

Antiendotoxische Immuntherapie

B. Lischka

Einleitung

Endotoxine sind Wandbestandteile der gramnegativen Bakterien und stellen chemisch Lipopolysaccharide (LPS) dar. Diese LPS bestehen aus den 3 Regionen Lipid A, Core und „O“-Kette (Abb. 1). Die innere Lipid-A-Schicht ist die eigentlich toxische Region. Sie wird durch die Oligosaccharide Core mit den Polysacchariden der „O“-Kette verbunden, die als Schutzhülle für Lipid A gegenüber körpereigenen Abwehrmechanismen fungieren.

Endotoxine werden sowohl vom intakten Bakterium abgegeben als auch nach dem Zelltod durch massiven Zellwandzerfall in die Blutbahn freigesetzt (Shenep et al., 1985). Geringe Mengen an LPS können von Blutmakrophagen unschädlich gemacht werden, jedoch ab einer Konzentration von 1 ng/ml können Endotoxine tödlich sein (Wardle, 1974). Diese Lipopolysaccharide sind chemisch äußerst stabil und behalten ihre Toxizität sogar nach dem Erhitzen auf 100 °C bei.

Antibiotika können zwar gramnegative Bakterien abtöten, sind jedoch gegen die beim Bakterientod massenhaft freier werdenden Endotoxine völlig machtlos. Wie Shenep und Mogan (1984) berichten, kann der Anstieg des Endotoxintiters nach antibiotischer Therapie bis zum 2000fachen erhöht sein. Wir kennen dieses Phänomen als „Herxheimer-Effekt“.

Die meisten klinischen Fälle von Endotoxämie sind sekundärer Natur und entwickeln sich bei Veränderungen der Blut-Darm-Schranke. Im Darmlumen sind immer massenhaft gramnegative Bakterien vorhanden, und diese können bei vielen Erkrankungen des Darmtraktes resorbiert werden (Abb. 2 und 3).

Folgende Krankheitsbilder mit bedeutender Endotoxinbeteiligung sind für den Pferdeterarzt von praktischer Bedeutung:

1. intestinale Durchblutungsstörungen z. B. bei parasitären Embolien sowie bei allen Formen des Schocks (besonders nach Freiwerden von vasoaktiven Substanzen und Störung der Mikrozirkulation);
2. bei Durchfallerkrankungen (besonders nach Antibiotikatherapie);
3. nach Lageveränderungen des Darmes (Volvulus, Hernien, Invaginationen etc.);
4. bei verminderter bzw. aufgehobener Peristaltik (Obstipation, „Transportfieber“ etc.);
5. nach direkter Schädigung der Darmschleimhaut durch Viren, Bakterien oder chemische Noxen (z. B. Parvo-, Rotaviren).

Zusammenfassung

Endotoxämien kommen in der Pferdepraxis, besonders bei Koliken und Durchfällen, häufig vor und können spezifisch mit antiendotoxischen Immunglobulinen behandelt werden. Das von Gaffin entwickelte polyklone Hyperimmunpräparat gibt passiven Schutz und neutralisiert nicht nur die Endotoxine einiger bestimmter Stämme gramnegativer Bakterien, sondern übermittelt Kreuzimmunität gegenüber einem breiten Spektrum von Endotoxinen bei verschiedensten mit Endotoxämie einhergehenden Krankheitsbildern.

Antiendotoxische Immuntherapie

Endotoxemia is frequently seen in equine practice, especially in cases of colic and diarrhoea. The most common source of endotoxins (which are part of gramnegative bacterial cell walls) is the intestinal microbiological flora. Every damage to the gastrointestinal barrier results in endotoxin absorption the degree of which depends on the severity and duration of that damage. Reduced blood flow to the gut, incarcerations, hernias, „twisted gut syndrome“, reduced peristaltic, diarrhoea, stress and dehydration will always result in various degrees of endotoxemia, complicating the treatment of these conditions while acute endotoxemia, as observed in Colitis X, is almost invariably fatal.

