

Die Rolle von TGF- β 1 und TGF- β 2 beim posthämorrhagischen Hydrozephalus

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Ioannis Dimitriou
aus Menden (Sauerland)

Gießen 2007

Aus dem Zentrum für Neurologie und Neurochirurgie
Neurochirurgische Klinik
Direktor: Prof. Dr. med. Dieter-Karsten Böker
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. W. Deinsberger

Gutachter: Prof. Dr. med. B. Neubauer

Tag der Disputation: 26.05.08

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Subarachnoidalblutung.....	3
1.2	Intrazerebrale Blutung.....	8
1.3	Der posthämorrhagische Hydrozephalus	10
1.4	Zytokine.....	15
1.4.1	TGF- β -Superfamilie	16
1.4.2	TGF- β 1.....	18
1.4.3	TGF- β 2.....	19
1.4.4	TGF- β 1 und - β 2 beim posthämorrhagischen Hydrozephalus	20
1.5	Albumin beim posthämorrhagischen Hydrozephalus	22
1.6	Fragestellung.....	23
2	Material und Methodik.....	25
2.1	Aufbau der Studie.....	25
2.2	Patientenkollektiv und Patientengruppen	26
2.3	Proben.....	28
2.4	Material	29
2.4.1	Substrate und Puffer des TGF- β 1-ELISA.....	29
2.4.2	Substrate und Puffer des TGF- β 2-ELISA.....	30
2.4.3	Substrate und Puffer des Albumin BN TM II System	31
2.4.4	Chemikalien und Reagenzien	32
2.4.5	Gerätschaften.....	33
2.5	ELISA (Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay)	35
2.5.1	Testprinzip.....	35
2.5.2	TGF- β 1-ELISA	37
2.5.3	TGF- β 2-ELISA	42
2.5.4	Standardkurve der TGF- β 1- und TGF- β 2-ELISA	45
2.6	Messungen des Albumins	47
2.6.1	Testprinzip des Lasernephelometers BN TM II System.....	47
2.7	Statistische Methoden.....	48

3	Ergebnisse.....	49
3.1	Analyse des Patientenkollektivs	49
3.2	Ergebnisse der Zytokine TGF- β 1 und - β 2.....	55
3.2.1	TGF- β 1 im Blut.....	56
3.2.2	TGF- β 1 im Liquor cerebrospinalis.....	59
3.2.3	TGF- β 2 im Blut.....	64
3.2.4	TGF- β 2 im Liquor cerebrospinalis.....	66
3.3	Ergebnisse des Albumins.....	69
3.4	Korrelationen.....	74
4	Diskussion	77
4.1	Grundeigenschaften des Patientenkollektivs.....	77
4.2	TGF- β 1 und Albumin.....	79
4.2.1	TGF- β 1 im Blut.....	79
4.2.2	TGF- β 1 und Albumin im Liquor cerebrospinalis.....	80
4.3	TGF- β 2.....	82
4.4	Schlussfolgerungen.....	83
5	Zusammenfassung.....	85
6	Abstract.....	87
	Literaturverzeichnis	89
	Abkürzungsverzeichnis	101
	Abbildungsverzeichnis	103
	Tabellenverzeichnis	105
	Erklärung.....	107
	Danksagung.....	109
	Lebenslauf	111

1 Einleitung

Die Subarachnoidalblutung (SAB) und die intrazerebrale Blutung (ICB) sind aufgrund ihrer hohen Morbidität und Mortalität gefürchtete intrakranielle Blutungstypen. Sie führen oftmals entweder direkt blutungsbedingt oder durch eine Vielfalt von Komplikationen wie z.B. dem arteriellen Vasospasmus, der Nachblutung, operativen Komplikationen, dem akuten oder posthämorrhagischen Hydrozephalus (HZ) (Angelopoulos M et al., 1995; Auer LM et al., 1999; Dorai Z et al., 2003; Gruber A et al., 1998 und 1999; Roos YB et al., 1995; Säveland H et al., 1992) zum Tode oder zu schweren bleibenden körperlichen und geistigen Behinderungen (Hop JW et al., 1997; Rabinstein AA et al., 2004; Stern M et al., 2006). Dabei nehmen sowohl der akute, als auch der chronische posthämorrhagische HZ eine besondere Stellung ein (Diringer MN et al., 1998; Passero S et al., 2002; Brisman J et al., 2004; Dehdashti AR et al., 2004; Dorai Z et al., 2003; Yoshioka H et al., 2000).

Neben den seit langer Zeit bekannten klinisch erhebbaren Einflussfaktoren in der Entstehung des shuntpflichtigen posthämorrhagischen HZ sind in den letzten beiden Jahrzehnten verschiedene Mediatoren, sogenannte Zytokine, in den Vordergrund getreten. Das Polypeptid Transforming Growth Factor- β (TGF- β) mit seinen drei bei Säugetieren vorkommenden Isoformen, die sich zwar in ihren biochemischen Eigenschaften ähneln, jedoch in ihrer Lokalisation, Funktion und Bedeutung unterscheiden, scheint dabei eine wesentliche Rolle in der dauerhaften Hydrozephalusentstehung einzunehmen (Buisson A et al., 2003; Dhandapani KM et al., 2003; Flood C et al., 2001; Hayashi N et al., 2000; Heep A et al., 2004; Moinuddin SM et al., 2000; Takizawa T et al., 2001).

Das untersuchte Zytokin TGF- β 1 wird aus den korpuskulären Bestandteilen des intrakraniell ausgetretenen Blutes freigesetzt. Weiterhin ist eine Konzentrationssteigerung des TGF- β 1 durch Freisetzung aus Makrophagen, Astrozyten und anderen Zellen, sowie die Sekretion des Polypeptids aus den Zellen der Meningen und des Plexus choroideus infolge einer Gewebstraumatisierung beschrieben (Flood C et al., 2001; Logan A et al., 1994 und 1999; Takizawa T et al., 2001). Die erhöhten TGF- β 1-Werte im Liquor cerebrospinalis können die Fibrogenese, die Narbenbildung und andere gewebliche Umbauprozesse fördern, wodurch die Entwicklung von Liquorzirkulationsstörungen und somit auch eines

shuntpflichtigen HZ begünstigt ist (Berry M et al., 1999; Border WA et al., 1992; Logan A et al., 1994 und 1999; Sajanti J et al., 2001). Ähnliche Einflüsse scheint das TGF- β 2 im zentralen Nervensystem (ZNS) bei der Entstehung eines posthämorrhagischen HZ auszuüben. Dabei nimmt es eine regulierende Rolle im neuronalen und glialen Zellüberleben und –untergang, sowie der Zellmigration und -differenzierung ein (Böttner M et al., 2000; Flanders C et al., 1991; Logan A et al., 1999; Stoll G. et al., 2004).

Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurden in unserer Studie bei Patienten nach stattgehabter SAB oder ICB Blut- und Liquorproben gewonnen, um den Gehalt an TGF- β 1, TGF- β 2 und Albumin, als Marker für die Blutmenge im Ventrikelsystem, zu messen und somit „Die Rolle von TGF- β 1 und – β 2 beim posthämorrhagischen Hydrozephalus“ zu erfassen.

1.1 Subarachnoidalblutung

Die Inzidenz der akuten SAB, die innerhalb Europas deutliche Schwankungen aufweist, liegt in den meisten westlichen Bevölkerungen bei ca. sechs bis zehn Fällen pro 100.000 Einwohnern jährlich (Broderick JP et al., 1993; Maira G et al., 2006; Linn FHH et al., 1996; Stern M et al., 2006). Die Gesamtmortalität beträgt dabei etwa 45% bei beschriebenen Schwankungen zwischen 32% und 67% (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006; Hop JW et al., 1997). Dabei weisen etwa 30% der Überlebenden im Verlauf körperliche und geistige Behinderungen auf (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006; Hop JW et al., 1997). Frauen sind gegenüber Männern mit einem Verhältnis von drei zu zwei häufiger betroffen, zudem findet sich eine Häufung der Blutung in der 5. und 6. Lebensdekade (Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer; Masuhr KF, Neumann M, 5. Auflage, 2005, Thieme). Bei etwa 80% der akuten und spontanen SAB stammt das Blut, welches sich in den mit Liquor cerebrospinalis gefüllten Raum zwischen Arachnoidea und Pia mater ergießt, aus rupturierten Aneurysmata hirnersorgender Arterien des Circulus arteriosus cerebri (Willisii) (Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer; Masuhr KF, Neumann M, 5. Auflage, 2005, Thieme). Die Prävalenz für intrakranielle Aneurysmata ist dabei nicht eindeutig geklärt. Sie schwankt in Abhängigkeit des jeweiligen Studiendesigns zwischen 0,2% und 9% (Brisman JL et al., 2006; Fox JL et al., 1987; Maira G et al., 2006; Wiebers DO et al., 1987). Dabei liegen etwa 90% der intrakraniellen Gefäßausackungen im vorderen Teil des Circulus arteriosus Willisii (Hashimoto H et al., 2000; Nehls DG et al., 1985; Rosenorn J et al., 1987; Schmieder K et al., 1999; Velthuis BK et al., 2001).

Tabelle 1: Die häufigsten Lokalisationen intrakranieller Aneurysmata (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Hashimoto H et al., 2000; Nehls DG et al., 1985; Schmieder K et al., 1999; Velthuis BK et al., 2001)

Lokalisation	Häufigkeit [%]
A. cerebri anterior (v.a. A. communicans anterior)	35-40%
A. carotis interna	30%
A. cerebri media	20-25%
hintere Zirkulation	10%
mehrere Lokalisationen	20-30%

Zur klinischen Einstufung bzw. prognostischen Einschätzung der Patienten dienen zwei häufig verwendete Klassifikationen, die traditionelle nach Hunt und Hess (Hunt WE, Hess RM, 1968) und die neuere der World Federation of Neurological Surgeons (WFNS; Drake CG et al., 1988), welche hier gesondert dargestellt werden soll. Ein initial hoher WFNS-Score (IV^o-V^o) beschreibt hierbei einen schlechten klinischen Zustand der Patienten und geht ebenso wie ein hoher Grad nach Hunt und Hess (III^o-IV^o) mit einer hohen Mortalität einher (Chiang VL et al., 2000; Hutchinson PJ et al., 2000; O`Sullivan MG et al., 1996).

Tabelle 2: WFNS-Score zur Klassifikation der klinischen Symptomatik nach abgelaufener SAB der World Federation of Neurological Surgeons (WFNS; GCS=Glasgow Coma Scale; Drake CG et al., 1988; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer)

WFNS-Score	GCS-Score	motorisches Defizit
I ^o	15	nicht vorhanden
II ^o	13-14	nicht vorhanden
III ^o	13-14	vorhanden
IV ^o	7-12	vorhanden oder nicht vorhanden
V ^o	3-6	vorhanden oder nicht vorhanden

Die bereits angesprochene hohe Morbidität und Mortalität der SAB, die in den ersten 30 Tagen nach einer Blutung von Broderick et al. mit 46% beschrieben ist und in anderen Studien innerhalb der ersten zwei Wochen sogar über 50% beträgt (Sarti C et al., 1991), erklärt die Notwendigkeit einer frühzeitigen und sicheren Diagnosestellung und Therapieeinleitung (Rabinstein AA et al., 2004).

Die nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über den Spontanverlauf aneurysmatischer SABs.

Tabelle 3: Spontanverlauf bei Patienten mit einer aneurysmatischen SAB (Broderick JP et al., 1993; Drake CG et al., 1981; Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Nehls DG et al., 1985; Sarti C et al., 1991; Tabelle basierend auf Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer)

Letalität	Zeitraum
15%	vor Erreichen des Krankenhaus
15%	innerhalb der ersten 24 h
15%	zwischen 24 h und 2 Wochen
15%	zwischen 2 Wochen und 2 Monaten
15%	zwischen 2 Monaten und 2 Jahren
25%	überleben die ersten 2 Jahre

Die apparative Diagnostik in Form der nativen Computertomographie (nCT) nimmt heutzutage bei der Diagnosesicherung der SAB eine entscheidende Rolle ein, mit der man in über 95% der Fälle eine frische SAB (≤ 48 h) sichern kann (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Maira G et al., 2006; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer). Dabei stellt sich innerhalb der ersten 24 Stunden frisches subarachnoidales Blut in den basalen Zisternen und kortikalen Sulci hyperdens dar (Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer; Masuhr KF, Neumann M, 5. Auflage, 2005, Thieme). Das Ausmaß der in der nCT dargestellten Blutmenge wird mit dem Fisher-Score (Fisher CM et al., 1980) beschrieben.

Tabelle 4: Fisher-Score zur Klassifizierung des Blutungsausmaßes einer SAB in der CT (CT=Computertomographie; Fischer CM et al., 1980; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer)

Fisher-Score	CT-Befund
1	kein Blut sichtbar
2	diffus Blut sichtbar oder lokalisierte Blut-Clots von <1 mm Dicke in der Inselzisterne, Cisterna ambiens oder dem Interhemisphärenspalt
3	Blut-Clots >1 mm Dicke in der Inselzisterne, der Cisterna ambiens oder dem Interhemisphärenspalt
4	intrazerebrale oder intraventrikuläre Blut-Clots mit und ohne SAB

In der nCT können außerdem intrazerebrale Blutungen, ein akuter HZ, Begleitinfarkte und gelegentlich sogar Hinweise für die Lage des Aneurysmas (v.a. bei großen Aneurysmen oder asymmetrischer Blutverteilung) bildmorphologisch nachgewiesen werden. Diese Informationen können im weiteren Verlauf für die Prognose und das

therapeutische Vorgehen entscheidend sein (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Maira G et al., 2006; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer). Bei der Suche nach dem intrakraniellen Aneurysma ist die arterielle Panangiographie (Vier-Gefäß-Angiographie) der Hirngefäße der Goldstandard. Der technische Standard ist heutzutage jedoch die digitale Subtraktionsangiographie (DSA; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer). In Zukunft werden neuere nicht invasive Verfahren wie die Magnet-Resonanz-Angiographie (MRA) oder die Computer-Tomographische-Angiographie (CTA) eine bedeutende Rolle in der Aneurysmadarstellung einnehmen (Hashimoto H et al., 2000; Hsiang JNK et al., 1996; Ronkainen A et al., 1995; Ross JS et al., 1990; Velthuis BK et al., 2001).

Im Zuge einer SAB können multiple Komplikationen auftreten. Das im Rahmen einer solchen Blutung in das Liquorsystem gelangte Blut führt oftmals zu einer Tamponierung der Liquorräume an den Austrittsstellen des vierten Ventrikels (Foramina Luschkae und Foramen Magendii), die Liquorzirkulationsstörungen mit sich bringen kann. Eine direkte Folge kann dabei ein akuter HZ sein, der bereits in den ersten 24 Stunden nach einer Blutung auftritt. Des Weiteren kann ein intrakranieller Druckerhöhung mit Entwicklung eines diffusen Hirnödems (Maximum 4.-10. Tag) die Folge sein. Falls auch nach der Resorption des Blutes infolge adhäsiver Veränderungen an den Meningen die Liquorzirkulationsstörung erhalten bleibt, kann ein dauerhafter aresorptiver HZ entstehen, der zur Entlastung die Liquorableitung über ein Shuntsystem erforderlich macht (Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer; Masuhr KF, Neumann M, 5. Auflage, 2005, Thieme). Weitere häufige Komplikationen bei der akuten SAB sind u.a. der zerebrale Vasospasmus (Maximum 4.-10. Tag), der begleitende Hirninfarkt und die Rezidivblutung (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Masuhr KF, Neumann M, 5. Auflage, 2005, Thieme).

Die folgende Abbildung demonstriert abschließend zwei Schichtbilder einer nCT eines SAB-Patienten.

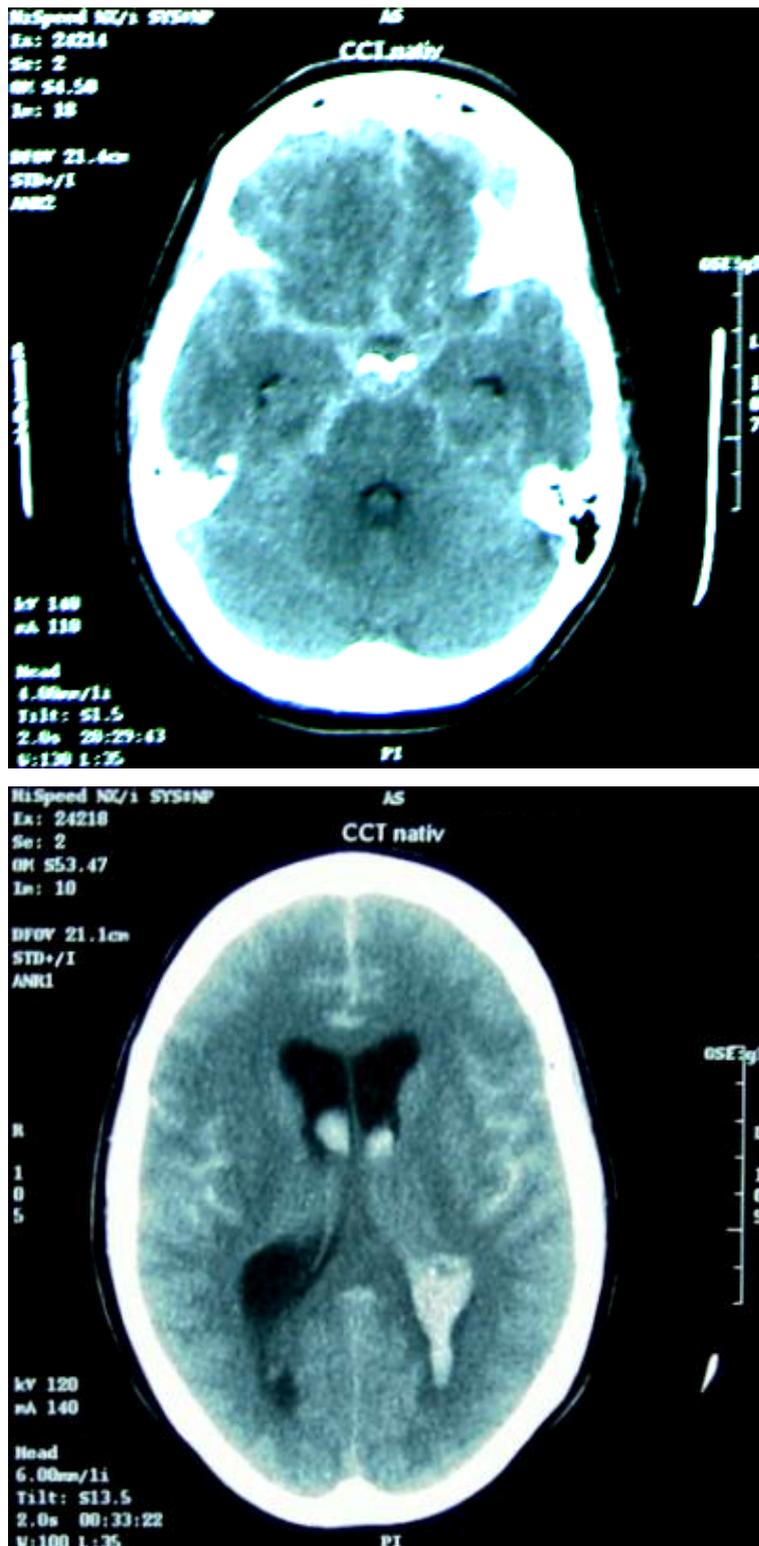


Abbildung 1: nCT-Schichtbilder eines Patienten mit einer frischen SAB: mit Blut gefüllte basale Zisternen (pentagrammartiges Bild), kortikale Sulci und Interhemisphärenspalt; Erweiterung beider Seitenventrikel im Sinne einer Liquorzirkulations- und Liquorabflussbehinderung

1.2 Intrazerebrale Blutung

Die ICB ist mit einer Inzidenz von 12-15 pro 100.000 Einwohnern (Ferro JM, 2006; Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Hsieh PC et al., 2006; Steiner T et al., 2006; Nadeau JO et al., 2006) jährlich die zweithäufigste Schlaganfallursache und somit annäherungsweise zweimal häufiger als die SAB (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006). Die Hauptursache für eine ICB ist in der Regel die essenzielle Hypertonie (Masuhr KF, Neumann M, 5. Auflage, 2005, Thieme), durch die es initial zu einer intrazerebralen Gefäßruptur und nachfolgend zu einer Ansammlung von Blut im Hirngewebe kommt. Diese Situation kann die Ruptur weiterer kleiner Gefäße und somit eine Größenzunahme der Blutung verursachen (Schneeballprinzip). Durch diese sekundäre Blutungs- oder Volumenzunahme kann es zu einem erhöhten intrakraniellen Druck (ICP) und einer perifokalen Ischämiezone kommen. Dies wiederum führt nach 24–48 Stunden oftmals zu einem toxischen Hirnödem, welches in den folgenden Tagen zunehmen und den intrakraniellen Druck weiter in die Höhe treiben kann (Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer).

Zu den häufigsten Lokalisationen einer ICB zählen das Putamen und der Thalamus. In der nachfolgenden Tabelle werden die Hauptlokalisationen der ICBs und ihre jeweiligen Häufigkeiten aufgeführt.

Tabelle 5: Hauptlokalisationen und Häufigkeiten der spontanen ICB (Ferro JM, 2006; Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Nadeau JO et al., 2006; Worthley LI et al., 2000)

Häufigkeit	Lokalisation
23-55%	Putamen
10-35%	Thalamus
4-8%	Stammganglien (total)
8-41%	Lobär
3-12%	Kleinhirn
2-12%	Pons

Bei neurologischen Akutpatienten spielt die schnelle diagnostische Unterscheidung zwischen einem ischämischen Infarkt (Hauptschlaganfallsursache) und der ICB eine wesentliche Rolle (Ferro JM, 2006; Nadeau JO et al., 2006; Worthley LI et al., 2000). Die nCT hat sich hierbei im klinischen Alltag zur Diagnosestellung bewährt (Ferro JM, 2006; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer; Worthley LI et al.,

2000). Gelegentlich wird zur Diagnosesicherung und weiterführenden Abklärung einer ICB ergänzende apparative Diagnostik mittels Kontrastmittel-CT (KM-CT), Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) oder DSA durchgeführt (Bradley WG et al., 1993; Ferro JM, 2006; Taveras JM et al., 1969; Toffol GJ et al., 1986; Worthley LI et al., 2000).

Beispielhaft folgt ein nCT-Schichtbild eines Blutungspatienten, der wie alle Patienten mit einer ICB in dieser Studie einen Ventrikeleinbruch der Blutung aufweist.

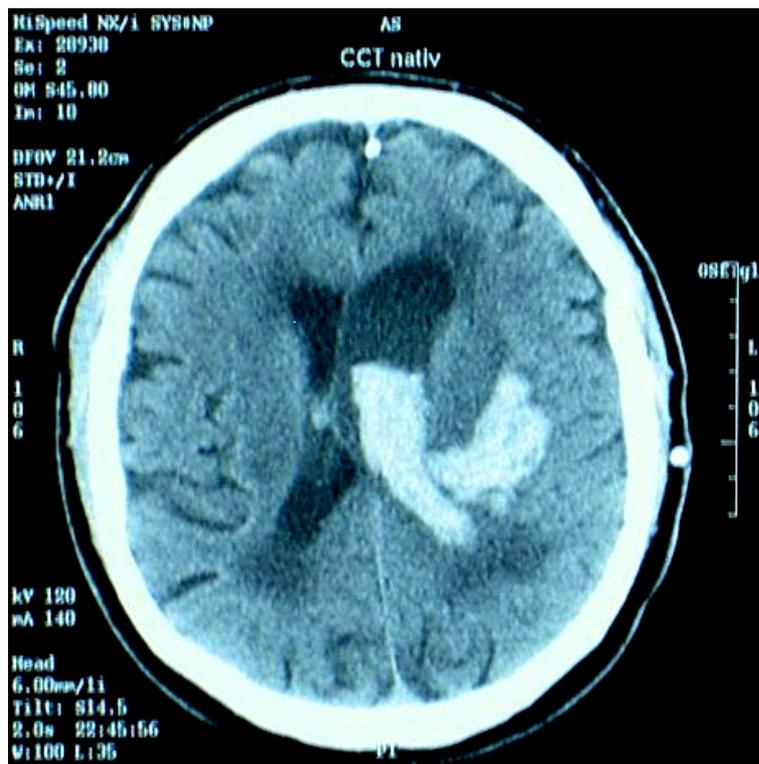


Abbildung 2: nCT-Schichtbild eines Patienten mit einer ICB: Einblutung in den Basalganglien links; Erweiterung des linken Seitenventrikels mit starker Blutansammlung im Hinterhorn; Verschiebung der Mittellinie nach rechts; Komprimierung des rechten Seitenventrikels; perifokales Ödem; Sulkusrelief auf der betroffenen Seite bereits leicht verstrichen

Bei einer beschriebenen Mortalität von 40% bis über 50% innerhalb der ersten 30 Tage und einer Einjahresüberlebensrate von lediglich 30% bis 40% ist die ICB ein sehr ernstzunehmendes akutes intrakranielles Blutungsereignis, das zusätzlich in einem hohen Anteil mit geistigen und körperlichen Behinderungen einhergeht (Broderick JP et al., 1993; Ferro JM, 2006; Nadeau JO et al., 2006; Worthley LI et al., 2000). Dabei sterben 20% bis 30% aller Patienten infolge eines Einklemmungssyndroms oder direkter Hirnstammkompression in den ersten beiden

Tagen nach der Blutung. Die Frühletalität hängt dabei vom Ausmaß der Blutung, der Massenverlagerung und des Ventrikeleinbruchs ab (Masuhr KF, Neumann M, 5. Auflage, 2005, Thieme). Spätkomplikationen können Liquorzirkulationsstörungen und als Folge dessen ein posthämorrhagischer HZ sein, der ebenfalls ein Prädiktor für die hohe Mortalität ist (Bhattathiri PS et al., 2006; Gross WP et al., 2006). Dabei scheint das Ausmaß des Einbruchs der Blutung in das Ventrikelsystem positiven Einfluss auf die chronische Hydrozephalusentwicklung zu nehmen (Naff NJ et al., 1999).

1.3 Der posthämorrhagische Hydrozephalus

Häufige und sehr ernst zu nehmende Komplikationen beider ausführlich dargestellter Blutungstypen sind einerseits der akute oder frühe blutungsbedingte HZ (Black PMcL et al., 1985 und 1986; Mehta V et al., 1996; Milhorat TH et al., 1987; Steinke D et al., 1987; van Gijn J et al., 1985; Vassilouthis J et al., 1994), der eine obstruktive Form des HZ darzustellen scheint (Jartti P et al., 2004) und andererseits der chronische oder späte posthämorrhagische HZ. Dieser entsteht definitionsgemäß nach der zweiten Woche, kann eine Folge des akuten HZ sein und erfordert eine dauerhafte Entlastung mittels eines Shuntsystems (Angelopoulos M et al., 1995; Gruber A et al., 1998; Juvelas S et al., 1995; Lin CL et al., 1999; Vassilouthis J et al., 1994; Vale FL et al., 1997; Verweij FH et al., 1994).

Bei Patienten mit einer ICB beschrieben 1998 Diringer et al. den akuten unbehandelten HZ als einen über lange Zeit unbeachteten Prädiktor für die extrem hohe Letalität dieser Blutungen. Bei primär intraventrikulären Blutungen wird der frühzeitig eintretende akute HZ sogar als gefährlichste Komplikation und Hauptursache der hohen Letalität angesehen (Angelopoulos M et al., 1995; Passero S et al., 2002; Roos Y et al., 1995). Eine ähnliche Stellung nimmt der akute HZ auch bei den SAB-Patienten ein. Als häufige Komplikation, mit Angaben von 6% bis 67%, wird dieser unbehandelt für die hohe Frühletalität bei Patienten mit einer SAB mitverantwortlich gemacht (Black PMcL, 1985 und 1986; Kolluri VR et al., 1984; Lin CL et al., 1999; Mehta V et al., 1996; Milhorat TH et al., 1987; O`Sullivan MG et al., 1996, Sheehan JP et al., 1999; Steinke D et al., 1987; van Gijn J et al., 1985; Vassilouthis J et al., 1979). Dabei gilt der akute HZ bei SAB-Patienten im Verlauf auch als positiver Prädiktor für die Entwicklung eines shuntpflichtigen chronischen HZ

(Brisman J et al., 2004; Dehdashti AR et al., 2004; Dorai Z et al., 2003; Mehta V et al., 1996; Yoshioka H et al., 2000).

Liquorzirkulationsstörungen sind klassische und seit Jahrzehnten bekannte Komplikationen der aneurysmalen SAB (Gruber A et al., 1998 und 1999; Heros RC et al., 1989; Kibler RF et al., 1961; Kosteljanetz M et al., 1984; Marmarou A et al., 1987; Rudd TG et al., 1970; Vale FL et al., 1997). Die Inzidenz des chronischen HZ nach einer SAB ist bei verschiedenen Autoren stark schwankend und liegt zwischen 3% und 45% (Auer LM et al., 1990; Graff-Radford NR et al., 1989; Kolluri VR et al., 1984; Lin CL et al., 1999; Ljunggren B et al., 1983; Ohwaki K et al., 2004; Pietila TA et al., 1995; Ropper AH et al., 1984; Widenka DC et al., 2000; Yamamoto I et al., 1983). Bei Patienten mit abgelaufener SAB gibt es eine Vielzahl verschiedener Prädiktoren, die Einfluss auf die Entwicklung eines chronischen und somit shuntpflichtigen HZ nehmen. Zu diesem multifaktoriellen Geschehen gehören der Grad nach Hunt und Hess oder der WFNS-Score bei Aufnahme, die eine klinische Einstufung der Patienten mit einer frischen SAB darstellen, ebenso wie der Fisher-Score, der die nachweisbare Blutmenge in der nCT beschreibt. Des Weiteren zählen ein zusätzlicher intraventrikulärer Blutungseinbruch, die simultane ICB, wiederholte SABs in der Vorgeschichte oder auch der akute blutungsbedingte HZ zu den Faktoren. Aber auch allgemeine Merkmale einer Patientengruppe wie Alter oder Geschlecht scheinen in diesem Zusammenhang mitentscheidend zu sein (Brisman J et al., 2004; Dehdashti AR et al., 2004; Dorai Z et al., 2003; Graff-Radford NR et al., 1989; Gruber A et al., 1999; Jartti P et al., 2004; Juvela S et al., 1995; Lin CL et al., 1999; Mehta V et al., 1996; Naff NJ et al., 1999; Sheehan J et al., 1999; Vale FL et al., 1997; Verweij FH et al., 1994; Yoshioka H et al., 2000).

Bezüglich der Lokalisation des Aneurysmas als prädiktiven Faktor gehen die Meinungen und Ergebnisse der einzelnen Studien auseinander. Einige Autoren beschreiben das Vorkommen in der hinteren Zirkulation und somit die vertebro-basilare Aneurysmalage (Dorai Z et al., 2003; Yoshioka H et al., 2000; Pietila TA et al., 1995; Tapaninaho A et al., 1993), andere Arbeitsgruppen wie die von Gruber et al. (1999) die Lage des Aneurysmas in der A. communicans anterior als entscheidende Lokalisation für die Entwicklung eines shuntpflichtigen HZ.

Ob die Art des therapeutischen Vorgehens bei einer spontanen SAB, mikrochirurgisch oder endovaskulär, Einfluss auf die Entstehung des posthämorrhagischen HZ nimmt, ist bislang unklar (Kassel NF et al. (Part 1 und 2),

1990). Gruber et al. (1999) und Dehdashti et al. (2004) haben diesbezüglich in ihren Studien keinen Einfluss nachweisen können. Dorai et al. (2004) führte die endovasculäre Therapie als positiven Hydrozephalusprädiktor an. Demgegenüber stehen andere Arbeitsgruppen wie z.B. die von Brisman et al. (2004) oder Koivisto et al. (2000), die der Meinung sind, dass der mikrochirurgische Therapieweg signifikant positiv Einfluss auf die Entstehung eines chronischen HZ nimmt. Der Zeitpunkt der operativen Versorgung innerhalb eines rein operativen Kollektivs spielt keine einflußnehmende Rolle (Tapaninaho A et al., 1993).

Bei der Diagnostik des shuntpflichtigen HZ wird die nCT als schnelles und besser verfügbares Verfahren der MRT vorgezogen, obgleich diese sensitiver ist. Die Röntgennativdiagnostik hat hier nur noch eine historische Bedeutungen (Adams RD, Victor M, Ropper AH, 6. Auflage, 1999, McGraw-Hill; Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer; Novelline RA, 5. Auflage, 1995, Schattauer).

Die anschließende Abbildung demonstriert zwei nCT-Schichtbilder eines Patienten mit einem posthämorrhagischen HZ vor und nach ventrikuloperitonealer Shuntimplantation.

