

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie

Direktor: Prof. Dr. Rainer H. Böger

Zentrum für Experimentelle Medizin

Rolle des endogenen NO-Synthase-Inhibitors ADMA bezüglich verzögerter cerebraler Ischämien bei Patienten nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Miriam Seeberger-Steinmeister

aus Weinheim

Hamburg 2019

Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 19.08.2020

Veröffentlicht mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Rainer Böger

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Manfred Westphal

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	5
1.1	Einführung.....	5
1.2	Klinisches Bild.....	8
1.3	Diagnostisches Procedere.....	9
1.4	Stadieneinteilung.....	10
1.5	Komplikationen.....	13
1.6	Vasospasmus.....	16
1.6.1	Diagnostik des Vasospasmus.....	17
1.6.2	Intrakranieller Druck.....	19
1.7	Therapie der SAB und ihrer Komplikationen.....	20
1.7.1	Coiling bzw. Clipping.....	20
1.7.2	Prävention der verzögerten cerebralen Ischämie.....	22
1.7.3	Nimodipin.....	23
1.7.4	Therapie des Vasospasmus.....	24
1.8	Prognose.....	24
1.9	ADMA, SDMA und der NO-Stoffwechsel.....	26
2.	Material und Methoden.....	33
2.1	Studienaufbau und Studienablauf.....	33
2.2	Patienten.....	35
2.3	Messung der Plasmakonzentration von L-Arginin, ADMA und SDMA mit LC-MS/MS.....	35
2.3.1	Vorbereitung der Proben und Reagenzien.....	36
2.3.2	Durchführung.....	36
2.4	Bestimmung der Liquorkonzentration von L-Arginin, ADMA und SDMA.....	38
2.5	Klinische Parameter.....	38
2.6	Transkranielle Dopplersonographie (TCD).....	39
2.7	ICP, CCP, MAP.....	40
2.8	Bestimmung der Glasgow Outcome Scale.....	40
2.9	Fallzahlschätzung und biometrische Auswertung.....	40
3.	Ergebnisse.....	41
3.1	Patientenkollektiv.....	41

3.2	Intensivmedizinischer Verlauf.....	44
3.3	ADMA, SDMA und L-Arginin im Plasma.....	45
3.4	ADMA, SDMA und L-Arginin im Liquor.....	48
3.5	Prädiktive Rolle von traditionellen Markern und Untersuchungen für DCI und neurologisches Outcome.....	50
3.6	Prädiktive Rolle von Methylarginin als Biomarker für DCI und neurologisches Outcome.....	52
3.7	Glasgow Outcome Scale nach Verlegung von der Intensivstation und drei Monate später.....	56
4.	Diskussion.....	58
4.1	Subarachnoidalblutung und Vasospasmus.....	58
4.2	Prädiktiver Wert von ADMA und SDMA im Plasma.....	60
4.3	L-Arginin/ADMA-Ratio im Plasma.....	60
4.4	Prädiktiver Wert von ADMA im Liquor.....	62
4.5	Die Rolle von SDMA bei Patienten mit Subarachnoidalblutungen.....	62
5.	Zusammenfassung.....	64
6.	Anhang.....	68
6.1	Abkürzungsverzeichnis.....	68
6.2	Abbildungsverzeichnis.....	70
6.3	Tabellenverzeichnis.....	70
6.4	Materialien und Geräte.....	71
6.4.1	Substanzen.....	71
6.4.2	Verbrauchsmaterial.....	72
6.4.3	Laborgeräte.....	73
6.4.4	Computerprogramme.....	74
7.	Literaturverzeichnis.....	75
8.	Danksagung.....	92
9.	Lebenslauf.....	93
10.	Eidesstattliche Versicherung.....	95

1. Einleitung

1.1 Einführung

Die vorliegende Studie behandelt den Zusammenhang einer verzögerten cerebralen Ischämie („delayed cerebral ischemia“, DCI), als eine Form der Komplikation einer aneurysmatischen, atraumatischen Subarachnoidalblutung (SAB), mit der nachweisbaren Menge von asymmetrischem Dimethylarginin (ADMA), symmetrischem Dimethylarginin (SDMA) und L-Arginin in Plasma und Liquor.

Die Ursache von aneurysmatischen, atraumatischen Subarachnoidalblutungen sind Rupturen von Aneurysmen cerebraler Gefäße. Bei sog. Aneurysmen (siehe Abbildung 1) handelt es sich um Schwachstellen der arteriellen Gefäßwände. Diese können entweder angeboren sein oder im Laufe des Lebens entstehen (Schild et al., 2003).

Die Gefäßwand einer Arterie besteht aus drei Schichten. Die innerste, dem Lumen zugewandte Gefäßschicht, die Intima, besteht aus einem Endothel mit einer dünnen Bindegewebsschicht. Die mittlere Gefäßschicht, Media genannt, besteht aus glatter Muskulatur. Abhängig von der Größe des Gefäßes und den Druckverhältnissen darin kann diese Schicht unterschiedlich dick sein. Die Adventitia als äußerste Schicht besteht wiederum aus Bindegewebe (Schünke et al., 2007).

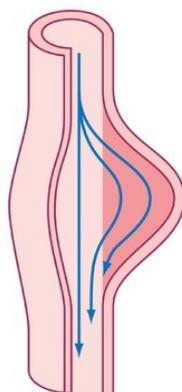


Abbildung 1: Anatomisches Bild eines Aneurysmas (Valvassori et al., 2004).

Je mehr sich das Aneurysma ausweitet, desto dünner wird die Gefäßwand. Damit steigt auch das Risiko einer Ruptur und der damit verbundenen aneurysmatischen Blutung. Treten diese Blutungen an intrakraniellen Gefäßen auf, kann das Blut an die Gehirnoberfläche in den Subarachnoidalraum gelangen. Dieser befindet sich zwischen der Subarachnoidalmembran und der Pia mater, die dem Gehirn direkt anliegt (Drake et al., 2007).

Die aneurysmatische Subarachnoidalblutung ist eine Erkrankung, die in Mitteleuropa bei 7-10/100.000 Einwohnern pro Jahr auftritt (de Rooij et al., 2012). Das Häufigkeitsmaximum liegt während der 5. und 6. Lebensdekade, wobei Frauen 1,7-mal häufiger betroffen sind als Männer (Zhao et al., 2014).

Die Subarachnoidalblutung ist eine schwerwiegende Erkrankung, bei der 10% der Patienten vor dem Erreichen des Krankenhauses und weitere 35% der Patienten innerhalb der ersten 30 Tage nach dem Initialereignis versterben (Feigin et al., 2005). Die Gesamtletalität ein Jahr nach dem Ereignis liegt bei ca. 50% (Ciurea et al., 2013). Die Subarachnoidalblutung tritt spontan auf und kann zu schwerwiegenden Komplikationen führen. Die nachfolgende Abbildung zeigt das diagnostische Bild einer Subarachnoidalblutung anhand einer Computertomographie-Aufnahme.

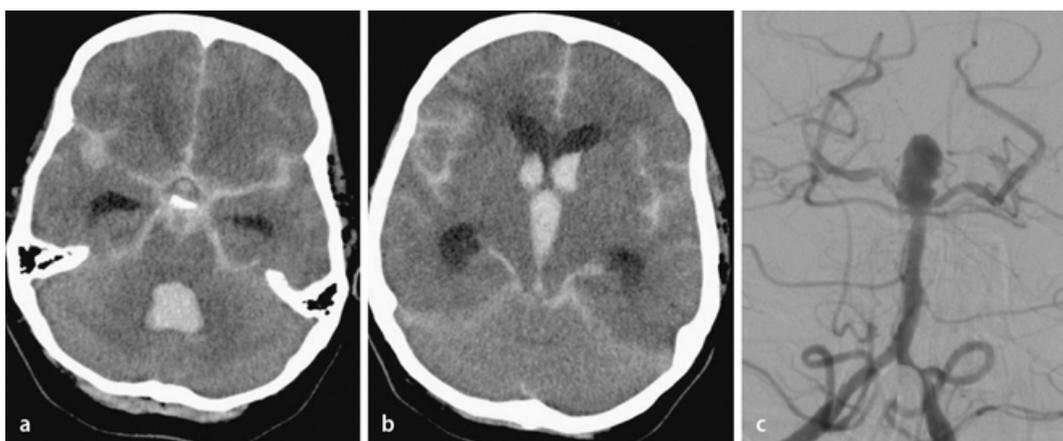


Abbildung 2: Diagnostisches Bild einer Subarachnoidalblutung (Papanagiotou et al., 2011).

In der CT-Aufnahme ist eine ausgedehnte basale SAB dargestellt; große Blutmengen in den präpontinen Zisternen sowie auch im Ventrikelsystem. Resultierend ist ein Hydrozephalus nachweisbar (a, b). In der DSA ist als Ursache der SAB ein Aneurysma am Kopf der A. basilaris nachweisbar (c). SAB Subarachnoidalblutung, DSA digitale Subtraktionsangiographie.

Die Ursache der Entstehung von Aneurysmen ist noch nicht abschließend geklärt. Allerdings weiß man heutzutage, dass verschiedene Risikofaktoren wie arterieller Hypertonus, Hypercholesterinämie, das Geschlecht, sowie Alkohol- und Nikotinabusus neben den erblichen Risikofaktoren die größte Rolle spielen. Familiär gehäuft treten cerebrale Aneurysmen bei der polyzystischen Nierenerkrankung, dem Ehlers-Danlos-Syndrom oder dem Marfan-Syndrom auf (Feigin et al., 2005). Bei aneurysmatischen Subarachnoidalblutungen liegen Blutungen im sog. Circulus arteriosus Willisii vor (siehe Abbildung 3). 85% dieser Blutungen sind im vorderen (Arteria carotis interna, A. cerebri anterior, A. cerebri media und deren Äste) und nur 15% im hinteren Versorgungsgebiet (A. vertebralis, A. basilaris, A. cerebri posterior und deren Äste) lokalisiert (Petridis et al., 2017). Dabei treten jeweils ca. 25% der Aneurysmen in der A. cerebri media und A. communicans anterior, ca. 18% in der A. communicans posterior, ca. 10% in der A. basilaris, ca. 5% in der A. pericallosa, jeweils ca. 4% in der A. carotis interna, A. choroidea und A. ophthalmica, ca. 3% in der A. vertebralis und ca. 2% in der A. cerebri posterior auf (Schild, 2003).

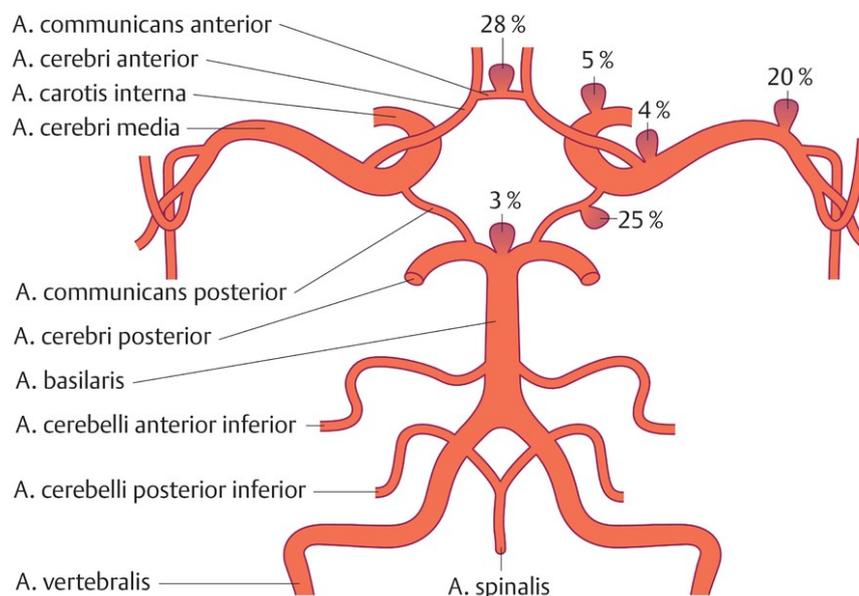


Abbildung 3: Prozentuales Verteilungsmuster bei Subarachnoidalblutungen im Circulus arteriosus Willisii (Uhlenbrock et al., 2017).

1.2 Klinisches Bild

Bei ca. 25% der Patienten zeigen sich vor der Subarachnoidalblutung Hinweise, so genannte „warning leaks“, in Form von starken, jedoch selbstlimitierenden Kopfschmerzen, die häufig 6 bis 20 Tage vor dem eigentlichen Ereignis auftreten. Eines der häufigsten akuten Symptome ist der in der Literatur häufig erwähnte „Vernichtungskopfschmerz“. Damit werden Kopfschmerzen bezeichnet, die die Patienten in dieser Stärke noch nie erlebt haben. Der Kopfschmerz persistiert in der Regel ein bis zwei Wochen (Van Gijn et al., 2007).

Nach Angaben von Patienten trat die Blutung jeweils zu einem Drittel im Schlaf, bei körperlicher Anstrengung bzw. bei Tagesaktivitäten auf (Hufschmidt et al., 2009).

In einer 2011 durchgeführten Studie ließen sich acht Triggerfaktoren erkennen (plötzliches Erschrecken, Geschlechtsverkehr, schweres Heben, Defäkation, Wut, sportliche Anstrengung, Nase putzen, Genuss von Kaffee oder Cola), die durch einen plötzlichen Blutdruckanstieg zur Ruptur von Aneurysmen führen können (Vlak et al., 2011). Als Symptome nennen die Patienten akute, sehr heftige Kopfschmerzen und meningeale Reizzeichen, aber auch Schulter-, Rücken- oder lumboschialgieforme Schmerzen. Des Weiteren kann es zu vorübergehenden Bewusstseinsstörungen und vegetativen Symptomen wie Erbrechen, Blutdruckanstieg, Fieber oder Herzrhythmusstörungen kommen. Manche Patienten klagen über fokale Anfälle mit Hirnnervenausfällen, motorischen/sensiblen Defiziten und Gesichtsfeldausfällen. Bei 6% der Patienten finden epileptische Anfälle als Initialsymptom statt (Van Gijn et al., 2007).

Neben den Funktionen des Zentralen Nervensystems werden auch weitere Organsysteme durch die akute Blutung beeinträchtigt. Die Patienten erleiden beispielsweise auch intraokuläre Blutungen, wobei es sich meist um präretinale Blutungen in der Nähe des Nervus opticus handelt. Größere präretinale Einblutungen führen zu Glaskörpereinblutungen, dem sog. Terson-Syndrom (Czorlich et al., 2015).

Auch kardiale Symptome treten im Rahmen einer akuten Subarachnoidalblutung auf. Durch eine Störung der neuro-kardiogenen Kopplung kommt es zu einer vermehrten Katecholaminausschüttung, welche von einer myokardialen Dysfunktion bis zu einer Myokardnekrose führen kann. Hierdurch bedingt treten ST-Strecken-Veränderungen,

Arrhythmien und QT-Strecken-Verlängerungen auf. Die ST-Strecken-Veränderungen können häufig nur schwer von ST-Hebungen im Rahmen eines akuten Myokardinfarktes differenziert werden. Eine hierdurch bedingte Hypotonie verstärkt die cerebrale Minderperfusion des Gehirns (Bulsara et al., 2003).

Die stark erhöhte Katecholaminausschüttung bedingt zudem eine pulmonale Hypertension, welche die Ausbildung eines Lungenödems fördert und damit zu einer Erhöhung der Letalität führt (Rose, 2011).

1.3 Diagnostisches Procedere

Einen Hinweis auf eine Subarachnoidalblutung gibt häufig der noch nie so stark da gewesene Kopfschmerz, der von vielen Patienten berichtet wird. Besteht auch nur der Verdacht auf eine SAB muss unverzüglich eine native cranielle Computertomographie (CCT) durchgeführt werden. Innerhalb der ersten 24 Stunden liegt die Sensitivität und Spezifität bei ungefähr 95%. Danach nehmen diese kontinuierlich ab (Papanagiotou et al., 2011). Das subarachnoidale Blut stellt sich in den basalen Zisternen und gegebenenfalls im Parenchym und im Ventrikelsystem hyperdens dar. Da sehr kleine akute Subarachnoidalblutungen („minor leaks“) im CCT auch in den ersten 24 Stunden nicht nachweisbar sein können, sollte beim klinischen Verdacht auf eine SAB ohne Nachweis einer Blutung im CCT eine Lumbalpunktion erfolgen. Der Liquor zeigt sich häufig im Gegensatz zum normalerweise klaren Liquor schon makroskopisch rötlich verfärbt (Martin et al., 2015).

Eine Magnetresonanztomographie (MRT) ist insgesamt sensitiver als ein CCT (Bederson et al., 2009), ist in der Akutsituation der Blutung aber wenig praktikabel und nicht in allen Kliniken verfügbar (Bederson et al., 1998).

Die digitale Subtraktionsangiographie (DSA) stellt heute die Goldstandard-Methode zur Detektion von cerebralen Aneurysmen als Ursache der SAB dar. Mit der DSA kann die Aneurysmalokalisation, -konfiguration, der Blutz- und -abfluss sowie die Relation zu den benachbarten Gefäßen dargestellt werden. Sie ist für die weitere Planung einer operativen oder interventionellen Vorgehensweise essentiell (de Oliveira et al., 2014). Die DSA erhöht jedoch das Risiko einer erneuten Aneurysmaruptur (1-2%) und neuen

neurologischen Ausfällen (1,8%; van Gijn et al., 2007). Eine CT-gestützte Angiographie kann im Akutfall, beispielsweise bei Massenblutungen, Anwendung finden. In nicht-lebensbedrohlichen Situationen ist die DSA jedoch zu präferieren (de Oliveira et al., 2014).

1.4 Stadieneinteilung

Es gibt verschiedene Scores nach denen der Schweregrad einer Subarachnoidalblutung eingeteilt wird.

Verbreitet ist die Einteilung nach Hunt und Hess, die seit 1968 Anwendung findet. Dabei werden fünf Schweregrade unterschieden, bei denen Symptome wie Kopfschmerzen und Meningismus, sowie die Vigilanz und fokale Ausfälle beurteilt werden. Das Stadium 1 beschreibt die leichteste Form mit nur dezent auftretenden Kopfschmerzen ohne fokale Ausfälle bis hin zum Stadium 5, bei dem sich der Patient im Koma befindet (Hunt et Hess, 1968).

Durch die Klassifikation der World Federation of Neurological Surgeons (WFNS) wird die Stadieneinteilung nach Hunt und Hess mit der Glasgow Coma Scale (GCS) kombiniert um eine bessere Abbildung des Bewusstseinszustandes darzustellen (Teasdale 1988; Tabelle 1). Die Glasgow Coma Scale wird bei Patienten mit Bewusstseinsstörungen angewandt und ist somit bei allen Komaformen anwendbar. Es gibt drei Rubriken, für die jeweils Punkte vergeben werden. Dazu gehören das Augenöffnen, die verbale Kommunikation und eine motorische (Bewegungs-) Reaktion (Teasdale et Jennett, 1974).

Tabelle 1: Klinische Klassifizierung einer Subarachnoidalblutung.

Hunt und Hess Grad	Klinische Symptome	WFNS Grad*	GCS Grad**	Motorisches Defizit
I	leichter Kopfschmerz, ggf. leichter Meningismus, kein neurologisches Defizit	1	15	keines
II	Kopfschmerzen, Meningismus, ggf. Hirnnervenstörung, sonst kein neurologisches Defizit	2	13-14	vorhanden
III	Somnolenz oder Konfusion, neurologisches Defizit	3	13-14	vorhanden
IV	Sopor, vegetative Symptome, neurologisches Defizit	4	7-12	keines oder vorhanden
V	Koma, Strecksynergismen, moribunder Patient	5	3-6	keines oder vorhanden

*WFNS: World Federation of Neurological Surgeons

**GCS: Glasgow Coma Scale

Ein Score zur Beurteilung der Blutungsmenge bei Subarachnoidalblutungen ist der Fisher-Index (siehe Tabelle 2). Basierend auf dem Blutungsmuster der initialen Computertomographie des Kopfes lässt sich der Schweregrad der SAB einteilen. Die Blutungsmenge korreliert dabei maßgeblich mit der Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines Vasospasmus (Fisher et al., 1980).

Tabelle 2: Vasospasmus nach Fisher (Fisher et al., 1980).

	Blutnachweis im CCT (< 5 Tage nach SAB)	Vasospasmusrisiko
Grad 1	kein subarachnoidales Blut	niedrig
Grad 2	diffus oder vertikal mit Schichtdicke < 1mm	niedrig
Grad 3	lokal und/oder vertikal mit Schichtdicke > 1 mm	ausgeprägt
Grad 4	intrazerebral oder interventrikulär mit diffuser oder fehlender SAB	mäßig

1.5 Komplikationen

Subarachnoidalblutungen sind mit verschiedenen systemischen Komplikationen vergesellschaftet. Bei etwa 30% der Patienten treten nach einer akuten Subarachnoidalblutung Elektrolytstörungen auf. Das sog. „cerebral salt wasting“, auch Salzverlustsyndrom genannt, verursacht eine vermehrte Natriuresis und durch die osmotische Wirkung sekundär bedingte Diuresis. Das reduzierte intravasale Blutvolumen führt zu einem erhöhten Vasospasmus-Risiko. Ursächlich werden eine Störung des Hypothalamus oder eine Beeinflussung der Nierenfunktion durch das vegetative Nervensystem diskutiert (Hasan et al., 1990).

Mehrere Studien konnten nachweisen, dass das Risiko für Nachblutungen in den ersten 24 Stunden nach der Initialblutung am höchsten ist, insbesondere in den ersten sechs Stunden. Dabei können einige Faktoren wie der Hunt und Hess-Grad, der maximale Durchmesser des Aneurysmas und die Höhe des Blutdrucks eine ungefähre Abschätzung des Risikos für eine Nachblutung geben (Ingawa et al., 1987).

Mit bis zu 30% ist der Hydrocephalus eine der häufigsten Komplikationen der SAB. Die Behandlung des Hydrocephalus muss schnellstmöglich erfolgen. Die Anlage einer externen Ventrikeldrainage (EVD) ermöglicht nicht nur die Behandlung dieser Komplikation, sondern es kann hierdurch auch der Hirndruck bestimmt und der cerebrale Perfusionsdruck (CPP) berechnet werden (Müller et al., 2019).

