, Tumorerkrankungen) gilt. In den Industrienationen ist in den letzten 100 Jahren ein beeindruckender Rückgang an Infektionserkrankungen zu verzeichnen - im Gegenzug aber ein dramatischer Anstieg von Erkrankungen, die in der Entstehung und in der Manifestation mit chronischer Entzündung assoziiert sind. 1 Silent inflammation ist damit klar abzugrenzen von klinisch erkennbaren Entzündungen bei akuten und chronischen Erkrankungen (Abb. 1).

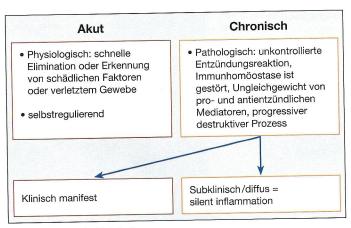


Abb. 1: Formen der Entzündung

Die Ursachen für solche latenten Entzündungsvorgänge sind vielfältig. Grundsätzlich ist zwischen genetischer Disposition und Umweltfaktoren zu unterscheiden. Die genetisch determinierte gesteigerte Freisetzungskapazität von einzelnen Zytokinen wie etwa TNF-alpha oder Interleukin 1 bedingt bei einzelnen Individuen ein erhöhtes Risiko für chronische Entzündungen (high-responder-status).

Autoimmunprozesse, chronische Infektionen (etwa mit Chlamydien oder Borrelien), Schadstoff- oder Medikamentenbelastung, neuroendokrine Überlastung (chronischer psychischer Stress, Schlafmangel, Reizüberflutung, hohe Arbeitsintensität), physische Überlastung, falsche Ernährung oder altersabhängige Veränderungen der Immunabwehr zählen zu den umweltbedingten Ursachen. So wurde etwa klar gezeigt, dass Schlafmangel proinflammatorische Gene wie Nf-kappa-B aktiviert,2 ebenso wie Omega-6-haltige Nahrungsmittel. Insbesondere chronischer Stress hat gravierende Auswirkungen auf die Cortisolproduktion und damit auf einen zentralen Parameter der Entzündungskontrolle. Eine zunehmende Bedeutung als Trigger für Entzündungsprozesse wird der bakteriellen Translokation von Bestandteilen des Darmmikrobioms über eine defizitäre Barrierefunktion der Darmschleimhaut (Leaky Gut) zugeschrieben. Eine 2015 veröffentlichte Publikation in Nature weist in diesem Sinne etwa auch auf die mögliche Rolle von Emulgatoren in Lebensmitteln als Auslöser von Entzündungsprozessen in der Darmschleimhaut hin.3

Labordiagnostik einer latenten Entzündung: CRP-sensitiv?

Der klassische Marker einer Entzündungsreaktion auf niedrigem Niveau im Sinne eines Risikofaktors ist das C-reaktive Protein sensitiv (CRPs). CRP zählt zu den Akute-Phase-Proteinen und wird nach zytokinem Stimulus ausgelöst (Interleukin 6 und andere). Es wird in der Leber gebildet, insbesondere durch bakterielle Infektionen. Seinen besonderen Stellenwert in der Diagnostik verdankt es seiner langen Plasma-Halbwertszeit von etwa 24 Stunden. CRP zeigt deshalb eine sehr gute Korrelation zum klinischen Verlauf bei akuten (Infektion) und klinisch manifesten chronisch-entzündlichen (etwa rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn) Prozessen. Der Zeitversatz zur Krankheitsaktivität beträgt rund 12 bis 24 Stunden. Neben dem Einsatz in der Primär- und Verlaufsdiagnostik bei akuten Infektionen oder chronischen Entzündungen als CRP-quantitativ (CRPq) hat sich CRP als CRP-sensitiv (CRPs)-Labortest mit einem Messbereich im niedrigen Konzentrationsbereich als Risikomarker für kardiovaskuläre Erkrankungen seit Jahren etabliert. Ob CRPs eine ausreichende Sensitivität für alle Formen einer latenten Entzündung zeigt, ist bisher unklar und wurde nicht umfassend untersucht. Aufgrund der komplexen und differenzierten Charakteristik, gerade von subklinischen Entzündungen, ist die Eignung von CRPs als universeller Summenmarker jeglicher Entzündungsvorgänge zumindest infrage zu stellen.