Encouraging results on both laboratory and clinical testing level have been achieved by administration of an endotoxin-specific antibody preparation providing crossprotection against endotoxins of a broad spectrum of gramnegative bacteria. These antibodies bind to various regions of the endotoxin molecule, neutralising it within a few minutes, and also have the ability to activate complement which leads to rapid bactericidal action.

Clinical experience up to date is presented for antiendotoxin treatment in colic and diarrhoea. A detailed clinical trial is currently underway at the Veterinary University of Vienna, Austria.

Die Hauptindikationen für antiendotoxische Immuntherapie beim Pferd stellen daher die Kolik- und Durchfallerkrankungen dar.

In Abb. 4 ist das typische Bild der tödlich verlaufenden Endotoxämie anhand physiologischer Parameter im Tierversuch an Affen dargestellt. Nach Infusion einer letalen Dosis von *E. coli* fällt die Bakterienkonzentration bereits eine halbe Stunde nach Absetzen der Infusion stark ab. Die Endotoxine (LPS-Kurve) hingegen werden nach ihrem deutlichen Peak von der körpereigenen Abwehr nur unwesentlich beeinflusst. Puls und Atemfrequenz steigen zunächst an, wobei aber zu diesem Zeitpunkt die Bakterienkonzentration bereits unbedeutend ist. Die Körpertemperatur bleibt unverändert und fällt erst prä mortal gemeinsam mit Puls und Atemfrequenz ab.

Nach langjähriger Forschungsarbeit gelang 1980 dem amerikanischen Biochemiker Stephan Gaffin die Entwicklung endotoxinspezifischer Antikörper, welche zunächst an Labortieren und seit 1983 in der tierärztlichen Praxis erprobt wurden.

Wirkungsmechanismen

Gaffins polyklones, antiendotoxisches Gammaglobulin enthält einen Pool von Antikörpern der Fraktionen G und M, die spezifisch gegen Endotoxine eines breiten Spektrums gramnegativer Bakterien gerichtet sind. Dabei bewirkt nur ein kleiner Teil der Antikörper eine spezifische Bindung, während der größere Teil Kreuzimmunität ver-

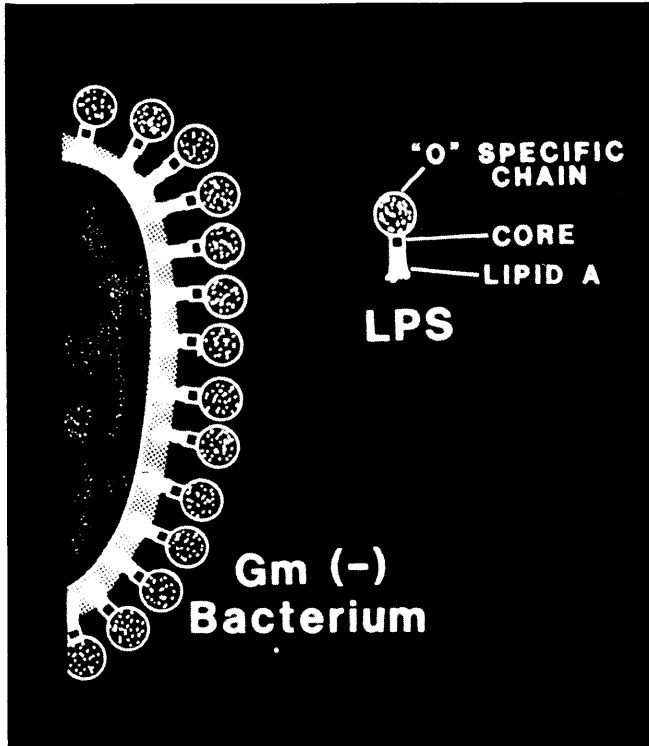


Abb. 1: Endotoxine sind Wandbestandteile gramnegativer Bakterien.