Die Anlage einer EVD ist schon häufig vor der endovaskulären oder operativen Behandlung unerlässlich, da für beide Verfahren eine Narkose notwendig ist und ein möglicherweise auftretender Hirndruckanstieg nicht zu erfassen wäre. 20% der Patienten sind durch den Hydrocephalus occlusus dauerhaft auf einen ventrikulo-peritonealen oder ventrikulo-atrialen Shunt angewiesen (Germanwala et al., 2010).

SAB-Patienten können erhöhte intrakranielle Drücke (ICP) als Folge einer Reihe an Faktoren wie dem akuten Hydrocephalus, dem Blutungsvolumen und dem erhöhten Widerstand des Liquorabflusses aufweisen (Nornes et al., 1972).

30-40% der SAB-Patienten entwickeln im Verlauf ihrer Erkrankung eine verzögerte cerebrale Ischämie.

Als pathophysiologische Ursache der DCI stellt sich unter anderem der cerebrale Vasospasmus dar, der mit einem Häufigkeitsmaximum an den Tagen 4-14 nach der Erstblutung auftritt. Die Vasospasmen korrelieren mit dem Ausmaß der DCI und können auch in „Aneurysma-fernen“ Arealen vorkommen (MacDonald et al., 2007).

Die DCI wird als „delayed“ beschrieben, da das Auftreten der cerebralen Ischämie nicht direkt am Tag der Blutung einsetzt, sondern als Komplikation in den Tagen und Wochen nach dem Initialereignis (Dankbaar et al., 2009). Zur Beschreibung dieser klinischen Erscheinung werden in der Literatur verschiedene Begriffe genutzt, unter anderem delayed ischemic neurological deficit (DIND), delayed ischemic deficit, Vasospasmus und cerebral infarction (CI). Das liegt unter anderem daran, dass für die Beschreibung radiologische Nachweise von Vasospasmen mit klinischen Merkmalen einer cerebralen Ischämie kombiniert werden, wobei nicht nur der Vasospasmus, sondern viele Faktoren zu einer DCI führen können und nicht bei allen Patienten radiologisch nachweisbare Veränderungen auftreten (Dreier et al., 2011; Vergouwen et al., 2008; Uhl et al., 2003; Dreier et al., 2009).

Im Rahmen der DCI treten neue fokale neurologische Defizite in Form von Aphasien, Apraxien, Hemiparesen und eine Verschlechterung der Vigilanz auf, welche nicht durch eine Nachblutung, einen Hydrocephalus, eine metabolische Störung oder eine Infektion erklärt werden können (Budohoski et al., 2013). Die Symptome können reversibel sein, aber auch bis zu einem cerebralen Infarkt führen, der mit schweren Behinderungen oder dem Tod einhergeht (Roos et al., 2000). Das hiermit verbundene neurologische Defizit beeinflusst das Outcome der Patienten (MacDonald et al., 2007). Die Relevanz dessen wird dadurch deutlich, dass 3-15% der neu diagnostizierten Infarkte nicht auf einen thrombembolischen Verschluss zurückzuführen sind, sondern das neurologische Korrelat einer SAB-assoziierten DCI darstellen (Siasios et al., 2013).

Um eine DCI beurteilen zu können, werden somit klinische Symptome und radiologische Befunde hinzugezogen. Bei wachen Patienten kann eine Veränderung der Vigilanz oder das Auftreten von neuen fokal-neurologischen Defiziten ein Zeichen für eine DCI sein, welche dann mit weiterer radiologischer Diagnostik gesichert werden kann. Bei intubierten und maschinell beatmeten Patienten hingegen ist eine klinische

Beurteilung erschwert. Hier sollte die Tiefe der Sedierung so gering wie möglich gehalten werden, um mögliche Veränderungen frühzeitig zu erkennen. Hier werden häufig andere Marker, die einfacher zu messen sind, wie zum Beispiel arterielle Verengungen in der Angiographie oder erhöhte Flussgeschwindigkeiten im transkraniellen Doppler als Maßstab genommen. Umgekehrt gibt es Patienten, bei denen angiographisch Vasospasmen nachweisbar sind, die jedoch keine DCI aufweisen (Dankbaar et al., 2009).

Vergouwen et al. empfehlen deshalb in einem im Oktober 2010 in der Fachzeitschrift *Stroke* veröffentlichten Artikel zwischen einer klinischen neurologischen Verschlechterung als Folge der DCI und dem Auftreten eines cerebralen Insultes im CT oder MRT zu unterscheiden. Es wird vorgeschlagen neue fokale neurologische Defizite (wie Hemiparese, Aphasie, Apraxie, Hemianopsie oder Neglect) oder einen Abfall des Glasgow Coma Scale um zwei Punkte, welche mindestens eine Stunde anhalten, als klinisches Korrelat für eine DCI zu verwenden. Ein cerebraler Insult („cerebral infarction“) als radiologisches Korrelat einer DCI sollte hingegen als ein in einem CT oder MRT nachgewiesener Infarkt definiert werden, der innerhalb von sechs Wochen nach der SAB auftritt, nicht in einem CT oder MRT 24 bis 48 Stunden nach dem Aneurysmaverschluss nachweisbar war und nicht in Zusammenhang mit dem Clipping, Coiling oder anderen Ursachen steht.

Ein im CT oder MRT nachgewiesener cerebraler Infarkt korreliert mit dem funktionellen neurologischen Outcome drei Monate nach einer SAB. Da er auch bei komatösen und sedierten Patienten diagnostiziert werden kann und eine objektivierbare Quantifizierung der Folge einer DCI ermöglicht, empfiehlt sich zur Evaluation des Outcomes bei Auftreten von Komplikationen nach einer SAB der neuroradiologische Bildnachweis und nicht die klinische Verschlechterung des Patienten.

1.6 Vasospasmus

Der Vasospasmus ist eine häufige Komplikation nach Subarachnoidalblutungen und unter anderem ursächlich für die DCI. Der Begriff Vasospasmus beschreibt allgemein eine Abnahme des Gefäßdurchmessers. Vasospasmen nach SAB führen zu einer reversiblen Vaskulopathie, die zu einer verminderten Autoregulation des Gefäßes und damit zur Hypovolämie führt. Durch diese kommt es regional zu einer Reduktion der cerebralen Perfusion bis hin zur Ischämie.

Physiologischerweise wird der cerebrale Blutfluss bei Schwankungen des arteriellen Blutdrucks über relativ weite Blutdruckbereiche konstant gehalten. Über den sog. Bayliss-Effekt verengen sich die Arteriolen bei einem Anstieg des Blutdrucks (Vasokonstriktion), während sie sich bei einem Abfall des Blutdrucks weiten (Vasodilatation; Larsen 1999). Die Arteriolen reagieren außerdem auf die Menge von im Blut gelösten Gasen wie z.B. CO₂. Eine Abnahme des CO₂-Partialdruckes führt zu einer Vasokonstriktion, was wiederum zu einer Zunahme des Gefäßwiderstandes führt und damit zu einer Reduktion des cerebralen Blutflusses. Eine Zunahme des CO₂-Partialdruckes senkt den Gefäßwiderstand und erhöht den cerebralen Blutfluss (Schöniger et al., 2008). Diese Regulationen werden sowohl durch myogene als auch metabolische Mechanismen vermittelt. Bei Patienten nach SAB und anderen cerebralen Verletzungen ist dieser Mechanismus gestört oder aufgehoben (Paulson et al., 1990).

Radiologisch nachweisbare Vasospasmen entwickeln sich bei 50-90% der SAB-Patienten, wobei jedoch nicht alle Patienten mit angiographisch nachgewiesenem Vasospasmus eine neurologische Symptomatik entwickeln (Dorsch et al., 2001). Zwei Drittel der Patienten nach SAB entwickeln einen moderaten bis schweren Vasospasmus, wobei die Hälfte dieser Patienten im Verlauf neurologische Symptome in Form einer DCI entwickelt. Wiederum 50% der symptomatischen Patienten erleiden durch die cerebrale Minderperfusion einen Schlaganfall als schwerste Ausprägung und Komplikation des Vasospasmus (Ferguson et al. 2007). In einer Metaanalyse mit insgesamt 2.741 Patienten nach SAB zeigte sich, dass die DCI stark mit einem schlechten Outcome korreliert. Als Risikofaktoren für eine DCI nach SAB konnte neben dem eigentlichen Vasospasmus das Patientenalter, die arterielle Hypertonie, der Diabetes mellitus sowie ein initial schlechter neurologischer Status nach Aneurysmaruptur identifiziert werden (Broderick et al., 1994; Proust et al., 1995).

Vasospasmen sind maßgeblich an der Outcome-Verschlechterung nach SAB beteiligt. Sie sind für bis zu 23% aller hierdurch bedingten Behinderungen und Todesfälle verantwortlich (Keyrouz et al., 2007).

Zur Ursache des Vasospasmus und der daraus folgenden DCI, welche zu einer hohen Morbidität und Letalität führt, gibt es verschiedene Theorien. Bis zu 40% aller SAB-Patienten erleiden eine DCI durch eine verminderte Perfusion. Symptome treten mit einem Häufigkeitsmaximum vom 4. bis 14. Tag nach der initialen Blutung auf. Je mehr Blut in den Subarachnoidalraum gerät, desto höher ist das Risiko. Obwohl die DCI schon vor 50 Jahren beschrieben wurde, ist der Pathomechanismus von cerebralen Vasospasmen bis heute nicht vollständig geklärt (Al Tamimi et al., 2010). Als Ursachen werden Endothelin-1, inflammatorische Prozesse, die die Gefäßregulation beeinflussen und das asymmetrische Dimethylarginin (ADMA) diskutiert (Al Tamimi et al., 2010).

1.6.1 Diagnostik des Vasospasmus

Neben der klinischen Diagnostik bei einem Verdacht auf Vasospasmen, erfolgt bei SAB-Patienten zudem regelmäßig nach der Diagnosestellung die Bestimmung der Flussgeschwindigkeiten in den arteriellen Gefäßen des Gehirns mit einer transkraniellen Dopplersonographie (TCD). Bei der Untersuchung wird mit einem Schallkopf durch die Schädeldecke die Flussgeschwindigkeit des Blutes in den arteriellen Gefäßen gemessen. Die transkranielle Farbdoppler-Echtzeit-Sonographie kann hilfreich sein, Vasospasmen betroffener Arterien zu identifizieren (Lindegaard et al., 1999).

Die Flussgeschwindigkeit steht in direktem Zusammenhang zum cerebralen Blutfluss. Nach dem Kontinuitätsprinzip ist die Flussgeschwindigkeit in einer Arterie umgekehrt proportional zu ihrer Querschnittsfläche. Somit ermöglicht die transkranielle Dopplersonographie eine indirekte Erfassung des Diameters eines intrakraniellen Gefäßes durch die Analyse der Flussgeschwindigkeit des Blutes (Nicoletto et al., 2009).

Die TCD wird standardgemäß an der A. cerebri media durchgeführt (Naqvi et al., 2013). Eine mittlere Flussgeschwindigkeit ($V_{\text{mean}} > 140 \text{ cm/s}$ bzw. ein Anstieg der Strömungsgeschwindigkeit um $> 50 \text{ cm/s}$ innerhalb von 24 Stunden gelten als pathologisch (Grosset et al., 1992).

Zahlreiche Faktoren können allerdings die Flussgeschwindigkeit im transkraniellen Doppler beeinflussen. Zum Beispiel das Alter, der Hämatokrit, metabolische Vorgänge, Fieber, der intrakranielle Druck, der Blutdruck sowie das Blutvolumen (Moppett et al., 2004). In der klinischen Praxis ist ein Anstieg der mittleren Flussgeschwindigkeit hinweisend auf einen hyperdynamischen Fluss, eine stenosierende arterielle Erkrankung oder eine vasospastische Reaktion. Eine Abnahme der Flussgeschwindigkeit hingegen weist auf einen niedrigen cerebralen Perfusionsdruck, einen Anstieg des intrakraniellen Druckes oder den Hirnstammtod hin (Moppett et al., 2004).

Die Lindegaard-Ratio erlaubt eine Differenzierung zwischen einem hyperdynamen arteriellen Blutfluss und einem Vasospasmus. Hierzu wird die Flussgeschwindigkeit in der A. cerebri media durch die Flussgeschwindigkeit in der A. carotis interna dividiert. Der Normalwert liegt zwischen 1,1 und 2,3. Bei Vasospasmen wird ein Wert über 3 erreicht (Lingegaard et al., 1988).

Die Messung ist stark vom Untersucher abhängig, da kleinste Unterschiede beim Halten des Schallkopfes zu unterschiedlichen Messergebnissen führen. Vasospasmen im Gebiet der A. cerebri media (Vora et al., 1999) und im Gebiet der A. basilaris (Sviri et al., 2006) können leichter nachgewiesen werden als in den übrigen Stromgebieten (Naqvi et al., 2013). Auch wird in bis zu 37% der Fälle das untersuchte Gefäß fehlgedeutet (Neulen et al., 2013). Heutzutage erlaubt die bildgesteuerte TCD deutlich genauere Messergebnisse. Hierbei werden Daten aus CT-Angiographien während der Durchführung des TCD angezeigt, um z.B. einfacher Gefäße identifizieren zu können (Neulen et al., 2020).

Sowohl von der Amerikanischen als auch der Deutschen Gesellschaft für Neurologie wird die TCD zur Detektion von cerebralen Vasospasmen empfohlen, deren prädiktiver Wert für eine DCI als bewiesen gilt (Kumar et al., 2015).

1.6.2 Intrakranieller Druck

Eine weitere Auswirkung der aneurysmatischen Subarachnoidalblutung ist eine Erhöhung des intrakraniellen Druckes. Durch die Ruptur einer Arterie kommt es zu einem Austritt von Blut in das umgebende Gewebe und damit zum Druckanstieg (Heuer et al., 2004). Je nach Körperlage liegt der intrakranielle Druck beim gesunden Menschen zwischen 0 und 10 mmHg (Huttner et al., 2018). In mehreren Studien wurde, teilweise im Tierversuch, der intrakranielle Druck nach stattgehabter Blutung gemessen. Hierbei ließ sich eine Erhöhung des Druckes bis auf über 150 mmHg feststellen (Doczi et al., 1986). Der intrakranielle Druck kann sogar bis auf die Höhe des mittleren arteriellen Blutdruckes (mean arterial pressure, kurz MAP) ansteigen. Der mittlere arterielle Blutdruck wiederum beschreibt den Druck, mit dem das Blut in die hirnversorgenden Gefäße gepumpt wird. Diesem Druck wirkt der intrakraniellen Druck entgegen (Huttner et al., 2018).

Aus den nun gegeneinander wirkenden Drücken kann der cerebrale Perfusionsdruck (cerebral perfusion pressure, kurz CPP) mit folgender Gleichung berechnet werden (Huttner et al., 2018):

$$\text{CPP} = \text{MAP} - \text{ICP}$$

Aus einem physiologischen MAP von 80-85 mmHg und physiologischem ICP von 10-15 mmHg ergibt sich somit ein CPP, der normalerweise bei etwa 70 mmHg liegt.

Gleichen sich nun die Werte des MAP und ICP annähernd an sinkt der cerebrale Perfusionsdruck enorm. Dies führt zu einer Minderversorgung des Gehirns mit Blut und somit mit Nährstoffen und Sauerstoff. Der Körper versucht dies durch den sog. Cushing-Reflex zu kompensieren. Dabei wird bei ansteigendem ICP der MAP reflektorisch erhöht. Da dieser Kompensationsmechanismus jedoch begrenzt ist, kann gerade bei sehr hohen ICP-Werten der cerebrale Perfusionsdruck nicht ausreichend aufrechterhalten werden. Durch die Minderversorgung des Gehirns kommt es damit zu einer weiteren cerebralen Schädigung (Cushing, 1901).

1.7 Therapie der SAB und ihrer Komplikationen

1.7.1 Coiling bzw. Clipping

Um den Blutfluss in das Aneurysma zu unterbinden gibt es unterschiedliche Verfahren. Zum Erstellungszeitraum dieser Studie waren hierbei das neurochirurgische Clipping und das endovaskuläre Coiling die Therapien der Wahl. Beide Verfahren sollten möglichst innerhalb der ersten 72 Stunden durchgeführt werden, da dadurch das Risiko für eine Nachblutung stark gesenkt werden kann (Guo et al., 2011). Eine Nachblutung tritt bei ca. 20% der Patienten mit SAB auf, wovon 50% innerhalb der ersten sechs Stunden nach dem Primäreignis auftreten und mit einer Letalität von 50% einhergehen (Wu et al., 2012).

Ob ein Aneurysma gecoilt oder geclippt wird, wird interdisziplinär in Abhängigkeit von der Größe, der Lokalisation und Form des Aneurysmas entschieden. Aneurysmen des hinteren Kreislaufes werden beispielsweise primär gecoilt (van der Schaaf et al., 2005), während Aneurysmen der A. cerebri media primär geclippt werden (Steklacova et al., 2016). Zudem werden nach internationalem Konsens nur schmalhalsige Aneurysmen primär endovaskulär gecoilt (Connolly et al., 2012).

Beim Coiling wird ein Katheter auf Höhe der Leiste in die Femoralarterie eingeführt und über die Aorta bis in das Aneurysma im Gehirn vorgeschoben. Wenn sich der Katheter im Aneurysma befindet, wird das Aneurysma mit Spiralen, sog. Coils gefüllt (Abbildung 4). Diese sorgen dafür, dass durch thrombotische Reaktionen ein Gerinnsel entsteht, welches das Aneurysma akut verschließt. Im weiteren Verlauf kommt es zur Endothelialisierung (Guglielmi et al., 1991). Es ist eine Vielzahl an verschiedenen Coils erhältlich, zum Beispiel Guglielmi Detachable Coils (GDC) aus Platin, mit einem Biopolymer beschichtete Matrix-Coils oder Hydrogel-beschichtete Coils (Morales et al., 2011; Taschner et al., 2016).

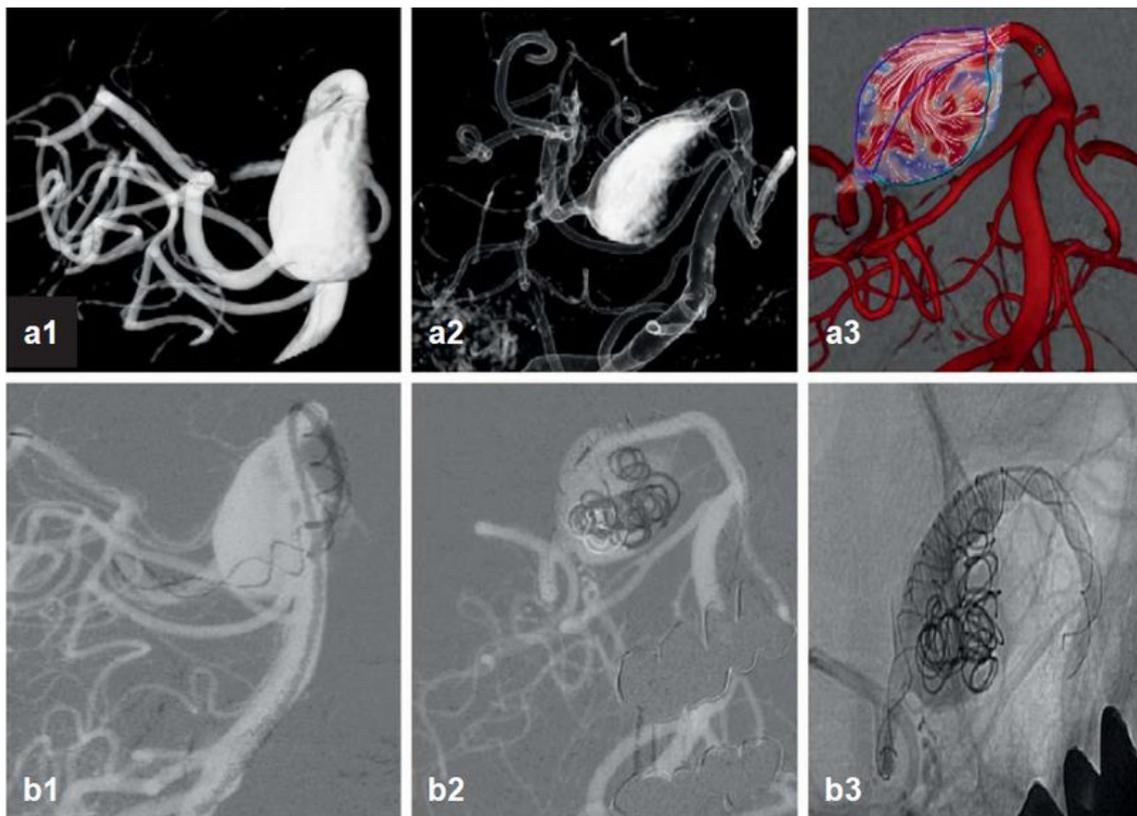


Abbildung 4: „Stenting und Coiling eines komplexen Aneurysmas der A. cerebri posterior.

a) 3D-Angiographische Rekonstruktion des komplexen Aneurysmas. Es handelt sich hierbei um ein fusiformes, teilthrombosiertes Aneurysma, welches nicht geclippt werden kann. Das Bild rechts zeigt die Flussvektoren im Aneurysma.
 b) Das Gefäß wurde als erstes gestentet und dann erfolgte über den Stent das Coiling [...]“ (Petridis et al., 2017).

Das Clipping hingegen ist ein neurochirurgisches Verfahren, bei dem nach einer Kraniotomie das Aneurysma durch einen Clip von außen verschlossen wird. Dieser Clip ist MRT-kompatibel und verbleibt auf Dauer im Hirngewebe (Theilen et al., 2011).

Heutzutage wird unter anderem auch das WEB-Embolisations-System (Woven EndoBridge) genutzt. Dieses dient der Behandlung breitbasiger Aneurysmen an Bifurkationen oder in der Nähe von Bifurkationen cerebraler Aneurysmen. Über einen Katheter wird über die Femoralarterie ein selbstexpandierendes, körbchenförmiges Device eingesetzt. Anders als die traditionellen Coils nimmt das WEB-Device die Form des Aneurysmas an und unterbindet damit noch besser den Blutfluss in das Aneurysma. Die gitterartige Oberfläche erlaubt zudem eine noch bessere Endothelialisierung (Fiorella et al., 2017).