Untersuchung von 897 Serumproben

Um dieser Frage nachzugehen, haben wir in den Jahren 2014 und 2015 bei jeweils 400-500 Serumproben aus der Laborroutine, die mit der Fragestellung latente Entzündung eingeschickt wurden, den Spiegel von CRPs mit denen anderer Entzündungsmarker im Serum verglichen. Als Parameter wurden die proinflammatorischen Zytokine Interleukin 1β, TNF-alpha, Interleukin 6, Interleukin 8, sIL2R, LPS binding protein (LBP) und das antiinflammatorische Zytokin Interleukin 10 ausgewählt (= Inflammation Zytokinpanel). Dabei wurden die Monokine TNF-alpha und IL1-β als Marker für eine Beteiligung von Monozyten ausgewählt. Die Interleukine 6 und 8 sind ubiquitäre Marker unspezifischer Entzündungsvorgänge und induzieren die chemotaktische Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten. Der lösliche Interleukin-2-Rezeptor (sIL2R) stellt einen Marker für den Aktivierungszustand der T-Zellen dar, LBP dagegen wird durch bakterielle Strukturen (LPS) induziert und weist auf Entzündungen bakterieller Ursache hin. Interleukin 10 dagegen gilt als regulierendes, antientzündliches Zytokin und soll gegenregulatorische Prozesse im Rahmen der Entzündungsdynamik im Serum erfassen. Die Analyse erfolgte hochstandardisiert mittels Immulite 1000-Technologie der Firma Siemens. Die Seren wurden 30 min nach Blutentnahme abzentrifugiert und innerhalb 24 Stunden nach Blutentnahme gemessen.

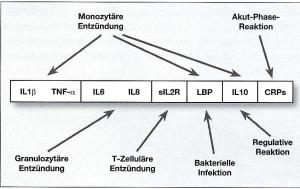


Abb. 2: Ideales Laborprofil zur Detektion einer latenten Entzündung: Kombination von CRPs mit anderen Read-Out-Markern verschiedener Entzündungsvorgänge

Ergebnisse

Bei rund 40 % der Proben zeigten sich weder bei CRPs noch bei den anderen Inflammationsmarkern erhöhte Werte, demnach war bei etwa 60 % der Proben eine Inflammation messbar. Sowohl CRPs als auch einer der anderen Inflammationsmarker waren in etwa 19 % der Proben erhöht. In etwa 8 % der Proben war nur CRPs erhöht, während in 30–36 % der Proben zwar CRPs unauffällig, aber ein oder mehrere andere Inflammationsmarker erhöht waren. Insgesamt konnten mittels CRPs alleine demnach rund 25–28 % der zu 60 % auffälligen Proben erkannt werden, wogegen anhand des Panels an anderen Markern 50–55 % möglich waren.

Bei der Häufigkeit der positiven Parameter innerhalb des Zytokinpanels dominierten TNF-alpha, Interleukin 6 und Interleukin 8. Allerdings waren auch für alle anderen Marker erhöhte Spiegel im Einzelfall ohne die Beteiligung anderer



Das Reckeweg-Dua

bei Infekten:

Angina-Gastreu® S R1:

Bei akuten Infekten der oberen Luftwege und des Rachenraumes.

Grippe-Gastreu® S R6:

Bei Erkältungskrankheiten (grippaler Infekt).

HOMÖOPATHISCH JE 7 WIRKSTOFFE AB 12 JAHREN



Angina-Gastreu* S R1 enth.: 10 g (entsprechend 10,5 ml) enth.: Wirkstoffe: Apis Dil. D4 1g, Belladonna Dil. D4 1g, Calcium iodatum Dil. D4 1g, Kalium bichromicum Dil. D4 0,01g, Marum verum Dil. D6 1g, Merc. subl. corr. Dil. D5 1g, Phytolacca Dil. D4 1g. Die Wirkstoffe 2 und 3 sowie 5 und 6 werden gemeinsam über die vorletzte Stufe und die Wirkstoffe 1 bis 3 und 5 bis 7 werden gemeinsam über die letzte Stufe potenziert. Sonstiger Bestandfeil: Ethanol 30% (m/m). 1 ml entspricht 19 Tr.. Warnhimw: Enth. 38 Vol.-% Alkohol. Anw.: Die Anw.-gebiete leiten sich von den homöopathischen Arzneimittelbildern ab. Dazu gehören: Besechwerden bei abuten Infekten der oberen Luftwege und des Rachenamiente Hims: Bei Anzeichen einer Vereiterung der Rachenmändeln mit erschwerter Mundöfinung, bei Aternnot, bei Fieber oder bei eitrigem Auswurf sowie bei anhaltenden und unklaren Beschwerden sollte ein Arzt aufgesucht werden. Gegenanz: Darf nicht angewendet werden: Bei Nierenfunktionsstörungen, in der Schwangerschaft und Stillzeit, bei Säuglingen und Kleinkindern auf Grund des Gehaltes an Mercurius sublimatus corrosivus (Quecksilber); bei Überempfindlichkeit gegen Chrom; bei Schilddrüsenerkrankungen nicht ohne ärzlichen Rat anwenden. Vorsichtsmaßnahmen u. Warnhimv: In der Schwange, u. Sillz. darf erzneimttel nicht angew. werden. Nebenwa: Wie alle Arzneimittel kann Angina-Gastreu* S R1 Nebenw. verursachen. Mögliche Nebenw: Wegen des Bestandteils Mercurius (Quecksilber) können gelegentlich allergische Reaktionen auftreten, das Mittel ist dann abzusetzen. Bitte nehmen Sie in diesen Fällen Rücksprache mit Ihrem Therapeuten. Tr. zu je: 22 ml (PZN 01686382), 50 ml (PZN 01686407). Gripper-Gastreu* S R6 enth. 10 ml enth.: Wirkstoffe: je 1 ml: Aconitum Dil. D4, Pyonia Dil. D4, CamphoraDil. D3, Causticum Hahnemanni Dil. D6, Eupatorium perfoliatum Dil. D3, Ferrum phosphoricum Dil. D8, Gelsemium Dil