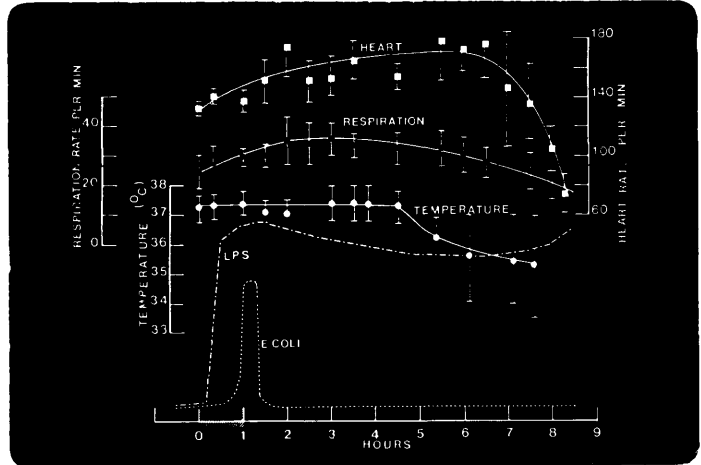


Abb. 4: Zusammenhang zwischen Bakteriämie und Endotoxämie. Die pathologischen Veränderungen und der Tod des Tieres korrelieren nicht mit der Bakterien-, sondern mit der Endotoxinkonzentration.

leicht (Gaffin et al., 1985). Abgesehen von der Neutralisierung freier Endotoxine binden die Antikörper auch die LPS an der intakten Bakterienoberfläche und aktivieren Komplement, wodurch eine bakterizide Aktivität besteht (Abb. 5). Diese Antigen-Antikörper-Komplexe sind auch für Makrophagen leichter „erkennbar“. So beschreiben Puffinberger et al. (1985) eine deutliche Steigerung der Phagozytose nach Applikation von Anti-LPS (Abb. 6 und 7).

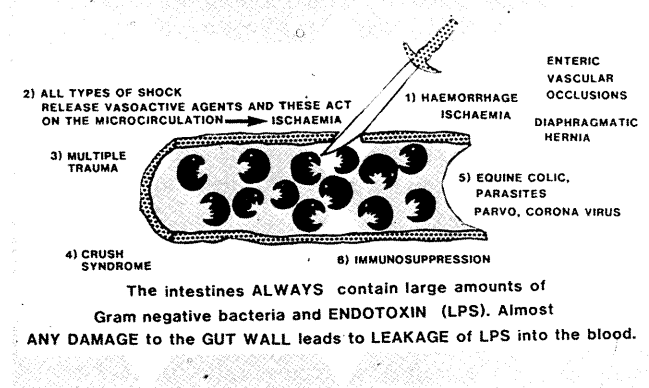


Abb. 2: Die für die Pferdepraxis wichtigsten Krankheitsbilder, bei denen Endotoxine vom Darm her resorbiert worden sind: Kolik, Parasitenbefall, Schock, virale Darminfekte, Durchfallerkrankungen.

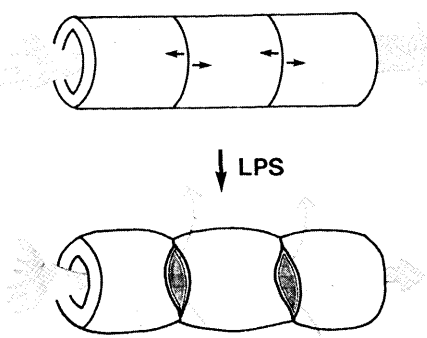


Abb. 3: Endotoxine verursachen eine Kontraktion der kapillären Endothelzellen und gestatten so die pathologische Resorption von LPS.

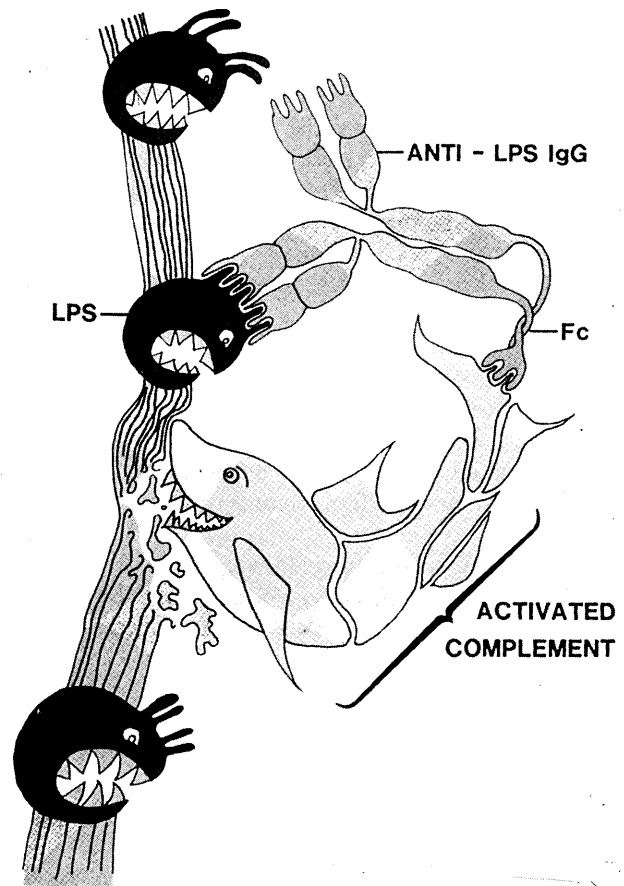
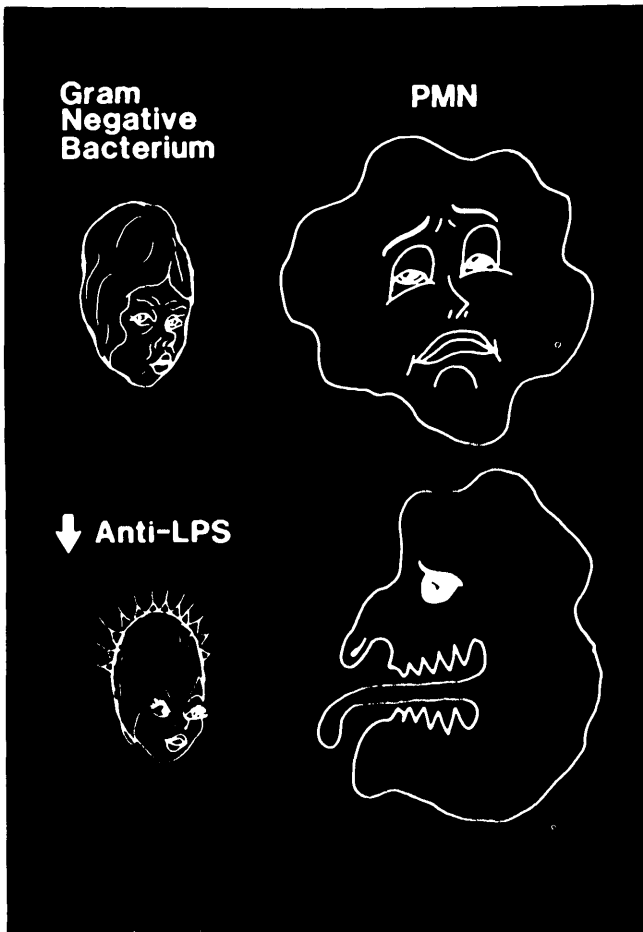


Abb. 5: Durch die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen an der Bakterienoberfläche wird Komplement aktiviert.



Added to medium	Phagocytosis (mean ± SD)	Phagocytosis index (b)
Normal serum	6 ± 8	29.7 ± 11.8
Normal IgG	29.7 ± 13.4*	61.6 ± 32.0†
Anti-LPS	50.6 ± 13.9**	108.7 ± 37.3‡

Abb. 6 und 7: Anti-LPS bindet Endotoxine an der Bakterienoberfläche und erhöht so die Phagozytoserate deutlich.

In vitro können die morphologischen Veränderungen gramnegativer Bakterien nach Inkubation mit antiendotoxischem Hyperimmunplasma deutlich dargestellt werden. In den Abb. 8, 9 und 10 werden diese raschen Veränderungen elektronenmikroskopisch an Hand von Klebsiella spp. demonstriert.