Eine weitere, heutzutage verfügbare Behandlungsmethode ist die Versorgung mit einem Flow-Diverter. Hierbei handelt es sich um einen Stent, der so vor das Aneurysma gelegt wird, dass der Blutfluss am Aneurysma vorbeiführt und das ursprüngliche Lumen wiederhergestellt wird. So können auch spindelförmige Aneurysmen und sehr breitbasige Aneurysmen ausgeschaltet werden (Briganti et al., 2015).

Seit der ISAT-Studie („International subarachnoid aneurysm trial“, Molyneux et al., 2002) wurde das endovaskuläre Coiling zur Therapie der Wahl bei intrakraniellen Aneurysmen. In die Studie wurden allerdings fast nur Patienten mit einem Aneurysma im Stromgebiet der A. cerebri anterior (97,3%), die zu 88% eine SAB-Stadium I-II nach WFNS erlitten hatten, eingeschlossen. In den Subgruppen der Patienten, die ein Stadium III aufwiesen und über 70 Jahre alt waren, konnte schon damals keine Überlegenheit des Coilings nachgewiesen werden. 2015 erschienen die Ergebnisse eines 6-Jahres-Follow-Ups in der BRAT-Studie (Spetzler et al., 2015). Diese ergab konträre Ergebnisse bezüglich Effizienz und Sicherheit und konnte keine großen Unterschiede erkennen, da nun zusätzlich Patienten mit SABs in allen Lokalisationen und Schweregraden eingeschlossen waren. Zudem konnte gezeigt werden, dass bei 96% der Patienten das Aneurysma nach dem Clipping vollständig verschlossen war, während dies bei der Studiengruppe, die gecoilt worden war, nur zu 48% zutraf. Obwohl es nach dem Coiling zu mehr neuen aneurysmatischen Blutungen kommt als nach dem Clipping, überwiegen trotz dessen die Vorteile des Coilings bezüglich dem 5-Jahres-Überleben, sowie dem neurologischen und kognitiven Zustand.

1.7.2 Prävention der verzögerten cerebralen Ischämie

Die Prognose der Patienten ist maßgeblich durch die DCI bestimmt. Um das Outcome der Patienten mit einer Subarachnoidalblutung frühzeitig positiv zu beeinflussen, ist somit eine schnellstmögliche Detektion und Therapie essentiell (Veldeman et al., 2016). Allgemein ist eine Hypovolämie und Hyperglykämie zu vermeiden, da sich beides negativ auf das cerebrale Outcome auswirkt (Kasuya et al., 2003).

Bei Subarachnoidalblutungen kommt es unter anderem zu einer Natriurese und zu einer hierdurch bedingten Hyponatriämie durch eine Dysfunktion des Hypothalamus und damit zur Hypovolämie. Dieser Komplikation, die das Auftreten verzögerter

ischämischer neurologischer Defizite am 4. bis 14. Tag nach der initialen Blutung begünstigen kann, sollte entgegengewirkt werden (Hasan et al., 1990). Durch das Vermeiden einer Hypovolämie lässt sich der cerebrale Perfusionsdruck aufrechterhalten und somit eine bessere Durchblutung des Gehirns erreichen (Bederson et al., 2009).

Im Jahr 2010 führten Dankbaar et al. eine Studie durch um zu evaluieren, ob eine Hypervolämie das Outcome verbessert. Hierbei ließ sich jedoch keine erfolgreiche Therapie durch die Hypervolämie erreichen. Allein die Hypertension führt zu einem sichtbar besseren Outcome (Dankbaar et al., 2010). Insgesamt ist eine Normovolämie erstrebenswert.

1.7.3 Nimodipin

Wie zuvor beschrieben ist das Auftreten von Vasospasmen, die zu einer DCI führen können, signifikant mit einem schlechteren Outcome korreliert. Zur Prophylaxe dieser ist eine standardisierte Therapie mit Nimodipin etabliert worden. Laut der Deutschen Gesellschaft für Neurologie sollten alle vier Stunden 60 mg Nimodipin per os für drei Wochen verabreicht werden (Dorhout et al., 2007). Ist eine orale Gabe nicht möglich kann trotz des fehlenden Wirksamkeitsnachweises intravenös behandelt werden (Soppi et al., 2012).

Nimodipin ist ein Calciumkanalblocker, der sowohl oral, i.v. und arteriell verabreicht werden kann. Es verhindert den Einstrom von Calcium in glatte Muskelzellen und soll dadurch das Vasospasmusrisiko senken. Outcome-Verbesserungen konnten nach einer Verabreichung zwischen dem 4. und 21. Tag nachgewiesen werden, auch wenn die Anzahl an aufgetretenen Vasospasmen nicht signifikant gesenkt werden konnte. Obwohl durch Nimodipin keine Hypotension erreicht werden konnte, senkt es den mittleren arteriellen Druck (MAP) und verbessert die Oxygenierung des Hirngewebes (Dorhout et al., 2007).

Nimodipin ist somit die einzige gesichert wirksame Primärprophylaxe ischämischer Defizite nach aneurysmatischer SAB (Findlay et al., 2016).

1.7.4 Therapie des Vasospasmus

Mehrere Studien haben sich in den letzten Jahren mit den Therapiemöglichkeiten von Vasospasmen beschäftigt. Nimodipin, welches als Vasodilatator wirkt, senkt nachweislich das Risiko eines verspäteten ischämischen neurologischen Defizits ohne dabei allerdings das Risiko von Vasospasmen zu senken. Lange Zeit ging man davon aus, dass allein Vasospasmen für die neurologischen Defizite verantwortlich sind. Aus der sich nun daraus ergebenden multifaktoriellen Genese der DCI ergeben sich neue Therapieansätze.

In den CONSCIOUS-Studien I-III wurde beispielsweise auf die Rolle von Endothelin-1 näher eingegangen, welches als ein relevanter Auslöser von Vasospasmen diskutiert wird (Macdonald et al., 2008; 2011; 2012). Auch nach wiederholter Modifizierung der Therapie mit Endothelin-1-Antagonisten ließ sich kein signifikanter Effekt auf die Mortalität oder Vasospasmus-bedingte Morbidität sechs Wochen nach der Blutung nachweisen.

Untersucht wurden unter anderem auch die Wirkung von intravenöser Magnesiumsulfatgabe, die Wirkung von Thrombozytenaggregationshemmern, Corticosteroiden und Statinen. Keines dieser Medikamente hatte einen positiven Einfluss auf das Auftreten von Vasospasmen.

Letzendlich scheint eine alleinige Therapie des Vasospasmus eine DCI und ein damit einhergehendes schlechteres Outcome des Patienten nicht vorzubeugen (Muroi et al., 2012).

1.8 Prognose

Die Gesamtmortalität nach Subarachnoidalblutungen ist in den letzten Jahrzehnten von annähernd 50% auf aktuell 25-35% gesunken, allerdings versterben davon noch immer mehr als 10% der Patienten bereits vor der Krankenhauseinlieferung. 12 bis 30% erholen sich nie vollständig von der Blutung und verlieren durch weiterbestehende Behinderungen ihre Eigenständigkeit. Selbst die Patienten, die unabhängig bleiben, haben Schwierigkeiten sich wieder in den Alltag einzugliedern (Rinkel et al., 2011).

Die 30-Tages-Mortalität bei Subarachnoidalblutungen beträgt 45%. Das Volumen der Blutung ist dabei ein aussagekräftiger Prädiktor. Nachblutungen stellen die am häufigsten vorzubeugende Todesursache bei hospitalisierten Patienten dar (Broderick et al., 1994).

Die Prognose ist von mehreren Faktoren abhängig. Dazu gehören der initiale Status nach Blutung (Glasgow Coma Scale), das Vorhandensein initialer Bewusstlosigkeit und sekundäre Komplikationen (Hufschmidt et al., 2009).

Junge Patienten, die keine Vorerkrankungen haben und nur eine geringe intrakranielle Blutmenge aufweisen, haben das beste Outcome. Die Lokalisation des Aneurysmas kann häufig auch Hinweise auf das Outcome geben. Aneurysmen im hinteren Stromgebiet mit großen Blutansammlungen haben eine schlechtere Prognose (Broderick et al., 1994).

Sekundäre Komplikationen wie Rezidivblutung, Hydrocephalus und DCI sind maßgeblich am Outcome beteiligt. Bei einem Drittel der Patienten kommt es zum Auftreten eines Vasospasmus mit klinisch relevanten neurologischen Ausfällen, die die Prognose stark verschlechtern und zu bleibenden Defiziten führen (Keyrouz et al., 2007).

Um einen groben Überblick über das Outcome der Patienten zu erhalten, kann eine Einteilung mit der Glasgow Outcome Scale erfolgen (siehe Tabelle 3). Diese wurde 1975 von Jennett und Bond vorgestellt und beurteilt objektiv in fünf Kategorien, inwiefern sich die Patienten erholt haben (Jennett et al., 1975). Dabei wird in folgende Stadien eingeteilt:

Tabelle 3: Glasgow Outcome Scale (Jennett et al., 1975).

1 (Tod): Schwerste Schädigung mit Todesfolge ohne Wiedererlangen des Bewusstseins

2 (persistierender vegetativer Zustand): Schwerste Schädigung mit andauerndem Zustand von Reaktionslosigkeit und Fehlen höherer Geistesfunktionen

3 (schwere Behinderung): Schwere Schädigung mit dauerhafter Hilfsbedürftigkeit bei Verrichtungen des täglichen Lebens

4 (mäßige Behinderung): Keine Abhängigkeit von Hilfsmitteln im Alltag, Arbeitstätigkeit in speziellen Einrichtungen möglich

5 (leichte Behinderung): Leichte Schädigung mit geringen neurologischen und psychologischen Defiziten

1.9 ADMA, SDMA und der NO-Stoffwechsel

Wie bereits zuvor beschrieben gibt es verschiedene Ansätze zur Erklärung der Genese des Vasospasmus. Aus den möglichen Erklärungsansätzen ergeben sich wiederum verschiedene Therapiemöglichkeiten. Keine der bisherigen Therapiemöglichkeiten ist jedoch evidenzbasiert. Es gibt widersprüchliche Daten hierzu und viele Therapien wurden wieder eingestellt, da sie keinen erkennbaren Nutzen zeigen. Deshalb ist es umso wichtiger die Genese des Vasospasmus genauer zu erkennen um konkret in den Mechanismus eingreifen zu können.

Ein Erklärungsansatz für das Auftreten von Vasospasmen ist die Rolle von asymmetrischem Dimethylarginin (ADMA) und seinem Isomer dem symmetrischen Dimethylarginin (SDMA). ADMA entsteht während der Proteolyse methylierter Proteine durch die Protein- Arginin- Methyltransferase (PRMT) (Paik et al., 1968). ADMA und SDMA haben eine hohe strukturelle Ähnlichkeit zu der Aminosäure L-Arginin, besitzen jedoch zwei zusätzliche Methylgruppen (siehe Abbildung 5).

Während ADMA zwei Methylgruppen an einem der terminalen Stickstoff-Atome der Guanidin-Gruppe des Arginins trägt, ist bei SDMA eine Methylgruppe am jeweiligen terminalen Stickstoff-Atom des Guanidins.

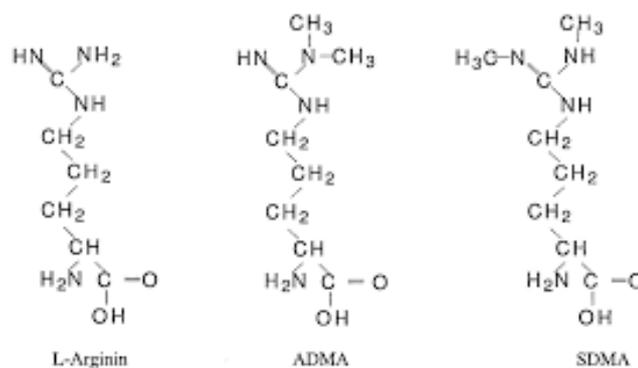


Abbildung 5: Strukturformeln von L-Arginin, ADMA und SDMA.

ADMA und SDMA wurden erstmalig 1970 aus menschlichem Urin isoliert (Kakimoto et al., 1970), sind als endogene Substanzen aber auch im Plasma und Liquor nachweisbar (Böger et al., 1998). Seitdem wurden sie in Zusammenhang mit der Genese verschiedenster Krankheiten gebracht. Klinische und experimentelle Studien zeigten den Einfluss von ADMA und SDMA auf die Pathophysiologie der endothelialen Dysfunktion (Cooke, 2000), sowie den Einfluss auf die Entstehung von Atherosklerose (Vallance et al., 2004), oxidativem Stress (Schepers et al., 2009), Entzündungen (Schepers et al., 2011), Urämien (Huang et al., 2012), Apoptose (Park et al., 2016), Autophagie (Shirakawa et al., 2011) und einer beeinträchtigten immunologischen Funktion (Pekarova et al., 2013).

Die Rolle von ADMA als kardiovaskulärem Risikofaktor konnte mittlerweile in mehr als einem Dutzend prospektiver Studien mit insgesamt weit über 8.000 Teilnehmern belegt werden, u.a. in der Framingham Offspring-Kohorte, der AtheroGene-Studie, der MONICA-Studie, der Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study, der Population Study of Women in Gothenburg, der Dallas Heart-Studie, der Gutenberg Health-Studie und der SHIP-Studie. Dabei konnte gezeigt werden, dass der ADMA-Plasmaspiegel ein signifikanter Prädiktor für das Auftreten kardiovaskulärer Komplikationen und für die Gesamtmortalität ist, wohingegen eine inverse Korrelation

zu der Konzentration des endogenen L-Arginins bzw. dem L-Arginin/ADMA-Quotienten besteht. Diese Daten aus klinischen Studien korrelieren mit dem molekularen Wirkmechanismus, denn ADMA beeinflusst das kardiovaskuläre Risiko über eine kompetitive Verdrängung des Substrats L-Arginin von der NO-Synthase (Stickstoffmonoxid-Synthase).

Grundlegend für die Rolle von ADMA als Ursache für Vasospasmen ist die Wirkung von Stickstoffmonoxid (NO). NO ist an zahlreichen regulatorischen Vorgängen im Gefäßsystem beteiligt. 1998 bekam Robert Furchgott den Nobelpreis für Medizin und Physiologie für die Entdeckung der vasodilatierenden Wirkung. Daneben wirkt NO thrombozytenaggregationshemmend, es blockiert die Adhäsion von Monozyten und Leukozyten am Gefäßendothel und hemmt die Synthese von glatten Gefäßmuskelzellen (Böger et al., 2000).

NO spielt eine entscheidende Rolle für die physiologische vaskuläre Integrität. NO wird in den Endothelzellen durch das Enzym NO-Synthase aus der Aminosäure L-Arginin synthetisiert. Ein Merkmal einer Endotheldysfunktion ist die reduzierte NO-Bioverfügbarkeit, die u.a. bei Arteriosklerose, Hypertonie und Diabetes mellitus, auftritt. Zuletzt konnte gezeigt werden, dass die NO-vermittelte Regulation des Gefäßtonus auch in der Intensivmedizin eine wichtige Rolle spielt, nicht nur im Rahmen einer septisch verursachten Überproduktion von NO durch die induzierbare NO-Synthase, sondern auch durch Akkumulation endogener Inhibitoren der NO-Synthase.

Im Rahmen der Subarachnoidalblutung gelangt Hämoglobin in den Subarachnoidalraum, welches während Abbauprozessen zu Bilirubinfragmenten oxidiert wird. Hierdurch werden NO-freisetzende Neurone zerstört, woraufhin die neuronale NO-Synthase (nNOS)-Expression in der Adventitia der betroffenen Gefäße sinkt (Pluta et al., 1996). Der damit verbundene Mangel an NO führt zur Vasokonstriktion. Unter physiologischen Umständen würden die ansteigenden Scherkräfte durch die Einengung des arteriellen Lumens zu einer vermehrten Expression der endothelialen NO-Synthase (eNOS) führen, mit zugleich verbundener höherer Bioverfügbarkeit von NO und somit zu einer Vasodilatation (Ignarro, 2002).

Durch weitere Stoffwechselprozesse der oxidierten Bilirubinfragmente (BOXes) steigt die Menge von ADMA. Durch die nun generell verminderte Verfügbarkeit von NO kommt es zur Vasokonstriktion (Vallance et al., 1992).

Diese endogenen Inhibitoren der NO-Synthase sind im Laufe der letzten Jahre als wichtige Regulatoren der Bioverfügbarkeit von NO identifiziert und charakterisiert worden.

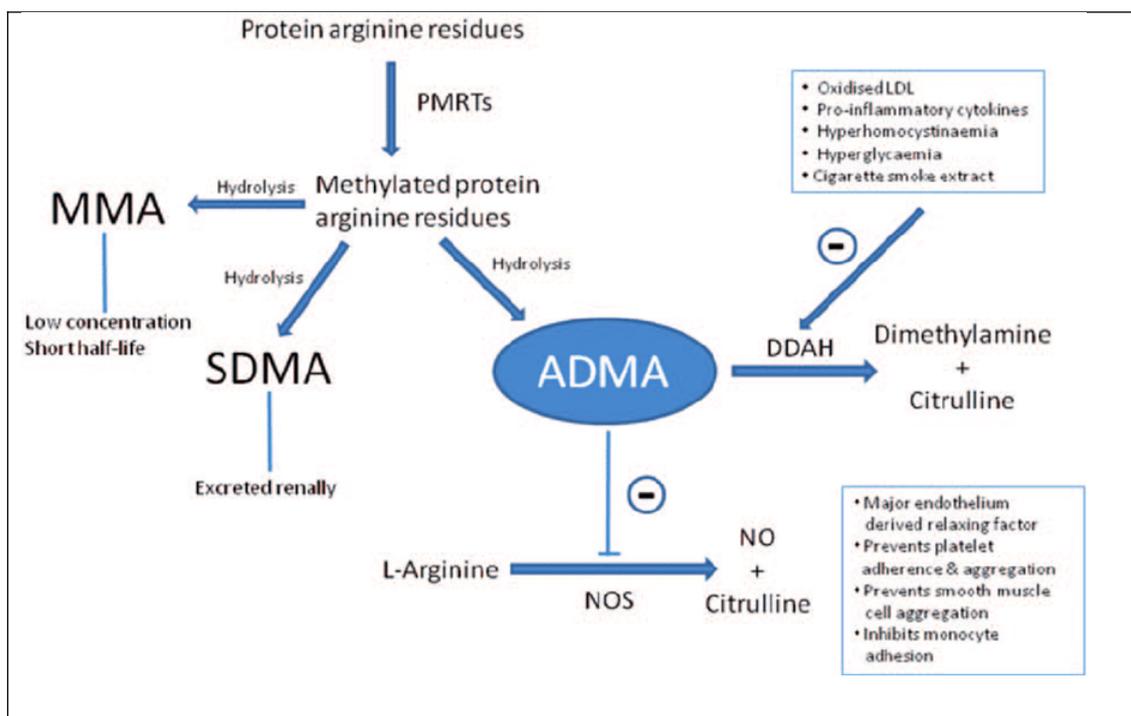


Abbildung 6: Synthese und Metabolismus von Dimethylargininen (Hudson et al., 2014).

ADMA: Asymmetrisches Dimethylarginin, SDMA: Symmetrisches Dimethylarginin, PRMT: Protein-Arginin Methyltransferase, DDAH: Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase, NO: Stickstoffmonoxid, NOS: NO-Synthase, MMA: Monomethylarginin.

Ein gesunder Erwachsener produziert ca. 60 mg ADMA pro Tag. SDMA kommt generell in niedrigeren Mengen im menschlichen Körper vor (ca. 50% des ADMA-Spiegels) und wird größtenteils über den Urin ausgeschieden (Bode-Böger et al., 2007) (siehe Abbildung 6), weshalb es als Marker der Nierenfunktion Anwendung findet (Kielstein et al., 2006). ADMA wird zu ca. 20% direkt über die Nieren ausgeschieden.

Die restlichen ca. 80% des endogen vorkommenden ADMA werden durch das Enzym Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) zu L-Citrullin und Dimethylamin hydrolytisch gespalten (McAllister et al., 1996) (siehe Abbildung 6). Bereits 1999 konnten zwei Isoformen der DDAH identifiziert werden. Während DDAH1 vermehrt im zentralen Nervensystem nachweisbar ist, dominiert die DDAH2 vor allem in Herz und Lunge, in denen auch die endotheliale NO-Synthase (eNOS) für die Bildung des NOs verantwortlich ist. Die unmittelbare Nachbarschaft zwischen eNOS und DDAH deutet auf eine wichtige direkte, als auch indirekte regulatorische Funktion der DDAH im NO-Stoffwechsel hin. Genetische Veränderungen im DDAH-Gen, die die Funktion des Enzyms verändern, können somit zu einem Ungleichgewicht im L-Arginin/NO-Stoffwechsel führen. Es konnte bereits gezeigt werden, dass Mutationen im menschlichen DDAH1-Gen, sogenannte Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) mit erhöhten ADMA-Plasmakonzentrationen assoziiert sind (Lüneburg et al., 2014). In der bevölkerungsbasierten MONICA/KORA-Studie konnte ebenfalls gezeigt werden, dass SNPs in der regulatorischen Promoterregion des DDAH2 mit einer erhöhten Hypertonie-Prävalenz einhergingen (Maas et al., 2009). Die Bestimmung der genetischen Varianten könnte somit dazu beitragen, eine mögliche Störung im L-Arginin/NO-Stoffwechsel zu identifizieren und das individuelle Risiko abzuschätzen.