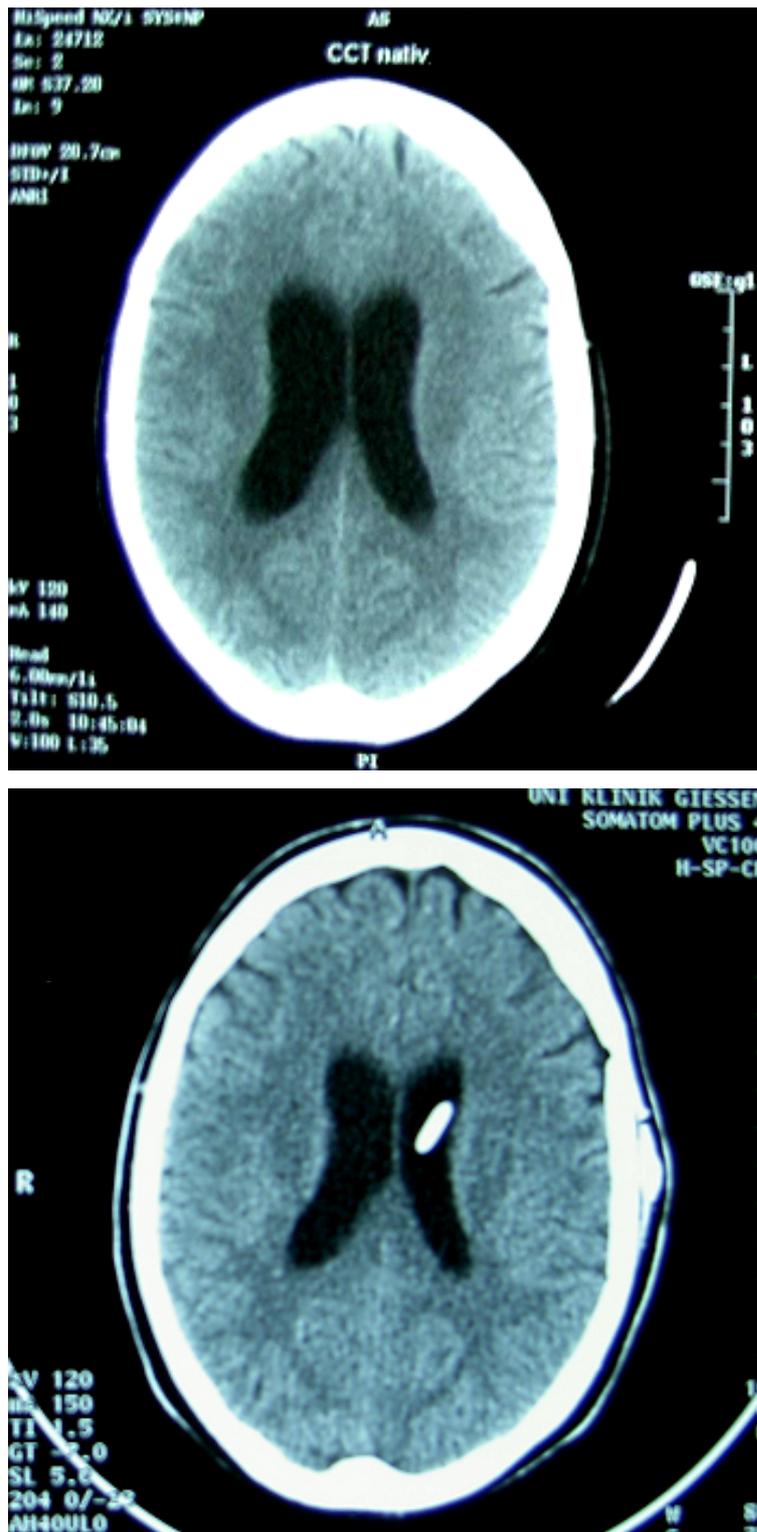


Abbildung 3: nCT-Schichtbilder eines Patienten mit einem posthämorrhagischen Hydrozephalus:
a) oben: vor VP-Shuntimplantation mit erweiterten Seitenventrikeln, periventrikulärem Ödem und schwacher kortikaler Rindenzeichnung; b) unten: einliegender VP-Shunt, deutliche Abnahme der Ventrikelweite und des periventrikulären Ödems

Während Shinnar et al. (1985) bei Säuglingen mit einem blutungsbedingten Hydrozephalus eine diuretische Therapie mit Acetazolamiden oder Furosemid als Therapieoption beschreiben und andere Arbeitsgruppen regelmäßige Lumbalpunktionen zur Therapie und Prävention angeben (Kreusser KL et al., 1985), äußern Whitelaw et al. (2000 und 2001), dass beide Ansätze keine dauerhaften Erfolge erzielen. Beim chronisch posthämorrhagischen HZ des Erwachsenen und des Säuglings stehen heutzutage die operativen Therapiemöglichkeiten im Vordergrund. Bei Blutungsereignissen mit einem akuten Verschlusshydrozephalus kann eine schnelle, jedoch lediglich temporäre Lösung mittels Anlage einer externen Ventrikeldrainage (EVD) erfolgen (Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer). Bei einem chronischen HZ sollte die Implantation eines Shuntsystems eine Langzeitdrucksenkung erzielen. Heutzutage haben sich ventrikuloperitoneale (VP) Shuntsysteme durchgesetzt. Beim kommunizierenden HZ kommt gelegentlich auch das lumboperitoneale (LP) Ableitungssystem zum Einsatz (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer).

Ein Shuntsystem besteht im Regelfall aus einem zentralen Katheter, der in einem der beiden Seitenventrikel einliegt, einem Punktionsreservoir, dem eigentlichen Ventil, das druckverstellbar sein kann, und dem nach distal in die jeweilige Körperhöhle ableitenden Schenkel (Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer). Dabei differieren die Ventilsysteme in Funktion und Einstellbarkeit abhängig vom Hersteller.

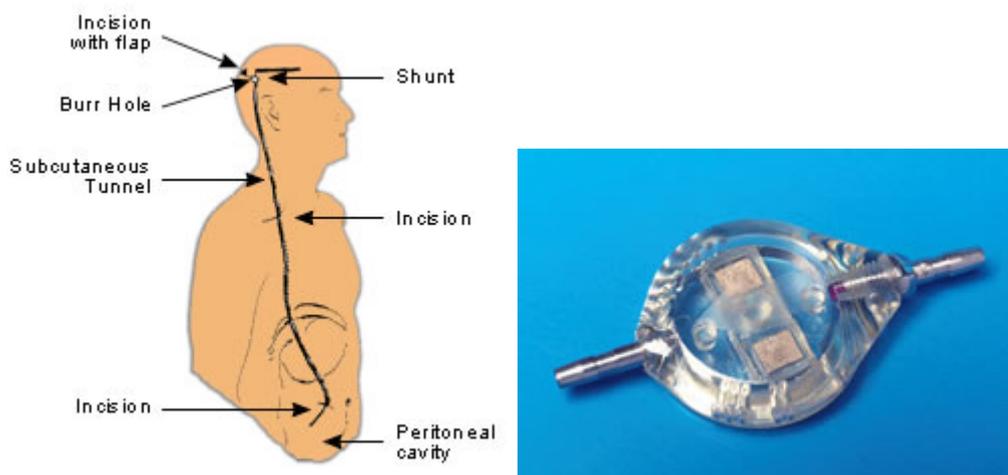


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines ventrikuloperitonealen (VP) Shunts und Abbildung eines Ventils (Quelle: Sophysa USA- www.sophysa.com; The Sophy® valve)

1.4 Zytokine

Unabhängig von den bereits beschriebenen klinischen und diagnostisch erheblichen Einflussfaktoren bei der Entstehung des chronischen posthämorrhagischen HZ, sind in den letzten beiden Jahrzehnten verschiedene Polypeptide, sogenannte Zytokine, in den Vordergrund getreten, von denen das TGF- β eine wichtige Rolle zu spielen scheint. Vor allem über die Stellung des TGF- β 1, aber auch über die Funktion des TGF- β 2, wurden bereits einige Arbeiten veröffentlicht, die den Einfluss dieser Polypeptide beim posthämorrhagischen HZ des Erwachsenen und des Neugeborenen darzustellen und zu erklären versuchen (Buisson A et al., 2003; Dhandapani KM et al., 2003; Flood C et al., 2001; Galbreath E et al., 1995; Hayashi N et al., 2000; Heep A et al., 2004; Kitazawa K et al., 1994; Moinuddin SM et al., 2000; Tada T et al., 1994; Takizawa T et al., 2001; Whitelaw AW et al., 1999).

Zytokine werden als Mediatoren der immunologischen und inflammatorischen Antwort angesehen (Gaetani P et al., 1998; Sporn MB et al., 1988, 1990 und 1992; Nathan C et al., 1991). Dabei unterstehen die Zellen jeden Gewebes einem eigenen lokalen Regulierungssystem. Die zugrunde liegenden Mechanismen beruhen einerseits auf ständigen Signalen der Zellen an sich selbst (autokrine Aktivität) und werden andererseits durch gegenseitige Zellsignale untereinander (parakrine Aktivität) mit Hilfe anderer Polypeptide aus der Familie der Zytokine gesteuert. Diese Zytokine unterscheiden sich in ihrer Wirkungsweise von Hormonen dadurch, dass sie ausschließlich lokal wirken und nicht in Entfernung zu ihrem Produktionsort (Gaetani P et al., 1998; Sporn MB et al., 1988, 1990 und 1992; Nathan C et al., 1991). Ihre Wirkung kann sowohl positiver, als auch negativer Natur sein, Zellproliferation und – differenzierung fördern, aber auch hemmen. Sie kann weiterhin abhängig von anderen Regulierungspolypeptiden oder anderen Faktoren ihrer Umgebung, wie dem physiologischen Zellstatus, der umgebenden extrazellulären Matrix oder dem Säure-Base-Haushalt sein. Somit sollten Zytokine heutzutage nicht mehr nur als Symbole einer intrazellulären Sprache angesehen, sondern vielmehr als Kommunikationsgrundlage betrachtet werden, die auch im extrazellulären Raum ihren Platz eingenommen hat (Böttner M et al., 2000; Gaetani P et al., 1998; Kikuchi T et al., 1995; Moses et al., 1981; Nathan C et al., 1991; Roberts AB et al., 1993; Sporn MB et al., 1988, 1990 und 1992).

Diese meist multifunktionalen Mediatoren lenken verschiedenste Vorgänge unterschiedlicher Gewebe wie Entzündungsreaktionen, Fibrosierung, Angiogenese, Hämatopoese, chemotaktische und immunogene Vorgänge, Zellzykluskontrolle, Zellproliferation und –migration, aber auch die Apoptose (Border WA et al., 1992 und 1994; Böttner M et al., 2000; Kriegelstein K et al., 2000; Nathan C et al., 1991; Roberts AB et al., 1993; Sporn MB et al., 1988, 1990 und 1992).

1.4.1 TGF- β -Superfamilie

Die TGF- β -Superfamilie ist eine typische multifunktionelle Zytokinfamilie, die als erstes aus Blutplättchen isoliert und vor etwa 20 Jahren erstmalig charakterisiert wurde (Border WA et al., 1992 und 1994; Böttner M et al., 2000; Flood, C et al., 2001; Galbreath E et al., 1995; Kitazawa K et al., 1994; Kriegelstein K et al., 2000; Specht H et al., 2003). Der Name „Transforming Growth Factor“ entstand durch die Beobachtung, dass TGF- β auf einem speziellen Zellagar normale Zellen zum Wachstum anregt, nachdem diese viral transformiert wurden (Border WA et al., 1994; Böttner M et al., 2000; Moses HL et al., 1981; Roberts AB et al., 1981).

Die unter den Zytokinen einzigartige Vielfalt der TGF- β -Funktionen besteht in der Zellzykluskontrolle, Chemotaxie, Zellproliferation, dem Zelluntergang und vielen anderen intra- und interzellulären Funktionen (Berry M et al., 1999; Border WA et al., 1992 und 1994; Böttner M et al., 2000; Flanders C et al., 1991; Logan A et al., 1994 und 1999; Sajanti J et al., 2001, Schober et al., 1999; Stoll G et al., 2004). Laut Böttner et al. (2000) nimmt die TGF- β -Superfamilie sogar die Schlüsselrolle in der Regulierung des neuronalen Überlebens und der Reparaturprozesse des ZNS ein. Beim Menschen existieren die drei Isoformen TGF- β 1, TGF- β 2 und TGF- β 3. Diese Polypeptide ähneln sich in ihren biochemischen Eigenschaften sehr, obgleich sie sich in ihrer Lokalisation, Funktion und Bedeutung unterscheiden (Böttner M et al., 2000; Flanders KC et al., 1991; Heep A et al., 2004; Massague J 1990; Kriegelstein K et al., 2000).

Die Grundstruktur des TGF- β zeigt die typische Struktur eines Signalmoleküls, das aus verschiedenen Vorproteinen zusammengesetzt ist (Böttner M et al., 2000; Unsicker K et al., 2000). Die TGF- β -Isoformen haben ein für viele Zytokine charakteristisches Aussehen. An einem Ende des Moleküls findet sich ein so

genanntes Signalpeptid, das dem Vorläufermolekül den Transport aus der Zelle ermöglicht. Dann folgt ein Abschnitt, eine so genannte Pro-Domäne, die dafür verantwortlich ist, dass sich das Molekül korrekt faltet. Diese Domäne sorgt zusätzlich auch für die Verbindung eines einzelnen 12,5 kDa Moleküls mit einem zweiten zu einem 25 kDa Dimer und reguliert außerdem die biologische Aktivität des Moleküls. Eine weitere kurze Domäne (RXXR) schließt sich der Pro-Domäne an. Dieser Abschnitt sorgt für die korrekte Abspaltung des "reifen", die eigentliche biologische Aktivität tragenden Molekülabschnitts. Schließlich folgt das "reife" Protein, das bei allen TGF- β -Isoformen im reifen Proteinabschnitt sechs gleiche Aminosäuren (Cystein) mit identischen Abständen und Verknüpfungen besitzt. Sie bilden eine auffällige Knotenstruktur, den so genannten Cysteinoknoten. Ein siebtes Cystein dient dazu, zwei einzelne Moleküle zu einem Doppelmolekül (Dimer) zu verbinden (Böttner M et al., 2000; Brown PD et al., 1990; Flood C et al., 2001; Kingsley DM et al., 1994; Specht H et al., 2003; Unsicker K et al., 1991 und 2000).

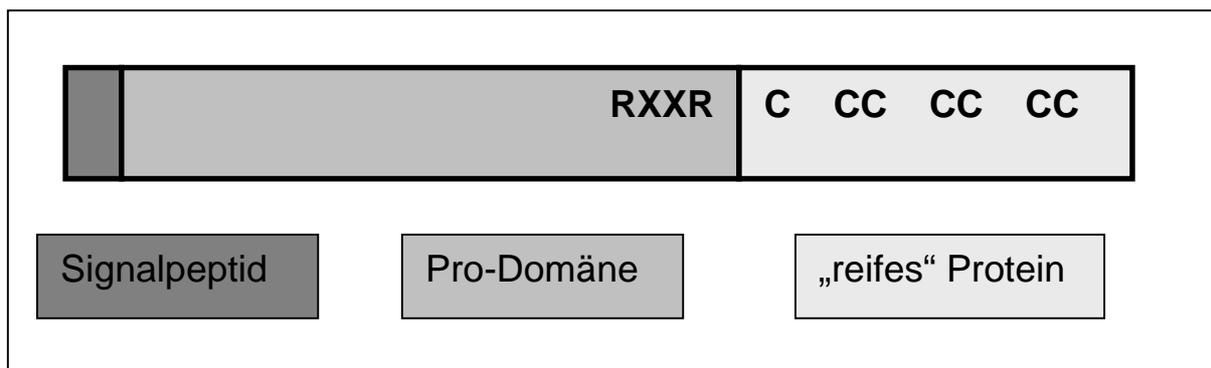


Abbildung 5: Die molekulare Struktur der TGF- β -Superfamilie; Graphik basierend auf Kingsley et al. (1994)

Durch die Aktivierung des latenten TGF- β ist die Bindung an verschiedene Rezeptoren, über die zelluläre Signaltransduktionen laufen, gewährleistet (Brown PD et al., 1990; Cui W et al., 1996; Flood C et al., 2001; Wrana JL et al., 1994). Um die Information auf die Zellen zu übertragen, werden Rezeptoren benötigt, die an ihrer Außenseite TGF- β binden. Diese Bindung schaltet auf der Innenseite der Zellmembran Signalwege an, die die Aktivität bestimmter Gene und damit die Syntheseleistung der Zelle verändern. Die Rezeptoren der Mitglieder der TGF- β -Familie sind mit wenigen Ausnahmen sogenannte Threonin-Serin-Kinasen. Es handelt sich dabei um Enzyme, welche die Aminosäuren Threonin und Serin im TGF-

β -Molekül mit Phosphatresten versehen und es damit in einen anderen Aktivitätszustand versetzen (Böttner M et al., 2000; Brown PD et al., 1990; Flood C et al., 2001; Kingsley DM et al., 1994; Unsicker K et al., 1991 und 2000).

1.4.2 TGF- β 1

TGF- β 1 ist die bei Säugetieren vorkommende Isoform, welche die epitheliale und mesenchymale Zellproliferation fördert, die Synthese extrazellulärer Matrix moduliert und Einfluss auf die Wirkung anderer Zytokine und des Immunsystems nimmt (Cui W et al., 1996; Flood C et al., 2001; Johnson MD et al., 1992; Kitazawa K et al., 1994; Unsicker K et al., 1991). Aufgrund dieser vielfältigen insbesondere extrazellulären Funktionen haben Roberts et al. (1992) und Flood et al. (2001) das TGF- β 1 als typischen fibrogenen Faktor mit aktiven Einflüssen auf die Gewebsumgestaltung, -reparatur, Narbenbildung und Fibrosierung beschrieben.

Aus den Geweben des ZNS wurde das TGF- β 1 vor allem in den Meningen und im Plexus choroideus, dem Produktionsort des Liquor cerebrospinalis, nachgewiesen (Unsicker K et al., 1991; Flood C et al., 2001; Kriegelstein K et al., 2000). Des Weiteren konnten geringe Konzentrationen TGF- β 1 im Liquor von gesunden Personen nachgewiesen werden (Johnson MD et al., 1992; Krupinski J et al., 1996; Mogi M et al., 1995; Samuels V et al., 1989). Einerseits wird das nach einer intrakraniellen Blutung im Liquor cerebrospinalis vorhandene TGF- β 1 von den bei einer Blutung in das Ventrikelsystem ausgetretenen Blutplättchen und anderen korpuskulären Blutbestandteilen freigegeben und andererseits infolge der Gewebstraumatisierung über eine Konzentrationssteigerung durch Freisetzung aus Makrophagen, Astrozyten und anderen neuronalen Zellen, sowie durch eine Sekretion aus Zellen der Meningen und des Plexus choroideus hervorgerufen (Cui W et al., 1996; Johnson et al., 1992; Logan A et al., 1992, 1994 und 1999; Unsicker et al., 1991;).

Diese erhöhten TGF- β 1-Werte im Hirnwasser können die Fibrogenese, die Narbenbildung, eine leptomeningeale Zellproliferation und andere gewebliche Umbauprozesse fördern, wodurch es zu Störungen an den Sekretions-, Abfluss- und Resorptionsstellen des Liquors kommen kann, was letztendlich die Entwicklung von Liquorzirkulationsstörungen und einem chronischen HZ begünstigt (Berry M et al.,

1999; Border WA et al., 1992; Flood C et al., 2001; Logan A et al., 1994 und 1999; Motohashi et al., 1995; Roberts et al., 1992; Sajanti J et al., 2001). Die Entwicklung und Entstehung eines HZ könnte somit in direktem Zusammenhang mit dem TGF- β 1-Gehalt und dem Verhalten der Zytokinkonzentrationen im Liquor cerebrospinalis nach einer intrakraniellen Blutung stehen. Des Weiteren wird dem Zytokin eine wichtige Rolle bei ischämischen Geschehen und degenerativen ZNS-Erkrankungen, wie dem M. Alzheimer zugesprochen (Flanders KC et al., 1998; Kiefer R et al., 1995; Krupinski J et al., 1996; Rota E et al., 2006).

Das im Blut vorhandene TGF- β 1 kann bei intakter Blut-Hirn-Schranke nicht von der Peripherie in das Liquorsystem transfundieren (Kastin AJ et al., 2003). Im Rahmen einer Hirngewebe-traumatisierung kann es jedoch eine defekte Blut-Hirn-Schranke passieren und somit zu erhöhten TGF- β 1-Konzentrationen im Liquor führen (Kastin AJ et al., 2003). Verschieden Arbeitsgruppen haben beschrieben, dass erhöhte intrathekale TGF- β -Spiegel sogar mit einer Dysfunktion der Blut-Hirn-Schranke einhergehen und somit eine bessere Passage für TGF- β 1-Moleküle bewirken können (Csuka E et al., 1999; Morganti-Kossmann MC et al., 1999). Demgegenüber beschreiben Takata et al., dass die Hemmung der TGF- β -Produktion zu einer Cyclosporin-A induzierten Dysfunktion der Blut-Hirn-Schranke führt.

1.4.3 TGF- β 2

Das Polypeptid TGF- β 2 ist im ZNS hauptsächlich in den Nervenzellen und den Astrogliazellen lokalisiert (Flanders KC et al., 1991; Kriegelstein K et al., 2002; Unsicker K et al., 1991 und 1996; Vivien D et al., 1998). Es kommt dabei weniger in den periventriculären Regionen, einer im Embryonalstadium sehr aktiven Proliferationszone, vor, dafür jedoch gehäuft in Rückenmark, Hippokampus und Hypothalamus (Flanders KC et al., 1991; Kriegelstein K et al., 2002; Unsicker K et al., 1991 und 1996). Demgegenüber beschreiben Johnson et al. (1992), dass alle drei beim Menschen vorkommenden Isoformen des TGF- β von leptomeningealen Zellen synthetisiert und sezerniert werden können.

Ähnlich seiner Isoform TGF- β 1 spielt das Zytokin TGF- β 2 eine regulierende Rolle im neuronalen und glialen Zellüberleben und –untergang, bei der Zellmigration und –differenzierung neuronaler Vorläuferzellen sowie bei der Steuerung von

Vorläuferzellverbänden im ZNS (Böttner M et al., 2000; Chalazonitis A et al., 1992; Flanders C et al., 1991; Logan A et al., 1999; Stoll G. et al., 2004). Des Weiteren zeigten die Ergebnisse von Stoll et al. (2004), dass TGF- β 2 ein wichtiges intrinsisches Steuermolekül des ZNS darstellt, welches eine hervorzuhebende Stellung in der Regulierung von phagozytischen Vorgängen durch Mikrogliazellen und Makrophagen bei Gewebsverletzungen einnimmt. Daher könnte es genau wie das TGF- β 1 eine entscheidende Position bei der Entstehung eines chronischen posthämorrhagischen HZ einnehmen.

Bezüglich der Diffusionsfähigkeit des TGF- β 2-Moleküls durch die intakte Blut-Hirnschranke und Blut-Nerven-Schranken beschreiben McLennan et al. (2005) dem Polypeptid eine problemlose Passage in das Liquorsystem zu.

1.4.4 TGF- β 1 und - β 2 beim posthämorrhagischen Hydrozephalus

Zu den Zytokinen, die nach einer intrakraniellen Blutung auffällige Konzentrationsanstiege bzw. -verläufe im Liquor cerebrospinalis aufweisen, gehören neben den Isoformen des TGF- β auch das Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) und das CRP (C-reaktives Protein; Nathan C et al. 1991; Takizawa T et al., 2001). Dabei werden die meisten dieser regulierenden Polypeptide nach heutigem Wissensstand hauptsächlich von korpuskulären Blutbestandteilen sezerniert (Gaetani P et al., 1998; Kikutchi T et al., 1995; Takizawa T et al., 2001). Erhöhte TGF- β 1- und TGF- β 2-Konzentrationen nach einer abgelaufenen SAB oder ICB können durch ihre verschiedenen intra- und interzellulären Funktionen einen wichtigen Ansatz in der Entstehung der Liquorzirkulationsstörung und des shuntpflichtigen HZ nach einer Blutung darstellen. Verschiedene Autoren haben bereits den Einfluss der beiden Zytokine auf die Entstehung des posthämorrhagischen und kongenitalen HZ beschrieben und zu klären versucht.

Flood et al. (2001) verglichen die TGF- β 1-Konzentrationen im Liquor von Patienten mit abgelaufener SAB und nachfolgendem posthämorrhagischen HZ mit den TGF- β 1-Werten der Patienten ohne chronische Hydrozephalusentwicklung. Die TGF- β 1-Werte der Patienten aus der Gruppe mit einem posthämorrhagischen HZ lagen signifikant höher als die Werte der Vergleichsgruppe. Bei den Blutungspatienten mit

nachfolgender Shuntpflichtigkeit konnte ein biphasischer Verlauf mit einem ersten Gipfel in den ersten beiden Tagen und einem zweiten Konzentrationsanstieg in den Tagen neun bis zehn dargestellt werden. Aus den Ergebnissen wurde gefolgert, dass der erste TGF- β 1-Gipfel im Liquor aus den Blutplättchen der in das Ventrikelsystem gelangten Blutmenge stammt und der zweite Anstieg einen endogenen Ursprung in den Zellen des Plexus choroideus und der Meningen hat. Zu ähnlichen Ergebnissen bezüglich des biphasischen TGF- β 1-Verlaufs nach abgelaufener einmaliger SAB kamen Daniel et al. bereits 1997. Kitazawa et al. (1994) haben bei einem ähnlichen Versuchsaufbau stark erhöhte TGF- β 1-Werte nach einer abgelaufenen SAB nachgewiesen, konnten jedoch abhängig von der Shuntpflichtigkeit der Patienten in den ersten zehn Tagen nach einer SAB keinen signifikanten Unterschied verzeichnen. Erst an den Tagen 12 bis 14 konnten signifikante Unterschiede abhängig von der Entwicklung eines posthämorrhagischen Hydrozephalus aufgezeigt werden.

Im Rahmen einer tierexperimentellen Studie injizierten Tada et al. (1994) humanes rekombinantes TGF- β 1 in den Subarachnoidalraum von C57E-Mäusen. Innerhalb von drei Wochen kam es zu einer nachweislichen Dilatation des Ventrikelsystems bei nicht sichtbar mechanisch behindertem Liquorabfluss im Sinne eines kommunizierenden HZ. Diese Ergebnisse ließen darauf schließen, dass TGF- β 1 auch beim Menschen wesentlich Einfluß auf die posthämorrhagische Hydrozephalusentwicklung nehmen könnte. Ähnliche Ergebnisse brachten die tierexperimentellen Studien von Galbreath et al. (1995) und Hayashi et al. (2000) hervor. Sie entwickelten dabei transgene Mäuse mit einer Überproduktion von TGF- β 1 im ZNS. Aus den genannten und vergleichbaren Ergebnissen dieser und anderer tierexperimenteller Studien wurde gefolgert, dass TGF- β 1 sowohl in der Entwicklung des ZNS als auch in der Entstehung des HZ eine bedeutende Position einnimmt. Demgegenüber stehen Cai et al. (1999), die in einem tierexperimentellen Modell mit transgenen Mäusen keinen Einfluss des gemessenen TGF- β 1 auf die Hydrozephalusentwicklung erkennen konnte.

Whitelaw et al. (1999) beschrieben für das Zytokin TGF- β 1 nach einer intraventrikulären Blutung bei Neugeborenen, dass es nicht nur in den Liquorraum freigegeben wird, sondern auch wichtig bei der Entwicklung des posthämorrhagischen HZ zu sein scheint. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen später auch Chow et al. (2005) und Heep et al. (2004 und 2006), als sie bei Patienten mit

einem shuntpflichtigen posthämorrhagischen Neugeborenenhydrozephalus signifikant höhere TGF- β 1- und TGF- β 2-Konzentrationen nachweisen konnten als bei nicht shuntpflichtigen Patienten.

All diese vorangegangenen Studien sind wegweisend dafür, dass die Isoformen TGF- β 1 und - β 2 eine wesentliche Rolle in der Entstehung des posthämorrhagischen HZ spielen könnten.

1.5 Albumin beim posthämorrhagischen Hydrozephalus

Obwohl Albumin das Hauptprotein im Liquor cerebrospinalis ist, wird es intrathekal weder metabolisiert noch abgegeben und ist in seiner Konzentration im Hirnwasser mit Normwerten um $25 \pm 10 \mu\text{g/ml}$ ($\pm\text{SD}$) ca. 1000mal niedriger als im Blut. Somit ist es als Blutmarker im Liquor cerebrospinalis geeignet (Flood C et al., 2001; Tietz NW et al., 1994).

Das in dieser Studie bestimmte Albumin im Liquor cerebrospinalis steht als Marker für die Blutmenge, die sich im Zuge einer stattgehabten SAB oder ICB im Ventrikelsystem befindet (Daniel M et al., 1997; Flood C et al., 2001; Wahl SM et al., 1991). Dabei haben Daniel et al. (1997) und Flood et al. (2001) in früheren Arbeiten die Albuminkonzentrationen nach einer intrakraniellen Blutung mit den posthämorrhagischen TGF- β 1-Konzentrationen verglichen und aufgrund Ihrer Ergebnisse gefolgert, dass gerade der Anstieg von TGF- β 1 in den ersten beiden posthämorrhagischen Messtagen von der in den Ventrikeln befindlichen Blutmenge abhängig ist.

1.6 Fragestellung

Aufgrund der beschriebenen Erkenntnisse und Studien haben wir bei 42 neurochirurgischen Intensivpatienten an den ersten zehn Tage nach stattgehabter SAB oder ICB Blut und Liquor gewonnen und daraus die Zytokine TGF- β 1 und TGF- β 2 bestimmt. Zusätzlich wurde Albumin im Hirnwasser gemessen.

Folgende Fragestellungen wurden untersucht:

- Wie ist der Verlauf der Zytokine TGF- β 1 und TGF- β 2 im Liquor und im Blut bei den einzelnen Patientengruppen?
- Wie verhalten sich das TGF- β 1 und das TGF- β 2 im Blut und CSF untereinander im direkten Vergleich?
- Lässt der Verlauf einer der Messparameter eine Voraussage bezüglich der Hydrozephalusentwicklung zu?
- Spielt das im Liquor gemessene Albumin als Maß für die in das Hirnwasser ausgetretene Blutmenge eine Rolle für die Entwicklung eines posthämorrhagischen HZ?
- Lassen sich Zusammenhänge zwischen den gemessenen Zytokin- und Albuminwerten erkennen?

2 Material und Methodik

2.1 Aufbau der Studie

Die Grundlage der vorliegenden prospektiven Studie bilden Blut- und Liquorproben, die in einer Längsschnitterhebung von Patienten mit einer Subarachnoidalblutung (SAB) oder intrazerebralen Blutung (ICB) auf der Intensivstation der Neurochirurgischen Klinik des Universitätsklinikums Gießen gewonnen wurden. Beim Vergleich der verschiedenen Gruppen wurde zur Vermeidung systemischer Fehler auf Struktur-, Behandlungs- und Beobachtungsgleichheit geachtet.

Bei der Entnahme der Liquorproben wurde vom ersten bis zehnten Tag nach der Blutung jeweils fünf ml Liquor cerebrospinalis über eine externe Ventrikeldrainage (EVD), die im Rahmen der Routinebehandlung gelegt wurde, oder über eine intraoperativ eingelegte cisternale Drainage gewonnen. Des Weiteren wurde bei den Patienten täglich fünf ml Blut über einen artriellen oder zentralvenösen Zugang gewonnen. Die jeweiligen Proben wurden dabei in ein handelsübliches Citratröhrchen gefüllt.

Die Analysen der Liquor- und Blutproben erfolgten im Forschungslabor der Neurochirurgischen Klinik in Zusammenarbeit mit dem Zentrallabor des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Prof. Dr. N. Katz). Die Messergebnisse wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Informatik der Universitätsklinik Gießen (Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. G. Weiler/Stellvertreter: Dr. R.-H. Bödeker) statistisch ausgewertet.

2.2 Patientenkollektiv und Patientengruppen

Bei den 42 Patienten dieser Studie handelt es sich um 27 Frauen und 15 Männer, die wegen einer SAB oder ICB stationär auf der Intensivstation der Neurochirurgischen Klinik des Universitätsklinikums Gießen behandelt wurden. Dabei wurden nur Patienten in die Studie eingeschlossen, die im Rahmen der klinischen Routineversorgung mit einer ventrikulär oder cisternal gelegenen externen Ventrikeldrainage (EVD) versorgt wurden. Neben Diagnostik und Therapie wurden auch die Nachuntersuchungen in dieser Klinik durchgeführt. Die untersuchten Patienten oder ihre medizinischen Betreuer waren über die Teilnahme an einer wissenschaftlichen Studie aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis zur Teilnahme.

Bei den Hauptdiagnosen der Patienten handelt es sich in 27 Fällen um eine aneurysmale SAB und in 15 Fällen um eine spontane ICB mit Einbruch der Blutung in das Ventrikelsystem. Dieser Blutungstyp der ICB wird im klinischen Alltag auch als Ventrikelblutung (VB) bezeichnet. Das beschriebene Verhältnis entspricht einer Verteilung von fast zwei Dritteln SABs und einem Drittel ICBs.

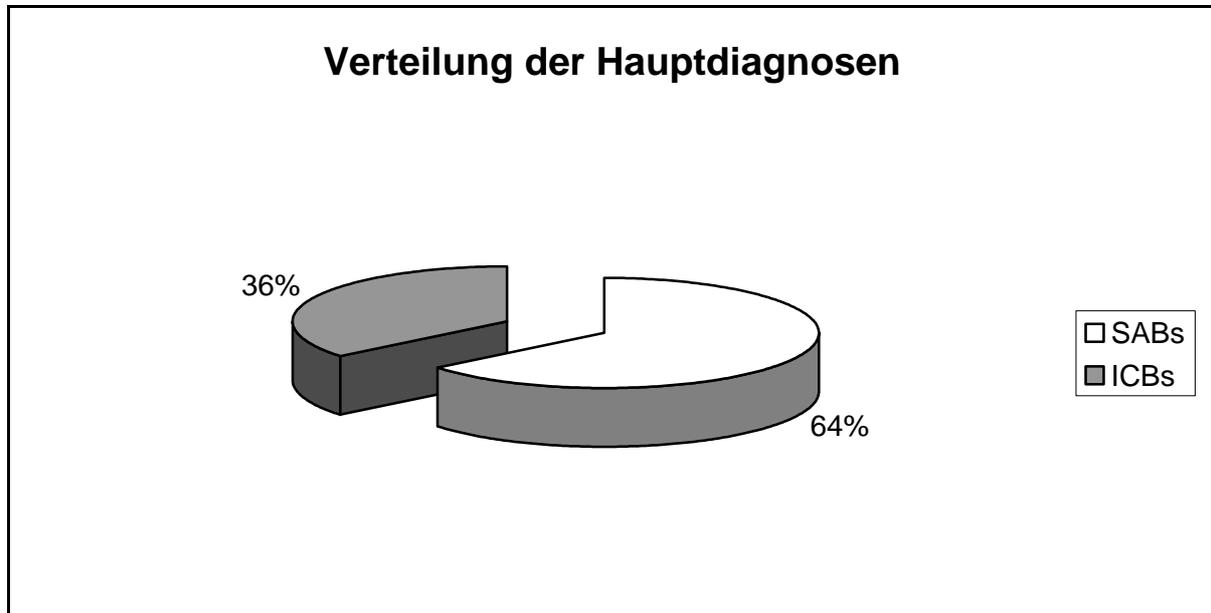


Abbildung 6: Verteilung der Hauptdiagnosen des Patientenkollektivs (SAB=Subarachnoidalblutung, ICB=intrazerebrale Blutung)

Die insgesamt 42 Patienten der Studie wurden auf vier Gruppen verteilt. Dabei bildeten die Hauptdiagnosen, SAB und ICB, die beiden Hauptgruppen. Diese wurden wiederum auf zwei Untergruppen verteilt, in Abhängigkeit davon, ob sich ein shuntpflichtiger HZ entwickelte oder nicht. Die Verteilung der Patienten soll anhand der folgenden Abbildung verdeutlicht werden.

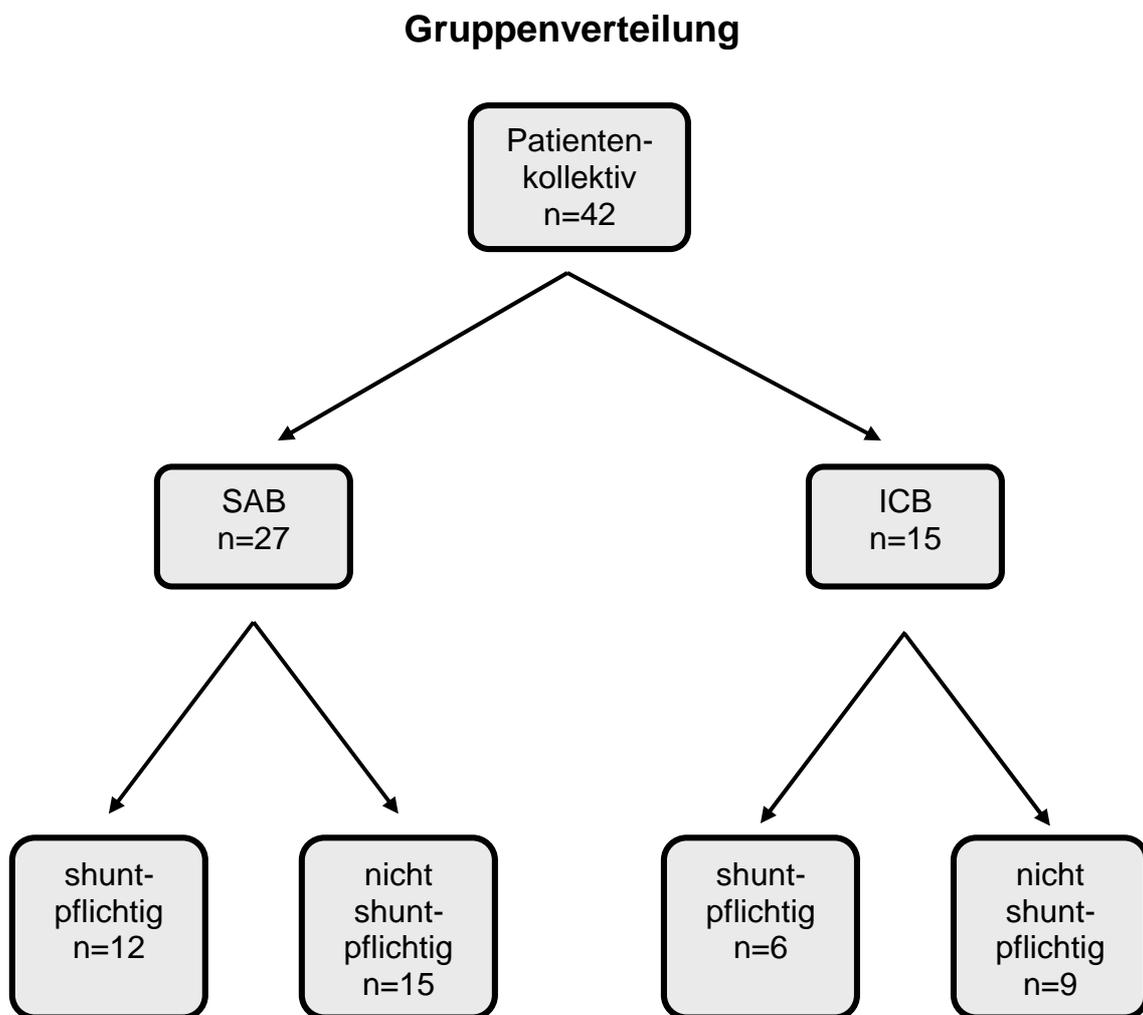


Abbildung 7: Gruppenverteilung des Patientenkollektivs (SAB=Subarachnoidalblutung, ICB=intrazerebrale Blutung; n=Anzahl)

2.3 Proben

Alle Patienten hatten über den Zeitraum der Probenentnahmen einseitig oder beidseitig im Rahmen der Routinetherapie gelegte extraventrikuläre Drainagen oder eine intraoperativ gelegte cisternale Drainage. Des Weiteren lag jeweils ein zentralvenöser und/oder arterieller Zugang vor. Die gesammelten Proben stammen aus den Jahren 2001-2003 in einer Gesamtzahl von insgesamt 840 (42 Patienten). Die nachstehende Tabelle zeigt die in die Studie eingegangenen Fallzahlen.

Tabelle 6: In die Studie eingegangene Fallzahlen

Entnahmejahr	Patienten	Proben
2001	13 (31%)	260
2002	15 (36%)	300
2003	14 (33%)	280
Gesamt	42 (100%)	840

Die Proben wurden bei jedem Patienten unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit in gleicher Art und Weise entnommen, aufbereitet und konserviert. Bei allen in das Patientenkollektiv aufgenommenen Personen wurden die ersten zehn Tage nach dem Blutungsereignis einmal täglich fünf ml Liquor cerebrospinalis aus einer EVD oder einer cisternalen Drainage gewonnen. Dabei wurde bei bilateral in den Seitenventrikeln liegenden Drainagen darauf geachtet, dass täglich aus derselben Drainage das Entnahmematerial stammte. Direkt nach der Entnahme wurde der Liquor in ein handelsübliches Citratröhrchen gefüllt. Citrat und Probe standen dabei in einem Verhältnis von eins zu zehn (1:10). Desweiteren wurde zeitgleich mit den Liquorproben vom ersten bis zehnten Untersuchungstag fünf ml Blut aus einem arteriellen oder zentralvenösen Zugang gewonnen und in ein handelsübliches Citratröhrchen in einem Verhältnis von eins zu zehn (1:10) gegeben. Anschließend wurden die Proben innerhalb 30 min im Forschungslabor der Neurochirurgischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Gießen für 15 min bei 3500 Umdrehungen/min bei drei C° zentrifugiert. Je Entnahmeprobe wurde dreimal etwa 600-800 µl des Überstandes in ein Reaktionssicherheitsgefäß (1,5 ml) pipettiert und die beschrifteten Gefäße bei ca. -25 C° gelagert. Jede tiefgefrorene Probe wurde im Verlauf nur einmal aufgetaut und dann innerhalb einer halben Stunde verarbeitet.

2.4 Material

2.4.1 Substrate und Puffer des TGF- β 1-ELISA

1. Antikörper (Capture Antibody-Part 840116)

Antikörper der Maus gegen TGF- β 1 in PBS zu einer Arbeitskonzentration von 2000 pg/ml verdünnt

2. Enzymgebundener Nachweisantikörper (Detection Antibody-Part 84011)

Biotingebundener Antikörper des Pferdes gegen humanes TGF- β 1 mit Reagenzienverdünner (Reagent Diluent) zu einer Arbeitskonzentration von 300 ng/ml verdünnt

Standard (Part 840118)

Humanes TGF- β 1 mit 25 ml Reagent Diluent zu einer Arbeitskonzentration von 2000 pg/ml verdünnt

Streptavidin-HRP (Part 890803)

1 ml Streptavidin an Merrettichperoxidase gebunden mit 200 ml Reagent Diluent zu der Arbeitskonzentration verdünnt

Reagenzienverdünner (Reagent Diluent)

1,4 ml Verdünnungskonzentrat (Diluent Concentrate) mit 98,6 ml 0,05% Tween 20 in PBS zu 100 ml Reagent Diluent angesetzt

pH 7,2 – 7,4

Best.Nr.: DY997

Fa. R&D Systems

Substratlösung

Farbreagenz A (Wasserstoffperoxyd/H₂O₂) und Farbreagenz B (Tetramethylbenzidin) in gleichen Anteilen gemischt und innerhalb 15 min verarbeitet

Best.Nr.: DY999

Fa. R&D Systems

Stopplösung

Schwefelsäure (H₂SO₄)

2 N Lösung

Best.Nr.: DY994

Fa. R&D systems

Waschpuffer

0,05 % Tween 20 (Polyoxyethylensorbitonmonolaurat) in PBS gelöst

pH 7,2–7,4

Best.Nr.: P-7949

Fa. Sigma

Anti-Maus IgG beschichtete Mikrotiterplatte

EventCoat Goat Anti-mouse IgG Microplates

Best.Nr.: CP001

Fa. R&D Systems

2.4.2 Substrate und Puffer des TGF-β2-ELISATGF-β2 Konjugatlösung (TGF-β2 Conjugate- Part 890438)

Polyklonaler Antikörper gegen TGF-β2 an Meerrettichperoxidase gebunden mit Konservierungsstoffen

TGF-β2 Standard (Part 890267)

Humanes TGF-β2 in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsstoffen; bei Zugabe von 2 ml Kalibrierverdüner (Calibrator Diluent RD51) erhält man eine Konzentration von 2000 pg/ml

Kalibrierverdüner (Calibrator Diluent RD51)

Gepufferte Proteinlösung mit Konservierungsstoffen

Testverdünner (Assay Diluent RD1-17)

Gepufferte Proteinlösung mit Konservierungsstoffen

Waschpufferkonzentrat (Part 895433)

20 ml des Waschpufferkonzentrats mit 480 ml deionisiertem Wasser zu 500 ml Waschpuffer gemischt

Substratlösung (Part 895000 & Part 895001)

Farbreagenz A (Hydrogenperoxidase) und Farbreagenz B (Tetramethylbenzidin) in gleichen Anteilen gemischt und innerhalb 15 min verarbeitet

Stoplösung (Part 895032)

2 N Schwefelsäure (H₂SO₄)

TGF-β₂ Mikrotiterplatte (Part 890437)

96-Wannen-Mikrotiterplatte mit einem monoklonalen Antikörper gegen TGF-β₂ vorbeschichtet

2.4.3 Substrate und Puffer des Albumin BN™ II System

	<u>Best.Nr.</u>
N Antiserum to Human Albumin	OSAL 11
N Antiserum to Human Albumin	OSAL 15
N Protein Standard SL	OQIM 13
N/T Protein Control SL/L	OQIN 13
N/T Protein Control SL/M	OQIO 13
N/T Protein Control SL/H	OQIP 13
N/T Protein Control LC	OQLW15
N Diluent	OUMT65
N Reaction Buffer	OUMS65
BN™ II Evaporation Stoppers (optional)	OVLE 21
BN™ II Dilution Wells	OVIC 11
BN™ II Cuvette Segments	OVIB 31

Fa. DadeBehring, Bad Schwalbach

2.4.4 Chemikalien und Reagenzien

HEPES

M = 238,3 g/mol

Best.Nr.: H-4034

Fa. Sigma

PBS-Phosphatpuffer

pH 7,2-7,4

Best.Nr.: P-3814

Fa. Sigma

Harnstoff/Urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$)

M = 60,06 g/mol

Best.Nr.: 1.08488.0250

Fa. Merck

Essigsäure (CH_3COOH) 100 %/Eisessig

Best.Nr.: 1.00063

Fa. Merck

Natronlauge (NaOH)

40 g Natriumhydroxid Plätzchen (M = 40,00 g/mol) in 100 ml deionisiertem Wasser zu 100 ml 10 N Natronlauge verdünnt

Best.Nr.: 1.06498

Fa. Merck

Salzsäure (HCl)

1 N Lösung

Best.Nr.: 1.09057

Fa. Merck

Aqua ad iniectabilia

destilliertes oder deionisiertes Wasser

Fa. Merck

2.4.5 GerätschaftenHanddispenser (Eppendorf)

Eppendorf Multipette plus

Best.Nr.: 4981 000.019

Fa. Eppendorf

Combitips (Eppendorf)

Verschiedene Größen Eppendorf Combitips plus

Fa. Eppendorf

Pipette (Eppendorf)

Eppendorf Reference

Gelb 10-100µl

Best.Nr.: 4910 000.042

Blau 100-1000 µl

Best.Nr.: 4910 000.069

Fa. Eppendorf

Mehrkanalpipette

Finnpipette

50-400 µl; 8-Kanal

Best.Nr.: B 58084

Fa. Labysystems

Pipettenspitze

Verschiedene Größen (0,5-1000µl)

Fa. Eppendorf

Bechergläser

verschiedene Größen

Fa. Braun

Reaktionsgefäße

Multi-Sicherheitsreaktionsgefäße 1,5 ml

Best.Nr.: 7080.1

Fa. Roth

Präzisions-pH-Meter

handylab 2 BNC

Fa. Schott

Laborrührer

Typ MR 3001

Fa. Heidolph

Tischmixer

Typ Vortex-Genie 2

Fa. Scientific Industries

Zentrifuge

Typ Labofuge 400R

Fa. Heraeus Instruments

Mikrotiterplatten-Lesegerät

Typ μ -Quant Spektralphotometer MQX200

Fa. Bio-Tek Instruments

Platten-Lesegerät-Software

KC-Junior

Fa. Bio-Tek Instruments

2.5 ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay)

2.5.1 Testprinzip

Das Akronym ELISA steht für Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay. Die hier angewandten Tests wurden zur Bestimmung der Zytokine TGF- β 1 und - β 2 eingesetzt. Beide Verfahren arbeiten nach der quantitativen „Sandwich“-Methode, bei der man eine direkte Proportionalität zwischen Antigenkonzentration und Messsignal erhält. Der Begriff „Sandwich“ wurde von der Tatsache geprägt, dass das Antigen wie in einem belegten Brot zwischen zwei Antikörpern liegt.

Beim ELISA-Testprinzip liegt der erste Antikörper spezifisch gegen ein Antigen im Überschuss vor und ist fest an die Wand der einzelnen Wannen einer Mikrotiterplatte gebunden. Das bezeichnet man als „solid phase Antikörper“. Die Einführung der Streptavidin-Biotin-Technologie brachte bei gleichbleibender immunologischer Reaktivität des Antikörpers ein universelles und zugleich simples System zur wandständigen Fixierung von Antikörpern hervor. Nach Einbringung der aktivierten Standards oder Proben in die einzelnen Wannen, binden sich alle in der Probe vorhandenen Moleküle mit spezifischer Antigenwirkung an diesen immobilisierten Antikörper. Anschließend müssen alle nicht gebundenen Substanzen ausgewaschen werden. Es folgt die Zugabe des zweiten Antikörpers (2. Immunreaktion), der gegen eine zweite Bindungsstelle des Antigens gerichtet ist und eine Enzymmarkierung trägt. Es werden wiederum alle nicht gebundenen Substanzen weggespült. Nachfolgend werden in der Indikatorreaktion das Substrat, welches meist aus zwei Farbreagenzien besteht, für die enzymatische Umsetzung zugefügt. Dieser Schritt hat einen Farbumschlag proportional zum initial gebundenen Antigen zur Folge. Der Farbumschlag wird durch die Zugabe der sogenannten Stopplösung beendet. Die Intensität des Farbumschlags kann dann mittels eines Photometers und der zugehörigen Software gemessen und mit Hilfe einer Standardkurve in die vorhandene Konzentration des gesuchten Antigens umgerechnet werden. Die folgende Abbildung stellt schematisch das Testprinzip des ELISA dar.

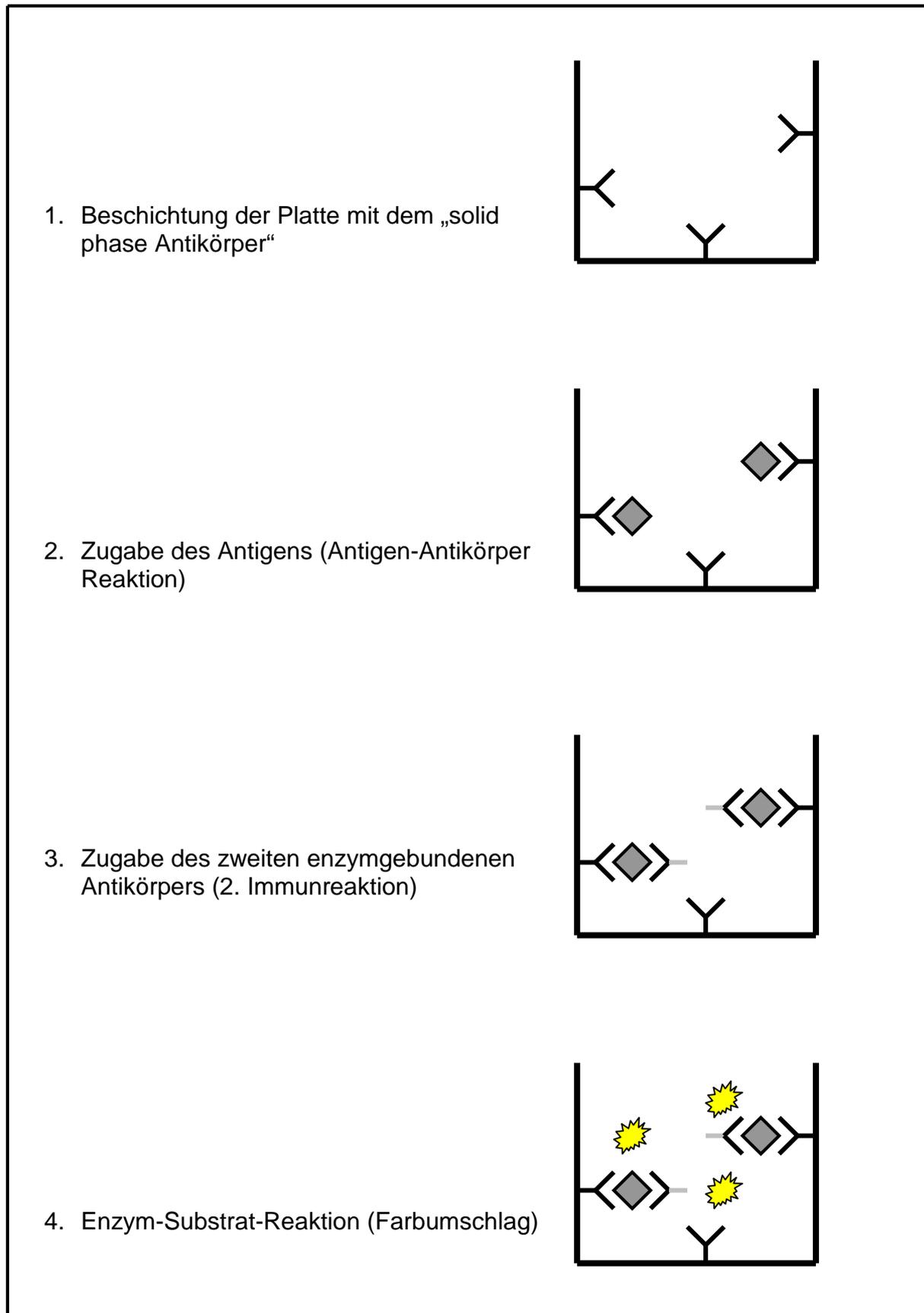


Abbildung 8: Schematische Darstellung des ELISA-Testprinzips

2.5.2 TGF- β 1-ELISA

Dieser spezielle ELISA für den quantitativen Nachweis von humanem TGF- β 1 arbeitet nach dem Prinzip der oben erklärten „Sandwich“-Methode und misst sowohl natürliches als auch rekombinantes TGF- β 1. Es handelt sich um ein Produkt der Firma R&D Systems GmbH mit dem Namen „DuoSet human TGF- β 1“ und der Katalognummer DY240.

Zu Beginn werden die tiefgefrorenen Proben auf Zimmertemperatur gebracht und mit einem Tischmixer gut gemischt. Das in den Proben teils inaktive TGF- β 1 muss in die immunaktive Form gebracht werden. Für diese Vorgänge sollte man lediglich Röhren aus Polypropylen verwenden.

Zunächst müssen zwei Reagenzien vorbereitet werden:

1. 2,5 N Essigsäure (CH₃COOH)/10 M Harnstoff (Urea)
 - 100 ml deionisiertem Wasser 150,2 g Harnstoff zufügen
 - gut mischen
 - langsames Hinzufügen von 35,9 ml Essigsäure (100 %)/Eisessig
 - gut mischen
 - mit deionisiertem Wasser auf 250 ml auffüllen

2. 2,7 N Natronlauge (NaOH)/1 M HEPES
 - 140 ml deionisiertem Wasser 67,5 ml 10 N Natronlauge zufügen
 - gut mischen
 - Hinzufügen von 59,5 ml HEPES
 - mit deionisiertem Wasser auf 250 ml auffüllen

Die Aktivierung besteht aus folgenden vier Schritten:

1. zu 100 μ l Probe 100 μ l 2,5 N Essigsäure/10 M Harnstoff geben- gut mischen
2. 10 min bei Raumtemperatur (RT) inkubieren
3. durch Zugabe von 100 μ l 2,7 N Natronlauge (NaOH)/1 M HEPES neutralisieren- gut mischen
4. bei Plasmaproben 75 μ l der aktivierten Probe 1:12/ bei Liquorproben 150 μ l der Probe 1:6 mit 225 μ l Reagenzienverdünner (Reagent Diluent) verdünnen- gut mischen und innerhalb der folgenden zwei Stunden mit dem Test verarbeiten

Der von R&D Systems mitgelieferte Standard wird mit 25 ml Reagenzienverdünner (Reagent Diluent) versetzt. Somit erhält man eine Stammlösung mit einer TGF- β 1-Konzentration von 2000 pg/ml. Nach frühestens 15 min können die Verdünnungsserien angesetzt werden. Dazu werden sechs Polypropylenröhrchen mit je 500 μ l Reagent Diluent gefüllt. Von der Stammlösung werden 500 μ l in das erste Röhrchen gegeben und gut vermischt, wodurch eine Konzentration von 1000 pg/ml entsteht. Bis zum letzten der sechs Röhrchen werden immer fortlaufend 500 μ l aus dem vorherigen Gefäß in das folgende transferiert und anschließend gut gemischt. Dabei entstehen Lösungen mit den Konzentrationen 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml und 31,2 pg/ml (siehe Abb. 8). Der unverdünnte Standard wird als höchster Standard (2000 pg/ml) verwendet, das mitgelieferte Reagent Diluent als Nullstandard.

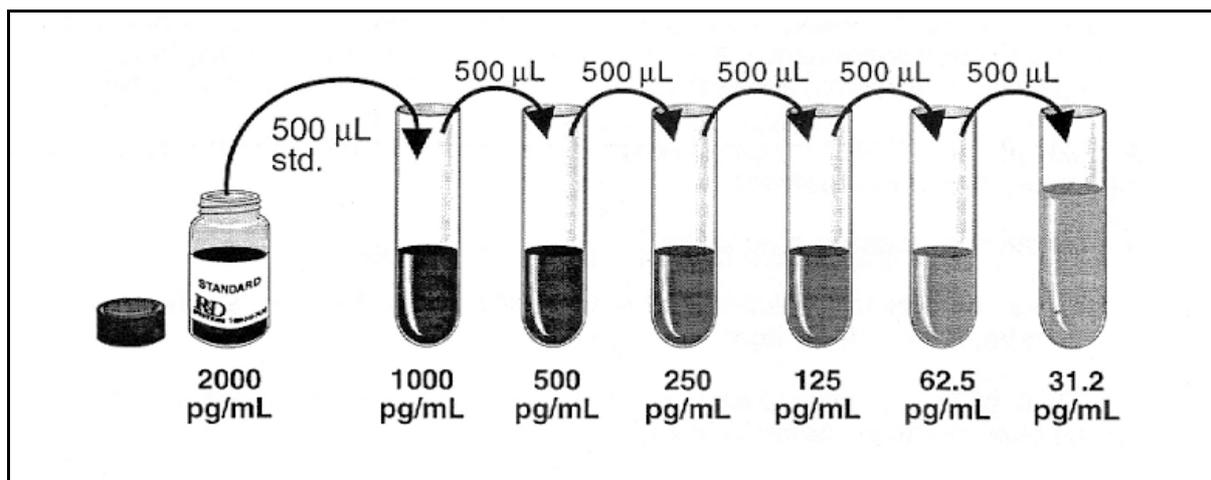


Abbildung 9: Prinzip der Standardverdünnung des TGF- β 1-ELISA (auch für den TGF- β 2-ELISA gültig; Quelle: Handbuch des Kits „DuoSet human TGF- β 1“ der Firma R&D Systems)

Die bei diesem Assay verwendeten Mikrotiterplatten sind nicht mit dem „solid-phase Antikörper“ (Capture Antibody) gegen TGF- β 1 vorbeschichtet. Es handelt sich um vorgeblockten Mikrotiterplatten mit 96 Wannern aus Polystyren, die mit einem Antikörper spezifisch gegen den Fc-Teil von Anti-Maus-IgG gerichtet sind. Somit sind die Platten mit dem in diesem Test benutzten ersten Antikörper der Maus (Capture Antibody) einfacher zu beschichten. Der mitgelieferte Antikörper (Capture Antibody) wird in einem ml PBS aufgelöst, so dass man eine Konzentration von 360 μ g/ml erhält. Um die Arbeitskonzentration von zwei μ g/ml zu erreichen wird die Stammlösung (360 μ g/ml) eins zu 180 mit PBS verdünnt. Zu den Mikrotiterplatten

werden anschließend 100 µl der auf diese Weise verdünnten Antikörperlösung gegeben. Die Platten sollten mit einer Schutzfolie versiegelt werden und 60 min bei Raumtemperatur (RT) inkubieren. Nach Abschütten der Überstände erfolgt das Aspirieren und anschließende Waschen der Mikrotiterplatten mit 400 µl Waschpuffer pro Vertiefung. Dabei sollte nach Zufügen des Waschpuffers mit einer Mehrkanalpipette versucht werden, die Flüssigkeit komplett zu entfernen, um einen optimalen Verlauf zu gewährleisten. Dieser Vorgang wird insgesamt dreimal wiederholt. Nach dem letzten Waschvorgang sollte jeglicher Rest des Waschpuffers durch Aspiration oder besser Abklopfen der Platte gegen ein sauberes Papiertuch entfernt werden. Die Platten sind nun bereit zur Applikation der Proben.

Nachdem alle Vorbereitungen abgeschlossen sind werden je 100 µl Standard oder aktivierte Probe nach dem Prinzip der Doppelbestimmung in die jeweiligen Wannens pipettiert.

Die folgende Abbildung soll das Pipettierschema des TGF-β1-ELISA verdeutlichen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Std. 2000	Std. 2000	Probe 1	Probe 1	Probe 9	Probe 9	Probe 17	Probe 17	Probe 25	Probe 25	Probe 33	Probe 33
B	Std. 1000	Std. 1000	Probe 2	Probe 2	Probe 10	Probe 10	Probe 18	Probe 18	Probe 26	Probe 26	Probe 34	Probe 34
C	Std. 500	Std. 500	Probe 3	Probe 3	Probe 11	Probe 11	Probe 19	Probe 19	Probe 27	Probe 27	Probe 35	Probe 35
D	Std. 250	Std. 250	Probe 4	Probe 4	Probe 12	Probe 12	Probe 20	Probe 20	Probe 28	Probe 28	Probe 36	Probe 36
E	Std. 125	Std. 125	Probe 5	Probe 5	Probe 13	Probe 13	Probe 21	Probe 21	Probe 29	Probe 29	Probe 37	Probe 37
F	Std. 62,5	Std. 62,5	Probe 6	Probe 6	Probe 14	Probe 14	Probe 22	Probe 22	Probe 30	Probe 30	Probe 38	Probe 38
G	Std. 31,2	Std. 31,2	Probe 7	Probe 7	Probe 15	Probe 15	Probe 23	Probe 23	Probe 31	Probe 31	Probe 39	Probe 39
H	Std. 0	Std. 0	Probe 8	Probe 8	Probe 16	Probe 16	Probe 24	Probe 24	Probe 32	Probe 32	Probe 40	Probe 40

Abbildung 10: Pipettierschema des TGF-β1-ELISA (auch für den TGF-β2-ELISA gültig)

Die Platte sollte aufgrund möglicher Verunreinigungen mit einer Schutzfolie versehen werden und zwei Stunden bei RT inkubieren. Darauf folgt ein erneuter dreimaliger Aspirations- und Waschvorgang, bevor 100 µl des enzymmarkierten Nachweisantikörpers (Detection Antibody) hinzugefügt werden. Wiederum wird die Mikrotiterplatte mit einer Schutzfolie versiegelt und zwei Stunden bei RT inkubiert. Es folgt ein dreimaliges Aspirieren und Waschen.

Nun werden der Platte pro Vertiefung 100 μl der auf Arbeitskonzentration verdünnten Streptavidinlösung (Streptavidin-HRP) der Platte zugefügt und für 20 min bei RT inkubiert. Dabei sollte die Mikrotiterplatte nicht in direktem Licht stehen. Wiederum folgt ein dreimaliges Aspirieren und Waschen. Anschließend werden 100 μl der Substratlösung beigefügt, die eins zu eins aus Wasserstoffperoxyd (H_2O_2) und Tetramethylbenzidin besteht. Eine Inkubationszeit von 20 min unter Lichtschutz bei RT sollte vor Zugabe von 50 μl der Stopplösung gewährleistet sein. Ein leichtes Schütteln der Platte mischt den Inhalt der Wannens.

Jetzt kann mit Hilfe eines ELISA-Plattenlesegeräts die optische Dichte der einzelnen Wannens bei einer Wellenlänge $\lambda=450$ nm gemessen werden. Falls eine Referenzwellenlänge R_λ angegeben werden kann, sollte sie auf 540 oder 570 nm gesetzt werden.

Abbildung 11 stellt die Arbeitsschritte des TGF- β 1-ELISA vereinfacht dar.

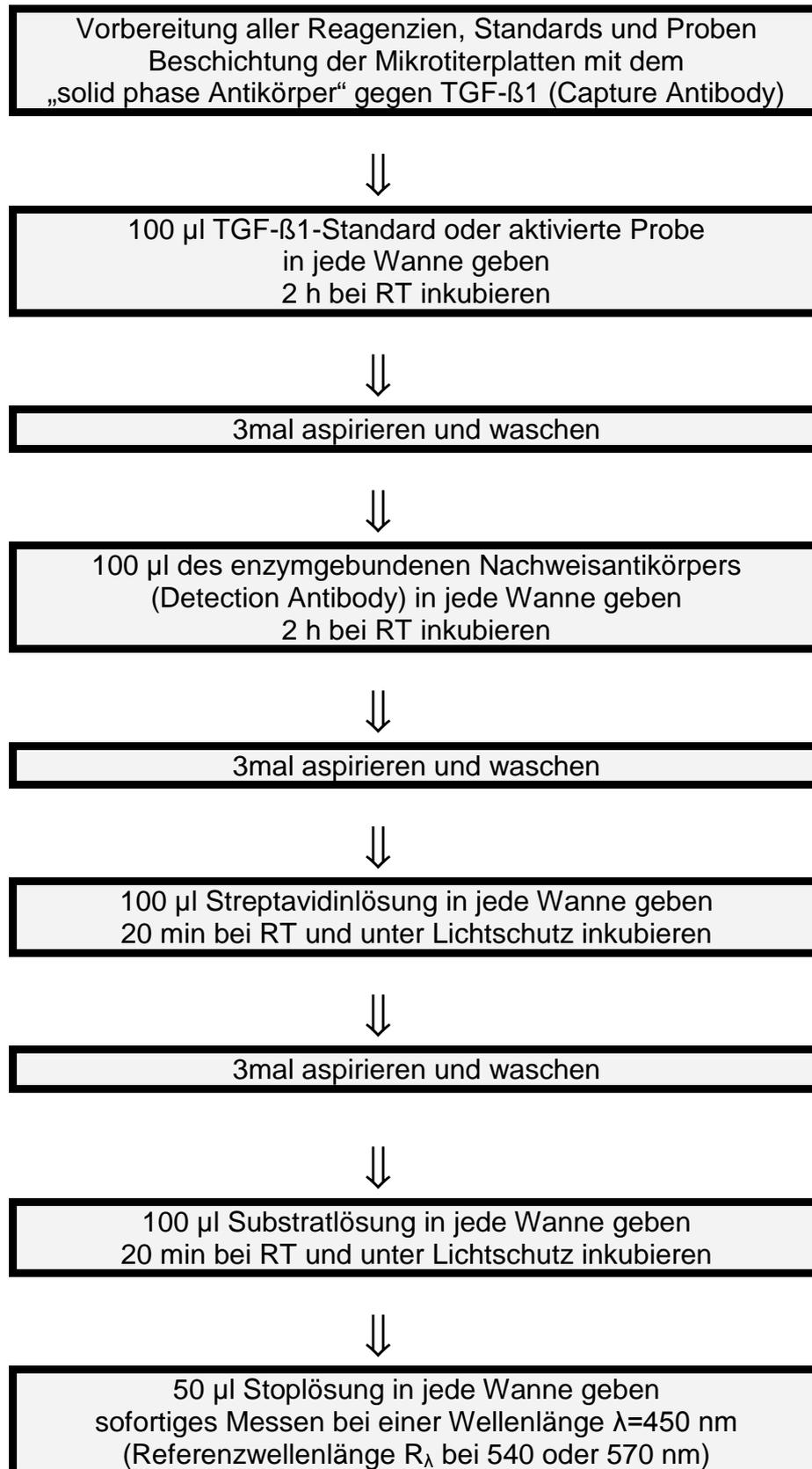


Abbildung 11: Flussdiagramm des TGF-β1-ELISA (RT=Raumtemperatur)

2.5.3 TGF- β 2-ELISA

Dieser spezielle ELISA für den quantitativen Nachweis von humanem TGF- β 2 arbeitet ebenfalls nach dem Prinzip der „Sandwich“-Methode. Es handelt sich um ein Produkt der Firma R&D Systems GmbH mit dem Namen „Quantikine human TGF- β 2“ und der Katalognummer DB250.

Die auf ca. -25 C° gefrorenen Proben werden langsam auf RT gebracht und gut mit einem Tischmixer gemischt. Bevor die Proben auf die Mikrotiterplatten gegeben werden können, müssen sie erst in vier Arbeitsschritten aktiviert werden. Dazu sollte man Röhrchen aus Polypropylen verwenden.

Zuvor müssen zwei Reagenzien vorbereitet werden:

1. 1 N Salzsäure (HCL)
 - 91,67 ml deionisiertem Wasser langsam 8,33 ml 12 N Salzsäure zugefügen
 - gut mischen

2. 1,2 N Natronlauge (NaOH)/0,5 M HEPES
 - 75 ml deionisiertem Wasser langsam 12 ml 10 N Natronlauge zugefügen
 - gut mischen
 - 11,9 g HEPES hinzufügen
 - gut mischen
 - mit deionisiertem Wasser auf 100 ml auffüllen

Die Aktivierung besteht aus folgenden vier Schritten:

1. zu 125 μ l der Probe 25 μ l 1 N Salzsäure (HCl) geben- gut mischen
2. 10 min bei RT inkubieren
3. durch Zugabe von 25 μ l 1,2 N Natronlauge (NaOH)/0,5 M HEPES neutralisieren- gut mischen
4. 800 μ l Kalibrierverdünnung (Calibrator Diluent RD51) zugeben- gut mischen und innerhalb 2 Stunden für den Test verwenden

Der mitgelieferte Standard wird mit zwei ml Calibrator Diluent RD51 versetzt. Damit entsteht eine Stammlösung mit einer TGF- β 2-Konzentration von 2000 pg/ml. Vor Ansetzen der Verdünnungsserien sollten mindestens 15 min verstreichen (siehe TGF- β 1-ELISA). Die unverdünnte Stammlösung wird als höchster Standard (2000 pg/ml) verwendet, reines Calibrator Diluent dient als Nullstandard.

Nachdem alle Reagenzien, Standards und Proben vorbereitet sind, werden 100 μ l Testverdünner (Assay Diluent RD1-17) in jede Wanne der mit dem monoklonalen Antikörper gegen TGF- β 2 vorbeschichteten Mikrotiterplatte gegeben. Bei diesem Assay sind die Platten bereits vorbeschichtet und der sogenannte „solid phase Antikörper“ muss somit nicht an die Vertiefungen der Mikrotiterplatten fixiert werden. Als nächstes werden je 100 μ l Standard oder aktivierte Probe nach dem Prinzip der Doppelbestimmung (siehe TGF- β 1-ELISA) in die jeweiligen Wannen pipettiert und mit einer Schutzfolie versehen. Es folgt eine zweistündige Inkubation bei Raumtemperatur. Nach Abschütten der Überstände findet ein dreimaliger Aspirations- und Waschvorgang der Mikrotiterplatte mit 400 μ l Waschpuffer pro Vertiefung statt. Nun werden in jede Wanne 200 μ l der TGF- β 2-Konjugatlösung (TGF- β 2 Conjugate), dem zweiten enzymgebundenen Antikörper entsprechend, gegeben, mit einer neuen Schutzfolie versehen und wiederum zwei Stunden bei RT inkubiert. Nach der Inkubationszeit wird der dreimalige Aspirations- und Waschvorgang wiederholt. Anschließend werden 200 μ l der Substratlösung in jede Wanne gegeben. Die Platte muss nun 20 min bei RT und unter Lichtschutz inkubieren, bevor das Ende der Enzymreaktion durch Zugabe von 50 μ l Stopplösung erfolgt.

Jetzt kann innerhalb 30 min mit Hilfe eines ELISA-Plattenlesegeräts die optische Dichte der einzelnen Lösungen bei einer Wellenlänge $\lambda=450$ nm gemessen werden. Falls eine Referenzwellenlänge R_λ angegeben werden kann sollte sie auf 540 oder 570 nm gesetzt werden.

Die nachstehende Abbildung zeigt vereinfacht die Arbeitsschritte des TGF- β 2-ELISA.

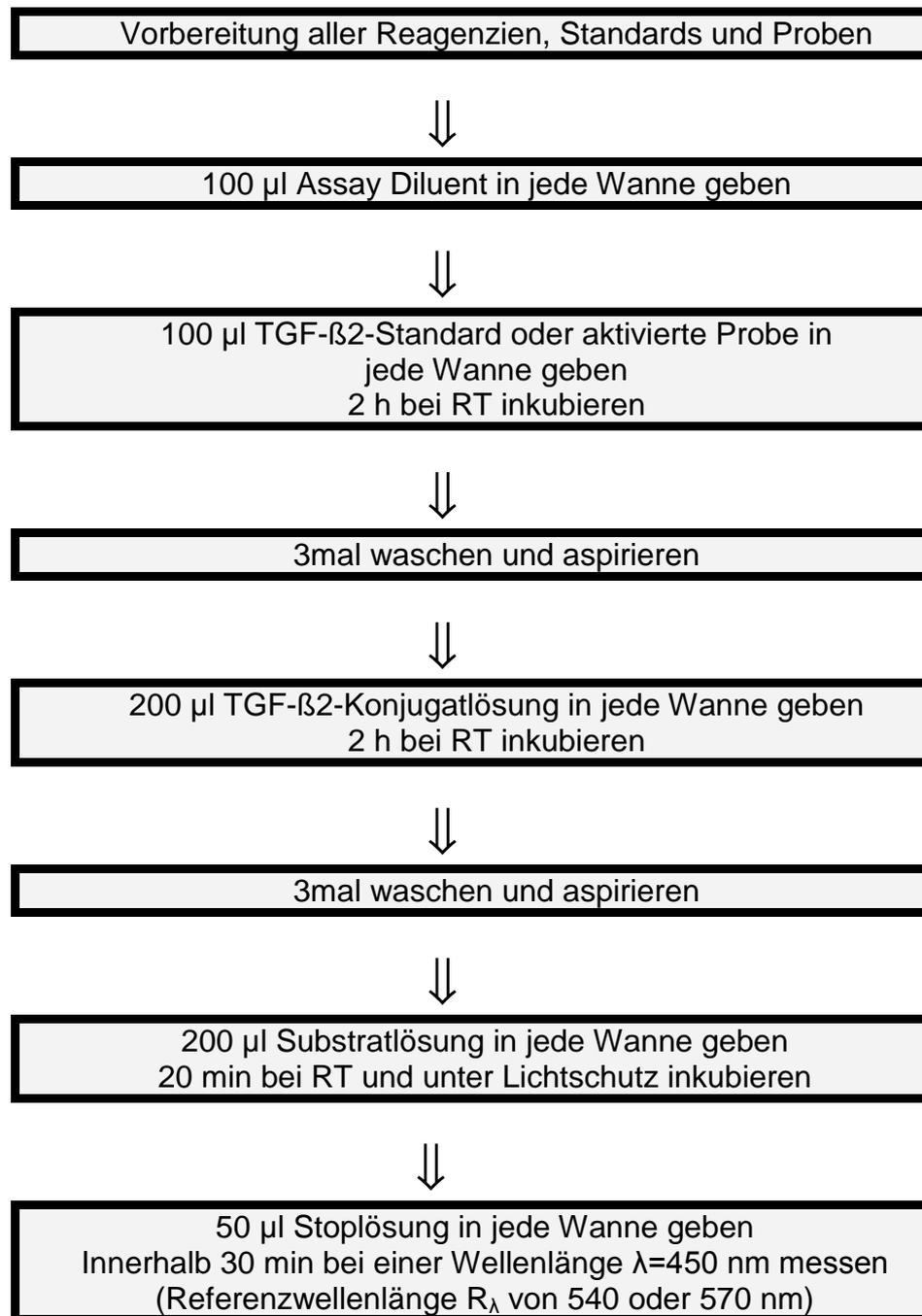


Abbildung 12: Flussdiagramm des TGF-β2-ELISA (RT=Raumtemperatur)

2.5.4 Standardkurve der TGF- β 1- und TGF- β 2-ELISA

Bei den TGF- β 1- und TGF- β 2-ELISA wurden alle notwendigen Berechnungsschritte sowie graphische Darstellungen der Standardkurven und Probenkonzentrationen in gleicher Art und Weise durchgeführt. Aufgrunddessen soll die folgende Darstellung für beide Tests gelten. Für jeden durchgeführten Assay wurden neue Standards angesetzt, in Doppelbestimmung auf der jeweiligen Mikrotiterplatte aufgetragen und gemessen. Weiterhin wurde für jeden Test eine eigene Standardkurve erstellt. Um die Schwankungen der verschiedenen Assays auszugleichen wurde ein Verfahren mit einem hochpositivem Standard gewählt. Dieser wurde in acht verschiedenen Konzentrationen doppelt auf die Mikrotiterplatte aufgetragen. Aus den Doppelbestimmungen wurden die arithmetischen Mittelwerte errechnet.

Die verwendeten Konzentrationen betragen:

1. Standard 1 = 2000 pg/ml
2. Standard 2 = 1000 pg/ml
3. Standard 3 = 500 pg/ml
4. Standard 4 = 250 pg/ml
5. Standard 5 = 125 pg/ml
6. Standard 6 = 62,5 pg/ml
7. Standard 7 = 31,2 pg/ml
8. Standard 8 = 0 pg/ml

Aus den gemessenen Werten lässt sich die Standardkurve erstellen. Zur besseren und genaueren Darstellung wurde die optische Dichte (optical density) gegen die TGF- β 1- oder TGF- β 2-Konzentration in doppeltlogarithmischer Form aufgetragen.

Die beiden folgenden Abbildungen fungieren als Beispiele einer Standardkurve eines TGF- β 1- und TGF- β 2-Tests. Zusätzlich sind die jeweiligen Regressionsgeraden, ihre Formeln und ihre Regressionskoeffizienten R^2 aufgetragen.

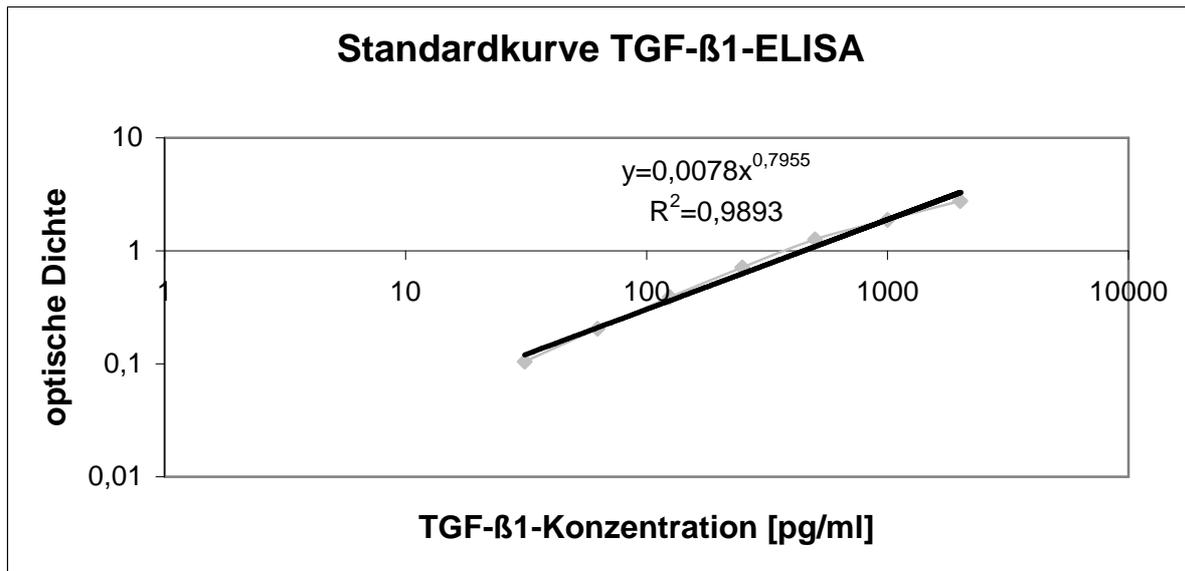


Abbildung 13: Beispiel einer Standardkurve des TGF-β1-ELISA; Darstellung der optischen Dichte in Abhängigkeit von der Konzentration, dazu die Regressionsgerade mit Gleichung und Regressionskoeffizient R^2

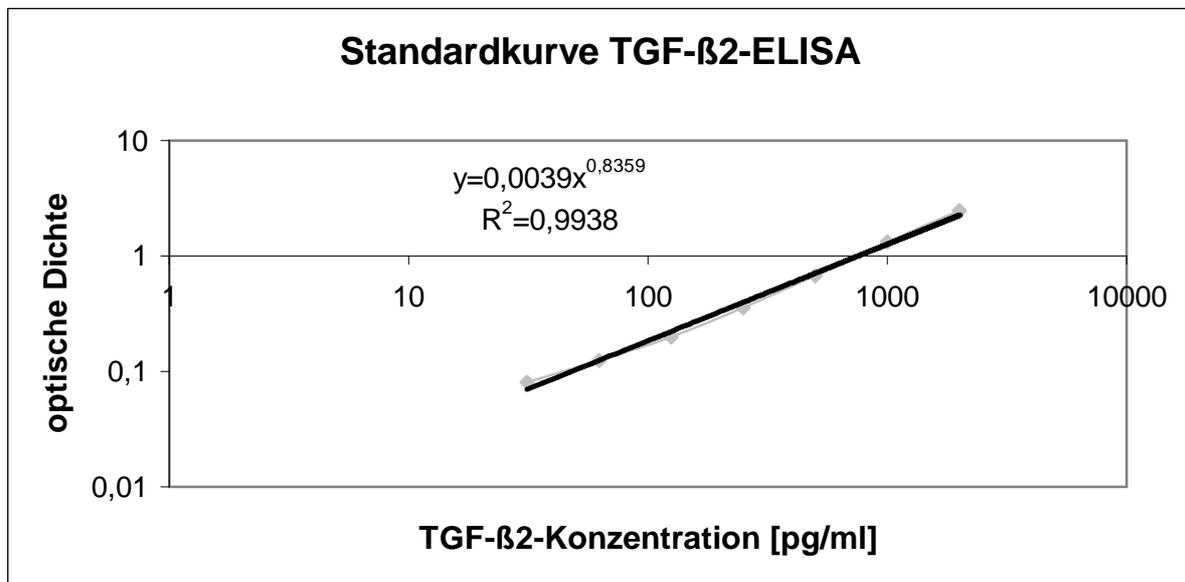


Abbildung 14: Beispiel einer Standardkurve des TGF-β2-ELISA; Darstellung der optischen Dichte in Abhängigkeit von der Konzentration, dazu die Regressionsgerade mit Gleichung und Regressionskoeffizient R^2

Für jede zu untersuchende Liquor- oder Plasmaprobe wurden ebenfalls Doppelbestimmungen durchgeführt. Aus diesen wurde jeweils der arithmetische Mittelwert errechnet. Hieraus konnten anschließend mit Hilfe der entsprechenden Standardkurve die TGF- β 1- oder TGF- β 2-Konzentrationen aus den einzelnen Proben bestimmt werden. Nach Berechnung der gemessenen Konzentrationen muss darauf geachtet werden, die Werte mit dem jeweils verwendeten Verdünnungsfaktor (Plasmaproben 1:12, Liquorproben 1:6) zu multiplizieren, um die tatsächlich in der Flüssigkeit vorhandenen Konzentration zu erhalten.

2.6 Messungen des Albumins

Die Messungen des Albumins im Liquor cerebrospinalis, die in Zusammenarbeit mit der Klinik für Klinische Chemie und Pathobiochemie (Leiter: Prof. Dr. N. Katz) der Justus-Liebig-Universität Gießen im Zentrallabor des Universitätsklinikum Gießen bestimmt wurden, wurden mit dem Lasernephelometer BNTMII der Firma DadeBehring (Bad Schwalbach) gemessen. Mit diesem Verfahren kann Albumin aus humanem Serum, Urin und Liquor cerebrospinalis bestimmt werden.

2.6.1 Testprinzip des Lasernephelometers BNTMII System

Bei dem Analyseverfahren, mit dem das Lasernephelometer BNTMII der Firma DadeBehring (Bad Schwalbach) arbeitet, bilden die zu messenden Proteine der Serum, Urin- oder Liquorproben in einer immunochemischen Reaktion mit spezifischen Antikörpern Immunkomplexe. Diese Komplexe bewirken die Streuung eines Lichtstrahls beim Durchtreten durch die Proben. Die daraufhin gemessene Intensität des gestreuten Lichts ist dabei direkt proportional zum relevanten Protein der Probe. Die Messergebnisse können mit Hilfe einer Standardkurve von bekannten Konzentrationen in die tatsächlichen Proteinmengen umgerechnet werden.

2.7 Statistische Methoden

Die Datenerfassung und graphische Darstellung erfolgten mit Excel 2003.

Die statistische Auswertung bei der Analyse des Patientenkollektivs erfolgte mit GraphPad Prism 3.0.

Für die statistische Auswertung der gemessenen TGF- β 1-, TGF- β 2- und Albuminkonzentrationen, die in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Informatik der Justus-Liebig-Universität Gießen (Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. G. Weiler/ Stellvertreter: Dr. R.-H. Bödeker) durchgeführt wurde, ist SPSS 11.0 für Windows verwendet worden.

Deskriptive Auswertung:

Kombinationen von qualitativen Merkmalen ließen sich anhand von Kreuztabellen, Balken-, Linien- und Kreisdiagrammen darstellen. Für die quantitativen Messwerte wurden Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SD) bestimmt.

Vergleichende Auswertung:

Zur vergleichenden Auswertung der gemessenen Konzentrationen wurde eine mehrfaktorielle multivariate Varianzanalyse (three way MANOVA with repeated measures) durchgeführt. Bei diesem Verfahren wird geprüft, ob ein oder mehrere Faktoren einen signifikanten Einfluss auf die Werte einer Gruppe von mehreren abhängigen Variablen ausüben. Statt für jede abhängige Variable einzeln eine Varianzanalyse durchzuführen, wird in der multivariaten Analyse der Effekt auf alle abhängigen Variablen simultan überprüft.

Bei der Analyse des Patientenkollektivs wurden ungepaarte t-Tests durchgeführt.

Desweiteren wurden zu drei verschiedenen Zeitpunkten (1., 5. und 10. posthämorrhagischer Tag) Korrelationsanalysen durchgeführt. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe der Methode nach Spearman-Rho.

Alle Testungen erfolgten zweiseitig. Das Signifikanzniveau wurde bei den durchgeführten Tests auf $p < 0,001$, $p < 0,01$ oder $p < 0,05$ festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Analyse des Patientenkollektivs

Das Durchschnittsalter der beobachteten Patienten liegt bei 57,1 Jahren mit einer Standardabweichung (SD) von 13,9 Jahren ($n=42$; $MW_J=57,1$; $SD_J=13,9$). Nach Geschlechtern aufgeschlüsselt liegt das mittlere Alter der Frauen mit 55,9 Jahren ($n=27$; $MW_J=55,9$; $SD_J=12,9$) niedriger als das der Männer mit 59,2 Jahren ($n=15$; $MW_J=59,2$; $SD_J=16,1$).

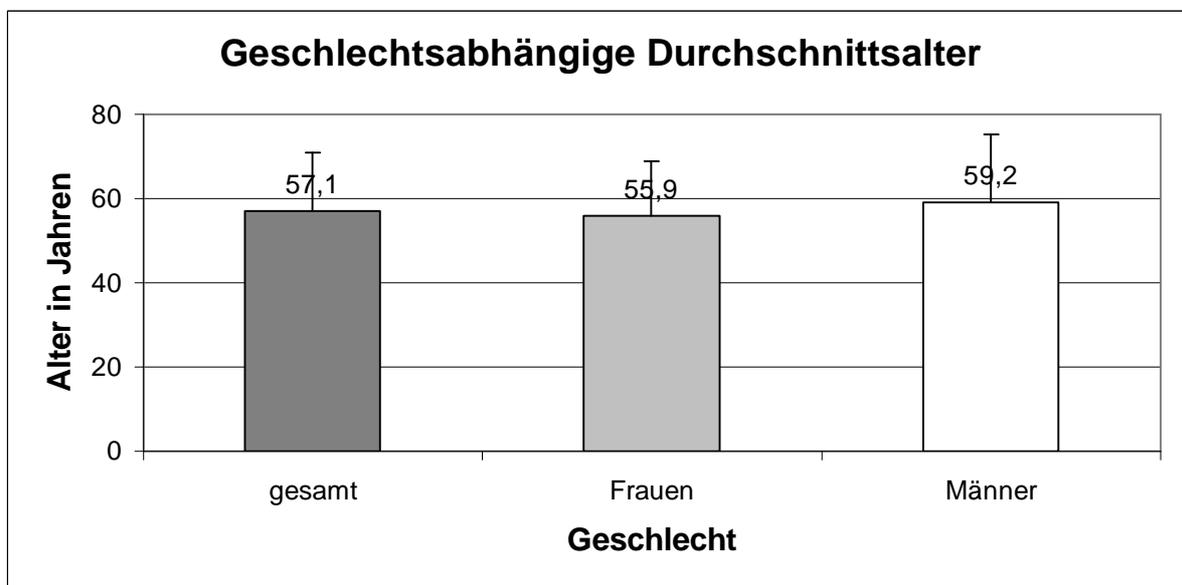


Abbildung 15: Durchschnittsalter der Frauen, Männer und des gesamten Patientenkollektivs

Zur Übersicht zeigt Abbildung 15 die geschlechtsabhängige Altersverteilung des Patientenkollektivs in den einzelnen Lebensdekaden. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass in der Studie insgesamt mehr Frauen als Männer eingeschlossen wurden, kommt dabei eine ausgeglichene Geschlechterverteilung in den einzelnen Dekaden zur Darstellung.

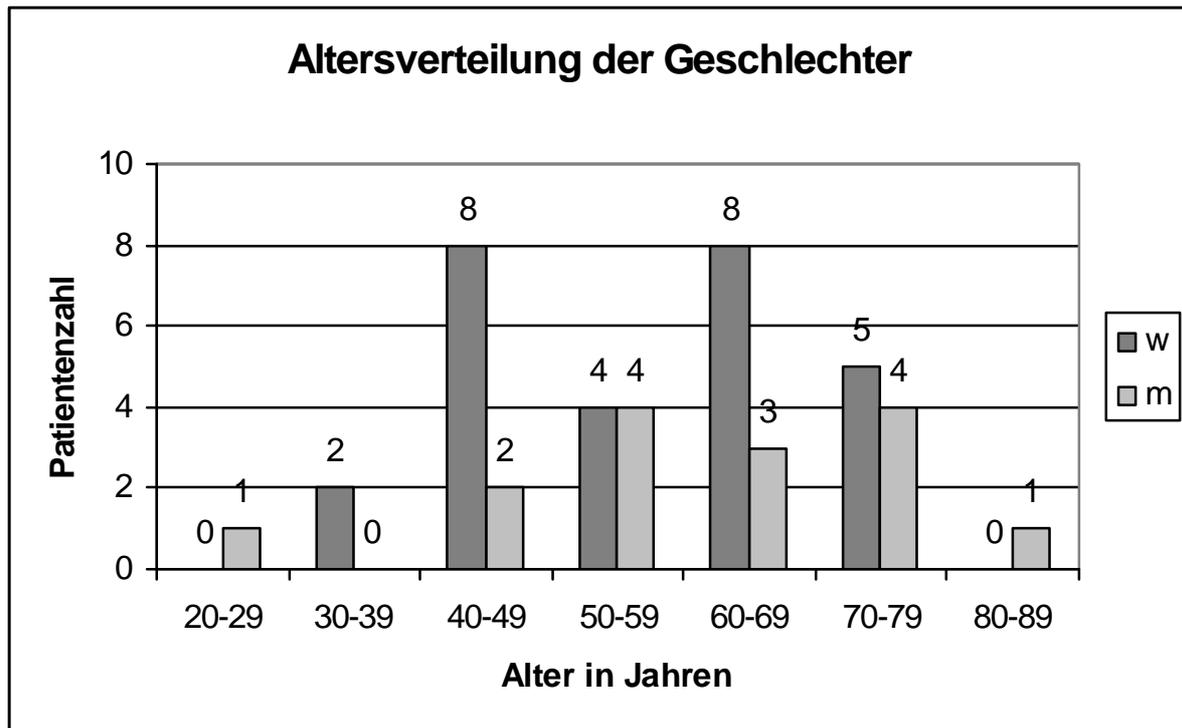


Abbildung 16: Altersverteilung der Geschlechter (w=weiblich; m=männlich)

Wenn man das mittlere Alter abhängig von den Hauptdiagnosen betrachtet, liegen die Patienten mit einer SAB bei 52,2 Jahren ($n=27$; $MW_J=52,2$; $SD_J=13,7$). Diejenigen mit einer ICB sind dabei mit einem Durchschnittsalter von 65,9 Jahren signifikant ($p<0,01$) älter als die SAB-Patienten ($n=15$; $MW_J=65,9$; $SD_J=9,6$).

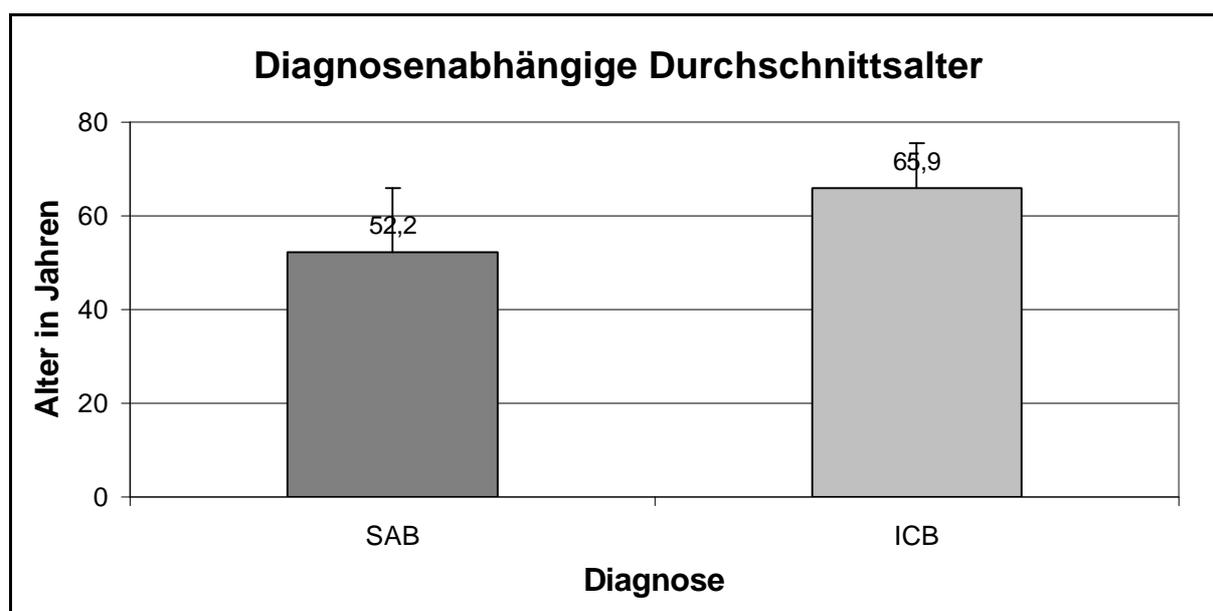


Abbildung 17: Durchschnittsalter abhängig von den beiden Hauptdiagnosen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

Zur Übersicht stellt Abbildung 18 die Altersverteilung des Patientenkollektivs abhängig von der Hauptdiagnose dar. Dabei zeigt sich, dass die ICB-Patienten anteilmäßig in den höheren Lebensdekaden und die SAB-Patienten in den mittleren Dekaden überwiegen.

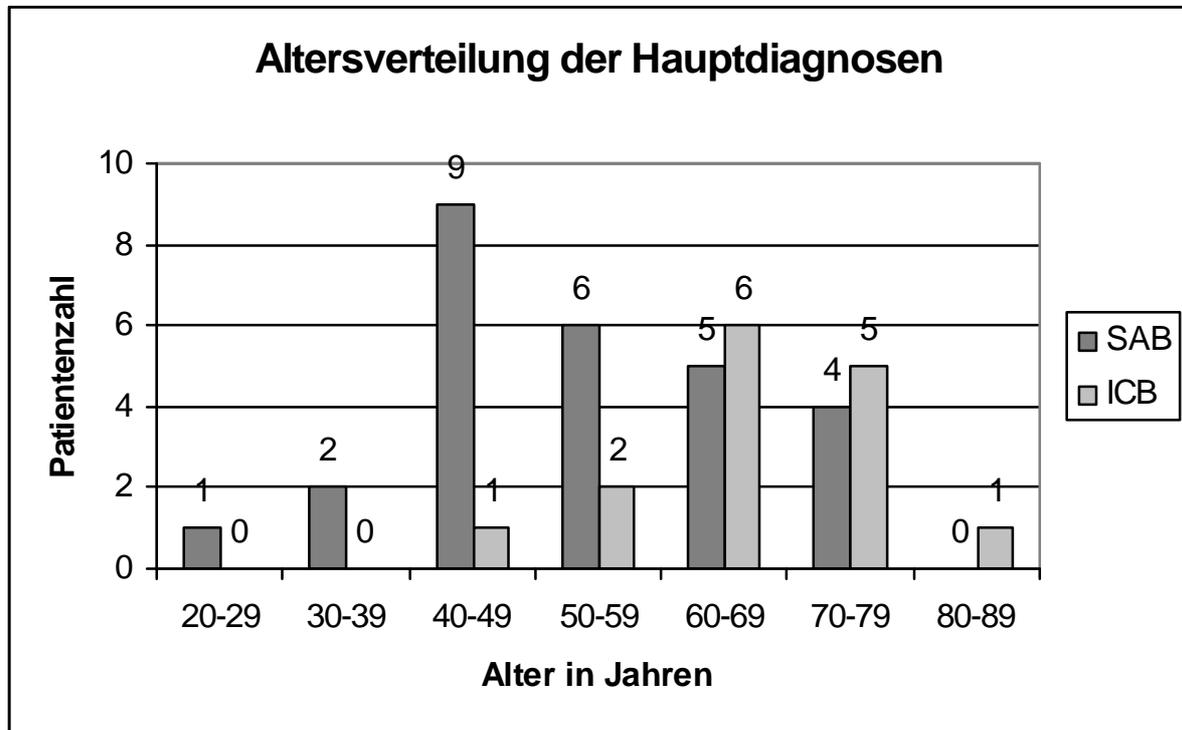


Abbildung 18: Altersverteilung der Hauptdiagnosen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

Im untersuchten Patientenkollektiv sind von insgesamt 42 Patienten 27 weiblichen und 15 männlichen Geschlechts. Das entspricht einer Verteilung von 64% Frauen und 36% Männern. Von den 27 Patienten mit der Diagnose SAB sind 22 weiblich und fünf männlich, was 81,5% bzw. 18,5% entspricht. In unserer Studie sind somit signifikant mehr Frauen an einer SAB erkrankt als Männer ($p < 0,01$). Diese Verhältnisse der Geschlechterverteilung bei SAB-Patienten sind auch in der Literatur zu finden. Von den 15 Patienten mit einer ICB sind fünf Frauen und zehn Männer, entsprechend 33% und 66,6%. An diesem Blutungstyp leiden also im Vergleich zur SAB signifikant ($p < 0,01$) mehr Männer.

Abbildung 16 verdeutlicht die diagnosenabhängige Geschlechterverteilung.

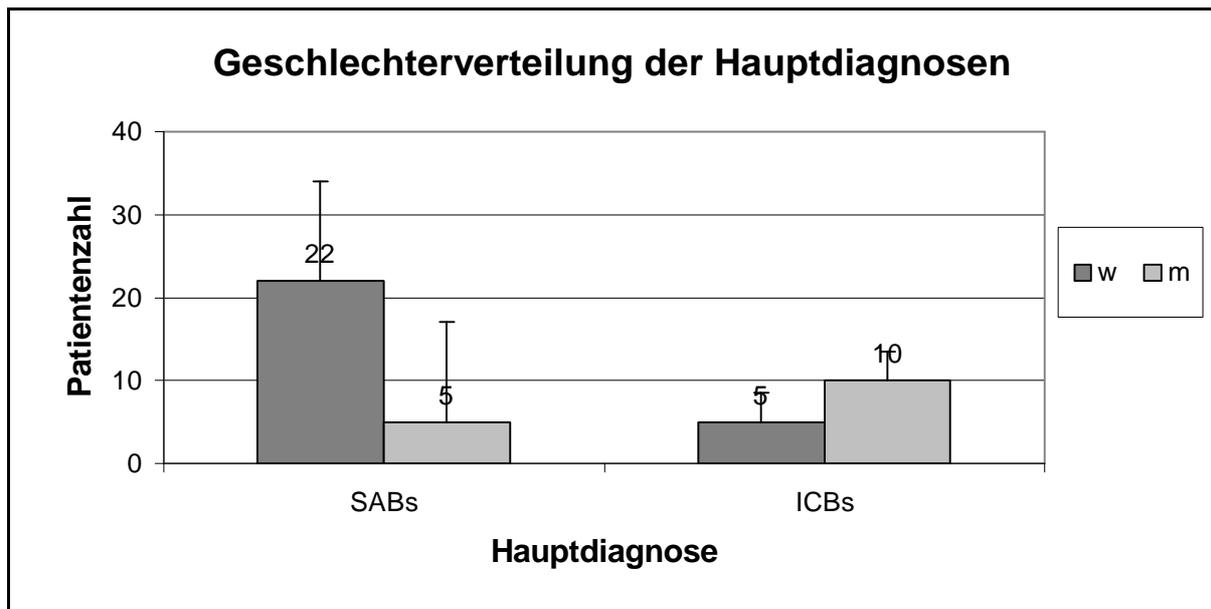


Abbildung 19: Geschlechterverteilung der Hauptdiagnosen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung; m=männlich; w=weiblich)

Als nächstes soll beobachtet werden, ob das Geschlecht signifikant Einfluß auf die Hydrozephalusentwicklung nach einer ICB oder SAB nimmt. Von den weiblichen Patientinnen des Gesamtkollektivs haben 44,4% einen shuntpflichtigen HZ entwickelt und 55,6% keinen ($n=27$; +HZ=12; -HZ=15). Unter den männlichen Patientinnen sind 40% shuntpflichtig geworden, 60% nicht ($n=15$; +HZ=6; -HZ=9). Das Geschlecht nimmt in dieser Serie somit weder signifikant ($p=0,7867$) Einfluss auf die Entwicklung eines HZ und folglich noch auf die Implantation eines VP (ventrikulo-peritoneal)- oder VA (ventrikulo-atrial)-Shunts.

Die Ergebnisse sollen anhand der folgenden Kreuztabelle verdeutlicht werden.

Tabelle 7: Einfluss des Geschlechts auf die Shuntpflichtigkeit des Gesamtkollektivs

	Geschlecht	
	Weiblich	Männlich
nicht shuntpflichtig	15 55,6%	9 60%
Shuntpflichtig	12 44,4%	6 40%
Gesamt	27 100%	15 100%

Auch die Hauptdiagnose nimmt bei der Beobachtung des gesamten Patientenkollektivs nicht signifikant ($p=0,7867$) Einfluss auf die Entwicklung eines chronischen HZ. Von 27 Patienten mit einer SAB haben 44,4% einen posthämorrhagischen HZ entwickelt ($n=27$; $+HZ=12$; $-HZ=15$), bei den ICB-Patienten sind 40% im Verlauf shuntpflichtig geworden ($n=15$; $+HZ=6$; $-HZ=9$). Bei dem gesamten Patientenkollektiv liegt der Anteil an shuntpflichtigen Patienten im Mittel bei 42,9% ($n=42$; $+HZ=18$; $-HZ=24$).

Tabelle 8: Einfluss der Hautdiagnose auf die Shuntpflichtigkeit des Gesamtkollektivs (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

	Diagnose	
	SAB	ICB
nicht shuntpflichtig	15 55,6%	9 60%
Shuntpflichtig	12 44,4%	6 40%
Gesamt	27 100%	15 100%

Dem gegenüber konnte bei der Betrachtung der Shuntpflichtigkeit ein Altersunterschied festgestellt werden. Patienten, die blutungsbedingt einen Hydrozephalus (HZ) entwickelten und somit zur dauerhaften Entlastung ein Shuntsystem implantiert bekamen sind im Mittel mit 62,4 Jahren ($n=18$; $MW_J=62,4$; $SD_J=13,2$) signifikant ($p<0,05$) um fast 10 Jahre älter als jene, die einen Shunt nicht benötigten. Diese Patienten haben ein Durchschnittsalter von 53,1 Jahren ($n=24$; $MW_J=53,1$; $SD_J=13,4$).

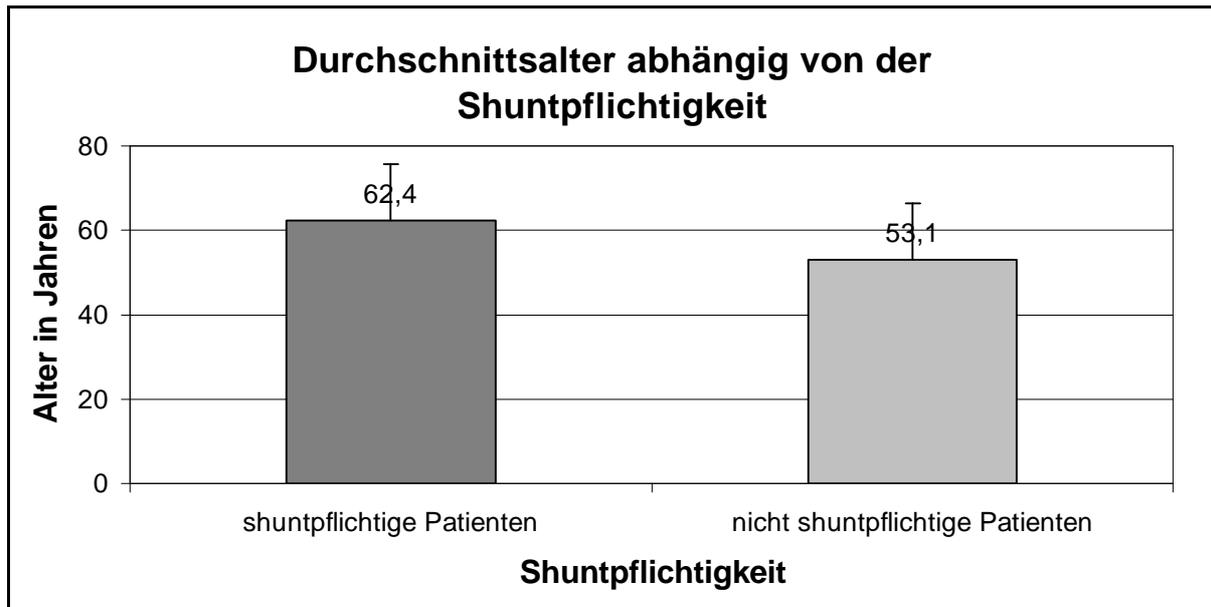


Abbildung 20: Durchschnittsalter in Abhängigkeit von der Shuntpflichtigkeit

Im Gegensatz zum gesamten Patientenkollektiv, nimmt bei den Patienten, die zum Blutungszeitpunkt 60 Jahre oder älter waren, die Hauptdiagnose signifikant ($p < 0,05$) Einfluss auf die Entwicklung eines HZ. Von den 13 Patienten (≥ 60 Jahre) mit einem posthämorrhagischen HZ waren acht SAB-Patienten und fünf ICB-Patienten ($n=13$; SAB=8; ICB=5). Von den acht Patienten ohne Entwicklung eines chronischen HZ hat lediglich einer eine SAB und sieben eine ICB erlitten ($n=8$; SAB=1; ICB=7). Im Umkehrschluss haben von den SAB-Patienten (≥ 60 Jahre) 88,9% ($n=9$; +HZ=8; -HZ=1) und von den ICB-Patienten (≥ 60 Jahre) 41,7% ($n=12$; +HZ=5; -HZ=7) einen posthämorrhagischen HZ entwickelt. Bei allen Patienten, die zum Blutungszeitpunkt 60 Jahre oder älter waren liegt der Anteil an shuntpflichtigen Patienten im Mittel bei 61,9% ($n=21$; +HZ=13; -HZ=8). Folglich haben bei den älteren Patienten des Kollektivs (≥ 60 Jahre) SAB-Patienten signifikant häufiger einen HZ entwickelt als ICB-Patienten. Dabei muß jedoch berücksichtigt werden, dass sowohl die Patienten mit einem shuntpflichtigen Hydrozephalus signifikant älter ($p < 0,05$) sind als die nicht shuntpflichtigen Patienten, als auch die ICB-Patienten signifikant älter sind als die SAB-Patienten ($p < 0,01$) und wie oben bereits beschrieben ist das Alter signifikant ($p < 0,05$) Einfluß auf die Hydrozephalusentwicklung nimmt.

Die folgende Kreuztabelle soll das Verhältnis zwischen shuntpflichtigen und nicht shuntpflichtigen Patienten, die zum Blutungszeitpunkt 60 Jahre oder älter waren, abhängig von der Hauptdiagnose darstellen.

Tabelle 9: Verhältnis zwischen shuntpflichtigen und nicht shuntpflichtigen Patienten (≥ 60 Jahre) abhängig von der Hauptdiagnose (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

	Diagnose	
	SAB	ICB
nicht shuntpflichtig	1 11,1%	7 58,3%
Shuntpflichtig	8 88,9%	5 41,7%
Gesamt	9 100%	12 100%

3.2 Ergebnisse der Zytokine TGF- β 1 und - β 2

Nachfolgend sind die Messdaten der beiden Zytokine TGF- β 1 und - β 2 aus den Plasma- und Liquorproben jeweils für die vier verschiedenen Patientengruppen im Vergleich dargestellt.

Ob es signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen gibt, wurde mit Hilfe einer dreifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung auf einen Fehler (three way MANOVA with repeated measures) überprüft. Die Testungen erfolgten zweiseitig und das Signifikanzniveau wurde bei den durchgeführten Tests auf $p \leq 0,001$, $p \leq 0,01$ oder $p \leq 0,05$ festgelegt.

Die hierbei gewählten Faktoren waren:

- Zeit
- Diagnose
- Shuntpflichtigkeit

Unter den dazugehörigen Abbildungen sind die MW mit ihren Standardabweichungen (SD), als Maß für die Variabilität, tabellarisch zusammengefasst.

3.2.1 TGF- β 1 im Blut

In den folgenden beiden Abbildungen 20 und 21 ist das Verhalten der gemessenen TGF- β 1-Konzentrationen im Blut (gemessen in pg/ml) der SAB- und ICB-Patienten abhängig von der Shuntpflichtigkeit an den zehn Messzeitpunkten aufgezeichnet. Danach folgt die dazugehörige Tabelle mit den jeweiligen Mittelwerten und Standardabweichungen.

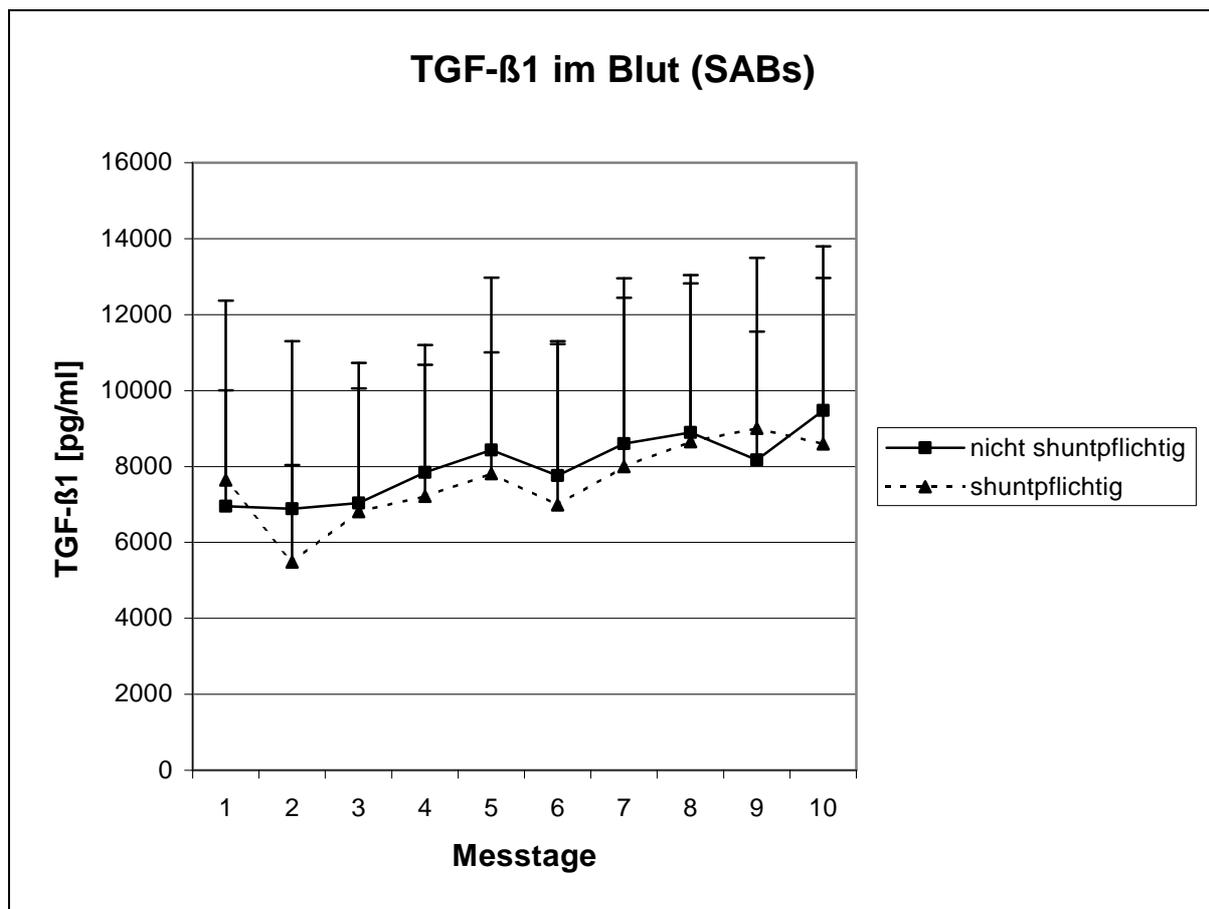


Abbildung 21: Verhalten von TGF- β 1 im Blut der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (SAB=Subarachnoidalblutung).

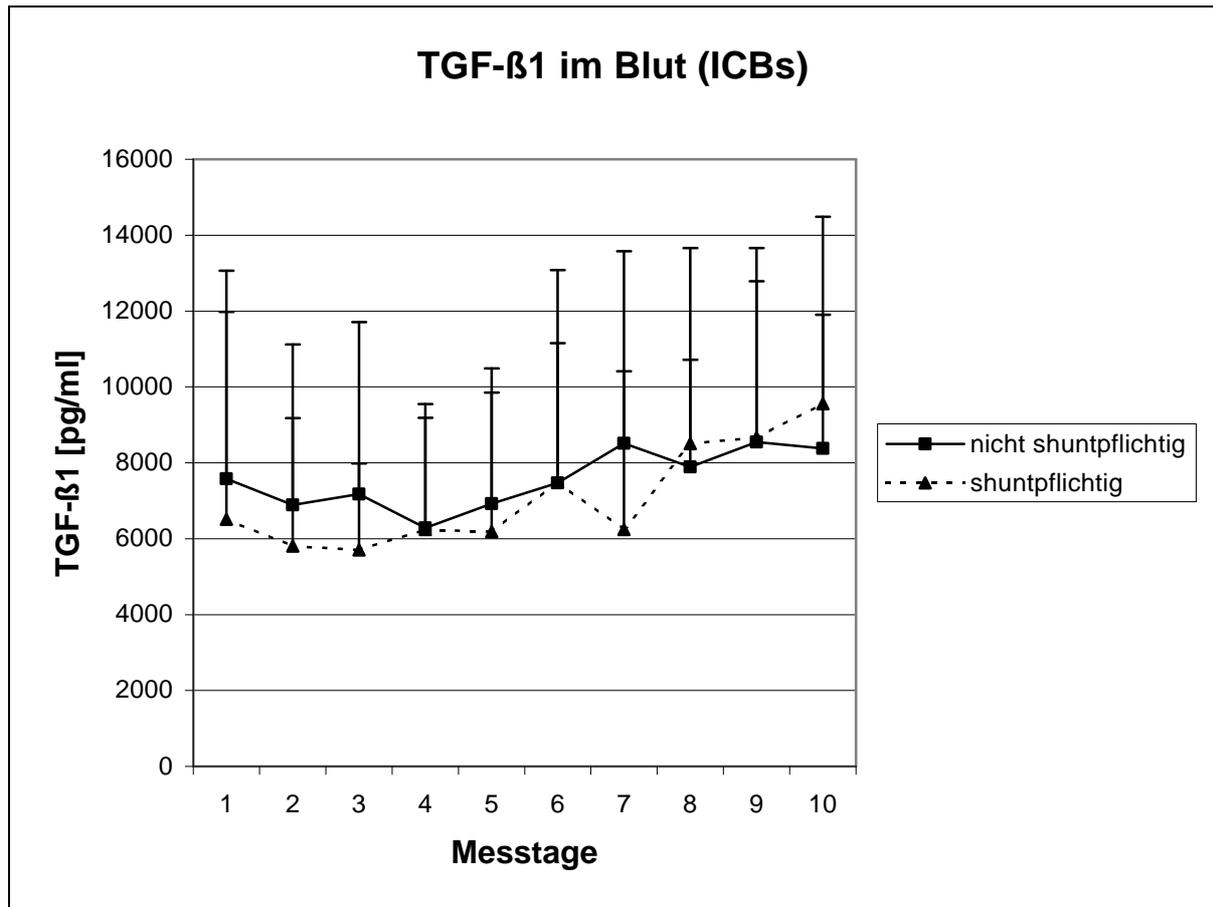


Abbildung 22: Verhalten von TGF- β 1 im Blut der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (ICB=intracerebrale Blutung)

Tabelle 10: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF- β 1-Werte im Blut bei den vier Patientengruppen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung; 0=nicht shuntpflichtig; 1=shuntpflichtig)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag10
SAB0	MW	6951,6	6889,9	7036,0	7847,5	8436,5	7761,6	8604,9	8894,5	8176,1	6951,6
	SD	3054,3	4409,0	3695,1	3350,7	4536,3	3466,6	3835,0	3924,2	3375,9	3054,3
SAB1	MW	7645,7	5481,5	6808,2	7210,0	7808,4	6987,9	7995,8	8654,7	9006,2	8591,3
	SD	4718,7	2557,8	3249,0	3469,2	3196,7	4315,3	4958,6	4388,4	4487,4	4369,7
ICB0	MW	7577,2	6892,1	7173,5	6280,1	6920,6	7468,1	8516,3	7893,0	8550,5	8380,8
	SD	5488,5	4228,8	4532,7	3265,5	3569,2	3686,4	5061,7	2822,8	4238,9	3526,6
ICB1	MW	6507,1	5805,6	5703,7	6239,6	6183,4	7495,5	6240,0	8504,7	8663,2	9559,1
	SD	5470,9	3368,7	2277,7	2943,7	3664,7	5584,2	4171,6	5159,3	4999,4	4927,2

Wie man anhand der dargestellten Abbildungen bereits erkennen kann, ist das Verhalten der hier beobachteten Messwerte aller Gruppen von der Zeit als Faktor der Varianzanalyse in dem Sinne signifikant ($p < 0.001$) abhängig, als dass ein ansteigender Verlauf zu erkennen ist. Bei den beiden anderen Faktoren der Varianzanalyse, Hauptdiagnose ($p = 0,833$) und Shuntpflichtigkeit ($p = 0,793$), zeigt sich der Verlauf der Konzentrationen nicht signifikant abhängig, obwohl tendenziell die gemittelten Konzentrationen der SABs höher sind als die der ICBs und die der shuntpflichtigen Patienten niedriger als die der nicht shuntpflichtigen.

Des Weiteren konnten keine signifikanten Wechselwirkungen ($p = 0,968$) zwischen der Hauptdiagnose und Shuntpflichtigkeit nachgewiesen werden.

3.2.2 TGF- β 1 im Liquor cerebrospinalis

In den nachstehenden Abbildungen wird unter Zuhilfenahme der statistischen Analyse (MANOVA) das Verhalten von TGF- β 1 aus den jeweiligen Liquorproben der SAB- und ICB-Patienten abhängig von der Shuntpflichtigkeit graphisch dargestellt. Anschließend folgt Tabelle 11 mit den dazugehörigen Mittelwerten und Standardabweichungen.

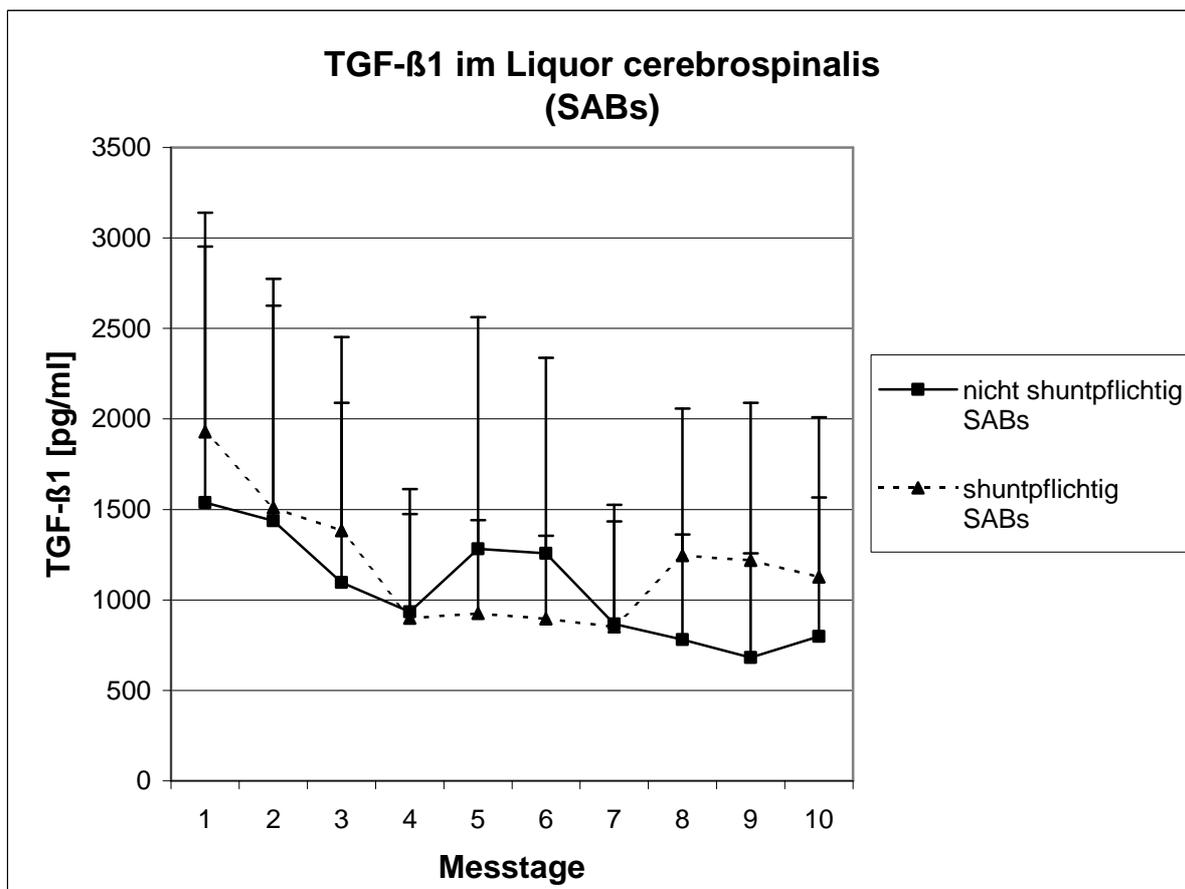


Abbildung 23: Verhalten von TGF- β 1 im Liquor cerebrospinalis der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (SAB=Subarachnoidalblutung)

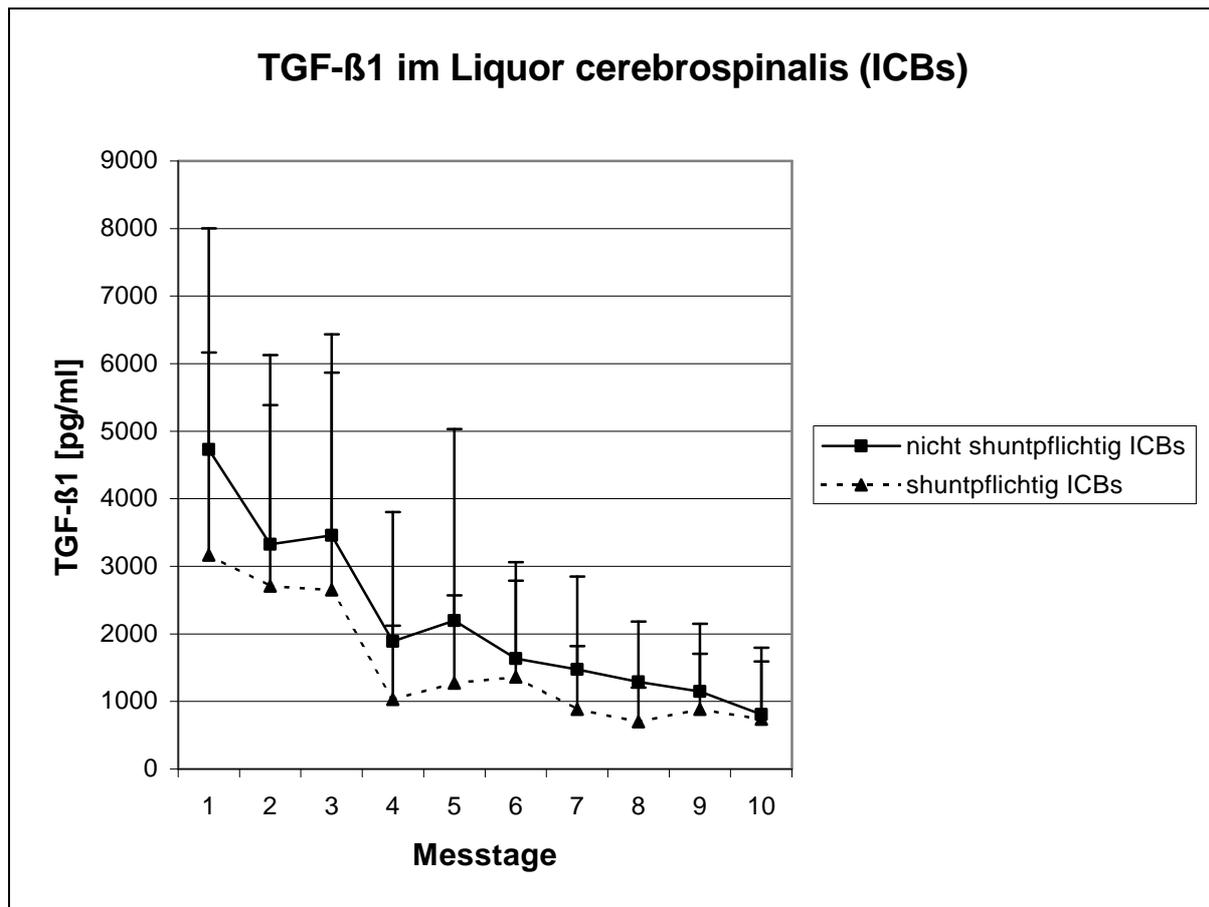


Abbildung 24: Verhalten von TGF- β 1 im Liquor cerebrospinalis der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (ICB=intrazerebrale Blutung)

Tabelle 11: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF- β 1-Werte im Liquor cerebrospinalis für die vier Patientengruppen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung; 0=nicht shuntpflichtig; 1=shuntpflichtig)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
SAB0	MW	1537,7	1436,6	1096,8	934,9	1281,7	1257,9	867,5	781,0	681,2	798,0
	SD	1414,8	1189,2	991,8	678,0	1280,3	1080,5	567,0	580,1	576,3	767,7
SAB1	MW	1928,0	1509,3	1382,7	899,4	924,9	895,7	851,3	1245,0	1217,7	1127,1
	SD	1211,4	1264,3	1071,0	574,6	515,9	459,1	675,1	812,9	871,2	882,0
ICBB0	MW	4729,7	3324,3	3458,0	1890,6	2194,6	1635,8	1474,1	1290,4	1146,9	810,2
	SD	3272,8	2803,9	2977,2	1911,0	2835,0	1423,8	1374,4	890,8	1000,4	780,5
ICBB1	MW	3164,2	2705,1	2649,3	1028,3	1270,2	1358,3	885,8	697,6	885,2	735,8
	SD	3002,7	2682,4	3218,8	1094,7	1299,5	1429,8	934,1	506,6	820,9	1059,9

Wie bei den beschriebenen TGF- β 1-Konzentrationen im Blut zeigen sich die TGF- β 1-Werte im Hirnwasser ebenfalls abhängig von der Zeit als Faktor der Varianzanalyse ($p < 0,001$). Diese Abhängigkeit äußert sich jedoch in einem deutlich abfallenden Verlauf in allen vier Patientengruppen, so dass sich hier ein gegensätzliches Verhalten zu den TGF- β 1-Konzentrationen im Blut feststellen lässt. Im Gegensatz zu den Werten, die aus den Plasmaproben gewonnen wurden, ist hier der Verlauf der gemessenen TGF- β 1-Mittelwerte signifikant abhängig von der Hauptdiagnose der beobachteten Patienten ($p < 0,05$). Dabei unterscheiden sich deskriptiv vor allem die Analysen der ersten fünf Tage nach der Blutung. Am ersten Messtag liegt die gemittelte TGF- β 1-Konzentration im Liquor cerebrospinalis bei Patienten mit einer ICB bei 4103,5 pg/ml ($n=15$; $MW_{pg/ml}=4103,5$; $SD_{pg/ml}=4442,7$), wohingegen bei den SAB-Patienten ein Mittelwert von 1711,1 pg/ml erreicht wird ($n=27$; $MW_{pg/ml}=1711,1$; $SD_{pg/ml}=1318,2$). Die TGF- β 1-Konzentration ist somit am ersten Messtag bei den Patienten nach einer intrazerebralen Blutung um das zweieinhalbfache höher als die Konzentration der SAB-Patienten. Im Laufe der ersten fünf Tage kommt es jedoch zu einer Angleichung. Die Werte der ICBs liegen am fünften Messzeitpunkt bei 1824,8 pg/ml ($n=15$; $MW_{pg/ml}=1824,8$; $SD_{pg/ml}=2327,1$), die der SABs bei 1123,1 pg/ml ($n=27$; $MW_{pg/ml}=1123,1$; $SD_{pg/ml}=1013,9$).

Zwischen den Faktoren Hauptdiagnose und Zeit sind hochsignifikante Wechselwirkungen ($p < 0,001$) zu erkennen. Der zeitliche Verlauf der Mittelwerte der Patienten mit einer Ventrikelblutung (VB) ist signifikant negativ steiler als der Verlauf der subarachnoidalen Blutungspatienten. Um das zu verdeutlichen werden die TGF- β 1-Messwerte im Liquor cerebrospinalis an den zehn Messzeitpunkten für die zwei Hauptgruppen (SAB und ICB) arithmetisch gemittelt, Regressionsgeraden durch die jeweiligen Punkte gelegt und in der folgenden Abbildung graphisch dargestellt. Die Regressionsgerade der Konzentrationen der ICBs hat dabei eine negative Steigung von $-326,8$, die der SAB-Patienten eine von $-72,3$.

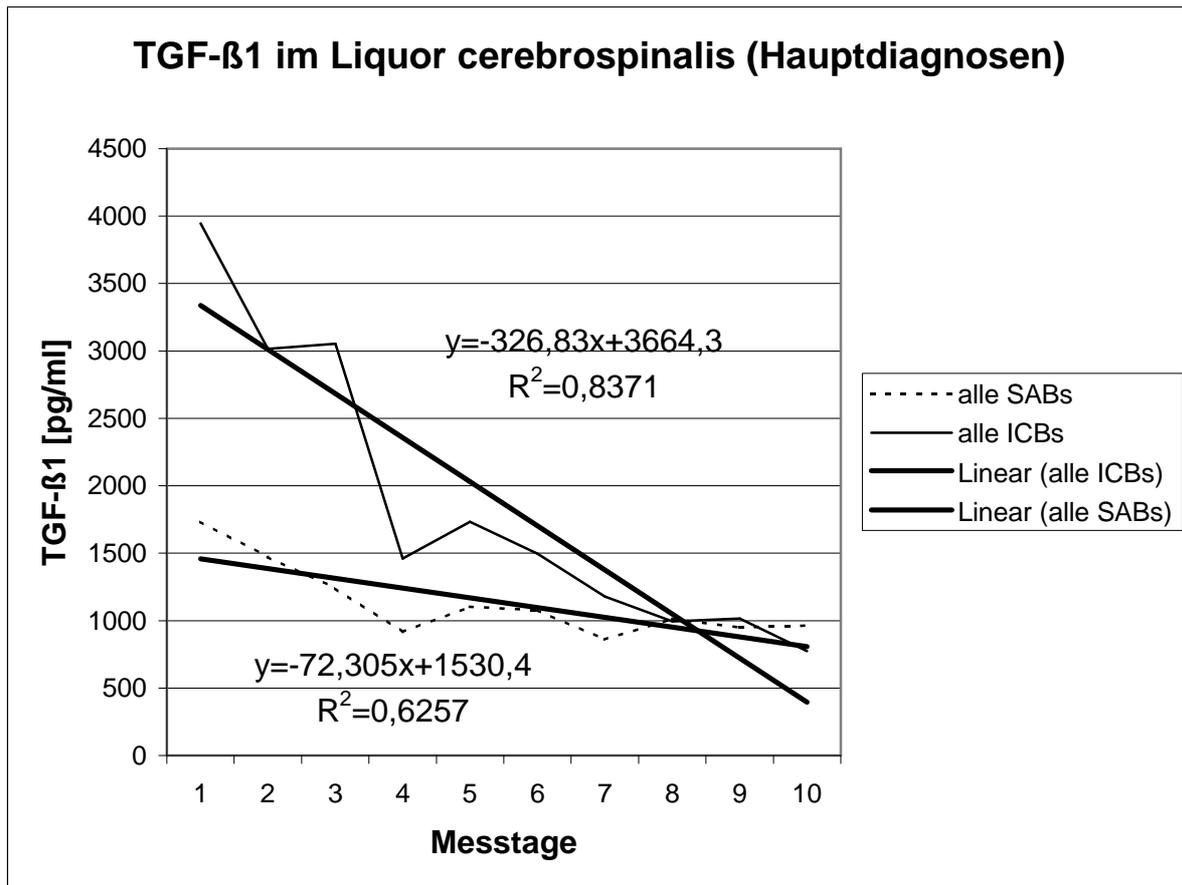


Abbildung 25: Verhalten von TGF-β1 der beiden Hauptdiagnosen im Liquor cerebrospinalis an den zehn Messzeitpunkten mit den dazugehörigen Regressionsgeraden; zu der jeweiligen Regressionsgerade ist ihre Gleichung und der Regressionskoeffizienten R^2 aufgetragen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

Tabelle 12: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF-β1-Werte im Liquor cerebrospinalis für die beiden Hauptdiagnosen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag10
SABs	MW	1711,1	1468,9	1223,8	919,1	1123,1	1096,9	860,3	987,2	919,6	944,3
	SD	1318,2	1199,6	1017,8	622,5	1013,9	866,9	605,0	718,3	757,4	821,1
ICBs	MW	4103,5	3076,6	3134,5	1545,6	1824,8	1524,8	1238,8	1053,3	1042,2	780,5
	SD	4442,7	2676,0	2988,9	1645,0	2327,1	1381,4	1216,5	797,2	911,2	866,5

Das Verhalten der TGF- β 1-Konzentrationen in den Hirnwasserproben ist auch hier nicht signifikant ($p=0,437$) abhängig von der Shuntpflichtigkeit als dritten Faktor der Varianzanalyse, obgleich der Trend zu erkennen ist, dass die MW der shuntpflichtigen Patienten niedriger sind als die der nicht shuntpflichtigen. Rein deskriptiv zeigt sich bei den shuntpflichtigen SAB-Patienten ein wannenförmiger Verlauf. Bei den nicht shuntpflichtigen Patienten dieser Diagnose ist dagegen ein entgegengerichteter gipfelartiger Verlauf während der Tage vier bis acht zu erkennen. Dieses rein deskriptive Ergebnis ist mit der statistischen Analyse nicht zu belegen. Bei den TGF- β 1-Konzentrationen im Liquor der ICB-Patienten lässt sich ebenfalls keine signifikante Abhängigkeit bezüglich der Shuntpflichtigkeit erkennen. Tendenziell lassen sich jedoch durchweg höhere Konzentrationen bei den Patienten ohne Hydrozephalusentwicklung darstellen (siehe Abb. 23). In der durchgeführten MANOVA liegen zwischen der Shuntpflichtigkeit und der Zeit keine signifikanten Wechselwirkungen ($p=0,897$) vor. Des Weiteren konnten keine signifikanten Interaktionen ($p=0,247$) zwischen der Hauptdiagnose und Shuntpflichtigkeit nachgewiesen werden.

3.2.3 TGF- β 2 im Blut

Die nachstehenden Abbildungen zeigen die ermittelten TGF- β 2-Konzentrationen (gemessen in pg/ml) beider Hauptdiagnosen aus den Plasmaproben über den Beobachtungszeitraum von zehn Tag abhängig von der Shuntpflichtigkeit. Es folgt Tabelle 13 mit den jeweiligen Mittelwerten und Standardabweichungen.

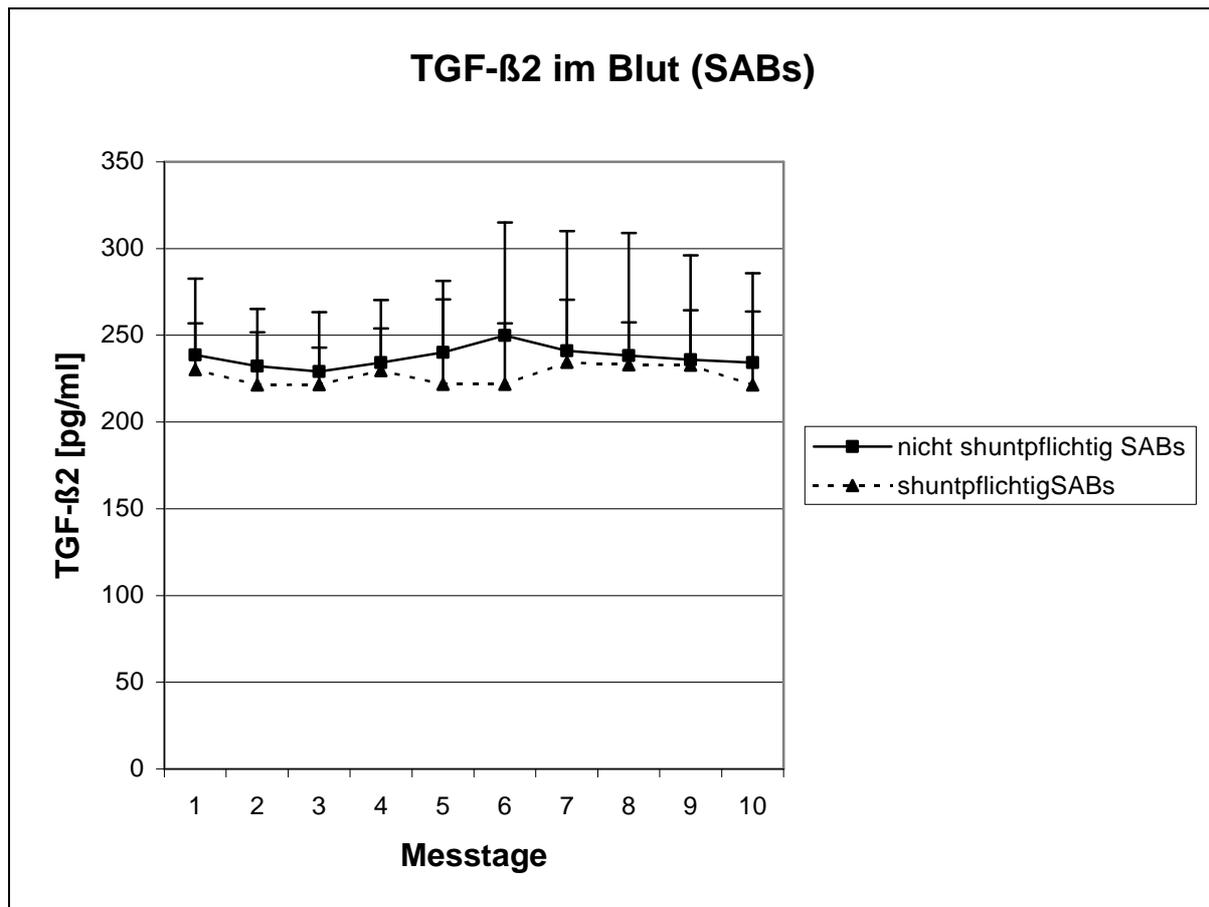


Abbildung 26: Verhalten von TGF- β 2 im Blut der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (SAB=Subarachnoidalblutung).

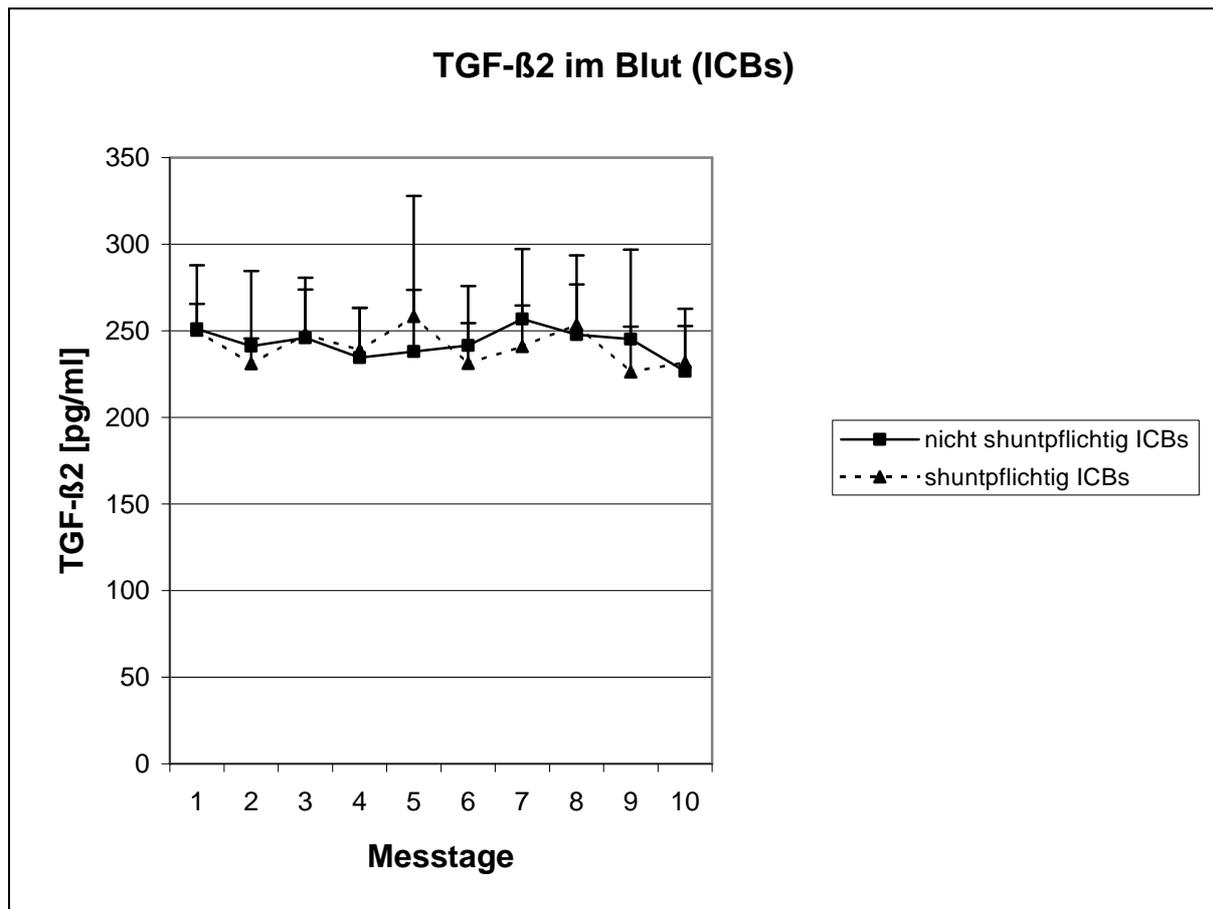


Abbildung 27: Verhalten von TGF- β 2 im Blut der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (SAB=Subarachnoidalblutung).

Tabelle 13: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF- β 2-Werte im Blut für die vier Patientengruppen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung; 0=nicht shuntpflichtig; 1=shuntpflichtig)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag10
SAB0	MW	238,7	232,2	229,2	234,2	240,2	249,8	241,0	238,2	235,8	234,343
	SD	44,0	32,9	34,2	36,0	41,3	65,2	69,1	70,8	60,2	51,513
SAB1	MW	230,1	221,3	221,6	229,7	221,7	221,8	234,4	233,0	232,7	221,4
	SD	26,7	30,5	21,4	24,3	49,0	35,0	36,0	24,5	31,7	42,3
ICB0	MW	251,1	241,1	245,9	234,6	238,1	241,5	256,9	247,8	245,3	226,5
	SD	36,8	43,4	34,7	28,7	35,5	34,4	40,3	29,0	51,5	26,2
ICB1	MW	250,4	230,9	248,2	238,7	258,4	231,2	240,9	253,4	226,3	231,8
	SD	15,1	14,6	25,7	24,5	69,4	23,1	23,6	40,0	26,1	30,9

Wie man bereits aus den oben angeführten Abbildung ersehen kann, sind bei der Varianzanalyse keine signifikanten Effekte der drei Faktoren auf das Verhalten des TGF- β 2 im Plasma zu erkennen ($p_{\text{Zeit}}=0,338$; $p_{\text{Diagnose}}=0,345$; $p_{\text{Shunt}}=0,550$).

Auch unter den drei Faktoren sind keine signifikanten Interaktionen zu erheben ($p_{\text{Zeit}*\text{Diagnose}}=0,764$; $p_{\text{Zeit}*\text{Shunt}}=0,894$; $p_{\text{Diagnose}*\text{Shunt}}=0,673$; $p_{\text{Zeit}*\text{Diagnose}*\text{Shunt}}=0,765$).

3.2.4 TGF- β 2 im Liquor cerebrospinalis

In den nachfolgenden Abbildungen 27 und 28 sind die Verläufe der Liquorkonzentration von TGF- β 2 (gemessen in pg/ml) für die beiden Hauptdiagnosen abhängig von der Shuntpflichtigkeit der Patienten aufgetragen. Die nachfolgende Tabelle führt die dazugehörigen Mittelwerte und Standardabweichungen auf.

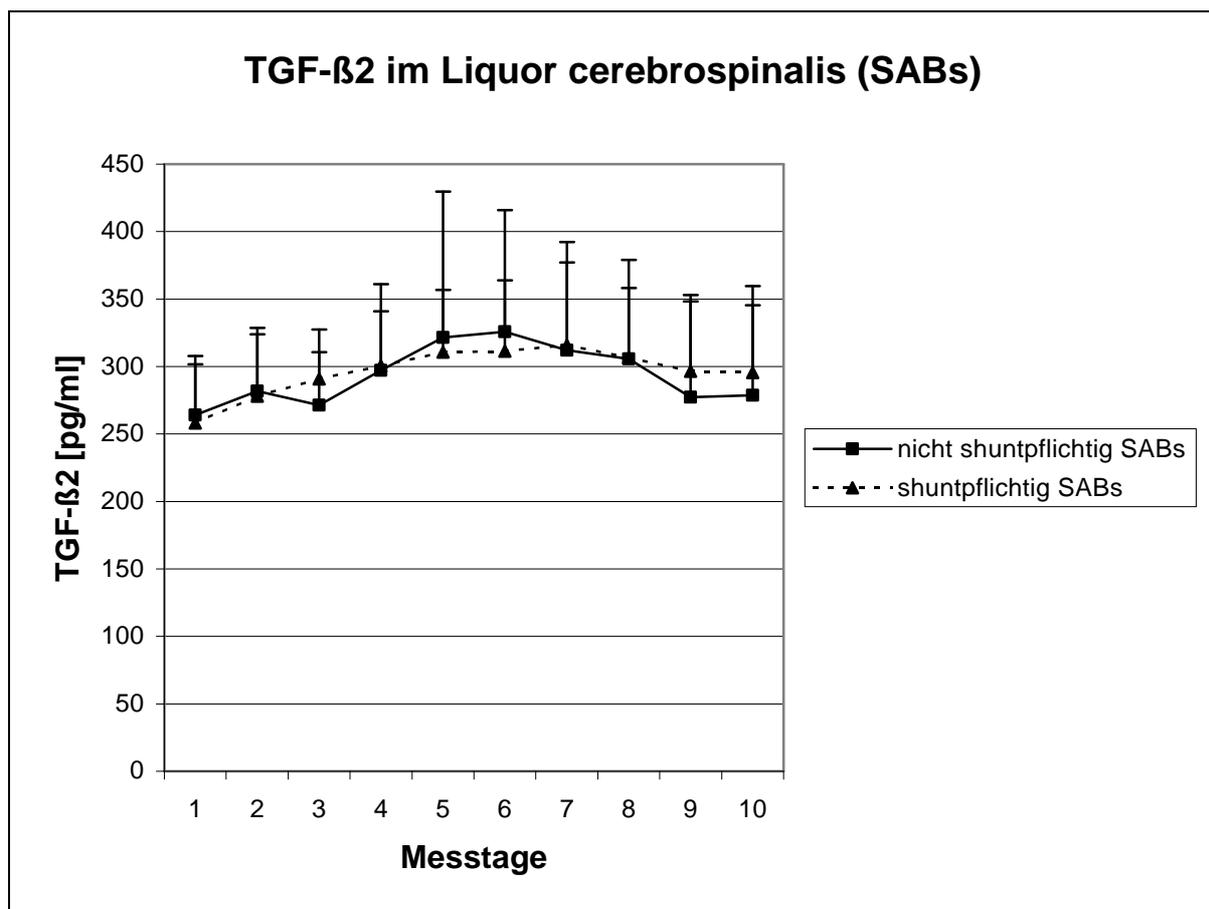


Abbildung 28: Verhalten vom TGF- β 2 im Liquor cerebrospinalis der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (SAB=Subarachnoidalblutung)

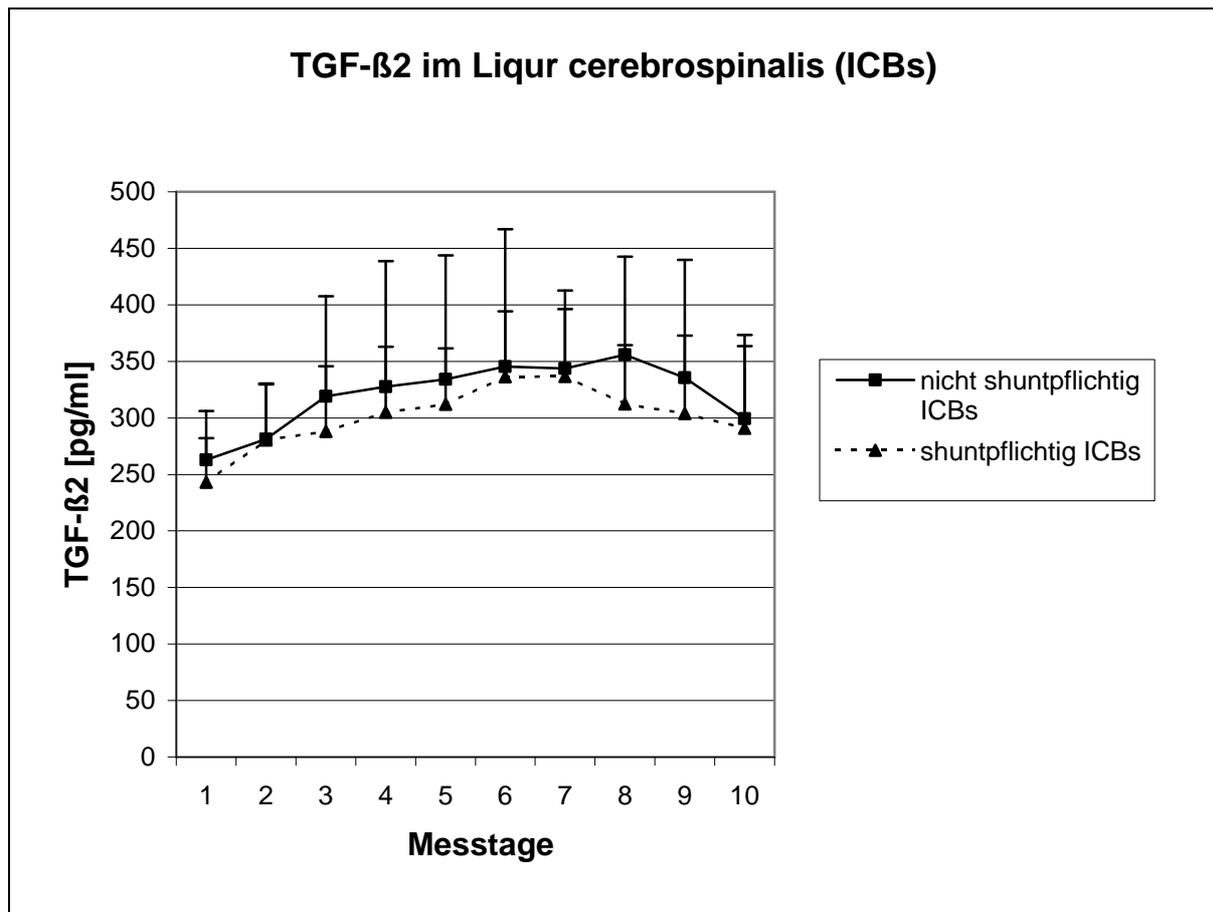


Abbildung 29: Verhalten von TGF- β 2 im Liquor cerebrospinalis der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (ICB=intrazerebrale Blutung)

Tabelle 14: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF- β 2-Werte im Liquor cerebrospinalis für die vier Patientengruppen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung, 0=nicht shuntpflichtig, 1=shuntpflichtig)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
SAB0	MW	264,0	281,7	271,5	297,2	321,6	325,8	312,2	305,7	277,4	278,6
	SD	43,8	46,9	39,2	63,8	107,9	90,2	80,2	73,3	71,0	66,7
SAB1	MW	258,0	278,0	290,9	300,5	310,6	311,4	315,8	306,6	296,4	295,5
	SD	43,6	45,8	36,6	40,4	46,1	52,5	61,4	51,5	56,5	64,2
ICB0	MW	262,8	281,3	319,0	327,5	334,2	345,3	343,8	355,9	335,4	299,4
	SD	43,2	49,2	88,5	111,1	109,5	121,7	69,0	86,7	104,4	74,0
ICB1	MW	243,2	280,5	287,9	304,9	312,1	336,3	336,6	312,2	303,9	290,7
	SD	38,9	49,1	57,7	58,0	49,6	57,9	59,7	52,2	69,0	72,9

Aus den oben dargestellten Abbildungen lässt sich der Zeiteffekt auf die erhobenen TGF- β 2-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis für alle vier Patientengruppen erkennen. Das Verhalten des TGF- β 2 der SAB- und der ICB-Patienten ist vom Faktor Zeit signifikant ($p < 0,001$) abhängig. Dabei ist ein parabelförmiger Zeitverlauf der TGF- β 2-Werte zu erkennen mit einem zunächst aufsteigendem Kurvenanteil vom ersten bis zum fünften/sechsten Tag, einem Wendepunkt um den sechsten/siebten Tag und einem anschließend abfallenden Kurvenverlauf bis zum zehnten Messtag. Die einzelnen Graphen der vier Gruppen unterscheiden sich jedoch nicht wesentlich. Die Hauptdiagnose nimmt mit $p = 0,374$ keinen signifikanten Einfluss auf die TGF- β 2-Messwerte des Patientenkollektivs. Ebenso verhält es sich mit der Shuntpflichtigkeit bei einer Signifikanz von $p = 0,632$. Untereinander sind bei der Varianzanalyse keine signifikanten Interaktionen zu erkennen ($p_{\text{Zeit*Diagnose}} = 0,648$; $p_{\text{Zeit*Shunt}} = 0,986$; $p_{\text{Diagnose*Shunt}} = 0,523$; $p_{\text{Zeit*Diagnose*Shunt}} = 0,891$).

3.3 Ergebnisse des Albumins

Im kommenden Abschnitt sind die Messdaten des Albumins in den Liquorproben jeweils für die vier verschiedenen Patientengruppen im Vergleich dargestellt. Um signifikante Unterschiede zu erheben, wurden die Daten mit Hilfe einer drei faktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung (three way MANOVA with repeated measures) statistisch ausgewertet. Dabei wurden auch hier die Faktoren Zeit, Diagnose und Shuntpflichtigkeit überprüft.

In den folgenden Abbildungen sind die Messwerte für das vorhandene Albumin im Liquor cerebrospinalis über den Zeitraum der ersten zehn Tage nach einer intrakraniellen Blutung für die zwei Hauptdiagnosen abhängig von der Shuntpflichtigkeit dargestellt. Tabelle 15 führt die dazugehörigen Mittelwerte und Standardabweichungen auf.

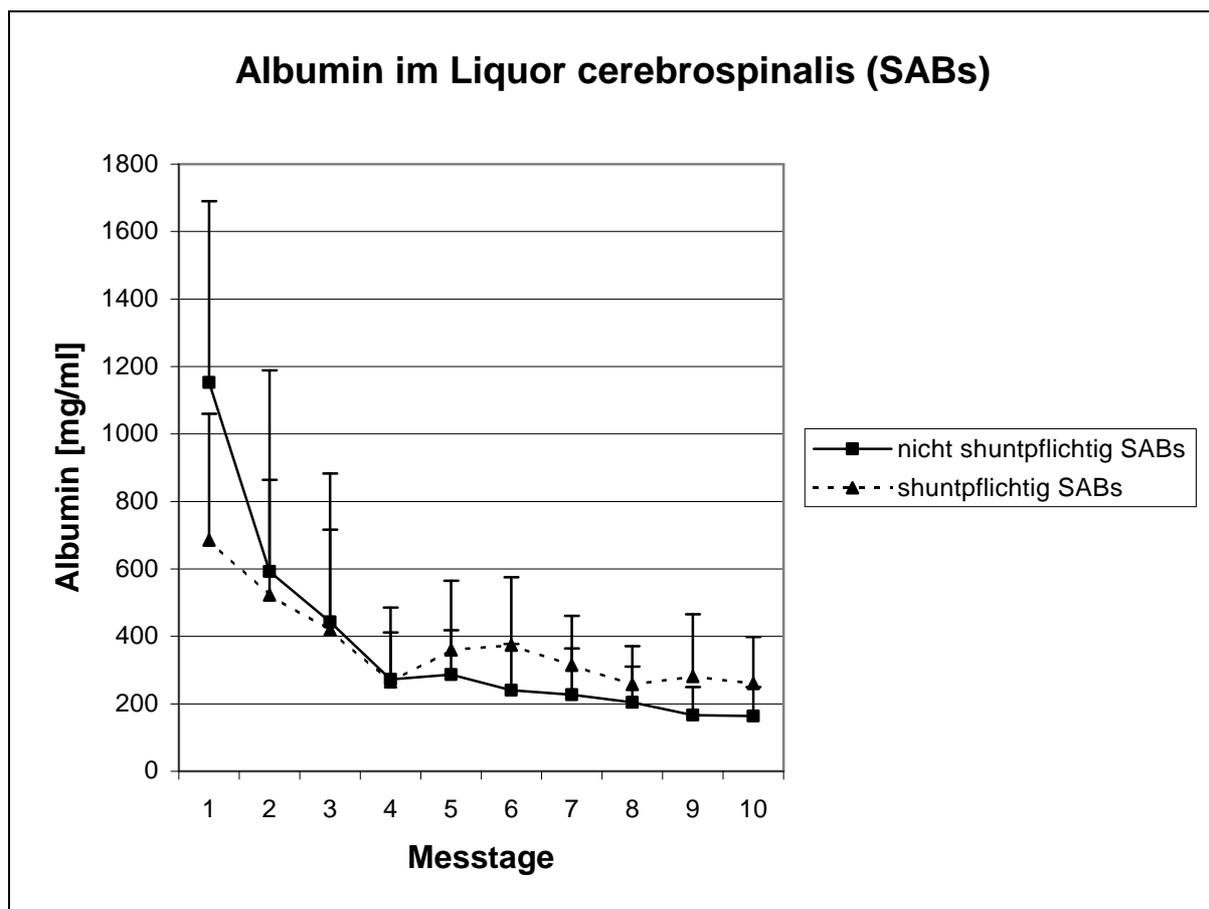


Abbildung 30: Verhalten der Albuminmittelwerte im Liquor cerebrospinalis der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (SAB=Subarachnoidalblutung)

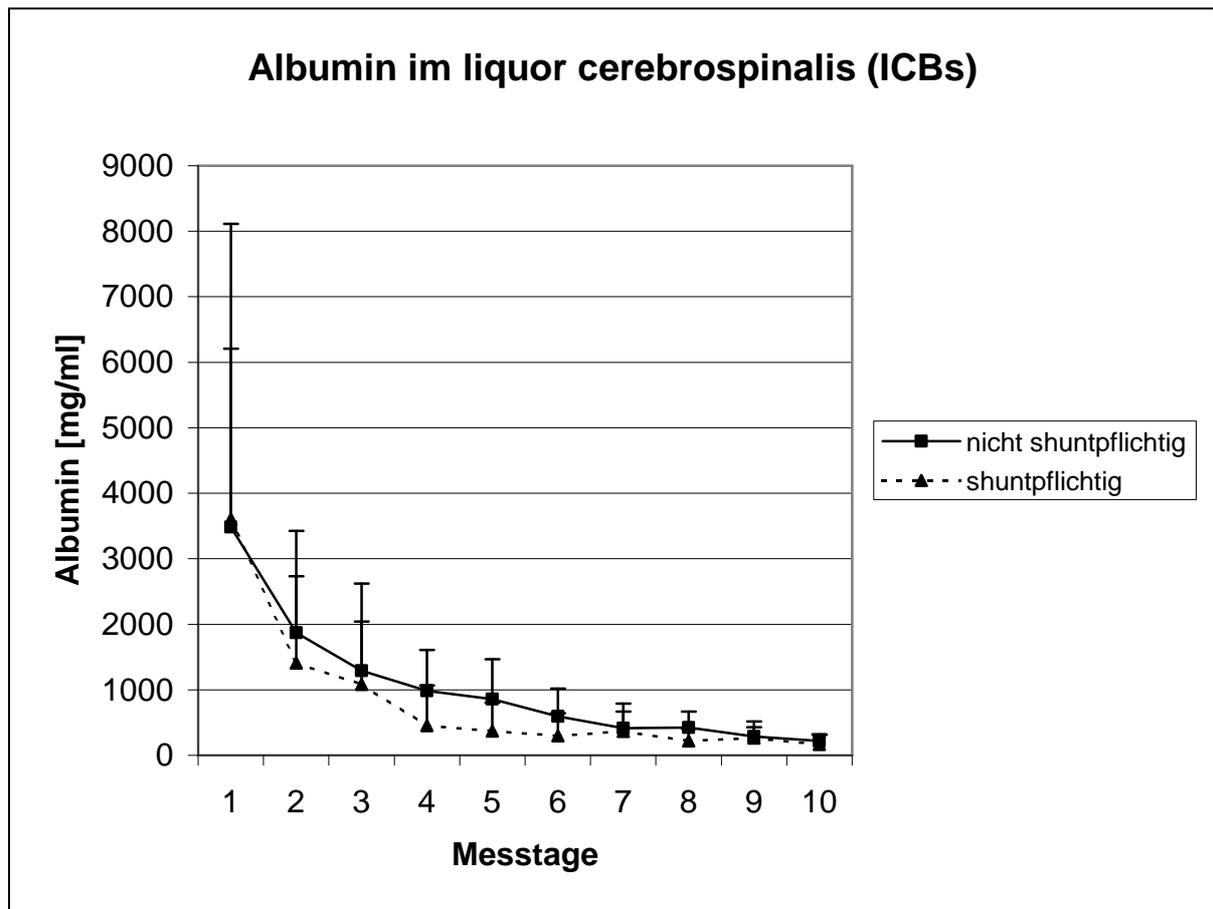


Abbildung 31: Verhalten der Albuminmittelwerte im Liquor cerebrospinalis der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit (ICB=intrazerebrale Blutung)

Tabelle 15: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis für die vier Patientengruppen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intracerebrale Blutung; 0=nicht shuntpflichtig; 1=shuntpflichtig)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10
SAB0	MW	1153,0	592,6	442,8	272,4	286,6	240,2	227,1	204,5	166,9	163,5
	SD	537,2	595,9	439,7	213,0	131,8	137,0	137,4	105,6	83,2	86,5
SAB1	Mw	685,5	522,8	418,9	264,9	359,3	374,2	314,3	257,3	280,7	260,1
	SD	374,5	341,6	297,0	146,4	205,5	201,0	146,4	114,0	185,1	138,3
ICB0	MW	3484,6	1873,0	1291,7	983,9	858,3	595,5	414,7	425,9	286,7	218,5
	SD	2722,4	1551,5	749,6	625,0	608,6	420,8	254,9	241,8	144,0	95,3
ICB1	MW	3603,5	1408,8	1084,2	454,3	370,9	295,3	365,2	218,5	263,5	167,0
	SD	4508,6	1326,3	1536,0	611,6	434,2	349,3	425,8	187,2	253,0	153,8

Bei den Albuminkonzentrationen aus den Hirnwasserproben zeigt sich das Verhalten der Messwerte sowohl bei den SAB- als auch bei den ICB-Patienten hochsignifikant ($p < 0,001$) abhängig von der Zeit als Faktor der Varianzanalyse. Dabei lässt sich anhand der Abbildungen 29 und 30 ein stetig abnehmender zeitlicher Verlauf der Albuminmittelwerte erkennen. Des Weiteren zeigen sich in dieser Messreihe die Albuminkonzentrationen der beobachteten Patienten, wie bei den TGF- β 1-Werten im Liquor cerebrospinalis, von der Hauptdiagnose abhängig ($p < 0,001$). Insbesondere die Messungen der ersten fünf Messtage unterscheiden sich dabei in ihren gemittelten Konzentrationen. Am ersten Messzeitpunkt liegt die gemittelte Albuminkonzentration im Liquor bei Patienten mit einer ICB bei 3532,1 mg/ml ($n=15$; $MW_{\text{mg/ml}}=3532,1$; $SD_{\text{mg/ml}}=3391,0$), wohingegen sie bei den SAB-Patienten lediglich bei 945,2 mg/ml ($n=27$; $MW_{\text{mg/ml}}=945,2$; $SD_{\text{mg/ml}}=1178,0$) liegt und somit nur fast ein Viertel beträgt. Im weiteren Verlauf gleichen sie sich jedoch an, wobei die Werte der ICB-Patienten am sechsten Tag bei 475,4 mg/ml ($n=15$; $MW_{\text{mg/ml}}=475,4$; $SD_{\text{mg/ml}}=409,8$) und die der SAB-Patienten bei 299,8 mg/ml ($n=27$; $MW_{\text{mg/ml}}=299,8$; $SD_{\text{mg/ml}}=178,3$) liegen.

Zwischen Zeit und Diagnose ist wie bei den TGF- β 1-Werten der Liquorproben eine signifikante Interaktion ($p=0,000$) zu erkennen. In diesem Fall heißt das, dass der zeitliche Verlauf der MW der Patienten mit einer ICB negativ steiler ist als der Patienten vom subarachnoidalem Blutungstyp. Zur besseren graphischen Darstellung wurden auch diese Messwerte des Albumins zu den verschiedenen Messzeitpunkten für die beiden Hauptdiagnosen arithmetisch gemittelt, eine Regressionsgerade erstellt und in der folgenden Abbildung dargestellt. Die Regressionsgerade der Ventrikelblutungen hat dabei mit -274 eine stärker negative Steigung, als die der SABs mit nur $-58,8$. Tabelle 16 ergänzt die Mittelwerte und Standardabweichungen.

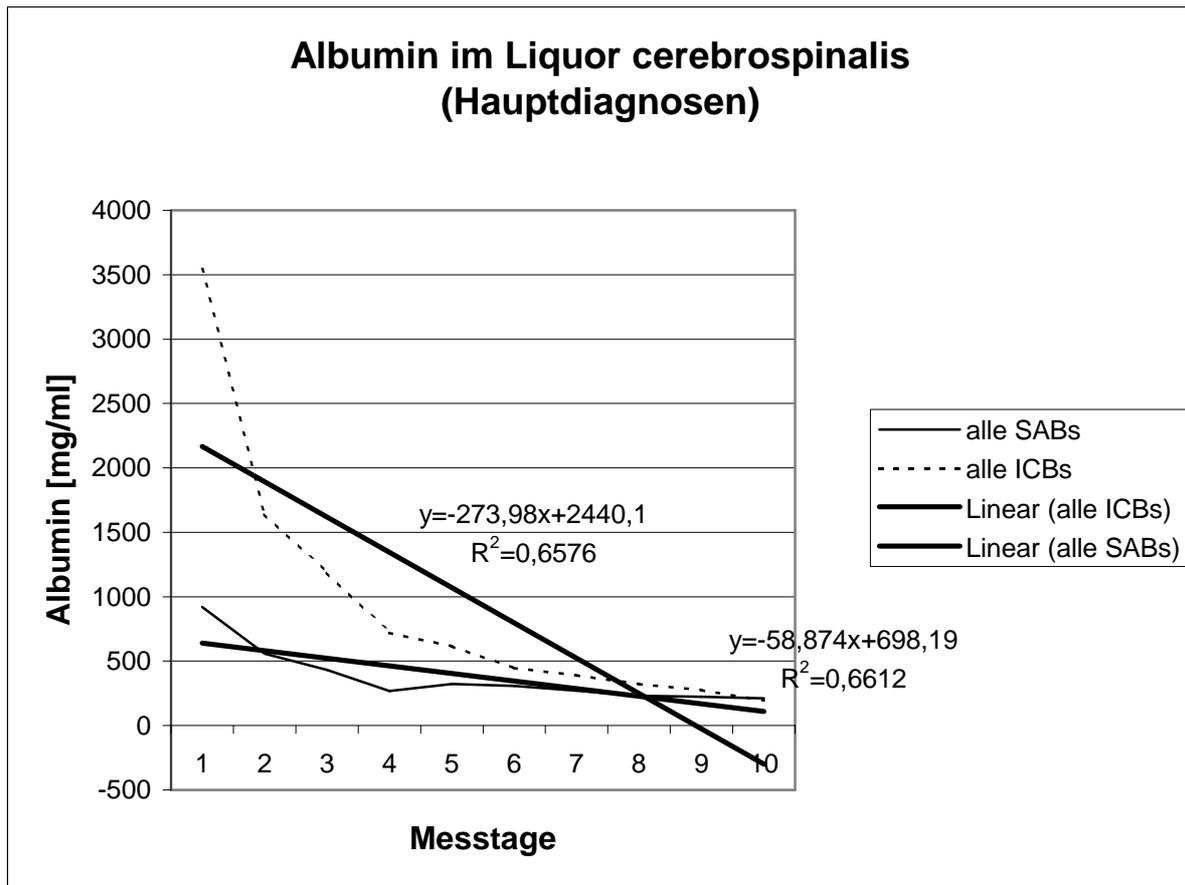


Abbildung 32: Verhalten der Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis der beiden Hauptdiagnosen an den zehn Messzeitpunkten mit der dazugehörigen Regressionsgeraden (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung); zu der jeweiligen Regressionsgerade ist die Gleichung und der Regressionskoeffizient R^2 aufgetragen

Tabelle 16: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis für die beiden Hauptdiagnosen (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag10
SABs	MW	945,2	561,6	432,2	269,1	318,9	299,8	265,8	228,0	217,5	206,4
	SD	1178,0	491,7	376,3	183,1	169,1	178,3	145,6	110,5	146,8	120,5
ICBs	MW	3532,1	1687,3	1208,7	772,1	663,3	475,4	394,9	343,0	277,4	197,9
	SD	3391,0	1435,0	1083,9	654,9	583,1	409,8	320,2	238,7	186,7	119,7

Das Verhalten der Albuminmittelwerte aus den Hirnwasserproben zeigt keine Abhängigkeit von der Shuntpflichtigkeit als dritten und letzten Faktor der erhobenen Varianzanalyse ($p=0,4449$), obgleich man feststellen muss, dass an den ersten Messtagen bei den nicht shuntpflichtigen Patienten ein leicht steilerer Verlauf als bei den shuntpflichtigen Patienten zu erkennen ist. Aus der erhobenen Analyse lässt sich zwischen der Shuntpflichtigkeit und der Zeit ebenfalls keine signifikante Wechselwirkung ($p=0,991$) erkennen. Weiterhin konnten weder zwischen Hauptdiagnose und Shuntpflichtigkeit ($p=0,448$) noch zwischen allen drei Faktoren ($p=0,915$) signifikante Interaktionen nachgewiesen werden.

3.4 Korrelationen

Um eventuell vorhandene Korrelationen zwischen den Zytokinen TGF- β 1, TGF- β 2 und dem Albumin aufzudecken, wurden zu drei verschiedenen Zeitpunkten (1., 5. und 10. posthämorrhagischer Tag) Korrelationsanalysen durchgeführt. Die Berechnung erfolgte hierbei mit Hilfe der Methode nach Spearman-Rho.

Die nachfolgende Tabelle enthält alle signifikanten Korrelationen an den drei beobachteten Zeitpunkten.

Tabelle 17: Signifikante Korrelationen der Messparameter an drei Zeitpunkten (CSF=Liquor cerebrospinalis)

1. Beobachtungsparameter	2. Beobachtungsparameter	Messzeitpunkt	Korrelationskoeffizient	Signifikanz
TGF- β 1 im CSF	TGF- β 1 im Plasma	1. Tag	,333 *	,031
TGF-β1 im CSF	Albumin im CSF	1. Tag	,647 **	,000
Albumin im CSF	TGF- β 2 im Plasma	1. Tag	,365 *	,017
TGF- β 1 im CSF	TGF- β 2 im CSF	5. Tag	,372 *	,015
TGF- β 2 im CSF	TGF- β 2 im Plasma	5. Tag	,442 **	,003
Albumin im CSF	TGF-β1 im CSF	5. Tag	,518 **	,000
TGF- β 1 im CSF	TGF- β 1 im Plasma	10. Tag	,367 *	,017
TGF- β 1 im Plasma	TGF- β 2 im CSF	10. Tag	-,424 **	,005
TGF- β 2 im CSF	TGF- β 2 im Plasma	10. Tag	,525 **	,000
Albumin im CSF	TGF-β1 im CSF	10.Tag	,526 **	,000

*Korrelation auf dem 0,05-Niveau signifikant (zweiseitig)

**Korrelation auf dem 0,01-Niveau signifikant (zweiseitig)

Die Korrelation zwischen den TGF- β 1- und Albuminkonzentrationen in den Liquorproben sind hervorzuheben, da diese sich mit einer dreimaligen Korrelation auf dem Signifikanzniveau 0,01 zeigen.

Um diese Korrelation besser zu verdeutlichen, sind die TGF- β 1- und Albuminwerte eines jeweiligen Messtages für die beiden Hauptdiagnosen arithmetisch gemittelt und in der folgenden Abbildung gegen die Zeit aufgetragen.

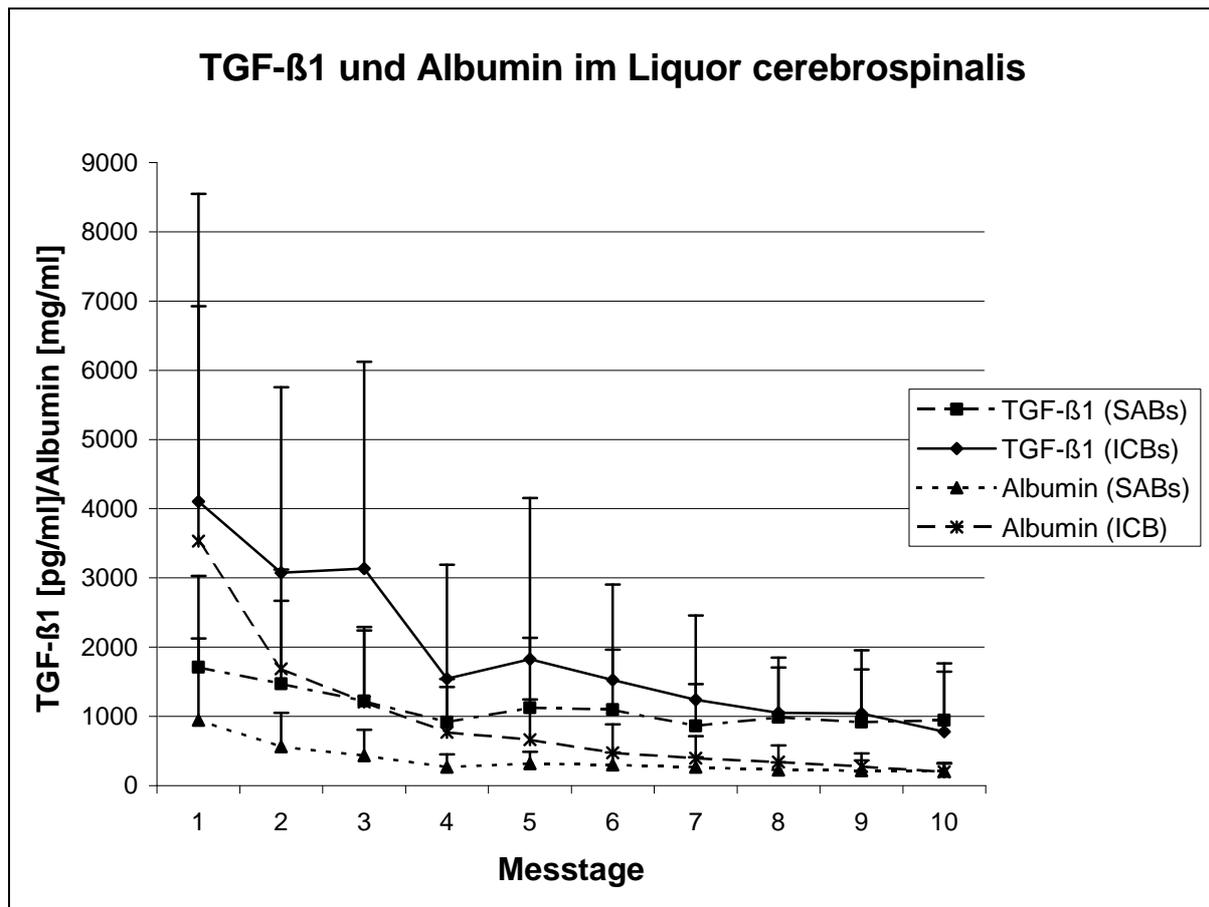


Abbildung 33: Verhalten der TGF-β1- und Albuminmittelwerte der SAB- und ICB-Patienten im Liquor cerebrospinalis an den Messzeitpunkten (SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

Tabelle 18: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der gemessenen TGF-β1- und Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis für die zwei Hauptdiagnosen (ALB=Albumin; SAB=Subarachnoidalblutung; ICB=intrazerebrale Blutung)

		Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag10
TGF-β1 SAB	MW	1711,1	1468,9	1223,8	919,1	1123,1	1096,9	860,3	987,2	919,6	944,3
	SD	1318,2	1199,6	1017,8	622,5	1013,9	866,9	605,0	718,3	757,4	821,1
TGF-β1 ICB	Mw	4103,5	3076,6	3134,5	1545,6	1824,8	1524,8	1238,8	1053,3	1042,2	780,5
	SD	4442,7	2676,0	2988,9	1645,0	2327,1	1381,4	1216,5	797,2	911,2	866,5
ALB SAB	MW	945,2	561,6	432,2	269,1	318,9	299,8	265,8	228,0	217,5	206,4
	SD	1178,0	491,7	376,3	183,1	169,1	178,3	145,6	110,5	146,8	120,5
ALB ICB	MW	3532,1	1687,3	1208,7	772,1	663,3	475,4	394,9	343,0	277,4	197,9
	SD	3390,9	1435,0	1083,9	654,9	583,1	409,8	320,2	238,7	186,7	119,7

4 Diskussion

4.1 Grundeigenschaften des Patientenkollektivs

In dieser Studie haben 42,9% der untersuchten Patienten einen shuntpflichtigen HZ entwickelt. Dieser Anteil an Hirnblutungspatienten mit einem chronischen HZ nach einer intrakraniellen Blutung liegt im oberen Bereich der bisherigen Literaturangaben. Insgesamt zeigt sich die Inzidenz des posthämorrhagischen shuntpflichtigen HZ z.B. nach einer SAB bei den verschiedenen Autoren abhängig vom Studiendesign stark schwankend und bewegt sich zwischen 3% und 45% (Auer LM et al., 1990; Graff-Radford NR et al., 1989; Kolluri VR et al., 1984; Lin CL et al., 1999; Ljunggren B et al., 1983; Ohwaki K et al., 2004; Pietila TA et al., 1995; Ropper AH et al., 1984; Widenka DC et al., 2000; Yamamoto I et al., 1983). Der hier beobachtete vergleichsweise hohe Anteil an shuntpflichtigen Patienten von über 40% kann durch verschiedene Merkmale des Kollektivs beeinflusst sein, die nach Literaturangaben als Prädiktoren für die Entwicklung eines chronischen HZ zu werten sind. Zu diesen Merkmalen zählen z.B. der bei einem Großteil der Patienten vorhandene Ventrikeleinbruch der Blutung, der akute HZ oder die Tatsachen, dass lediglich Patienten in die Studie aufgenommen wurden, die nicht vor Eintreffen in das Krankenhaus verstorben sind und bei Aufnahme eine kritische klinischen Einstufung aufwiesen (hoher Grad nach Hunt und Hess oder WFNS-Score bei Aufnahme) und somit Intensivmedizinische Therapie benötigten (Brisman J et al., 2004; Dorai Z et al., 2003; Graff-Radford NR et al., 1989; Jartti P et al., 2004; Juvela S et al., 1995; Mehta V et al., 1996; Vale FL et al., 1997; Verweij FH et al., 1994; Yoshioka H et al., 2000). Somit kann es bei der Zusammensetzung des hier betrachteten Patientenkollektivs zu einer Negativauslese gekommen sein, bei der SAB- oder ICB-Patienten nicht in das Kollektiv aufgenommen wurden.

Patienten mit einer shuntpflichtigen Hydrozephalusentwicklung sind mit einem mittleren Alter von 62,4 Jahren um fast zehn Jahre signifikant ($p < 0,01$) älter als jene, die keinen HZ entwickelten. Ältere SAB- oder ICB-Patienten entwickeln nach den Ergebnissen dieser Studie somit mit höherer Wahrscheinlichkeit einen posthämorrhagischen HZ. Das entspricht den Angaben der Literatur, in der ein fortgeschrittenes Lebensalter als positiver Hydrozephalusprädiktor beschrieben ist

(Brisman J et al., 2004; Dorai Z et al., 2003; Graff-Radford NR et al., 1989; Gruber A et al., 1999; Lin CL et al., 1999; Sheehan J et al., 1999; Vale FL et al., 1997; Verweij FH et al., 1994; Yoshioka H et al., 2000). Die Patienten mit einer SAB sind bei einem Durchschnittsalter von 52,2 Jahren im Mittel um mehr als zehn Jahre signifikant ($p < 0,01$) jünger als ICB-Patienten bei einem Durchschnittsalter von 65,9 Jahren. Auch dieser diagnoseabhängige Alterunterschied ist in der Literatur wiederzufinden (Greenberg MS, Sixth Edition, 2006, Thieme; Mosskopp D, Wassmann H, 2. Auflage, 2005, Schattauer).

Unter den weiblichen Studienteilnehmern entwickelten 44,4% einen shuntpflichtigen posthämorrhagischen HZ. Bei den Männern liegt der Wert bei 40%, im gesamten Patientenkollektiv bei 42,9%. Somit zeigt sich in dieser Studie diesbezüglich ein Trend zugunsten der Frauen, das Geschlecht kann jedoch nicht signifikant als Risikofaktor bei der posthämorrhagische Hydrozephalusentwicklung gewertet werden. Andere Forschungsgruppen hingegen konnten das weibliche Geschlecht bei der nichttraumatischen SAB als positiven Prädiktor für die Entwicklung eines chronischen HZ darstellen (Brisman J et al., 2004; Dorai Z et al., 2003; Graff-Radford NR et al., 1989; Gruber A et al., 1999; Lin CL et al., 1999; Naff NJ et al., 1999; Vale FL et al., 1997; Verweij FH et al., 1994; Yoshioka H et al., 2000).

Die Hauptdiagnose nimmt unter Berücksichtigung des gesamten Patientenkollektivs nicht signifikant Einfluss auf die Entwicklung eines dauerhaft therapiebedürftigen HZ. Insgesamt haben 42,9% der Patienten ein Shuntsystem implantiert bekommen. Dabei haben bei den SAB-Patienten ca. 44% und bei den ICB-Patienten 40% einen chronischen HZ entwickelt. Vergleicht man jedoch das SAB- und ICB-Kollektiv der Patienten, die zum Blutungsereignis 60 Jahre oder älter waren (≥ 60 Jahre), zeigt sich, dass SAB-Patienten signifikant ($p < 0,05$) häufiger ein Shuntsystem benötigten als das entsprechende ICB-Kollektiv. Dabei muß jedoch berücksichtigt werden, dass Patienten mit einem shuntpflichtigen Hydrozephalus signifikant älter ($p < 0,05$) sind als die ohne und die ICB-Patienten signifikant älter sind als die SAB-Patienten ($p < 0,01$). Trotzdem zeigt sich, dass in bei Patienten mit einem fortgeschrittenen Lebensalter (≥ 60 Jahre) der subarachnoidale Blutungstyp im Vergleich zur ICB als Risiko für die Entwicklung eines chronischen HZ zu werten ist.

4.2 TGF- β 1 und Albumin

4.2.1 TGF- β 1 im Blut

Bei den bestimmten TGF- β 1-Werten aus den Plasmaproben ist ein hochsignifikant ansteigender Verlauf der Messwerte in allen vier beobachteten Gruppen zu erkennen (siehe Abb. 20 und 21 aus 3.2.1). Ursächlich für diesen ansteigenden Verlauf der Werte aus den Plasmaproben nach einer SAB oder ICB stehen die im Rahmen der Akutsituation und ihrer folgenden Komplikationen freigesetzten Zytokine in die Blutbahn.

Im Gegensatz dazu zeigen die TGF- β 1-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis einen in allen Gruppen abfallenden Verlauf. Da es in den ersten zehn Messtagen nicht zu einem sekundären Konzentrationsanstieg des TGF- β 1 im Liquor kommt, ist trotz der anzunehmenden Schädigung der Blut-Hirn-Schranke nicht von einer relevanten Passage des Zytokins aus der Peripherie in das Liquorsystem auszugehen. Andere Arbeitsgruppen wie z.B. Kastin AJ (2003) beschreiben diesbezüglich, dass TGF- β 1 bei intakter Blut-Hirn-Schranke nicht von der Peripherie in das Liquorsystem transfundiert, es jedoch im Rahmen einer Hirngewebstraumatisierung eine defekte Blut-Hirn-Schranke passieren kann. Erhöhte intrathekale TGF- β -Spiegel sollen sogar mit einer Dysfunktion der Blut-Hirn-Schranke einhergehen und somit eine bessere Passage aus der Blutbahn in das Liquorsystem für TGF- β 1-Moleküle bewirken (Csuka E et al., 1999; Morganti-Kossmann MC et al., 1999). Demgegenüber beschreiben Takata F et al., dass die Hemmung der TGF- β -Produktion zu einer Cyclosporin-A induzierten Dysfunktion der Blut-Hirn-Schranke führt.

Das Verhalten der TGF- β 1-Konzentrationen der Plasmaproben zeigt sich von den beiden anderen betrachteten Faktoren der durchgeführten multifaktoriellen Varianzanalyse, Hauptdiagnose und Shuntpflichtigkeit, nicht signifikant abhängig. Somit scheint in dieser Studie das im Plasma gemessene TGF- β 1 keine entscheidende Rolle bei der Entstehung eines posthämorrhagischen HZ zu spielen und ist als Prädiktor diesbezüglich nicht einsetzbar.

4.2.2 TGF- β 1 und Albumin im Liquor cerebrospinalis

Die TGF- β 1-Messwerte aus den Liquorproben zeigen in allen vier Gruppen einen zu den Werten im Blut gegensätzlichen und somit abfallenden Verlauf (siehe Abb. 22 und 23 aus 3.2.2). Bei den ICBs liegen die Konzentrationen initial deutlich höher als bei den SABs. Dadurch kommt es zu den signifikant ($p < 0,05$) unterschiedlichen Verläufen (siehe Abb. 24 aus 3.2.2). Bei beiden Patientengruppen stellt sich jedoch im Laufe der ersten zehn Tage nach einer intrakraniellen Blutung ein Auswaschungseffekt ein, so dass die Konzentrationen gegen Ende des Untersuchungszeitraums kaum noch differieren. Dabei scheint, wie im vorangegangenen Abschnitt erklärt, trotz der anzunehmenden Schädigung der Blut-Hirn-Schranke keine relevante Passage des Zytokins aus der Peripherie in das Liquorsystem auszugehen.

Bei den Albuminkonzentrationen im Liquor cerebrospinalis zeigen sich ebenfalls deutlich abnehmende und von der Hauptdiagnose abhängige Verläufe (siehe Abb. 31 aus 3.3). Da das im Hirnwasser bestimmte Albumin als repräsentativer Wert für die im Ventrikelsystem vorhandene Blutmenge fungiert (Daniel M et al., 1997; Flood C et al., 2001; Wahl SM et al., 1991), kann man rückschließen, dass sich bei den ICBs am ersten Messtag deutlich mehr Blut im Liquorsystem befindet als bei den Patienten mit einer SAB. Im Laufe des Entnahmezeitraums gleichen sich die Albuminkonzentrationen der ICB- und SAB-Patienten an und differieren zuletzt kaum noch. Bei den beschriebenen Verläufen des TGF- β 1 und Albumins im Liquor cerebrospinalis kann man deutliche Parallelen erkennen (siehe Abb. 32 aus 3.4). Aus diesen Ergebnissen folgern wir, genau wie Flood et al. (2001), Daniel et al. (1997), Kitazawa et al. (1994) u.a., dass das im Hirnwasser gemessene und in den ersten Messtagen sehr hohe TGF- β 1 aus den Blutplättchen der im Liquorsystem befindlichen Blutmenge stammt.

Im Gegensatz zu anderen Forschungsgruppen ist in den Ergebnissen dieser Studie kein weiterer signifikanter Anstieg der TGF- β 1-Konzentrationen im Verlauf zu erkennen. Flood et al. (2001) konnten z.B. bei Blutungspatienten mit nachfolgender Shuntpflichtigkeit einen biphasischen TGF- β 1-Verlauf mit einem zweiten Konzentrationsanstieg an den Tagen neun bis zehn nach einer SAB darstellen. Aus diesen Ergebnissen und der Tatsache, dass die von ihnen gemessenen Albuminwerte keinen zweiten Konzentrationsanstieg zeigten, folgerten sie, dass der

zweite TGF- β 1-Peak endogenen Ursprungs ist und aus den Zellen des Plexus choroideus und der Meningen stammt. Zu ähnlichen Ergebnissen bzgl. eines biphasischen TGF- β 1-Verlaufs nach abgelaufener einmaliger SAB kamen bereits Daniel et al. (1997) und Kitazawa et al. (1994), bei denen sich jedoch erst an den Tagen 12 bis 14 ein zweiter albuminunabhängiger Konzentrationsanstieg erkennen ließ.

Aufgrunddessen, dass in unseren Studienergebnissen weder bei den gemessenen TGF- β 1-Konzentrationen, noch bei den Albuminkonzentrationen ein zweiter Anstieg zu erkennen ist, folgern wir, dass die im Hirnwasser vorhandene TGF- β 1-Menge hauptsächlich aus den korpuskulären Blutbestandteilen stammt und die Konzentration an TGF- β 1 abhängig von der tatsächlich vorhandenen Blutmenge im Liquorsystem ist. Da sich bei Patienten mit einer ICB in der Frühphase mehr Blut im Ventrikelsystem befindet, sind ihre TGF- β 1-Konzentrationen zu Beginn höher als bei den SAB-Patienten. Eine vom Albumin unabhängige einflussnehmende Konzentrationssteigerung des TGF- β 1 aus den Zellen des ZNS kann aus den Ergebnissen dieser Studie zumindest in den beobachteten ersten zehn Tagen nach einer SAB oder ICB nicht dargestellt werden. Eine sekundärer TGF- β 1-Konzentrationsanstieg nach dem zehnten Tag, wie durch Kitazawa et al. (1994) und andere Forschungsgruppen beschrieben, kann aufgrund des Untersuchungszeitraums hier nicht analysiert werden.

Das Verhalten des TGF- β 1 aus den Hirnwasserproben stellt sich in unseren Messreihen nicht signifikant abhängig von der Shuntpflichtigkeit als Faktor der durchgeführten Varianzanalyse dar. Ursächlich hierfür könnte die Tatsache sein, dass die vorab beschriebenen Funktionen des Zytokins in vivo posthämorrhagisch keine wesentliche Rolle in der Entstehung von Liquorzirkulations- oder Abflussstörungen und der Entwicklung eines chronischen und somit shuntpflichtigen HZ spielen. Ebenso wenig wie das im Liquor cerebrospinalis bestimmte TGF- β 1 zeigt sich das gemessene Albumin signifikant abhängig von der Hydrozephalusentwicklung.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse lässt sich somit keine entscheidende Rolle des TGF- β 1 oder Albumins aus den Hirnwasserproben bei der posthämorrhagischen Hydrozephalusentwicklung darstellen.

4.3 TGF- β 2

Das TGF- β 2 spielt im ZNS eine regulierende Rolle beim neuronalen und glialen Zellüberleben und –untergang, der Zellmigration und der Zelldifferenzierung (Böttner M et al., 2000; Flanders C et al., 1991). Stoll et al. (2004) zeigten, dass TGF- β 2 ein wichtiges intrinsisches Zytokin des ZNS ist, das zusätzlich eine wichtige Rolle in der Regulierung von phagozytischen Vorgängen durch Mikrogliazellen und Makrophagen bei Gewebsverletzungen spielt. Somit sollte das TGF- β 2 ähnlich dem TGF- β 1 bezüglich der Entstehung des posthämorrhagischen HZ aufgrund seiner vielfältigen Zytokinfunktionen untersucht werden.

Das aus den Plasmaproben der einzelnen Gruppen gemessene TGF- β 2 zeigt ein diffuses und uneinheitliches Bild (siehe Abb. 23 aus 3.2.3). Bei der Varianzanalyse lassen sich keine signifikanten Effekte oder Trends der drei Faktoren auf die gemessenen Konzentrationen des TGF- β 2 nachweisen.

Der Zeiteffekt auf die erhobenen TGF- β 2-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis nimmt mit einer Signifikanz von $p < 0,001$ Einfluss auf den Verlauf der Messwerte. Es ist ein parabelförmiger Zeitverlauf der TGF- β 2-Konzentrationen in allen vier Gruppen der Studie zu erkennen (siehe Abb. 24 aus 3.2.4). Dabei unterscheiden sich die einzelnen Graphen der vier Gruppen nicht wesentlich. Somit scheint das TGF- β 2 im ZNS nach einer SAB oder ICB trotz der zahlreichen beschriebenen Funktionen bei der Entstehung des posthämorrhagischen Hydrozephalus keine wesentliche Rolle zu spielen und kann somit nicht als HZ-Prädiktor herangezogen werden.

Des Weiteren lassen sich zwischen den TGF- β 2-Konzentrationen der Liquorproben und den gemessenen Albuminspiegeln in ihrem Verhalten keine Parallelitäten darstellen. Folglich stammt das im Liquorsystem nachweisbare TGF- β 2 nicht aus der vorhandenen Blutmenge und ihren korpuskulären Bestandteilen. Die späteren Anstiege der Zytokinverläufe in den vier Gruppen um die Tage drei bis sechs sind dabei am ehesten durch eine posttraumatische TGF- β 2-Sekretion von Nervenzellen, Astrogliazellen und anderen Zellen des Hirngewebes zu begründen und stellen somit eine Reaktion auf die generalisierte Traumatisierung dar.

4.4 Schlussfolgerungen

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass sich in unseren Versuchsserien weder das aus dem Blut oder Liquor cerebrospinalis bestimmte TGF- β 1 noch das TGF- β 2 als Prädiktor für die Entstehung des posthämorrhagischen HZ eignet.

Man kann jedoch aus den Ergebnissen schlussfolgern, dass das nach einer SAB oder ICB im Hirnwasser vorhandene TGF- β 1 an den ersten zehn Tagen hauptsächlich von den intrathekal befindlichen korpuskulären Blutbestandteilen freigesetzt wird und die Konzentration an TGF- β 1 im Liquor cerebrospinalis somit abhängig von der tatsächlich vorhandenen Blutmenge im Liquorsystem ist. Eine Konzentrationssteigerung des TGF- β 1 aus Zellen des ZNS scheint zumindest in den ersten zehn Tagen nach einer SAB oder ICB keine nachweisbare Rolle zu spielen. Des Weiteren ist trotz der anzunehmenden Schädigung der Blut-Hirn-Schranke nicht von einer relevanten Passage des TGF- β 1 auszugehen.

Im Gegensatz zum TGF- β 1 scheint das TGF- β 2 im Hirnwasser nicht von den korpuskulären Blutbestandteilen des Akutereignisses zu stammen, sondern als Folge der neuronalen Traumatisierung im Zuge der Blutung über eine Sekretion von zerebralem Gewebe gesteuert zu sein.

5 Zusammenfassung

Der posthämorrhagische Hydrozephalus (HZ) ist eine ernstzunehmende Komplikation intrakranieller Blutungen. Unabhängig von den bekannten Prädiktoren eines chronischen HZ sind in den letzten beiden Jahrzehnten verschiedene Zytokine in den Vordergrund getreten. Hierbei scheinen die beiden Isoformen TGF- β 1 und - β 2 eine wesentliche Rolle einzunehmen. Hinsichtlich des im Liquor cerebrospinalis nach einer intrakraniellen Blutung vorhandenen TGF- β 1 wird angenommen, dass es einerseits durch die in das Liquorsystem ausgetretenen Blutmenge freigesetzt wird und es andererseits durch die allgemeine Traumatisierung sowohl zu einer Konzentrationssteigerung des Zytokins durch Freisetzung aus Makrophagen, Astrozyten und anderen Zellen des ZNS kommt, als auch eine Sekretion des TGF- β 1 aus den Meningen und dem Plexus choroideus stattfindet. Die erhöhten TGF- β 1-Werte im Liquorsystem können die Fibrogenese, die Narbenbildung und andere gewebliche Umbauprozesse fördern, wodurch die Entwicklung eines chronischen Hydrozephalus gefördert wird. Das TGF- β 2 nimmt eine regulierende Rolle im neuronalen und glialen Zellüberleben und -untergang sowie bei der Zellmigration und -differenzierung ein und kann somit ebenfalls die Entstehung eines posthämorrhagischen Hydrozephalus begünstigen.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 42 intensivmedizinisch betreuten Patienten an den ersten zehn Tagen nach einer Subarachnoidalblutung (SAB) oder intrazerebralen Blutung (ICB) die Zytokine TGF- β 1 und TGF- β 2 in Liquor- und Blutproben gemessen. Zusätzlich wurde aus dem Liquor cerebrospinalis der Albumingehalt bestimmt, welcher als Indikator für die vorhandene Blutmenge im Liquorsystem fungiert.

Zunehmendes Lebensalter scheint ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung eines chronischen HZ zu sein. Die Hauptdiagnose zeigte keinen Einfluss auf die Schulpflichtigkeit des gesamten Patientenkollektivs. Alterskorrigiert führte der subarachnoidale Blutungstyp bei den älteren Blutungspatienten (≥ 60 Jahre) jedoch signifikant häufiger zu einem chronischen HZ.

Bei der statistischen Analyse zeigten die im Blut gemessenen TGF- β 1-Werte einen deutlich aufsteigenden Verlauf, wohingegen die analogen Konzentrationen im Hirnwasser einen abfallenden Verlauf aufweisen. Ein zu den TGF- β 1-

Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis simultanes Verhalten lässt sich bei den Albuminkonzentrationen darstellen. Dementsprechend kann angenommen werden, dass die an den ersten Tagen nach dem Blutungsereignis im Hirnwasser gemessenen TGF- β 1-Konzentrationen aus der intrathekal vorhandenen Blutmenge entstammen, vermutlich den Blutplättchen, in denen TGF- β 1 in größeren Mengen gespeichert wird. Einen zweiten, durch endogene TGF- β 1-Sekretion hervorgerufenen Konzentrationsanstieg im Verlauf des Blutungsereignisses, wie von einigen Arbeitsgruppen beschrieben, konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Des Weiteren ist trotz der anzunehmenden Schädigung der Blut-Hirn-Schranke nicht von einer relevanten Passage des TGF- β 1 auszugehen. Die TGF- β 2-Konzentrationen im Liquor zeigen bei beiden Blutungstypen einen von der Shuntpflichtigkeit unabhängigen parabelförmigen Verlauf mit einem Wendepunkt am sechsten posthämorrhagischen Tag. Ursächlich scheint hier die zelluläre TGF- β 2-Sekretion als Reaktion des Hirngewebes auf die generalisierte Traumatisierung. Zusammenfassend ist jedoch nicht von einer entscheidenden Rolle der Isoformen TGF- β 1 und - β 2 bei der Entwicklung des shuntpflichtigen posthämorrhagischen Hydrozephalus auszugehen.

6 Abstract

The posthemorrhagic hydrocephalus is a serious complication of intracranial bleedings. Independent of known predictors for the development of a chronic hydrocephalus different cytokines have drawn attention during the last two decades. In this context the both isoforms TGF- β 1 and - β 2 seem to play an essential role. TGF- β 1 might be released into posthemorrhagic cerebrospinal fluid (CSF) from corpuscular blood components. Additionally, it was claimed that there is a cellular up-regulation of the TGF- β 1 expression as well as a secretion of TGF- β 1 by the meninges and the choroid plexus due to general traumatization. Raised TGF- β 1 levels in CSF mediate fibrogenesis, scar formation and other tissue remodeling processes, which finally can result in a chronic hydrocephalus. TGF- β 2 is a regulator of neuronal and glial cell survival and decline as well as cell migration and differentiation and could therefore also result in the development of a posthemorrhagic hydrocephalus. In this examination TGF- β 1 and TGF- β 2 were measured in CSF as well as blood specimens of n=42 ICU-patients during the first ten days after a subarachnoid hemorrhage (SAH) or an intracerebral hemorrhage (ICH). In addition, as an indicator for the amount of blood in the liquor system, albumin was determined in the CSF. Higher age may be an independent risk factor for the development of a shunt dependent hydrocephalus. The main diagnosis itself had no influence on the shunt dependency of the patients. After adjusting for age a SAH significantly more often resulted in a chronic hydrocephalus when focusing on the older patients (≥ 60 years). The blood levels of TGF- β 1 showed a clear increase whereas the corresponding liquor concentrations decreased. Albumin and TGF- β 1 concentrations in the CSF displayed a similar course. Therefore it can be concluded that the early increasing TGF- β 1 concentrations in the CSF after traumatization may derive from blood, i.e. from platelets, which are known to store TGF- β 1 in large amounts. In this study we could not observe a second peak of TGF- β 1 in the CSF caused by an endogenous secretion as it was described by other groups. Furthermore cytokines don't seem to pass through the blood liquor barrier in relevant amounts. TGF- β 2 concentrations in CSF after SAH and ICH show a parabolic course with a turning point at the sixth posthemorrhagic day that is independent of the shunt dependency. This may be

caused by a cellular secretion of TGF- β 2 due to a general reaction of the brain tissue after traumatization.

In conclusion, our data do not confirm a crucial role of the two isoforms TGF- β 1 and TGF- β 2 for the development of a chronic posthemorrhagic hydrocephalus.

Literaturverzeichnis

- Adams RD, Victor M, Ropper AH: „Prinzipien der Neurologie“, 6. Auflage, 1999, *McGraw-Hill*
- Angelopoulos M, Gupta SR, Azar Kia B: Primary intraventricular hemorrhage in adults: clinical features, risk factors, and outcome. *Surg Neurol* 1995; 44:433-7
- Auer LM, Mokry M: Disturbed cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage and acute aneurysm surgery. *Neurosurgery* 1999; 26(5):804-8
- Bhattathiri PS, Gregson B, Prasad KS, Mandelow AD: Intraventricular hemorrhage and hydrocephalus after spontaneous intracerebral hemorrhage: results from the STICH trial. *Acta Neurochir* 2006; 96:65-8
- Black PMcL: Hydrocephalus and vasospasm after subarachnoid hemorrhage from ruptured intracranial aneurysms. *Neurosurg* 1986; 18:12-16
- Black PMcL, Tzouras A, Foley L: Cerebrospinal fluid dynamics and hydrocephalus after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1985; 17:57-62
- Border WA, Noble NA: Transforming Growth Factor β in Tissue Fibrosis. The *NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE* 1994; 331(19):1286-1292
- Border WA, Ruoslahti E: Transforming growth factor- β in disease: the dark side of tissue repair. *J Clin Invest* 1992; 90:1-7
- Böttner M, Kriegstein K, Unsicker K: The Transforming Growth Factor- β s: Structure, Signaling, and Roles in Nervous System Development and Functions. *Journal of Neurochemistry* 2000; 75:2227-2240
- Bradley WG: MR appearance of hemorrhage in the brain. *Radiology* 1993; 189:15-26
- Brisman J, Berenstein A: Factors Related to Hydrocephalus after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurosurgery* 2004; 54(4):1031
- Brisman JL, Song JK, Newell DW: Cerebral aneurysms. *N Engl J Med* 2006; 355(9):928-39
- Broderick JP, Brott TG, Tomsick T, et al.: Intracerebral hemorrhage more than twice as common as subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1993; 78:188-91
- Buisson A, Lesne S, Docagne F, Ali C, Nicole O, MacKenzie ET, Vivien D: Transforming growth factor-beta and ischemic brain injury. *Cell Mol Neurobiol* 2003; 23(4-5):539-50
- Cai X, Pattisapu JV, Tarnuzzer RW, Fernandez-Valle C, Gibson JS: TGF-beta1 expression is reduced in hydrocephalic H-Tx rat brain. *Eur J Pediatr Surg* 1999; 1:35-8

- Chalazonitis A, Kalberg J, Twardzik DR, Morrison RS, Kessler JA: Transforming growth factor beta has neurotrophic actions on sensory neurons in vitro and synergistic with nerve growth factor. *Dev Biol* 1992; 152:121-132
- Cherian S, Whitelaw A, Thoresen M, Love S: The pathogenesis of neonatal post-hemorrhagic hydrocephalus. *Brain Pathol* 2004; 14(3):305-11
- Cherian S, Thoresen M, Silver IA, Whitelaw A, Love S: Transforming growth factor- β s in a rat model of neonatal posthaemorrhagic hydrocephalus. *Neuropathology & Applied Neurobiology* 2004; doi:10.1111/j.1365-2990.2004.00588.x
- Chiang VL, Claus EB, Awad IA: Toward more rational prediction of outcome in patients with high-grade subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 2000; 46(1):28-35
- Chow LC, Soliman A, Zandian M, Danielpour M, Krueger RC Jr: Accumulation of transforming growth factor-beta 2 and nitrated chondroitin sulphate proteoglycans in cerebrospinal fluid correlates with poor neurology outcome in preterm hydrocephalus. *Biol Neonate* 2005; 88(1):1-11
- Cui W; Akhurst RJ: Transforming growth factor β s: biochemistry and biological activities in vitro and in vivo. (In) Growth factors and cytokines in health and disease. 1B (Le Roith D, Bondy C, eds) JAI Press (pp) 1996; 319-356
- Crews L, Wyss-Coray T, Masliah E: Insights into the pathogenesis of hydrocephalus from transgenic and experimental animal models. *Brain Pathol* 2004; 14(3):312-6
- Csuka E, Morganti-Kossmann MC, Lenzlinger PM, Joller H, Trentz O, Kossmann T: IL-10 levels in cerebrospinal fluid and serum of patients with severe traumatic brain injury: relationship to IL-6, TNF-alpha, TGF- β 1 and blood-brain barrier function. *J Neuroimmunol* 1999; 101(2):211-21
- Daniel M, Lagord C, Akinwunmi J, Barber P, Jackowski A, Logan A: Measurement of transforming growth factor- β 1 levels in cerebrospinal fluid from patients with CNS injury. *J Endocrinol* 1997; 152:P126
- Dehdashti AR, Rilliet B, Rufenacht A, Tribolet de N: Shunt-dependent hydrocephalus after rupture of intracranial aneurysm: a prospective study of the influence of treatment modality. *Journal of Neurosurgery* 2004; 101:402-407
- Dhandapani KM, Brann DW: Transforming growth factor-beta: a neuroprospective factor in cerebral ischemia. *Cell Biochem Biophys* 2003; 39(1):13-22
- Diringer MN, Edwards DF, Zazulia AR: Hydrocephalus: A Previously Unrecognized Predictor of Poor Outcome From Supratentorial Intracerebral Hemorrhage. *Stroke* 1998; 29:1352-1357
- Dorai Z, Hynan LS, Kopitnik TA, Sampson D: Factors Related to Hydrocephalus after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurosurgery* 2003; 52(4):763-771

- Drake CG: Management of cerebral aneurysm. *Stroke* 1981; 12:273-83
- Drake CG: Report of world federation of neurological surgeons committee on a universal subarachnoid hemorrhage grading scale. *J Neurosurg* 1988; 68:985-6
- Ferro JM: Update on intracerebral haemorrhage. *J Neurol* 2006; 253(8):985-99
- Fisher CM, Kistler JP, Davis JM: Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by CT scanning. *Neurosurgery* 1980, 6:1-9
- Flood C, Akinwummi J, Lagord C, Daniel M, Berry M, Jackowski A, Logan A: Transforming Growth Factor-[beta]1 in the Cerebrospinal Fluid of Patients With Subarachnoid Hemorrhage: Titers Derived From Exogenous and Endogenous Sources. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 2001; 21(2):157-162
- Flanders KC, Fen RF, Lipa CF: Transforming growth factor- β s in neurodegenerative disease. *Prog neurobiol* 1998; 54:71-85
- Flanders KC, Lüsdecke G, Engels S, Cissel DS, Roberts AB, Kondajah P, Lafyatis R, Sporn MB, Unsicker K: Localisation and actions of transforming growth factor- β s in the embryonic nervous system. *The Company of Biologists* 1991; 113:183-191
- Fox JL: Intracranial aneurysms. 1983, *Springer-Verlag, New York*
- Gaetani P, Tartara F, Pignatti P, Tancioni F, Rodriguez y Banea R, De Benedetti F: Cisternal CSF levels of cytokines after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res* 1998; 20(4):337-42
- Galbreath E, Kim S-J, Park K, Brenner M, Messing A: Overexpression of TGF- β 1 in the Central Nervous System of Transgenic Mice Results in Hydrocephalus. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 1995; 54(3):339-349
- Graff-Radford NR, Torner J, Adams Jr HP, Kassel NF: Factors associated with hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage. *A report of the Cooperative Aneurysm Study. Archives of NEUROLOGY* 1989; 46(7)
- Gross WP, Hesselmann V, Wedekind C: Development of chronic hydrocephalus and early cranial CT findings in spontaneous intracerebral/intraventricular hemorrhage. *Zentralbl Neurochir* 2006; 67(1):21-5
- Gruber A, Ungersböck K, Reinprecht A, Czech T, Gross C, Bednar M, Richling B: Evaluation of cerebral vasospasm after early surgical and endovascular treatment of ruptured intracranial aneurysm. *Neurosurgery* 1998; 42:258-268
- Gruber A, Reinprecht A, Bavinzski G, Czech T, Richling B: Chronic Shunt-dependent Hydrocephalus after Early Surgical and Early Endovascular Treatment of Ruptured Intracranial Aneurysms. *Neurosurgery* 1999; 44(3):503-509

- Hashimoto H, Iida J, Hironaka Y, Okada Y, Sakaki T: Use of spiral computerized tomography angiography in patients with subarachnoid hemorrhage in whom subtraction angiography did not reveal cerebral aneurysms. *J Neurosurg* 2000; 92(2):278-83
- Hayashi N, Leifer DW, Cohen AR: Chronologic Changes of Cerebral Ventricular Size in a Transgenic Model of Hydrocephalus. *Pediatric Neurosurgery* 2000; 33:182-187
- Heep A, Bartmann P, Stoffel-Wagner B, Bos A, Hoving E, Brouwer O, Teelken A, Schaller C, Sival D: Cerebrospinal fluid obstruction and malabsorption in human neonatal hydrocephaly. *Childs Nerv Syst* 2006; 22(10):1249-55
- Heep A, Stoffel-Wagner B, Bartmann P, Benseler S, Schaller C, Groneck P, Obladen M, Felderhoff-Mueser U: Vascular Endothelial Growth Factor and Transforming Growth Factor- β 1 Are Highly Expressed in the Cerebrospinal Fluid of Premature infants with Posthemorrhagic Hydrocephalus. *Pediatric Res* 2004; 0031-3998/04/5605-0768
- Heros RC: Acute hydrocephalus after subarachnoid haemorrhage. *Stroke* 1989; 20:715-717
- Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, et al.: Case-fatality rates and functional outcome after subarachnoid hemorrhage: A systemic review. *Stroke* 1997; 28:660-4
- Hunt WE, Hess RM: Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 1968; 28:14-20
- Hutchinson PJ, Power DM, Tripathi P, Kirkpatrick PJ: Outcome from poor grade aneurysmal subarachnoid haemorrhage-- which poor grade subarachnoid haemorrhage patients benefit from aneurysm clipping? *Br J Neurosurg* 2000; 14(2):105-9
- Hsiang JNK, Liang EY, Lam JMK, et al.: The role of computed tomographic angiography in the diagnosis of intracranial aneurysms and emergent aneurysm clipping. *Neurosurgery* 1996; 38:481-7
- Hsieh PC, Awad IA, Getch CC, Bendok BR, Rosenblatt SS, Batjer HH: Current updates in perioperative management of intracerebral hemorrhage. *Neurol Clin* 2006; 24(4):745-65
- Jartti P, Karttunen A, Jartti A, Ukkola V, Sajanti J, Pyhtinen J.: Factors related to acute hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage. *Acta Radiologica* 2004; 45(3):333-9
- Johnson MD, Gold LI, Moses HL: Evidence for Transforming Growth Factor- β Expression in Human Leptomeningeal Cells and Transforming Growth Factor- β -like Activity in Human Cerebrospinal Fluid. *Laboratory Investigation* 1992; 67(3):360

- Juvela S: Riskfactors for impaired outcome after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Arch Neurol* 1995; 53:1993-1200
- Kassel NF, Torner JC, Haley EC, Jane JA, Adams HP, Kongable G: The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery: Part 1- Overall management results". *Journal of Neurosurgery* 1990; 73:18-36
- Kassel NF, Torner JC, Haley EC, Jane JA, Adams HP: The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery: Part 2- Surgical results. *Journal of Neurosurgery* 1990; 73:37-47
- Kastin AJ, Akerstrom V, Pan W: Circulating TGF-beta1 does not cross the intact blood-brain barrier. *J Mol Neurosci* 2003; 21(1):43-8
- Kibler RF, Couch RSC, Crompton MR: Hydrocephalus in the adult following spontaneous subarachnoid hemorrhage. *Brain* 1961; 84:45-61
- Kiefer R, Streit WJ, Toykka KV, Kreutzberg GW, Hartung HP: Transforming growth factor-beta 1: a lesion-associated cytokine of the nervous system. *Int j Dev Neurosci* 1995; 13:331-339
- Kingsley DM: The TGF- β superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* 1994; 8:133-146
- Kitazawa K, Tada T: Elevation of Transforming Growth Factor- β 1 Level in Cerebrospinal Fluid of Patients With Communicating Hydrocephalus After Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke* 1994; 25:1400-1404
- Kikuchi T, Okuda Y, Kaito N, Abe T: Cytokine production in cerebrospinal fluid after subarachnoid haemorrhage. *Neurol Res* 1995; 17(2):106-8
- Koivisto T, Vanninen R, Hurskainen H, Saari T, Hernesniemi JA, Vapalathi MP: Outcomes of early endovascular versus surgical treatment of ruptured cerebral aneurysm: A prospective randomized study. *Neurosurgery* 1999; 44:503-512
- Kolluri VR, Sengupta RP: Symptomatic hydrocephalus following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol* 1984, 21:402-404
- Kosteljanetz M: CSF dynamics in patients with subarachnoid and/or intraventricular hemorrhage. *Journal of Neurosurgery* 1984; 60(5):940-6
- Kreusser KL, Tarby TJ, Kovnar E, et al.: Serial LPs for at least temporary amelioration of neonatal posthemorrhagic hydrocephalus. *Pediatrics* 1985; 75:719-24
- Kriegelstein K, Henheik P, Farkas L, Jaszai J, Galter D, Krohn K, Unsicker K: GDNF requires TGF- β for establishing its neurotrophic activity. *J Neurosci* 1998b; 18:9822-9834
- Kriegelstein K, Strelau J, Schober A, Sullivan A, Unsicker K: TGF- β and the regulation of neuron survival and death. *Journal of Physiology* 2002; 96:25-30

- Krupinski J, Kumar P, Kumar S, Kaluza J: Increased Expression of TGF- β 1 in Brain Tissue After Ischemic Stroke in Humans. *Stroke* 1996; 27:852-857
- Lesne S, Blanchet S, Docagne A, Pietu G, Plawinski L, MacKenzie ET, Auffray C, Buisson A, Pietu G, Vivien D.: Transforming Growth Factor-[beta] 1-Modulated Cerebral Gene Expression. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 2002; 22(9):1114-1123
- Lin CL, Kwan AL, Hownng SL: Acute hydrocephalus and chronic hydrocephalus with the need of postoperative shunting after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Kaohsiung Journal of Medical Science* 1989; 15(3):137-45
- Linn FHH, Rinkel GJ, Algra A, et al.: Incidens of subarachnoid hemorrhage: Role of region, year and CT scanning: Ametanalysis. *Stroke* 1996; 27:525-9
- Ljunggren B, Säveland H, Brandt L: Causes of unfavorable outcome after early aneurysm surgery. *Neurosurgery* 1983; 13:629-633
- Logan A, Berry M, Gonzales AM, Frautschy SA, Sporn MB: Effects of transforming growth factor beta1 on scar production in the central nervous system of the rat. *European Journal of Neuroscience* 1994; 6(3):355-63
- Logan A, Frautschy SA, Gonzalez AM, Sporn MB, Baird A: Enhanced expression of transforming growth factor β 1 in the rat brain after a localised cerebral injury. *Brain Res* 1992; 587:216-225
- Logan A, Green J, Hunter A, Jackson R, Berry M: Inhibition of glial scarring in the injured rat brain by a recombinant human monoclonal antibody to transforming growth factor- β 2. *European Journal of Neuroscience* 1999; 11:2367-2374
- Maira G, Albanese A, Pentimalli L, Tirpakova B: Treatment of intracranial aneurysms. *Clin Exp Hypertens* 2006; 28(3-4):371-6
- Marmarou A, Masset AL, Ward JD, Coi S, Brooks D, Lutz HA, Moulton RJ, Muizenlaar RJ, De Salles A, Young HF: Contribution of CSF and vascular factors to elevation of ICP in severely head-injured patients. *Journal of Neurosurgery* 1997; 66(6):883-90
- Massague J: THE TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β FAMILY. *Annual Review of Cellular Biology* 1990; 6:597-641
- Masuhr KF, Neumann M: „Neurologie“, 5., vollständig überarbeitete Auflage, 2005, *Thieme*
- Moskopp D, Wassman H: „Neurochirurgie- Handbuch für die Weiterbildung und interdisziplinäres Nachschlagwerk“, 2. Auflage, 2005, *Schattauer*
- Mayfrank L, Hutter BO, Kohorst Y, Kreitschmann-Andermahr I, Rohde V, Thron A, Glisbach JM: Influence of intraventricular hemorrhage on outcome after rupture of intracranial aneurysm. *Neurosurg Rev* 2001; 24(4):185-91

- McLennan IS, Weible MW 2nd, Hendry IA, Koishi K: Transport of transforming growth factor-beta 2 across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 2005; 48(2):274-82
- Mehta V, Holness RO, Conolly K, Walling S, Hall R: Acute hydrocephalus following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Canadian Journal of Neurological Science* 1996; 23(1):40-5
- Milhorat TH: Acute hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1987; 20:15-20
- Moinuddin SM, Tada T: Study of cerebrospinal fluid flow dynamics in TGF- β 1 induced chronic hydrocephalic mice. *Neurol Res* 2000; 22(2):215-22
- Morganti-Kossmann MC, Hans VH, Lenzlinger PM, Dubs R, Ludwig E, Trentz O, Kossmann T: TGF-beta is elevated in the CSF of patients with severe traumatic brain injuries and parallels blood-brain barrier function. *J Neurotrauma* 1999; 16(7):617-28
- Moses HL, Branum EL, Proper JA, Robinson RA: Transforming growth factor production by chemical transformed cells. *Cancer Res* 1981; 41, 2842-2848
- Motohashi O, Suzuki M, Yanai N, Umezawa K, Shida N, Yoshimoto T: Thrombin and TGF-beta promote human leptomeningeal cell proliferation in vitro. *Neurosci Lett* 1995; 190(2):105-8
- Nadeau JO, Phillips S, Shi HS, Kapral MK, Gladstone DJ, Silver FL, Hill MD: Intracerebral hemorrhage: outcomes and eligibility for factor VIIa treatment in a National Stroke Registry. *Cerebrovasc Dis* 2006; 22(4):271-5
- Naff NJ: Intraventricular Hemorrhage in Adults. *Curr Treat Options Neurol* 1999; 1(3):173-178
- Nathan C, Sporn M: Cytokines in context. *J Cell Biol* 1991; 113:981-986
- Nehl DG, Flom RA, Carter LP, et al.: Multiple intracranial aneurysms: Determining the site of rupture. *J Neurosurg* 1985; 63:342-8
- Novelline RA: „Squire`s Radiologie- Grundlagen der klinischen Diagnostik für Studium und Praxis“, 5. Auflage, 1995, *Schattauer*
- O`Sullivan MG, Sellar R, Statham PF, Whittle IR: Management of poor grade patients after subarachnoid haemorrhage: the importance of neuroradiological findings on clinical outcome. *Br J Neurosurg* 1996; 10(5):445-52
- Ohwaki K, Yano E, Nakagomi T, Tamura A: Relationship between shunt-dependent hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage and duration of cerebrospinal fluid drainage. *British Journal of Neurosurgery* 2004; 18(2):130-4
- Passero S, Ulivelli M, Reale F: Primary intraventricular haemorrhage in adults. *Acta Neurologica Scandinavica* 2002; 105(2):1600-0404

- Pietila TA, Heimberger KC, Palleske H, Brock M: Influence of aneurysm location on the development of chronic hydrocephalus following SAH. *Acta Neurochirurgica* 1995; 137(1-2):70-3
- Poeck K, Hacke W: „Neurologie“, 11. Auflage, 2001, *Springer*
- Rabinstein AA, Friedmann JA, Nichols DA, Pichelmann MA, McClelland RL, Manno EM, Atkinson JL, Wijdicks EF: Predictors of outcome after endovascular treatment of cerebral vasospasm. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004; 25(10):1778-82
- Roberts AB, Anzano M, Lamb LC, Smith JM, Sporn MB: New class of transforming growth factors potentiated by epidermal growth factor: isolation from nonneoplastic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:5339-5343
- Roberts AB, Sporn MB: Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor- β (TGF- β). *Growth Factors* 1993; 8:1-9
- Ronkainen A, Pranen M, Hernesniemi J, et al.: Intracranial aneurysms: MR angiographic screening in 400 asymptomatic individuals with increased familial risk. *Radiology* 1995; 195:35-40
- Rosenorn J, Eskesen V, Schmidt K, Espersen JO, Haase J, Harmsen A, Hein O, Knudsen V, Midholm S, Marcussen E, et al.: Clinical features and outcome in 1076 patients with ruptured intracranial saccular aneurysms: a prospective consecutive study. *Br J Neurosurg* 1987; 1(1):33-45
- Ross JS, Msaryk TJ, Modic MT, et al.: Intracranial aneurysms: Evaluation by MR angiography. *AJNR* 1990; 11:449-56
- Roos YB, Hasan D, Vermeulen M: Outcome in patients with large intraventricular haemorrhages: a volumetric study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995; 58:622-4
- Ropper AH, Zervas NT: Outcome 1 year after SAH from cerebral aneurysm. *Journal of Neurosurgery* 1984; 60:909-915
- Rota E, Bellone G, Rocca P, Bergamasco B, Emanuelli G, Ferrero P: Increased intrathecal TGF-beta1, but not IL-12, IFN-gamma and IL-10 levels in Alzheimer's disease patients. *Neurol Sci* 2006; 27(1):33-9
- Rudd TG, Nelp WB: CSF circulatory patterns following subarachnoid hemorrhage. *J Nucl Med* 1970; 11:358-360
- Sajanti J, Heikkinen E, Majamaa K: Rapid Introduction of Meningeal Collagen Synthesis in the Cerebral Cisternal and Ventricular Compartments after Subarachnoid Hemorrhage. *Acta Neurochirurgica* 2001; 143:821-826
- Sarti C, Tuomilehto J, Salomaa V, et al.: Epidemiology of subarachnoid hemorrhage in Finland from 1983 to 1985. *Stroke* 1991; 22:848-53

- Säveland H, Hillman J, Brandt L, Edner G, Jakobson KF, Algers G: Overall outcome in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1992; 76:729-734
- Schmieder K, Koch R, Lucke S, Harders A: Factors influencing shunt dependency after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Zentralbl Neurochir* 1999; 60(3):133-40
- Schober A, Hertel R, Arumae U, Farkas L, Jaszai J, Kriegelstein K, Saarma M, Unsicker K: Glial cell line-derived neurotrophic factor rescues target-deprived sympathetic spinal cord neurons but requires transforming growth factor-beta as cofactor in vivo. *J Neurosci* 1999; 19:2008-2015
- Shinnar S, Gammon K, Bergmann EW, et al.: Management of hydrocephalus in infancy: Use of acetazolamide and furosemide to avoid cerebrospinal fluid shunts. *J Pediatr* 1976; 107:31-7
- Specht H, Peterziel H, Bajohrs M, Gerdes HH, Kriegelstein K, Unsicker K: Transforming growth factor β 2 is released from PC12 cells via the regulated pathway of secretion. *Molecular and Cellular Neuroscience* 2003; 22:75-86
- Sporn MB, Roberts AB: Autocrine secretion – 10 years later. *Ann Intern Med* 1992; 117:408-414
- Sporn MB, Roberts AB: Peptid growth factors are multifunctional. *Nature* 1988; 332:217-219
- Sporn MB, Roberts AB: The multifunctional nature of peptide growth factors. Aus: Peptid Growth Factors and Their Receptors. Vol.1. MB Sporn and AB Roberts, editors, *Springer- Verlag, Berlin* 1990; 3-15
- Steinke D, Weir B, Disnay L: Hydrocephalus following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res* 1987; 9:3-9
- Steiner T, Diringner MN, Schneider D, Mayer SA, Begtrup K, Broderick J, Skolnick BE, Davis SM: Dynamics of intraventricular hemorrhage in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage: risk factors, clinical impact, and effect of hemostatic therapy with recombinant activated factor VII. *Neurosurgery* 2006; 59(4):767-73
- Stern M, Chang D, Odell M, Sperber K: Rehabilitation implications of non-traumatic subarachnoid haemorrhage. *Brain Inj* 2006; 20(7):679-85
- Stoll G, Schroeter M, Jander S, Siebert H, Wollrath A, Kleinschnitz C, Brück W: Lesion-associated Expression of Transforming Growth Factor-Beta-2 in the Rat Nervous System: Evidence for Down-regulating the Phagocytic Activity of Microglia and Macrophages. *Brain Pathology* 2004; 14:51-58,
- Tada T, Kanaji M, Kobayashi S: Induction of communicating hydrocephalus in mice by intrathecal injection of human recombinant transforming growth factor-beta 1. *Journal of Neuroimmunology* 1994; 50(2):153-8

- Takata F, Dohgu S, Yamauchi A, Sumi N, Nakagawa S, Naito M, Tsuruo T, Shuto H, Kataoka Y: Inhibition of Transforming Growth Factor-beta Production in Brain Pericytes Contributes to Cyclosporin A-induced Dysfunction of the Blood-Brain Barrier. *Cell Mol Neurobiol* 2007; 27(3): 317-28
- Takizawa T, Tada T, Kitazawa K, Tanaka Y, Hongo K, Kameko M, Uemera KI: Inflammatory cytokine cascade released by leukocytes in cerebrospinal fluid after subarachnoid haemorrhage. *Neurological Research* 2001; 23:724-730(7)
- Tapaninaho A, Hernesniemi J, Vapalathi M, Kari A, Luukkonen M, Puranen M: Shunt-Dependent Hydrocephalus After Subarachnoid Haemorrhage and Aneurysm Surgery: Timing of Surgery is Not a Risk Factor. *Acta Neurochirurgica* 1993; 123:118-124
- Taveras JM; Gilson JM, Davis DO, et al.: Angiographie in cerebral infarction. *Radiology* 1969; 93:549-58
- Tietz NW: Clinical chemistry. 2nd ed. London: WB Saunders 1994
- Toffol GJ, Biller J, Adams HP, et al.: The predicted value of arteriography in nontraumatic intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1986; 17:881-3
- Unsicker K, Flanders KC, Cissel DS, Lafyatis R, Sporn MB: Transforming growth factor beta isoforms in the adult rat central and peripheral nervous system. *Neuroscience* 1991; doi: 10.1016/0306-4522(91)90082-Y
- Unsicker K, Kriegelstein: Co-activation of TGF- β cytokine signalling pathways are required for neurotrophic functions. *Cytokine & Growth Factor Reviews* (11) 2000; 97-102
- Vale F L, Bradley EL, Fisher III WS: The relationship of subarachnoid hemorrhage and the need for postoperative shunting. *Journal of Neurosurgery* 1997; 86:462-466
- Gijn van J, Hijdra A, Wijdichs EF, Vermeulen M, van Crevel H: Acute Hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1985; 63:355-362
- Vanninen R, Koivisto T, Saari T, Hernesniemi JA, Vapalathi MP: Ruptured intracranial aneurysms: Acute endovascular treatment with electrolytically detachable coils- A prospective randomized study. *Radiology* 1999; 211:325-336
- Vassilouthis J, Richardson AE: Ventricular dilatation and communicating hydrocephalus following spontaneous subarachnoid hemorrhage. *Neurology* 1994; 44:1851-1855
- Velthuis BK, van Leeuwen MS, Witkamp MS, Ramos LM, Berkelbach van der Sprenkel JW: Surgical anatomy of the cerebral arteries in patients with subarachnoid hemorrhage: comparison of computerized tomography angiography and digital subtraction angiography. *J Neurosurg* 2001; 95(2):206-12

- Verweij FH, Hasan D, Vermeulen M, Tanghe HLJ, van Gijn J: Predictiv factors for deterioration from hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage. *Neurolog* 1994; 44:1851-1855
- Vivien D, Bernaudin M, Buisson A, Divoux D, MacKenzie ET, Nouvelot A: Evidence of Type I and Type II Transforming Growth Factor- β in Central Nervous Tissues: Change Induced by Focal Cerebral Ischemia. *Journal of Neurochemistry* 1998; 70:2296-2304
- Wahl SM, Allen JB, McCartney-Francis N, Morganti-Kossmann MC, Kossmann T, Ellingsworth L, Mai UE, Mergenhagen SE, Orenstein JM: Macrophage and astrocyte derived transforming growth factor [beta] as a mediator of central nervous system dysfunction in acquired immune deficiency syndrome. *J Exp Med* 1991; 173:981-991
- Wang KC, Lee JE, Chen CL, Tseng SH, Kao MC, Chen JC: Interhemispheric transcorspus callosal approach in the treatment of ventricular hemorrhage with obstructive hydrocephalus. *Surg Neurol* 2006; 66 Suppl 2:S52-9
- Whitelaw A: Repeated lumbar or ventricular punctures for preventing disability or shunt dependence in newborn infants with intraventricular hemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2):CD000216
- Whitelaw A: Repeated lumbar or ventricular punctures in newborns with intraventricular hemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; (1):CD000216
- Whitelaw A, Christie S, Pople I: Transforming Growth Factor-[beta]-1: A Possible Signal Molecule for Posthaemorrhagic Hydrocephalus? *Pediatric Research* 1999; 46(5):567
- Whitelaw A, Kennedy CR, Brion LP: Diuretic therapy for newborn infabts with posthemorrhagic ventricular dilatation. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; (2):CD002270
- Wiebers DO, Whisnant JP, Sundt TM, et al.: The significance o unruptured intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg* 1987; 66:23-9
- Wiss-Coray T, Feng L, Masliah E, Ruppe MD, Lee HS, Toggas SM, Rockenstein EM, Mucke L: Increased Central Nervous System production of Extracellular Matrix Components and Development of Hydrocephalus in Transgenic Mice Overexpressing Transforming Growth Factor- β 1. *American Journal of Pathology* 1995; 147:53-67
- Widenka DC, Wolf S, Schurer L, Plev DV, Lumenta CB: Factors leading to hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurol Neurochir* 2000; Pol 34(6):56-60
- Worthley LI, Holt AW: Acute haemorrhagic stroke. *Crit Care Resusc* 2000; 2(3):209-19

Yamamoto I, Hara M, Ogura K: Early operation for ruptured intracranial aneurysm: comparative study with computed tomography. *Neurosurgery* 1983; 12:169-174

Yoshioka H, Inagawa T, Tokuda Y, Inokuchi F: Chronic Hydrocephalus in Elderly Patients Following Subarachnoid Hemorrhage. *Surgical Neurology* 2000; 53:119-25

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ALB	Albumin
C°	Grad Celsius
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CTA	Computertomographische Angiographie
DSA	digitale Subtraktionsangiographie
EVD	externe Ventrikeldrainage
Fa.	Firma
g	Gramm
HZ	Hydrozephalus
h	Stunde
IL	Interleukin
ICP	intrakranieller Druck (intracranial pressure)
ICB	intrazerebrale Blutung (intracerebral bleeding)
Ig	Immunglobulin
CSF	Liquor cerebrospinalis (cerebrospinal fluid)
KM-CT	Kontrastmittel-Computertomographie
λ	Wellenlänge
M	Molmasse
m	männlich
MCP	monocyte chemoattractant protein
min	Minute
ml	Milliliter
mol	Stoffmenge
MRA	Magnetresonanzangiographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MW	Mittelwert
μ l	Mikroliter
N	Normalität
nCT	native Computertomographie

ng	Nanogramm
nm	Nanometer
R ²	Regressionskoeffizient
RT	Raumtemperatur
Rλ	Referenzwellenlänge
p	Signifikanz
pg	Pikogramm
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SAB	Subarachnoidalblutung
Tab.	Tabelle
TGF	Transforming Growth Factor
VA	ventrikuloatrial
VB	Ventrikelblutung
VP	ventrikuloperitoneal
w	weiblich

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: nCT-Schichtbilder eines Patienten mit einer SAB.....	7
Abbildung 2: nCT-Schichtbild eines Patienten mit einer ICB	9
Abbildung 3: nCT-Schichtbilder eines Patienten mit einem posthämorrhagischen Hydrozephalus.....	13
Abbildung 4: Schematische Darstellung eines ventrikuloperitonealen (VP) Shunts und Abbildung eines Ventils	14
Abbildung 5: Die molekulare Struktur der TGF- β -Superfamilie.....	17
Abbildung 6: Verteilung der Hauptdiagnosen des Patientenkollektivs	26
Abbildung 7: Gruppenverteilung des Patientenkollektivs	27
Abbildung 8: Schematische Darstellung des ELISA-Testprinzips.....	36
Abbildung 9: Prinzip der Standardverdünnung des TGF- β 1-ELISA.....	38
Abbildung 10: Pipettierschema des TGF- β 1-ELISA	39
Abbildung 11: Flussdiagramm des TGF- β 1-ELISA.....	41
Abbildung 12: Flussdiagramm des TGF- β 2-ELISA.....	44
Abbildung 13: Beispiel einer Standardkurve des TGF- β 1-ELISA	46
Abbildung 14: Beispiel einer Standardkurve des TGF- β 2-ELISA	46
Abbildung 15: Durchschnittsalter der Frauen, Männer und des gesamten Patientenkollektivs.....	49
Abbildung 16: Altersverteilung der Geschlechter.....	50
Abbildung 17: Durchschnittsalter abhängig von den beiden Hauptdiagnosen	50
Abbildung 18: Altersverteilung der Hauptdiagnosen.....	51
Abbildung 19: Geschlechterverteilung der Hauptdiagnosen.....	52
Abbildung 20: Durchschnittsalter in Abhängigkeit von der Shuntpflichtigkeit.....	54
Abbildung 21: Verhalten von TGF- β 1 im Blut der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit.	56
Abbildung 22: Verhalten von TGF- β 1 im Blut der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit.....	57
Abbildung 23: Verhalten von TGF- β 1 im Liquor cerebrospinalis der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit	59
Abbildung 24: Verhalten von TGF- β 1 im Liquor cerebrospinalis der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit	60

Abbildung 25: Verhalten von TGF- β 1 der beiden Hauptdiagnosen im Liquor cerebrospinalis an den zehn Messzeitpunkten mit den dazugehörigen Regressionsgeraden	62
Abbildung 26: Verhalten von TGF- β 2 im Blut der SAB-Patienten an den zehn posthämorrhagischen Tagen abhängig von der Shuntpflichtigkeit.	64
Abbildung 27: Verhalten von TGF- β 2 im Blut der ICB-Patienten an den zehn posthämorrhagischen Tagen abhängig von der Shuntpflichtigkeit	65
Abbildung 28: Verhalten vom TGF- β 2 im Liquor cerebrospinalis der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit	66
Abbildung 29: Verhalten von TGF- β 2 im Liquor cerebrospinalis der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit	67
Abbildung 30: Verhalten der Albuminmittelwerte im Liquor cerebrospinalis der SAB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit	69
Abbildung 31: Verhalten der Albuminmittelwerte im Liquor cerebrospinalis der ICB-Patienten an den zehn Messzeitpunkten abhängig von der Shuntpflichtigkeit	70
Abbildung 32: Verhalten der Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis der beiden Hauptdiagnosen an den zehn Messzeitpunkten mit der dazugehörigen Regressionsgeraden	72
Abbildung 33: Verhalten der TGF- β 1- und Albuminmittelwerte der SAB- und ICB-Patienten im Liquor cerebrospinalis an den Messzeitpunkten.....	75

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die häufigsten Lokalisationen intrakranieller Aneurysmata.....	3
Tabelle 2: WFNS-Score zur Klassifikation der klinischen Symptomatik nach abgelaufener SAB der World Federation of Neurological Surgeons (WFNS).....	4
Tabelle 3: Spontanverlauf bei Patienten mit einer aneurysmatischen SAB	5
Tabelle 4: Fisher-Score zur Klassifizierung des Blutungsausmaßes einer SAB im CT5	
Tabelle 5: Hauptlokalisationen und Häufigkeiten der spontanen ICB	8
Tabelle 6: In die Studie eingegangene Fallzahlen	28
Tabelle 7: Einfluss des Geschlechts auf die Shuntpflichtigkeit des Kollektivs	52
Tabelle 8: Einfluss der Hautdiagnose auf die Shuntpflichtigkeit des Kollektivs.....	53
Tabelle 9: Verhältnis zwischen shuntpflichtigen und nicht shuntpflichtigen Patienten (≥60 Jahre) abhängig von der Hauptdiagnose.....	55
Tabelle 10: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF-β1-Werte im Blut für die vier Patientengruppen	57
Tabelle 11: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF-β1-Werte im Liquor cerebrospinalis für die vier Patientengruppen.....	60
Tabelle 12: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF-β1-Werte im Liquor cerebrospinalis für die beiden Hauptdiagnosen.....	62
Tabelle 13: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF-β2-Werte im Blut für die vier Patientengruppen	65
Tabelle 14: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der TGF-β2-Werte im Liquor cerebrospinalis für die vier Patientengruppen.....	67
Tabelle 15: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis für die vier Patientengruppen.....	70
Tabelle 16: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis für die beiden Hauptdiagnosen.....	72
Tabelle 17: Signifikante Korrelationen der Messparameter an drei Zeitpunkten.....	74
Tabelle 18: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der gemessenen TGF-β1- und Albuminwerte im Liquor cerebrospinalis für die zwei Hauptdiagnosen.....	75

Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zentrum für Neurologie und Neurochirurgie in der Neurochirurgischen Klinik am Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH (Standort Gießen) unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Dieter-Karsten Böker in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Deinsberger angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Deinsberger für die freundliche Überlassung des Themas und die großzügige Förderung dieser Dissertation.

Für die wertvolle praktische Anleitung und zahlreichen konstruktiven Anregungen danke ich Frau Dr. med. S. Kästner.

Allen Mitarbeitern der Neurochirurgischen Klinik am Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH (Standort Gießen) danke ich für die herzliche Aufnahme ins Team und ihre Hilfsbereitschaft.

Des Weiteren danke ich dem Zentrallabor des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie unter der Leitung von Prof. Dr. N. Katz und dem Institut für Medizinische Informatik unter der kommissarischen Leitung von Prof. Dr. G. Weiler (Stellvertreter: Dr. R.-H. Bödeker) am Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH (Standort Gießen) für die gute Zusammenarbeit.

Meiner Familie danke ich von ganzem Herzen für Ihre bedingungslose Liebe und Unterstützung.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Ioannis Dimitriou
geb. am 04.07.1979 in Menden (Sauerland)
ledig
Staatsangehörigkeit: griechisch
Religionszugehörigkeit: griechisch-orthodox

Ausbildung

1985 - 1994 Griechische Grundschule und Gymnasium
Menden
1985 - 1989 Grundschule Josefschule Menden
1989 - 1998 Walram-Gymnasium Menden
1998 – 2005 Studium der Humanmedizin an der
Justus-Liebig-Universität Gießen

Abschlüsse

1994 Griechische mittlere Reife
1998 Allgemeine Hochschulreife
2000 Ärztliche Vorprüfung
2001 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2004 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2005 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2005 Approbation als Arzt

Ärztliche Tätigkeit

August 2005 – Juni 2007 Assistenzarzt in der Klinik für
Allgemein- und Viszeralchirurgie
Klinikum Krefeld
Direktor: Prof. Dr. PR. Verreet

seit Juni 2007 Assistenzarzt in der Klinik für Allgemeine
Chirurgie, Unfallchirurgie und Gefäßchirurgie
Alfried Krupp Krankenhaus Essen
Leitender Arzt: Prof. Dr. M. Betzler

Ioannis Dimitriou
Düsseldorf, im Dezember 2007