Botenstoffe detektierbar. Dies spricht für die Notwendigkeit der diagnostischen Breite des Panels im Sinne einer möglichst sensitiven Entzündungsdiagnostik. Insgesamt sprechen die Ergebnisse für die höchste diagnostische Sensitivität einer silent inflammation durch eine Kombination von CRPs mit anderen Entzündungsmarkern im Serum

i,	2015/482 cases		
CRP highsensitiv	Inflammation Zytokinpanel	Anzahl	[%]
negativ	negativ	185	38,4
negativ	positiv	177	36,7
positiv	negativ	32	6,6
positiv	positiv	88	18,3
2016/415 cases			
CRP highsensitiv	Inflammation Zytokinpanel	Anzahl	[%]
negativ	negativ	175	42,0
negativ	positiv	125	30,0
negativ	positiv	125	30,0
negativ positiv	positiv negativ	125 34	8,2
			,

Abb. 3: Ergebnisse der Untersuchungen an Seren aus der Laborroutine 2015 und 2016

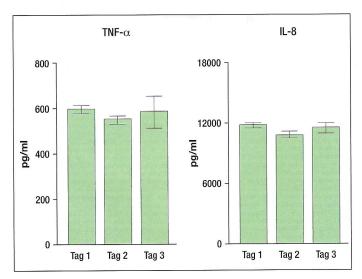


Abb. 4: Untersuchungen zur Präanalytik von Zytokinen im Serum bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 3 Tagen, sowohl TNF-alpha als auch Interleukin 8 zeigen eine hervorragende präanalytische Stabilität

Präanalytik

Ein viel geäußerter Kritikpunkt an der Bestimmung von Serumzytokinen im Routinelabor ist die präanalytische Stabilität der Parameter. Dabei wird in der Regel die biologische Plasma-Halbwertszeit in der Zirkulation als Kriterium und Argument herangezogen, die für die meisten Zytokine erwiesenermaßen kurz ist, für Interleukin 6 etwa 20 Minuten. Die Stabilität eines Zytokins in einer isolierten Blutprobe ist allerdings anderen Kriterien unterworfen. So konnte eine grundsätzliche Stabilität vieler Zytokinspiegel im isolierten Serum und sogar im Vollblut über mindestens 24 Stunden nach Blutentnahme gezeigt werden.4 Ein Unterschied zwischen Plasma und Serum war nicht zu erkennen. Einzig Interleukin 8 und MIF zeigen einen starken Anstieg, wenn die Probe als Vollblut gelagert und das Serum nicht von den zellulären Bestandteilen getrennt wird. Interleukin 8 ist stark an sogenannte Duffy-Rezeptoren von Erythrozyten gebunden und wird durch Hämolyse freigesetzt, dies erklärt den Anstieg im unzentrifugierten Vollblut. Eigene Untersuchungen zur Stabilität der vorgeschlagenen Serumzytokine bestätigen die unveränderten Werte innerhalb eines 24-Stunden-Zeitfensters im Serum.

Fazit

Mittels CRP-sensitiv lässt sich nur ein kleiner Teil der Patienten mit einer silent inflammation erfassen. Eine Erweiterung der Diagnostik um andere Inflammationsmarker ist bei dieser diskreten und differenzierten Form einer Entzündung notwendig und angebracht. Technologischer Fortschritt und Klarheit über präanalytische Faktoren erlauben heute eine valide, routinegängige Laboranalytik von Zytokinen im Serum.

Autor:
Dipl.-Biol. Wolfgang Mayer
Lab4more GmbH
Augustenstraße 10
80333 München
E-Mail: wm@lab4more.de

Literatur

- 1 Bach JF: The Effect of Infections on Susceptibility to Autoimmune and Allergic Diseases. N Engl J Med 2002; 347:911-920, DOI: 10.1056/NEJMra020100
- 2 Aho V, Ollila HM, Rantanen V, Kronholm E et al.: Partial Sleep Restriction Activates Immune Response-Related Gene Expression Pathways: Experimental and Epidemiological Studies in Humans. PLoS ONE 2013; 8(10): e77184, DOI: 10.1371/journal.pone.0077184
- 3 Chassaing B et al.: Dieatary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. Nature 2015; 5;519(7541):92-6, DOI: 10.1038/nature14232
- 4 Herrmann et al.: Methodical and pre-analytical characteristics of a multiplex cancer biomarker immunoassay. World J Methodol 2014; 4(4):219-231, DOI: 10.5662/wjm.v4.i4.219

Danesh J et al.: C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. N Engl J Med 2004; 1;350(14):1387-97, DOI: 10.1056/NEJMoa032804

Gabay C, Kushner I: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. N Engl J Med 1999; 11;340(6):448-54, DOI: 10.1056/NEJM199902113400607

Pepys MB, Hirschfield GM: C-reactive protein: a critical update. J Clin Invest 2003; 112(2):299, DOI: 10.1172/JCl18921