Bisher ging man davon aus, dass SDMA überwiegend unverändert renal ausgeschieden wird, so dass SDMA als möglicher Marker für die Nierenfunktion diskutiert wird. In einer genomweiten Assoziationsstudie gelang es die Alanin-glyoxlyat-Aminotransferase 2 (AGXT2) als SDMA-abbauendes Enzym neu zu identifizieren. Funktionelle SNPs im AGXT2-Gen sind mit erhöhten SDMA-Plasmakonzentrationen assoziiert. Wissend, dass SDMA mit der Mortalität nach Schlaganfall assoziiert ist, konnte jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen AGXT2-Genotyp und Mortalität nach Schlaganfall identifiziert werden (Schulze et al., 2010). Jedoch wurden diese Analysen bisher nur mit SDMA-Plasmakonzentrationen durchgeführt. Da die peripheren SDMA-Plasmakonzentrationen nicht unbedingt die lokale Situation im Liquor wiedergeben, könnte es durchaus sein, dass sich eine veränderte AGXT2-Aktivität auf Grund einer genetischen Mutation auf die lokalen SDMA-Konzentrationen auswirken kann. Die Bestimmung des AGXT2- Genotyps könnte somit ebenfalls zur Risikostratifizierung der Patienten herangezogen werden (Lüneburg et al., 2014).

Der wichtigste Effekt von ADMA und SDMA ist somit abschließend die Hemmung der Produktion von NO. Unter physiologischen extrazellulären Konzentrationen von L-Arginin und ADMA, ist die intrazelluläre NO-Synthase mit dem Substrat L-Arginin gesättigt und physiologische Mengen von NO werden produziert. Ist die Menge von ADMA jedoch auf pathologische Mengen erhöht, sinkt die Aktivität der NO-Synthase, welche zu einer Reduktion der NO-Menge führt. Die zellulären ADMA-Spiegel können 5- bis 20-fach höher sein als die Spiegel im Plasma. Unter solchen Bedingungen kann exogen zugeführtes L-Arginin nach intrazellulär gelangen und eine physiologische L-Arginin/ADMA-Ratio, die eine suffiziente NO-Produktion ermöglicht, wiederherstellen. Die Aktivität bzw. Inaktivität der NO-Synthase hängt somit von der intrazellulären L-Arginin/ADMA-Ratio ab. SDMA hemmt die NO-Synthase nicht direkt, ist jedoch ein kompetitiver Inhibitor des L-Arginin-Transportes (Teerlink et al., 2009).

Die bedeutende Rolle des L-Arginin/ADMA-Quotienten konnte 2013 durch Staalsø und Kollegen auch erstmals für SAB-Patienten belegt werden. Bei der Untersuchung von insgesamt 111 Patienten zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich der 30-Tage-Sterblichkeit entsprechend des L-Arginin/ADMA-Quotienten. Anhand ihres L-Arginin/ADMA-Quotienten konnten die Patienten in Tertiale eingeteilt werden, wobei lediglich 5 von 37 Patienten aus dem hohen Tertial, jedoch 14 von 37 Patienten des niedrigen L-Arginin/ADMA-Quotienten Tertials verstarben.

Nijveldt et al. konnten 2003 zeigen, dass der ADMA-Plasmaspiegel einen starken positiven prädiktiven Wert für die Gesamtmortalität von Patienten mit Multiorganversagen während der Intensivtherapie aufweist (Nijveldt et al., 2003). Knapp 50% der Patienten in dieser Studie waren aufgrund einer chirurgischen Komplikation intensivtherapiepflichtig geworden. In der Folge konnten die Autoren Maas et al. (2007) in einer prospektiven Studie mit 402 Patienten für die präoperative Risikoprädiktion von nicht-kardiochirurgischen Patienten zeigen, dass ADMA ein besserer Prädiktor für das Auftreten postoperativer kardiovaskulärer Komplikationen ist als bereits etablierte Risikomarker wie der ASA-Score oder der Revised Cardiac Risk Index nach Lee. In multivariaten Cox-Regressionsmodellen konnte ADMA als unabhängiger Risikomarker für unerwünschte kardiovaskuläre Ereignisse in der perioperativen Phase identifiziert werden.

All diese Studien zeigen den großen Einfluss von ADMA, SDMA und dem NO-Stoffwechsel auf die Entstehung multipler Erkrankungen und sich daraus gegebenenfalls ergebender Therapiemöglichkeiten. Unser Ziel ist es den Zusammenhang zwischen ADMA, SDMA und dem NO-Stoffwechsel und der Genese von Vasospasmen als Komplikation einer atraumatischen, aneurysmatischen Subarachnoidalblutung herzustellen.

2. Material und Methoden

2.1 Studienaufbau und Studienablauf

Die klinische Studie wurde als monozentrische Studie konzipiert und nach Erhalt des Ethik-Votums der Ethikkommission Hamburg (Bearb.-Nr.: PV3622) von 2011 bis 2014 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchgeführt.

Das Ziel der Studie war es, zu prüfen, ob eine Korrelation zwischen verzögerten cerebralen Ischämien nach aneurysmatischen Subarachnoidalblutungen und dem Plasma-, bzw. Liquorspiegel des endogenen NO-Synthase-Inhibitors NG,NG-Dimethyl-L-Arginin (asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA)) besteht.

Als vordefinierte primäre kombinierte Endpunkte waren neue cerebrale Insulte, nachgewiesen mittels cranialer Computertomographie, Zunahme der Flussgeschwindigkeit in der A. cerebri media nachgewiesen mittels transkranieller Dopplersonografie sowie die Plasma- und Liquorkonzentrationen von ADMA definiert.

Die rechtlichen Grundlagen der Studie bildeten die Deklaration von Helsinki, §§ 10, 29, 40-42, 47, 63a, 64, 66, 67, 96, 97 des Arzneimittelgesetzes (AMG), die Bekanntmachung des Bundesministeriums für Jugend, Frauen, Familie und Gesundheit vom 19. Dezember 1987 „Grundsätze für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln“, sowie die International Conference on Harmonisation: Note for guidance and good clinical practice, CPMP/ICH/135/405.

Die Prüfung begann, wenn anhand der Anamnese, körperlichen Untersuchung und Blutanalyse die Kriterien für den Einschluss in die Prüfung erfüllt waren und der Patient, seine Vorsorgebevollmächtigten bzw. seine gesetzlichen Betreuer über die Zielsetzung der Studie, Risiken und Versicherungsschutz aufgeklärt waren. Bei Patienten, die am Aufnahmetag nicht selbst aufgeklärt werden konnten und über keinen Vorsorgebevollmächtigten/ gesetzlichen Betreuer verfügten, wurde die Einverständniserklärung nachträglich unterzeichnet.

Neben Anamnese und klinischer Untersuchung erfolgte eine Einschlussuntersuchung inklusive klinisch-chemischer und hämatologischer Analysen, die ein kleines Blutbild, AST, ALT, CK, Kreatinin, Bilirubin, Gesamtcholesterin, Triglyceride, LDL-Cholesterin

und HDL-Cholesterin enthielt. Diese Labordiagnostik deckte sich mit der intensivmedizinischen Routinediagnostik, so dass ausschließlich eine zusätzliche Probe für die Bestimmung des ADMA-, SDMA- und L-Arginin-Spiegels im Serum und im Liquor abzunehmen war. Die Bestimmung der Routinelaborparameter erfolgte im Institut für Klinische Chemie / Zentrallabor der Klinik und wurde von der klinischen Notwendigkeit bestimmt. Die Bestimmung des L-Arginin, ADMA- und SDMA-Spiegels erfolgte im Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) gekoppelt mit einer Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS).

Die Basis der Therapie der in die Studie eingeschlossenen Patienten stellte die leitlinienkonforme Therapie dar (Steinmetz et al., 2012). Eine Erweiterung der Behandlung, z.B. durch Cortison als antiödematöse Therapie, erfolgte entsprechend als Einzelfallentscheidung. Die Therapie, sowie jegliche Umstellung oder Anpassung dieser erfolgte unabhängig von der stattfindenden Studie.

Sowohl am Aufnahmetag zur initialen Diagnostik, im weiteren Verlauf der Behandlung nach klinischer Notwendigkeit, sowie zur Entlassung wurden von allen Patienten kraniale CT-Bilder angefertigt.

Nach dem Blutungsereignis wurden die Patienten bis zum Tag der Krankenhausentlassung täglich visitiert und klinisch untersucht. Es erfolgten Blut- und Liquorentnahmen für die Bestimmung des ADMA-, SDMA- und L-Arginin- Spiegels am Aufnahmetag sowie am 3., 6., 9., 12. und 15. Tag nach dem Blutungsereignis. Die Anlage und Entfernung einer externen Ventrikeldrainage erfolgte nach therapeutischer Notwendigkeit und somit unabhängig von der Studie. Bei einer Entfernung der externen Ventrikeldrainage vor dem 15. Tag entfielen die laut Studienprotokoll vorgesehenen Liquorentnahmen bei Weiterführung der Bestimmung der ADMA-, SDMA- und L-Arginin- Plasmakonzentrationen.

2.2 Patienten

Insgesamt konnten 34 Patienten mit einer aneurysmatischen Subarachnoidalblutung entsprechend der Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossen werden.

Einschlusskriterien

- volljährige männliche und weibliche Patienten,
- angiografisch gesicherte aneurysmatische Subarachnoidalblutung,
- Vorliegen der unterzeichneten Einverständniserklärung.

Ausschlusskriterien

- Anämie mit einem Hämoglobinwert (Hb) von < 8 g/dl
- Schwangere oder stillende Patientinnen
- Patienten mit bekanntem Drogen-, Medikamenten- oder Alkoholabusus
- Jede chronische Erkrankung (bösartig oder nichtbösartig), die die Lebenserwartung des Patienten möglicherweise auf eine Dauer reduziert, die es unsicher macht, dass der Patient die Studienperiode überleben wird
- Jede somatische oder psychische Erkrankung, die die Teilnahme an der Studie erschweren könnte
- Aktive Lebererkrankung oder Leberinsuffizienz (Serum AST oder ALT $> 1,5$ -fach über der oberen Grenze der normalen Norm)

2.3 Messung der Plasmakonzentration von L-Arginin, ADMA und SDMA mit LC-MS/MS

An den Untersuchungstagen erfolgte die Abnahme einer S-Monovette EDTA-Blut (Sarstedt, Deutschland) aus dem Zentralen Venenkatheter (ZVK) des Patienten zur Bestimmung der Plasmakonzentrationen von L-Arginin, ADMA und SDMA.

2.3.1 Vorbereitung der Proben und Reagenzien

Das gewonnene EDTA-Blut wurde zuerst für 20 Minuten bei 4°C und 4000 rpm zentrifugiert. Dabei trennte sich das Plasma vom Blutkuchen. Vom Plasma wurden je zwei Mal 1 ml aus dem Überstand in Eppendorf-Tubes abpipettiert. Das restliche noch enthaltene Plasma im EDTA-Röhrchen wurde verworfen, bis sich nur noch der Blutkuchen im Röhrchen befand, welcher für die gentechnischen Analysen der Genpolymorphismen weiterverarbeitet wurde.

Durch eine Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) wurden die Konzentrationen von L-Arginin, ADMA und SDMA im Plasma der Patienten bestimmt. Dazu wurden die Proben butyliert und ohne Säulenchromatographie direkt in das Gerät eingeführt. Im Electrospray-Interface kam es zur Ionisierung. Im ersten Massenfilter wurden bestimmte Ionen selektiert, die dann in der Stoßzelle mit Argonmolekülen kollidierten und somit weiter fragmentierten. Es entstanden dabei typische Fragmente, die im zweiten Massenfilter selektiert wurden und schließlich ein Signal erzeugten. Mit dieser Technik war es möglich, durch spezifische Fragmentierungsstrukturen anstelle einer chromatographischen Trennung, innerhalb eines Laufes simultan L- Arginin, ADMA und SDMA zu erfassen (Schwedhelm et al., 2007).

Als Richtlinie bei der Durchführung diente die „Standardarbeitsanweisung zur Bestimmung von ADMA, SDMA und L-Arginin in Plasmaproben“ des Laborbereiches Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf.

2.3.2 Durchführung

Das Plasma wurde wie oben beschrieben per Zentrifugation aus EDTA- Blut gewonnen. Die Stocklösung des internen Standards wurde im Verhältnis 1:1.000 mit Methanol verdünnt (z.B. 100 µl IS-Stocklösung in 100 ml MeOH). Vorher musste der interne Standard auf Raumtemperatur gebracht werden, da er bei -20°C gelagert wurde.

Eine MultiScreen 96-well-Filterplatte wurde auf einer 96-well-„Unterplatte“ positioniert. Vom verdünnten Standard wurden jeweils 100 µl in die Vertiefungen der MultiScreen 96-well-Platte pipettiert (Multipette), 25 µl Kalibrierlösung bzw.

Plasma/Liquor, bzw. Qualitätskontrolle (QC)-Lösung zugegeben und die Platte bei Raumtemperatur 15 Minuten geschüttelt.

Pro Platte wurden vier Qualitätskontrollen (je 2 Mal DLD Con 1 + 2) mit gemessen. Zu jedem Messzyklus wurden zwei Kalibrierkurven (3x 0 μM , 3x 0,5 μM , 3x 1 μM , 3x 2 μM ADMA oder SDMA, bzw. 3x 0 μM , 3x 60 μM , 3x 120 μM , 3x 250 μM Arginin) für Arginin, ADMA und SDMA angefertigt. Die Probenbestimmung erfolgte als Doppelbestimmung.

Die Multi-Screen 96-well-Platte wurde zusammen mit der Polypropylenplatte bei 2.000 rpm (Umdrehungen pro Minute) in einer Plattenzentrifuge für 15 Min. zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde der Erfolg optisch kontrolliert. Die Polypropylenplatte wurde auf einen Heizblock gestellt, der zuvor auf 75°C geheizt worden war. Nach ca. 30 Min., wenn die Flüssigkeit komplett verdampft war, wurde die Platte kurz unter den Abzug gestellt und dann je 100 μl butanolische Salzsäure zugegeben. Die Platte wurde mit einer Abdeckmatte verschlossen, wobei die Platte gut verschlossen sein musste, um eine quantitative Derivatisierung zu gewährleisten. Die verschlossene Platte wurde bei 65°C 30 Min. lang auf dem Heizblock geheizt. Danach wurde die Platte für 1 Min. bei 2.500 rpm (4°C) zentrifugiert und die Abdeckmatte wieder entfernt. Die butanolische Salzsäure wurde bei 75°C für ca. 60 Min. auf der Heizplatte verdampft. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Platte mit einer Abdeckplatte verschlossen und bei -20°C bis zur Messung gelagert.

Vor der Messung wurde mit einer Mehrkanalpipette in jedes Well 100 μl Methanol/Wasser 50/50 (v/v), pH 5 (gepuffert mit HCOOH/NH₃), gegeben. Für das Lösen der Analyten wurden die 96-well-Platten mit einer Klebefolie verschlossen und für 30 Min. (RT) geschüttelt. Anschließend wurden die Proben auf eine neue MultiScreen 96-well-Platte pipettiert (Mehrkanalpipette) und 5 Min. bei 2.000 rpm (4°C) zentrifugiert. Die Messung auf dem Varian L1200 MS/MS Massenspektrometer erfolgte isokratisch mit den HPLC-VarianProStar-Pumpen, 66% Acetonitril, 33% (0,1%ige) Ameisensäure.

Die Berechnung erfolgte durch die StarWorkstation. Der Variationskoeffizient des Assays betrug 3%. Die Nachweisgrenze lag bei 0,05 μM .

2.4 Bestimmung der Liquorkonzentration von L-Arginin, ADMA und SDMA

An den Untersuchungstagen erfolgte des Weiteren die Abnahme von ca. 1 ml Liquor unter sterilen Bedingungen aus der einliegenden EVD des Patienten zur Bestimmung der Liquorkonzentrationen von L- Arginin, ADMA und SDMA. Nach Desinfektion des Abnahmeventils der EVD konnte mit einer 5 ml Spritze Liquor abgenommen werden. Die Spritze wurde mit einem Kombistopper verschlossen und direkt in das Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie gebracht. Hier wiederum wurde der Liquor mit einer Eppendorf-Pipette in Eppendorf-Tubes umpipettiert und bis zur Analyse bei -20°C eingefroren.

Die Messungen von L-Arginin, ADMA und SDMA aus dem Liquor wurden im Labor analog zu den Bestimmungen aus dem Plasma durchgeführt (siehe 2.3).

2.5 Klinische Parameter

Die intensivmedizinische Versorgung der Patienten erfolgte auf einer neurochirurgischen oder neurologischen Intensivstation. Jeder Patientenplatz verfügte hierbei neben dem Überwachungsmonitor Dräger Infinity C700 über einen bettseitigen Arbeitsplatz, der die digitale Dokumentation mittels Integrated Care Manager (ICM) der Firma Dräger (Dräger Medical Deutschland) beinhaltet. Über die ICM-Schnittstelle erfolgte eine kontinuierliche Dokumentation der Patientenparameter

- Herzfrequenz,
- invasiver Blutdruck (systolisch, diastolisch sowie mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)),
- Atemfrequenz bei Spontanatmung,
- pulsoxymetrische Sauerstoffsättigung sowie
- Beatmungsparameter bei kontrollierter und assistierter Beatmung.

Als nicht kontinuierlich gemessene Parameter erfolgte die regelmäßige Bestimmung und Dokumentation von

- Bilanz (Ein- und Ausfuhr),
- Lagerung,
- neurologischem Status,
- Zentraler Venendruck (ZVD),
- Intrakranieller Druck (ICP),
- Cerebraler Perfusionsdruck (CPP) ($CPP = MAP - ICP$ [mmHg]) sowie
- Schmerz.

Das Intervall zur Erhebung und Dokumentation der nicht kontinuierlich gemessenen und dokumentierten Parameter erfolgte nach klinischer Notwendigkeit und Vorgaben des behandelnden Arztes und somit unabhängig von der hier vorliegenden Studie.

Die automatisch und kontinuierlich dokumentierten Parameter sowie die Dokumentation der nicht kontinuierlich erhobenen Parameter im ICM bildeten die Grundlage der Datenerhebung für die klinischen Parameter. An den Untersuchungstagen wurden die entsprechenden Parameter händisch in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel® übertragen und der Datenanalyse zugeführt.

2.6 Transkranielle Dopplersonographie (TCD)

Ergänzend erfolgte zur Detektierung von cerebralen Flussbeschleunigungen eine tägliche apparative Diagnostik mittels transkranieller Dopplersonographie.

Dabei wurden mittels eines Ultraschallkopfes die Flussgeschwindigkeiten des Blutes in der A. cerebri media, der A. cerebri anterior, sowie der A. cerebri posterior jeweils links und rechts gemessen.

Eine mittlere Flussgeschwindigkeit (mean flow velocity, kurz MFV) > 140 cm/s wurde als „sonographischer Vasospasmus“ definiert (Westermaier et al., 2013).

2.7 ICP, CCP, MAP

Bei allen Patienten wurde nach Einlegen der externen Ventrikeldrainage alle zwei Stunden der intrakranielle Druck (ICP = intracranial pressure) in Zentimeter Wassersäule (cmH₂O) gemessen. Ein cmH₂O entspricht $\approx 0,74$ Millimeter Quecksilbersäule (mmHg). Die mittlere arterielle Blutdruckmessung (MAP = mean arterial pressure) erfolgte stündlich in der Maßeinheit mmHg. Aus diesen Werten konnte der zerebrale Perfusionsdruck (CPP = cerebral perfusion pressure) in mmHg berechnet werden.

$$\text{CPP} = \text{MAP} - \text{ICP}$$

2.8 Bestimmung der Glasgow Outcome Scale

Am Tag der Verlegung von der Intensivstation auf die Normalstation wurden die Patienten visitiert und der Glasgow Outcome Scale ermittelt. Drei Monate nach der Entlassung von der Intensivstation wurde der GOS erneut bestimmt. Hierzu wurden die Patienten bzw. ihre Angehörigen oder die versorgende Pflegekraft telefonisch kontaktiert und sich über den neurologischen Status des Patienten informiert.

2.9 Fallzahlschätzung und biometrische Auswertung

In einer vorangegangenen klinischen Studie, bei der der Zusammenhang von dem Auftreten von Vasospasmen nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung mit dem ADMA-Spiegel verglichen wurde (Jung et al. 2007), waren 18 Patienten ausreichend, um statistisch signifikante Unterschiede zu belegen. Unter der Annahme einer vergleichbaren Schwankung der Messwerte um den Mittelwert bei unserem Patientenkollektiv wurden insgesamt 34 Patienten in die Studie eingeschlossen.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Entsprechend den Ein- und Ausschlusskriterien (siehe 2.2) wurden 34 Patienten mit aneurysmatischer Subarachnoidalblutung in die vorliegende Studie eingeschlossen. Die Patienten waren zwischen 29 und 86 Jahren alt. An der Studie nahmen 24 Frauen und 10 Männer teil.

In den Baseline-Charakteristika teilten wir die Patienten in zwei Gruppen ein, zum einen in Patienten mit Demaskierung von vasospastischen Infarkten im CCT während des stationären Aufenthaltes (n = 14 Patienten, DCI-Gruppe) und Patienten ohne Demaskierung (n = 20 Patienten, Non-DCI-Gruppe).

Diese beiden Gruppen unterschieden sich bezogen auf das durchschnittliche Alter, den BMI und das Routinelabor bei der Aufnahme nicht signifikant voneinander. Das Routinelabor beinhaltete ein kleines Blutbild, die Gerinnung, Transaminasen, Kreatinin, Harnstoff und Bilirubin (Tabelle 4).

50% der Patienten aus der DCI-Gruppe (n = 7) erreichten das Krankenhaus intubiert und beatmet. In der Non-DCI-Gruppe waren es hingegen nur 20% (n = 4, p = 0,016 zwischen den Gruppen). Von allen Patienten wurde am Aufnahmetag im Rahmen des Akutereignisses die Glasgow Coma Scale und der Schweregrad der Subarachnoidalblutung nach Hunt und Hess bestimmt. 50% der Patienten der Non-DCI-Gruppe (n = 10) wiesen einen Hunt und Hess Grad von 1 oder 2 bei der Einlieferung auf, bei den DCI Patienten waren es hingegen nur 7% (n = 1; p = 0,009). Entsprechend der Glasgow Coma Scale (GCS) wiesen acht Patienten (40%) der Non-DCI und neun Patienten (65%) der DCI-Gruppe einen GCS < 9 Punkte auf (p = 0,16) (Tabelle 4).

Somit wiesen insgesamt 11 Patienten nur leichte Beschwerden und kein neurologisches Defizit und 17 Patienten deutliche Symptome mit neurologischen Ausfällen auf. 6 Patienten befanden sich im Koma.