Die bakterizide Wirkung von antiendotoxischem Hyperimmunplasma konnte auch in vivo nachgewiesen werden. Im Tierversuch wurde eine experimentelle Pseudomonas-keratitis erzeugt (Abb. 11). Welsh et al. (1984) verabreich-

GASTROENTERITIS EPIDEMIC AMONG FOALS			
Therapy	No.	Mortality	Recovery
Conventional	43	Two	10 Days, Stunted in Growth
Conventional & AntiET Serum	21	None	2 Days, Complete

Tab. 1: Therapie der hämorrhagischen Gastroenteritis mit Antiendotoxin.

GASTROENTERITIS IN FOALS PROPHYLAXIS			
	Sick/Total		
Controls	51 / 156	38,8 %	
Anti LPS	2 / 72	2,8 %	
p < .001			

Tab. 2: Prophylaxe der hämorrhagischen Gastroenteritis mit Antiendotoxin.

ten 1 Woche lang Anti-LPS als Augentropfen und konnten eine weitgehende Besserung erzielen (Abb. 12).

In Abb. 13 sind die Endotoxinkurve und der Neutralisierungseffekt von antiendotoxischen Immunglobulinen im Tierversuch von Gathiram et al. (1986) dargestellt. Nach 1stündiger Unterbrechung der intestinalen Blutzufuhr (vordere Gekrösewurzelarterie) steigt die LPS-Konzentration im Blut stark an und erreicht ohne Behandlung bereits 1/2 Stunde nach Öffnung der Arterienklemme einen deutlichen Peak. Die Tiere wurden in verschiedene Versuchsgruppen geteilt und a) sofort nach Wiederherstellung der Blutzufuhr, b) nach 10 Minuten oder c) nach 20 Minuten mit Antiendotoxin behandelt. Es fällt bei allen drei Gruppen auf, daß die Endotoxine unabhängig von der jeweiligen Titerhöhe innerhalb weniger Minuten neutralisiert werden konnten.

Klinische Erfahrungen

Eine vergleichende klinische Studie (Gaffin et al., 1982) konnte bei einer epidemischen Fohlengastroenteritis im Vollblutzugsgebiet von Natal an der Summerveld Equine Clinic (Baker, Du Preez, Fleming und Katzwinkel) gemacht

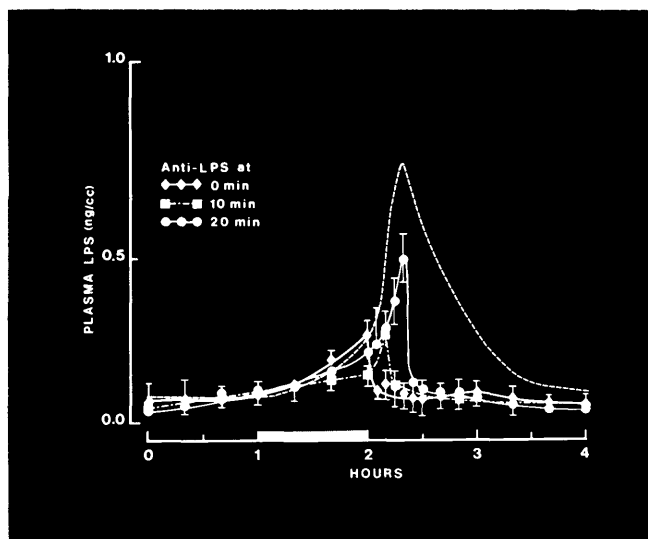


Abb. 13: Nach Injektion von Antiendotoxin fällt die Endotoxinkonzentration, unabhängig von der jeweiligen Titerhöhe, innerhalb weniger Minuten drastisch ab.

mit akutem Endotoxinschock einher und sind für ihre hohe Mortalität bekannt.

Von größter Bedeutung für die Praxis dürften subakute Endotoxämien sekundärer Natur sein, die viele Krankheitsbilder komplizieren. Auch wenn über die Häufigkeit von subakuten Kolikfällen und mittel- bis hochgradigen Durchfallerkrankungen kein exaktes statistisches Material zur Verfügung steht, so wird doch jeder Pferdepraktiker mit diesen Fällen konfrontiert.

Literatur

- Baker, B., Gaffin, S. L., Wells, Michelle, T., und Brock-Utne, J. G. (1987): Endotoxaemia in Racehorses Following Exertion. *Equine Vet. J.* submitted.
- Gaffin, S. L., Badsha, B., und Vorster, B. J. (1985): Properties of Human Anti-Lipopolysaccharide Gamma Globulin: Specificity and Protective Effects. *Vox Sang.* 48, 276-283.
- Gaffin, S. L., Baker, B., Du Preez, J., Katzwinkel, R., Fleming, J., und Brock-Utne, J. G. (1982): Prophylaxis and Therapy with Anti-Endotoxin Hyperimmune Serum Against Gastroenteritis and Endotoxaemia in Horses. *Proc. 28th Annual Conv. American Ass. Equine Practice*, 335-340.
- Gathiram, P., Gaffin, S. L., Wells, Michelle, T., und Brock-Utne, J. G. (1986): Superior Mesenteric Artery Occlusion Shock in Cats: Modification of Endotoxaemia by Antilipopolysaccharide Antibodies (Anti-LPS). *Circ. Shock.* 19, 231-237.
- Pudifin, D., L'Hoste, I., Duursma, J., und Gaffin, S. L. (1985): Opsonisation of Gram-Negative Bacteria by Anti-Lipopolysaccharide Antibodies. *Lancet* 1, 1009-1010.

Die Therapie der Endotoxämie beim Pferd beschränkte sich lange Zeit auf die Korrektur des Säure-Basen-Haushaltes, die Ausgleichung von Volumendefizit und onkotischem Druck, die Verabreichung von Kortikosteroiden bei Schockpatienten sowie die, zwecks Verhütung weiterer Endotoxinfreisetzung, äußerst vorsichtige Anwendung antimikrobieller Substanzen. Alle diese Maßnahmen sind jedoch unspezifisch und nicht direkt gegen Endotoxine gerichtet.

Das von Gaffin entwickelte polyklonale Hyperimmunpräparat mit endotoxinspezifischen Antikörpern kann sowohl therapeutisch als auch prophylaktisch gegen Endotoxine eingesetzt werden. Diese Antikörper neutralisieren freierwerdende Endotoxinmoleküle innerhalb weniger Minuten; sie können jedoch die bereits erfolgten Toxinwirkungen, insbesondere die Kapillarschädigungen, die zu Plasmaverlust und Schock führen, nicht rückgängig machen. Aufgrund bisheriger Erfahrungen (Baker, Du Preez, Wessels und Kopf: persönliche Mitteilungen) ist daher bei schweren Kolik-, Schock- und Durchfallpatienten eine möglichst frühzeitige Applikation, idealerweise noch vor Überweisung in die Klinik, zu empfehlen, um die Tiere soweit als möglich vor den Toxinwirkungen zu bewahren.

Im Zusammenhang mit den heutigen Kenntnissen über die Pathogenese der Endotoxämie sollte auch bei Zuständen, die durch Streß und Dehydratation gekennzeichnet sind (z. B. „Reisefieber“), an die zu vermutende Endotoxinbeteiligung gedacht werden, und dies müßte das Ziel weiterer Forschungsarbeit sein.

- Shenep, J. L., Barrett, F., Stidam, G. L., Westerkirchner, D., und Flynn, P. (1985): Endotoxin Liberation During the Therapy for Gram-Negative Bacterial Sepsis. *Crit. Care Med.* 13, 298.
- Shenep, J., und Mogan, K. (1984): Kinetics of Endotoxin Release During Antibiotic Therapy for Experimental Gram-Negative Bacterial Sepsis. *J. Inf. Dis.* 150, 380-388.
- Wardle, E. N. (1974): Endotoxaemia Detected by Limulus Assay in Patients with Acute and Chronic Renal Failure and Renal Transplant Recipients. *Int. Res. Comm. Syst.* 23, 1242.
- Welsb, N. H., Rauch, A., und Gaffin, S. L. (1984): Topical Immunotherapy for Pseudomonas Keratitis in Rabbits. *Br. J. Ophthal.* 68, 828-832.

Dr. B. Lischka
Rosenackerstraße 65
A-1170 Wien