

Voordrachten

Critical Care Testing: promises and fallacies

R.G.J. WESTENDORP

Op een afdeling voor intensieve zorg zijn klinisch-chemische parameters een belangrijk middel om de ernst van ziekte te meten en de behandeling van patiënten aan te passen. Tevens kunnen de gemeten parameters ons inzicht verschaffen over de pathogenese van ziekten. Hoewel bekend is dat de op deze wijze verkregen associaties tussen klinisch-chemische parameters en de ernst van ziekte geen causale relatie hoeven te betekenen worden hieruit niet zelden onjuiste conclusies getrokken. Hiervan wil ik een voorbeeld geven aan de hand van de met enige regelmaat voorkomende meningococcenziekte.

Hypocortisolisme als oorzaak van shock?

Meningococcenziekte is een infectie veroorzaakt door *Neisseria meningitidis*. Klinisch kunnen twee beelden worden onderscheiden. Allereerst de (klassieke) meningitis gepaard gaande met koorts, nekstijfheid en kenmerkende huidafwijkingen. Met de invoering van penicilline als adequaat antibioticum is de prognose van dit ziektebeeld relatief gunstig. De mortaliteit is minder dan 5%, de morbiditeit gering. Een aantal van de patiënten ontwikkelt echter geen meningitis maar in een vroeg stadium van de ziekte een fulminant verlopende sepsis. Deze gaat gepaard met zeer ernstige diffuse intravasale stolling met als gevolg necrose en bloedingen in huid, ledematen en organen. Dit verklaart de mortaliteit van meer dan 50% ondanks het gebruik van adequate antibiotica en ondersteunende behandeling op de afdeling intensieve zorg.

Fulminant verlopende meningococcensepsis staat wel bekend als het Waterhouse-Friderichsen-syndroom. De Britse arts Waterhouse (1873 - 1958) beschreef als eerste de beiderzijds optredende bijnierbloedingen welke hij bij de obductie van deze patiënten aantrof. Toentertijd ontwikkelde men dan ook de gedachte dat een hypocortisolisme op basis van de bijnierbloeding

zou bijdragen aan de septische shock en daarmee het fatale beloop van de ziekte. Het heeft lange tijd geduurd voordat het cortisolgehalte in bloed daadwerkelijk gemeten kon worden zodat de bovengenoemde hypothese getoetst kon worden.

In 1979 rapporteerde Lewis de concentraties van cortisol in serum van patiënten met een fulminant verlopende meningococceninfectie (1). Hij deed twee opmerkelijke bevindingen. Ten eerste waren de cortisolwaarden zonder uitzondering boven de referentiewaarde van circa 400 nmol/l. Ten tweede bleken de serumconcentraties van cortisol bij de patiënten die de ziekte overleefden en zij die aan de ziekte overleden gelijk. Beide waarnemingen pleiten tegen een belangrijke bijdrage van een cortisoldeficiëntie aan de ernst van het ziektebeeld. Het heeft echter nog lange tijd geduurd voordat medicamenteuze therapie met hoge dosis corticosteroiden uit het therapeutisch arsenaal waren verdwenen. Dit gebeurde pas toen in gerandomiseerde experimenten hoge doses steroiden in de behandeling van patiënten met sepsis niet effectief bleken te zijn.

Op zoek naar nieuwe mediators

De afgelopen 10 jaar is veel onderzoek verricht naar de mediators die verantwoordelijk kunnen worden gesteld voor het fulminante beloop van de infectie. Eén daarvan is tumor necrosis factor (TNF). Wanneer proefdieren met een hoge dosis TNF worden ingespoten, ontstaat een ziektebeeld met grote gelijkenis op een fulminant verlopende meningococcensepsis. Korte tijd na deze experimenten werd melding gemaakt van het feit dat hoge plasmaconcentraties van TNF konden worden aangetoond bij patiënten met een meningococcensepsis (2). Daarnaast bleek de hoogte van de plasmaspiegels van TNF gecorreleerd met de ernst van de ziekte. Dit leidde tot een algemene conclusie dat hoge concentraties van TNF oorzakelijk met meningococcensepsis verbonden zijn. Farmaceutische industrieën hebben daarop gereageerd met het ontwikkelen van monoclonale antistoffen die in staat zouden moeten zijn het biologisch actieve TNF uit de bloedbaan te verwijderen en daarmee de prognose van de ziekte te verbeteren.

In het begin van de negentiger jaren bleek dat TNF ook belangrijk bijdraagt aan een adequate gastheerrespons op de aanwezigheid van micro-organismen. Wanneer proefdieren met een letale experimentele infectie werden behandeld met een geringe hoeveelheid TNF dan bleek de overleving beter te zijn (3). De bevindingen werden bevestigd toen genetisch gemani-

Afdeling Algemene Interne Geneeskunde en Klinisch Epidemiologie in samenwerking met de Afdeling Klinische Chemie, Academisch Ziekenhuis Leiden.

Correspondentie: Dr. R.G.J. Westendorp, Algemene Interne Geneeskunde, AZL, Postbus 9600, 2300 RC Leiden.
Ingekomen: 23.12.96

De auteur ontving de National IFCC-AVL Award voor zijn bijdrage in "Critical Care Testing".
De voordracht gehouden op 6 november tijdens de vergadering van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie behandelde een deel van deze bijdrage.

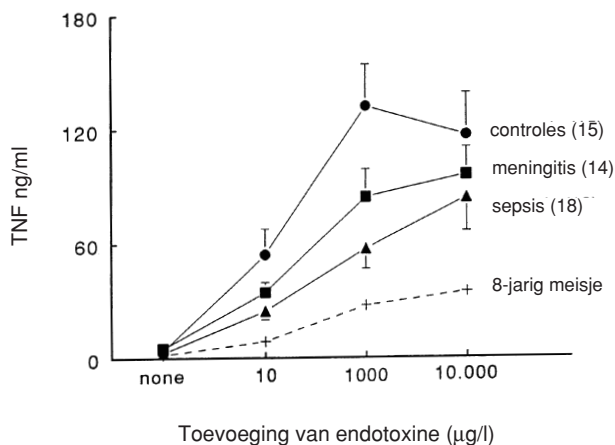
puleerde proefdieren beschikbaar kwamen waarbij de signaaltransductie van TNF was uitgeschakeld. Deze genetisch gemanipuleerde proefdieren bleken extreem gevoelig te zijn voor infecties. De biologische activiteit van TNF is dus tweërlei: noodzakelijk in de afweer tegen infecties en een mediator van shock wanneer hoge systemische concentraties worden bereikt (5).

Cytokinenproductie in een heel-bloed-stimulatie ex-vivo

Enige tijd geleden hebben wij onderzoek opgestart om na te gaan of een aangeboren neiging tot de productie van TNF zou kunnen bijdragen aan het verloop van meningococcenziekten. Daarvoor hebben wij een infectie, en de daarmee gepaard gaande productie van TNF, proberen na te bootsen in bloedmonsters ex-vivo. Hiertoe wordt vol bloed in heparine-bevattende buizen geïncubeerd met oplopende concentraties endotoxine, een celwandbestanddeel van *Neisseria meningitidis*. Endotoxine wordt verondersteld de start te zijn van de ontstekingsreactie die leidt tot shock. Op deze wijze kan in een heel-bloed-stimulatie ex-vivo een fraaie concentratie-afhankelijke toename van TNF-productie worden waargenomen. De interindividuele variatie in de productie van TNF lijkt een factor 10 te kunnen verschillen.

Om aan te tonen in hoeverre de hoogte van deze TNF-productie in respons op endotoxine wordt bepaald door erfelijke factoren, hebben wij aansluitend een tweelingenstudie verricht. In deze studie werd de productie van TNF vergeleken tussen eenenijge tweelingen, en broertjes en zusjes die een erfelijke relatie hebben gelijk aan tweeenijge tweelingen (6). Uit het onderzoek bleek dat de TNF-productie in éénenijge tweelingen sterk overeen kwam gegeven, een correlatiecoëfficiënt van 0,60. De overeenkomst tussen broertjes en zusjes was veel kleiner. De correlatiecoëfficiënt bedroeg 0,22. Een zelfde patroon werd gevonden bij de productie van interleukine-10 (IL-10) een anti-inflammatoir cytokine dat de productie van TNF onderdrukt. De correlatiecoëfficiënt voor IL-10-productie bedroeg 0,75 voor eenenijge tweelingen en 0,33 voor broertjes en zusjes. Gezien het feit dat broertjes en zusjes voor slecht 50% genetisch aan elkaar gelijk zijn en eenenijge tweelingen 100%, kan uit de gemeten correlatieverschillen worden afgeleid dat de productie van TNF en IL-10 gemeten in een heel-bloed-stimulatie ex-vivo voor circa 60 tot 70% wordt bepaald door erfelijke factoren.

De productie van TNF in de heel-bloed-stimulatie ex-vivo werd ook bepaald in de patiënten die de meningococcenziekte hadden overleefd. Daarvoor werden zij geruime tijd na de ziekenhuisopname opgeroepen voor de afname van een bloedmonster (7). Het bleek dat de patiënten die een meningitis hadden doorgemaakt, werden gekenmerkt door een gemiddeld lagere TNF-productie dan de controlepersonen (zie figuur 1). De TNF-productie was nog lager bij de personen die tijdens de acute fase van het ziektebeeld werden gekenmerkt door een fulminant verlopende meningococcensepsis. Een meisje van 8 jaar, dat twee maal werd getroffen door een meningococcensepsis,



Figuur 1. Productie van TNF in een heel-bloed-stimulatie ex-vivo in controle personen en patiënten met een doorgemaakte meningococceninfectie (met toestemming verkregen uit referentie 7).

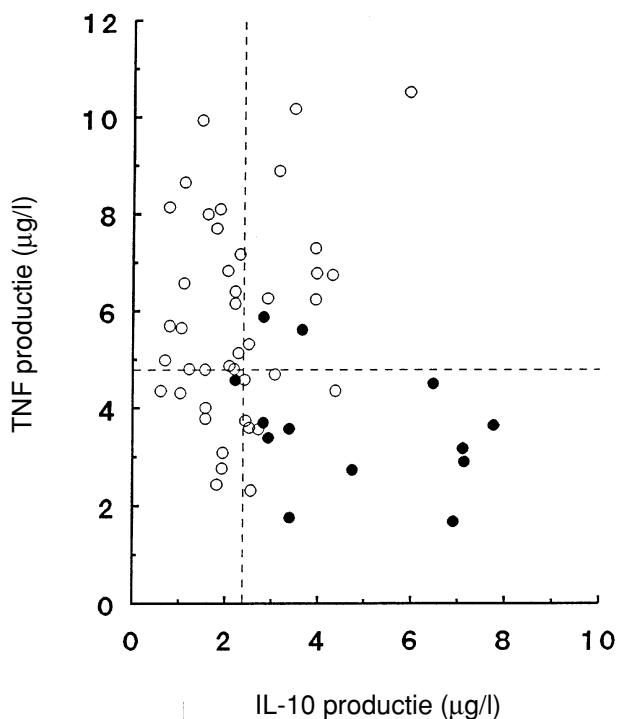
werd gekenmerkt door een zeer lage TNF-productie wanneer het bloedmonster werd geïncubeerd met endotoxine.

Deze bevindingen leken de hypothese dat een hoge productie van TNF bijdraagt aan de ernst van meningococcenziekten niet te kunnen ondersteunen. Zij waren hiermee in tegenspraak. Personen die het meest ernstige ziektebeeld hadden doorgemaakt, werden gekenmerkt door een lage TNF-productie wanneer hun bloedmonsters werden geïncubeerd met endotoxine. Een methodologisch bezwaar van de beschreven observaties is het feit dat de patiënten met het meest ernstige ziektebeeld niet konden worden onderzocht. Deze patiënten overleden tijdens de ziekenhuisopname.

Familie onderzoek

Gezien het feit dat de TNF-respons op endotoxine erfelijk lijkt te zijn vastgelegd, kan de hoogte van de TNF-productie ook worden ingeschat door de cytokinenproductie in de eerstegraads familieleden van de patiënt te bepalen. De genetische overeenkomst tussen deze familieleden is immers 50%. Het voordeel van een dergelijke aanpak is dat ook een schatting kan worden gemaakt van de TNF-productie van de patiënten die tijdens de acute fase van de ziekte kwamen te overlijden.

Daartoe werd in de laatste fase van het onderzoek alle eerstegraads familieleden van patiënten die de ziekte overleefden en van de patiënten die aan de ziekte overleden, opgeroepen om een bloedmonster af te staan. Tijdens de heel-bloed-stimulatie ex-vivo bedroeg de TNF-productie bij de eerstegraads familieleden van de overleden patiënten ongeveer de helft van de TNF-productie bij de familieleden van de patiënten die de ziekte overleefden (6). Ergo, de patiënten die aan de ziekte overleden werden gekenmerkt door een lage TNF-productie bij endotoxinestimulatie. Ook werd onderzocht of de productie van IL-10 verschillend was tussen beide groepen. Het bleek dat de productie van IL-10 tweemaal hoger is bij de familieleden van de patiënten die aan de ziekte overleden. Deze hoge productie van IL-10 lijkt het fenotype



Figuur 2. Gemiddelde productie van TNF en IL-10 in een heel-bloed-stimulatie ex-vivo in families van patiënten met een doorgemaakte meningococceninfectie. Dichte rondjes representeren de families waarin de patiënt is overleden, de open rondjes representeren de families waarin de patiënt de infectie heeft overleefd (met toestemming verkregen uit referentie 6).

van een lage TNF-productie enkel te versterken, omdat IL-10 de productie van TNF onderdrukt.

De uitkomsten van dit onderzoek zijn samengevat in figuur 2. Hierin representeert elk punt de familieschatting van de productie van TNF en de productie van IL-10 tijdens incubatie met endotoxine. Vrijwel zonder uitzondering worden de families waarin de patiënt met meningococcenziekte is overleden gekenmerkt door een lage productie van TNF en een hoge productie van IL-10. Deze bevindingen zijn in overeenstemming met de gegevens uit het dierexperimenteel onderzoek.

Nieuwe experimenten

In de afgelopen jaren zijn monoclonale antilichamen ontwikkeld waarmee selectief TNF uit de bloedbaan kan worden verwijderd. Inmiddels zijn de resultaten van de klinische effectiviteitsstudies bekend geworden. Het blijkt dat de toediening van anti-TNF-antilichamen bij patiënten met sepsis leidt tot een dosis-

afhankelijke verhoging van de mortaliteit (8). Deze bevindingen waren onverwacht. Ze zijn echter in overeenstemming met het boven beschreven dierexperimenteel onderzoek en de observaties bij personen met een doorgemaakte meningococceninfectie. Beiden maken aannemelijk dat TNF een noodzakelijke mediator is in de afweer tegen infecties.

Conclusie

De conclusies welke zijn getrokken uit de plasma-waarden van cortisol tijdens de acute fase van meningococcensepsis blijken de juiste te zijn. Een cortisoldeficiëntie is in de regel afwezig en lijkt geen belangrijke bijdrage te leveren aan de ernst van het ziektebeeld. Achteraf moet worden vastgesteld dat de conclusies die zijn getrokken uit de plasmaconcentraties van TNF tijdens de acute fase van het ziektebeeld onjuist waren. De bevindingen onderstrepen de moeilijkheden bij de etiologische interpretatie van klinisch-chemische parameters bij kritisch zieke patiënten. Aanvullende observaties zijn veelal noodzakelijk alvorens eenduidige conclusies over de pathogenese kunnen worden getrokken.

Literatuur

1. Lewis LS. Prognostic factors in acute meningococcaemia. *Arch Dis Child* 1979; 54: 44-48.
2. Girardin E, Grau EG, Dayer J, et al. Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N Eng J Med* 1988; 319: 397-400.
3. Alexander HR, Sheppard BC, Jensen JC, et al. Treatment with recombinant human tumor necrosis factor-alpha protects rats against the lethality, hypotension and hypothermia of gram-negative sepsis. *J Clin Invest* 1991; 88: 34-39.
4. Rothe J, Lesslauer W, Lötscher H, et al. Mice lacking the tumour necrosis factor receptor 1 are resistant to TNF-mediated toxicity but highly susceptible to infection by *Listeria monocytogenes*. *Nature* 1993; 364: 798-802.
5. Bone R. Immunologic dissonance: A continuing evaluation in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Ann Intern Med* 1996; 125: 680-687.
6. Westendorp RGJ, Langermans JAM, Huizinga TWJ, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet* 1997; 349: 170-173.
7. Westendorp RGJ, Langermans JAM, de Bel CE, et al. Release of tumor necrosis factor: An Innate Host Characteristic that May Contribute to the Outcome of Meningococcal Disease. *J Infect Dis* 1995; 171: 1057-1060.
8. Fisher CJ, Agosti JM, Opal SM, et al. Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor: Fc Fusion protein. *N Engl J Med* 1996; 334: 1697-1702.