Von allen 34 Patienten wurden CCTs angefertigt, die ein typisches Verteilungsmuster der betroffenen Gefäße bei aneurysmatischen Subarachnoidalblutungen zeigten (Tabelle 4).

Bei 60% der Patienten ohne Demaskierung vasospastischer Infarkte im CCT war das vordere Stromgebiet des Circulus arteriosus Willisii von der aneurysmatischen Subarachnoidalblutung betroffen, bei 25% das hintere Stromgebiet und bei 15% konnte kein Aneurysma nachgewiesen werden. Aufgrund des typischen Verteilungsmusters der Blutung klassifizierten wir diese als perimesenzepale Subarachnoidalblutungen. Bei den Patienten mit Demaskierung im CCT war bei 78,6% der Patienten das vordere Stromgebiet betroffen, bei 14,3% das hintere Stromgebiet und bei 7,1% konnte kein Aneurysma nachgewiesen werden.

In der initialen CCT-Bildgebung zeigte sich bei 9 Patienten der DCI-Gruppe eine Subarachnoidalblutung entsprechend Fisher Score IV, wohingegen es bei der Non-DCI-Gruppe 10 Patienten waren ($p = 0,37$). Zwei Patienten verstarben während des stationären Aufenthaltes. Beide Patienten gehörten zur DCI-Gruppe.

Die Aneurysmen wurden zu je 65% per endovaskulärem Coiling versorgt. In der Gruppe mit vasospastischen Infarkten wurden 28,6% der Aneurysmen geclippt und nur 7,1% der Aneurysmen nicht versorgt. Bei den Patienten ohne vasospastische Infarkte war es genau umgekehrt. Hier wurden 10% der Aneurysmen geclippt und 25% blieben unversorgt.

Tabelle 4: Baseline-Charakteristika der Patienten.

	Non-DCI-Gruppe (n = 20)	DCI-Gruppe (n = 14)	p-Wert
Alter (Jahre)	53,70 ± 13,70	54,14 ± 11,55	n.s.
Geschlecht	weiblich 12 (60%)	weiblich 12 (85,7%)	n.s.
BMI (kg/m ²)	26,38 ± 4,51	25,49 ± 3,84	n.s.
GCS < 9	9 (64,3%)	8 (40%)	n.s.
Hunt&Hess ≥ 3	10 (50%)	13 (92,9%)	p < 0,05
Vorderes Stromgebiet	12 (60%)	11 (78,6%)	n.s.
Hinteres Stromgebiet	5 (25%)	2 (14,3%)	n.s.
Ohne Aneurysmanachweis	3 (15%)	1 (7,1%)	n.s.
Hämoglobin	12,76 ± 1,23	12,49 ± 1,84	n.s.
Leukozyten	12,40 ± 4,41	14,80 ± 3,95	n.s.
Thrombozyten	230 ± 66,67	238,64 ± 69,57	n.s.
aPTT	29,84 ± 5,80	27,65 ± 4,23	n.s.
INR	0,99 ± 0,05	1,03 ± 0,06	n.s.
Kreatinin	0,74 ± 0,15	0,68 ± 0,19	n.s.
Krankenhausaufenthalt (d)	26,45 ± 10,07	29,36 ± 11,44	n.s.

Beatmungsdauer insgesamt in Stunden	170,57 ± 267,49	413,02 ± 238,68	n.s.
Aufenthalt auf Intensiv (d)	22,40 ± 10,05	27,29 ± 12,46	n.s.
Nimodipin-Therapiedauer (d)	19,65 ± 7,11	23,14 ± 12,04	n.s.
Sedierungsgrad 1 (= Opioid + 1 Narkotikum) (d)	4,55 ± 5,24	7,00 ± 4,84	n.s.
Sedierungsgrad 2 (= Opioid + 2 Narkotika) (d)	0,95 ± 2,19	6,14 ± 5,30	0,003
Antibiotikatherapie i.v.	17 (85%)	13 (92,9%)	n.s.
Transfusion von Fremdblut	5 (25%)	3 (21,4%)	n.s.

Daten dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung oder Anzahl N (%). Unterschied zwischen den Gruppen untersucht mittels nichtparametrischen Mann-Whitney U Test.

3.2 Intensivmedizinischer Verlauf

Im Rahmen ihres stationären Aufenthaltes entwickelten 14 der 34 Patienten einen vasospastischen Infarkt (DCI), welcher mittels CCT Bildgebung detektiert wurde.

Patienten ohne Demaskierung von vasospastischen Infarkten (Non-DCI-Gruppe) verblieben durchschnittlich $22,40 \pm 10,05$ Tage auf der Intensivstation, wobei sie $170,57 \pm 267,49$ Stunden beatmet wurden. Der gesamte Krankenhausaufenthalt belief sich auf $26,45 \pm 10,07$ Tage.

Bei den Patienten mit Auftreten von Vasospasmen (DCI-Gruppe) betrug die Dauer des intensivmedizinischen Aufenthaltes $27,29 \pm 12,46$ Tage und die Beatmungsdauer $413,02 \pm 238,68$ Stunden. Der Gesamtaufenthalt im Krankenhaus ließ sich auf $29,36 \pm 11,44$ Tage bemessen.

Somit ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Länge des intensivmedizinischen Aufenthaltes, der Beatmungsdauer und der Gesamtlänge des Krankenhausaufenthaltes zum Auftreten oder Ausbleiben einer DCI herstellen

(Gesamtaufenthalt im Krankenhaus Non-DCI-Gruppe $26,45 \pm 10,07$ vs. DCI-Gruppe $26,45 \pm 10,07$ Tage, $p = 0,37$).

Mit einem längeren Krankenhausaufenthalt steigt im Allgemeinen auch das Risiko einer nosokomialen Infektion (Tess et al., 1993). Ein Unterschied diesbezüglich oder anderen Komplikationen wie Herzrhythmusstörungen, Elektrolytentgleisungen oder Reanimationen im intensivmedizinischen Verlauf ließ sich zwischen den beiden Gruppen jedoch nicht erkennen.

Die Dauer, in der höhere Mengen Sedativa benötigt wurden (1 Opioid und 2 Narkotika), war bei den Patienten mit Vasospasmen signifikant höher als bei Patienten ohne Vasospasmen. Die durchschnittliche Dauer der Therapie betrug bei Patienten mit Vasospasmen durchschnittlich $6,14 \pm 5,30$ Tage, während die Patienten ohne Vasospasmen diese hohe Dosierung an Sedativa durchschnittlich nur $0,95 \pm 2,19$ Tage benötigten ($p = 0,003$).

Betreffend die Gabe von Barbituraten, Bluttransfusionen, intravenöser Antibiotikatherapie oder der Dauer der Therapie mit Nimodipin ließ sich zwischen der DCI und Non-DCI-Gruppe kein signifikanter Unterschied ableiten.

3.3 ADMA, SDMA und L-Arginin im Plasma

Wie zuvor beschrieben wurde allen Patienten am Aufnahmetag, am 3., 6., 9., 12. und 15. Tag nach der aneurysmatischen Subarachnoidalblutung Blut über einen ZVK und Liquor über die einliegende Ventrikeldrainage abgenommen.

Bei der Bestimmung der Baseline-Werte (Tag 0) ergaben sich bezogen auf den ADMA- und SDMA-Spiegel im Plasma keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Patienten. Die Plasma-Konzentration des Gesamtkollektivs von ADMA lag am Aufnahmetag bei $0,62 [0,51; 0,70]$ $\mu\text{mol/l}$, die SDMA-Konzentration bei $0,66 [0,48; 0,77]$ $\mu\text{mol/l}$ und die L-Arginin-Konzentration bei $43,6 [26,4; 48,8]$ $\mu\text{mol/l}$ (Tabelle 5). Zu Beginn war kein signifikanter Unterschied bezüglich der Höhe der Biomarker zwischen den Patienten, die später eine DCI entwickelten und denen, die keine entwickelten, festzustellen. Trotzdem war in der DCI-Gruppe die Höhe von L-

Arginin etwas niedriger und die ADMA-Konzentration etwas höher, was zu einer signifikant unterschiedlichen L-Arginin/ADMA-Ratio führte (Tabelle 5).

Tabelle 5: Laborwerte des Aufnahmetages.

	Alle (n = 34)	DCI-Gruppe (n = 14)	Non-DCI-Gruppe (n = 20)
Plasma-Konzentrationen			
L-Arginin (µmol/l)	43,55 [26,43; 48,75]	36,9 [21,78; 44,43]	45,05[30,75; 57,25]
ADMA (µmol/l)	0,62 [0,51; 0,70]	0,66 [0,49; 0,75]	0,56[0,49; 0,70]
SDMA (µmol/l)	0,66 [0,48; 0,77]	0,65 (0,55 – 0,92)	0,60[0,46; 0,76]
L-Arginin/ADMA-Ratio	67,21 [48,97; 82,38]	57,19 [34,33; 70,81]*	68,73[55,65; 96,24]*
Kreatinin (mg/dl)	0,70[0,60; 0,84]	0,66 [0,57; 0,85]	0,71[0,60; 0,84]
INR	0,99[0,97; 1,04]	1,03 [0,98; 1,06]	0,98[0,96; 1,03]
CRP (mg/l)	5,00[5,00; 13,50]	5,00 [5,00; 9,00]	5,50[5,00; 21,50]
CSF-Konzentrationen			
L-Arginin (µmol/l)	10,51 [0,01; 12,93]	4,83 [0,01; 16,88]	2,41[0,01; 10,99]
ADMA (µmol/l)	0,11 [0,08; 0,15]	0,15 [0,12; 0,19]*	0,10[0,08; 0,12]*
SDMA (µmol/l)	0,28 [0,19; 0,33]	0,30 [0,25; 0,36]*	0,21[0,17; 0,29]*
L-Arginin/ADMA-Ratio	73,79 [25,71; 274,75]	96,91 [27,17; 230,25]	51,74[25,06; 341,92]

Daten dargestellt als Median (25. und 75. Perzentile). Unterschied zwischen der DCI-Gruppe und der Non-DCI-Gruppe getestet mit dem Mann–Whitney U Test. *p < 0,05.

Vom Tag der Blutung bis zu Tag 15 stieg die Konzentration von ADMA in der DCI-Gruppe steiler an als in der Non-DCI-Gruppe. An Tag 9 konnten signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen festgestellt werden (DCI, 0,81 [0,74; 0,91] $\mu\text{mol/l}$; Non-DCI, 0,71 [0,58; 0,99] $\mu\text{mol/l}$; $p = 0,033$), genauso an Tag 15 (DCI, 0,91 [0,82; 1,02] $\mu\text{mol/l}$; Non-DCI, 0,64 [0,50; 0,93] $\mu\text{mol/l}$; $p = 0,02$) (Abbildung 7). In der DCI-Gruppe fiel die SDMA-Konzentration in den ersten drei Tagen der intensivmedizinischen Behandlung ab, allerdings nicht so sehr, dass sich ein signifikanter Unterschied zur Non-DCI-Gruppe ergab (Abbildung 8).

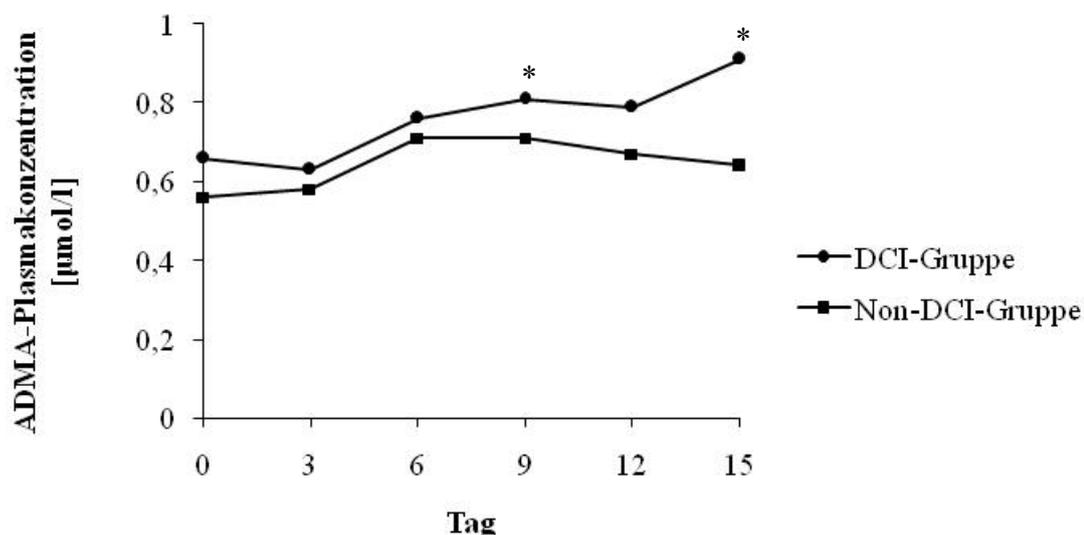


Abbildung 7: ADMA-Plasmakonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf.

Daten dargestellt als Median. Unterschied zwischen der DCI-Gruppe und der Non-DCI-Gruppe getestet mit dem Mann-Whitney U Test. * $p < 0,05$.

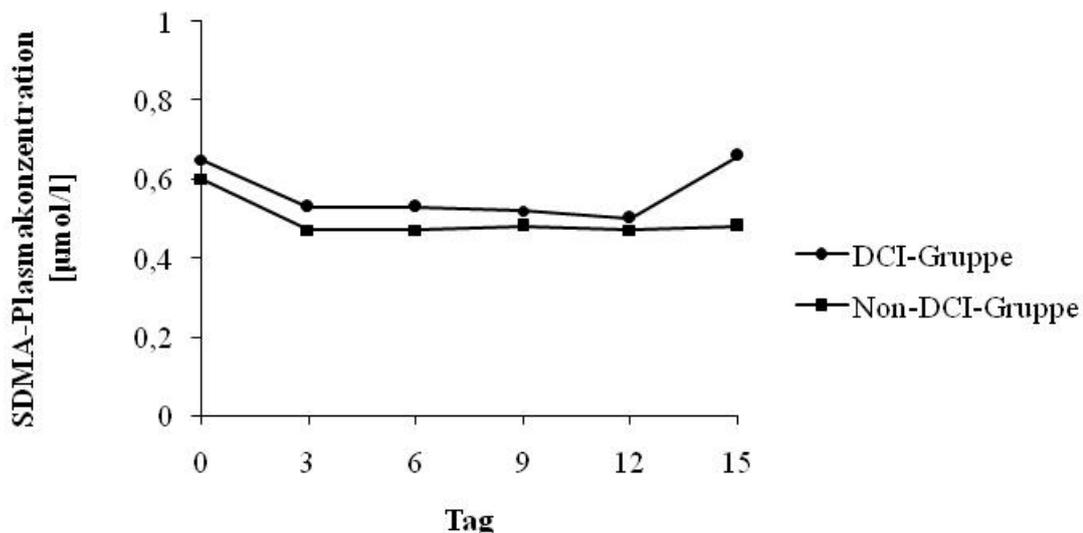


Abbildung 8: SDMA-Plasmakonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf.

Daten dargestellt als Median. Unterschied zwischen der DCI-Gruppe und der Non-DCI-Gruppe getestet mit dem Mann-Whitney U Test. * $p < 0,05$.

3.4 ADMA, SDMA und L-Arginin im Liquor

Zum Zeitpunkt des Eintreffens im Krankenhaus gab es signifikante Unterschiede in der ADMA-Konzentration im Liquor in der DCI und Non-DCI-Gruppe (0,15 [0,12; 0,19] µmol/l vs. 0,10 [0,08; 0,12] µmol/l; $p = 0,008$) (Abbildung 9).

Vom Tag der Blutung bis zum 15. Tag glichen sich die Werte in den beiden Gruppen ohne klaren Trend an. Die ADMA-Liquorkonzentration stieg bei allen Patienten in den ersten Tagen an, zeigte aber bei den Patienten mit DCI höhere Werte mit einem Maximum an den Tagen 6 - 9.

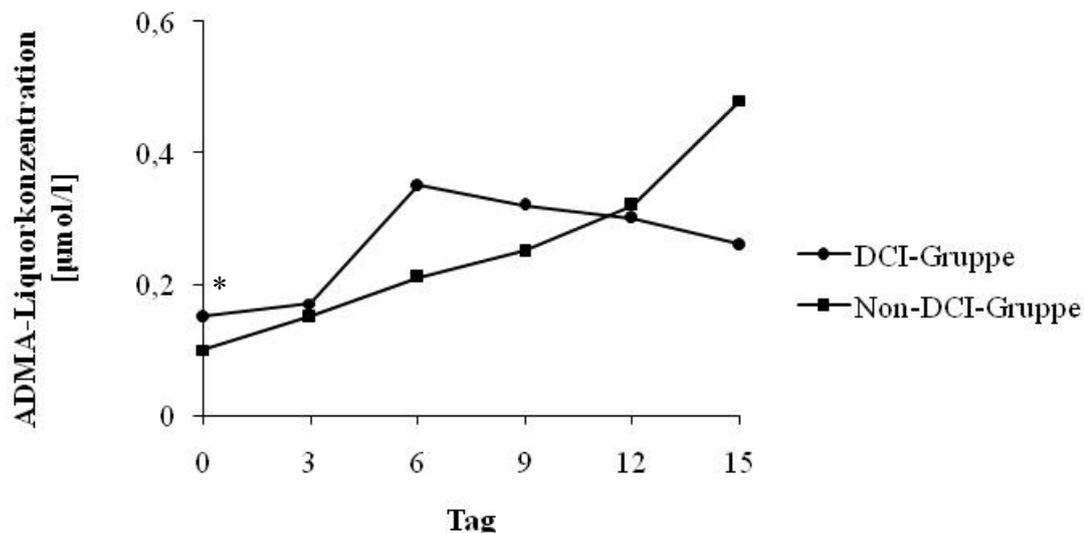


Abbildung 9: ADMA-Liquorkonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf.

Daten dargestellt als Median. Unterschied zwischen der DCI-Gruppe und der Non-DCI-Gruppe getestet mit dem Mann-Whitney U Test. * $p < 0,05$.

Im Gegensatz hierzu war die SDMA-Konzentration im Liquor nicht nur zum Zeitpunkt der Aufnahme in der DCI-Gruppe signifikant höher als in der Non-DCI-Gruppe (0,30 [0,25; 0,36] $\mu\text{mol/l}$ vs. 0,22 [0,17; 0,29] $\mu\text{mol/l}$; $p = 0,03$), der Unterschied blieb bis zum Tag 6 erhalten. Danach stiegen die Werte in beiden Gruppen so an, dass kein signifikanter Unterschied mehr zu erkennen war (Abbildung 10). Patienten mit einem initial schlechten neurologischen Status, entsprechend Hunt und Hess Grad 3 - 5 hatten schon bei der Aufnahme signifikant höhere SDMA-Liquorkonzentrationen (0,21 [0,17; 0,29] $\mu\text{mol/l}$ vs. 0,30 [0,25; 0,36] $\mu\text{mol/l}$; $p = 0,008$).

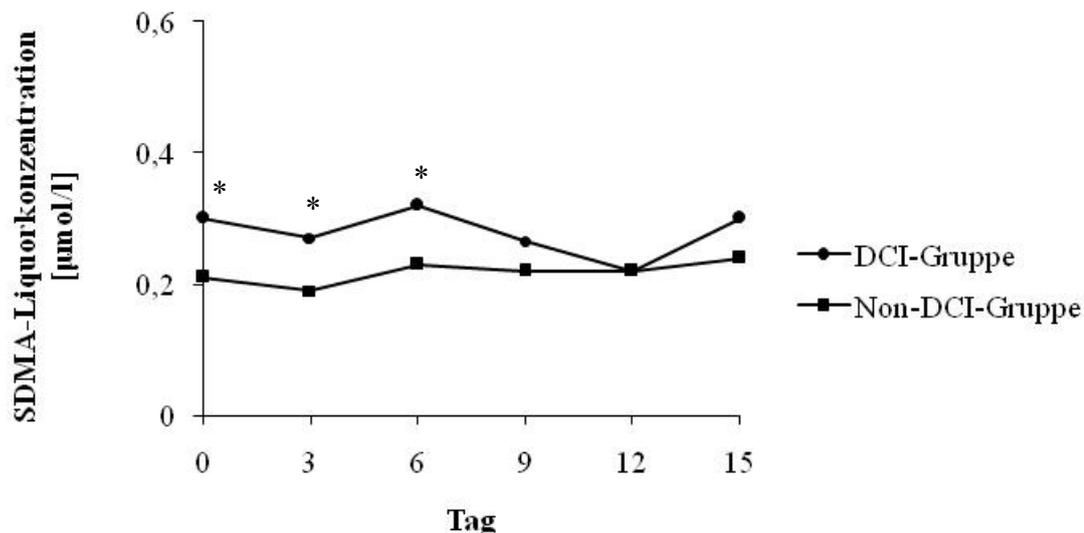


Abbildung 10: SDMA-Liquorkonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf.

Daten dargestellt als Median. Unterschied zwischen der DCI-Gruppe und der Non-DCI-Gruppe getestet mit dem Mann-Whitney U Test. * $p < 0,05$.

3.5 Prädiktive Rolle von traditionellen Markern und Untersuchungen für DCI und neurologisches Outcome

Patienten, die während des weiteren Verlaufes eine DCI erlitten, erreichten das Krankenhaus signifikant häufiger intubiert und beatmet (4 (20%) vs. 7 (50%), $p = 0,016$).

Insgesamt zeigte sich die Entwicklung einer DCI als großer Risikofaktor für ein schlechtes neurologisches Outcome, definiert als ein GOS < 4 . Patienten, die eine DCI erlitten zeigten am Tag der Entlassung von der Intensivstation signifikant häufiger ein schlechtes neurologisches Outcome (5 (25%) vs. 10 (71%), $p = 0,02$), welches auch drei Monate nach der Blutung nachweisbar war (4 (20%) vs. 10 (71%), $p = 0,003$).

Während des intensivmedizinischen Aufenthaltes wurde ein Anstieg der mittleren Flussgeschwindigkeit in der transkraniellen Dopplersonographie bei insgesamt 27 Patienten festgestellt. Von diesen 27 Patienten erlitten 10 (37%) eine DCI. Der maximale Anstieg verglichen zum Baseline-Wert zeigte einen Anstieg von $145,18 \pm 121,91\%$ (medianer Anstieg 100%). Patienten über oder unter dem Median unterschieden sich bezüglich der ADMA- und SDMA-Konzentrationen in Plasma und

Liquor nicht. Patienten mit einem Flussanstieg über dem Median erfuhren keine erhöhte Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer DCI. Allerdings konnte eine Korrelation zwischen der ADMA-Plasmakonzentration und dem maximalen Anstieg der Flussgeschwindigkeit festgestellt werden (Spearman Rho = 0,51; p = 0,01).

In einem dichotomisierten Ansatz des Hunt und Hess Score (Hunt und Hess 1 + 2 vs. Hunt und Hess 3 – 5) zeigte sich, dass Patienten ohne DCI bei Aufnahme die besseren Werte aufzeigten. 50% der Patienten ohne DCI waren bei Aufnahme in der Gruppe Hunt und Hess 1 + 2, wohingegen dies nur 7,1% der Patienten mit DCI waren (10 (50%) vs. 1 (7,1%), p = 0,009).

Tabelle 6: Prädiktive Marker für die Entwicklung einer DCI.

	Non-DCI-Gruppe (n = 20)	DCI-Gruppe (n = 14)	p-Wert
Intubiert bei Aufnahme	4 (20%)	7 (50%)	0,016
GOS < 4 bei Entlassung von Intensivstation	5 (25%)	10 (71%)	0,02
GOS < 4 im 3-Monats-Follow-Up	4 (20%)	10 (71%)	0,003
Hunt und Hess 1 + 2	10 (50%)	1 (7%)	0,009
Hunt und Hess 3 - 5	10 (50%)	13 (93%)	0,009

Daten dargestellt als Anzahl N (%). Unterschied zwischen den Gruppen untersucht mittels nicht-parametrischen Mann-Whitney U Test. p < 0,05.

Der initiale Hunt und Hess Score war darüber hinaus mit der Entwicklung einer DCI (OR 2,5, 95% CI 1,22-5,23, p = 0,01) oder einem schlechteren neurologischen Outcome (GOS < 4) am Tag der Verlegung von der Intensivstation (OR 0,29, 95% CI 0,12-0,68, p = 0,004) oder drei Monate später in Zusammenhang zu bringen (OR 0,38, 95% CI 0,19-0,82, p = 0,01).

Der initiale GCS hingegen zeigte keinen Zusammenhang mit dem Auftreten von DCIs (OR 0,9, 95% CI 0,79-1,04, $p = 0,16$) oder einem schlechteren neurologischen Outcome (GOS < 4) am Tag der Verlegung von der Intensivstation (OR 1,13, 95% CI 0,99-1,30, $p = 0,07$) oder drei Monate später (OR 1,1, 95% CI 0,98-1,29, $p = 0,08$).

3.6 Prädiktive Rolle von Methyarginin als Biomarker für DCI und neurologisches Outcome

Ein L-Arginin/ADMA-Quotient im Liquor unter dem Median war mit einem längeren intensivmedizinischen Aufenthalt ($30,8 \pm 12,1$ vs. $19,1 \pm 6,4$ Tage, $p = 0,007$), längerer invasiver Beatmung ($457,6 \pm 256,6$ vs. $125,8 \pm 219,7$ Stunden, $p < 0,001$) und einem längeren Krankenhausaufenthalt ($32,5 \pm 11,6$ vs. $23,2 \pm 5,6$ Tage, $p = 0,012$) assoziiert.

Des Weiteren konnte der L-Arginin/ADMA-Quotient in umgekehrten Zusammenhang mit dem neurologischen Outcome (GOS) am Tag der Entlassung (Spearman Rho = $-0,543$, $p = 0,002$, $n = 33$) sowie drei Monate später (Spearman Rho = $-0,480$, $p = 0,008$, $n = 30$) gebracht werden.

Patienten mit einer Liquor ADMA-Konzentration unterhalb des Medians erlitten weniger häufig DCIs. Diese Beobachtung verblieb in einem multivariablen Stufenregressionsmodell signifikant, welches an demographische Werte und biochemische Marker angepasst wurde (Tabelle 7). Die ADMA-Liquorkonzentration war außerdem mit einem schlechteren neurologischen Outcome am Entlassungstag vergesellschaftet (Spearman Rho = $-0,39$, $p = 0,03$). Für die ADMA- Plasmaspiegel ergab sich kein Zusammenhang. Der ADMA- Plasmaspiegel in Liquor und Plasma stieg bei allen Patienten bis Tag 6 an, aber nur der Liquor ADMA-Spiegel war mit einem schlechten neurologischen Outcome verknüpft.

Tabelle 7: Multivariate logistische Regressionsmodelle für die delayed cerebral ischemia (DCI).

Model A		Odds Ratio (95% CI)	p
ADMA CSF Konzentration > Median	ja vs. nein	0,09 (0,01 – 0,70)	0,02
Alter	1 Jahr	1,02 (0,92 – 1,13)	0,67
Geschlecht	männlich vs. weiblich	5,18 (0,40 – 66,42)	0,21
Arterielle Hypertonie	ja vs. nein	2,16 (0,26 – 17,66)	0,47
CRP	1 mg/l	0,90 (0,72 – 1,11)	0,32
Model B		Odds Ratio (95% CI)	p
ADMA CSF Konzentration > Median	ja vs. nein	0,06 (0,01 – 0,78)	0,03
Alter	1 Jahr	1,01 (0,88 – 1,16)	0,93
Geschlecht	männlich vs. weiblich	10,81 (0,51 – 227,63)	0,13
Arterielle Hypertonie	ja vs. nein	2,54 (0,22 – 29,11)	0,45
CRP	1 mg/l	0,85 (0,64 – 1,13)	0,26
GCS < 9	ja vs. nein	11,22 (0,79 – 159,16)	0,74
Model C		Odds Ratio (95% CI)	p
ADMA CSF Konzentration > Median	ja vs. nein	0,03 (0,02 – 0,70)	0,04

Alter	1 Jahr	1,02 (0,89 – 1,18)	0,76
Geschlecht	männlich vs. weiblich	11,09 (0,43 – 288,65)	0,15
Arterielle Hypertonie	ja vs. nein	2,68 (0,19 – 37,29)	0,46
CRP	1 mg/l	0,87 (0,65 – 1,17)	0,36
GCS < 9	ja vs. nein	0,60 (0,02 – 24,56)	0,79
WFNS \geq 4	ja vs. nein	13,11 (0,28 – 619,10)	0,19

Abkürzungen: ADMA, asymmetrisches Dimethylarginin; CSF, cerebrospinal fluid (= Liquor cerebrospinalis); CI, confidence interval (= Konfidenzintervall); CRP, C-reaktives Protein; GCS, Glasgow Coma Scale; WFNS, World Federation of Neurological Surgeons.

Im Gegensatz zu den Liquor-ADMA-Spiegeln zeigten die Liquor-SDMA-Spiegel am Tag der Blutung keine Korrelation mit einer DCI. Insgesamt erlitten Patienten mit einer Liquor-SDMA-Konzentration über dem Median häufiger ein schlechteres neurologisches Outcome drei Monate nach der Entlassung aus dem Krankenhaus (2 (7%) vs. 10 (33%), $p = 0,003$). Diese Signifikanz blieb auch in einem multivariaten logistischen Regressionsmodell bestehen, in dem wir demographische und laborchemische Risikomarker testeten (Tabelle 8).

Tabelle 8: Multivariate logistische Regressionsmodelle für das neurologische Outcome (GOS < 4) 3 Monate nach SAB.

Model A		Odds Ratio (95% CI)	p
SDMA CSF Konzentration > Median	ja vs. nein	40,27 (2,33 – 696,90)	0,01
Alter	1 Jahr	0,99 (0,90 – 1,09)	0,88
Geschlecht	männlich vs. weiblich	0,08 (0,01 – 1,22)	0,07
Arterielle Hypertonie	ja vs. nein	0,17 (0,14 – 2,08)	0,17
CRP	1 mg/l	0,98 (0,89 – 1,09)	0,73
Model B		Odds Ratio (95% CI)	p
SDMA CSF Konzentration > Median	ja vs. nein	22,41 (1,21 – 416,02)	0,04
Alter	1 Jahr	1,00 (0,89 – 1,11)	0,92
Geschlecht	männlich vs. weiblich	0,05 (0,02 – 1,24)	0,07
Arterielle Hypertonie	ja vs. nein	0,15 (0,01 – 2,10)	0,16
CRP	1 mg/l	1,00 (0,89 – 1,13)	0,97
GCS < 9	ja vs. nein	0,12 (0,01 – 1,28)	0,79

Abkürzungen: SDMA, symmetrisches Dimethylarginin; CSF, cerebrospinal fluid (= Liquor cerebrospinalis); CI, confidence interval (= Konfidenzintervall); CRP, C-reaktives Protein; GCS, Glasgow Coma Scale.

3.7 Glasgow Outcome Scale nach Verlegung von der Intensivstation und drei Monate später

Am Tag der Verlegung von der Intensivstation wurde von allen Patienten der GOS bestimmt. Zwei Patienten waren während der intensivmedizinischen Behandlung verstorben. Sie gehörten zur DCI-Gruppe. In der Non-DCI-Gruppe lag der GOS zu 41,2% bei 5. In der DCI-Gruppe hingegen wiesen nur 8,8% der Patienten einen GOS von 5 auf.

Tabelle 9: GOS bei Entlassung von der Intensivstation.

GOS	DCI-Gruppe	Non-DCI-Gruppe
1	2	0
2	5	3
3	3	2
4	1	1
5	3	14

n = 34.

Drei Monate nach der Entlassung von der Intensivstation wurden die Patienten bzw. ihre Angehörigen oder Pflegekräfte telefonisch kontaktiert und der GOS erneut erhoben. Ein Patient war nicht erreichbar, weshalb beim 3-Monats-Follow-Up die Grundgesamtheit von n = 34 auf n = 33 reduziert ist.

Tabelle 10: GOS 3-Monats-Follow-Up.

GOS	DCI-Gruppe	Non-DCI-Gruppe
1	2	0
2	5	1
3	3	3
4	1	7
5	2	9

n = 33.

4. Diskussion

4.1 Subarachnoidalblutung und Vasospasmus

Die aneurysmatische Subarachnoidalblutung ist eine Erkrankung, die in Mitteleuropa bei 7-10/100.000 Einwohnern pro Jahr auftritt (de Rooij et al., 2012). Das Häufigkeitsmaximum liegt während der 5. und 6. Lebensdekade, wobei Frauen 1,7-mal häufiger betroffen sind als Männer (Zhao et al., 2014).

10% der Patienten versterben vor dem Erreichen des Krankenhauses und weitere 35% der Patienten innerhalb der ersten 30 Tage nach dem Initialereignis (Feigin et al., 2005). Die Gesamtle mortalität ein Jahr nach dem Ereignis liegt bei ca. 50% (Ciurea et al., 2013). Die Subarachnoidalblutung tritt spontan auf und kann zu schwerwiegenden Komplikationen führen.

30-40% der SAB-Patienten entwickeln im Verlauf ihrer Erkrankung eine verzögerte cerebrale Ischämie („delayed cerebral ischemia“, DCI). Diese ist in ca. 10% der Fälle als cerebraler Infarkt im CCT nachweisbar (Dreier, 2001). Im Rahmen der DCI treten neue fokale neurologische Defizite in Form von Aphasien, Apraxien, Hemiparesen und eine Verschlechterung der Vigilanz auf, welche nicht durch eine Nachblutung, einen Hydrocephalus, eine metabolische Störung oder eine Infektion erklärt werden können (Budohoski et al., 2013). Die DCI korrelierte signifikant mit einem schlechteren Outcome (MacDonald et al., 2007). Ein tieferes Verständnis der zugrundeliegenden Prozesse könnte zu einem früheren Erkennen von Risikopatienten führen und eine Ursachen-bezogene Therapie ermöglichen, sodass das Outcome der Patienten deutlich gesteigert werden könnte.

Die Pathophysiologie der DCI und hierbei im spezifischen des Vasospasmus als Folge einer SAB ist komplex und eine pharmakologische Erklärung bisher nicht abschließend gefunden. Die Ursachen scheinen multifaktoriell zu sein, aber untereinander in Zusammenhang zu stehen (Budohoski et al., 2013; MacDonald et al., 2014).

In wieweit das asymmetrische Dimethylarginin (ADMA), das symmetrische Dimethylarginin (SDMA) und L-Arginin eine Rolle bei dem Auftreten von Vasospasmen als Form der DCI spielen behandelt das Thema dieser Dissertation.

In verschiedenen Studien, unter anderem einer 2007 von Jung et al. veröffentlichten, war bereits ein Zusammenhang zwischen der Höhe von ADMA und SDMA und dem Auftreten von Vasospasmen vermutet worden. Die Fallzahl der Studie bei Jung et al. lag bei 18 Patienten. Für unsere Studie konnten wir 34 Patienten mit einer aneurysmatischen Subarachnoidalblutung gewinnen. Hiervon erlitten 14 Patienten (41,18%) eine DCI in Form eines Vasospasmus, während bei Jung et al. 13 von 18 Patienten (72,22%) betroffen waren. Die Anzahl der rekrutierten Patienten ist somit ähnlich denen anderer dieses Thema behandelnden Studien. Aufgrund der geringen Anzahl an Patienten, ist die statistische Power geringer als sie es bei einer größeren Studienpopulation wäre.

Der Anteil von Frauen lag bei unserer Studie bei 24 gegenüber 10 männlichen Teilnehmern. Dies entspräche einem 2,4-fach häufigeren Auftreten einer aneurysmatischen SAB bei Frauen im Vergleich zu Männern. Laut Zhao et al. ist das Auftreten einer SAB bei Frauen jedoch nur 1,7-mal häufiger. Eine mögliche Erklärung hierfür lässt sich durch die Rekrutierung der an der Studie teilnehmenden Patienten finden. Es wurden nur Patienten in die Studie eingeschlossen, die am Aufnahmetag aus medizinischen Gründen eine EVD gelegt bekommen hatten und den weiteren Kriterien unter 2.2. entsprachen. Somit repräsentiert diese Studie nicht alle Patienten mit einer aneurysmatischen SAB, sondern nur eine Subgruppe.

Das Alter der Patienten lag zwischen 29 und 86 Jahren mit einem Mittelwert von 53,7 Jahren in der Non-DCI Gruppe und 54,14 Jahren in der DCI-Gruppe, was mit dem Häufigkeitsmaximum für das Auftreten einer SAB zwischen der 5. und 6. Lebensdekade übereinstimmt (Zhao et al., 2014).

Während Jung et al. einen Vasospasmus als eine Verminderung des Gefäßdurchmessers im vorderen Stromgebiet des Circulus arteriosus Willisii an Tag 7 nach der SAB von mehr als 11% im Vergleich zur initial durchgeführten Angiographie definierten, wurde in unserer Studie keine Angiographie durchgeführt, sondern es wurden fokale neurologische Defizite (wie Hemiparese, Aphasie, Apraxie, Hemianopsie oder Neglect) oder ein Abfall der Glasgow Coma Scale um zwei Punkte, welche mindestens eine Stunde anhielten, und der Nachweis eines neuen ischämischen Areals im CCT als klinisches Korrelat für eine DCI als maximale Spezifizierung eines Vasospasmus verwendet.

4.2 Prädiktiver Wert von ADMA und SDMA im Plasma

ADMA, SDMA und L-Arginin wurden am Aufnahmetag, dem 3., 6., 9., 12., und 15. Tag nach dem Initialereignis bestimmt. Am Aufnahmetag war kein Unterschied bezüglich der Konzentrationen von ADMA, SDMA und L-Arginin im Plasma zwischen den beiden Gruppen (DCI vs. Non-DCI) zu verzeichnen. Im Vergleich zu gesunden Vergleichskohorten lag die ADMA-Konzentration im Normalbereich (Schwedhelm et al., 2009), die SDMA-Konzentration war erhöht (Schwedhelm et al., 2011) und die L-Arginin-Konzentration war im Vergleich zu Gesunden erniedrigt (Lüneburg et al., 2011).

Die ADMA- und SDMA-Plasmakonzentration stieg bei allen Patienten nach der aneurysmatischen Subarachnoidalblutung in den ersten Tagen nach der initialen Blutung an. Patienten, die im Verlauf keine DCI entwickelten erreichten ein Maximum des ADMA- und SDMA-Spiegels im Plasma zwischen den Tagen 6 und 15, während bei den Patienten, die eine DCI entwickelten, die Werte kontinuierlich anstiegen und eine signifikant höhere ADMA-Konzentration während des gesamten Krankenhausaufenthaltes nachweisbar war.

4.3 L-Arginin/ADMA-Ratio im Plasma

Die vorliegende Studie zeigt, dass eine niedrige L-Arginin/ADMA-Ratio im Plasma mit einem schlechten neurologischen Outcome bei Patienten mit Subarachnoidalblutungen assoziiert ist. Dies war nicht nur zum Zeitpunkt der Verlegung von der Intensivstation so, sondern auch noch drei Monate später. Patienten mit einer L-Arginin/ADMA-Ratio unterhalb des Medians erlitten eine DCI signifikant häufiger als Patienten mit einer Ratio oberhalb des Medians. Weiter noch konnten wir einen Zusammenhang zwischen der L-Arginin/ADMA-Ratio und dem Krankheitsverlauf bezogen auf die Dauer des Krankenhausaufenthaltes, den Dauer der intensivmedizinischen Behandlung und die Länge der Beatmungsdauer erkennen.

In einer 2013 von Staalsø et al. veröffentlichten Studie mit 111 Teilnehmern konnte nachgewiesen werden, dass über die L-Arginin/ADMA-Ratio Aussagen über die Mortalität getroffen werden können. Die Mortalität war in der Gruppe mit einer

niedrigen L-Arginin/ADMA-Ratio im Plasma deutlich höher als in den Gruppen mit einer mittleren oder hohen. Wie auch in der vorliegenden Studie konnten Staalsø et al. einen Anstieg von ADMA im Plasma nach der SAB nachweisen. Patienten in einem guten neurologischen Status definiert nach der WFNS erreichten ein Plateau der ADMA-Spiegel zwischen dem 11. und 15. Tag, während bei Patienten in einem schlechten neurologischen Status die Werte weiter anstiegen. Patienten, mit einem angiographisch nachweisbaren Vasospasmus unterschieden sich bezogen auf die Spiegel von L-Arginin und SDMA nicht von Patienten ohne Vasospasmus, wiesen aber eine 15% höhere L-Arginin/ADMA-Ratio an den Tagen 5-10 auf. Diese Daten entsprechen den Ergebnissen der vorliegenden Studie bezogen auf eine DCI. In der vorliegenden Studie wurde sich nicht nur auf einen angiographisch nachweisbaren Vasospasmus konzentriert, sondern einen Schritt weitergegangen und die Entwicklung einer DCI als maximale Spezifizierung eines Vasospasmus definiert. Hiermit ließ sich nachweisen, dass Patienten mit einer niedrigen L-Arginin/ADMA-Ratio signifikant häufiger eine DCI erlitten. Des Weiteren war eine niedrige L-Arginin/ADMA-Ratio nicht nur mit einer DCI, sondern auch mit einem schlechteren neurologischen Outcome (definiert von uns als GOS < 4) vergesellschaftet. Dieser Zusammenhang wurde bereits 2010 von Dorsch et al. und 2007 von Macdonald et al. beschrieben. Angiographische Vasospasmen sind zwar ein quantifizierbarer Outcome-Parameter werden aber häufig klinisch nicht symptomatisch und damit möglicherweise nicht detektiert.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Studie zum ersten Mal, dass Patienten mit einer niedrigen L-Arginin/ADMA-Ratio im Plasma ein höheres Risiko haben eine DCI zu entwickeln, welche mit einem hohen Risiko für ein schlechtes neurologisches Outcome vergesellschaftet ist. Sollten größere Studien diese Daten belegen, könnte man die L-Arginin/ADMA-Ratio nicht nur als Messverfahren nutzen, sondern auch als therapeutisches Ziel. Es gibt beispielsweise Studien, welche empfehlen L-Arginin bei kardiovaskulären Erkrankungen oral zu supplementieren (Cheng et al., 2001).

4.4 Prädiktiver Wert von ADMA im Liquor

Neben dem Plasmaspiegel vom ADMA, SDMA und L-Arginin wurde auch deren Konzentrationen im Liquor bestimmt. Mehrere Studien (Kanamaru et al. 2016, Dorsch et al. 1994, Jung et al. 2012) hatten bereits zuvor gezeigt, dass die Konzentration von ADMA im Liquor nach einer SAB signifikant ansteigt. Die Höhe des ADMA-Spiegels korreliert sowohl mit dem Auftreten und der Schwere eines Vasospasmus, als auch mit dem Abfall von NO. Wie bereits in der Einleitung erwähnt entstehen beim Abbau des während der Blutung in den Subarachnoidalraum gelangten Hämoglobins durch sogenannte BOXes neben Bilirubinfragmenten auch freie Sauerstoffradikale. Diese lösen einige lokale pathophysiologische Prozesse aus, die unabhängig von der systemischen Zirkulation sind. Eine größere Menge von im Subarachnoidalraum verbleibenden Blutkoageln ist ein wichtiger Risikofaktor für die Vorhersage ob Vasospasmen nach einer SAB auftreten oder nicht (Friedman et al. 2002, Reilly et al. 2004). Dies bestätigend gelang uns der Nachweis eines signifikant höheren ADMA-Liquorspiegels am Aufnahmetag bei der DCI-Gruppe im Vergleich zur Non-DCI-Gruppe. Die ADMA- Liquorkonzentration stieg bei allen Patienten in den ersten Tagen an, zeigte aber bei den Patienten mit DCI höhere Werte mit einem Maximum an den Tagen 6 - 9.

4.5 Die Rolle von SDMA bei Patienten mit Subarachnoidalblutungen

Bisher wenig untersucht ist die Rolle von SDMA, dem Isomer von ADMA, in Bezug auf Subarachnoidalblutungen. SDMA wird primär renal über die glomeruläre Filtration eliminiert, die Plasmakonzentration aber vermutlich auch über andere Faktoren beeinflusst (Schwedhelm et al., 2011). Erhöhte Konzentrationen von SDMA reduzieren die Bioverfügbarkeit von NO indem sie die zelluläre Aufnahme von L-Arginin hemmen. Aktuelle Studien zeigten bereits den Effekt und die Relevanz von SDMA bei cerebralen Erkrankungen wie dem Schlaganfall. Es konnte gezeigt werden, dass SDMA und nicht ADMA ein wichtiger Prädiktor für die Gesamtmortalität während der Akutphase des Schlaganfalles und im Langzeit-Follow-Up ist (Schulze et al. 2010, Lüneburg et al. 2012). Darüber hinaus sagt ein Anstieg des SDMA-Plasmaspiegels nach

einem ischämischen Schlaganfall ein schlechtes Outcome voraus (Molnar et al., 2014, Worthmann et al., 2011). Diese Studien zeigten außerdem einen Zusammenhang zwischen den SDMA- und CRP-Spiegeln und somit eine Verknüpfung zwischen einem ischämischen Schlaganfall und einer Entzündung. Eine weitere Studie stellte einen Zusammenhang zwischen SDMA und dem Morbus Alzheimer her (Arlt et al., 2012).

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde in der vorliegenden Studie zusätzlich zu ADMA auch die Konzentration von SDMA im Liquor und im Plasma gemessen. Zum Untersuchungszeitpunkt des hier betrachteten Patientenkollektives gab es keine Untersuchung zwischen dem Zusammenhang von SDMA und Subarachnoidalblutungen.

Mit der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass die SDMA-Konzentration im Liquor zum Zeitpunkt der Aufnahme in der DCI-Gruppe signifikant höher war als in der Non-DCI-Gruppe. Signifikant erhöhte SDMA-Spiegel im Liquor konnten bei allen Patienten mit initial schlechtem neurologischen Status, definiert als Hunt und Hess Stadium 3-5, gefunden werden. Der Unterschied blieb bis zum Tag 6 erhalten. Danach stiegen die Werte in beiden Gruppen so an, dass kein signifikanter Unterschied mehr zu erkennen war.

Vermutet wird, dass SDMA durch eine Verletzungs- und Ischämie-induzierte Proteolyse in den Liquor freigesetzt wird (Brouns et al., 2009).

Im Follow-Up, drei Monate nach dem initialen Ereignis, wiesen Patienten mit einer zu Beginn bereits erhöhten SDMA-Liquorkonzentration ein signifikant schlechteres Outcome auf.

Somit kann mit dem initialen SDMA-Liquorspiegel zwar keine Aussage darüber getroffen werden, ob eine DCI auftritt, die Höhe des SDMA-Liquorspiegels korreliert jedoch mit dem neurologischen Status sowohl bei der Aufnahme als auch im Verlauf und gibt eine Auskunft über die Schwere der cerebralen Schädigung

5. Zusammenfassung

Das Hauptziel dieser Studie war es, die Rolle des endogenen NO-Synthase-Inhibitors NG,NG-Dimethyl-L-Arginin (asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA)), bezogen auf das Auftreten von verzögerten cerebralen Ischämien (DCI) nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung zu untersuchen.

Nach Erhalt des Ethikvotums führten wir eine monozentrische Studie durch. Als vordefinierte primäre kombinierte Endpunkte waren neue cerebrale Ischämien, nachgewiesen mittels cranieller Computertomographie, eine Zunahme der Flussgeschwindigkeit in der A. cerebri media nachgewiesen mittels transkranieller Dopplersonografie sowie die Plasma- und Liquorkonzentrationen von ADMA definiert.

Insgesamt konnten 34 Patienten nach vordefinierten Ein- und Ausschlusskriterien für die Studie gewonnen werden. An den Tagen 0 (Aufnahmetag im Krankenhaus), 3, 6, 9, 12 und 15 wurden Plasmaproben aus dem Blut über einen einliegenden zentralen Venenkatheter (ZVK) und Liquorproben über eine einliegende externe Ventrikeldrainage (EVD) zur Messung von ADMA und darüber hinaus zur Messung von L-Arginin als Vorstufe von ADMA, sowie SDMA als Isomer von ADMA gewonnen. Die Labordiagnostik deckte sich mit der intensivmedizinischen Routine-Diagnostik, so dass ausschließlich eine zusätzliche Probe für die Bestimmung des ADMA-, SDMA- und L-Arginin-Spiegels im Plasma und im Liquor abzunehmen war.

In Abhängigkeit vom Auftreten einer DCI wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt, zum einen in Patienten mit Demaskierungen von vasospastischen Infarkten im CCT während des stationären Aufenthaltes (n = 14 Patienten, DCI-Gruppe) und Patienten ohne Demaskierung (n = 20 Patienten, Non-DCI-Gruppe).

Bei der Untersuchung der Liquor- und Plasmaproben konnte die vorliegende Studie nachweisen, dass bei Patienten mit einer DCI der Liquorspiegel von ADMA von Beginn an signifikant höher war als bei Patienten, die keine DCI entwickelten.

Eine niedrige L-Arginin/ADMA-Plasma-Ratio stellte außerdem einen Risikofaktor für das Auftreten einer DCI dar und sagte ein schlechtes neurologisches Outcome, entsprechend einem Glasgow Outcome Scale < 4, voraus. Das schlechte neurologische

Outcome persistierte am Tag der Entlassung aus dem Krankenhaus, sowie drei Monate später im Follow-Up.

Patienten mit einer L-Arginin/ADMA-Plasma-Ratio unterhalb des Medians erlitten signifikant häufiger eine DCI als Patienten mit einer Ratio oberhalb des Medians. Des Weiteren war ein Zusammenhang zwischen der L-Arginin/ADMA-Ratio und dem Krankheitsverlauf, der Dauer der intensivmedizinischen Behandlung und der Länge der Beatmungsdauer zu verzeichnen.

Patienten mit hohen SDMA-Liquorkonzentrationen wiesen bereits bei der Aufnahme im Krankenhaus einen schlechten neurologischen Status auf, welcher zum Zeitpunkt der Entlassung und auch drei Monate später fortbesteht.

Basierend auf diesen Erkenntnissen rechtfertigt der prognostische Wert von Dimethylargininen eine weitere Untersuchung des behandelten Themas mit größeren Patientenpopulationen. Möglicherweise kann hierdurch das Risiko der Entwicklung einer DCI frühzeitig erkannt und diese im bestmöglichen Fall sogar durch eine spezifische Therapie verhindert werden.

The objective of this study was to evaluate the role of the NO-synthase inhibitor NG,NG-dimethyle-L-arginine (asymmetric dimethylarginine (ADMA)) referred to the development of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage.

After the positive ethics committee vote has been received we started a monocentric study.

The predefined primary endpoint was a new cerebral ischemia, documented via cranial computer tomography, an increase of the cerebral artery flow documented via transcranial Doppler sonography as well as the plasma and cerebrospinal fluid (CSF) concentration of ADMA.

According to inclusion and exclusion criteria 34 patients were recruited for this study. On day 0 (day of admission), 3, 6, 9, 12 and 15 blood samples were taken over a central venous catheter and CSF samples through an external ventricular drain (EVD) to measure ADMA and in addition L-arginine as the precursor of ADMA and SDMA as its isomer. The laboratory diagnostics coincided with intensive care routine diagnostics, so only one extra sample had to be taken to measure ADMA-, SDMA- and L-arginine levels in plasma and CSF.

Depending on the incidence of a delayed cerebral ischaemia (DCI) patients were grouped together in two blocks. On the one hand patients with demasking of DCI in cerebral computer tomography during their stationary stay (n = 14, DCI group) and on the other hand patients without demasking (n = 20, non-DCI group).

The present study could discover a significantly higher ADMA CSF level in patients who later developed a DCI from the beginning on compared to patients without DCI. A lower L-arginine/ADMA plasma ratio was a risk factor for developing a DCI and predicted a poor neurological outcome, corresponding a Glasgow Outcome Scale < 4. The poor neurological outcome persisted on the day of discharge as well as three months later in the follow-up.

Patients with an L-arginine/ADMA plasma ratio below the median suffered a DCI significantly more often than patients with a ratio above the median. Furthermore, there was a correlation between the L-arginine/ADMA ratio with the course of the disease, the duration of intensive care treatment and the length of invasive ventilation.

Patients with high concentrations of SDMA in CSF had a poor neurological state at admission, which persisted until the day of discharge and three month later in the follow-up.

Based on these findings the prognostic value of dimethylarginines justifies an investigation with a larger patient population. Potentially the risk of developing a DCI can be recognized early and can at best be prevented through a specific therapy.

6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
AGXT	Alanin-Glyoxylat-Aminotransferase
ALT	Alanin- Aminotransferase
AMG	Arzneimittelgesetz
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AST	Aspartat- Aminotransferase
ATPasen	Adenosintriphosphatasen
BMI	Body- Mass- Index
BOX	Oxidiertes Bilirubinfragment
CAT	Cationic Acid Transporter = Kationischer Aminosäuretransporter
CCP	cerebral perfusion pressure = cerebraler Perfusionsdruck
CCT	Cranielle Computertomographie
CI	Cerebral infarction = cerebraler Infarkt
CK	Kreatinkinase
CRP	C-reaktives Protein
CSF	Cerebrospinal fluid = Gehirn- und Rückenmarksflüssigkeit
DCI	Delayed cerebral ischemia = verzögerte cerebrale Ischämie
DDAH	Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase
DIND	delayed ischemic neurological deficit = verzögertes ischämisches neurologisches Defizit
DNA	deoxyribonucleic acid = Desoxyribonukleinsäure
DRG	Diagnosis related groups
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase
EVD	Externe Ventrikeldrainage
GCS	Glasgow Coma Scale
GOS	Glasgow Outcome Scale
Hb	Hämoglobin
HDL	High Density Lipoprotein

HPLC	High Pressure Liquid Chromatography = Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie
ICP	Intracranial pressure = intrakranieller Druck
INR	International Normalized Ratio
i.v.	intravenös
LC- MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry = Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie
LDL	Low Density Lipoprotein
MAP	Mean arterial pressure = mittlerer arterieller Druck
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
MMA	Monomethylarginin
MRT	Magnetresonanztomographie
nNOS	Neuronale Stickstoffmonoxidsynthase
NO	Stickstoffmonoxid
OR	Odds Ratio
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PMRT	Protein- Arginin- Methyltransferase
RT	Raumtemperatur
SAB	Subarachnoidalblutung
SNP	Single nucleotid polymorphism = Einzelnukleotidpolymorphismus
TCD	Transkranielle Dopplersonographie
WFNS	World Federation of Neurological Surgeons
ZVK	Zentraler Venenkatheter

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Anatomisches Bild eines Aneurysmas.....	5
Abbildung 2:	Diagnostisches Bild einer Subarachnoidalblutung.....	6
Abbildung 3:	Prozentuales Verteilungsmuster bei Subarachnoidalblutungen im Circulus arteriosus Willisii.....	7
Abbildung 4:	Stenting und Coiling eines komplexen Aneurysmas der A. cerebri posterior.....	21
Abbildung 5:	Strukturformeln von L-Arginin, ADMA und SDMA.....	27
Abbildung 6:	Synthese und Metabolismus von Dimethylargininen.....	29
Abbildung 7:	ADMA-Plasmakonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf	47
Abbildung 8:	SDMA-Plasmakonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf.....	48
Abbildung 9:	ADMA-Liquorkonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf.....	49
Abbildung 10:	SDMA-Liquorkonzentration DCI-Gruppe vs. Non-DCI-Gruppe im Zeitverlauf	50

6.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Klinische Klassifizierung einer Subarachnoidalblutung.....	11
Tabelle 2:	Vasospasmus nach Fisher.....	12
Tabelle 3:	Glasgow Outcome Scale.....	26
Tabelle 4:	Baseline-Charakteristika der Patienten.....	43
Tabelle 5:	Laborwerte des Aufnahmetages.....	46
Tabelle 6:	Prädiktive Marker für die Entwicklung einer DCI.....	51
Tabelle 7:	Multivariate logistische Regressionsmodelle für die delayed cerebral ischemia (DCI).....	53
Tabelle 8:	Multivariate logistische Regressionsmodelle für das neurologische Outcome (GOS < 4) 3 Monate nach SAB.....	55
Tabelle 9:	GOS bei Entlassung von der Intensivstation.....	56
Tabelle 10:	GOS 3-Monats-Follow-Up.....	57

6.4 Materialien und Geräte

6.4.1 Substanzen

Alle Chemikalien waren von p.a.-Qualität, soweit nicht anders angegeben.

Substanz	Hersteller
ADMA	Sigma-Aldrich (München)
Argon- Gas (5,0) für GC-MS	Linde
Acetonitril, gradient grade	
Butanolische Salzsäure	Eigene Herstellung
Deuteriertes (d7-) Arginin	Cambridge Isotope Labs, EURISO- Top,DLM-541
Ethanol, 96-100 %	Merck(Darmstadt)
Kochsalzlösung, isoton	Baxter (Unterschleißheim)
L-Arginin	Sigma-Aldrich (München)
Methanol, gradient grade	
Methanol/Wasser 50:50, pH 5 (gepuffert mit HCOOH/NH ₃)	
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	Eigene Herstellung
Proteinase K	Macherey-Nagel (Düren)
Pufferlösung BQ1	Macherey-Nagel (Düren)

Pufferlösung BQ2	Macherey-Nagel (Düren)
SDMA	Sigma-Aldrich (München)
Wasser, doppelt destilliert (Aqua bidest.)	Aus der hauseigenen Wasseraufbereitungsanlage. Millipore (Schwalbach)
Wasser, gradient grade	Baker (Griesheim)

6.4.2 Verbrauchsmaterial

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Abdeckmatte für MegaBlock 1,2 ml (rund)	Sarstedt
Acetat-Klebefolie	
ADMA®-Kit	DLD Diagnostik (Hamburg)
Blutentnahmeröhrchen (Monovetten)	B.Braun (Melsungen)
Eppendorfgefäße (1,5 ml, 2 ml)	Eppendorf (Hamburg)
Mikrotiterplatte Greiner PP	Fisher Scientific GmbH (Schwerte)
Multi Screen 96-Well-Filterplatten 0.22 µm	Millipore (Molsheim, Frankreich)
NucleoSpin®Blood QuickPure	Macherey-Nagel (Düren)
Pipettenspitzen	B.Braun (Melsungen)

6.4.3 Laborgeräte

Laborgerät	Hersteller
8-Kanal-Transferpipette	Eppendorf (Hamburg)
Astec Chirobiotic T Vorsäule 20 x 1,0 mm	Alltech
ELISA-Lesegerät Safire	Tecan (Männedorf; Schweiz)
HPLC Varian ProStar Pumpe	Varian (Palo Alto, USA)
Kühltruhe (-20°C, -80°C)	Kyrotec (Hamburg)
Nano Drop® 1000 Spectrophotometer	Thermo Fisher Scientific, (Wilmington, USA)
Pipetten, 0,5–10µl / 10–100µl / 100–1000µl / 1000–5000µl	Eppendorf (Hamburg)
Schüttler (Schaukel), Titramax 101	Heidolph (Kelheim)
Thermoblock	Bioblock Scientific (Illkirch Cedex, Frankreich)
Thermomixer, 5436	Eppendorf (Hamburg)
Tischzentrifuge	Eppendorf (Hamburg)
Varian L1200 MS/MS	Varian (Palo Alto, USA)
Vortexer	Heidolph (Kelheim)
Zentrifuge „Centrifuge 5415R“	Eppendorf (Hamburg)
Zentrifuge „Rotina 35R“	Hettich Zentrifugen (Tuttlingen)

6.4.4 Computerprogramme

Programm	Hersteller
Elisa Plate ReaderSunrise™	Tecan Group Ltd. (Männedorf, Schweiz)
Office 2007 (Excel und Word)	Microsoft Corporation (Redmond, USA)
Graph Pad Prism 5.0	GraphPad Software Inc. (La Jolla, USA)
SPSS für Windows (Version 21)	Superior Performing Software Systems Inc. (Chicago, USA)

7. Literaturverzeichnis

Abbasi F, Asagami T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001; 88:1201–1203.

Al Tamimi YZ, Orsi NM, Quinn AC, Shervanti HV, Ross SA. Review of delayed ischemic neurologic deficit following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: historical overview, current treatment, and Pathophysiology. *World Neurosurg* 2010; 73:654-667.

Arlt S, Schwedhelm E, Kölsch H, Jahn H, Linnebank M, Smulders Y, Jessen F, Böger RH, Popp J. Dimethylarginines, homocysteine metabolism and cerebrospinal fluid markers for Alzheimer`s disease. *J Alzheimers Dis* 2012; 31(4):751-758.

Bederson JB, Connolly ES, Batjer HH et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2009; 40:994-1025.

Bederson JB, Levy AL, Ding WH et al. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1998; 42:352-60; discussion 60-2.

Bengtsson C, Ahlqwist M, Andersson K, Björkelund C, Lissner L, Söderström M. The Prospective Population Study of Women in Gothenburg, Sweden, 1968-69 to 1992-93. A 24-year follow-up study with special reference to participation, representativeness, and mortality. *Scand J Prim Health Care* 1997 Dec; 15(4):214-219.

Bergström A, Staalsø JM, Romner B, Olsen NV. Impaired endothelial function after aneurysmal subarachnoid haemorrhage correlates with arginine: Asymmetric dimethylarginine ratio. *Br J Anaesth* 2014 Feb; 112(2):311-318.

Bode-Böger SM, Böger RH, Frölich JC. Antiateriosklerotische Wirkungen durch Stimulation der endogenen NO-Synthese. *Der Internist* 1997 Jan; 38(5):461-465.

Bode-Böger SM, Scalera F, Ignarro LJ. The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther* 2007 Jun; 114(3):295-306.

Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98:1842-1847.

Böger RH, Bode-Böger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:2287-2295.

Böger RH, Diemert A, Schwedhelm E, Lüneburg N, Maas R, Hecher K. The Role of Nitric Oxide Synthase Inhibition by Asymmetric Dimethylarginine in the Pathophysiology of Preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2010; 69:1-13.

Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation* 2009 Mar 31; 119(12):1592-1600.

Briganti F, Leone G, Marseglia M, Mariniello G, Caranci F, Brunetti A, Maiuri F. Endovascular treatment of cerebral aneurysms using flow-diverter devices: A systematic review. *Neuroradiol J* 2015 Aug; 28(4):365-75.

Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, et al. Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage. *Stroke* Jul 1994; 25(7):1342-1347.

Brouns R, Marescau B, Possemiers I, Sheorajpanday R, De Deyn PP. Dimethylarginine levels in cerebrospinal fluid of hyper acute ischemic stroke patients are associated with stroke severity. *Neurochem Res* 2009 Sep; 34(9):1642-1649.

Budohoski KP, Czosnyka M, Kirkpatrick PJ, Smielewski P, Steiner LA, Pickard JD. Clinical relevance of cerebral autoregulation following subarachnoid haemorrhage. *Nat Rev Neurol* 2013; 9(3):152-163.

Bulsara KR, McGirt MJ, Liao L. Use of the peak troponin value to differentiate myocardial infarction from reversible neurogenic left ventricular dysfunction associated with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2003; 98:524-528.

Cheng JW, Baldwin SN. L-arginine in the management of cardiovascular diseases. *Ann Pharmacother* 2001 Jun; 35(6):755-764.

Choi AH, Ko SB, Chen H, Gilmore E, Carpenter AM, Lee D, Claassen J, Mayer SA, Schmidt JM, Lee K, Connelly ES, Paik M, Badjatia N. Acute Effects of Nimodipine on Cerebral Vasculature and Brain - Metabolism in High Grade Subarachnoid Hemorrhage Patients. *Neurocrit Care* 2012 Jun; 16 (3):363-367.

Ciurea AV, Palade C, Voinescu D, Nica DA. Subarachnoidal hemorrhage and cerebral vasospasm – literature review. *J Med Life* 2013; 6(2):120-125.

Connolly ES Jr, Rabinstein AA, Carhuapoma JR, Derdeyn CP, Dion J, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for the healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2012; 43(6):1711-1737.

Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Sep; 20(9):2032-2037.

Cushing H. Concerning a definite regulatory mechanism of the vasomotor centre which controls blood pressure during cerebral compression. *Bull Johns Hopkins Hosp.*; Vol XII, No. 126, page 1.

Czorlich P, Skevas C, Knospe V, Vettorazzi E, Richard G, Wagenfeld L, Westphal M, Regelsberger J. Terson syndrome in subarachnoid hemorrhage, intracerebral hemorrhage and traumatic brain injury. *Neurosurg Rev.* 2015 Jan; 38(1): 139-36.

De Oliveira Manoel AL, Mansur A, Murphy A, et al.. Aneurysmal subarachnoid haemorrhage from a neuroimaging perspective. *Crit Care* 2014; 18:557.

- Doczi T, Joo F, Adam G, Bozoky B, Szerdahelyi P. Blood-brain barrier damage during the acute stage of subarachnoid hemorrhage, as exemplified by a new animal model. *Neurosurgery* 1986; 18:733-739.
- Dorhout Mees SM, Rinkel GJ, Feigin VL, Algra A, van den Bergh WM, Vermeulen M, van Gijn J. Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (3):CD000277.
- Dorsch N. A clinical review of cerebral vasospasm and delayed ischaemia following aneurysm rupture. *Acta Neurochir Suppl* 2011; 110(Pt1): 5-6.
- Dorsch NWC, King MT. A review of cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid haemorrhage: I. incidence and effects. *J Clin Neurosci* 1994; 1:19-26.
- Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. *Gray's Anatomie für Studenten* 2007; 816.
- Dreier JP. The role of spreading depression, spreading depolarization and spreading ischemia in neurological disease. *Nat Med* 2011; 17(4):439-447.
- Feigin VL, Rinkel GJ, Lawes CM, Algra A, Bennett DA, et al. Risk factors for subarachnoid haemorrhage: an updated systemic review of epidemiological studies. *Stroke* 2005; 36(12):2773-2780.
- Ferguson S, Macdonald RL. Predictors of cerebral infarction in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 2007; 60(4):658-667.
- Fiorella D, Molyneux A, Coon A, Szikora I, Saatci I, Baltacioglu F, Sultan A, Arthur A. Demographic, procedural and 30-day safety results from the WEB Intra-saccular Therapy study (WEB-IT). *J Neurointerv Surg* 2017 Dec; 9(12):1191-1196.
- Findlay JM, Nisar J, Darsaut T. Cerebral Vasospasm: A Review. *Can J Neurol Sci* 2016; 43(1):15-32.

Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery* 1980; 6:1-9.

Friedman JA, Goerss SJ, Meyer FB et al. Volumetric quantification of Fisher grade 3 aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A novel method to predict symptomatic vasospasm on admission computerized tomography scans. *J Neurosurg* 2002; 97:401-407.

Germanwala AV, Huang J, Tamargo RJ. Hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Clin N Am* 2010; 21:263-270.

Van Gijn J, Rinkel GJE. Subarachnoid hemorrhage. *Lancet* 2007; 369:306-318.

Grosset DG, Straiton J, du TM, Bullock R. Prediction of symptomatic vasospasm after subarachnoid hemorrhage by rapidly increasing transcranial Doppler velocity and cerebral blood flow changes. *Stroke* 1992; 23(5):674-9.

Guglielmi G, Vinuela F, Sepetka I, Macellari V. Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 1: electrochemical basis, technique, and experimental results. *J Neurosurg* 1991; 75:1-7.

Guo LM, Zhou HY, Xu JW, Wang Y, Qiu YM, Jiang JY. Risk factors related to aneurysmal rebleeding. *World Neurosurg* 2011; 76(3-4):292-298.

Hasan D, Wijdicks EF, Vermeulen M. Hyponatremia is associated with cerebral ischemia in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Ann Neurol* 1990; 27:106-108.

Heuer GG, Smith MJ, Elliott JP, Winn HR, LeRoux PD. Relationship between intracranial pressure and other clinical variables in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2004; 101(3):408-16.

Holle R, Happich M, Löwel H, Wichmann HE; MONICA/KORA Study Group: KORA- a research platform for population based health research. *Gesundheitswesen* 2005 Aug; 67 Suppl 1:19-25.

Huang LT, Hsieh CS, Chang KA, Tain YL. Roles of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in pregnancy and fetal programming. *Int J Mol Sci* 2012 Nov 9; 13(11):14606-14622.

Hudson CL, Zemlin AE, Ipp H. The cardiovascular risk marker asymmetric dimethylarginine is elevated in asymptomatic, untreated HIV-1 infection and correlates with markers of immune activation and disease progression. *Ann Clin Biochem* 2014 Sep; 51(Pt 5):568-75.

Hufschmidt A, Lücking CH, Rauer S. *Neurologie compact* 5. Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag 2009; 88-95.

Hunt WE, Hess RM. Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. *J Neurosurg* Jan 1968; 28(1):14-20.

Huttner H et al., intrakranieller Druck (ICP), S1-Leitlinie, 2018 in: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.), Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Online: www.dgn.org/leitlinien (abgerufen 29.03.2020).

Ignarro L. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53:503-514.

Ingawa T, Kamiya K, Ogasawara H, Yano T. Rebleeding of ruptured intracranial aneurysms in the acute stage. *Surg Neurol* 1987; 28:93.

Jennett B, Bond M. Assessment of outcome after severe brain damage. *Lancet* 1975 Mar 1; 1 (7905): 480-484.

Jung CS, Iuliano B, Harvey-White J, Espey M, Oldfield EH, Pluta RM. Association between cerebrospinal fluid levels of asymmetric dimethyl-L-arginine, an endogenous inhibitor of endothelial nitric oxide synthase, and cerebral vasospasm in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2004; 101:836-842.

Jung CS, Lange B, Zimmermann M et al. The CSF concentration of ADMA, but not ET-1, is correlated with the occurrence and severity of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Lett* 2012; 524:20-24.

Jung CS, Oldfield EH, Harvey-White J, Espey MG, Zimmermann M, Seifert V, Pluta RM. Association of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase with cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2007 Nov; 107(5):645-650.

Kakimoto Y, Akazawa S. Isolation and identification of N-G, N-G- and N-G,N'-G-dimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem* 1970 Nov 10; 245(21):5751-5758.

Kanamaru K, Suzuki H, Taki W. Cerebral infarction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl* 2016; 121:167-172.

Kannel WB, Feinleib M, Garrison RJ, McNamara PM, Castelli WP. An investigation of coronary heart disease in families. The Framingham Offspring Study. *Am J Epidemiol* 1979 Sep; 110(3):281-290.

Kasuya H, Onda H, Yoneyama T, Sasaki T, Hori T. Bedside monitoring of circulating blood volume after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2003; 34(4):956-960.

Keyrouz SG, Diringier MN. Clinical review: Prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Crit Care* 2007; 11(4):220.

Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Böger SM, Cooke JP, Fliser D. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function--a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2006 Sep; 21(9):2446-2451.

Kumar G, Shahripour RB, Harrigan MR. Vasospasm on transcranial Doppler is predictive of delayed cerebral ischemia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and metaanalysis. *J Neurosurg* 2015; 23:1-8.

Lee KS, Lee SE, Choi JY, Gho YR, Chae MK, Park EJ, Choi MH, Hong, JM. Useful Computed Tomography Score for Estimation of Early Neurologic Outcome in Post-Cardiac Arrest Patients With Therapeutic Hypothermia. *Circ J* 2017; 81(11):1628-1635.

Lindegaard KF. The role of transcranial Doppler in the management of patients with subarachnoid haemorrhage--a review. *Acta Neurochir Suppl* 1999; 72:59-71.

Lindegaard KF, Nornes H, Bakke SJ, Sorteberg W, Nakstad P. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage investigated by means of transcranial Doppler ultrasound. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1988; 42:81-4.

Lüneburg N, Lieb W, Zeller T et al. Genome-wide association study of L-arginine and dimethylarginines reveals novel metabolic pathway for symmetric dimethylarginine. *Circ Cardiovasc Genet* 2014 Dec; 7(6):864-872.

Lüneburg N, van Holten RA, Töpper RF, Schwedhelm E, Maas R, Böger RH. Symmetric dimethylarginine is a marker of detrimental outcome in the acute phase after ischemic stroke: role of renal function. *Clin Sci* 2012 Feb; 122 (3):105-111.

Maas R, Xanthakis V, Polak JF, Schwedhelm E, Sullivan LM, Benndorf R, Schulze F, Vasan RS, Wolf PA, Böger RH, Seshardi S. Association of the Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor ADMA With Carotid Artery Intimal Media Thickness in the Framingham Heart Study Offspring Cohort. *Stroke* 2009; 40:2715-2719.

MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russel RJ, Hodson H, Whitley GSJ, Vallance P. Regulation of nitric oxide synthesis by di-methylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119:1533–1540.

Macdonald RL. Delayed neurological deterioration after subarachnoid haemorrhage. *Nat Rev Neurol* 2014; 10(1):44-58.

Macdonald R, Higashida R, Keller E et al. Clazosentan, an endothelin receptor antagonist, in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage undergoing surgical clipping: A randomized, double-blind placebo-controlled phase 3 trial (CONSCIOUS-2). *Lancet Neurol* 2011; 10(7): 618-625.

Macdonald R, Higashida R, Keller E, Mayer S, Molyneux A et al. Randomized trial of clazosentan in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage undergoing endovascular coiling. *Stroke* 2012; 43(6):1463-9.

Macdonald R, Kassell NF, Mayer S, Ruefenacht D, Schmiedke P, Weidauer S, Frey A, Roux S, Pasqualin A. Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1): randomized, double-blind placebo-controlled phase 2 dose- finding trial. *Stroke* 2008, Nov; 39(11):3015-21.

MacDonald RL, Pluta RM, Zhang JH. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: the emerging revolution. *Nat Clin Pract Neurol* 2007; 3(5):256-263.

März W, Scharnagl H, Winkler K et al. Low-density lipoprotein triglycerides associated with low grade systemic inflammation, adhesion molecules and angiographic coronary artery disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. *Circulation* 2004 Nov 9; 110: 3068-3074.

Martin SC, Teo MK, Young AM, et al..Defending a traditional practice in the modern era: the use of lumbar puncture in the investigation of subarachnoid hemorrhage. *Br J Neurosurg* 2015; 29:799-803.

Molnar T, Pusch G, Papp V, Feher G, Szapary L, Biri B, Nagy L, Keki S, Illes Z. The L-arginine pathway in acute ischemic stroke and severe carotid stenosis: Temporal profiles and association with biomarkers and outcome. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2014 Sep; 23(8):2206-2214.

Molyneux A, Kerr R, Stratton I, et al. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. *Lancet* 2002 Oct 26; 360(9342):1267-1274.

Moppett IK, Mahajan RP. Transcranial Doppler ultrasonography in anaesthesia and intensive care. *Br J Anaesth.* 2004 Nov; 93(5):710-24.

Morales HG, Kim M, Vivas EE, Villa-Uriol MC, Larrabide I, Sola T, Guimaraens L and Frangi AF. How do coil configuration and packing density influence intra-aneurysmal hemodynamics?. *American Journal of Neuroradiology* 2011, Nov; 32(10):1935-1941.

Müller D, Müller O. Neurointensivmedizin: aneurysmatische Subarachnoidalblutung – state of the art. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2019; 87(03): 192-204.

Muroi C, Seule M, Mishima K, Keller E. Novel treatments for vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Curr Opin Crit Care* 2012; 18:119-126.

Naqvi J, Yap KH, Ahmad G, Ghosh J: Transcranial Doppler ultrasound: a review of the physical principles and major applications in critical care. *Int J Vasc Med* 2013; 2013:629378.

Neulen A, Greke C, Prokesch E, König J, Wertheimer D, Giese A. Image guidance to improve reliability and data integrity of transcranial Doppler sonography. *Clin Neurol Neurosurg* 2013 Aug; 115(8):1382-8.

Neulen A, Stein M, Pantel T, Berres M, Brockmann C, Giese A, Kantelhardt SR. Image-guided transcranial doppler ultrasound for monitoring posthemorrhagic vasospasms of intratentorial arteries: a feasibility study. *World Neurosurg* 2020 Feb; 134:284-291.

Nicoletto HA, Burkman MH. Transcranial Doppler series part II: performing a transcranial Doppler. *Am J Electroneurodiagnostic Technol.* 2009 Mar; 49(1):14-27.

Nornes H, Magnaes B. Intracranial pressure in patients with ruptured saccular aneurysm. *J Neurosurg* 1972; 36:537.

Paik WK, Kim S. Protein methylase I. Purification and properties of the enzyme. *J Biol Chem* 1968; 243:2108-2114.

Papanagiotou P, Roth C, Korner H, Reith W. Diagnostic imaging of subarachnoid hemorrhage. *Der Radiologe* 2011; 51(2):100-105.

Park MJ, Oh KS, Nho JH, Kim GY, Kim DI. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) treatment induces apoptosis in cultured rat mesangial cells via endoplasmic reticulum stress activation. *Cell Biol Int* 2016 Jun; 40(6):662-670.

Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev.* 1990 summer; 2(2):161-92.

Pekarova M, Kubala L, Martiskova H, Bino L, Twarogova M, Klinke A, Rudolph TK, Kuchtova Z, Kolarova H, Ambrozova G, Kuchta R, Kadlec J, Lojek A. Asymmetric dimethylarginine regulates the lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in macrophages by suppressing the activation of NF-kappaB and iNOS expression. *Eur J Pharmacol* 2013 Aug 5; 713(1-3):68-77.

Petridis AK, Kamp MA, Cornelius JF, Beez T, Beseoglu K, Turowski B, Steiger HJ. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage- diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2017; 114:226-36.

Pluta R. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis and proposed treatment. *Pharmacol Therap* 2005; 105:23-56.

Pluta R, Thompson B, Dawson T, Snyder SH, Brooke RJ, Oldfield EH. Loss of nitric oxide synthase immunoreactivity in cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 1996; 84:648-654.

Proust F, Hannequin D, Langlois O, Freger P, Creissard P. Causes of morbidity and mortality after ruptured aneurysm surgery in a series of 230 patients. The importance of control angiography. *Stroke* 1995 Sep; 26(9):1553-1557.

Reilly C, Amidei C, Tolentino J, Jahromi BS, Macdonald RL. Clot volume and clearance rate as independent predictors of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2004; 101:255-261.

Rinkel GJ, Algra A. Long-term outcomes of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Lancet Neurol* 2011; 10:349-356.

Rose MJ: Aneurysmal subarachnoid hemorrhage: An update on the medical complications and treatments strategies seen in these patients. *Curr Opin Anaesthesiol* 2011; 24:500–507.

De Rooij NK, Linn FH, van der Plas JA, Algra A, Rinkel GJ: Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; 78(12):1365-1372.

Van der Schaaf I, Algra A, Wermer M, Molyneux A, Clarke MJ, van Gijn J, Rinkel GJE. Endovascular coiling versus neurosurgical clipping for patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 Oct 19; (4):CD003085.

Schepers E, Barreto DV, Liabeuf S, Glorieux G, Eloit S, Barreto FC, Massy Z, Vanholder R. Symmetric dimethylarginine as a proinflammatory agent in chronic kidney disease. European Uremic Toxin Work Group (EUTox). *Clin J Am Soc Nephrol* 2011 Oct; 6(10):2374-2383.

Schepers E, Glorieux G, Dhondt A, Leybaert L, Vanholder R. Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via store-operated calcium influx in monocytes. *Nephrol Dial Transplant* 2009 May; 24(5):1429-1435.

Schild (Hrsg.). *Angiographie*. Georg Thieme Verlag, 2. Aufl. Stuttgart 2003.

Schöniger SA, Schneider G. *Physiologie und Pathophysiologie*. In: Kochs E, Adams HA, Spieß C (Hrsg.). *Anästhesiologie*. Georg Thieme Verlag, 2. Aufl. Stuttgart/New York 2008; 260-275.

Schünke M, Schulte E, Schumacher U. *Prometheus. LernAtlas der Anatomie*. 2. Aufl. Stuttgart 2007; 62.

Schulze F, Carter AM, Schwedhelm E, Ajjan R, Maas R, von Holten RA, Atzler D, Grant PJ, Böger RH. Symmetric dimethylarginine predicts all-cause mortality following ischemic stroke. *Atherosclerosis* 2010 Feb; 208(2):518-523.

Schwedhelm E, Böger RH. The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. *Nat Rev Nephrol* 2011 May; 7(5):275-285.

Schwedhelm E, Maas R, Tan-Andresen J, Schulze F, Riederer U, Böger RH High throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma *J Chromatogr* 2007; 851: 211-219.

Shirakawa T, Kako K, Shimada T, Nagashima Y, Nakamura A, Ishida J, Fukamizu A. Production of free methylarginines via the proteasome and autophagy pathways in cultured cells. *Mol Med Rep* 2011 Jul-Aug; 4(4):615-620.

Siasios I, Kapsalaki EZ, Fountas KN. Cerebral vasospasm pharmacological treatment: an update. *Neurol Res Int* 2013; 2013:571328.

Soppi V, Karamanakos PN, Koivisto T, Kurki MI, Vanninen R, et al. A randomized outcome study of enteral versus intravenous nimodipine in 171 patients after acute aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg* 2012; 78(1-2):101-109.

Spetzler RF, McDougall CG, Zabramski JM, Albuquerque FC, Hills NK, et al. The Barrow Ruptured Aneurysm Trial: 6-year results. *J Neurosurg* 2015; 123(3):609-617.

Staaalsø JM, Bergström A, Edsen T, Weikop P, Romner B, Olsen NV. Low plasma arginine: asymmetric dimethyl arginine ratios predict mortality after intracranial aneurysm rupture. *Stroke* 2013 May; 44(5):1273-1281.

Steinmetz H, Berkefeld J, Forsting M, Hamann G, Remonda L, Schackert G, Schmutzhard E, Seifert V, Steiger HJ. Subarachnoidalblutung (SAB). Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Deutsche Gesellschaft für Neurologie 2012. AWMF-Registernummer: 030/07.

Steklacova A, Bradac O, Charvat F, De LP, Benes V. "Clip first" policy in management of intracranial MCA aneurysms: Single-centre experience with a systematic review of literature. *Acta Neurochir* 2016 Mar; 158(3):533-546.

Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Böger RH, Bode-Böger SM et al. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33:652-658.

Sviri GE, Ghodke B, Britz GW, Douville CM, Haynor DR, Mesiwala AH, et al.: Transcranial Doppler grading criteria for basilar artery vasospasm. *Neurosurgery* 2006; 59(2):360-6.

Taschner CA, Chapot R, Costalat V, Machi P, Courthéoux P, Barreau X et al.. GREAT- a randomized controlled trial comparing HydroSoft/HydroFrame and bare platinum coils for endovascular aneurysm treatment: procedural safety and core-lab-assessedangiographic results. *Neuroradiology* 2016 Aug; 58(8):777-86.

Teasdale GM. A universal subarachnoid haemorrhage scale: report of a committee of the World Federation of Neurosurgical Societies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51:1457.

Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet* 1974; 2(7872):81-84.

Teerlink T, Luo Z, Palm F, Wilcox CS. Cellular ADMA: Regulation and action. *Pharmacol Res* 2009 Dec; 60(6):448-460.

Tess BH, Glenister HM, Rodrigues HC, Wagner MB. Incidence of hospital-acquired infection and length of hospital stay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993 Feb; 12(2):81-6.

Theilen H, Leimert M. Diagnose und Therapie der atraumatischen Subarachnoidalblutung. Deutsche Akademie für anästhesiologische Fortbildung (DAAF) – Refresher Course Nr.37/2011, 93-108.

Uhlenbrock D, Reinartz J, Rohde S. Abb. B-9.41: Lokalisation und Verteilung der häufigsten Aneurysmen. In: Reiser M, Kuhn F, Debus J (Hg.). *Duale Reihe Radiologie*. 4. Aufl. Stuttgart 2017, S. 634.

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20:60-62.

Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004 Jun; 24(6):1023-1230.

Valvassori G, Mafee M, Becker M. *Imaging of the Head and Neck*. 2. Aufl. Stuttgart 2004.

Veldeman M, Hollig A, Clusmann H, Stevanovic A, Rossaint R, Coburn M. Delayed cerebral ischemia prevention and treatment after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: a systemic review. *Br J Anaesth* 2016 Jul; 117(1):17-40

Vergouwen MD, Vermeulen M, van Gijn J, Rinkel GJ, Wijdicks EF, Muizelaar JP, Mendelow AD, Juvela S, Yonas H, Terbrugge KG, Macdonald RL, Diringner MN, Broderick JP, Dreier JP, Roos YB. Definition of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage as an outcome event in clinical trials and observational studies: proposal of a multidisciplinary research group. *Stroke* 2010 Oct; 41(10):2391-5.

Vlak M, Rinkel G, Greebe P, van der Bom J, Algra A. Trigger factors and their attributable risk for rupture of intracranial aneurysms – A case cross-over study. *Stroke* 2011; 42:1878-1882.

Vora YY, Suarez-Almazor M, Steinke DE, Martin ML, Findlay JM: Role of transcranial Doppler monitoring in the diagnosis of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1999; 44(6): 1237-47.

Westermaier T, Pham M, Stetter C, Willner N, Solymosi L, Ernestus RI, Vince GH, Kunze E. Value of transcranial doppler, perfusion-CT and neurological evaluation to forecast secondary ischemia after aneurysmal SAH. *Neurocrit Care* 2014; 20:406-412.

Wild PS, Schnabel RB, Lubos E, Zeller T, Sinning CR, Keller T, Tzikas S, Lackner KJ, Peetz D, Rupprecht HJ, Bickel C, Morgenthaler NG, Papassotiriou J, Tiret L, Münzel T, Blankenberg S. Midregional proadrenomedullin for prediction of cardiovascular events in coronary artery disease: results from the AtheroGene study. *Clin Chem* 2012 Jan; 58(1):226-236.

Worthmann H, Chen S, Martens-Lobenhoffer J, Li N, Deb M, Tryc AB, Goldbecker A, Dong Q, Kielstein JT, Bode-Böger SM, Weissenborn K. High plasma dimethylarginine levels are associated with adverse clinical outcome after stroke. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18(9):753-761.

Wu TC, Tsui YK, Chen TY, Lin CJ, Wu TC, Tzeng WS. Rebleeding of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in computer tomography angiography: risk factor, rebleeding pattern, and outcome analysis. *J Comput Assist Tomogr* 2012; 36(1):103-108.

Zhao L, Zhang L, Zhang X, Li Z, Tian L, Wang J: An analysis of 1256 cases of sporadic ruptured cerebral aneurysm in a single Chinese institution. *PloS One* 2014 Jan 15; 9(1):e85668.

O. V. The World Health Organization MONICA Project/ monitoring trends and determinants in cardiovascular disease: a major international collaboration. *J Clin Epidemiol* 1988; 41(2):105-114.

8. Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Rainer Böger für die Möglichkeit bedanken, im Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie diese Arbeit anfertigen zu können sowie für die Unterstützung beim Verfassen dieser Promotion.

Besonderer Dank darüber hinaus gilt Herrn Dr. Daniel Appel für die umfassende und uneingeschränkte Betreuung und Unterstützung bei der praktischen Arbeit, beim Auswerten und Zusammentragen der Ergebnisse sowie für die Anregungen zum Verfassen dieser Promotion.

Ich danke Anna Steenpaß, Mariola Kastner, Cornelia Wörmann und Prof. Dr. Edzard Schwedhelm, sowie den anderen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Institutes für Klinische Pharmakologie und Toxikologie für die praktische Unterstützung, das hervorragende Arbeitsklima und ihre kontinuierliche Hilfsbereitschaft.

Auch Herrn PD Dr. Patrick Czorlich und Herrn Prof. Dr. Manfred Westphal aus der Abteilung für Neurochirurgie möchte ich für die Zusammenarbeit im Zusammenhang mit dieser Promotion sowie für die kritische Durchsicht der Arbeit aus neurochirurgischer Sicht danken.

Weiterer Dank gilt den Kolleginnen und Kollegen der neurochirurgischen und neurologischen Intensivstation des UKE für die Anfertigung von transkraniellen Dopplersonographien und die Auswertung der Befunde.

Besonderer Dank gilt des Weiteren meinen Eltern, Manfred und Elvira Seeberger, meiner Schwester Isabel Seeberger, meinem Ehemann Maximilian Steinmeister und meiner Tochter Sophie Charlotte Steinmeister. Durch ihre Unterstützung haben sie mir das Studium und diese Promotion erst ermöglicht.

9. Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

10. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: