

Aus der Klinik für Neurochirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Immundepression nach
aneurysmatischer Subarachnoidalblutung

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Stefan Radolf

aus Hildesheim

Datum der Promotion: 26.02.2016

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Ableitung der Fragestellungen	1
1.1	Aneurysmatische Subarachnoidalblutungen	1
1.2	Physiologische und gestörte Immunkompetenz	13
1.3	Fragestellungen im Überblick	20
2	Methodik	21
2.1	Studiendesign der zugrundeliegenden SAB-Immunistudie-38	21
2.2	Erfassung der Patienteneigenschaften und Verlaufskomplikationen	23
2.2.1	Initiales klinisches Grading der aSAB zu Beginn des Monitorings	23
2.2.2	Initiale radiologische Klassifikation zu Beginn des Monitorings	24
2.2.3	Erfassung von klinischen Zustandsveränderungen und Komplikationen	25
2.2.4	Erfassung von infektionsbezogenen Parametern und Definition von Infektionen	26
2.3	Messung immunologischer Parameter	28
2.4	Datenverarbeitung und Statistik	33
3	Ergebnisse und statistische Auswertung	35
3.1.1	Deskriptive Statistik I – allgemeine Patientencharakteristik	35
3.1.2	Deskriptive Statistik II – allgemeine Infektionsstatistik	37
3.1.3	Deskriptive Statistik II – Infektionsereignisse im Zeitverlauf	38
3.1.4	Deskriptive Statistik III – Keimspektrum	39
3.1.5	Deskriptive Statistik IV – Infektionsstatistik und klinische Eigenschaften	40
3.1.6	Infektionen und initiale Parameter mit skaliertem Messniveau	42
3.1.7	HAP und mechanische Ventilation	43
3.2	Messergebnisse der Laborparameter: Zytokine und Immunzellen – Übersicht	44
3.2.1	Univariate Gruppenvergleiche der monozytären HLA-DR-Expression	46
3.2.2	Vergleich von Patienten mit low grade WFNS 1-3 vs. high grade WFNS 4-5	48
3.2.3	Vergleich von asymptomatischen Patienten vs. Patienten mit AFND	50
3.2.4	Vergleich von asymptomatischen Patienten vs. Patienten mit DCI	52
3.2.5	Vergleich von Patienten ohne HAP vs. Patienten mit HAP	54
3.2.6	Vergleich von Patienten ohne HAEOP vs. Patienten mit HAEOP	56

3.3	Schließende Statistik für die klinischen Eigenschaften und Labormarker	58
3.3.1	Abhängige Variablen / klinische Endpunkt	58
3.3.2	Receiver-Operating-Charakteristiken (ROC)	58
3.3.3	Regressionsmodelle für Infektionen über alle Infektionsarten	59
3.3.4	Regressionsmodelle für vor der 72. Stunde aufgetretene Infektionen	61
3.3.5	Regressionsmodelle für HAP	62
3.3.6	Regressionsmodelle für HAEOP	63
3.4	Outcome nach aSAB	63
3.4.1	HLA-DR-Immundeprimierung und Letalität nach aSAB – Kaplan-Meier-Analyse	64
3.4.2	Infektionen und Letalität nach aSAB – Kaplan-Meier-Analyse	65
3.4.3	Infektionen und Morbidität	67
3.5	Multivariate Analysen	67
4	Diskussion der Ergebnisse	72
4.1.1	Vergleich der allgemeinen Studiencharakteristiken mit der Pilotstudie	72
4.1.2	Immundeprimierung mit verminderter HLA-DR-Expression nach aSAB	73
4.1.3	HLA-Immundefizienz und Bedeutung für das Outcome	75
4.1.4	Vergleich des Outcomes mit Referenzstudien	77
4.1.5	Infektionen, Infektionshäufigkeiten und Bedeutung für das Outcome	77
4.1.6	Immundeprimierung und Infektionen	79
4.1.7	Gestörte Balance der Leukozyten-Subpopulationen nach aSAB	84
4.1.8	Abschließende Folgerungen	89
5	Literaturverzeichnis	91
6	Abkürzungsverzeichnis	98
7	Eidesstattliche Versicherung	99
8	Anteilsklärung an erfolgten Publikationen	100
9	Lebenslauf	101
10	Danksagung	101

Zusammenfassung

Hintergrund: Für Patienten mit aneurysmatischer Subarachnoidalblutung (aSAB) stellen Infektionen eine häufige und oft lebensbedrohliche Komplikation dar. Begünstigend könnte hierfür die Existenz eines CNS-injury induzierten Immundefizienz-Syndroms (CIDS) sein, das beim Stroke seit Jahren beforscht wird, aber bei aSAB erst kürzlich beschrieben wurde. Ziele dieser Arbeit sind: die Existenz eines CIDS zu prüfen sowie Zusammenhänge mit klinischen Eigenschaften, Verlaufskomplikationen und dem Outcome zu untersuchen.

Methoden: In einer prospektiven aSAB-Fallserie erfolgte ein 15tägiges klinisches Monitoring und Follow-up (Tag 180). Erfasst wurden der Schweregrad nach *World Federation of Neurosurgical Societies* (WFNS), *akute fokal-neurologische Defizite* (AFND), *delayed cerebral ischemia* (DCI) und Infektionen. An den Tagen 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB wurden Immunmarker flowzytometrisch gemessen: Leukozytenpopulationen, Human-Leukocyte-Antigen-DR (HLA-DR), Tumor-Nekrose-Faktor-Alpha, Interferon-Gamma (IFN- γ), Interleukin-2, 4-6, 8, 10 in vivo und nach Concanavalin-A- bzw. Lipopolysaccharid-Stimulation.

Ergebnisse: Eingeschlossen wurden 66 Patienten (54 ± 11.5 Jahre), davon 56% mit hohem WFNS-Graden \geq IV. In 76.3% der Fälle trat eine Lymphopenie auf. Ein CIDS mit pathologisch niedriger HLA-DR-Expression (Nadir am Tag 3) kam bei 78.8% der Patienten vor; ausgeprägt vor allem in Fällen mit neurologischer Symptomatik bzw. Infektionen. Eine im Krankenhaus erworbene Pneumonie entwickelten 34.8% der Patienten (Inzidenz Gipfel: Tag 3.5). Für Patienten mit einer niedrigen monozytären HLA-DR-Expression \leq 9740 Antikörper/Zelle am Tag 3 zeigte sich ein ungünstigeres Chancenverhältnis (OR 7.071; 95% CI 1.328-37.651; $p=0.015$) hinsichtlich der Entwicklung von Frühpneumonien (48-96 Stunden nach Krankenhausaufnahme) und einer verkürzten kumulativen Überlebenszeit. Im multiplen Regressionsmodell für Infektionen erwies sich auch DCI als Prädiktor. Für besonders früh aufgetretene Infektionen (\leq 72 Stunden nach aSAB-Onset) waren das Vorkommen eines AFND (OR 4.167; 95% CI 1.028-16.884; $p=0.035$) und auch eine niedrige IFN- γ -Sekretion \leq 602 pg/ml (OR 7.392; 95% CI 1.392-39.273; $p=0.012$) prädiktiv. In der multivariaten Analyse konnte die Varianz der IFN- γ -Sekretion der Tage 3-9 besonders durch das Vorkommen eines pathologisch erhöhten intrakraniellen Druckes (ICP) erklärt werden.

Schlussfolgerung: in der untersuchten Kohorte konnte die Existenz und die Relevanz einer Immundepression bei aSAB-Patienten nachgewiesen werden. Ein Immunmonitoring kann die Identifikation von Patienten mit hohem bzw. geringem Infektionsrisiko unterstützen und sollte insbesondere bei kontrollierten Studien zur Infektionsprophylaxe nach aSAB in Betracht gezogen werden. Weitere Forschung ist auch notwendig, um die Bedeutung einer DCI bzw. einer pathologischen ICP-Erhöhung für die Entwicklung einer gestörten Immunkompetenz genauer zu verstehen.

Abstract

Background: Patients with subarachnoid hemorrhage (aSAH) often suffer from infections, such as bacterial pneumonia during their hospital stay, contributing to unfavorable outcomes. A complicating factor for this could be the existence of a CNS injury-associated immunodeficiency syndrome (CIDS), which is studied after acute CNS lesions since years, but has been only recently described in aSAH. The objectives of this work are: to evaluate the existence of CIDS, and to examine relations between clinical features, laboratory markers of immunity, infections, and the outcome.

Methods: Consecutive patients with aSAH underwent a prospective clinical monitoring for 15 days and follow-up (day 180). Recorded were: the severity according to the grading of the World Federation of Neurological Societies (WFNS), acute focal neurological deficits (AFND), delayed cerebral ischemia (DCI), and infections. Immune markers were measured by flow cytometry on days 1, 3, 6, 9, 12, 15 and 180 after aSAH: human leukocyte-antigen-DR (HLA-DR), tumor necrosis factor alpha, interferon gamma (IFN- γ), interleukin-2, 4-6, 8, 10 in vivo, and after stimulation with concanavalin-A and lipopolysaccharide.

Results: 66 patients have been enrolled (54 ± 11.5 years). 56% presented with WFNS \geq IV. Nearly all patients (93.9%) have been ventilated mechanically; 25% of them were ventilated during the whole monitoring period. CIDS with pathological low monocytic HLA-DR expression with a nadir at day 3 was present in 78.8% of patients, pronounced in symptomatic and infected patients. In 76.3% a lymphopenia was detectable. 34.8% of patients developed hospital acquired pneumonia (peak incidence: day 3.5). Patients with very low monocytic HLA-DR \leq 9740 antibodies/cell at day 3 showed higher risk (OR 7.071; 95% CI 1.328-37.651; $p=0.015$) for hospital acquired early onset pneumonia (onset 48-96 hours after admission) and decreased cumulative survival in Kaplan-Meier analysis. The occurrence of DCI has been found predictive for infection in the multiple regression analysis. Infections with very early Onset (\leq 72 hours after aSAH onset) were predicted by AFND (OR 4.167; 95% CI 1.028-16.884; $p=0.035$) and low IFN- γ \leq 602 pg/ml (OR 7.392; 95% CI 1.392-39.273; $p=0.012$). In multivariate analysis the presence of pathological high intracranial pressure (ICP) turned out as relevant for lowered IFN- γ (day 3-9).

Conclusion: The existence of a relevant cellular immune depression following SAH was confirmed in the study cohort. An immune monitoring may help to evaluate patient's risk for infections in particular for future controlled trials of prophylactic anti-infective therapy after aSAH. Further investigation is required to understand the relationship of DCI, pathological ICP and impaired cellular immunocompetence.

1 Einleitung und Ableitung der Fragestellungen

Subarachnoidalblutungen (SAB) sind eine heterogene Gruppe von Blutungen in dem liquorgefüllten Raum zwischen Arachnoidea und Pia mater des Gehirns bzw. Rückenmarks, teilweise auch mit einer Einblutung in das Hirnparenchym oder das Ventrikelsystem. Klinisch besonders wichtig ist der Typus der *aneurysmatischen Subarachnoidalblutung (aSAB)*, der allein 75-80% der spontanen, d.h. nicht-traumatisch verursachten Blutungen ausmacht und durch Ruptur eines Aneurysmas der hirnversorgenden Arterien hervorgerufen wird (Schievink 1997). Obwohl sich in den letzten 30 Jahren die Überlebenschancen für aSAB-Patienten um 17% verbessert haben (Rinkel and Algra 2011), bedeuten intrakranielle Aneurysmablutungen – auch heute noch – eine tiefe Zäsur im Leben der Betroffenen und bleiben ein unverändert gravierendes Krankheitsbild mit großen Herausforderungen für die neurochirurgisch-intensivmedizinische Versorgung. Hierbei stellen *Infektionen* mit einer Prävalenz von ca. 20% für aSAB-Patienten eine besonders häufige und oft lebensbedrohliche Komplikation dar (Frontera et al. 2008). Das Problem der eingeschränkten Immunkompetenz mit vermehrtem Auftreten von Infektionen nach neurochirurgischen Operationen (Asadullah et al. 1995b), zerebralen Läsionen (Meisel et al. 2005) und Schlaganfällen wird bereits seit Jahren intensiv beforscht (Prass et al. 2003; Chamorro et al. 2007a; Dirnagl et al. 2007; Urra and Chamorro 2010). Bei der aSAB hat das Verständnis der herabgesetzten Immunität jedoch erst kürzlich mit einer wegweisenden Pilotstudie begonnen (Sarrafzadeh et al. 2011).

Makroziele dieser Arbeit sind, das Vorliegen einer aSAB-assoziierten Immundefunktionsstörung zu überprüfen, mögliche Zusammenhänge mit der Pathophysiologie einer aSAB aufzudecken und den Einfluss auf das neurologische Endergebnis (Outcome) zu untersuchen. Die ersten Kapitel (1.1ff) sollen den Kenntnisstand zur aSAB umreißen, um Parameter zu identifizieren, die später in dieser Arbeit eingehender untersucht werden. Danach sollen, soweit dies zum Verständnis der Hypothesen und Methodik nötig ist, Marker der Immunität vorgestellt werden (Kapitel 1.2ff). Anschließend werden die entwickelten Fragestellungen kurz zusammengefasst (Kapitel 1.3).

1.1 Aneurysmatische Subarachnoidalblutungen

1.1.1 Epidemiologie

In der Literatur variieren die Inzidenzangaben zur aSAB stark. Bezogen auf 100.000 Personenjahre werden für aneurysmatische Blutungen 7-10 Betroffene in der westlichen Bevölkerung geschätzt (Spendel 2009). Eine Metastudie zur Epidemiologie der aSAB verglich 51 Arbeiten der Jahre 1955 bis 2003 und errechnete eine mittlere Inzidenz von 9.1 (95% CI: 8.8-9.5) für eine hypothetische *Referenzregion*, die durch 42 Studien repräsentiert wird und auch die Bundesrepublik

Deutschland sowie die USA umfasst. Davon abweichend zeigte sich das Auftreten von aSAB in Japan 2.5fach erhöht, in Finnland 2.2fach erhöht und in Süd- bzw. Zentralamerika 2.2fach erniedrigt. Über einen Veröffentlichungszeitraum von 45 Jahren wurde von den Autoren eine langfristige *Abnahme* der Inzidenz von ca. 0.6% (-1,3 bis +0,1%) pro Jahr errechnet (de Rooij et al. 2007). Die Inzidenz steigt mit dem Alter: bezogen auf die Referenzgruppe der 45-55jährigen erleiden Menschen über 85 Jahren 1.6fach häufiger eine Blutung. Die Geschlechterverteilung variiert altersabhängig: während in jungen Jahren eher Männer betroffen sind, erleiden nach dem 55. Lebensjahr eher Frauen eine SAB, so dass insgesamt das weibliche Geschlecht vermehrt betroffen ist. Daraus ergibt sich die Frage: *unterscheiden sich mit dem Alter bzw. dem Geschlecht auch die Labormarker der Immunität oder die Inzidenz von Infekten?*

1.1.2 Intrakranielle Aneurysmen

Stromgebiet	% (95% CI)
A. carotis interna	42 (37-46)
A. cerebri media	30 (26-34)
A. cerebri anterior	24 (20-27)
posteriore Zirkulation	10 (7,7-13)

Tabelle 1: Lokalisation intrakranieller Aneurysmen in zwei Autopsie- und fünfzehn Angiografie-Studien (n=563). Zitiert in Rinkel 1998, S. 255

Intrakranielle Aneurysmen (IA) sind meist sakkuläre, oder beerenförmige Aussackungen der Wand größerer Zerebralarterien, die im Umfeld von Verzweigungen vorkommen und eine stark verdünnte oder fehlende Tunica media aufweisen (Schievink 1997). Sakkuläre Aneurysmen sind zu

72% unter 6 mm groß; 21% erreichen 6-10 mm und nur 6.5% überschreiten 10 mm. Ausdehnungen über 20 mm – so genannte *Giant-Aneurysmen* – sind selten. Aus der Strokeforschung ist bekannt, dass linkshirnige Läsionen Infektionen begünstigen (Harms et al. 2011). Hieraus folgt eine Nebenfrage: *gibt es Zusammenhänge zwischen der Größe bzw. Topologie (Lateralität, Stromgebiet) rupturierter Aneurysmen und der Immunität / Infektionsinzidenz?*

In der Allgemeinbevölkerung ohne Komorbiditäten, die als prädisponierend gelten, soll die Prävalenz *nicht-rupturierter* Aneurysmen bei ca. 2.3% liegen (Rinkel et al. 1998). Eine neuere Metaanalyse von 68 internationalen Untersuchungen gibt die Prävalenz sogar mit 3.2% (95% CI 1.9-5.2) an. Beim Vergleich verschiedener Studienpopulationen wurden Prävalenzraten (PR) errechnet, die ein relativ vermehrtes Vorkommen bei Patienten mit autosomal-dominanter polyzystischer Nierenerkrankung (PR ~6.9) und positiver Familienanamnese (PR ~3.4) bestätigen. Prädisponiert sind auch Patienten mit Arteriosklerose (PR ~2.4), ferner: Menschen über 50 Jahre (PR ~2.2) und allgemein Frauen (PR~ 1.61). (Vlak et al. 2011).

Faktoren, die letztlich eine Ruptur auslösen, bleiben unklar. In bis zu 50% der Fälle kann anamnestisch eine vorausgegangene Presssituation (*Valsava*) eruiert werden (Linn et al. 1998).

Aufgrund der häufigen Lokalisation an Verzweigungen des *Circulus Arteriosus Willisii* nahm man früher vereinfachend eine „Gefäßwandschwäche“ als Ursache an. Heute existieren verschiedene Theorien, wieso bei manchen Menschen die Gefäßinnenschicht durch Lücken in der bindegewebig-muskulären Tunica media prolabiert und Anhängsel bildet, die an Größe zunehmen und schließlich symptomatisch werden:

(A) *genetische Prädispositions-Hypothesen* sind in großen Multicenterstudien bestätigt worden (Yasuno et al. 2010), (Bilguvar et al. 2008). Bekannt ist, dass Aneurysmen familiär gehäuft vorkommen und mit hereditären Erkrankungen, wie dem Ehlers-Danlos-Syndrom, der autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung und dem Alpha-1-Antitrypsinmangel u.a. assoziiert sind (Schievink 1998).

(B) *hämodynamisch-gefäßdegenerative* Hypothesen zur Pathogenese von Aneurysmen haben das alte Modell *kongenitaler* Genese infrage gestellt (Stehbens 1989). Wichtige Argumente sind der Nachweis von „Strömungsscherkräften“ (Gonzalez et al. 1992), die Assoziation mit „*Gefäßstress*“ durch arteriovenöse Malformationen (Cockcroft et al. 1998) und die experimentelle Auslösbarkeit von Aneurysmen durch Gefäßligatur im Tiermodell (Cai et al. 2012). Heute ist unstrittig, dass Noxen mit bekannter gefäßschädigender Wirkung wie: Rauchen, Hypertonie und Alkoholmissbrauch an einer Aneurysmaentwicklung beteiligt sein können (Rinkel 2008).

(C) *Inflammatorische Hypothesen (nicht erregerbedingt)*: Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α) wird freigesetzt aus Immunzellen und findet sich vermehrt in der Wand rupturierter Aneurysmen. Dies ist assoziiert mit erhöhter Aktivität von Matrix-Metalloproteinasen, die an Gefäßwandschäden, Aneurysmawachstum und -Ruptur beteiligt sind. Weil TNF- α durch bekannte Risikofaktoren (weibliches Geschlecht, Hypertonie, Rauchen, Alkohol) induziert wird, sind Entzündungsvorgänge ein möglicher Erklärungsansatz für das Aneurysmen-Wachstum und Rupturen (Jayaraman et al. 2008). Immunologische Prozesse sind also vielleicht von Anfang an der Pathogenese einer aSAB beteiligt.

Für diese Arbeit ergibt sich hieraus folgende Frage: *bestehen zwischen aSAB-Patienten mit/ohne Nikotinmissbrauch und mit/ohne Hypertonie Unterschiede bezüglich der Immunkompetenz und der Inzidenz von Infekten?*

1.1.3 Klinische Symptomatik rupturierter Aneurysmen

Leitsymptome: Führendes Zeichen einer akuten aSAB ist plötzlich aufgetretener Kopfschmerz, den die Patienten typischerweise als "so stark wie niemals zuvor" beschreiben. Bei über 50% der Patienten tritt der Schmerz sofort unmittelbar mit maximaler Intensität auf und ist gelegentlich von einem Gefühl des Platzens (*Burst*) begleitet. Bei rund einem Viertel der Patienten dauert es bis zu einer Minute, bevor der Schmerz voll ausgeprägt ist; langsamere Entwicklungen mit einem *crescendo*, länger als 5 Minuten bis zur maximalen Schmerzentfaltung, sprechen gegen eine aSAB. Nur bei wenigen Patienten ist Kopfschmerz das einzige Initialsymptom: bei einem von drei Fällen sind Herdsymptome bzw. Hirnnervenausfälle vorhanden. Deutlich seltener (7%) sind Krampfanfälle, die bei harmlosen Kopfschmerzursachen nicht auftreten und daher differenzialdiagnostisch wegweisend sein können. 76% klagen zugleich über Übelkeit und bei 69% kommt es zu Erbrechen (Linn et al. 1998), was eine Aspiration und somit Pneumonien begünstigen könnte.

Cephalgien gelten darüber hinaus auch als Warnsignal: über 50% der aSAB-Patienten berichten retrospektiv von Kopfschmerzepisoden bereits Tage bis Monate vor einer Ruptur, was oft als Sentinel-Kopfschmerz, Symptom kleinerer *warning leaks*, aufgefasst wurde (Ostergaard 1991). Eine spätere Studie (Linn et al. 2000) zeigte, dass *warning headaches* möglicherweise nicht auf echte Vorblutungen zurückgehen. Linn und Kollegen nennen als weitere Symptome bei 17% der Patienten subhyaloide Hämorrhagien, also Einblutungen zwischen Glaskörper und Retina sowie eine erst nach Stunden verzögert auftretende *meningeale* Symptomatik mit Nackensteifigkeit.

Bewusstseinsstörungen: ein wichtiges Symptom der aSAB sind Bewusstseinsstörungen. Diese können primär mit dem Blutungsereignis auftreten oder sekundär im Krankheitsverlauf eine klinische Verschlechterung anzeigen. Initiale Bewusstseinsstörungen mit GCS-Werten < 13 treten bei etwa 26-36% der Patienten auf (Linn et al. 1998). Im Einzelfall ist es unklar, ob eine initiale Bewusstlosigkeit, deren Dauer eine prädiktive Bedeutung für das Outcome besitzen soll, als funktionelle Störung – etwa im Rahmen eines initialen Krampfanfalls – oder als Ausdruck einer strukturellen Hirnläsion verstanden werden muss (Hop et al. 1999).

ZNS-Läsionen und Bewusstseinsstörungen nach aSAB bilden offenbar keine klare, einheitliche Entität. Da aber aus naheliegenden Gründen ein Zusammenhang mit (Aspirations-)Pneumonien vermutet werden kann, soll in der vorgelegten Arbeit die neurochirurgisch präziser definierte Kategorie akuter fokal-neurologischer Defizite (Kapitel 1.1.3.1) verwendet werden.

1.1.3.1 Early Brain Injury und akut aufgetretene fokale neurologische Defizite

Der Begriff *early brain injury* (EBI) bezeichnet alle Arten von zerebralen Läsionen bei aSAB, die innerhalb der ersten 72 Stunden nach dem Ereignis aufgetreten sind und nicht durch einen Vasospasmus ausgelöst sein können. Daran beteiligt sind zwei Schädigungswege:

- (1) plötzlicher intrazerebraler Druckanstieg, direkt nach der Ruptur mit konsekutivem Abfall der zerebralen Perfusion (*stop-flow-Phänomen*) mit akuter transienter zerebraler Ischämie, die evtl. unmittelbar zum Tod führt und
- (2) falls die erste Phase überlebt wird: ein sekundärer ischämischer Schaden aufgrund einer (möglicherweise) gestörten Blut-Hirnschranke mit Hirnödem und verzögertem Nervenzelluntergang. Das Hirnödem trägt zum Anstieg des intrakraniellen Drucks und nachfolgend – möglicherweise als *circulus vitiosus* – zur weiteren Reduktion der Perfusion bei (Pluta et al. 2009; Sehba et al. 2011).

Früh kommt es auch zu einer gesteigerten Sympathikusaktivität (Lambert et al. 2000; Naredi et al. 2006; Sehba et al. 2012) und zu erhöhten Kortisol-Konzentrationen im Plasma (Zetterling et al. 2011), was in Verbindung zu einer gestörten Immunität stehen könnte (Sehba et al. 2012). (Vgl. Kapitel 1.2.4)

Klinischer Ausdruck einer frühen cerebralen Läsion sind akut innerhalb der ersten 72 Stunden nach aSAB-Onset aufgetretene fokale-neurologische Defizite (AFND), die klar von anderen, insbesondere verzögert auftretenden Schädigungsmustern abgegrenzt werden müssen:

Diagnostische Kriterien eines AFND
<ol style="list-style-type: none">1. Klinischer Nachweis eines relevanten neurologischen Defizits i.S. einer <i>Hemiparese</i> bzw. <i>Hemiplegie</i>, <i>Bewusstseinsstörung</i> und/oder <i>Aphasie</i>.2. Auftreten <i>spontan</i> nach Onset und/oder wenige Stunden <i>postoperativ</i> infolge eines Arterienverschluss und/oder einer Thrombembolie oder eines <i>Frühödems</i>.3. <i>CT-Ausschluss</i> vorbestehender Störungen und eines <i>Hydrozephalus</i>4. Ausschluss anderer sekundärer Ursachen wie: <i>Elektrolytstörungen</i>, <i>Hypoxyämie</i>, <i>epileptische Anfälle</i> (vgl. Kapitel 2.2.3)

Tabelle: Diagnostische Kriterien eines AFND (Sarrafzadeh et al. 2003)

Es ergibt sich die wichtige Frage: *wie unterscheiden sich Patienten mit bzw. ohne AFND hinsichtlich Marker der Immunkompetenz oder bei der Inzidenz von Infekten?*

1.1.3.2 Sekundär verzögert auftretende Ischämie

Sekundäre Zustandsverschlechterungen bei aSAB-Patienten stehen häufig in einem Zusammenhang mit Perfusionsstörungen, für die sich der klinische Begriff *Vasospasmus* (VSP) etabliert hat. Nach Frontera lassen sich mehrere VSP-Arten unterscheiden: in der Mehrzahl liegt ein asymptomatischer VSP vor, der bei 31% der Patienten im Angiogramm sichtbar ist und in 45% der Fälle im Rahmen einer transkraniellen Dopplersonografie (TCD) nachgewiesen werden kann (Frontera et al. 2009). *Vasospasmus* ist ein morphologisch-deskriptiver Begriff, klinisch relevant sind jedoch nur:

1. *symptomatischer Vasospasmus* (sVSP), der bei 16% der SAB-Patienten auftritt und als klinische Zustandsverschlechterung definiert ist, die nach Ausschluss anderer Gründe einer Gefäßengstellung zugeordnet werden kann. In der Literatur wird das klinische Bild als *Delayed Ischemic Neurological Deficit* (DIND) bezeichnet, mit Verschlechterung des neurologischen Zustands bzw. neu aufgetretenen Symptomen wie: Bewusstseinsstörungen, Herdsymptomen, meningealen Zeichen wie Nackensteife, Kopfschmerz und auch Fieber (nach Love Adams 1992, zitiert in Dreier 2003); bei sedierten bzw. beatmeten Patienten ist sVSP schwierig zu diagnostizieren.

2. *Delayed Cerebral Ischemia* (DCI) nach Frontera ist definiert als symptomatischer Vasospasmus oder Infarkte, die einem Vasospasmus zugeordnet werden können oder beides gemeinsam. Einer DCI wird besondere Bedeutung beigemessen, weil sie mit ungünstigen Verläufen und hoher Sterblichkeit vergesellschaftet ist (Frontera et al. 2009); DCI bezeichnet i.e.S. die radiologischen bzw. morphologischen Korrelate und das funktionelle Outcome eines *Infarkts*, der im Verlauf einer SAB nach Ausschluss anderer Ursachen aufgetreten ist (Vergouwen et al. 2010).

Die Häufigkeit einer DCI hängt vom Hunt-und-Hess-Grad ab und liegt im Mittel bei ~27% (18-48%; n=264) (Hijdra et al. 1987). In der Literatur schwanken die Angaben zwischen ~11% (n=381) (Crowley et al. 2011) und ~38% (n=13) (Woitzik et al. 2012). Im Sektionsgut an SAB-Verstorbener fanden sich gesicherte Infarkte sogar bei 77% (n=53) (Neil-Dwyer et al. 1994).

Gefäßengstellungen treten meist im Zeitraum von Tag 4 bis 14 nach SAB auf. Der zeitliche Verlauf eines Vasospasmus hängt auch vom vorausgegangenen Therapieverfahren ab: eine amerikanische Studie verglich 21 Coiling-Patienten, bei denen ein Vasospasmus im Median bereits nach 4 Tagen auftrat mit 46 Clipping-Patienten, bei denen ein Vasospasmus im Umfeld des 7. Tages gemessen werden konnte (Ionita et al. 2010).

Pathologisch-anatomisch betrachtet entstehen bei DCI keine Schlaganfallstypischen territorialen Infarkte, sondern Störungen der kortikalen Mikroperfusion. Am Gehirn verstorbener SAB-Patienten wird oft kein Infarktmuster nachgewiesen, das zu einem Verschluss proximaler Zerebralarterien passt, sondern häufiger die Spuren eines räumlich verteilten Geschehens, das subakut an distalen Arteriolen stattfindet (Neil-Dwyer et al. 1994). Zur Pathophysiologie einer DCI existieren vielfältige, oft konkurrierende und sich z.T. ergänzende Denkansätze:

a) *Inflammation*: Vasospasmen sind mit dem Auftreten leukozytär-endothelialer Entzündungsreaktionen vergesellschaftet; nach Hämolyse im Subarachnoidalraum und Bindung von Hämoglobin an CD163+Makrophagen kommt es zur Apoptose und Freisetzung von Zytokinen (Chaichana et al. 2010). Dabei korrelieren symptomatische Vasospasmen gut mit Interleukin-6 in der zerebralen Extrazellulärflüssigkeit und im Liquor (Sarrafzadeh et al. 2010).

Zeitlich wird vasokonstriktorisch wirksames Endothelin-1 aus Endothelzellen, Astrozyten und Immunzellen freigesetzt, dessen medikamentöse Blockade mit Clazosentan zwar einen Vasospasmus verhindern kann, jedoch in der klinischen Erprobung hinsichtlich DCI, Mortalität und Outcome enttäuscht hat. (Wang et al. 2012).

b) *Spreading Depolarizations (SD)*. Dies sind in langsamer Geschwindigkeit über den Kortex laufende Wellen neuronaler bzw. astroglialer Depolarisation. Im Tiermodell können von SD begleitete Perfusionsstörungen durch Applikation von Liquor mit niedriger Glukosekonzentration bzw. erhöhten Konzentrationen an Hämoglobin und Kalium ausgelöst werden (Dreier et al. 2000). SD sind bei 72% der operierten SAB-Patienten nachweisbar. Hierbei treten komplex ausgelöste *Spreading Ischemias (SI)* auf, die bei 38% der Patienten in zeitlicher Kopplung mit DIND-Symptomen stehen und bei 22% der Patienten als DCI im CCT darstellbar sind (Dreier et al. 2006).

Cluster von Spreading Depolarisationen sind, trotz Vasospasmus-Prophylaxe mit Nicardipin-Einlagen, mit DCI assoziiert (Woitzik et al. 2012). Ob Spreading Depolarisationen einen Einfluss auf Infektionen haben oder zu Störungen der Immunität führen, ist noch unbekannt.

c) Mikrothromben, die sich zeitgleich mit Vasospasmen und inflammatorischen Prozessen entwickeln. Hier wird eine Aktivierung der Gerinnungskaskade bzw. eine gestörte Fibrinolyse als Ursachen der DCI angenommen (Stein et al. 2006; Vergouwen et al. 2008).

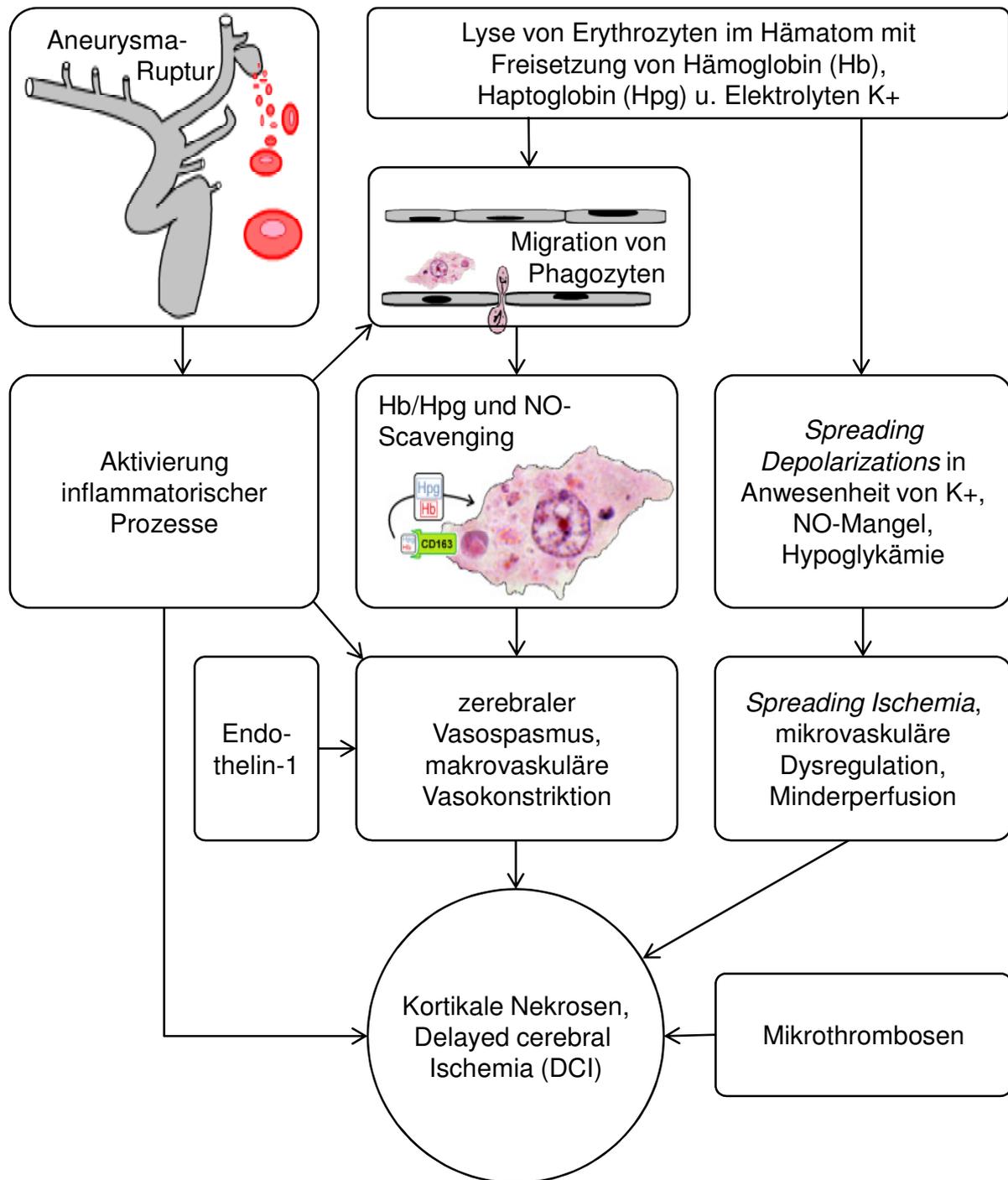


Abb.: Überblick pathophysiologischer Konzepte zur Erklärung sekundärer Ischämien nach aSAH; eigene Grafik.

Daraus ergibt sich folgende wichtige Frage: *Unterscheiden sich Patienten mit bzw. ohne Vasospasmus hinsichtlich der Infektionsinzidenz und Immunkompetenz? Da der Onset eines Vasospasmus vom Therapieverfahren abhängt: unterscheiden sich auch die Onset-Termine von Infekten bei Patienten Coiling/Clipping-Patienten mit/ohne delayed cerebral ischemia?*

1.1.4 Weitere einzubeziehende Verlaufskomplikationen (*adverse events*)

Neben dem eigentlichen Blutungsereignis und etwaigen AFNDs bzw. DINDs treten oft weitere *adverse events* (AE; Zustandsverschlechterungen) auf, die einen Zusammenhang mit einer Immundepression aufweisen könnten und daher untersucht werden sollen:

- Hyperglykämien sind außerordentlich häufig. Ein Zusammenhang von hohen Blutglukosekonzentrationen mit einer gestörter Immunität ist bei Intensivpatienten bekannt (Wasmuth et al. 2004). Die initialen Messergebnisse vom Aufnahmetag sollen hier in die Untersuchung einbezogen werden.
- erhöhter Intrakranieller Druck (ICP): nach pressogener Sympathikus-Aktivierung ist eine systemisch messbare Interleukin-10 Freisetzung bekannt, die immunsuppressiv wirkt (Woiciechowsky und Volk, 2005a) und möglicherweise Infektionen begünstigt. Eine Erfassung von ICP-Erhöhungen findet daher auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit statt.

Ausgeklammerte Fragestellungen: Folgende AE werden in dieser Arbeit, hinsichtlich eines potenziellen Zusammenhangs mit Immunstörungen, *nicht* weiter in die Betrachtung einbezogen: a) *neurogene Lungenödeme*, die bei 2-29% der aSAB-Patienten nachweisbar sein sollen, sowie b) *kardiale Komplikationen*, die bei 5-15% der Betroffenen vorkommen (Inamasu et al. 2012). Patienten mit aSAB zeigen zwar oft erhöhte Troponin-Werte (Miketic et al. 2010) und Vorhofflimmern ist beim ischämischen Stroke sogar ein wichtiges Element des A2DS2-Scores zur Pneumonierisiko-Prediktion (Hoffmann et al. 2012), jedoch würde ein Einbezug kardialer AE den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Ohne weitere Betrachtung bleibt in dieser Arbeit auch, ob c) *Anämien* nach aSAB mit einer Immundepression zusammenhängen, obwohl dies potenziell von Interesse wäre, da das immundepressorische Interleukin (IL)-10 an der Pathogenese von Anämien mitwirkt (Tilg et al. 2002). Ohne weitere Analyse bleiben auch postoperative Nachblutungen, die im Zeitverlauf den klinischen Zustand eines Patienten potenziell verschlechtern könnten, aber in der Pilotstudie praktisch nicht vorkamen. Ferner soll auch eine etwaige Hyponatriämie als Ausdruck eines SIADH (Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion) nicht analysiert werden. Derartige Störungen kommen bei 27% der SAB-Patienten vor (Pierrakos et al. 2012) und könnten auf eine Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Achse hindeuten, die an ZNS-assoziierten Immunstörungen beteiligt ist (Dziedzic et al. 2004). Allgemein gelten niedrige Natriumkonzentration im Serum jedoch als irrelevant für das Outcome (Shirani and Alimohamadi 2012).

1.1.5 Infektionen im Verlauf des Akutmanagements

Die interdisziplinäre Versorgung auf einer Intensivstation (ICU) dient der unmittelbaren Aufrechterhaltung der Lebensfunktionen, dem postinterventionellen Management, der Prophylaxe, Erkennung und Behandlung von Komplikation. Dabei sind die katheterisierten und oft beatmeten aSAB-Patienten gegenüber einer Vielzahl von Infektionsmöglichkeiten exponiert. Ob es sich bei Infektionen um nosokomiale Infektionen (NI) handelt, hängt von den zugrunde liegenden Definitionen ab. Gebräuchlich sind die Kriterien des Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (vgl. Robert Koch-Institut 2011). Allgemein ist bei Infektionen erst ≥ 48 Stunden nach Aufnahme eine nosokomiale Genese erwarten (vgl. Geffers and Gastmeier 2011).

Die *einfache* Infektionsprävalenz bezieht sich auf *Patienten* und ignoriert interindividuell unterschiedliche *Exposition*: so errechnete Frontera für 573 SAB-Patienten folgendes Vorkommen: Pneumonie: 20%, Harnwegsinfekte 13%, Sepsis 8%, Meningitis/Ventrikulitis 5% (Frontera et al. 2008). Eine spezifischere Angabe ist die Zahl geräteassoziierter Infektionen (*device associated Infections*, DAI) pro 1000 Geräte-Tage. 2005-2009 nahmen deutschlandweit 586 ICUs mit $\sim 5.8 \times 10^6$ Behandlungstagen am Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS) teil. Dabei zeigten sich für neurochirurgische ICUs im Vergleich mit allen anderer Stationen die häufigsten DAI-Infektionsraten: 9.6 beatmungsassoziierte Pneumonien, 1.9 ZVK-assoziierte Sepsis und 5.1 Harnwegskatheter-assoziierte Infekte pro 1000 Device-Tage (Geffers and Gastmeier 2011).

Infekte pro 100 Patienten (neurochirurgische ICU)
9.0 Pneumonien
7.3 Harnwegsinfekte (HWI)
1.0 Sepsis
1.1 Meningitis
0.7 Hirnabszess/Ventrikulitis
1.7 sonstige (Wundinfektion, Bronchitis, Diarrhoe u.a.)

Tabelle: Infektionen auf neurochirurgischen ICU; Dettenkofer et al. 1999

In einer prospektiven Studie der Uniklinik Freiburg wurden über 20 Monate mikrobiologische Befunde von insgesamt 545 Patienten der neurochirurgischen ICU nach CDC-Kriterien kategorisiert. Die Gesamtinzidenz an Infektionen betrug dort 20.7%. Die durchschnittliche Verweildauer auf der ICU betrug 9.4 Tage. *Device associated Infections*: es zeigten sich 15.1 ventilationsassoziierte Pneumonien pro 1000 Beatmungstage und 8.5 katheterassoziierte HWI pro 1000 Kathetertage. Als häufigste Erreger wurden E. Coli und Enterokokken gefunden. (Dettenkofer et al. 1999)

Daraus ergibt sich die Frage: *wie hängen bei aSAB-Patienten, die beatmet waren, die Behandlungsdauer bzw. die bloße Exposition mit der Infektionsinzidenz für Pneumonien zusammen?*

1.1.6 Therapieoptionen bei aSAB

Die Auswahl des Verfahrens richtet sich nach dem Zustand des Patienten, der Morphologie des Aneurysmas und den verfügbaren Möglichkeiten. Im Wesentlichen lassen sich unterscheiden:

a) operative neurochirurgische Techniken:

1. *Goldstandard*: Clipping des Aneurysma mittels einer kleinen Metallklemme ist eine sichere und effiziente Methode, um Blutungen zu stillen und Nachblutungen zu verhindern.
2. *Zweite Wahl*: Wrapping bzw. Coating, durch Umhüllen mit Muskulatur, Baumwolle oder anderen Materialien. Die Methode wird nur angewendet, wenn Clipping unmöglich ist.

b) endovaskulär neuroradiologische Techniken:

1. Coiling: Synonym: *Electrolytic Detachable Coils* (EDC) bzw. *Guglielmi Detachable Coils* (GDC) bezeichnet das angiographiekontrollierte Einbringen von kleinen Metalldrähtchen durch einen arteriellen Katheter mit dem Ziel der Aneurysmathrombosierung.

Beide Verfahren haben spezifische Vorzüge und Domänen. Auf die methodisch kontrovers diskutierte ISAT-Studie (Molyneux et al. 2002) soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden, ebenso wenig auf weitere Therapieverfahren wie *Trapping* und *Onyx HD 500* (Dalyai et al. 2012).

Clipping ist immer dann besonders indiziert bzw. dem Coiling überlegen, wenn es sich um einen jüngeren Patienten handelt oder sich das Aneurysma an der Verzweigung der Arteria cerebri media befindet oder das Aneurysma > 20 mm bzw. < 2 mm groß ist oder einen breiten Hals hat; außerdem bei Patienten, die eine N. oculomotorius-Parese durch Masseneffekt aufweisen.

(Greenberg 2010 S. 1057ff)

Coiling kann angewendet werden, wenn die Konfiguration des Aneurysmas passt (Hals < 5 mm und *Fundus-Hals-Quotient* ≥ 2). Vorteile bestehen bei Patienten > 75 Jahre, bei *poor grade*-Aneurysmen, bei Aneurysmen der posterioren Zirkulation und Lokalisationen, die chirurgisch schwer zugänglich sind. Außerdem bei Patienten unter Clopidogrel-Therapie.

Bezüglich des Timings kann das Clipping grundsätzlich früh (< 96 Stunden) oder spät (> 10. Tag) nach Onset durchgeführt werden. Vorteil einer frühen Operation ist die frühe Reduktion des Rezidivrisikos (Greenberg 2010 S. 1065f). Auch kann erst nach Verschluss der Blutungsquelle eine Behandlung des Vasospasmus durch *hypertensive hypervolämische Hämodilution* (Triple-H-Therapie) erfolgen, was die Therapie der Wahl darstellt (Sarrafzadeh et al. 2007).

Vergouwen und Kollegen durchsuchten retrospektiv im kanadischen Schlaganfallsregister die Daten von 931 nicht randomisierten SAB-Patienten mit HH-Grad 2-3. Der Vergleich von Clipping vs. Coiling ergab ungünstigere Inzidenzen bei Patienten mit Clipping [Pneumonien (15.1% vs. 9.4%) bzw. Harnwegsinfekten (15.9% vs. 10.7%).

Die Autoren vermuteten: "*It can also be hypothesized that clipped patients are at increased risk to develop immunodepression, which increases the risk of infections after SAH.*" (Vergouwen et al. 2011).

Diese Hypothese soll in der vorliegenden Arbeit ebenfalls überprüft werden, denn es gibt keine Daten, ob sich Clipping und Coiling im Hinblick auf Marker der Immunkompetenz bedeutsam unterscheiden. Im Rahmen der CONSCIOUS-1 Studie konnte kürzlich erst gezeigt werden, dass bei Clipping gegenüber Coiling kein erhöhtes Risiko für eine systemische Entzündungsreaktion (SIRS) besteht (Tam et al. 2010), was eine nachfolgend verminderte Immunität hätte begünstigen können. Es ist aber seit fast 20 Jahren bekannt, dass Patienten nach neurochirurgischen Eingriffen allgemein eine verminderte zelluläre Immunkompetenz besitzen (Asadullah et al. 1995b). In der vorliegenden Arbeit soll daran anknüpfend untersucht werden:

Unterscheiden sich Labormarker der Immunkompetenz für Patienten nach Clipping und Coiling?
Es sei ausdrücklich betont, dass mit dieser Frage nicht das Ziel verfolgt wird, Therapieverfahren zu vergleichen, sondern lediglich Zusammenhänge mit der Immunität zu finden. Zudem ist im – noch vorzustellenden – Design der Studie keine Randomisierung vorgesehen, was methodisch korrekte Treatmentvergleiche (Trampisch et al. 2000 S. 38) gar nicht erlauben würde.

Vetrikulostomie

Oft ist im Rahmen einer Aneurysmablutung die temporäre Anlage einer Liquordrainage über einen intraventrikulären Katheter (externe Ventrikeldrainage, EVD) nötig. Beispielsweise, wenn der Patient blutungsbedingt eine Hydrozephalie aufweist oder blutiger Liquor drainiert werden muss; über die EVD kann dann gleichzeitig der intrakranielle Druck (ICP) gemessen werden.

Wichtige Fragen hierbei sind: *unterscheiden sich die Immunkompetenz und das Infektionsrisiko von Patienten mit erhöhtem bzw. normalem ICP?*

1.2 Physiologische und gestörte Immunkompetenz

Die Abwehr von Pathogenen ist ein mehrstufiger Prozess. An den Grenzflächen zur Umwelt hemmen Haut- und Schleimhäute unter physiologischen Bedingungen das Eindringen von Keimen; daran beteiligt sind neben dichten Epithelzellkontakten auch andere Mechanismen, wie z.B. eine effektive mukoziliäre Clearance des Bronchialepithels (Murphy et al. 2009 S. 444-447, 827), proteolytische Enzyme und die physiologische Flora, die ein protektives pH-Milieu erzeugt. In der Tiefe schützt den Organismus ein komplexes Netzwerk immunkompetenter Zellen und löslicher Biomoleküle. Dabei werden eingedrungene Mikroorganismen durch zwei interagierende Strategien bekämpft: die angeborene und die adaptive Immunität (Murphy et al. 2009 S. 53-133, 536ff).

1.2.1.1 Angeborene Immunantwort

Zu den Akteuren der angeborenen Immunität gehören Makrophagen, dendritische Zellen (DC), Mastzellen, Granulozyten und *natural killer cells* (NKC; NK-Zellen). Die voraussetzungsfreie Erkennung von Pathogenen gelingt anhand von *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs). Dies sind molekulare Muster (*Motive*), die im menschlichen Organismus normalerweise nicht vorkommen, sondern als generische, evolutionär stabile Klassenmerkmale wie ein Fingerabdruck von Mikroorganismen funktionieren. Beispiele sind: mikrobielle DNA, Lipopolysaccharide (LPS) in der Membran gramnegativer Bakterien, Lipoteichonsäuren (LTA) bei grampositiven Keimen u.a. (Murphy et al. 2009 S. 73ff; Brown et al. 2011).

Eine angeborene Immunantwort wird ausgelöst, wenn PAMPs im Organismus an Pattern-recognition receptors (PRRs, Mustererkennungsrezeptoren) binden. Es kommt in der Folge zur Opsonierung der Mikroorganismen für Phagozyten, aber auch zur Aktivierung des Komplement- und Gerinnungssystems, zur Triggerung proinflammatorischer Signalwege und ggf. zur Induktion von Apoptose. Solche PRR können intrazellulär vorliegen, sezerniert in gelöster Form im Blut vorkommen: z.B. Mannose-bindendes Lektin (MBL), C-reaktives Peptid (CRP) u.a. oder an immunkompetente Zellen gebunden sein. Zu den membranständigen PRRs gehören *scavenger-receptors* auf Makrophagen sowie *toll-like receptors* (TLRs) (Murphy et al. 2009 S. 73f). Sie kommen bei vielen Leukozyten vor und führen nach Aktivierung mit Hilfe von Transkriptionsfaktoren (z.B. NF- κ B) zur Bildung von Zytokinen: Interleukin-(IL)-1 β , IL-6, TNF- α und Chemokinen: IL-8. Die freigesetzten Stoffe, oft von kurzer Halbwertszeit, hemmen bzw. fördern Reaktionen anderer Zellen oder wirken autokrin auf sich selbst. Sie können systemisch nachweisbar sein oder auf ein Kompartiment beschränkt (Murphy et al. 2009 S. 297-300; S. 435-459).

1.2.1.2 Antigenpräsentation und monzytäres HLA-DR

Makrophagen präsentieren Fragmente phagozytierter, lysierter und aufbereiteter Antigene an ihrer eigenen Oberfläche, um mit anderen Akteuren der adaptiven Immunität zu interagieren: hierbei werden körperfremde Polypeptide an spezifische Rezeptoren gebunden, die zum *human leukocyte antigen* (HLA)-System gehören und nach dem dazugehörigen Genort *DR* auf Chromosom 6 auch als *HLA-DR* bezeichnet werden; diese Rezeptoren sind allgemein auch als *major histocompatibility complex* (MHC) der Klasse II bekannt (Murphy et al. 2009 S. 44). Wenn Antigenfragmente am HLA-DR wie auf einem Präsentierteller gebunden sind, interagiert der Komplex mit dem CD4-Rezeptor von T-Lymphozyten und führt in zu einer Aktivierung (Murphy et al. 2009 S. 435). Eine analoge Aktivierung von zytotoxischen T-Zellen geschieht über MHC Klasse I-Moleküle, was hier nicht näher erörtert werden soll. Die Expression von MHC II wird durch $\text{IFN-}\gamma$ gesteigert und durch IL-10 , $\text{TGF-}\beta$ und Stresshormone vermindert, was zur Verstärkung bzw. Abschwächung der Immunantwort führt (Murphy et al. 2009 S. 444-447, S. 827).

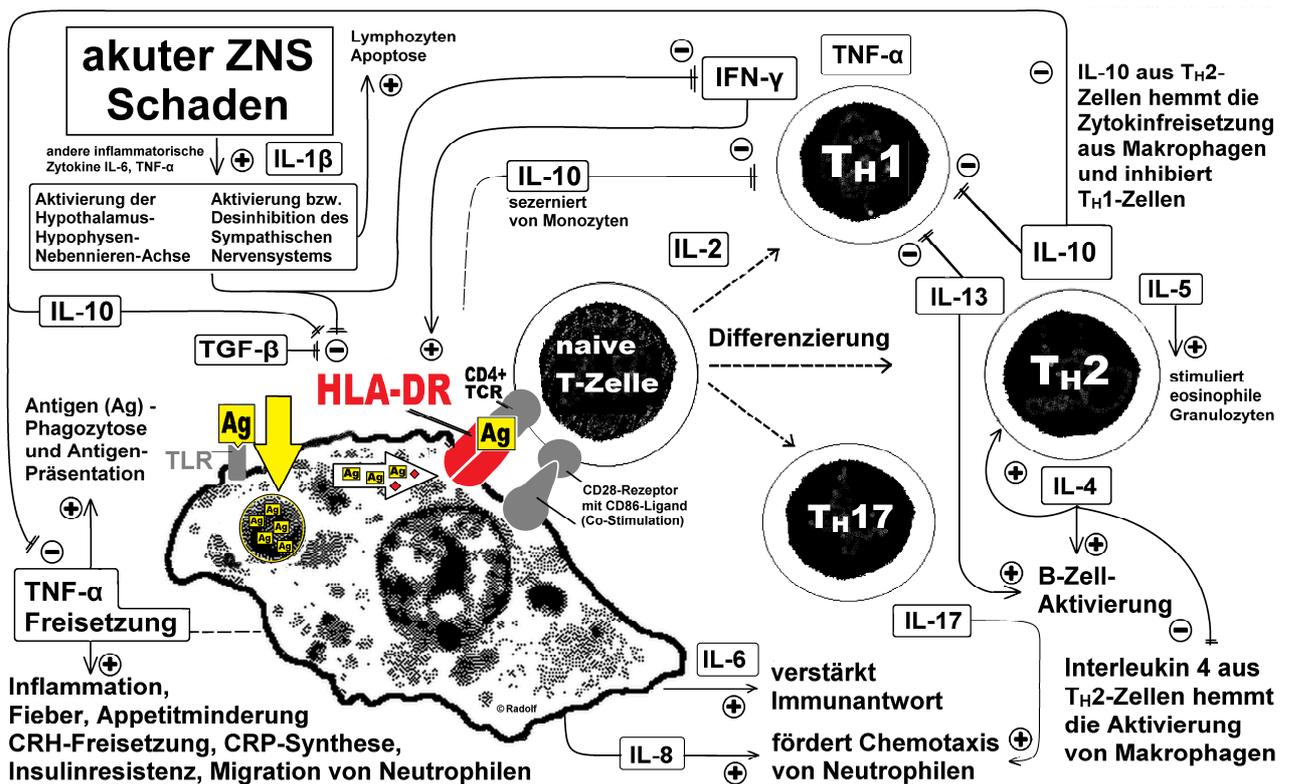


Abb.: antigenpräsentierender Makrophage bei der Aktivierung eines CD4-positiven Lymphozyten; T-Zell-Differenzierung mit Effekten einiger Zytokine; mögliche Einflüsse von ZNS-Schäden. Plus-Symbol: stimulierende Einflüsse, minus-Symbol: hemmende Einflüsse; Ag (Antigen); T_H (T-Helferzelle); TLR (Toll-like-Receptor); TCR (T-cell-receptor); Bild des Makrophagen mit freundlicher Genehmigung von Dr. Thomas Caceci; Abbildung abgewandelt nach (Murphy et al. 2009 S. 257, 435, 442-472; Meisel et al. 2012); eigene Grafik.

Herr Prof. Dr. Volk und Kollegen bezeichneten schon vor über zwei Jahrzehnten eine stark verminderte HLA-DR-Expression auf CD14⁺Zellen (Monozyten) bei Sepsispatienten als *Immunparalyse (Immunoparalysis)* (Volk et al. 1991 zitiert nach: Döcke et al. 1997). Die HLA-DR-Beladung kann angegeben werden, indem auf Monozyten die Menge von spezifischen Anti-HLA-Antikörpern (Ak) mit der Menge unspezifischer Kontrollantikörper verglichen und als Prozentwert angegeben wird: *HLA-DR* <30% gilt allgemein als pathologisch (Frazier and Hall 2008) und geht vermehrt mit Bakteriämie, Virämie und Fungämie einher; bei mehrtägig niedrigen Werten <30% liegt die Inzidenz bakterieller bzw. fungaler Infekte nach >2 Tagen bei 25% und >3 Tagen bei 75%. Heute wird im Allgemeinen die Absolutzahl an HLA-DR-Molekülen pro Zelle angegeben: ein Cutoff-Wert <5792 Ak/Zelle sagt Infektionen voraus (Strohmeier et al. 2003).

Es ergibt sich die Frage: ist HLA-DR bei aSAB prädiktiv für Infektionen und hängt eine niedrige HLA-DR-Expression mit bestimmten klinischen Eigenschaften nach einer aSAB zusammen?

1.2.2 Physiologische adaptive Immunantwort und ihre Zytokinmuster

Eine wichtige Rolle im adaptiven Immunsystem nehmen CD4⁺ T-Lymphozyten ein, die auch als T-Helferzellen (T_H) bezeichnet werden. T_H-Zellen wurden 1986 von Mosmann, Cherwinski und Kollegen aufgrund ihrer unterschiedlichen Zytokin-Sekretionsmuster in zwei funktionelle Subtypen: T_H1 und T_H2 eingeteilt (Mosmann et al. 2005). T_H1-Zellen sezernieren u.a. IL-2, IL-3, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), aber auch Tumornekrosefaktor Alpha und Gamma-Interferon, weshalb das T_H1-Muster in der Summe proinflammatorisch, positiv regulierend auf die zelluläre Immunität wirkt. Dagegen produzieren T_H2-Zellen die antiinflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-10, aber auch IL-5 und IL-13, letzteres ist ein wichtiges Signal für B-Lymphozyten und die Antikörperproduktion. Hierauf und auf weitere Zellarten soll an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden: eine Interleukin-17-produzierende CD4⁺-Population, die heute als eigene T_H17-Gruppe gilt, die Natürlichen Killerzellen (NK) (Murphy et al. 2009 S. 123-129) sowie regulatorische CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺-T-Zellen (Stubbe et al. 2012)

1.2.3 Kompensatorisch verminderte Immunität beim CARS

Das Immunsystem begrenzt Entzündungsprozesse durch balancierende Gegenreaktionen. Bei vielen schwerkranken Patienten – nicht nur bei solchen mit akuten ZNS-Schäden – kann eine starke systemische Entzündung auftreten und dann reaktiv zu einer abnorm starken Gegenregulation führen. Das *compensatory antiinflammatory response syndrome (CARS)*, das einer systemischen Inflammationsreaktion (SIRS) nachfolgt, geht einher mit Symptomen wie: erhöhte Infektanfälligkeit und verzögerte Infektheilung, Lymphozyten-Apoptose und -dysfunktion mit verminderter T_H1-

Zytokinproduktion sowie eine erhöhte IL-10-, TGF- β - und Prostaglandin E₂-Produktion, bei Herabregulierung der Zahl monozytärer HLA-Rezeptoren und verminderter Stimulierbarkeit einer monozytären Produktion proinflammatorischer Zytokine (Ward et al. 2008). Auch Patienten mit aSAB weisen häufig ein SIRS auf (Yoshimoto et al. 2001) und können folglich auch von einem CARS betroffen sein. Jedoch verlangt die besondere Unmittelbarkeit der verminderten Abwehr bei ZNS-Schäden nach spezifischeren, ergänzenden Erklärungen.

1.2.4 Vegetativ-endokrin vermittelte Immundefizienz nach ZNS-Schäden

Die gestörte Immunkompetenz nach ZNS-Schäden geht über Immunstörungen beim CARS hinaus und wurde exemplarisch unter dem Leitbegriff *central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome* (CIDS) subsummiert (Meisel et al. 2005). Hierbei kommt es vor allem zur Lymphopenie, Lymphozytendysfunktion sowie Monozyten-Deaktivierung mit Bakteriämie und Pneumonie. Der biologische Zweck dieser möglicherweise gefährlichen Herabregulation des Immunsystems könnte darin bestehen, das Gehirn nach einem Schaden vor einer potenziell aggressiven T_H1-Antwort zu schützen. (Dirnagl et al., 2007b). Die Pathogenese eines CIDS ist nicht vollständig geklärt; als Mechanismus wird heute eine Monozytendeaktivierung nach Interleukin-1 β -Freisetzung und stresshormonvermittelter Verminderung von T_H1-lymphozytärem IFN- γ bei erhöhtem IL-10 angenommen (A Meisel, C Meisel, H Harms et al., 2012).

Das Immunsystem ist über das vegetative Nervensystem (VNS) mit dem ZNS verbunden. Abwehrhemmende Einflüsse wirken endokrin durch Glukokortikoide nach Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HHN-Achse) bzw. über den Sympathikus und Adrenalin aus dem Nebennierenmark auf Immunorgane und periphere Immunzellen. Zwar wird die TNF- α -Sekretion aus Macrophagen durch Vagus-Aktivität inhibiert, aber eine allgemeine parasympathische Innervation der Immunorgane existiert anatomisch nicht. Viel spricht für die besondere Wichtigkeit der von Felten et al. nachgewiesenen, direkten noradrenergen Innervation von Thymus und Milz durch das sympathische Nervensystem (SNS) (Nance and Sanders 2007). Macrophagen besitzen sogar verschiedene Dopaminrezeptoren und lassen sich hierüber funktionell hemmen (Gaskill et al. 2012). Die tonisch bzw. reflexiv gesteigerte Sympathikusaktivität nach Läsion präganglionärer Strukturen durch Trauma oder Ischämie kommt als Auslöser der ZNS-induzierten Immundefizienz infrage (Meisel et al. 2005). Beteiligt sind Entzündungsreaktionen, die dem Schaden nachfolgen. Das VNS kann dabei durch Zytokine gewissermaßen *alarmiert* werden. Nach Gewebsschäden kommt es zum Anstieg von IL-6, TNF- α und IL-1 β , letzteres ist ein stark proinflammatorischer Mediator aus Makrophagen und Epithelzellen, der im Tiermodell eine neutrophile

Entzündungsreaktion und eine systemische Lymphopenie hervorruft. Durch geschicktes Variieren beim Ausschalten beider Stresshormonachsen ließ sich zeigen, wie intraventrikuläre und intrahypothalamische IL-1 β -Gaben vor allem über das SNS wirkten, denn eine Ausschaltung der HHN-Achse durch Hypophysektomie verminderte nur die Neutrophilie, während eine β -Blockade mittels Propranolol auch vor Lymphopenie schützte. (Woiciechowsky et al. 1999a). Ein Zusammenhang von vegetativer Dysregulation und Infektionen ist auch für ZNS-Blutungen untersucht: an 62 Patienten mit hämorrhagischem Stroke gelang der Nachweis erhöhter Infektanfälligkeit nach sympathischer Hyperaktivität, die noninvasiv anhand der erniedrigten Baroreflex-Sensitivität gemessen wurde. Die von den Autoren als *Autonomic Shift* bezeichnete Veränderung korrelierte signifikant mit der Menge an intraventrikulärem Blut (IVB) (Sykora et al. 2011). *Das Vorhandensein von IVB soll daher in der vorliegenden Arbeit ausgewertet werden.*

Prass, C. Meisel und Kollegen zeigten eindrucksvoll im Stroke-Tiermodell, wie die Entwicklung von Infektionen durch eine Katecholamin-induzierte Lymphozytenfunktionsstörung begünstigt wird. An Mäusen wurde durch A. cerebri media-Okklusion ein Stroke induziert und danach die Bakterien-Koloniezahl in Blut und Lunge bestimmt. Alle Stroke-Mäuse entwickelten innerhalb von nur 72 Stunden spontane (E. Coli-)Pneumonien bzw. Sepsis und zeigten verminderte Zahlen an T-, B- und NK-Lymphozyten in Blut, Milz und Thymus. Als Ausdruck einer gestörten T_H1- bzw. vermehrten T_H2-Zytokin-Produktion ging den Infektionen ein erniedrigter IFN- γ /IL-4-Quotient zeitlich voraus. Die Infektionen erwiesen sich als kausal abhängig von einer verminderten IFN- γ -Sekretion, denn die Bakterienlast ließ sich reduzieren durch eine frühe IFN- γ -Gabe oder den Transfer von Splenozyten- bzw. T- und NK-Lymphozyten, die von gesunden Spendermäusen stammten. Dagegen blieb ein Zelltransfer aus IFN- γ -defizienten Spendermäusen wirkungslos. Eine Glukokortikoidrezeptor-Blockade durch RU486 zeigte keine Wirkung auf Infektionen, jedoch konnte durch eine β -Blockade mit Propranolol die Bakterienlast um ca. >5 Zehnerpotenzen gesenkt und das Überleben der Stroketierte drastisch verbessert werden. (Prass et al. 2003). Nach Kenntnis des Autors wurden Sympathikolytika als Drug-Target zur Prophylaxe von Stroke-assoziierten Pneumonien beim Menschen jedoch kaum beforscht (Maier et al. 2015; Sykora et al. 2015).

Strokepatienten mit Infektionen zeigen im Vergleich zu Patienten ohne Infektionen früh höhere Noradrealinlevel im Urin und erhöhtes IL-10 im Plasma. Nach Stroke kann rasch eine Suppression der lymphozytären IFN- γ -Sekretion und eine verminderte T-Zellzahl nachgewiesen werden (Klehm et al. 2009). Daraus kann folgende Frage abgeleitet werden: *lässt sich bei aSAB-Patienten mit Infektionen eine Verschiebung von T_H1- in Richtung T_H2-Zytokinmuster nachweisen und, falls ja: lässt sich ein zeitliches Muster erkennen?*

1.2.5 CIDS nach aneurysmatischer SAB

Die Existenz einer systemischen Immundefunktionsstörung nach aSAB wurde erst vor kurzem in einer Pilotstudie nachgewiesen (Sarrafzadeh et al. 2011). An 16 Patienten erfolgte bis zum zehnten Tag nach Blutung ein detailliertes Monitoring der Immunparameter sowie eine Erfassung des klinischen Verlaufs hinsichtlich AFND, DCI und dem Auftreten von Infektionen. Es konnte gezeigt werden, dass eine Immundepression bei Patienten aller Schweregrade schon am ersten Tag nach dem Blutungsereignis auftrat, jedoch nur bei symptomatischen Patienten (n=9) mit einem AFND oder/und DCI länger als drei Tage fortbestand. Bei 67% der symptomatischen Patienten traten um den dritten Tag (Range: Tag 2-8) signifikant gehäuft bakteriellen Pneumonien auf. Die Pneumonieinzidenz betrug insgesamt 37.5%. Patienten mit AFND bzw. DCI zeigten schon am Tag 2 signifikant niedrigere Mengen an zytotoxischen T-Zellen, T-Helferzellen und NK-Zellen im peripheren Blut. Unabhängig von AFND und DCI war schon initial eine Verminderung der monozytären HLA-DR-Expression und TNF- α -Sekretion nach LPS-Stimulation festzustellen, die sich nur bei asymptomatischen Patienten nach dem dritten Tag signifikant besserte, aber bei symptomatischen Patienten bestehen blieb. Zusätzlich war die Concanavalin-A-induzierte lymphozytäre IFN- γ - bzw. IL-2-Produktion (vgl. Kapitel 2.3.5f) bei symptomatischen Patienten während der Tage 2-7 bzw. 2, 5 und 7 signifikant niedriger. Dies stimmte mit den klinischen Befunden überein, nach denen asymptomatische Patienten seltener Fieber zeigten und keine systemischen Entzündungszeichen entwickelten. Bemerkenswert ist, dass die Beeinträchtigung der zellulären Immundefunktion – insbesondere die T-Zell-Lymphopenie und geschädigte IFN- γ -Produktion – in der Gruppe der Patienten mit Pneumonie schon am ersten Tag nach aSAB feststellbar waren, also den Infektionen vorausgingen und möglicherweise an der Erhöhung des Infektionsrisiko beteiligt waren. Frau Prof. Sarrafzadeh, Herr Dr. Meisel, Herr Dr. Schlenk und Kollegen haben die Kenntnisse zur Immunität nach aSAB grundlegend erweitert. Die Studie ist wegen der geringen Patientenzahl und der hohen WFNS-Grade jedoch nur begrenzt verallgemeinerbar (Sarrafzadeh et al. 2011), zumal die Immunparameter nur für wenige Patientengruppen untersucht wurden (symptomatische vs. asymptomatische Patienten und Patienten mit vs. ohne Pneumonie). Viele aSAB-typische Eigenschaften konnten wegen der geringen Patientenzahl nicht separat verglichen werden, etwa die Unterschiede zwischen Patienten mit/ohne Hirndruckerhöhungen, mit/ohne Einblutungen ins Ventrikelsystem etc. Eine weitere Limitation ergab sich aus der kurzen Beobachtungszeit: so blieb unbetrachtet, ob sich bei symptomatischen Patienten die monozytäre Dysfunktion im weiteren Verlauf wieder bessert. In dieser Arbeit sollen die bekannten Veränderungen der Immunparameter bei aSAB überprüft und erweitert werden.

1.2.6 Übersicht über bekannte Veränderungen von Immunparametern beim CIDS

Marker	Befunde in der Literatur
Neutrophile	↑ nach Stroke vor dem Onset assoziierter Infekte erhöht (Chamorro et al. 2007a)
Basophile	↓ nach Stroke vermindert am Tag1 gegenüber Kontrollgruppe (Hug et al. 2009)
Monozyten	↑ nach aSAB, keine Differenz zu asymptomatischen Patienten (Sarrafzadeh et al. 2011) nach Stroke Tag 2 u. 7 (Urta et al. 2009a) nach Stroke vor dem Onset assoziierter Infekte erhöht (Chamorro et al. 2007a)
monozyt. HLA-DR	↓ nach aSAB, persistierend bei symptomatischen Patienten (Sarrafzadeh et al. 2011) nach Stroke am Tag 2-7 (Urta et al. 2009a) nach Stroke am Tag 1 und 4 vermindert, Assoziation mit Infektion und Infarktgröße (Hug et al. 2009) nach Stroke (Haeusler et al. 2008) nach neurochirurgischen-Operationen (Asadullah et al. 1995b)
monozyt. TNF-α	D E F E K T verm. stimulierbar Tag 1-10 bei SAB-Patienten mit bakt. Pneumonie (Sarrafzadeh et al. 2011) verm. stimulierbar Tag 1-2 bei SAB-Patienten ohne bakt. Pneumonie (Sarrafzadeh et al. 2011) verm. stimulierbar Tag 1-7 und 90 bei Stroke-Patienten mit Pneumonie (Urta et al. 2009a) verm. stimulierbar nach Stroke, guter Infektions-Prädiktor (Haeusler et al. 2008) verm. stimulierbar Tag 0.5-2 im Stroke Maus-Modell (Prass et al. 2003)
NK-Zellen	↓ nach SAB bes. bei symptomatischen Patienten, signifikant am Tag 2,3 und 10 (Sarrafzadeh et al. 2011) nach Stroke keine Differenz zu Kontrollgruppe, aber gestörte Funktion bis 72 h (Peterfalvi et al. 2009) nach Stroke signifikant vermindert am Tag 1 und 4 gegenüber Kontrollgruppe (Hug et al. 2009)
CD8 ⁺ T-Zellen	↓ nach SAB, persistierend > 7-10 Tage bei symptomatischen Patienten (Sarrafzadeh et al. 2011) nach Stroke (Urta et al. 2009b)
CD4 ⁺ T-Zellen	↓ nach aSAB, persistierend > 7-10 Tage bei symptomatischen Patienten (Sarrafzadeh et al. 2011) nach Stroke (Klehmet et al. 2009) nach Stroke (Vogelgesang et al. 2008) nach Stroke (Prass et al. 2003)
IL-2	↓ nach SAB Tag 3-10 bei Patienten mit Infektion (Sarrafzadeh et al. 2011)
IFN-γ	↓ nach Stroke (Prass et al. 2003) nach Stroke (Klehmet et al. 2009) erhöht [sic!] nach Stroke (Urta et al. 2009a) – jedoch signifikant nur Tag 90
IL-4	↑ in postakuter Strokephase (Median 34,5 Monate) nach Stimulation erhöht (Theodorou et al. 2008)
IL-10	↑ nach Stroke früh erhöht bei Patienten mit Infektionen trotz Antibiose (Klehmet et al. 2009) nach Stroke bis 48 Stunden nach Stroke signifikant (Urta et al. 2009a) nach Stroke früh signifikant erhöht bei Patienten mit Infektion vs. Kontrollgruppe (Chamorro et al., 2007) kein Unterschied zwischen Stroke- und Kontrollgruppe (Vila et al. 2003)
IFN-γ/IL-4	↓ in postakuter Strokephase (Median 34.5 Monate) nach Stimulation vermindert (Theodorou et al. 2008) im Stroke-Mausmodell früh vor Auftreten von Infektionen vermindert (Prass et al. 2003)
TNF-α	↓ bei Patienten mit Stroke-assoziierter Pneumonie früh niedriger (Chamorro, Urta und Planas, 2007a)
IL-6	↑ nach Hirndruck bei aSAB im Plasma; aus dem ZNS-Extrazellulärraum stammend (Graetz et al. 2010) nach Stroke am Tag 2-4 bei Patienten mit Infektion gegen Kontrollgruppe (Chamorro et al., 2007) nach Neurochirurgie-OP (Asadullah et al. 1995b)
B-Zellen	∅ nach aSAB, bei symptomatischen Patienten niedriger Tag 1-5, nicht signifikant (Sarrafzadeh et al. 2011) nach Stroke keine frühen B-Zellveränderungen (Hug et al. 2009)

Tabelle: Immunparameter nach ZNS-Schäden durch Trauma, Operation, Ischämie oder Blutung.

1.3 Fragestellungen im Überblick

An dieser Stelle sollen die zuvor hergeleiteten Fragestellungen in der Übersicht dargestellt werden, um anschließend im Kapitel 2 die dazugehörigen Methoden zu zeigen:

- 1) Sind die Ergebnisse der Pilotstudie von 2011 mit vergrößerter Stichprobe reproduzierbar?
- 2) Normalisiert sich die gestörte HLA-DR-Expression bzw. TNF- α -Sekretion bei ehemals symptomatischen bzw. infizierten Patientengruppen wieder? (Tag 12, 15 oder 180)
- 3) Lassen sich für differenzierte Patientengruppen veränderte Infektionsinzidenzen, veränderte Zellzahlen der Leukozytenpopulationen, verminderte HLA-DR-Expression, gestörte Monozytenfunktion, veränderte Zytokinmuster inkl. verschobener T_H1/T_H2-Balance (IFN- γ /IL-4-Quotient \downarrow , TNF- α \downarrow , IL-2 \downarrow , IL-10 \uparrow) nachweisen?

Verglichen werden Patienten...

- a) männlichen/weiblichen Geschlechts (vgl. Kapitel 1.1.2)
 - b) mit großem/kleinem Aneurysma
 - c) mit geringem/hohem Schweregrad nach dem WFNS-Grading
 - d) mit/ohne early brain injury im Sinne eines *AFND*
 - e) mit/ohne Delayed Cerebral Ischemia
 - f) mit/ohne ICP-Erhöhung im Verlauf (vgl. Kapitel 1.1.4)
 - g) mit/ohne zusätzlicher intraventrikulärer Einblutung
 - h) mit/ohne initialer Hyperglykämie
 - i) mit/ohne initialer arterieller Hypertonie
 - j) nach Clipping oder Coiling (vgl. Kapitel 1.1.6)
 - k) mit/ohne Hypertonie in der Vorgeschichte (vgl. Kapitel 1.1.2)
 - l) mit/ohne Tabak- bzw. Alkoholmissbrauch in der Vorgeschichte (vgl. Kapitel 1.1.2)
- 4) Lassen sich die pneumoniebezogenen Ergebnisse von 2011 auf andere verlaufskomplizierende Infektion erweitern? (Hospital acquired pneumonia, Harnwegs- und ZNS-Infektionen?)
 - 5) Wie hoch sind die Infektionsinzidenzen?
 - 6) Lassen sich klinische Prädiktoren für das Infektionsrisiko ermitteln?
 - 7) Welchen Einfluss haben Infektionen auf Morbidität und Mortalität der aSAB?

2 Methodik

2.1 Studiendesign der zugrundeliegenden SAB-Immunistudie-38

Die SAB-Immunistudie-38 unter Leitung von Prof. Dr. med. A. Sarrafzadeh (Klinik für Neurochirurgie der Charité) und Dr. med. C. Meisel (Institut für medizinische Immunologie der Charité) ist eine *prospektive diagnostische single-arm Studie* zum umfassenden klinischen, infektiologischen und immunologischen Monitoring bei Patienten mit aneurysmatischer SAB. Primäres Ziel ist die Identifikation von Zusammenhängen zwischen klinischen Patienteneigenschaften, Zuständen verminderter Immunkompetenz und dem Auftreten von Infektionen.

2.1.1 Partnerschaftlich verbundene Studien

Die SAB-Immunistudie-38 ist Partnerin der Studie *Depolarisations in ischaemia after aneurysmal subarachnoid haemorrhage* (DISCHARGE-1; ISRCTN05667702), einer *prospektiven diagnostischen single-arm Phase III Multicenterstudie* zum umfassenden Monitoring und Follow-up bei SAB-Patienten unter der Studienleitung von Prof. Dr. J. Dreier (*Centrum für Schlaganfallforschung*) und PD Dr. J. Woitzik (Klinik für Neurochirurgie). Primärer Gegenstand des Projektes ist die Erforschung von Spreading Depolarisations (SD) bei aSAB-Patienten. DISCHARGE und die SAB-Immunistudie-38 gehören zur Studiengruppe *Cooperative Study on Brain Injury Depolarization* (COSBID, www.cosbid.org).

Dies ist aus zwei Gründen besonders erwähnenswert. *Erstens*, weil die nachfolgend dargestellten Einschluss- und Ausschlusskriterien der SAB-Immunistudie-38 derart definiert wurden, dass sie strikt mit den Einschluss- und Ausschlusskriterien der DISCHARGE-Studie identisch sind. Hiermit ist *de facto* eine Patienten-Vorauswahl verbunden, die einen Einfluss auf die Zusammensetzung der untersuchten Kohorte haben kann; ein Sachverhalt, der im Diskussionsteil der vorgelegten Dissertation zu diskutieren sein wird. Und *zweitens*, weil aufgrund der Studienpartnerschaft die Erfassung der klinischen Patienteneigenschaften, die Befunderhebung, Befunddokumentation und Diagnosestellung auftretender Komplikationen inkl. Infektionsereignisse kollaborativ durch angestellte und geschulte Studienärzte der COSBID-Gruppe erfolgte.

2.1.2 Ethikvotum

Die Studie wurde am 11.03.2009 von der Ethikkommission der Charité genehmigt.

Standort Campus Benjamin Franklin, Universitätsmedizin Berlin (Ref.-Nr. EA4/022/09).

2.1.3 Definition der Einschlusskriterien¹ für Studienpatienten

Das Studiendesign sieht einen *konsekutiven* Einschluss aller infrage kommenden Patienten ohne weitere Vorauswahlen und ohne Bildung einer allgemeinen Kontrollgruppe vor, sofern alle unten genannten Kriterien erfüllt sind:

- informiertes persönliches Einverständnis bzw. Zustimmung eines gesetzlichen Vertreters
- gesicherte *akute aneurysmatische SAB* bei rupturiertem sakkulärem Aneurysma in der CT-Angiographie oder digitalen Subtraktionsangiographie (DSA)
- Alter ≥ 18 Jahre
- Erstauftreten der Symptome maximal 72 Stunden vor Einschluss
- *World Federation of Neurosurgery* (WFNS) Grad I–V
- Behandlung durch Clip-Ligatur oder endovaskuläre Coil-Embolisation
- Indikation zur Anlage einer Ventrikeldrainage oder eines Oxygen-Sensors

¹ Bis zum 09.08.2011 (Patienten-Nummer \leq CRT67 bzw. \leq CBF35) wurden nur Patienten ≤ 70 Jahre eingeschlossen, die einen hohen WFNS-Schweregrad \geq III und im CCT eine Blutung der Fisher Gruppe \geq III aufwiesen. Dies wird im Diskussionsabschnitt zu diskutieren sein.

2.1.4 Definition der Ausschlusskriterien² für Studienpatienten

Gründe, die zum Ausschluss aus der Studie führen, sind:

- Monitoring-Unterbrechung > 48 h während der Tage 3-5 oder
- Monitoring-Unterbrechung > 24 h während der Tage 6-8 bzw. 9-11, es sei denn, der Patient verstirbt nach Tag 5 oder entwickelte vor Unterbrechung eine im MRT nachgewiesene DCI.
- anhaltend moribunder Zustand bei Aufnahme (z.B. weite, areaktive Pupillen > 1 Stunde)
- Schwangerschaft, hämorrhagischen Diathese, Zytostatikatherapie
- *aneurysmatische SAB* aufgrund anderer Ursachen (Trauma, fusiformes Aneurysma u.a.)
- Kontraindikationen gegenüber einem MRT (z.B. Transportinstabilität, Schrittmacher)

² Vor dem 09.08.2011 (Patienten-Nummer \leq CRT67 bzw. \leq CBF35) wurden Patienten mit nur dünn-diffuser oder unsichtbarer Blutmenge im initialen CCT ausgeschlossen. Ebenso Patienten mit Quick $< 60\%$, partieller Thromboplastinzeit > 45 Sekunden und Thrombozytopenie (TZ < 60 /nl). Ein Ausschluss wegen Unterbrechung > 24 h während der Tage 4-9 erfolgte ausnahmslos, unabhängig von Tod oder vorausgegangener DCI.

2.1.5 Definition der Monitoringzeitpunkte bzw. -zeiträume

Der Monitoringzeitraum umfasst die Tage 1-15 nach Onset der Blutung (= Tag 0). Die Zeit bis vor Einschluss wird im Folgenden als *premonitoring period* bezeichnet; als *Follow-up* -Periode wird das Intervall von Tag 16 bis Tag 180 definiert. Monitoringzeitpunkte der *SAB-Immunistudie-38* sind ausschließlich die Tage 1, 3, 6, 9, 12, 15 und ~ 180 (± 5 Tage).

2.2 Erfassung der Patienteneigenschaften und Verlaufskomplikationen

2.2.1 Initiales klinisches Grading der aSAB zu Beginn des Monitorings

Zur Einstufung einer SAB existieren über 40 *Scores* (Spendel 2009). Sie dienen der klinischen Entscheidungsfindung, zur prognostischen Einschätzung, zur Standardisierung der Kommunikation und teilweise auch zur Verlaufsdokumentation. Jede Skala zeigt Limitationen (Rosen und MacDonald 2005). Keine bekannte Skala berücksichtigt das Auftreten einer *Immundepression*.

a) Für jeden DISCHARGE-Patienten erfolgt bei Aufnahme ein Assessment quantitativer Bewusstseinsstörungen mit Hilfe der Glasgow Coma Scale (GCS) (Teasdale und Jennett 1974).

Dabei werden Leistungen aus drei Bereichen geprüft, mit Punkten versehen und zu einem

Punkte	Augen öffnen	verbale Kommunikation	Motorik
6	-	-	befolgt Aufforderungen
5	-	orientiert	gezielte Schmerzabwehr
4	spontan	desorientiert	ungezielte Schmerzabwehr
3	nur auf Ansprache	inadäquat	Flexion
2	nur auf Schmerz	unverständlich	Extension
1	fehlend	keine	keine Reaktion

Tabelle: Glasgow Coma Scale: nach Teasdale, zitiert in Greenberg 2010, S.279

dimensionslosen Index summiert.

Augenöffnen stellt nach Teasdale einen Indikator für *Arousal* („Wachheit“) dar. Durch Beurteilung der Sprache lässt sich *Awareness* („Bewusstsein“) abschätzen; Fehlende Bewegungen, Beuge- oder Streckreaktionen weisen auf schwerere Schäden hin. Der Score ist bei sedierten Patienten schwierig. Dichotomisierungen erfolgen in $GCS < 14$ vs. $14-15$.

WFNS-Grad	GCS Score	Aphasie oder Hemisymptomatik
0	15	fehlend
1	15	fehlend
2	13/14	fehlend
3	13/14	vorhanden
4	7-12	unberücksichtigt
5	3-6	unberücksichtigt

Tabelle: WFNS-Einteilung; Grad 0 entspricht einem intakten Aneurysma ohne Blutung. Zitiert in Greenberg 2010, S. 1040

b) für jeden Patienten wird initial auch der *klinische Schweregrad* nach *World Federation of Neurosurgeons Societies (WFNS)* in der Studiendatenbank dokumentiert. Die verbreitete fünfstufige Klassifikation wurde 1987 in Barcelona vorgestellt (Teasdale et al. 1988); sie basiert auf der GCS und nutzt das Auftreten neurologischer Defizite als Unterscheidungsmerkmal zwischen dem zweiten bzw. dritten Grad. Die Patienten werden gruppiert in: „*low/good Grade*“ (WFNS 1-3) und „*high/poor Grade*“ (WFNS 4-5).

HH-Grad	Beschreibung
1	keine Symptome bzw. gering ausgeprägter Kopfschmerz/Meningismus, diskrete Nackensteife
2	Hirnnervenlähmung (v.a. N. III/VI), moderater Kopfschmerz/Meningismus bzw. moderate Nackensteife
3	Somnolenz, Verwirrtheit oder Lethargie, leichtgradig ausgeprägte fokalneurologische Defizite
4	Sopor/Stupor, schwere neurologische Defizite, vegetative Symptome, evtl. frühe Dezerebrationszeichen
5	Koma, Strecksynergismen, Patient mit moribundem Erscheinungsbild

Tabelle: Hunt und Hess-Grade in der nicht modifizierten Fassung; zitiert in Greenberg 2010, S. 1040

c) daneben existiert die ältere Klassifikation nach Hunt und Hess (HH) aus dem Jahr 1968. Sie wurde ursprünglich entwickelt, um das Operationsrisiko zu vergleichen, konnte sich aber schnell allgemein durchsetzen wegen des gut belegten Zusammenhangs hoher HH-Grade (≥ 4) mit hoher Mortalität bzw. Morbidität. In kontrollierten Studien wird heute die WFNS wegen größerer Eindeutigkeit bevorzugt. (Sarrafzadeh 2003). In der vorliegenden Arbeit erfolgt eine Dichotomisierung in: low grade (HH 1-3) vs. high grade (HH 4-5).

2.2.2 Initiale radiologische Klassifikation zu Beginn des Monitorings

Jede SAB wird initial radiologisch klassifiziert. Das Assessment erfolgt durch einen an die Studie angeschlossenen Facharzt für Radiologie mit dem Tätigkeitsschwerpunkt Neuroradiologie. Unter morphologischen Gesichtspunkten kam die computertomografische (CT) *Fisher-Scale* zur Anwendung: Fisher, Kister und Davis untersuchten die subarachnoidale Blutmenge und -verteilung im CT und setzten sie in Beziehung zu einem etwaig im Verlauf auftretenden Vasospasmus: nicht nachweisbares oder diffus verteiltes Blut kam nur sehr selten bei Patienten vor, die später eine Gefäßengstellung entwickelten. Dagegen waren Gerinnsel $> 5 \times 3$ mm, Einblutungen in Fissuren oder vertikale Zisternen bei fast allen Vasospasmus-Patienten nachweisbar; die Seitenverteilungen von Gerinnseln (*Clot*) und Vasospasmen korrelierten gut. (Fisher et al. 1980). Folgende Gruppen werden unterschieden: Gruppe I = kein Blut nachweisbar; Gruppe II = diffus / vertikale Schicht < 1 mm; Gruppe III = lokales Gerinnsel und / oder vertikale Schicht > 1 mm; Gruppe IV = intrazerebrales / intraventrikuläres Gerinnsel (zitiert nach: Greenberg 2010, S. 1046). Immunologisch interessant ist, dass die Fisher-Gruppen $\geq III$ mit dem Auftreten einer systemischen Entzündungsreaktion (*systemic inflammatory response syndrome*, SIRS) vergesellschaftet sind (Yoshimoto et al. 2001). Ob dies auch mit einer gestörten Immunität bzw. erhöhter Infektanfälligkeit einhergeht, ist unbekannt. Weil die Fisher-Gruppen-Einschlusskriterien der vorgelegten Arbeit während der Studie geändert wurden, werden hier im lediglich die Gruppen: „mit/ohne zusätzliches intraventrikuläres Blut (IVB)“ verglichen.

2.2.3 Erfassung von klinischen Zustandsveränderungen und Komplikationen

Alle im Kapitel 1.1.4 genannten aSAB-typischen *Adverse Events* (AE) und *Serious Adverse Events* (SAE) werden prospektiv dokumentiert. Das Standard Operating Procedure (SOP) zur Dokumentation der AE und SAE wurde von der COSBID-Studiengruppe publiziert (Drenckhahn et al. 2013): Verlaufskomplikationen werden während des Monitoringzeitraumes einmal täglich retrospektiv für die vorausgegangenen 24 Stunden in der Studiendokumentation erfasst, beim Follow-up wird der gesamte 180-tägige Zeitraum einbezogen. Ein Studienmitarbeiter nimmt täglich einen Check-up vor und erfasst strukturiert die pflegerischen und ärztlichen Dokumentationen des Patientenmanagement-Systems (PMS) *Computer Organized Patient Report Assistant* (Fa. COPRA System GmbH; Sasbachwalde; Deutschland), sowie die Befunde aus den Bereichen Radiologie, Ultraschall- und Labor im Krankenhaus-Management-System „*Systeme, Anwendungen, Produkte*“ (Fa. SAP, Waldorf; Deutschland).

a) Erfassung eines akuten fokal-neurologischen Defizits (AFND)

Zur Anwendung kommen die detaillierten Kriterien, die im Kapitel 1.1.3.1 beschrieben wurden. Im Rahmen der regulären Patientenversorgung werden folgende andere Ursachen differenzialdiagnostisch ausgeschlossen: Elektrolytstörungen, kardiopulmonale Ursachen und initiale ZNS-Infektionen. Ebenso wird ein Hydrozephalus im Rahmen der drei Studien-MRT ausgeschlossen.

b) Monitoring des Intrakraniellen Drucks (ICP):

Bei allen Patienten, bei denen klinisch eine externe Ventrikeldrainage erforderlich ist, erfolgt ein kontinuierliches Monitoring des ICP. Die Sonde ist dabei in einem Seitenventrikel platziert. Die Druckmessung erfolgte im Rahmen der regulären Patientenversorgung auf der neurochirurgischen ICU. Eine kontinuierliche Dokumentation der Messwerte findet elektronisch im PMS statt. Nach Studienende wird die komplette Messwertdokumentation jedes Patienten in COPRA (s.o.) visuell auf Druckerhöhungen gemustert. Ein ICP-Anstieg auf >20 mmHg über 60 Minuten wird als bewiesener Druckanstieg gewertet. Ausgewertet werden die Dichotomien „*ICP-Erhöhung ja/nein*“ und „*ICP-Erhöhung ja/nein im Zeitraum bis 72 Stunden nach aSAB-Onset*“.

c) Erfassung einer *delayed cerebral ischemia* (DCI)

Die Diagnose DCI wird strikt entlang der nachfolgend genannten Kriterien (Woitzik, Dreier, Hecht et al. 2012) gestellt, wenn (1) im Studien-MRT neu aufgetretene zerebrale Ischämien sichtbar werden oder (2) im Verlauf Zustands-/GCS-Verschlechterungen > 2 Punkte gegenüber dem Vortag bzw. neue fokal-neurologische Defizite auftreten, die (3) nicht auf periprozedurale Komplikationen, Nachblutungen, Infektionen oder einen Anstieg des intrakraniellen Druckes zurück-

föhrbar sind und (4) gleichzeitig bzw. zeitlich vorausgehend in der täglichen durchgeföhrten transkraniellen Dopplersonografie oder/und in der Angiografie ein relevanter Vasospasmus nachweisbar ist: Im Monitoringzeitraum erfolgen bei allen Patienten drei Magnetresonanztomografie-(MRT)-Untersuchungen mit einem der (Studien-)MRT-Geräte der Charité [Fa. Philips Gyroscan, Fa. General Electric Signa, Fa. Siemens Magnetom Skyra bzw. Aera]. Ein weiteres MRT erfolgt beim *Follow-up*. Der Facharztbefund wird von einem dedizierten Studienmitarbeiter in die Studiendokumentation übertragen. Alle Patienten erhalten im Monitoringzeitraum täglich eine transkraniale Dopplersonographie (TCD) durch einen geschulten Studienarzt. Eine relevante Gefäßengstellung im Sinne eines *Vasospasmus* wird bei Erfüllung folgender Kriterien angenommen: Blutstr mungsgeschwindigkeit ≥ 200 cm/s oder eine Geschwindigkeitszunahme ≥ 50 cm/s im Vergleich zum Vorbefund innerhalb von 24 Stunden oder ein Lindegaard-Quotient > 3 (Flussgeschwindigkeit (V) der Arteria cerebri media geteilt durch V in der extrakraniellen Arteria carotis interna. Erfasst wird die Dichotomie „DCI nein/ja“ und der Tag des ersten Nachweises bezogen auf den Onset der Blutung. Unterschiede in der Abwehrlage bzw. im Infektionsrisiko werden für Patienten mit und ohne DCI detailliert im Gruppenvergleich überprüft.

2.2.4 Erfassung von infektionsbezogenen Parametern und Definition von Infektionen

Infektionszeichen werden im Rahmen der täglichen Untersuchung durch die ärztlichen Studienmitarbeiter erfasst. Infektiologisch relevante Befunde aus der ärztlichen Dokumentation bzw. Infektionsparameter aus der pflegerischen Dokumentation werden zeitnah kontrolliert und in die Studiendokumentation übernommen: Röntgen-Thorax, Liquor- und Urinstatus, Mikrobiologie-Befunde und Angaben zur Antibiotikatherapie (Woitzik 2010; Drenckhahn et al. 2013).

Die Infektionsdefinitionen der vorgelegten Arbeit sind identisch mit der zu erweiternden Pilotstudie und lauten dort wie im Folgenden w rtlich wiedergegeben:

“Definitions of immune system-related events in the clinical course after aneurysmal subarachnoid hemorrhage, onset before day 14 after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Pneumonia: new infiltrate on chest x-ray, with purulent sputum and/or positive cultures. Urinary tract infection: urine white blood cell count >5 /high-power field and positive urine culture. Wound infection: fever and presence of purulent wound discharge. Bloodstream infection: positive blood cultures and systemic inflammatory response syndrome. Meningitis/ventriculitis: increased white blood cell count in cerebrospinal fluid and positive cerebrospinal fluid culture.” (Sarrafzadeh et al. 2011).

Pneumonie-Definition:

Die Diagnose *Pneumonie* wird gestellt bei positivem Röntgen-Thorax-Befund im Sinne einer neu aufgetretenen bzw. progredienten Verdichtung/Infiltration oder Kavernenbildung *und zusätzlich* mindestens Fieber ($\geq 38\text{ °C}$) oder/und Leukozyten ($\geq 10000/\mu\text{l}$ bzw. $\leq 4000/\mu\text{l}$) ohne andere Ursache; *und zusätzlich* mindestens zwei weiteren klinischen Symptomen: Neuauftreten von eitrigem Sputum, vermehrte Sekretion, neuer oder zunehmender Husten, Dys-/Tachypnoe, positiver Auskultationsbefund, Notwendigkeit vermehrten Absaugens, Verschlechterung des Gasaustauschs z.B. mit erhöhtem Sauerstoffbedarf oder mit neu aufgetretener Beatmungsnotwendigkeit. (vgl. Robert Koch-Institut 2011). Eine Differenzierung wird wie folgt vorgenommen:

- a) *Hospital acquired Pneumonia* (HAP): im Krankenhaus erworbene Pneumonie, die frühestens 48 Stunden nach Krankenhausaufnahme (vgl. American Thoracic Society 2005, S. 389) und vor Ende des Monitoringzeitraumes (Tag 15 nach aSAB-Onset) aufgetreten ist; sowie *Hospital acquired early-onset Pneumonia* (HAEOP): im Krankenhaus erworbene Pneumonie mit Beginn frühestens 48 und spätestens 96 Stunden nach Aufnahme (vgl. American Thoracic Society 2005, S. 390). Obligat zu erfüllen für HAP bzw. HAEOP sind die genannten radiologischen und klinischen Kriterien; gefordert ist darüber hinaus *zusätzlich* ein positiver mikrobiologischer Erregernachweis im Tracheobronchialsekret oder – sofern keine Assoziation mit einer anderen Infektion besteht – ein Erregernachweis in der Blutkultur. Die Gewinnung von Material zum Erregernachweis erfolgt im Rahmen der regulären Patientenversorgung nur bei einem Infektionsverdacht.
- b) *non-HAP*: jede Pneumonie, die früher als 48 nach Aufnahme aufgetreten ist und somit nicht die zeitlichen Kriterien einer HAP erfüllt. Zu zensieren sind Pneumonien, die wahrscheinlich oder tatsächlich bereits bei Aufnahme bestanden haben (Pneumonien am Tag 0 nach aSAB).

Weitere Infektions-Definitionen:

- c) *Harnwegsinfekt*: die Diagnose wird gestellt beim Nachweis von > 5 Leukozyten pro Gesichtsfeld in der Urinmikroskopie *und* einem mikrobiologischen Nachweis von maximal zwei verschiedenen Keimen in einer Anzahl von min. 10^3 bis max. 10^5 Keimen/ml Urin.
- d) *Meningitis/Ventrikultis*: erhöhte Leukozytenzahl bzw. erhöhter Proteingehalt bzw. verringerter Glukosegehalt im Liquor und Fieber oder mikrobiologischer Erregernachweis im Liquor. Sofern eine EVD oder lumbale Drainage existiert, erfolgt die Erhebung der ZNS-Infektionsparameter prospektiv an den Studientagen 1, 3, 6, 9, 12 und 15. Wenn keine Liquordrainage existiert, erfolgt die Untersuchung nur bei klinischem Verdacht.

- e) *Sepsis*: systemische Infektion mit kulturellem Nachweis von pathogenen Erregern im Blut und zusätzlich Vorliegen eines systemischen Inflammationssyndroms (SIRS).
- f) *Katheterinfektionen*: nicht-systemische Infektionen an der Punktionsstelle eines zentralen Venenkatheters, Verweilkatheters oder einer EVD mit Entzündungszeichen, Wunddehiszenz oder Schmerz; *und zusätzlich* ein mikrobiologischer Erregernachweis.
- g) *Wundinfektionen* mit Rötung, Überwärmung, Schwellung, eitriger Sekretion plus Wunddehiszenz oder Schmerz im Bereich der SAB-Operation (Drenckhahn et al. 2013).
- h) *Andere Infektionen*: alle anderen während des Monitorings neu aufgetretenen Infektionen, bei denen jeweils klinische Symptome auftraten *und* ein mikrobiologischer Erregernachweis vorliegt (insbesondere Infektionen des Endokards, des Gastrointestinaltraktes oder der Haut) *oder* radiologischem Nachweis eines Infiltrates (Sinusitis/Mastoiditis).

In ihrer Gesamtheit werden die unter [a-h] genannten Ereignisse als *Infektionen* bezeichnet. Als *Frühinfektionen* werden hier Infektionen mit Beginn vor der 72. Stunde definiert (*Frühinfektionen* < 72 h). Dies geschieht aus mehreren Gründen: aus der Pilotstudie ist bereits bekannt, dass sich bei neurologisch asymptomatischen Patienten einige möglicherweise infektionsprädiktive Marker der Immunität (insbesondere HLA-DR) nach der Messung vom Tag 3 bereits wieder zu normalisieren begannen. Da ein akutes fokal-neurologisches Defizit (AFND) als Ausdruck eines *early brain injury* durch frühes Auftreten charakterisiert ist (Diagnose < 72 h nach aSAB-Onset) und *verzögert* auftretende Hirninfarkte (DCI) zu diesem Zeitpunkt per definitionem eher unwahrscheinlich sind (Diagnose in der Regel erst > 96 h nach aSAB-Onset), eröffnet sich hier die Möglichkeit für sinnvolle Vergleiche mit dem Onset von Infektionen. Falls sich verlaufskomplizierende Ereignisse finden lassen, die mit Veränderungen des laborchemisch definierten Immunstatus oder mit Infektionen verbunden sind, könnte es bei der Bewertung von Risikoschätzungen relevant sein, ob auch eine Assoziation mit *Frühinfektionen* besteht. Dies betrifft die Frage, ob Gruppenunterschiede bei Immunmarkern, die bereits aus der Pilotstudie bekannt sind, als prädiktiv, kontingent oder als reaktiv einzuordnen sind.

2.3 Messung immunologischer Parameter

Alle immunologischen Messungen erfolgen nach etablierten Standard-Operating-Procedures im Speziallabor für Immunologie (DIN EN ISO 15189) *der Labor Berlin GmbH* (Charité Universitätsmedizin CVK, Berlin) unter Leitung von Herrn Dr. C. Meisel.

2.3.1 Prinzip der FACS-Durchflusszytometrie

In einem Durchflusszytometer lassen sich gelöste Zellen, Partikel oder Analysevehikel (*Beads*) einer Größe zwischen 0.2 und 150 μm anhand ihrer optischen Eigenschaften (Lichtstreuung und -Absorption) differenzieren. Die Technik des *fluorescence activated cell sorting* FACS®, Fa. Becton Dickinson (BD) erweitert das Verfahren um die Möglichkeit von Subtypisierungen durch Messung zusätzlicher Fluoreszenz-Farbstoffe oder -Antikörpermarkierungen. Hierzu werden die interessierenden Merkmale in der Probe durch Fluoreszenzantikörper markiert. Das Analysat wird im Gerät durch eine mikroskopische Messzelle geleitet und hydrodynamisch „fokussiert“: d.h. durch hochfrequente piezoelektrisch ausgelöste Vibrationen entsteht ein perlschnurartiger dünner Strom aus zellgroßen Mikrotröpfchen. Darin befinden sich die vereinzelt Zellen/Partikel, die sukzessiv durch den Strahlenfokus von Laserlicht verschiedener Wellenlängen geführt werden. Unter hohem Durchsatz ($\sim 10^3$ - 10^4 Korpuskel pro Sekunde) kann die Absorption des Streulichts und mehrerer Fluoreszenzfarben simultan gemessen werden.

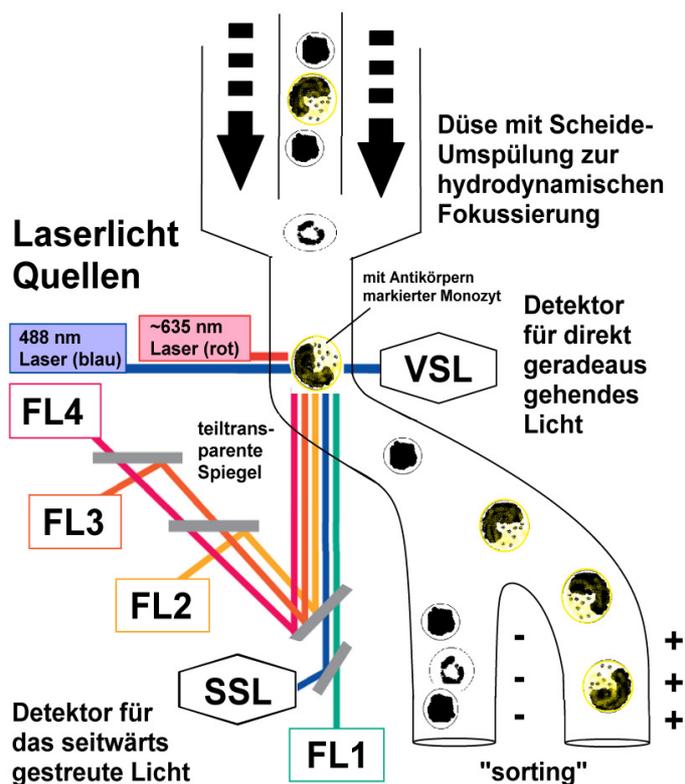


Abb: Schema eines Multicolor-Flowzytometers.

Laserlicht wird an jedem Einzelpartikel der vorbeifließenden Probe charakteristisch nach vorwärts bzw. zur Seite gestreut. Seitwärtsstreulicht (SSL) engl. *side scatter light* enthält Informationen über Zellgranula, während Vorwärtsstreulicht (VSL) engl. *forward scatter light* (FSL) von der Zellgröße abhängig ist. Gleichzeitig emittieren die färbenden Fluoreszenzsubstanzen bzw. Antikörpermarkierungen messbare Lichtsignale.

Ein System aus partiell transparenten Spiegeln bzw. Filtern erlaubt eine simultane Messung mit mehreren Wellenlängen. Die Emissionen der Markierungs-Fluorochrome werden von einer Anordnung separater Photodetektor-Dioden (FL1, FL2 FL3 und evtl. FL4) aufgefangen. Aufgrund ihrer Eigenschaften erkannte Zellen können im elektrostatischen Feld sortiert werden. (vgl. BD Bioscience, 2007); eigene Grafik.

Durch Mehrfachmarkierungen mit Antikörper-Cocktails lassen sich komplexe Eigenschaftsmengen eingrenzen, um definierte Subpopulationen von Zellen oder Analysevehikeln zu erkennen. Korpuskel können softwaregesteuert einer Gruppe zugewiesen werden (*gating*), bevor die interessierenden Eigenschaften ausgewertet werden. Optional lassen sich die Einzelzellen softwaregesteuert (*fluorescence activated*), quasi im Moment der Analyse, in zwei Gefäße auftrennen (*sorting*).

2.3.2 Messung der Basisparameter der Abwehr

Mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern gegen linienspezifische Antigene CD3, CD14, CD19 und CD56 (Fa. BD, Heidelberg), sowie CD16 (Fa. DAKO, Hamburg) werden die Lymphozytenpopulationen der B-, NK-, und T-Zellen markiert. Zur Differenzierung von T-Helferzellen bzw. zytotoxischen T-Zellen kommen Anti-CD4 bzw. anti-CD8-Antikörper (Fa. BD) zum Einsatz. Die Zählung erfolgt im *FACS Calibur*®-System mittels *Cellquest*®-Auswertungssoftware (Fa. BD).

Zelltyp	relativer Anteil an den Leukozyten [%]	Zellen/nl ¹
<i>Granulozyten</i>	50 – 80	3.0 – 6.5
<i>Monozyten</i>	2 – 10	0.0 – 0.5
<i>Lymphozyten</i>	20 – 40	1.5 – 3.0

Zelltyp	relativer Anteil an den Lymphozyten [%]	Zellen/nl ¹
<i>CD19⁺ B-Zellen</i>	5 – 25	0.1 – 0.4
<i>CD16⁺ NK-Zellen</i>	5 – 25	0.1 – 0.4
<i>CD3⁺ T-Zellen</i>	60 – 85	0.9 – 2.2
<i>davon CD4⁺ T-Helfer-Zellen</i>	30 – 45	> 0.5
<i>und CD8⁺ zytotoxische T-Zellen</i>	18 – 25	> 0.3

Tabelle: Normbereiche für Immunzellen, die im Rahmen einer Normwertstudie des Instituts für medizinische Immunologie erhoben wurden (vgl. Laborberlin SOP DZ 02-06 2013). ¹ Zellen/nl = 1 x 10⁹ Partikel/Liter.

2.3.3 Messung der HLA-DR-Expression

Die HLA-DR Expression auf Monozyten lässt sich indirekt durch Vergleich mit einer Bezugsgröße bestimmen. Als Referenz dienen *Quantibrite*® PE-Beads (Polystyrol-Mikrosphären) der Fa. Becton Dickinson, die vom Hersteller mit definierten Mengen an PE-Molekülen farbmarkiert sind. Bei der Analyse der Referenz-Beads wird im Flowzytometer *FACS Calibur* (Fa. BD) ein „Gate“ um die Beads gesetzt und eine Standardkurve generiert. Zur eigentlichen Analyse werden 50 µl EDTA-Vollblut mit 20 µl Antikörpermischung nach Herstellervorschrift inkubiert. Darin sind Antikörper gegen das Monozyten-Differenzierungsantigen CD14 (Anti-Monocyte PerC-Cy5.5, Fa. BD) und antiHLA-DR Antikörper *Quantibrite*® (Fa. BD). Die Monozyten lassen sich aufgrund ihrer CD14⁺-Eigenschaft mit der Software „gaten“, so dass nur die Fluoreszenz auf monozytären Zellen gemessen wird. Die Lichtemission der Markierungsantikörper wird genauso gemessen wie die Referenz, so dass die Menge *Antikörper pro Zelle (Ab/cell)* softwareseitig aus der Fluoreszenzintensität berechnet werden kann (vgl. Laborberlin SOP DZ 05-06 2013).

2.3.4 Zytokinmessung mit dem Cytometric Bead Array-Prinzip

Die Messung der Zytokine erfolgt mit dem *Cytometric Bead Array* (CBA®) der Fa. Becton, Dickinson (BD). Hierbei handelt sich um ein *Sandwich-Immunoassay*, bei dem verschieden intensiv fluoreszierende Polystyrol-Mikrosphären eines Durchmessers von ~ 7.5 µm mit Antikörpern gegen unterschiedliche Zytokine beschichtet sind. Jede Spezies dieser so genannten *Capture Beads* (*Fangkügelchen*) ist mit unterschiedlichen Mengen der fluoreszierenden Marker FL3 oder FL4 markiert, damit später aufgrund dieser Eigenschaften Cluster gebildet werden können. Das Analysat wird mit den gelösten Beads versetzt, so dass die darin enthaltenen Zytokine an die jeweiligen antikörpermarkierten Beads gebunden werden. Danach wird mit einem FL3-markierten Zweitantikörper inkubiert, gespült und das Analysat durch das Durchflusszytometer geführt. Bei der Messung wird jedes einzelne Bead mit einem Laser beleuchtet. Anhand der Fluoreszenz-Intensität kann nun festgestellt werden, zu welcher Spezies das gemessene Bead gehört und somit auch, welches Zytokin gebunden ist. Die Analysesoftware sortiert die Beads und berechnet nach ~10⁵ Einzelzählungen die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) des FL2-Zweitantikörper-Signals. Die exakte Zytokinkonzentration in der ursprünglichen Probe wird durch Interpolation und Vergleich der MFI mit Referenzkonzentrationen ermittelt (BD Biosciences 2012).

2.3.5 T_H1/T_H2-Zytokine: in-vitro Lymphozytenstimulation mit Concanavalin A

Die Funktion von CD4⁺-Zellen kann geprüft werden durch Stimulation mit *Concanavalin A* (ConA), einem Lectin der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*). ConA führt *in vitro* dazu, dass T_H1- und T_H2-Helferzellen ihre spezifischen Zytokine in großer Menge bilden, vorausgesetzt, dass 0.1% antigenpräsentierende Monozyten in der Probe vorhanden sind. Eine gestörte T_H1-Funktion geht mit vermindertem IFN-γ, TNF-α und IL-2 einher; bei einer T_H2-Funktionsstörung sind dagegen IL-4, IL-5 oder IL-10 vermindert. Ein synthetischer Indikator für die Balance ist der T_H1/T_H2-Quotient. *Stimulation*: 50 µl ConA (Fa. Sigma Aldrich) und 750 µl Nährmedium (RPMI 1640, Fa. Biochrom KG) werden steril vorportioniert, 200 µl Lithium-Heparin-Patientenblut wird dazu pipettiert und das Gemisch für 24 Stunden bei 37 °C, 5% CO₂ bebrütet, resuspendiert und bei 1000g für 5 Minuten zentrifugiert. Zur chargenoptimierten Nutzung der Reagenzien werden die abpipettierten Überstände möglichst *en bloque* als *Batch* analysiert und bis dahin bei -80 °C gelagert. Bei der Messung kommt ein T_H1/T_H2 CBA-Kit und BD Calibrite® Beads (Fa. BD) zum Einsatz. Sechs Partikelpopulationen sind mit Ak gegen die einzelnen Zytokine beschichtet (Laborberlin SOP DZ 09-08 2013).

2.3.6 T_H1/T_H2-Zytokine: Messung nach Stimulation mit Concanavalin A

Typ	Zytokin	pg/ml
T _H 1 (ConA)	IFN- γ	322 – 10000
	TNF- α	40 – 2481
	IL-2	80 – 940
T _H 2 (ConA)	IL-4	2 – 57
	IL-5	3 – 42
	IL-10	41 – 521
nativ	IL-6	<5
nativ	IL-10	< 5

Tabelle: Referenzbereiche für Zytokine, die 2003 im Rahmen einer Normwertstudie des Instituts für med. Immunologie der Charité erhoben wurden (Laborberlin SOP DZ 09-08 2013 S. 9).

Analyseansatz: 40 μ l CBA-Partikelmix und 20 μ l Überstand aus der Stimulation werden 3 Stunden dunkel inkubiert und nach Zugabe von Waschpuffer bei 200g für 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird im FACS Flowzytometer analysiert. Bei jeder Charge wird eine Standardkurve für Proben mit bekannter Zytokinkonzentration generiert, um die standardisierten Zytokinkonzentrationen durch die Laborsoftware zu berechnen. Abschließend erfolgt eine Qualitätskontrolle (vgl. Laborberlin SOP DZ 09-08 2013).

2.3.7 Lipopolysaccharid-Stimulation der Monozyten zur Bildung von TNF- α und IL-10

Lipopolysaccharide (LPS) kommen in der Zellwand gramnegativer Bakterien vor und stimulieren den Toll-Like-Rezeptor 4 auf Monozyten. Dies führt unter anderem zur Bildung von TNF- α und IL-10. Bei einer Immunparalyse lässt sich eine verminderte oder fehlende Sekretion nachweisen. Der in-vitro LPS-Stimulationstest erweitert somit die Diagnostik der monozytären Immunkompetenz um den wichtigen Aspekt der Funktion. Zur Durchführung werden nur pyrogen- bzw. LPS-freie Materialien verwendet: Blutentnahme-Vacutainer, Pipettenspitzen und Eppendorfgefäße, da sonst eine Fehlstimulation möglich wäre. Die Stimulationslösung wird angesetzt aus: 10 ng LPS (Fa. Milenia) in 1 ml sterilem, pyrogenfreiem H₂O und 49.5 ml Leukozytennährmedium RPMI (Fa. PAA Laboratories) plus 0.5 ml N-Acetyl-L-alanyl-L-Glutamin (Fa. Biochrom). 500 μ l der 1:20 verdünnten Stimulationslösung (~500 LPS pg/ml) werden mit 50 μ l heparinisiertem Vollblut bei 37 °C inkubiert. Für vier Stunden zur Stimulation der TNF- α -Sekretion bzw. für 24 Stunden für die IL-10-Bildung. Nach der Inkubation wird für 5 Minuten bei 1000 g zentrifugiert. Der Kulturüberstand wird abpipetiert und direkt analysiert oder – bis zur chargenoptimierten Analyse – bei -80 °C eingefroren (Laborberlin SOP FT 01-07 2013).

2.3.8 TNF- α -Messung im Inkubationsüberstand nach LPS-Stimulation

Die eigentliche *TNF- α -Messung* erfolgt mit dem halbautomatischen Immunoassay-System IMMULITE 1000® (Fa. Siemens). In den fertigen Teströhrchen befindet sich als Festphase eine antikörperbeschichtete Kugel. Durch Inkubation (60 Minuten; 37°C) mit 100 μ l Kulturüberstand (aus der Stimulation) und einem Zweitantikörper, der mit einer alkalischen Phosphatase (AP)

markiert ist, bildet sich an der Kugel ein Sandwichkomplex. Die Röhren werden danach vertikal zentrifugiert, um ungebundene Substanz von der Kugel zu trennen. Danach wird für 10 Minuten mit *3-Phosphoryloxy-Phenyl-1,2-Dioxetane* (PPD) inkubiert. Das AP-Enzym am Zweitantikörper bildet aus dem Chemilumineszenzsubstrat PPD einen Farbstoff, dessen photometrische Emission der TNF- α -Konzentration direkt proportional ist (vgl. Laborberlin SOP LM 04-06 2013).

2.3.9 IL-10-Messung im Inkubationsüberstand nach LPS-Stimulation

Das antiinflammatorische Zytokin IL-10 stammt aus Monozyten, Makrophagen, T_H2-Zellen und B-Zellen. Seine Wirkung besteht u.a. darin, die HLA-DR-Expression auf Monozyten herabzuregulieren und die Sekretion proinflammatorischer Zytokine aus Monozyten und T_H1-

Ursprung	Zytokin	pg/ml
<i>T-Zellen, Monozyten u.a.</i>	TNF- α (nativ)	< 4
stimulierte T _H 1-Zellen	TNF- α (24 h ConA)	2400 – 3500
stimulierte Monozyten	TNF- α (4 h LPS 500)	300 – 2000
<i>T-Zellen, Monozyten u.a.</i>	IL-10 (nativ)	< 5
stimulierte T _H 2-Zellen	IL-10 (24 h ConA)	350 – 470
stimulierte Monozyten	IL-10 (24 h LPS 500)	20 – 198

Zellen zu bremsen (Murphy et al. 2009 S. 1009). Zur eigentlichen Messung kommt das halbautomatische IMMULITE 1000®-System zum Einsatz. Hier wird mit dem Original-Kit des Herstellers gearbeitet: Teströhren, Antikörper, Kalibratoren, PPD, Wasch- und Reinigungslösung (Fa. Siemens Healthcare) (vgl. Laborberlin SOP LM 09-05 2013 S.2).

Tabelle: Referenzbereiche für Zytokine (Laborberlin SOP FT 01-07 2013 S.5; Laborberlin SOP LM 04-06 2013 S.6)

2.3.10 IL-17-Messung

IL-17 (Referenzbereich 16-323 pg/ml) charakterisiert die T_H17-Helferzellen. Nach 24 Stunden Stimulation mit *Staphylococcus Enterotoxin B* (SEB) erfolgt die Antikörpermarkierung mit einem fertigen Kit (Quantikine®-Test, Fa. R&D Systems). Die Messung erfolgt durch Platten-ELISA mittels eines VERSAmax-Mikrotiterplatten-Photometers, Fa. Molecular Devices (Laborberlin SOP LM 28-03 2013).

2.4 Datenverarbeitung und Statistik

Laborparameter mit Messzeitpunkten vor April 2013 wurden vom Immunlabor in elektronischer Rohform übermittelt und mittels einer vom Autor selbst entwickelten Software in der Programmiersprache Java 6.30 (Fa. Sun) in eine feste Variablenmatrix transformiert, um Übertragungsfehler zu minimieren. Dabei wurden auch die Blutabnahmezeitpunkte in *Studentage* umgerechnet.

(Bezugspunkt 0=Onset). In diesem Schritt wurden fehlerhafte Daten mit unzulässigen Blutabnahmezeitpunkten entfernt. Laborwerte nach April 2013 wurden vom Labor in Papierform übermittelt und manuell erfasst. Klinische Daten wurden aus der Studiendatenbank exportiert und als komma-separierte Datei zunächst importiert in Excel 2003 (Fa. Microsoft) zwischengespeichert. Immun-daten und klinische Daten wurden zum Schluss über die Patienten-ID zusammengeführt. Eine sta-tistische Basisberatung erfolgte durch das Institut für Medizinische Biometrie und klinische Epi-demiologie Charité mit dem Ziel, die Anzahl klinischer und laborchemischer Entitäten zu reduzie-ren und geeignete Methoden zu finden. Für nominale Daten wurden der χ^2 - bzw. Fisher-Exakt-Tests eingesetzt (Trampisch et al. 2000 S.273ff und S.276ff). Dies betrifft den Gruppenvergleich der zählbaren Patienten-Charakteristika weiblich/männlich, das Outcome poor/good und andere dichotomen Gruppenzugehörigkeiten (WFNS low/high; AFND ohne/mit; Infektion ohne/mit). Mindestens ordinalskalierte, nicht normalverteilte Daten wurden als Median [25%; 75% Perzentile] wiedergegeben oder in der grafischen Darstellung als Boxplot abgedruckt, so dass Mediane und Quartilen visuell vergleichbar wurden. Mittels Mann-Whitney-U-Test (MWU) (Trampisch et al. 2000 S. 240ff) erfolgte der Vergleich der gemessenen Zytokine und der HLA-DR-Expression einzelner Messzeitpunkte als unabhängige Stichproben; außerdem der Vergleich von Zeitdauern (Lebensalter, Tage bis zum Onset klinischer/infektiöser Komplikationen und Beatmungstage). Als Lage- und Streuungsmaß der Zellzahlen musste – wie in der publizierten Pilotstudie – eine Dar-stellung als Liniengrafik mit Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) gewählt werden, um die Ver-gleichbarkeit mit der Vorstudie zu gewährleisten (Sarrafzadeh et al. 2011). Aus Sicherheitsgründen wurde aber beim Gruppenvergleich keine Normalverteilung angenommen, so dass auch hier der MWU-Test zur Anwendung kam. Ebenfalls als Mittelwert \pm SD wurden das Lebensalter, der Aneu-rysmadurchmesser und die initialen Messwerte der Blutglukosekonzentration und des systolischen Blutdrucks dargestellt. Korrelationen zwischen den Messergebnissen der nicht normalverteilten Zytokine wurden mit der Methode nach Spearman (Trampisch et al. 2000 S. 77ff) geprüft. Herr Dipl.-Statistiker M. Karaman beriet den Autor bei der Auswertung der Receiver-Operating Cha-racteristic-Analysen, der binär logistischen Regression (Trampisch et al. 2000 S. 304-316) und Kaplan-Meier-Schätzer (vgl. Trampisch et al. 2000 S. 336-341), die eigentlichen Berechnungen wurden vom Autor jedoch eigenständig und ohne Hilfe durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS 20 (Fa. IBM). Unterschiede wurden ab $p \leq 0.05$ als statistisch signifikant be-trachtet ($p \leq 0.01$ deutlich signifikant; $p \leq 0.001$ hoch signifikant).

3 Ergebnisse und statistische Auswertung

3.1.1 Deskriptive Statistik I – allgemeine Patientencharakteristik

Im Zeitraum zwischen 30.10.2009 und 03.06.2013 wurden achtundsechzig aufeinander folgende gültige Patienten mit aneurysmatischer SAB in die Studie eingeschlossen. Zwei Patienten schieden vorzeitig aus. Die Gesamtzahl gültiger Patienten ist n=66, von denen bei n=60 (91%) Follow-up-Daten existieren. Bei n=6 (9.0%) Patienten, die mindestens 15 Tage lang eingeschlossen waren, liegen keine Follow-up-Daten vor, da sie nicht kontaktiert werden konnten oder nicht zur Nachuntersuchung bereit waren.

Eigenschaften	alle Patienten	AFND	DCI †	asymptomatische	P
n (%)	66 (100)	38 (57.4)	30 (45.4)	16 (24.2)	-
Geschlecht f/m (n)	52/23	27/11	21/9	9/7	n.s.
Alter (Mean±SD)	54.0±11,5	55.5±10.9	52.5±11.5	49 ±13.8	n.s.
WFNS low/high n/n (%/%)	29/37 (44/56)	6/32 (15.8/84.2)	10/20 (37.9/51.4)	14/2 (87/13)	<0.001
I n (%)	16 (24.2) ^x	3 (7.9) ¹	6 (37.7) ¹	7 (43.8) ¹	
II n (%)	11 (16.7) ^x	1 (2.6) ²	4 (36.3) ²	7 (63.6) ²	
III n (%)	2 (3.0) ^x	2 (5.3) ³	0 (0.0) ³	0 (0.0) ³	
IV n (%)	18 (27.3) ^x	13 (34.2) ⁴	9 (50.0) ⁴	2 (11.1) ⁴	
V n (%)	19 (28.8) ^x	19 (50.0) ⁵	11 (57.4) ⁵	0 (0.0) ⁵	
initiale Fisher Group (n) [I;II;III;IV]	[2;1;51;12]	[1;1;24;12]	[2;1;26;7]	[1; 0; 15; 0]	n.s
EGOS nach 180 Tagen Median (25%;75% Perzentile)	3 (1;6)	1 (1;4)	2 (1;6)	6 (4;8)	-
Sterblichkeit 15 Tage n (%)	12 (18.1)	9 (23.6)	6 (20.0)	0 (0)	n.s.
Sterblichkeit 180 Tage n (%)	21 (31.8)	17 (44.7)	12 (40.0)	0 (0)	0.012

Tabelle: allgemeine Patientencharakteristika, Schweregrade, neurologische Symptomatik und Outcome

^x in % aller Patienten; ¹ in % der WFNS I-Patienten; ² in % der WFNS II-Patienten; ³ in % der WFNS III-Patienten;

⁴ in % der WFNS IV-Patienten. Unter den initial als WFNS IV eingestuft Patienten wiesen n=2 im MRT und CT keine frühe Ischämie, keine gyrale Schwellung oder Hirnödeme auf. Ursache des Komas war eine initiale Hydrozephalie. Sie zeigten ab Tag 2 eine Besserung ihres Zustandes und hatten ein günstiges Outcome, so dass ein AFND nicht angenommen werden kann. ⁵ in % der WFNS V-Patienten; Berechnung der Signifikanz mit dem Fisher-Test für 2x2 Tabellen (Trampisch et al. 2000 S. 276f). χ^2 -Test für > 2x2 Felder (Trampisch et al. 2000 S. 273ff) und Kruskal-Wallis-Test für ordinalskalierte Variablen (Trampisch et al. 2000 S. 263ff). EGOS: (achtstufige) erweiterte Glasgow Outcome-Scale (Wilson et al. 1998)

† n=30 Patienten mit DCI in CT oder/und MRT laut radiologischem Facharztbefund in der Studien-Datenbank:

Studienpatient CRT038 Infarkt; CRT046 Infarkte ACA; CRT056 Infarkte frontotemporal; CRT058 Infarkt des Operculums; CRT059 Infarkte, CRT061 Infarkt MCA, CRT063 Infarkte; CRT066 Infarkt; CRT071 Hirntod nach Vasospasmus; CRT074 Infarkte frontoparietal; CRT081 Infarkte ACA; CRT085 Hirntod nach Vasospasmus; CRT090 Infarkt Tag 6; CRT093 Infarkt Tag 8; CRT095 Infarkte kortikal; CRT097 Hirntod nach Infarkt; CBF028 Infarkt; CBF018 Infarkt ACM; CBF027 Infarkt MCA; CBF031 Infarkte temporopolar/insulär, CBF034 Infarkte bilateral ACA/MCA; CBF039 Hirntod nach Vasospasmus; CBF040 Infarkt PCA/MCA; CBF041 Infarkt; CBF046 Infarkte; CBF047 Infarkte; CBF048 Infarkte; CBF050 Infarkt Basalganglien; CBF055 Infarkte subkortikal; CBF057 Infarkte.

Eigenschaften	n	WFNS 1-3/4+5	p	ohne/mit AFND⁴	p	ohne/mit DCI	P
Befunde		29/37	-	28/38 ⁴	-	36/30	-
GCS initial ≤ 13	40	4/36	<0.001	7/33	<0.001	20/20	0.253
GCS initial ≤ 7	21	0/21	<0.001	0/21	<0.001	10/11	0.306
Defizit vor/bei Aufnahme	31	5/26	<0.001	5/26 ⁴	<0.001	15/16	0.314
Meningismus	24	18/6	0.005	17/7	0.006	15/9	0.130
intrazerebrales Blut	21	5/16	0.022	5/16	0.033	9/12	0.492
intraventriculäres Blut	44	15/29	0.022	14/30	0.014	22/22	0.216
subdurales Blut	6	1/5	0.156	2/4	0.478	4/2	- ⁵
Aneurysma Ø mm (Median)		6/7	0.105	5.5/6.5	0.366	6/6.5	0.511
Lateralität [L;R;O] ¹ (n)	1)	7;8;14 / 13;10;14	n.s.	8;7;13 / 12;11;15	n.s.	12;11;13 / 8;7;15	n.s.
Gebiet [ant;nant;O] ² (n)	2)	15;7;7 / 16;11;10	n.s.	14;7;7 / 17;11;10	n.s.	16;8;6 / 15;10;11	n.s.
RR > 200 mmHg	11	7/4	0.134	6/5	0.287	6/5	0.632
Blutglukose >147 mg/dl ³	33	12/21	0.161	13/20	0.402	18/15	0.597
anamnestische Angaben							
Hypertonie	28	13/15	0.488	13/15	0.488	16/12	0.422
Nikotinabusus	40	17/23	0.414	19/21	0.550	22/18	0.482
Alkoholkonsum	12	8/4	- ⁵	7/5	0.431	7/5	0.431
Interventionen							
Clipping	50	23/27	0.382	21/29	0.563	29/21	0.239
Coiling	16	6/10	0.382	7/9	0.563	7/9	0.239
Adverse Events							
ICP-Anstieg	32	11/21	0.102	8/24	0.005	16/16	0.319
ICP-Anstieg vor 72 h	23	6/17	0.029	4/19	0.002	13/10	0.510
Zweitblutung	4	1/3	- ⁵	0/4	- ⁵	1/3	- ⁵

Tabelle: Infektionen und klinische Eigenschaften .WFNS: World Federation of Neurosurgical Societies-Schwergrad. AFND: akutes fokal-neurologisches Defizit. DCI: delayed cerebral ischemia.

¹ Eingruppierung nach der Seite: L: links n=20 (30.3%); R: rechts n=18 (27.3%); O: ohne anatomische Seitenzuordnung (Aa. communicantes, A. basilaris) n=28 (42.4%) und ² Eingruppierung nach dem arteriellen Stromgebiet: ant: vorderes Stromgebiet (A. cerebri anterior, A. communicans anterior) n=31 (47%); nant: non-anteriores Stromgebiet (A. communicans posterior, A. basilaris, A. post. inf. cerebelli) n=18 (27.3%); O: sonstige (A. carotis interna, A. cerebri media) n=16 (25.8%)

³ Statt des Blutglukose-Referenzbereichs 80-100 mg/dl, wurde hier die 50% Perzentile als Trennwert verwendet.

⁴ AFND-Eingruppierung: n=38 Patienten erfüllten die Kriterien. Bereits bei Aufnahme zeigten n=29 Patienten (43.9%) neurologische Defizite. Folgende Patienten entwickelten darüber hinaus in den ersten 72 Stunden ein AFND: CBF036 zeigte früh Infarkte; CBF057 entwickelte postoperativ ein neues Defizit; CRT052 hatte eine Blutung während des Coilings; CRT074 zeigte intrazerebrale Gerinnsel und eine neu aufgetretene Aphasie; CRT081 wies intrazerebrales Blut und Dezerebrationszeichen auf; bei CRT094 lagen Hirnnervensymptome bzw. eine Anisokorie vor. Bei CRT096 traten Symptome nach einer Klipstenose auf. Bei CRT067 kam es postoperativ zu einer Klipstenose und CRT098 wies ein intrazerebrales Hämatom sowie höhergradige Defizite auf, so dass auch bei diesen beiden Patienten ein AFND angenommen wurde.

⁵ Ohne Angabe der Signifikanz. Bei Besetzung der Zellen n < 5 ist eine Testung nicht möglich.

3.1.2 Deskriptive Statistik II – allgemeine Infektionsstatistik

Über alle Infektionsarten entwickelten 60.6% (n=40) der untersuchten Personen mindestens eine Infektion. In elf Fällen trat eine zweite Infektion auf. Insgesamt wurden 51 Infektionsereignisse gezählt. Die durchschnittlichen Infektionsfrequenz beträgt ~1.29 Infektion pro infizierter Person, entsprechend einer Häufigkeit von 77.2 Infektionsereignisse pro 100 aSAB Patienten (kumulative Inzidenz: 40.4 Infektionen pro 1000 Monitoring-Tage).

Infektionen bei n=66 Patienten		Ereignisse (Infektionen)		Ereignisse (Zweitinfektionen)		Infektionsarten (Fälle pro Kategorie)	
		n	%	n	%	n	%
Pneumonien	Hospital acquired pneumonia (HAP)	22	33.3	1	1.5	23	34.8
	nicht als HAP gewertete Pneumonie (non-HAP) ¹	5	7.5	-	-	nicht als eigene Kategorie ausgewertet	
	Harnwegsinfektionen	5	7.5	1	1.5	6	
	ZNS-Infektionen ²	2	3.0	3	4.5	5	
	Sepsis ³	2	3.0	3	4.5	5	
sonstige Infektionen	Wundinfektion	1	1.5	1	1.5	} sonstige Infektionen Σ =7	
	Sinusitis/ Mastoiditis	1	1.5	-	-		
	dermale Virusinfektion	-	-	1	1.5		
	dermale Mykose	-	-	1	1.5		
	Infektion eines zentralen Venenkatheters (ZVK)	2	3.0	-	-		
	Summen	40	60.6	11	24.2		

Tabelle: Definition der Zugehörigkeit zur Gruppe der Patienten „mit Infektion“ und Bildung der in dieser Arbeit untersuchten Kategorien (Infektionsarten)

¹ Als definitorisch für die Zugehörigkeit eines Patienten zur Gruppe „mit Infektion“ wurden auch n=5 früh aufgetretene Pneumonien (non-HAP) gewertet bei Patient CBF029 am Tag zwei nach aSAB-Onset mit Fieber, radiologischem Thoraxbefund und Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* im Tracheobronchialsekret (TBS); bei CBF028 zeigte sich Fieber am Tag zwei und eitriges TBS mit Nachweis von *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa*. CRT066 entwickelte Fieber am Tag zwei bei nachgewiesenem *Staphylococcus aureus* im TBS und steigenden Infektionsparametern. CRT070 und CRT093 mit Fieber am Tag zwei, positivem radiologischem Befund und in beiden Fällen ein Nachweis von *Klebsiella pneumoniae* im Tracheobronchialsekret.

² Die Zugehörigkeit zur Gruppe der Patienten mit einer Infektion wird bei CRT104 durch eine ZNS-Infektion am Tag sieben mit Gram-positiven Kokken definiert und nachfolgender HAP mit *Klebsiella pneumoniae*. Bei CRT092 trat eine ZNS-Infektion mit *Staphylococcus hominis* am Tag drei auf. Bei CBF028 trat am Tag neun eine ZNS-Infektion mit *Staphylococcus epidermidis* auf; als Erstinfektion war eine Pneumonie mit *Pseudomonas aeruginosa* dokumentiert. Bei CRT062 trat eine ZNS-Infektion mit *Enterococcus faecium* auf, nachdem die Patientin bereits zuvor am ersten Tag ein fieberhaftes pulmonales Ereignis zeigte, das jedoch die Kriterien einer Pneumonie nicht voll erfüllte. Bei CBF055 fehlt der Keimnachweis bei klinisch-definierter Ventrikulitis; die Zugehörigkeit zur Gruppe mit Infektionen ist durch eine gesicherte Harnwegsinfektion mit *Escherichia coli* definiert.

³ n=1 als primäre Sepsis ohne Bezug zu einer vorangegangenen Infektion bei CBF050 am Tag elf mit Fieber, Anstieg der Infektionsparameter und *Staph. Epidermidis* in der Blutkultur; n=1 bei Patient CRT036 am Tag zwei nach bereits am aSAB-Onset-Tag 0 aufgetretener und zensierter non-hospital acquired pneumonia – daher wurde die Sepsis als Erstinfektion eingestuft; ferner traten auf n=2 Sepsis nach HAP; n=1 Sepsis nach Harnwegsinfekt.

3.1.3 Deskriptive Statistik II – Infektionsereignisse im Zeitverlauf

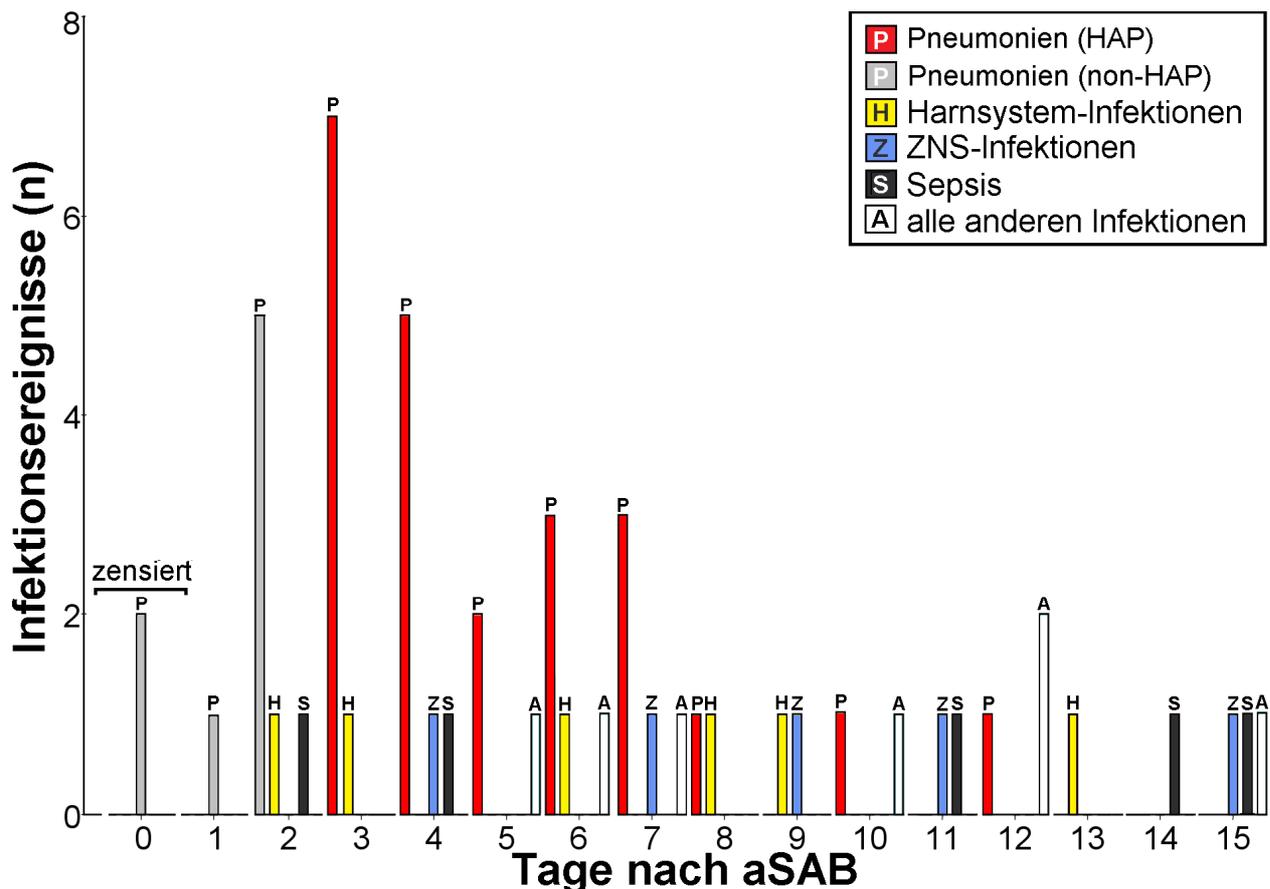


Abb: Zählung der aufgetretenen Infektionsereignisse nach Infektionsart und Zeitpunkt bezogen auf aSAB-Onset

Die Grafik zeigt die Inzidenzen im Zeitverlauf. Wiedergegeben sind Ereignisse und nicht Fälle. In der Gesamtheit begannen Infektionen am Tag 5 [3; 9] (Median [25%; 75%-Perzentile], non-HAP: als graue Balken wurden acht Pneumonien dargestellt, die aufgrund des frühen Beginns nicht als HAP einzustufen waren. Zensierte Ereignisse: zwei non-HAP bei den Studienpatienten CBF036 und CRT063 wurden wegen des frühen Auftretens am Tag 0 zur statistischen Auswertung zensiert, insbesondere bei der Prädiktoren-Analyse; hier fehlten zudem die Immunologie- Laborwerte bis Tag 3. Bei einer Reevaluation der Studiendokumentation konnte darüber hinaus bei n=4 Ereignissen, die als Pneumonie geführt waren, die Definition nicht als voll erfüllt angesehen werden, so dass keine Pneumonie gezählt wurde (nicht im Bild dargestellt). Drei dieser vier Fälle (CRT087, CRT094, CRT097) mit Fieber und Infektionsverdacht wurden daher zur Prädiktorenberechnung zensiert, beim vierten Fall fehlten Immunologie-Blutproben.

HAP und HAEOP: n=23 Fälle erfüllten die Kriterien einer im Krankenhaus erworbenen Pneumonie (HAP). Die Einstufung folgte den im Methodenteil explizierten Definitionen. Gewertet wurden nur Pneumonieereignisse, die frühestens 48 h nach Krankenhausaufnahme auftraten. Die durchschnittliche Zeit zwischen Auftreten der Blutung und der Notaufnahme im Krankenhaus betrug 1 Stunde [1; 5.25] (Median [25%; 75% Perzentile]). Als Hospital acquired early-onset pneumonia (HAEOP) wurden n=12 HAP-Ereignisse eingestuft, die einen Infektions-Onset zwischen 48. und 96. Stunde nach Krankenhausaufnahme hatten.

Frühinfektionen: vor Ablauf der 72. Stunde nach aSAB-Onset wurden 18 Infektionen bei n=16 Patienten diagnostiziert. Abzüglich der beiden Patienten mit zensierten Infektionen am Tag 0 verblieben n=14 gültige Fälle, die als „Frühinfektionen < 72 h“ eingruppiert wurden.

3.1.4 Deskriptive Statistik III – Keimspektrum

Pathogene bei n=49 Infektionsereignissen	Häufigkeit		Grameigenschaft			Metabolismus		
	(n)	(%)	positiv (%)	negativ (%)	ohne (%)	aerob (%)	fakultativ anaerob (%)	sonstig (%)
Candida albicans	1	2.04	2.04				2.04	
Enterobacter aerogenes	3	6.12		6.12			6.12	
Enterobacter cloacae	3	6.12		6.12			6.12	
Enterococcus faecalis	1	2.04	2.04			2.04		
Enterococcus faecium	1	2.04	2.04			2.04		
Escherichia coli	6	12.24		12.24		12.24		
E. coli + Proteus mirabilis	1	2.04		2.04		2.04		
Haemophilus influenzae	2	4.08		4.08			4.08	
Herpes simplex	1	2.04			2.04			2.04
Klebsiella oxytoca	1	2.04		2.04			2.04	
Klebsiella pneumoniae	5	10.20		10.20			10.20	
Pseudomonas aeruginosa	4	8.16		8.16		8.16		
P. aeruginosa + Klebs. pneum.	2	4.08		4.08		4.08		
P. aeruginosa + S. marcescens	1	2.04		2.04		2.04		
Pseudomonas putida	1	2.04		2.04		2.04		
Serratia marcescens	1	2.04		2.04		2.04		
Staphylococcus aureus	6	12.24	12.24			12.24		
Staph. aureus + P. aeruginosa	1	2.04	1.02	1.02		2.04		
Staphylococcus epidermidis	6	12.24	12.24			12.24		
Staphylococcus hominis	1	2.04	2.04			2.04		
Streptococcus pneumoniae	1	2.04	2.04			2.04		
Summen	49	100	35.72	62.24	2.04	67.34	30.62	2.04

Tabelle: Häufigkeiten der Erregerarten bei n=49 mikrobiologisch bestätigten Infektionen. P: Pseudomonas; E: Escherichia; Staph: Staphylokokkus. Bei n=40 Fällen mit 51 gewerteten Infektionsereignissen fehlen zwei Keimnachweise: CBF057 mit akuter, fieberhafter Sinusitis/Mastoiditis (radiologisch gesichert) und CBF040 mit Wundinfektion. Die Einordnung dieses Patienten als Infektion erfolgte aufgrund einer HAP.

Infektionsereignisse (Index_T am Patienten Kürzel: Infektions-Onset-Tag nach aSAB.): CRT063_{T0} Pneumonie [zensiert]; CBF036_{T0} Pneumonie [zensiert] (Enterobacter cloacae); CRT084_{T1} Pneumonie (Pseudomonas putida); CRT066_{T2} Pneumonie (Staph. aureus); CRT070_{T2} Pneumonie (Klebsiella pneumoniae); CBF060_{T2} Pneumonie (Haemophilus influenzae); CRT093_{T2} Pneumonie (Klebsiella pneumoniae); CBF028_{T2} Pneumonie (Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa); CRT081_{T2} Harnwegsinfekt (E. coli); CBF036_{T2} Sepsis (Staph. epidermidis); CRT075_{T3} HAEOP (P. aeruginosa); CBF029_{T3} HAEOP (P. aeruginosa); CBF033_{T3} HAEOP (Enterobacter cloacae); CRT046_{T3} HAEOP (Enterobacter aerogenes); CRT056_{T3} HAEOP (P. aeruginosa, Serratia marcescens); CRT059_{T3} HAEOP (Staph. aureus, P. aeruginosa); CRT095_{T3} HAEOP (Staph. aureus); CRT083_{T3} Harnwegsinfekt (Enterococcus faecalis); CRT072_{T4} HAEOP (Streptococcus pneumoniae); CRT074_{T4} HAEOP (Strept. pneumoniae); CBF059_{T4} HAEOP (Haemoph. influenzae); CRT038_{T4} HAEOP (Staph. aureus); CBF041_{T4} HAEOP (Klebsiella pneumoniae); CRT092_{T4} ZNS-Inf. (Staph. hominis); CRT046_{T4} Sepsis (Enterobacter aerogenes); CBF034_{T5} HAP (Klebsiella pneumoniae, P. aeruginosa); CRT048_{T5} HAP (Staph. aureus); CBF061_{T5} HAP (Klebs. pneumoniae); CBF058_{T5} sonstiger Infekt (Ser. marcescens); CRT085_{T6} HAP (Staph. aureus); CBF047_{T6} Harnwegsinfekt (E. coli); CRT063_{T6} sonstiger Infekt (Candida albicans); CRT084_{T6} sonstiger Infekt (Herpes simplex); CBF031_{T7} HAP (Klebsiella oxytoca); CRT090_{T7} HAP (P. aeruginosa); CBF040_{T7} HAP (E. coli); CRT104_{T7} ZNS-Infektion (Staph. epidermidis); CRT104_{T8} HAP (Klebs. pneumoniae); CBF025_{T8} Harnwegsinfekt (E. coli, Proteus mirabilis); CRT072_{T9} Harnwegsinfekt (E. coli); CBF028_{T9} ZNS-Infektion (Staph. epidermidis); CRT077_{T10} HAP (Enterobacter cloacae); CRT058_{T10} ZVK-Infektion (Staph. epidermidis); CBF050_{T11} Sepsis (Staph. epidermidis); CRT081_{T12} HAP (Enterobacter aerogenes); CRT063_{T12} sonstiger Infekt (Cand. albicans); CBF027_{T12} ZVK-Infektion (Staph. aureus); CBF055_{T13} Harnwegsinfekt (E. coli); CRT056_{T14} Sepsis (Staph. epidermidis); CBF059_{T15} sonstiger Infekt (Staph. epidermidis); CRT062_{T15} ZNS-Inf. (Enterococcus faecium); CRT083_{T15} Sepsis (Enterococcus faecalis).

3.1.5 Deskriptive Statistik IV – Infektionsstatistik und klinische Eigenschaften

Um später Kandidaten für logistische Regressionsmodelle zu identifizieren, wurden zunächst Kreuztabellen für alle gesammelten klinischen Dichotomien berechnet. Wiedergegeben sind hier alle Hauptbefunde mit signifikanten Unterschieden oder einem klaren Trend in der Verteilung.

3.1.5.1 Initiale Bewusstseinsstörungen

In der Gesamtheit der Studienpatienten betrug der GCS-Score zum Aufnahmezeitpunkt im Median 12 bei Werten von 5.25 für die 25%- und 14.25 für die 75%-Perzentile. Um einen potenziellen Zusammenhang von initialen Bewusstseinsstörungen und Infektionen zu untersuchen, wurden die initialen GCS-Werte im Bereich zwischen 3 und 15 systematisch in Dichotomien transformiert und als Unterscheidungsmerkmal für Kreuztabellen verwendet.

Patienten mit Infektionsereignissen	n	GCS ≥14/<14	<i>p</i>	GCS ≥13/<13	<i>p</i>	GCS ≥7/<7	<i>P</i>
alle Patienten		26/40	-	29/37	-	47/19	-
HAP	23	8/15	0.170	9/14	0.135	16/7	0.366
HAEOP	12	5/7	0.546	6/6	0.628	8/4	0.310
Frühinfektionen <72 h	14	3/11	0.081	4/10	0.119	9/5	0.277
Infektionen	40	15/25	0.311	16/24	0.157	28/12	0.272

Tabelle: Vergleich von Infektionen und dichotomisierten Glasgow-Coma-Scale-Werten (GCS) bei Aufnahme

Ein Zusammenhang von Bewusstseinsstörungen mit dem Auftreten von HAP und HAEOP ist nicht erkennbar. Das Gleiche gilt für die Gruppe mit sonstigen Infektionen. Bei Betrachtung der Infektionen mit Beginn vor der 72. Stunde zeigten sich Verteilungsunterschiede als Trend (n.s.).

3.1.5.2 WFNS-Schweregrad, AFND und DCI

Für die WFNS-Grade-Gruppierungen *low-grade* (WFNS 1-3) und *high-grade* (WFNS 4+5) sowie für das Vorliegen von AFND bzw. DCI bei Infektionen wurden Kreuztabellen kalkuliert.

Patienten mit Infektionsereignissen	n	WFNS low/high	<i>p</i>	ohne/mit AFND	<i>p</i>	ohne/mit DCI	<i>P</i>
alle Patienten	66	29/37	-	28/38	-	30/36	-
HAP	23	10/13	0.291	9/14	0.264	9/14	0.005
HAEOP	12	6/6	0.628	4/8	0.246	5/7	0.110
Harnwegsinfektion	6	4/2	0.228	4/2	0.204	3/3	0.572
ZNS-Infektion	5	1/4	0.263	2/3	0.644	2/3	0.413
Sepsis	5	2/3	0.616	2/3	0.644	3/2	0.587
sonstige Infektionen	7	4/3	0.637	2/5	0.359	2/5	0.145
Frühinfektionen <72 h	14	4/10	0.119	3/11	0.035	4/10	0.030
Infektionen	40	17/23	0.320	17/23	0.320	17/23	0.012

Tabelle: Kreuzvergleich der Infektionsarten für dichotomisierte WFNS-Grade, AFND und DCI.

Vor der Weiterverarbeitung der Ergebnisse im Kapitel 3.3ff. bleibt festzustellen:

- a) Infektionen insgesamt und auch HAP kommen signifikant gehäuft bei Patienten mit Delayed Cerebral Ischemia (DCI) vor. Ein zusätzlicher Medianvergleich für den Zeitpunkt des Infektions-Onsets bei Patienten ohne vs. mit DCI zeigte keine signifikanten Unterschiede.
Zur Prädiktorenberechnung siehe Kapitel 3.3.3.
- b) Für das Vorkommen einer Frühinfektion (Infektion vor der 72 Stunde) zeigt sich darüber hinaus eine signifikante Häufung bei Patienten mit einem akuten fokal-neurologischen Defizit (AFND). Zur Prädiktorenberechnung siehe Kapitel 3.3.4.

3.1.5.3 Zusätzliche Einblutungen

Keine signifikanten Häufigkeitsunterschiede konnten gefunden werden für den initialen Nachweis *intrazerebraler* oder *subduraler* Einblutungen und dem späteren Auftreten von Infektionen, HAP, HAEOP, Harnwegsinfektionen, ZNS-Infektionen und Sepsis. Auch in der Gruppe von n=7 Patienten mit *sonstigen Infekten* kamen intrazerebrale oder subdurale Einblutungen nicht gehäuft vor. Nur für intraventrikuläre Blutungen fand sich eine schwach signifikante Häufung bei Frühinfektionen: insgesamt wiesen n=44 (66.6%) der Studienpatienten im initialen CCT intraventrikuläres Blut auf. Dagegen litten n=12 (85.7%) der vierzehn Patienten mit Frühinfektionen vor Ablauf der 72. Stunde unter einer initial nachweisbaren Ventrikelblutung (p=0.049).

3.1.5.4 Behandlungsart *Coiling* vs. *Clipping*

Patienten mit Infektionsereignissen	n	Coiling / Clipping	P
alle Patienten	66	16/50	
HAP	23	5/18	0.494
HAEOP	12	2/10	0.398
Frühinfektionen < 72 h	14	3/11	0.530
Infektionen	40	9/31	0.411

Tabelle: Infektionen und Interventionsart (neuroradiologisches Coiling vs. neurochirurgisches Clipping)

Keine signifikanten Unterschiede ergaben Kreuzvergleiche für die Häufigkeit von Infektionen in Bezug auf die Behandlungsarten Coiling vs. Clipping. Die Wahl des Therapieverfahrens erfolgte nicht randomisiert, sondern nur aufgrund neurochirurgischer bzw. radiologischer Kriterien.

Darüber hinaus wurde auf Unterschiede beim Median und der Verteilung der Infektionsbeginnzeitpunkte getestet. Insbesondere beim Vergleich der Patienten, die entweder einem Coiling unterzogen waren oder eine Clipping-Operation erhalten hatten, ergab sich kein Anhalt für einen Gruppenunterschied (Mediane in beiden Gruppen jeweils Tag 5; p=0.723 im MWU-Test).

3.1.5 Pathologische Erhöhung des intracerebralen Druckes

Aufgrund klinischer Indikation erfolgte bei n=43 Patienten eine Messung des intracerebralen Druckes (IPC). Die erhobenen Werte wurden auf Minutenbasis dokumentiert. Als *pathologische ICP-Erhöpfung* wurden alle Messungen mit Drücken von ≥ 20 cm H₂O mit einem Bestehen über mindestens 60 Minuten Dauer gewertet. Bei n=32 Patienten kam es während der Monitoringperiode zu einer pathologischen ICP-Erhöpfung. Als Median-Onset der ICP-Erhöpfung kann Tag 2 angegeben werden mit einer Streuung zwischen Tag 1 für die 25%- und Tag 3.25 für die 75%-Perzentile. In n=23 Fällen (71.8%) trat der ICP-Anstieg vor der 72. Stunde auf. Ein Zusammenhang von ICP-Erhöhungen und Infektionen ließ sich hier nicht erkennen.

Patienten mit Infektionsereignissen	n	ohne/mit pathol. ICP-Erhöpfung (n) vor der 72. h	p	ohne/mit pathol. ICP-Erhöpfung (n) im Verlauf	P
alle Patienten	66	43/23		34/32	
HAP	23	13/10	0.142	9/14	0.135
HAEOP	12	7/5	0.358	4/8	0.163
Frühinfektionen < 72 h	14	9/5	0.455	8/6	0.520
Infektionen	40	25/15	0.116	20/20	0.270

Tabelle: Infektionen und Anstieg des intracerebralen Druckes (ICP).

3.1.6 Infektionen und initiale Parameter mit skaliertem Messniveau

Initialbefunde (Mean±SD)	alle Patienten	ohne/mit Infektionen	p	ohne/mit HAP	p
Lebensalter (Jahre)	53.9±11.5	53.4±11.0 / 54.2±11.8	0.713	53.3±11.9 / 54.7±10.9	0.847
Aneurysma Ø (mm)	7.09±4.11	8.14±5.39 / 6.57±3.28	0.363	7.71±4.82 / 6.04±2.14	0.324
RR _{sys} (mmHg)	159.0±36.1	158.5±38.5 / 159.3±35.2	0.754	152.9±33.1 / 169.3±40.0	0.141
Blutglukose (mg/dl)	148.2±33.4	153.5±34.5 / 145.6±33.0	0.380	150.4±31.2 / 141.6±35.4	0.382

Tabelle: Infektionen und initiale Parameter. Ø: Durchmesser, RR_{sys}: systolischer Blutdruck. Alle Angaben als Mittelwert±Standardabweichung gemäß Skalenniveau.

Für die initial erfassten Parameter Alter, Aneurysma-Durchmesser, systolischer Blutdruck (RR_{sys}) und Blutglukosekonzentration ließen sich keine Unterschiede im Vergleich von Patienten ohne/mit Infektionen bzw. ohne/mit HAP feststellen. Auch der zusätzlich durchgeführte Vergleich über die Gruppen ohne/mit HAEOP bzw. ohne/mit Frühinfektionen zeigte keine Unterschiede auf. Im Trend wiesen Patienten mit HAP einen initial höheren RR_{sys} auf; dieser Parameter wird als Startparameter bei der Entwicklung von Regressionsmodellen einbezogen.

3.1.7 HAP und mechanische Ventilation

gültig n=66	Tage mit orotrachealer Intubation	Tage mit Beatmung insgesamt
Median [25%; 75% Perzentile]	5.5 [2; 11.25]	12 [2.75; 15]

Tabelle: maschinelle Beatmung

Im Monitoringzeitraum wurde die Mehrzahl der Studienpatienten maschinell beatmet. Nur n=4 (6.1%) der 66 Patienten waren zu keiner Zeit ventiliert. Bei n=17 (25.8%) bestand sogar für volle 15 Tage eine Beatmungspflicht. Neun der durchgängig

beatmeten Patienten waren orotracheal intubiert; acht erhielten im Verlauf ein Tracheostoma. Ein Vergleich von Patienten *ohne/mit HAP* ergab unterschiedliche Beatmungsdauern: während Patienten *mit HAP* (n=23) für 13 [7; 15] Tage (Median [25%; 75% Perzentile]) eine mechanische Beatmung erhielten, waren die Beatmungsdauern bei Patienten *ohne HAP* (n=43) signifikant kürzer: 4 [1; 12] Tage (Median [25%; 75% Perzentile]); p=0.004.

Zur Analyse, ob sich in der untersuchten Studienkohorte die Beatmungs- bzw. Intubationsdauer als Prädiktoren für Entwicklung einer im Krankenhaus erworbenen Pneumonie eignen, wurden Receiver-Operation-Characteristics ermittelt und die Fläche unter den Kurven (AUC) berechnet. Im Vergleich mit der Intubationsdauer besitzt die Ventilationsdauer eine größere AUC, weshalb letztere bei der Modellbildung (vgl. Kapitel 3.3.5) einbezogen wird.

Variable	AUC	Standardfehler	p
Intubationsdauer	0.662	0.069	0.024
Ventilationsdauer	0.747	0.064	0.001

Tabelle: AUC für Intubations- und Ventilationsdauer im Hinblick auf die Entwicklung einer HAP

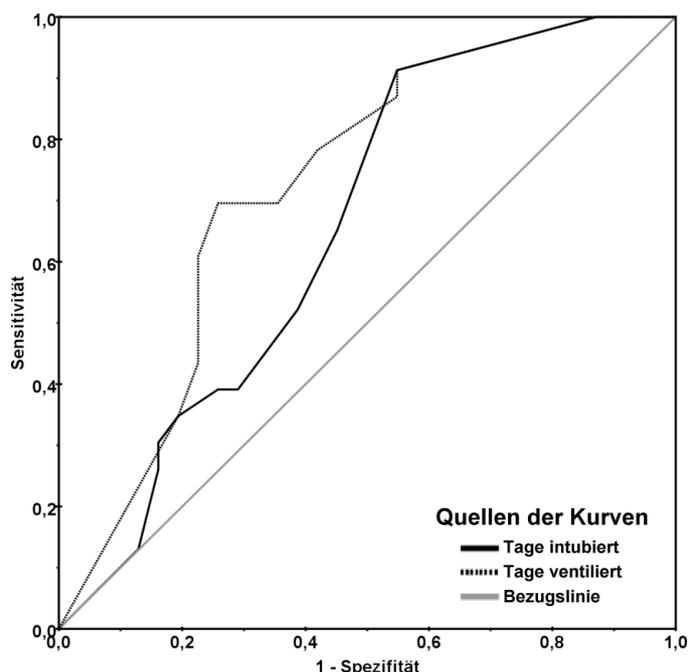


Abb. ROC für Pneumonie/Beatmungsdauer

Die *Receiver-Operating-Characteristic* für den Endpunkt HAP zeigt den positiven Zusammenhang einer längeren Intubations- bzw. Beatmungsdauer und dem vermehrten Auftreten einer im Krankenhaus erworbenen Pneumonie. Prädiktiv für die Entwicklung einer HAP sind eine *Beatmungsdauer* ≥ 7.5 Tage [Sensitivität: 0.739; Spezifität: 0.613] bzw. *Intubation* ≥ 4.5 Tage [Sensitivität: 0.652; Spezifität: lediglich 0.548]

3.2 Messergebnisse der Laborparameter: Zytokine und Immunzellen – Übersicht

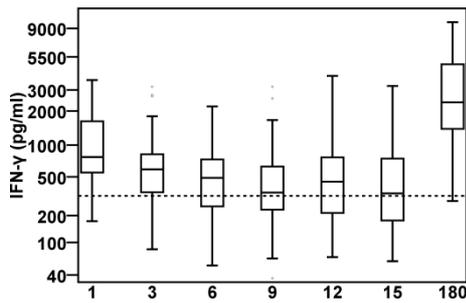


Abb: IFN- γ [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 33; 51; 54; 55; 52; 44; 22.

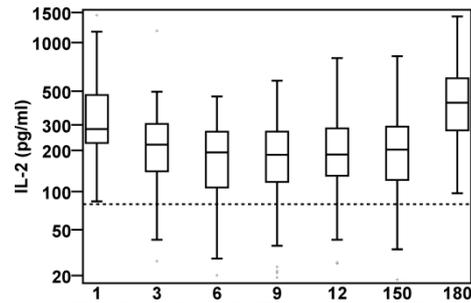


Abb: IL-2 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 50; 53; 55; 50; 43; 22.

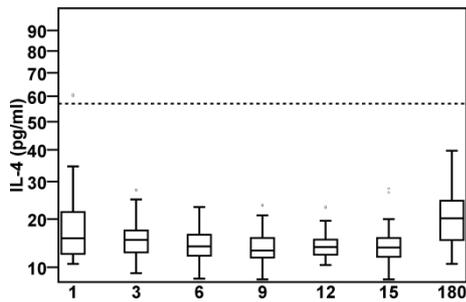


Abb: IL-4 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 51; 54; 55; 52; 45; 20.

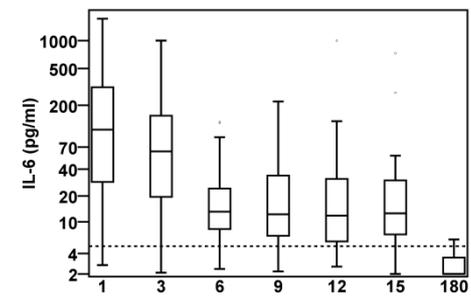


Abb: IL-6 [nativ] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 55; 59; 56; 52; 44; 27.

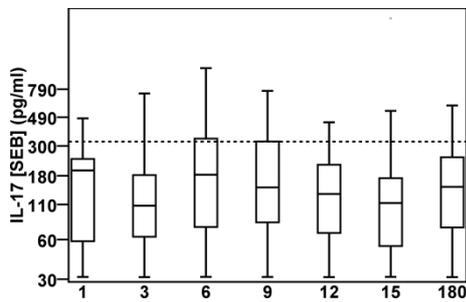


Abb: IL-17 [SEB] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 23; 44; 45; 44; 42; 37; 22.

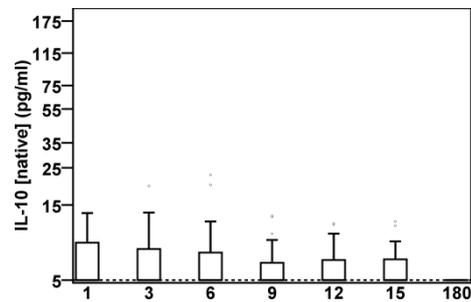


Abb: IL-10 [nativ] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 55; 59; 55; 53; 46; 25.

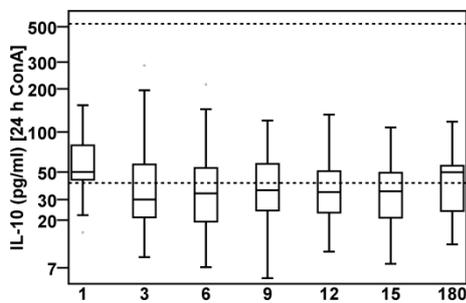


Abb: IL-10 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 33; 51; 54; 55; 52; 45; 21.

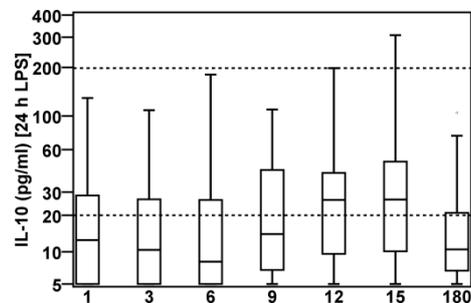


Abb: IL-10 [24h LPS] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 53; 57; 56; 53; 44; 25.

*: horizontale Linienmarkierungen im Boxplot: Minimum, 25% Perzentile, Median, 75% Perzentile und Maximum.

Messergebnisse der Laborparameter: Zytokine und Immunzellen – (Fortsetzung)

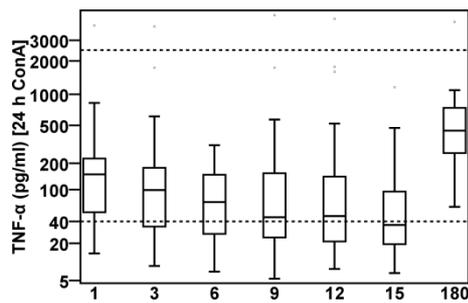


Abb. TNF- α [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 33; 51; 54; 56; 51; 44; 22.

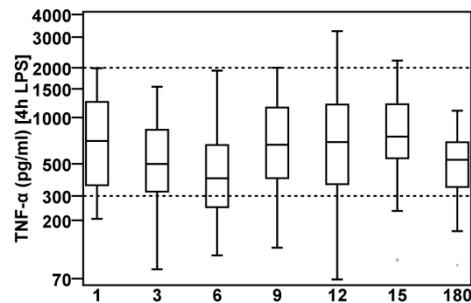


Abb. TNF- α [4h LPS] / Tage nach aSAB
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 26; 49; 47; 48; 44; 37; 19.

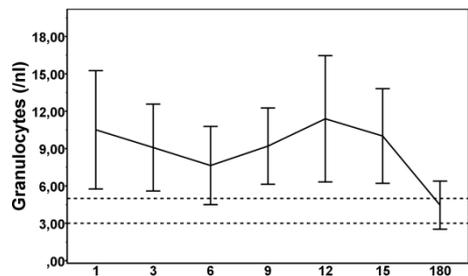
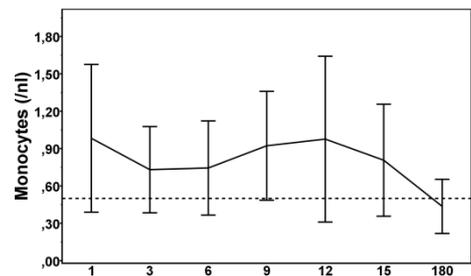


Abb. Granulozyten / Tage nach aSAB
 Means \pm SD. Gestrichelte Linie: Referenzgrenze.
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 31; 55; 59; 56; 54; 45; 24.



Monozyten / Tage nach aSAB
 Means \pm SD. Gestrichelte Linie: Referenzgrenze.
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 55; 58; 53; 52; 44; 25.

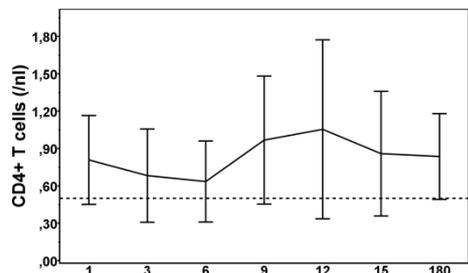


Abb. CD4⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
 Means \pm SD. Gestrichelte Linie: Referenzgrenze.
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 55; 59; 56; 54; 45; 22.

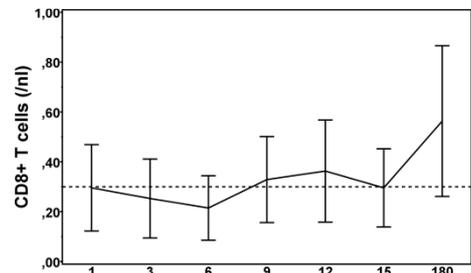


Abb. CD8⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
 Means \pm SD. Gestrichelte Linie: Referenzgrenze.
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 55; 59; 56; 54; 45; 20.

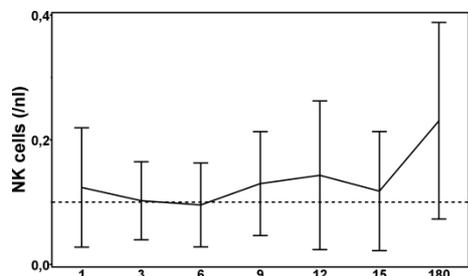


Abb. NK-Zellen / Tage nach aSAB
 Means \pm SD. Gestrichelte Linie: Referenzgrenze.
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 55; 59; 56; 54; 45; 22.

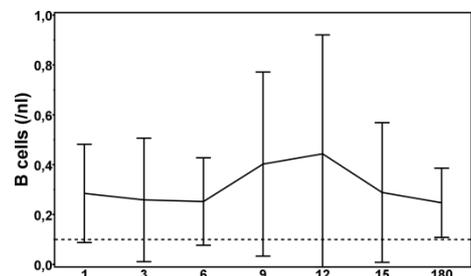


Abb. B-Zellen / Tage nach aSAB
 Means \pm SD. Gestrichelte Linie: Referenzgrenze.
 Patienten (n) mit gültigen Messungen* am Tag 1, 3, 6, 9, 12, 15 und 180 nach aSAB: 32; 55; 59; 56; 54; 45; 22.

*: horizontale Linienmarkierungen im Boxplot: Minimum, 25% Perzentile, Median, 75% Perzentile und Maximum.

3.2.1 Univariate Gruppenvergleiche der monozytären HLA-DR-Expression

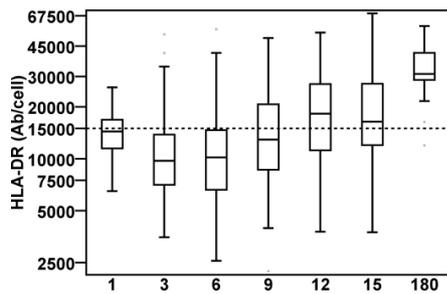


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

Ungruppierte Messergebnisse insgesamt. Patienten (n) $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 30; 56; 59; 56; 54; 44; 25$
Referenzlinie: < 15000 Antikörper/Zelle entsprechend der definitiven Grenze zur Immundepression.

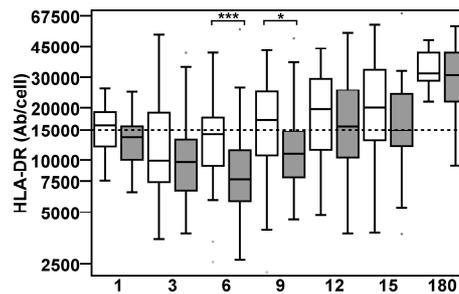


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

WFNS: *low* WFNS (weiße) vs. *high* WFNS (graue Boxen). Patienten (n) *low/high* WFNS $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 15/15; 26/30; 27/32; 24/32; 23/31; 16/28; 13/12$
Signifikanz im MWU-Test: $p_{16}=0.001; p_{19}=0.016$

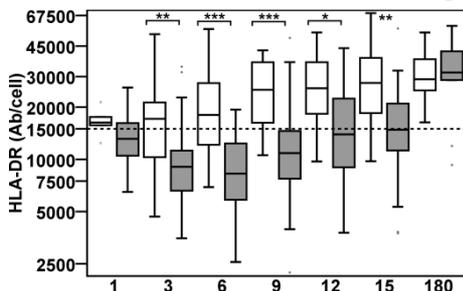


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

AFND+DCI kombiniert: *ohne* (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Patienten (n) *ohne/mit* Symptomen $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 9/21; 13/43; 15/44; 14/42; 14/40; 12/32; 11/14$
 $p_{13}=0.006; p_{16}<0.001; p_{19}<0.001; p_{112}=0.016; p_{115}=0.006$

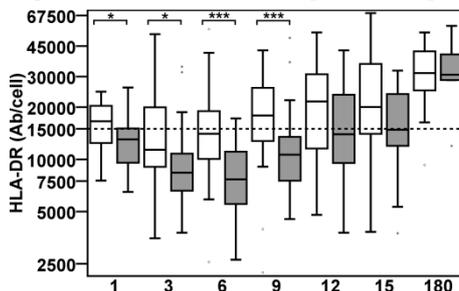


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

AFND¹: *alle Patienten ohne* (weiße) vs. *mit* AFND (graue Boxen). Patienten (n) *ohne/mit* $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 14/16; 25/31; 27/32; 25/31; 25/29; 18/26; 15/10$
 $p_{11}=0.034; p_{13}=0.017; p_{16}<0.001; p_{19}=0.001$

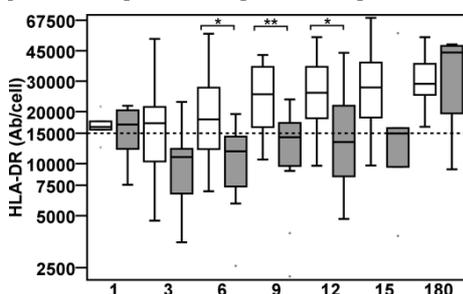


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

DCI²: *asymptomatisch* (weiße) vs. *nur DCI* (graue Boxen). Patienten (n) *ohne/mit* $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 9/5; 13/12; 15/12; 14/11; 14/11; 12/6; 11/4$
 $p_{16}=0.016; p_{19}=0.004; p_{112}=0.044$

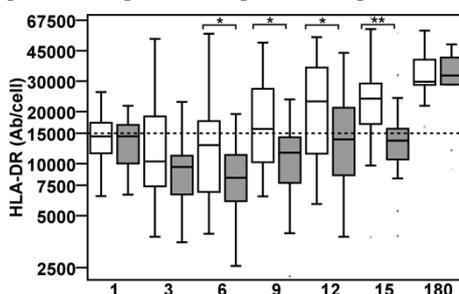


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

DCI³: *alle Patienten ohne* (weiße) vs. *mit* DCI (graue Boxen). Patienten (n) *ohne/mit* $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 18/12; 30/26; 31/28; 30/26; 28/26; 23/21; 16/9$
 $p_{16}=0.018; p_{19}=0.014; p_{112}=0.046; p_{115}=0.003$

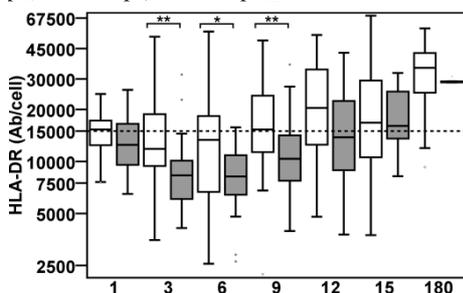


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

ICP-Erhöhung: *ohne* (weiße) vs. *mit* ICP-Erhöhung (graue Boxen). Patienten (n) *ohne/mit* $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 18/12; 29/27; 32/27; 31/25; 30/24; 25/19; 20/5$
 $p_{13}=0.002; p_{16}=0.017; p_{19}=0.007$

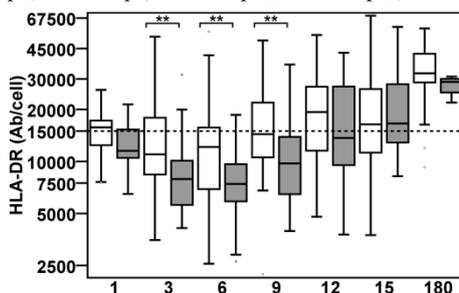


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

ICP-Erhöhung vor der 72. Stunde: *ohne* (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Patienten (n) *ohne/mit* $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 21/9; 36/20; 41/18; 38/18; 37/17; 28/16; 21/4$
 $p_{13}=0.014; p_{16}=0.013; p_{19}=0.015$

vergl. multivariate Analyse mit Messwiederholung (Kapitel 3.4f)

Univariate Gruppenvergleiche der monozytären HLA-DR-Expression – (Fortsetzung)

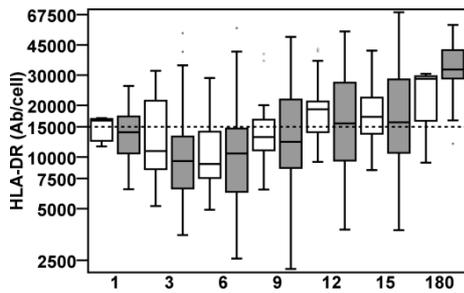


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

Intervention: *Coiling* (weiße) vs. *Clipping* (graue Boxen). Patienten (n) Coiling/Clipping_{t1;3;6;9;12;15;180} = 5/25; 14/42; 14/45; 13/43; 13/41; 11/33; 4/21. Nicht signifikant.

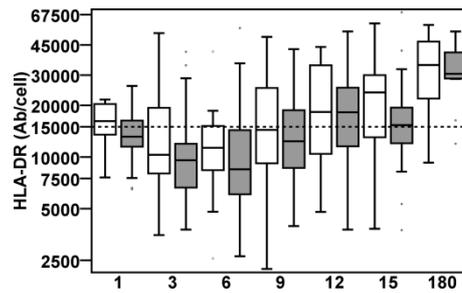


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

Intraventrikuläre Blutung: *ohne* (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Patienten (n) ohne/mit_{t1;3;6;9;12;15;180} = 9/21; 19/37; 19/40; 20/36; 19/35; 15/29; 10/15. Nicht signifikant

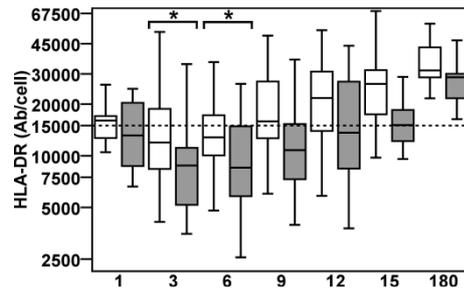


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

Infektion: *ohne* (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Patienten (n) ohne/mit_{t1;3;6;9;12;15;180} = 14/15; 16/37; 18/37; 17/36; 16/35; 13/28; 8/15. $p_{t3}=0.023$; $p_{t6}=0.026$

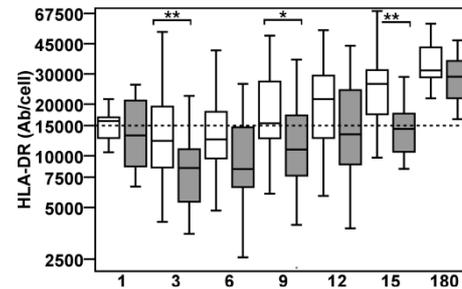


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB | HAP+non-HAP):

ohne (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Fälle ohne/mit_{t1;3;6;9;12;15;180} = 15/11; 24/27; 26/25; 25/24; 24/23; 20/17; 13/8. $p_{t3}=0.009$; $p_{t6}=0.004$; $p_{t9}=0.060$; $p_{t12}=0.024$; $p_{t15}=0.003$

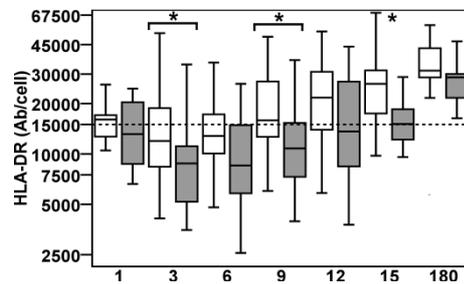


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB | Pneumonien (HAP):

HAP: *ohne* (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Patienten (n) ohne/mit_{t1;3;6;9;12;15;180} = 16/9; 25/22; 27/20; 26/19; 25/18; 20/14; 13/7. $p_{t3}=0.037$; $p_{t9}=0.013$; $p_{t15}=0.012$

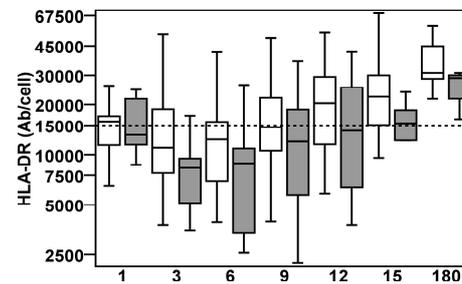


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB | Pneumonien (HAEOP):

HAEOP: *ohne* (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Patienten (n) ohne/mit_{t1;3;6;9;12;15;180} = 20/5; 36/11; 38/9; 37/8; 36/7; 28/6; 16/4. Nicht signifikant

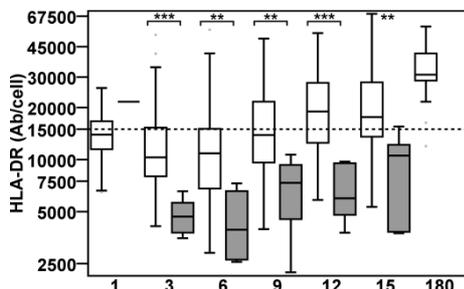


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB

Sepsis: *ohne* (weiße) vs. *mit* (graue Boxen). Patienten (n) ohne/mit_{t1;3;6;9;12;15;180} = 29/1; 51/5; 54/5; 51/5; 49/5; 39/5; 25/0. $p_{t3}<0.001$; $p_{t6}=0.002$; $p_{t9}=0.007$; $p_{t12}<0.001$; $p_{t15}=0.01$

¹ (Vorherige Seite): als Kontrollgruppe (weiße Boxen) fungieren bei dieser Teilanalyse alle Patienten ohne AFND, aber *ohne* Ausschluss von Patienten mit späterer DCI.

² (Vorherige Seite): die Kontrollgruppe (weiße Boxen) beinhaltet nur komplett asymptotische Patienten; ausgeschlossen wurden Patienten mit AFND bzw. DCI sowie Patienten mit einer Kombination von AFND *plus* DCI.

³ (Vorherige Seite): die Kontrollgruppe (weiße Boxen) besteht hierbei aus allen Patienten ohne DCI, jedoch ohne Ausschluss von Patienten mit vorherigem AFND.

In den Grafiken: *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$

3.2.2 Vergleich von Patienten mit *low grade* WFNS 1-3 vs. *high grade* WFNS 4-5

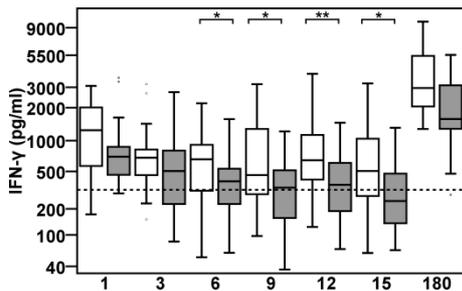


Abb: IFN- γ [24h ConA] / Tage nach aSAB
 WFNS: ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) mit Grad $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180}$
 $=15/18; 22/19; 24/30; 23/32; 23/29; 17/27; 11/11$
 $p_{t6}=0.037; p_{t9}=0.041; p_{t12}=0.007; p_{t15}=0.032$

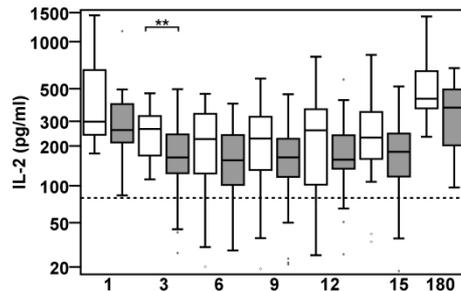


Abb: IL-2 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) mit Grad $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180}$
 $=15/17; 22/28; 24/29; 24/31; 22/28; 17/26; 11/11$
 $p_{t3}=0.008$

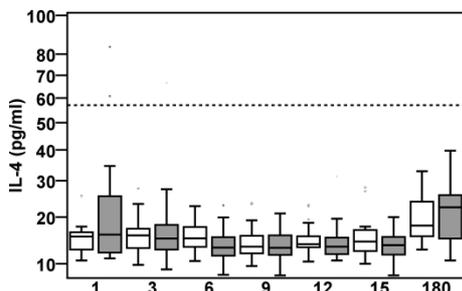


Abb: IL-4 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) mit Grad $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180}$
 $=14/18; 22/29; 24/30; 23/32; 23/29; 18/27; 10/10$
 Nicht signifikant

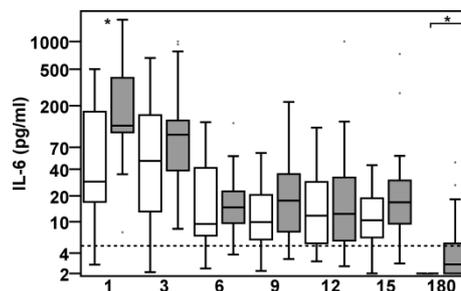


Abb: IL-6 [nativ] / Tage nach aSAB
 WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) mit Grad $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180}$
 $=15/17; 25/30; 27/32; 24/32; 23/29; 17/27; 13/14$
 $p_{t1}=0.011; p_{t180}=0.022$

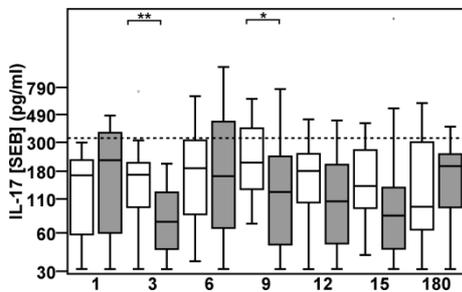


Abb: IL-17 [SEB] / Tage nach aSAB
 WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180} =12/11; 20/24;$
 $21/24; 18/26; 19/23; 15/22; 11/11. p_{t3}=0.008; p_{t9}=0.032$

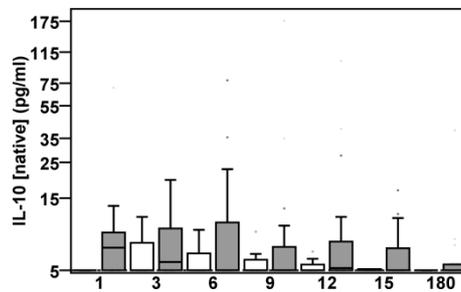


Abb: IL-10 [nativ] / Tage nach aSAB
 WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) mit Grad $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180} =15/17;$
 $25/30; 27/32; 24/31; 23/30; 17/29; 12/13$ (n.s) [sic!]

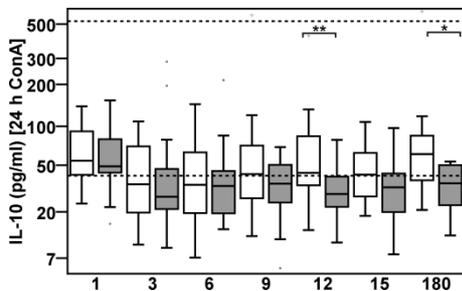


Abb: IL-10 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) mit Grad $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180}$
 $=15/18; 22/29; 24/30; 23/32; 23/29; 18/27; 10/11$
 $p_{t12}=0.003; p_{t180}=0.029$

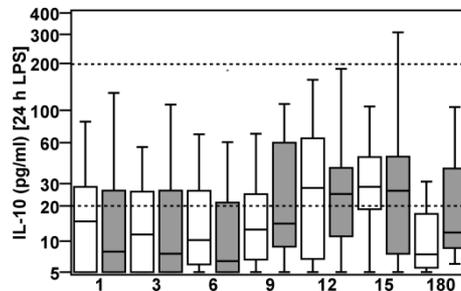


Abb: IL-10 [24h LPS] / Tage nach aSAB
 WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).
 Patienten (n) mit Grad $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180}$
 $=15/17; 24/29; 26/31; 24/32; 31/17; 27/13; 13/12$
 Nicht signifikant

vergl. multivariate Analyse mit Messwiederholung (Kapitel 3.4f)

Vergleich von Patienten mit low grade WFNS 1-3 vs. high grade WFNS 4-5 – (Fortsetzung)

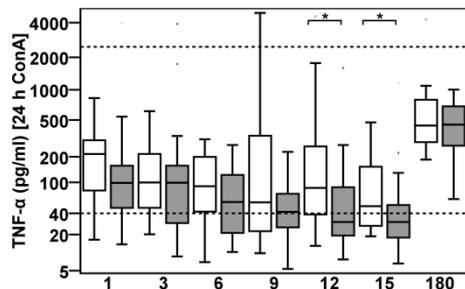


Abb. TNF-α [24h ConA] / Tage nach aSAB
WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).

Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180}
=15/18; 22/29; 24/30; 24/32; 22/29; 17/27; 11/11
 $p_{t12}=0.019$; $p_{t15}=0.021$

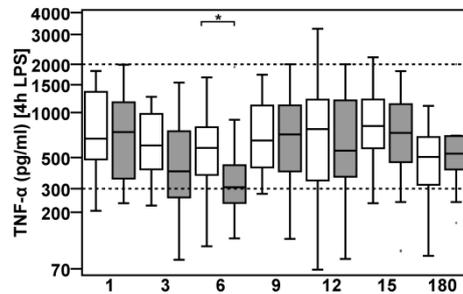


Abb. TNF-α [4h LPS] / Tage nach aSAB
WFNS ≤ 3 (weiße) vs. ≥ 4 (graue Boxen).

Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180}
=13/13; 21/28; 21/26; 21/27; 18/26; 15/22; 10/9
 $p_{t6}=0.016$

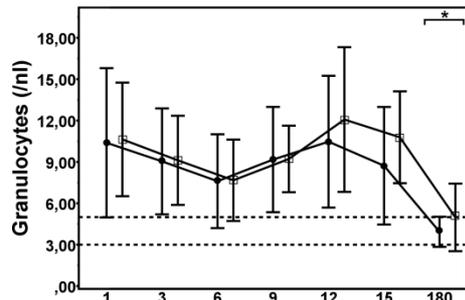


Abb. Granulozyten / Tage nach aSAB

WFNS ≤ 3 (Kreise) vs. ≥ 4 (Quadrate). Means±SD.
Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180} =16/15; 25/30;
27/32; 24/32; 23/31; 17/28; 12/12. $p_{t180}=0.039$

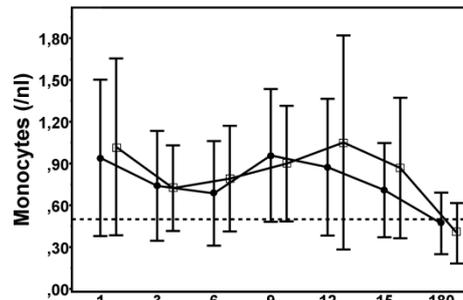


Abb. Monozyten / Tage nach aSAB

WFNS ≤ 3 (Kreise) vs. ≥ 4 (Quadrate). Means±SD.
Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180} =15/17; 25/30;
26/32; 21/32; 22/30; 17/27; 13/12. Nicht signifikant

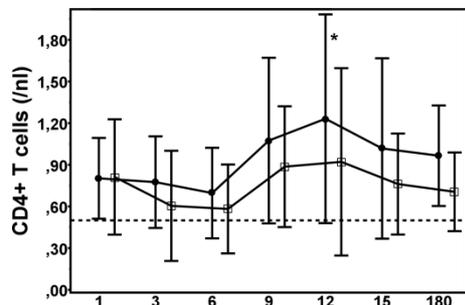


Abb. CD4+ T-Zellen/ Tage nach aSAB

WFNS ≤ 3 (Kreise) vs. ≥ 4 (Quadrate). Means±SD.
Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180} =15/17; 25/30;
27/32; 24/32; 23/31; 17/28; 11/11. $p_{t12}=0.029$

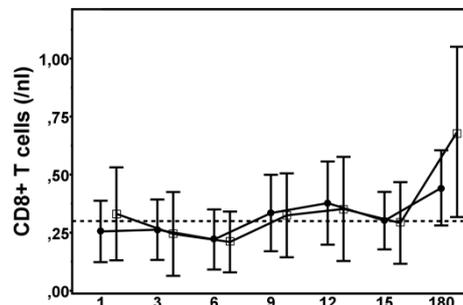


Abb. CD8+ T-Zellen/ Tage nach aSAB

WFNS ≤ 3 (Kreise) vs. ≥ 4 (Quadrate). Means±SD.
Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180} =15/17; 25/30;
27/32; 24/32; 23/31; 17/28; 10/10. Nicht signifikant

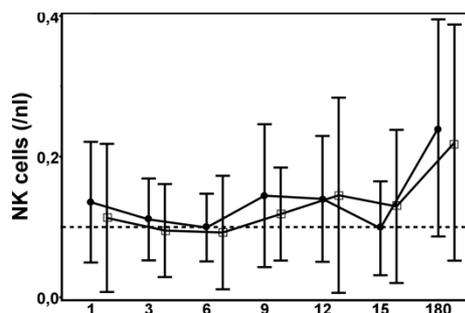


Abb. NK-Zellen / Tage nach aSAB

WFNS ≤ 3 (Kreise) vs. ≥ 4 (Quadrate). Means±SD.
Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180} =15/17; 25/30;
27/32; 24/32; 23/31; 17/28; 11/11. Nicht signifikant

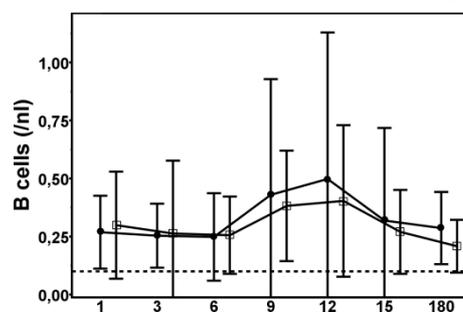


Abb. B-Zellen / Tage nach aSAB

WFNS ≤ 3 (Kreise) vs. ≥ 4 (Quadrate). Means±SD.
Patienten (n) mit Grad ≤3/≥4_{t1;3;6;9;12;15;180} =15/17; 25/30;
27/32; 24/32; 23/31; 17/28; 11/11. Nicht signifikant

3.2.3 Vergleich von asymptomatischen Patienten vs. Patienten mit AFND

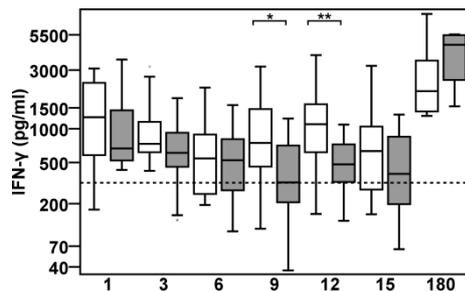


Abb. IFN- γ [24h ConA] / Tage nach aSAB
 AFND: *asympt. Pat.* (weiße) vs. *AFND* (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/11; 12/16;
 13/16; 14/16; 13/13; 10/12; 10/4. $p_{t9}=0.034$; $p_{t12}=0.007$

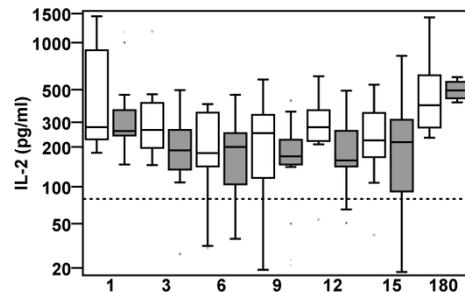


Abb. IL-2 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/11; 12/16;
 13/16; 14/16; 13/13; 10/12; 10/4. Nicht signifikant

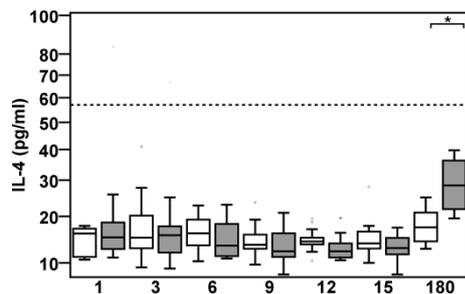


Abb. IL-4 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =8/11; 12/16;
 13/16; 14/16; 13/13; 11/12; 8/4. $p_{t180}=0.048$

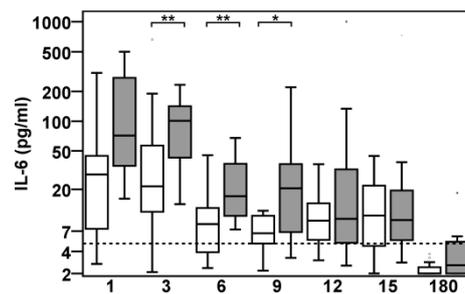


Abb. IL-6 [nativ] / Tage nach aSAB
 Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/9; 13/16;
 15/16; 14/16; 14/14; 12/11; 11/7. $p_{t3}=0.010$; $p_{t6}=0.006$;
 $p_{t9}=0.013$

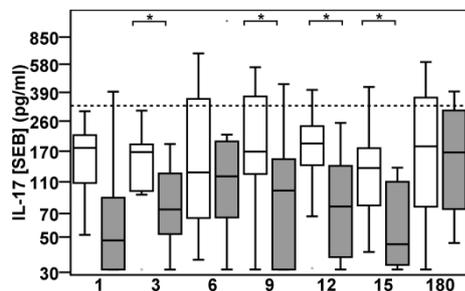


Abb. IL-17 [SEB] / Tage nach aSAB
 Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =7/5; 11/13;
 12/13; 12/13; 13/9; 11/9; 11/4. $p_{t3}=0.041$; $p_{t9}=0.040$;
 $p_{t12}=0.043$; $p_{t15}=0.020$

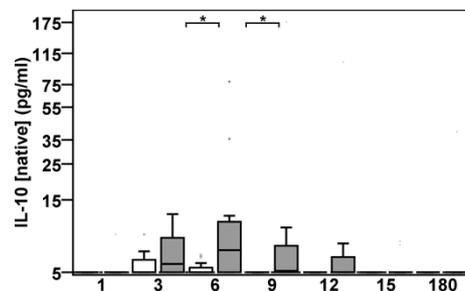


Abb. IL-10 [nativ] / Tage nach aSAB
 Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/9; 13/16;
 15/16; 14/16; 14/14; 12/12; 10/6. $p_{t6}=0.033$; $p_{t9}=0.038$

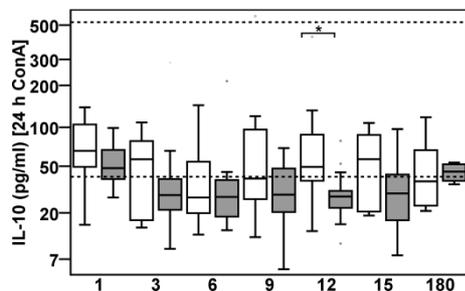


Abb. IL-10 [24h ConA] / Tage nach aSAB
 Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/11; 12/16;
 13/16; 14/16; 13/13; 11/12; 9/4. $p_{t12}=0.016$

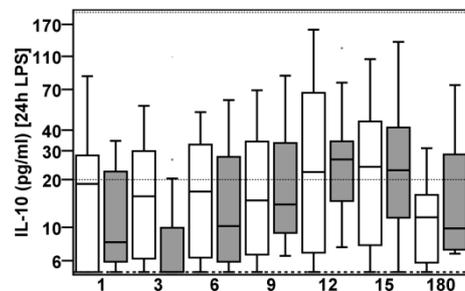


Abb. IL-10 [24h LPS] / Tage nach aSAB
 Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
 Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/9; 12/15;
 14/16; 14/16; 14/14; 12/12; 11/5. Nicht signifikant

vergl. multivariate Analyse mit Messwiederholung (Kapitel 3.4f)

Vergleich von asymptomatischen Patienten vs. Patienten mit AFND – (Fortsetzung)

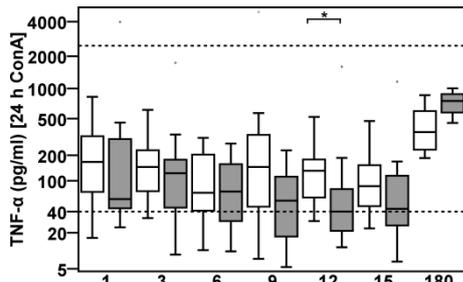


Abb. TNF- α [24h ConA] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/11; 12/16;
13/16; 14/16; 13/13; 10/12; 10/4. p_{t12} =0.022

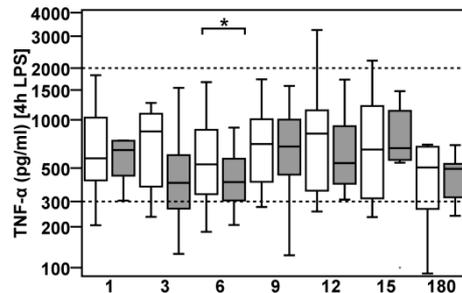


Abb. TNF- α [4h LPS] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. Pat mit AFND (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =8/6; 10/14;
12/13; 11/13; 11/11; 10/9; 8/5. p_{t6} =0.016

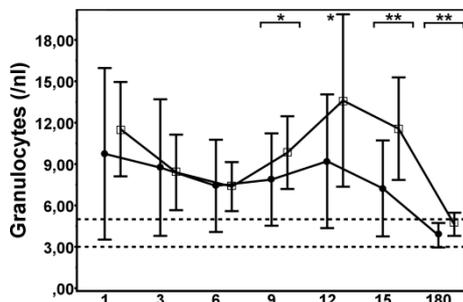


Abb. Granulozyten / Tage nach aSAB
AFND *ohne* (Kreise) vs. *mit* (Quadrate). Means \pm SD. Pati-
enten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =10/9; 13/16; 15/16;
14/16; 14/14; 12/12; 10/15. p_{t9} =0.031; p_{t12} =0.031;
 p_{t15} =0.007; p_{t180} =0.008

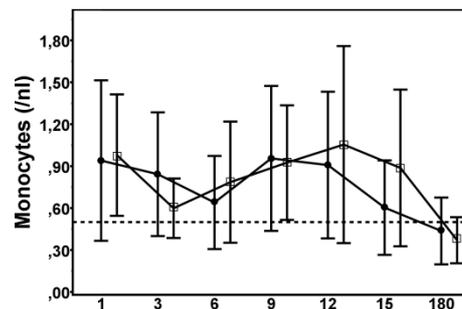


Abb. Monozyten / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. Pat mit AFND (Quadrate).
Means \pm SD. Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/9;
13/16; 15/15; 13/15; 14/14; 12/11; 10/5.
Nicht signifikant

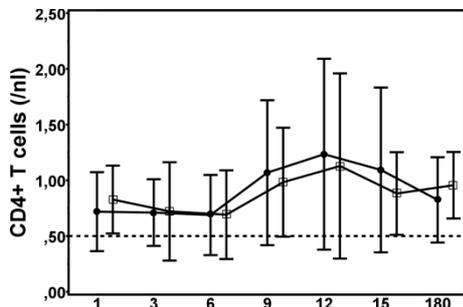


Abb. CD4⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. Pat mit AFND (Quadrate).
Means \pm SD. Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180}
=9/9; 13/16; 15/16; 14/16; 14/14; 12/12; 11/5.

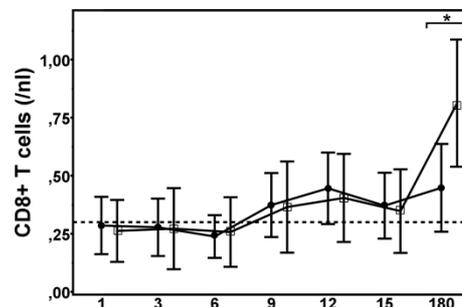


Abb. CD8⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. Pat mit AFND (Quadrate).
Means \pm SD. Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180}
=9/9; 13/9; 13/16; 15/16; 14/16; 14/14; 12/12; 11/5.
 p_{t180} =0.034

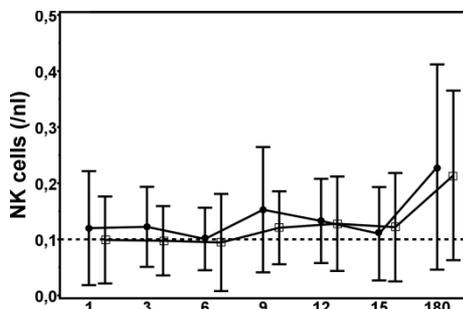


Abb. NK-Zellen / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. Pat mit AFND (Quadrate).
Means \pm SD. Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180}
=9/9; 13/16; 15/16; 14/16; 14/14; 12/12; 11/5. (n.s.)

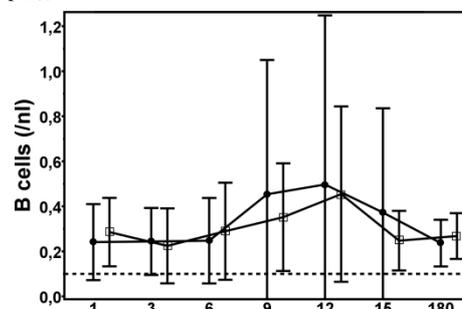


Abb. B-Zellen / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. Pat mit AFND (Quadrate).
Means \pm SD. Patienten (n) ohne/mit AFND_{t1;3;6;9;12;15;180}
=9/9; 13/16; 15/16; 14/16; 14/14; 12/12; 11/5. (n.s.)

3.2.4 Vergleich von asymptomatischen Patienten vs. Patienten mit DCI

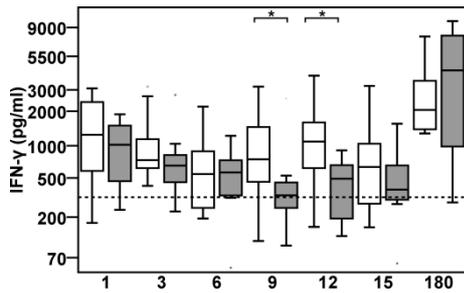


Abb. IFN- γ [24h ConA] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =9/4; 12/11;
13/10; 14/10; 13/11; 10/7; 10/4. $p_{t9}=0.048$; $p_{t12}=0.013$

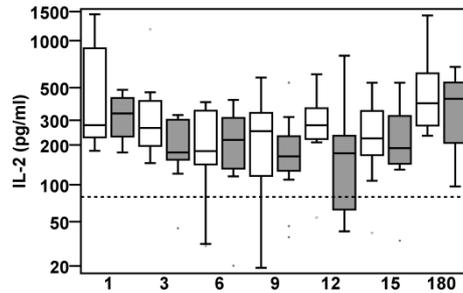


Abb. IL-2 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =9/4; 12/11;
13/10; 14/11; 13/10; 10/7; 10/4. nicht signifikant

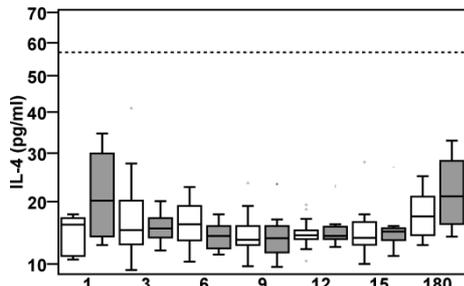


Abb. IL-4 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =8/4; 12/11;
13/10; 14/10; 13/11; 11/7; 8/4. nicht signifikant

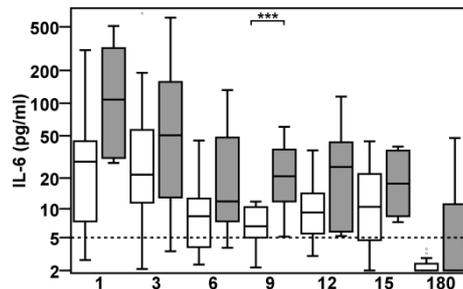


Abb. IL-6 [nativ] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =9/5;
13/12; 15/12; 14/11; 14/10; 12/6; 11/4. $p_{t9}<0.001$

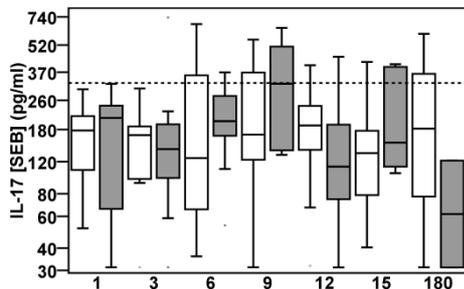


Abb. IL-17 [SEB] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =7/5; 11/10;
12/9; 12/8; 13/9; 11/6; 11/2. nicht signifikant

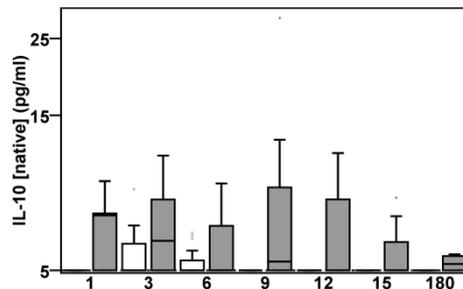


Abb. IL-10 [nativ] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =9/5; 13/12;
15/12; 14/10; 14/11; 12/7; 10/4. nicht signifikant [sic!]

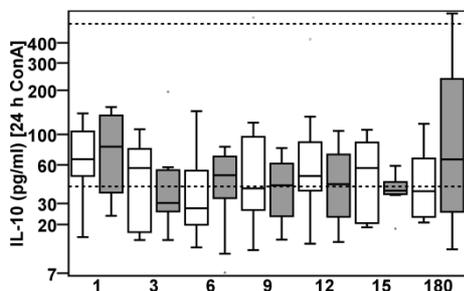


Abb. IL-10 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =9/7; 12/11;
13/10; 14/10; 13/11; 11/7; 9/4. nicht signifikant

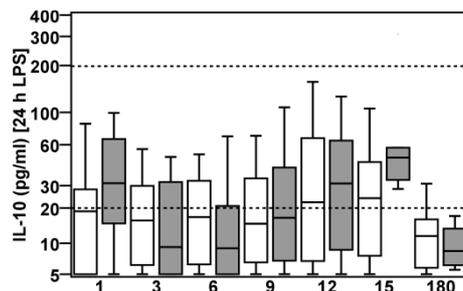


Abb. IL-10 [24h LPS] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1,3;6;9;12;15;180} =9/5; 12/12;
14/11; 14/11; 14/10; 12/6; 11/4. nicht signifikant

vergl. multivariate Analyse mit Messwiederholung (Kapitel 3.4f)

Vergleich von asymptomatischen Patienten vs. Patienten mit DCI – (Fortsetzung)

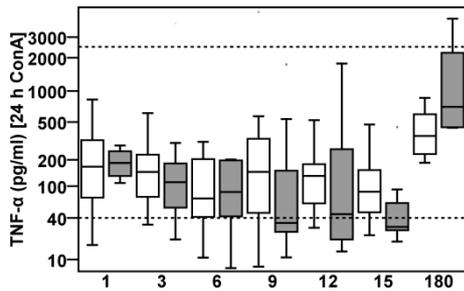


Abb. TNF- α [24h ConA] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/4;
12/11; 13/10; 14/11; 13/10; 10/7; 10/4. (n.s.)

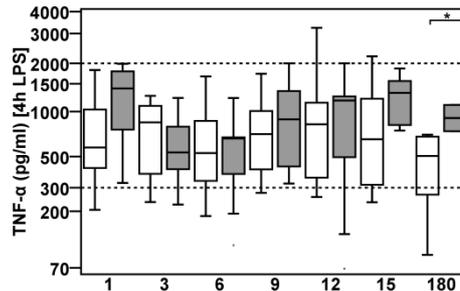


Abb. TNF- α [4h LPS] / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (weiße) vs. DCI (graue Boxen).
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =8/5;
10/12; 12/9; 11/10; 11/9; 10/6; 8/2. $p_{t180}=0.044$

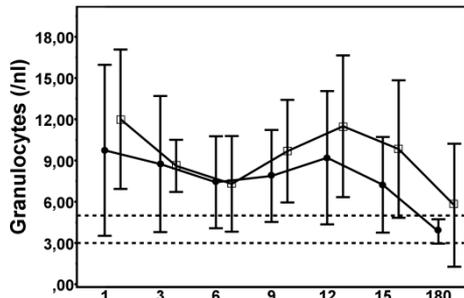


Abb. Granulozyten / Tage nach aSAB
AFND *ohne* (Kreise) vs. *mit* (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =10/5; 13/12;
15/12; 14/11; 14/11; 12/6; 10/4. (n.s.)

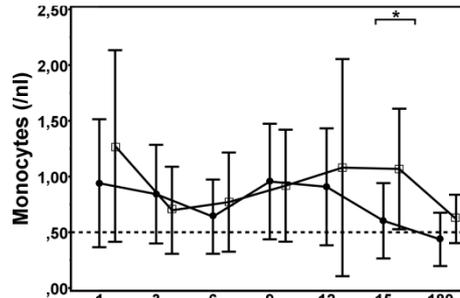


Abb. Monozyten / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. DCI (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/5; 13/12;
15/12; 13/10; 14/10; 12/6; 11/4. $p_{t15}=0.041$

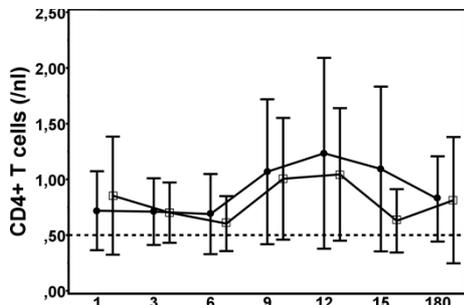


Abb. CD4⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. DCI (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/5;
13/12; 15/12; 14/11; 14/11; 12/6; 9/3. (n.s.)

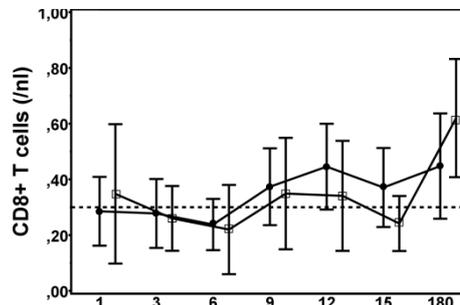


Abb. CD8⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. DCI (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/5; 13/12;
15/12; 14/11; 14/11; 12/6; 9/2. (n.s.)

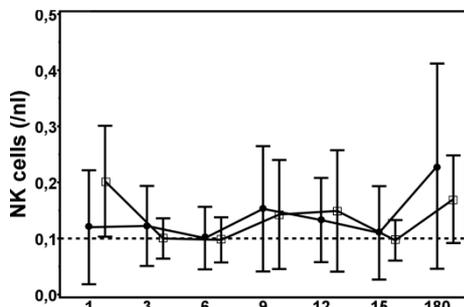


Abb. NK-Zellen / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. DCI (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/5;
13/12; 15/12; 14/11; 14/11; 12/6; 9/3. (n.s.)

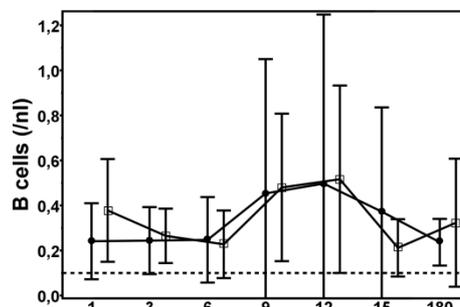


Abb. B-Zellen / Tage nach aSAB
Asympt. Pat. (Kreise) vs. DCI (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) ohne/mit DCI_{t1;3;6;9;12;15;180} =9/5; 13/12;
15/12; 14/11; 14/11; 12/6; 9/3. (n.s.)

3.2.5 Vergleich von Patienten ohne HAP vs. Patienten mit HAP

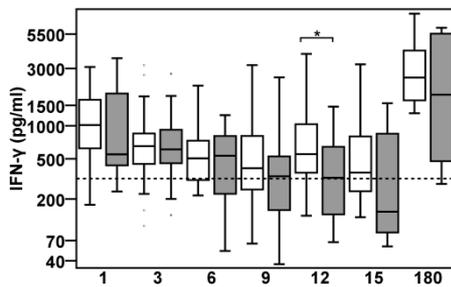


Abb. IFN- γ [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 19/9; 23/20; 26/18;$
 $26/18; 24/17; 20/13; 12/6. p_{t12}=0.037$

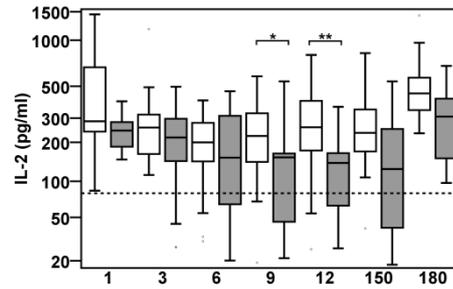


Abb. IL-2 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 19/18; 23/19; 26/17;$
 $26/18; 24/15; 20/12; 12/6. p_{t9}=0.026; p_{t12}=0.002$

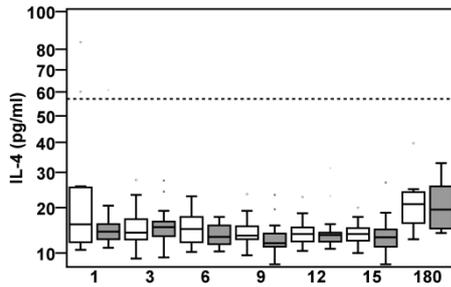


Abb. IL-4 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 18/9; 23/20; 26/18; 26/18; 24/17; 21/13; 11/5$
Nicht signifikant

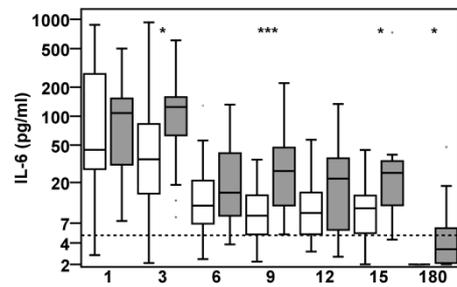


Abb. IL-6 [nativ] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 17/9; 24/22; 27/20; 26/19; 24/18; 21/13; 13/9$
 $p_{t3}=0.014; p_{t9}=0.001; p_{t15}=0.035; p_{t180}=0.011$

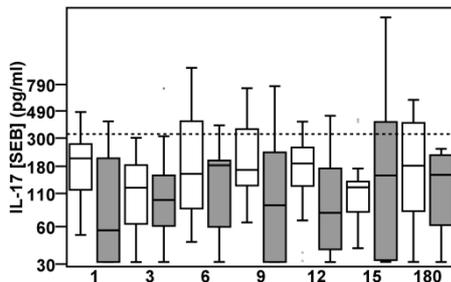


Abb. IL-17 [SEB] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 12/6;$
 $17/19; 18/17; 18/16; 17/15; 15/12; 13/4. (n.s)$

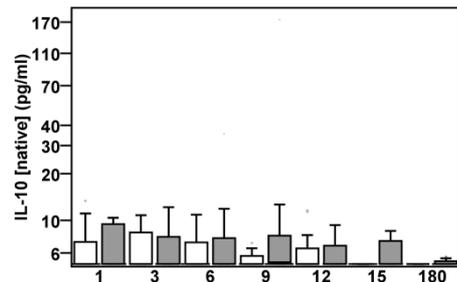


Abb. IL-10 [nativ] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 17/9; 24/22;$
 $27/20; 26/18; 24/18; 21/15; 12/8 (n.s) [sic!]$

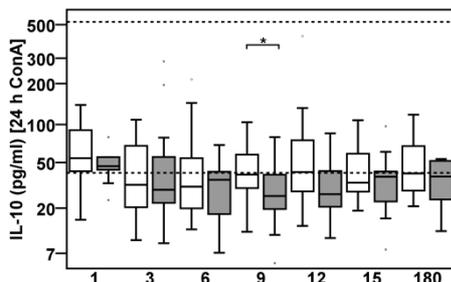


Abb. IL-10 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 19/9; 23/20;$
 $26/18; 26/18; 24/17; 21/13; 11/6. p_{t9}=0.041$

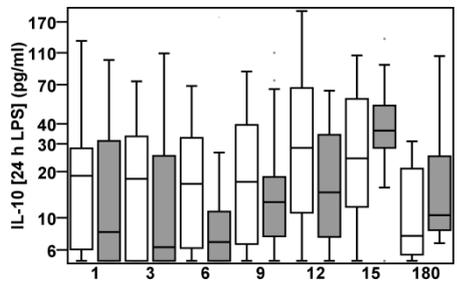


Abb. IL-10 [24h LPS] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180} = 17/9; 22/22;$
 $26/19; 26/19; 25/17; 21/13; 13/7. (n.s)$

Vergleich von Patienten ohne HAP vs. Patienten mit HAP – (Fortsetzung)

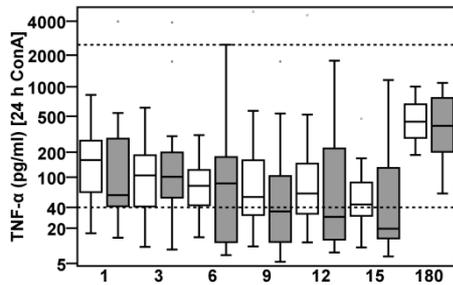


Abb. TNF- α [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 19/9; 23/20;$
 $26/18; 26/19; 24/16; 20/13; 12/6.$ (n.s).

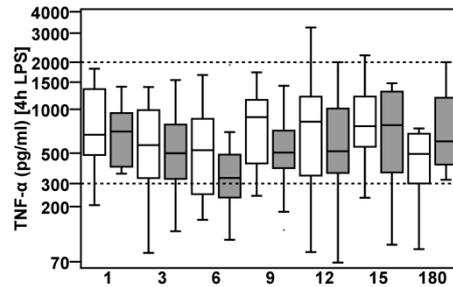


Abb. TNF- α [4h LPS] / Tage nach aSAB
Ohne HAP (weiße) vs. mit HAP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 13/8; 19/21;$
 $20/17; 20/17; 17/16; 16/12; 11/4.$ (n.s).

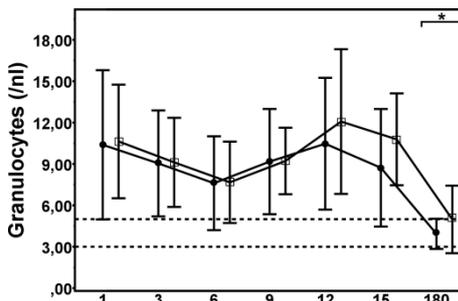


Abb. Granulozyten / Tage nach aSAB
Ohne HAP (Kreise) vs. mit HAP (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 19/9; 23/20; 26/18;$
 $26/19; 24/16; 20/13; 12/6.$ $p_{t180} = 0.028$

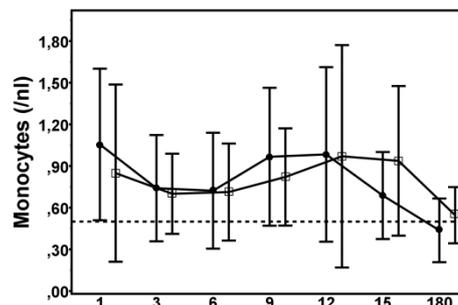


Abb. Monozyten / Tage nach aSAB
Ohne HAP (Kreise) vs. mit HAP (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 17/9; 24/22; 27/20;$
 $26/19; 25/18; 21/14; 12/7.$ Nicht signifikant

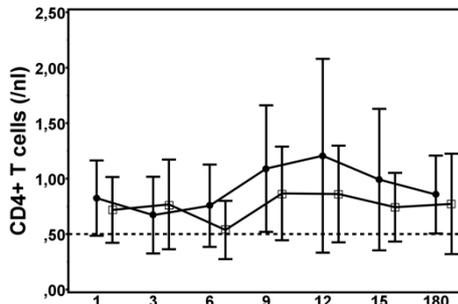


Abb. CD4⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Ohne HAP (Kreise) vs. mit HAP (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 17/9; 24/22; 27/19;$
 $24/18; 23/18; 20/14; 13/7.$ Nicht signifikant

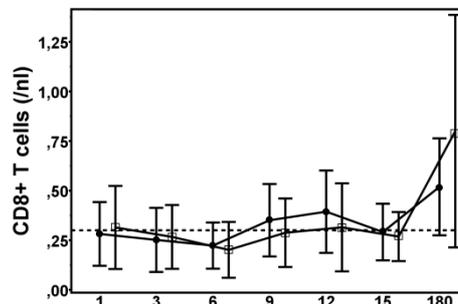


Abb. CD8⁺ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Ohne HAP (Kreise) vs. mit HAP (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 17/9; 24/22; 27/20;$
 $26/19; 25/18; 21/14; 12/5.$ Nicht signifikant

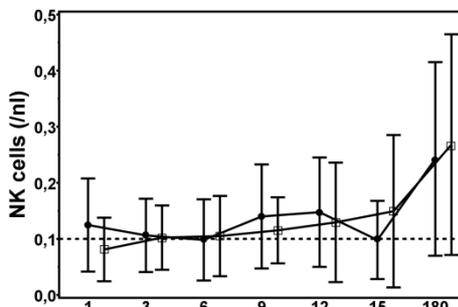


Abb. NK-Zellen / Tage nach aSAB
Ohne HAP (Kreise) vs. mit HAP (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 17/9; 24/22; 27/20;$
 $26/19; 25/18; 21/14; 12/3.$ Nicht signifikant

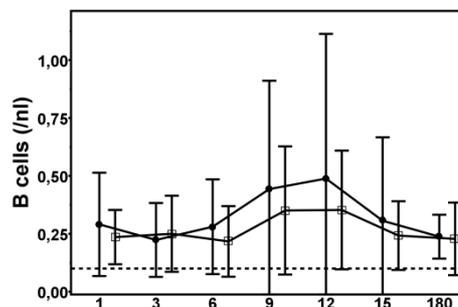


Abb. B-Zellen / Tage nach aSAB
Ohne HAP (Kreise) vs. mit HAP (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne $t_{1,3,6,9,12,15,180} = 17/9; 24/22; 27/20;$
 $26/19; 25/18; 21/14; 12/5.$ Nicht signifikant

3.2.6 Vergleich von Patienten ohne HAEOP vs. Patienten mit HAEOP

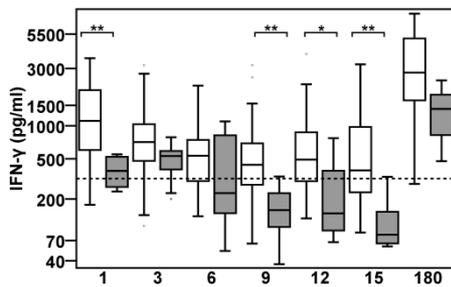


Abb. IFN- γ [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =24/4; 34/9; 36/8; 37/7; 35/6; 28/5; 15/3
 p_{t1} =0.009; p_{t9} =0.002; p_{t12} =0.018; p_{t15} =0.003

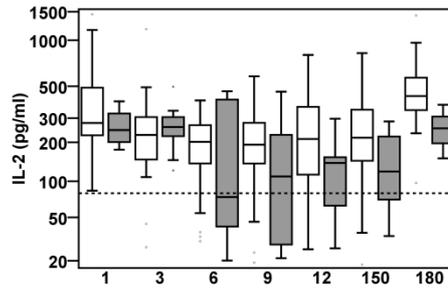


Abb. IL-2 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =23/4; 33/9; 35/8; 36/8; 34/5; 27/5; 15/3
Nicht signifikant

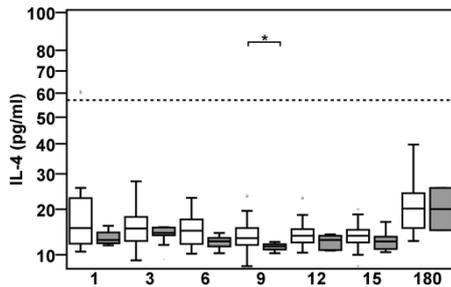


Abb. IL-4 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =23/4; 34/9; 36/8; 37/7; 35/6; 29/5; 14/2. p_{t9} =0.017

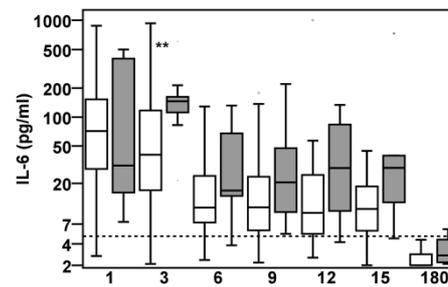


Abb. IL-6 [nativ] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =21/5; 35/11; 38/9; 37/8; 35/7; 28/6; 18/4. p_{t3} =0.010

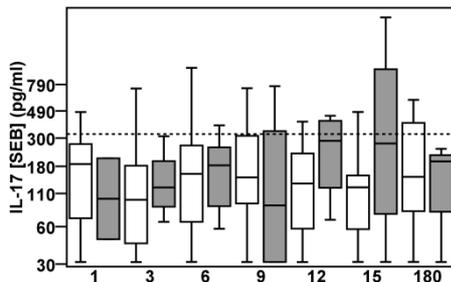


Abb. IL-17 [SEB] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) $\leq 3/\geq 4$ mit $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =16/2; 28/8; 28/7; 28/6; 28/4; 24/4; 14/3. (n.s)

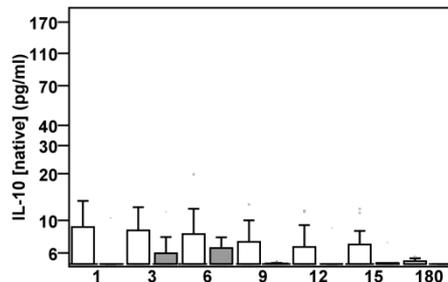


Abb. IL-10 [nativ] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =21/5; 35/11; 38/9; 36/8; 35/7; 30/6; 16/4. (n.s)

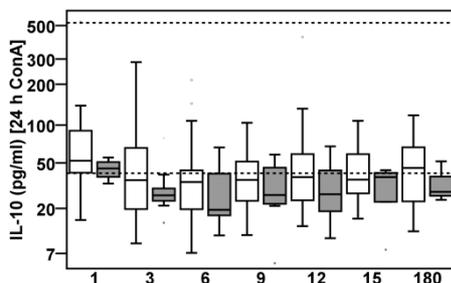


Abb. IL-10 [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =24/4; 34/9; 36/8; 37/7; 35/6; 29/5; 14/3
Nicht signifikant

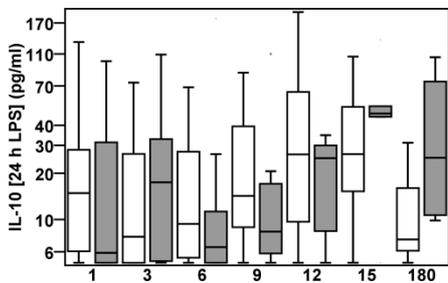


Abb. IL-10 [24h LPS] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen). Patienten (n) mit/ohne $t_{1;3;6;9;12;15;180}$ =21/5; 33/11; 36/9; 37/8; 35/7; 29/5; 16/4
Nicht signifikant

Vergleich von Patienten ohne HAEOP vs. Patienten mit HEOAP – (Fortsetzung)

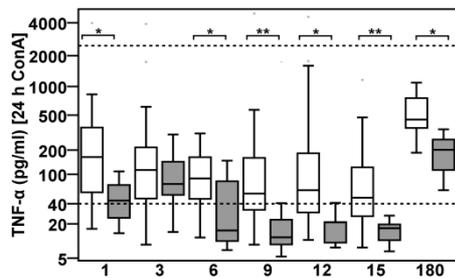


Abb. TNF- α [24h ConA] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180 =24/4; 34/9;
36/8; 37/8; 35/5; 28/5; 15/3 pt1=0.035; pt6=0.028;
pt9=0.007; pt12=0.011; pt15=0.004; pt180=0.039

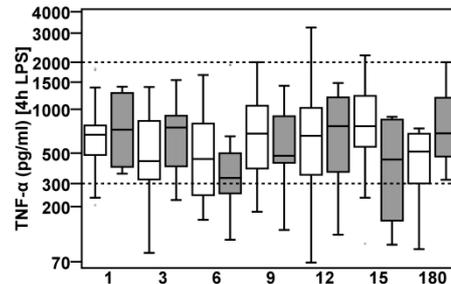


Abb. TNF- α [4h LPS] / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (weiße) vs. mit HAEOP (graue Boxen).
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180
=17/4; 30/10; 30/7; 31/6; 27/6; 24/4; 12/3
Nicht signifikant

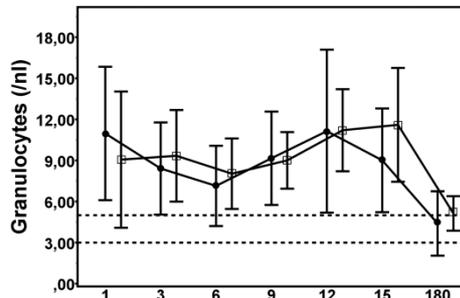


Abb. Granulozyten / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (Kreise) vs. mit (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180 =24/4; 34/9;
36/8; 37/8; 35/5; 28/5 15/3. Nicht signifikant

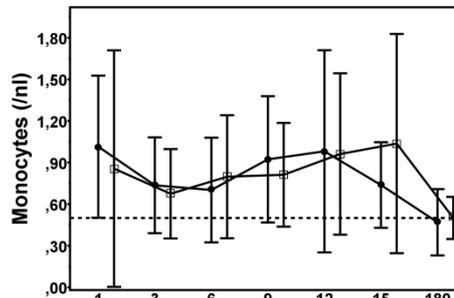


Abb. Monozyten / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (Kreise) vs. mit (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180 =21/5; 35/11;
38/9; 37/8; 36/7; 29/6; 15/4. Nicht signifikant

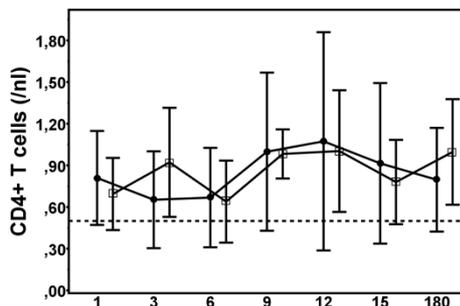


Abb. CD4+ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (Kreise) vs. mit (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180 =21/5; 35/11;
38/8; 35/7; 34/7; 28/6; 16/4. Nicht signifikant

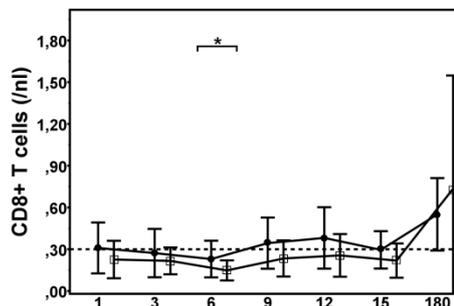


Abb. CD8+ T-Zellen/ Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (Kreise) vs. mit (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180 =21/5; 35/11;
38/9; 38/8; 36/7; 29/6; 14/3. pt6=0.034

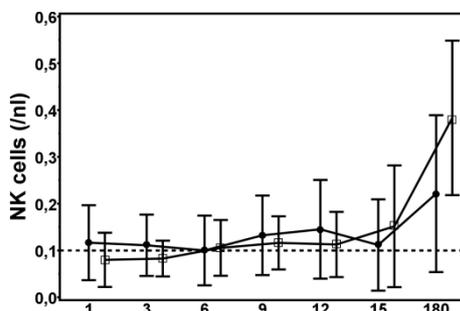


Abb. NK-Zellen / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (Kreise) vs. mit (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180 =21/5; 35/11;
38/9; 37/8; 36/7; 29/6; 13/2. Nicht signifikant

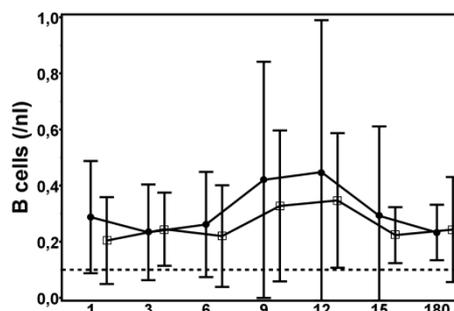


Abb. B-Zellen / Tage nach aSAB
Ohne HAEOP (Kreise) vs. mit (Quadrate). Means \pm SD.
Patienten (n) mit/ohne t1;3;6;9;12;15;180 =21/5; 35/11;
38/9; 37/8; 36/7; 29/6; 14/3. Nicht signifikant

3.3 Schließende Statistik für die klinischen Eigenschaften und Labormarker

3.3.1 Abhängige Variablen / klinische Endpunkt

Die gesammelten klinischen Eigenschaften wurden im Hinblick auf einen potenziellen Zusammenhang mit Infektionskomplikationen untersucht. Die Variablen wurden im ersten Schritt zwischen verschiedenen Patientengruppen ohne und mit Infektionen verglichen. Ziel hierbei war es, die stärksten *klinischen* Prädiktorkandidaten zu ermitteln. Die nachfolgenden Teilanalysen testeten nun die *laborchemischen* Immunmarker und führen abschließend – wo dies möglich ist – beide, *klinische* und *laborchemische* Prädiktorkandidaten, in einem gemeinsamen Modell zusammen.

3.3.2 Receiver-Operating-Charakteristiken (ROC)

Vor der Durchführung von Regressionsanalysen wurden zunächst die Grafiken und MWU-Tests aller Immunmarker-Kandidaten systematisch auf Median- bzw. Verteilungsunterschiede gemustert (vgl. Kapitel 3.2.1ff). Danach wurden ROC-Analysen für jeden einzelnen Laborwert pro Messzeitpunkt berechnet. Grundsätzlich wurden Messungen der Tage 1,3,6 und 9 einbezogen.

Aus den 224 berechneten ROC-Analysen konnten 18 Graphen mit potenziell relevanten Markern für Infektionen identifiziert werden ($p < 0.1$): sieben für die Gesamtheit aller Infektionen, drei für HAP und acht für HAEOP. Hier zeigte sich, dass insbesondere HLA-DR, IL-2, IFN- γ und IL-6 potenziell aussichtsreiche Kandidaten für die nachfolgenden Regressionsmodelle darstellten.

Marker und ermittelter Grenzwert	Sensitivität	Spezifität	pos. (n)	neg. (n)	fehlend (n)	AUC	Std.-Fehler	Untergrenze	Obergrenze	<i>p</i>
HLA-DR Tag 3 $\leq 10722,22$ Ab/cell	0.333	0.353	39	17	10	0.326	0.085	0.159	0.492	0.040
HLA-DR Tag 6 $\leq 10863,50$ Ab/cell	0.350	0.316	40	19	7	0.336	0.081	0.177	0.494	0.043
CD4+ T-Zellen Tag 1 $\leq 47,3$ % der Lymphozyten	0.778	0.500	18	14	34	0.687	0.094	0.502	0.871	0.074
IL-6/IL-10 Tag 3 $> 1,141$ Quotient	0.667	0.500	33	16	17	0.657	0.091	0.478	0.836	0.077
CD19+ B-Zellen Tag 3 $\leq 0,245$ /nl	0.350	0.474	40	19	7	0.341	0.080	0.184	0.497	0.050
CD19+ B-Zellen Tag 6 $\leq 19,6$ % der Lymphozyten	0.375	0.474	40	19	7	0.360	0.079	0.204	0.515	0.084

Tabelle: *Infektionen insgesamt*: positive Befunde der ROC-Analyse mit $p < 0.1$ vor Weiterverwendung

Marker und ermittelter Grenzwert	Sensitivität	Spezifität	pos. (n)	neg. (n)	fehlend (n)	AUC	Std.-Fehler	Untergrenze	Obergrenze	<i>p</i>
HLA-DR Tag 3 $\leq 8436,5$ Ab/cell	0.545	0.280	22	25	19	0.322	0.080	0.166	0.478	0.037
IL-2 Tag 3 $\leq 227,7$ pg/ml	0.625	0.263	8	19	39	0.293	0.101	0.094	0.491	0.094

Tabelle: *HAP-Prädiktoren*: positive Befunde der ROC-Analyse mit $p < 0.1$ vor Weiterverwendung

Marker und ermittelter Grenzwert	Sensitivität	Spezifität	pos. (n)	neg. (n)	fehlend (n)	AUC	Std.-Fehler	Untergrenze	Obergrenze	p
HLA-DR Tag 3 ≤ 8879 Ab/cell	0.455	0.361	11	36	19	0.306	0.095	0.120	0.492	0.053
IFN-γ Tag 1 ≤ 463.85 pg/ml	0.500	0.167	4	24	38	0.104	0.062	0.001	0.226	0.013
IFN-γ Tag 3 ≤ 453.85 pg/ml	0.667	0.235	9	34	23	0.291	0.079	0.136	0.446	0.056
TNF-α (ConA) Tag 1 ≤ 90.08 pg/ml	0.250	0.333	4	24	38	0.172	0.085	0.005	0.339	0.039
TNF-α (ConA) Tag 3 ≤ 74.15 pg/ml	0.556	0.353	9	34	23	0.395	0.099	0.201	0.590	0.339
CD3+ T-Zellen Tag 3 ≤ 0,99 /nl	0.727	0.571	11	35	20	0.635	0.092	0.454	0.816	0.181
CD4+ T-Zellen Tag 3 ≤ 0,77 /nl	0.727	0.714	11	35	20	0.694	0.094	0.510	0.877	0.055

Tabelle: HAEOP-Prädiktoren: positive Befunde der ROC-Analyse mit $p < 0.1$ vor Weiterverwendung

3.3.3 Regressionsmodelle für Infektionen über alle Infektionsarten

Zur Entwicklung eines mehrfaktoriellen Regressionsmodells für Infektionen im Verlauf des Monitorings, wurden die klinischen und laborchemischen Parameter verwendet, die zuvor in den Kreuztabellen bzw. im univariaten Vergleich und den ROC-Analysen als Kandidaten eingegrenzt worden waren. Einbezogen wurden n=56 Fälle, um Prädiktoren für eine im Verlauf aufgetretene Infektion zu identifizieren. Insgesamt fehlten n=10 (15.1%) Messergebnisse der HLA-DR-Expression und n=7 (10.6%) Messergebnisse für Zellen. Als Startparameter für ein multiples Modell wurden das Patientenalter, der Aneurysmadurchmesser (mm), der WFNS-Grad, der initiale GCS-Score, das Vorhandensein ventrikulären Blutes, das Vorkommen eines AFND bzw. einer DCI, coiling vs. clipping und das Vorkommen einer ICP-Erhöhung einbezogen; außerdem die Messergebnisse von HLA-DR und CD19+ Zellen, jeweils vom Tag 3 und Tag 6. Wegen >25% fehlender Messergebnisse wurden andere Laborparameter bei der Analyse für alle Infektionsarten nicht eingeschlossen. Nach einer likelihood-ratio-gesteuerten Rückwärtsselektion enthielt das Modell nur noch DCI als Prädiktor. Wurde DCI dagegen aus den Startparametern entfernt, so verblieben nur die HLA-DR-Messergebnisse vom Tag 3 im Modell ($p=0.017$).

unabhängiger Prädiktor für Infektionen (insgesamt)	B	Standardfehler	Wald	df	p	Odds ratio
HLA-DR Tag 3 (je 10^3 Ak/Zelle)	-0.033	0.015	4.960	1	0.026	0.927
Konstante	0.544	0.744	0.536	1	0.464	1.724

Tabelle: Regressionsergebnis für die HLA-DR-Expression am Tag 3 und Infektionen (insgesamt).

Da die HLA-DR-Expression auf je 10^3 Ak/Zelle bezogen ist, geht jede Erhöhung um 1000 Ak/Zelle mit einer Abnahme des Infektionsrisikos um 7.8% ($1/0.927$) einher. Die Spannweite zwischen der gemessenen 25%-Perzentile (6909 Ak/Zelle) und 75%-Perzentile (14151 Ak/Zelle) betrug ~7 Tausenderschritte der Antikörpermessung. Unter der rein hypothetischen Annahme ei-

ner Linearität des Risikoanstiegs ergäbe dies für Patienten mit einer HLA-DR-Expression der 75%-Perzentile, also höheren Messergebnissen, eine Reduktion ihres Infektionsrisikos auf 58.8% (0.927^7) des Infektionsrisikos von Patienten mit einer HLA-DR-Expression der 25%-Perzentile, also niedrigeren Messergebnissen. Zwar besitzt das Modell eine sehr gute Sensitivität (0.946), jedoch ist die Spezifität (0.188) gering. Selbst, wenn hierbei falsch-positive Befunde aufgrund der Verteilung von Infizierten gegenüber den Nicht-Infizierten stärker ins Gewicht fallen (positiver prädiktiver Wert: 0.729; negativer prädiktiver Wert: 0.6), ist das Modell mit HLA-DR als alleinigem Prädiktor nicht akzeptabel. Dieses erste Modell erklärt das Auftreten von Infektionen nicht gut, denn Nagelkerkes R^2 (0.143) ist deutlich kleiner als 0.5. Um das Modell im nächsten Schritt zu verbessern, wurde der Median der HLA-DR-Expression am Tag 3 als Cutoff verwendet. Hierdurch entstanden zwei Patientengruppen: mit *niedriger* (≤ 9740 Ak/Zelle) bzw. mit *höherer* HLA-DR-Expression (> 9741 Ak/Zelle). Bereits die Schätzung ergab für die Niedrig-HLA-DR-Gruppe ein signifikant höheres Risiko, zur Gruppe der Infizierten zu gehören (OR 3.938; 95% CI 1.068-14.523; $p=0.033$). Nun wurden DCI und die klinischen Eigenschaften des anfänglichen Modells erneut in die Modellbildung einbezogen. Nach 9 Schritten einer likelihood-gesteuerten Rückwärtsselektion verblieben nun zwei Parameter im gültigen Modell:

Prädiktoren im Modell für Infektionen (insgesamt)	B	Standardfehler	Wald	df	p	Odds ratio
HLA-DR _{Tag3} ≤ 9740 Ak/Zelle	1.361	0.692	3.872	1	0.049	3.902
mit Delayed Cerebral Ischemia (DCI)	1.361	0.692	3.872	1	0.049	3.902
Konstante	-0.255	0.474	0.290	1	0.590	0.775

Tabelle: Mehrfaktorielles Regressionsmodell für Infektionen (insgesamt) im Monitoring-Zeitraum

Auf den ersten Blick überraschen die identischen Odds-Ratios beider Parameter. Diese Übereinstimmung ist jedoch kein Modellfehler, sondern erklärt sich aus der Verteilung. Betrachtet wurden $n=56$ Patienten (davon $n=28$ mit niedriger und $n=28$ mit höherer HLA-DR-Expression gemäß Cutoff am Median; $n=10$ Messergebnisse fehlten). Von den betrachteten Personen wiesen $n=26$ eine DCI auf, während bei $n=30$ keine DCI vorkam. Die Niedrig-HLA-Gruppe hatte identische Anteile an Patienten mit/ohne DCI (je $n=14$; 50%). Zwischen der DCI- und der Niedrig-HLA-Gruppe konnte im Kreuzvergleich folgerichtig auch keine Bindung nachgewiesen werden (zweiseitige Signifikanz nach Fisher $p=0.789$). In der univariaten Analyse zeigten DCI und Non-DCI-Patienten bis einschließlich Tag 3 auch noch keine unterschiedlichen Mediane ($p=0.243$); erst ab Tag 4 traten verzögerte Infarkte auf und erst ab dem darauf folgenden Messtermin (Tag 6) unterschieden sich die Ergebnisse von DCI- und Nicht-DCI-Patienten signifikant. Im Hosmer-Lemeshow-Test auf Unterschiede zwischen den erwarteten und tatsächlichen Infektionen war der Unterschied nicht signifikant ($\chi^2 = 9.104$; $p=0.334$), was einer moderaten Modellanpassung entspricht. Das er-

weitere Modell erklärt ein Auftreten von Infektionen besser als die HLA-DR-Expression_{Tag3} alleine (Nagelkerkes $R^2 = 0.310$). Die Sensitivität (0.811) hat sich im Vergleich zum ersten Modell mit der HLA-DR-Expression_{Tag3} als alleinigem Prädiktor zwar etwas verschlechtert, dafür zeigt das Modell eine bessere Spezifität (0.563). Auch der positive prädiktive Wert hat sich verbessert (0.811), während der negative prädiktive Wert vergleichbar erscheint (0.563). Die Trefferquote des Modells (0.736) übertrifft die reine Zufallstrefferquote (0.578).

3.3.4 Regressionsmodelle für vor der 72. Stunde aufgetretene Infektionen

Für die $n=14$ Fälle mit Frühinfektionen konnte im univariaten Vergleich ein signifikanter Gruppenunterschied der IFN- γ -Sekretion am Tag 3 gefunden werden. Gemessen wurden bei Patienten ohne Frühinfektion 714.9 [453.8; 994.9] pg/ml gegenüber 354.3 [181.3; 574.0] (Median [25%; 75%-Perzentile]) pg/ml bei Patienten mit Frühinfektion ($p=0.004$).

unabhängiger Prädiktor für Infektionen vor der 72. Stunde	B	Standard-fehler	Wald	df	p	Odds ratio
IFN- γ (je 10 pg/ml) am Tag 3	-0.033	0.015	4.960	1	0.026	0.968
Konstante	0.544	0.744	0.536	1	0.464	1.724

Tabelle: Regressionsergebnis für IFN- γ am Tag 3 und Infektionen vor der 72. Stunde

In der Regressionsanalyse geht eine Erhöhung der IFN- γ -Sekretion um 10 pg/ml einher mit einem um 3.3% (1/OR 0.968) vermindertem Chancenverhältnis für das Vorliegen einer Frühinfektion. Nagelkerkes $R^2 = 0.249$. Die Spezifität (0.919) ist gut, aber die Sensitivität (0.1) genügt nicht. Um die Diskrimination zu verbessern, wurde IFN- γ_{Tag3} nach ROC-Analyse (AUC 0.233; 95% CI 0.085-0.382; $p=0.008$) mittels des Grenzwertes von ≤ 602 pg/ml dichotomisiert in $n=24$ niedrigere vs. $n=27$ höhere Messergebnisse; $n=15$ Werte fehlten. Für Patienten mit IFN- $\gamma_{\text{Tag3}} \leq 602$ pg/ml ergibt sich ein ungünstigeres Chancenverhältnis, eine Frühinfektionen zu entwickeln (OR 7.392; 95% CI 1.392-39.273; $p=0.012$). Sensitivität: 0.818; Spezifität: 0.622; positiver prädiktiver Wert: 0.391; negativer prädiktiver Wert: 0.920; Trefferquote: 0.667.

Auch für Patienten mit AFND ergibt die Risikoschätzung ein ungünstigeres Chancenverhältnis, eine Frühinfektion zu entwickeln (OR 4.167; 95% CI 1.028-16.884; $p=0.035$). Sensitivität: 0.786; Spezifität: 0.532; positiver prädiktiver Wert: 0.333; negativer prädiktiver Wert: 0.893; Trefferquote: 0.590. Ein Modell mit mehreren Prädiktoren konnte nicht entwickelt werden.

unabhängiger Prädiktor für Infektionen vor der 72. Stunde	B	Standard-fehler	Wald	df	p	Odds ratio
AFND	1.427	0.714	3.996	1	0.046	4.167
Konstante	-2.120	0.611	12.032	1	0.001	0.120

Tabelle: Regressionsergebnis für AFND und Infektionen vor der 72. Stunde

3.3.5 Regressionsmodelle für HAP

Für die Pneumoniefälle, die zweifelsfrei als HAP eingestuft werden konnten, erfolgte die Modellierung einer Regressionsgleichung unter Einbezug folgender Startparameter: *Delayed Cerebral Ischemia (nein/ja)*, *intraventrikuläres Blut (nein/ja)*, *Anzahl Tage mit Beatmung*, $GCS \leq 10$ vs. $GCS \geq 11$, $GCS \leq 12$ vs. $GCS \geq 13$ und *coiling vs. clipping*. Als skalierte Variablen wurden Laborwerte einbezogen, die in der univariaten Analyse mindestens einen Trend aufwiesen: Interleukin (IL)-2, IL-6 und die monozytäre HLA-DR-Expression, jeweils Messwerte vom Tag 3 nach aSAB. Durch Rückwärtsselektion konnten fünf der acht Eingangsvariablen aufgrund ihrer Likelihood-Ratio ausgeschlossen werden, so dass final drei Regressoren im Modell verblieben.

Prädiktoren im Modell für HAP	B	Standardfehler	Wald	df	p	Odds ratio
<i>mit Delayed Cerebral Ischemia</i>	2.507	1.146	4.787	1	0.029	12.267
<i>Tage mit Beatmung (n)</i>	0.370	0.137	7.358	1	0.007	1.448
<i>IL-2 Tag 3 (je 10¹ pg/ml)</i>	-0.15	0.008	3.919	1	0.048	0.860
Konstante	0.842	1.664	0.256	1	0.613	2.321

Tabelle: Mehrfaktorielles Regressionsmodell für im Krankenhaus erworbene Pneumonien.

Für Patienten mit DCI und einer längeren Beatmungsdauern zeigt sich hier eine ausgesprochen ungünstige Odds Ratio, an einer HAP zu erkranken. Ein besseres Chancenverhältnis, keine HAP aufzuweisen, besteht hingegen für Patienten mit höheren *IL-2-Konzentration* im Serum. Hierfür konnte bereits in der ROC-Analyse ein Trend nachgewiesen werden. Jede Zunahme um 10 pg/ml $IL-2_{Tag3}$ senkt das Risiko um 16% (1/OR 0.860). Das Chancenverhältnis, zur Gruppe der HAP-Patienten zu gehören, ist für DCI-Patienten ähnlich (OR 12.267) wie für Patienten, bei denen eine 6.5-tägige Beatmungspflicht bestand (1.448^{6.5}). Eine häufig vorkommende initiale Bewusstseinsstörung bei Aufnahme erwies sich dagegen nicht als signifikant prädiktiv für im Krankenhaus erworbene Pneumonien. Ebenfalls ohne Einfluss zeigte sich die Behandlungsart.

Im Hosmer-Lemeshow-Test finden sich nur wenige Unterschiede zwischen dem erwarteten und dem beobachteten Auftreten einer HAP; dies zeigt eine hohe Modellanpassung. Die Nullhypothese war erwartungskonform nicht signifikant ($p=0.816$). Der Log-Likelihood-Wert des Modells beträgt 27.946. Nagelkerkes R^2 zeigt, dass ein Hauptteil (63.2%) der Varianz der Pneumonien durch das Modell erklärt werden kann. Das Modell weist eine gute Sensitivität (0.882) und besitzt ebenfalls eine gute Spezifität auf (0.857). Negativer prädiktiver Wert: 0.900; positiver prädiktiver Wert: 0.833. Die Trefferquote insgesamt liegt bei 0.868, was gegenüber der reinen Zufallstrefferquote von 0.503 eine deutliche Verbesserung darstellt.

Qualitativ ähnliche Ergebnisse ergab die testweise Prüfung eines alternativen Modells, in das sämtliche Pneumoniefälle (n=23 HAP und n=5 non-HAP) eingeschlossen wurden – also auch solche, die bereits vor der 48. Stunde nach Aufnahme auftraten. Als prädiktiv für das Auftreten einer *Pneumonie* erwiesen sich die gleichen Variablen, die schon im Regressionsmodell für HAP vorkamen, nämlich wieder die Zugehörigkeit zur Gruppe mit DCI (OR 12.037; p=0.029), die Anzahl Tage mit Beatmung (n) (OR 1.480; p=0.004). Die Sensitivität (0.917) und Spezifität (0.842) sind dem Modell für HAP vergleichbar. Ähnlich wie im HAP-Modell geht für die Patienten jede Zunahme der IL-2-Sekretion am Tag 3 um 10 pg/ml mit einem um 17% verminderten Chancenverhältnis (1/OR 0.850) einher, an einer Pneumonie zu erkranken. (p=0.033).

3.3.6 Regressionsmodelle für HAEOP

Unter Einbezug der Marker, die in der univariaten Analyse aufgefallen waren (p < 0.1), ließen sich im ersten Schritt nur Modelle mit ungenügenden Güteigenschaften finden. Zur Verbesserung der Diskrimination wurden die IFN- γ -Sekretion_{Tag3} und die HLA-DR-Expression_{Tag3} wieder anhand der Grenzwerte (vgl. Kapitel 3.3.3f) in „niedrige“ vs. „höhere“ Messwerte dichotomisiert:

- a) wie bei Infektionen insgesamt (vgl. Kapitel 3.3.3), erwies sich eine HLA-DR-Expression_{Tag3} \leq 9740 Ak/Zelle als unabhängiger Prädiktor für das Auftreten einer HAEOP (OR 7.071; 95% CI 1.328-37.651; p=0.015). Sensitivität: 0.818; Spezifität: 0.611; positiver prädiktiver Wert: 0.391; negativer prädiktiver Wert: 0.917; Trefferquote: 0.666.
- b) außerdem zeigte sich bei Patienten mit niedrigem IFN- γ _{Tag3} \leq 602 pg/ml – wie für Frühinfektionen (vgl. Kapitel 3.3.4) – ein ungünstigeres Chancenverhältnis, eine HAEOP zu entwickeln (OR 6.417; 95% CI 1.147-35.895; p=0.028); Sensitivität: 0.778; Spezifität: 0.647; positiver prädiktiver Wert: 0.368; negativer prädiktiver Wert: 0.917; Trefferquote: 0.647.

Ein erweitertes Modell mit mehreren Variablen ergab sich nicht. Der Einbezug weiterer Parameter, insbesondere AFND (ohne/mit) bzw. WFNS-Grad (low/high), verfehlte die Signifikanz.

3.4 Outcome nach aSAB

Die Medianüberlebenszeit für die Gesamtheit der Untersuchten betrug 183 [7; 15] Tage (Median [25%; 75% Perzentile]). Minimal wurde der vierte Tag nach aSAB-Onset erreicht. Als längste bekannte Überlebensdauer wurde Tag 371 erfasst. Zweiundzwanzig (36.6%) der sechzig Patienten mit bekanntem Outcome verstarben, jedoch konnten in dieser Studie gesicherte Todesursachen nur gelegentlich erfasst werden. Zur Analyse eines potenziellen Zusammenhangs von Immundepression und Komplikationen mit der Letalität wurden Kaplan-Meier-Analysen berechnet.

3.4.1 HLA-DR-Immundeprimierung und Letalität nach aSAB – Kaplan-Meier-Analyse

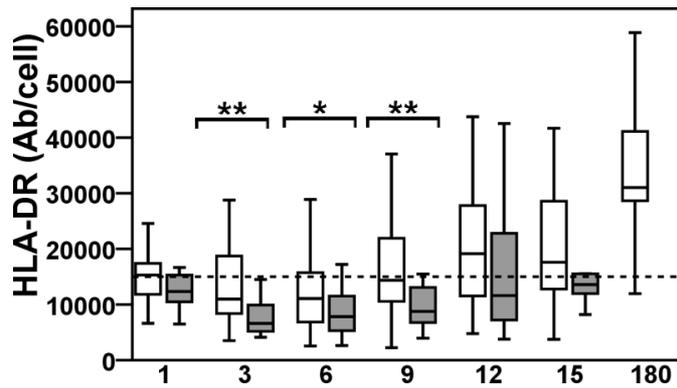


Abb: HLA-DR / Tage nach aSAB: überlebende (weiße) vs. vor dem Tag 180 verstorbene Patienten (graue Boxen). Messwerte (n): Überlebende/Verstorbene_{t1,3,6,9,12,15,180}: 24/6; 38/18; 43/16; 42/14; 42/12; 35/9; 25/0. $p_{13}=0.003$; $p_{16}=0.041$; $p_{19}=0.009$

Der Vergleich der HLA-DR-Messergebnisse von Patienten, die mindestens 180 Tage überlebten und solchen von Patienten, die vorher verstarben, ergab signifikante Unterschiede. Im Median zeigten Monozyten der vor Tag 180 Verstorbenen an den Tagen 3, 6 und 9 eine signifikant niedrigere HLA-DR-Expression. Um zu prüfen, ob umgekehrt eine niedrige HLA-DR-Expression

auch mit einer kürzeren Überlebenszeit einhergeht, mussten die HLA-DR-Messwerte dichotomisiert werden. Hierzu wurde die in der Literatur angegebene Grenze zur schweren Immundeprimierung (≤ 10000 Antikörper pro Monozyt) (Döcke et al. 2005; Harms et al. 2008; Kopp et al. 2013) als Trennwert gewählt und als Klassifikationsmerkmal in der Kaplan-Meier-Analyse verwendet. Betrachtet wurden Sterbeereignisse zwischen Tag 4 und Tag 180.

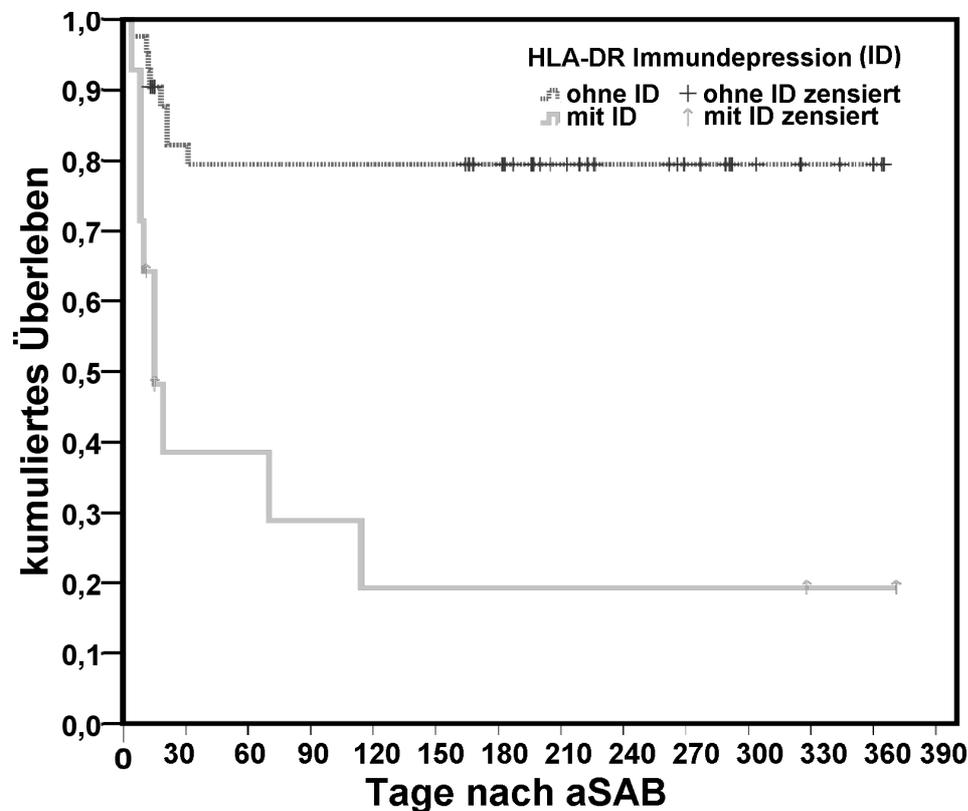


Abb. kumuliertes Überleben in Abhängigkeit von einer HLA-DR-Immundeprimierung am Tag 3 (ID)

Die Messergebnisse der HLA-DR-Expression vom Tag 3 bei n=38 Überlebenden lagen im Median [25%; 75% Perzentile] bei 10988 [8362; 18731] Ak/Zelle und bei den n=18 Verstorbenen bei 6594 [5152; 10155] Ak/Zelle; p=0.003. Insgesamt n=10 HLA-DR-Messwerte fehlten, n=14 Fälle (21.1%) erfüllten die Definition einer schweren Immundepression am Tag 3 (ID) und n=42 Fälle (63.6%) wiesen keine ID auf.

In der Kaplan-Meier-Analyse (KMA) stabilisierte sich bei den Patienten ohne ID (n=42) die Zahl der Sterbefälle bis zum Tag 31 bei acht (19%) kumulierten Ereignissen. Dagegen verstarben in der wesentlich kleineren Gruppe mit Immundepression (n=14) sogar zehn Patienten (71.4%). Der Gruppenunterschied erwies sich im Log Rank-Test als sehr groß ($\chi^2 = 19.0$) und hoch signifikant ($p < 0.001$). Die Überlebenszeiten für Patienten ohne ID lagen im Median bei 196.5 [20.25; 271] Tagen [25%; 75% Perzentile], während in der Gruppe mit ID im Median nur 15 [8; 81] Tage [25%; 75% Perzentile] erreicht wurden. Eine HLA-DR-Immundepression am Tag 3 zeigt sich demnach in der KMA direkt mit höherer Sterblichkeit verbunden.

Bezüglich des ungünstigen Chancenverhältnis, vor dem 180. Tag zu versterben, lassen sich für Patienten mit Immundepression am Tag 3 folgende Ergebnisse zusammenfassen: OR 10.625; 95% CI 2.641-42.743; p=0.001; Sensitivität: 0.556; Spezifität: 0.895; positiver prädiktiver Wert: 0.714; negativer prädiktiver Wert: 0.810; Trefferquote insgesamt: 0.786 gegenüber einer unterstellten Zufallstrefferquote von 0.589.

3.4.2 Infektionen und Letalität nach aSAB – Kaplan-Meier-Analyse

Bei den n=42 Patienten *ohne* HAEOP mit gültigem Outcome stabilisiert sich zum 114. Tag die Zahl der Sterbefälle auf zehn kumulative Ereignisse (23.8%). Hingegen verstarben von den n=12 gültigen Patienten *mit* HAEOP sieben Patienten (58.3%) bis zum 31. Tag. Für die Gruppe *mit* HAEOP ergibt die KM-Schätzung eine Median-Überlebenszeit von 15 [8] Tagen [75% Perzentile] bei einem Standardfehler von 15.5 Tagen; eine 25% Perzentile kann nicht ermittelt werden.

Für die Gruppe *ohne* HAEOP beträgt die reale Median-Überlebenszeit 196 Tage; die geschätzte Überlebenszeit 114 Tage [75% Perzentile]. Im Mantel-Cox Log-Rank-Test erweist sich der Unterschied der Überlebensverteilungen als ausgeprägt ($\chi^2 = 5.474$) und signifikant ($p = 0.019$).

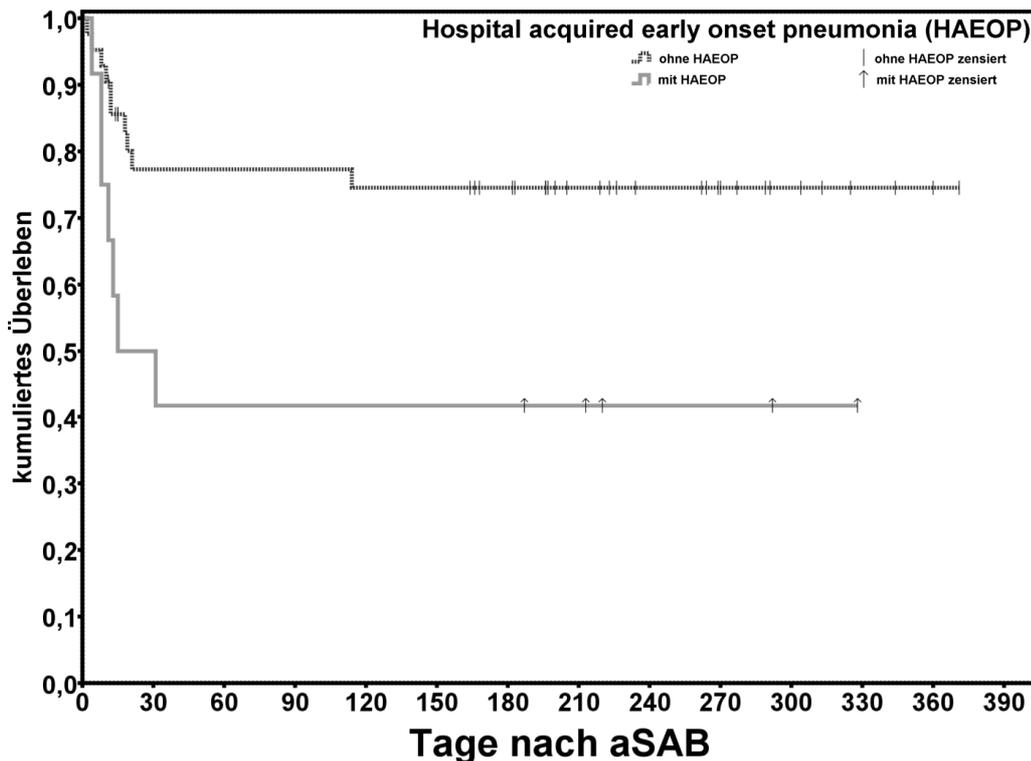


Abb: kumuliertes Überleben von Patienten ohne/ mit HAEOP

Somit darf ein Zusammenhang von HAEOP mit höherer Letalität nach aSAB angenommen werden. Für HAEOP kann die folgende Risikoschätzung für eine Zugehörigkeit zur Gruppe der bis zum Tag 180 Verstorbener angegeben werden: OR 5.4 (95% CI 1.309-22.257); $p=0.021$. Beim Vergleich von Patienten *ohne/mit Infektionen* bzw. *ohne/mit HAP* ließ sich kein solcher Gruppenunterschied nachweisen. Der Vergleich von Patienten *ohne/mit Frühinfektion vor der 72. Stunde* verfehlte ebenfalls die Signifikanz.

Mitgeteilt werden muss auch die Kaplan-Meier-Analyse für akute neurologische Defizite (AFND): bei den 28 Patienten *ohne AFND* und gültigem Outcome stabilisiert sich zum 114. Tag die Zahl der Sterbefälle auf vier kumulative Ereignisse (14.2%); Median-Überlebenszeit 224.5 [168.75; 291.75] Tagen [25; 75% Perzentile]. Dagegen verstarben in der Gruppe mit AFND $n=22$ (57.8%) von 38 gültigen Patienten bis zum 70. Tag bei einer geschätzten Median-Überlebenszeit von 21 [11.75; 201.0] Tagen [25; 75% Perzentile] und einem Standardfehler von 20 Tagen. Die Überlebensverteilungen unterschieden sich deutlich: $\chi^2=7.530$; $p=0.006$.

Ein akutes neurologisches Defizit geht demnach mit einer höheren Letalität nach aSAB einher. Für das Sterberisiko des ersten halben Jahres ergibt sich für Patienten mit AFND folgende Risikoschätzung: OR 4.857 (95% CI 1.410-16.728; $p=0.008$); Sensitivität: 0.810; Spezifität: 0.533; negativer prädiktiver Wert: 0.857; positiver prädiktiver Wert: 0.447.

3.4.3 Infektionen und Morbidität

Beim Follow-Up wurde bei n=60 Patienten das *Outcome* in der achtstufigen erweiterte Glasgow Outcome-Scale (EGOS, engl. GOSE, GOS-E) (Wilson et al. 1998) erfasst. Die Ergebnisse wurden dichotomisiert in niedriges Outcome; („*poor outcome*“) (EGOS 1-4: Tod, Wachkoma, schwere und schwerere Behinderung) vs. besseres Outcome („*favorable outcome*“) (EGOS 5-8: moderate Behinderung bis hin zur vollen Genesung). Nach dieser Definition erreichten n=38 (66.3%) der Gesamtpatienten ein *poor outcome*. Mit Hilfe einer Kreuztabelle wurde nun die Zugehörigkeit zur Gruppe mit niedrigem bzw. besserem *Outcome* für Patienten *ohne/mit* HAEOP verglichen. Um Störeffekte durch nicht-früh aufgetretene HAP-Fälle auszuschließen, wurden n=12 Patienten mit HAEOP gegenüber n=31 Patienten verglichen, die *nach* dem Onset-Zeitraum einer HAEOP (48-96. Stunde) *nicht* an einer Pneumonie erkrankt waren. Die Berechnung ergab

		HAEOP		Σ (n)
		ohne (n)	mit (n)	
EGOS	1-4 (<i>poor</i>)	15	10	25
	5-8 (<i>favorable</i>)	16	2	18
Gesamtsumme		31	12	43

für Patienten *mit HAEOP* ein ungünstigeres Chancenverhältnis, zur Gruppe mit besserem *Outcome* zu gehören (OR: 3.6; 95% CI 0.895-14.483; $p=0.038$).

Tabelle: EGOS-Outcome für Patienten ohne/mit einer im Krankenhaus erworbener Pneumonie

Nicht nachweisen ließ sich ein solcher Zusammenhang mit dem Outcome für andere Infektionsgruppen: so erbrachte der Vergleich von Fällen *ohne/mit* HAP ($p=0.090$) sowie *ohne/mit Infektionen* ($p=0.059$) lediglich einen Trend, jedoch keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Zugehörigkeit zu einer der beiden Outcome-Gruppen.

3.5 Multivariate Analysen

In den vorangegangenen Teilanalysen erwies sich eine niedrige HLA-DR-Expression am Tag 3 als geeigneter Prädiktor für Infektionen. Niedriges HLA-DR am Tag 3 zeigte auch eine direkte Assoziation mit früher Sterblichkeit. Als bester Marker zur Vorhersage einer HAP hatte sich eine niedrige IL-2-Stimulierbarkeit am dritten Tag herausgestellt. Eine hohe IFN- γ -Stimulierbarkeit am dritten Tag erwies sich, mit Einschränkungen, als prädiktiv für das Nichtauftreten von HAEOP und auch von Frühinfektionen vor der 72. Stunde. Während mit Hilfe der ROC-Berechnungen und Regressionsanalysen zunächst die Vorhersage der Endpunkte durch Prädiktoren untersucht wurde, lässt sich mittels Varianzanalyse berechnen, welchen Einfluss einzelne klinische Eigenschaften ihrerseits auf die Varianz der Prädiktoren haben. Um Messwiederholungen (Tag 1, 3, 6 und 9) mit in die Berechnungen einbeziehen zu können, wurde hierzu das Verfahren der *Multiplen Analyse der Varianz* (MANOVA) eingesetzt.

Für jede Zytokin-Messwertserie (Messwiederholung, *repeated measurement*) wurden multivariate Analysen über die dichotomisierten klinische Einflussgrößen berechnet. Als Maß für die Effektgröße wurde η^2 (Eta-Quadrat) bestimmt, das den Prozentsatz der Varianzaufklärung auf Stichprobenebene anzeigt; zur Anwendung kam der Pillai-Spur-Test. Als *Innersubjektfaktor* wurde die „Zeit“ (Messwiederholungen) untersucht. Ziel ist es, die Varianz von Messung zu Messung beim gleichen Patienten in Abhängigkeit von den relevanten klinischen Einflussgrößen zu erkennen. Für jede laborchemische Variable wurden Berechnungen mit drei Messwerten vorgenommen: Tag 3, 6 und 9. Analysen mit mehr als drei Messwiederholungen ergaben keine gültigen Ergebnisse. Als *Zwischensubjektfaktoren*, also Gruppenunterschiede zwischen den Patienten, wurden sukzessiv folgenden Dichotomien einbezogen: WFNS-Grad (niedrig/hoch), AFND (ohne/mit), DCI (ohne/mit), erhöhter ICP während des Monitorings (ohne/mit), ICP bis zur 72. Stunde (ohne/mit), Ventrikelblutung (ohne/mit) sowie Coiling vs. Clipping. Ferner wurde ergebnislos versucht, Varianzanalysen mit den folgenden Variablen als *Zwischensubjektfaktoren* berechnen: Geschlecht (weiblich/männlich), dichotomisierte Altersperzentilen (unter/über der Perzentilengrenze), dichotomisierte GCS-Grade, den Aneurysmadurchmesser (klein/groß), Meningismus bei Aufnahme (ohne/mit), Rauchen in der Vorgeschichte (ohne/mit), Alkohol in der Vorgeschichte (ohne/mit) und Zweitblutung im Monitoringzeitraum (ohne/mit).

3.5.1 Ergebnisse der Varianzanalysen für monozytäres HLA-DR

In der MANOVA *mit Messwiederholung* für HLA-DR am Tag 3, 6 und 9 erwies sich die Varianz für die symptomatischen Gruppen *highWFNS*AFND* bzw. für *AFND*DCI* über die Zeit im Vergleich zur Kontrollgruppe im Pillai-Spur-Test durchgängig als unterschiedlich.

Effekt	Partielles η^2	F	df	Fehler df	<i>p</i>
Zeit	0.062	1.326 ^b	2	40	0.277
Zeit *AFND* WFNS low/high	0.255	6.838 ^b	2	40	0.003
Zeit *AFND * DCI	0.169	4.073 ^b	2	40	0.025
Zeit * DCI * WFNS low/ high	0.132	3.038 ^b	2	40	0.059

Tabelle: multivariate Analyse (Pillai-Spur-Test) für HLA-DR (Tag 3, 6, 9) mit drei Faktoren; b: exakte Statistik

Die *Innersubjektvarianz* der HLA-DR-Expression wird durch den Zeitverlauf alleine nicht erklärt. Dies bedeutet zunächst, dass sich die monozytäre Immunität beim einzelnen Patienten zwischen den Messzeitpunkten wenig ändert; Da sich hierin aber symptomatische Patienten (AFND*WFNS-Grad; part. $\eta^2=0.10$; $p=0.018$) von der Kontrollgruppe unterscheiden, lässt sich schließen: die beobachtete *Persistenz* niedriger HLA-Werte über die Zeit wird z.T. bereits durch *frühe bzw. initiale Schäden* erklärt. Hier liefert DCI, DCI*WFNS keine Erklärung ($p=0.085$).

Quelle	Partielles η^2	F	df	Mittelwert ²	p
Konstanter Term	0.759	128.882	1	19419919004.905	< 0.001
DCI mit/ohne	0.294	17.065	1	2571344472.628	< 0.001
AFND mit/ohne	0.194	9.885	1	1489463742.870	0.003
DCI * AFND	0.126	5.911	1	890689076.827	0.020
WFNS low/high	0.011	0.435	1	65599338.325	0.513
DCI * WFNS low/high	0.061	2.661	1	400976396.505	0.110
AFND * WFNS low/high	0.062	2.728	1	411034235.293	0.106
Fehler			41	150679712.300	

Tabelle: Zwischensubjekteffekte für HLA-DR (Tag 3, 6, 9) – aufgeklärte Varianz. Wiedergabe n.s. Werte gekürzt.

Deutlicher ausgeprägt sind die *Zwischensubjekteffekte*, also Gruppenunterschiede, die über den Durchschnitt der transformierten drei Messzeitpunkte verglichen wurden. Das Auftreten bzw. Ausbleiben einer DCI erklärt 29.4% der HLA-DR-Varianz, während das Vorkommen bzw. Fehlen eines AFND einen Varianzanteil von 19.4% aufklärt. In Kombination mit den univariaten Befunden, lässt sich daraus schließen, dass niedrige HLA-DR-Werte bei mehrfacher Messung mit dem Vorkommen von AFND, DCI und AFND*DCI assoziiert sind.

3.5.2 Ergebnisse der Varianzanalysen für IFN- γ

Effekt	Partielles η^2	F	df	Fehler df	p
Zeit	0.064	0.578 ^b	2	17	0.572
Zeit * Clipping	0.115	1.106 ^b	2	17	0.354
Zeit * WFNS low/high	0.075	0.692 ^b	2	17	0.514
Zeit * DCI	0.168	1.718 ^b	2	17	0.209
Zeit * AFND	0.120	1.156 ^b	2	17	0.338
Zeit * Ventrikelblutung	0.059	0.532 ^b	2	17	0.597
Zeit * ICP \uparrow	0.665	16.886 ^b	2	17	< 0.001
Zeit * Clipping * DCI	0.036	0.313 ^b	2	17	0.735
Zeit * Clipping * ICP \uparrow	0.041	0.364 ^b	2	17	0.700
Zeit * DCI * Ventrikelblutung	0.236	2.628 ^b	2	17	0.101
Zeit * DCI * ICP \uparrow	0.168	1.717 ^b	2	17	0.209
Zeit * Ventrikelblutung* ICP \uparrow	0.352	4.619 ^b	2	17	0.025

Tabelle: multivariate Analyse für IFN- γ (Tag 3, 6, 9); b: exakte Statistik. Gekürzte Wiedergabe ohne n.s. Werte

Im *Zeitverlauf*, bei wiederholter Messung, wird die Varianz der IFN- γ -Messergebnisse vor allem erklärt durch einen ICP-Anstieg (66.5% Varianzaufklärung) bzw. dessen Kombination mit vorangegangener Ventrikelblutung (35.2% Varianzaufklärung).

Quelle	Partielles η^2	F	df	Mittelwert ²	p
Konstanter Term	0.784	65.152	1	16268981.953	< 0.001
Clipping	0.144	3.039	1	758781.238	0.098
WFNS low/high	0.028	0.523	1	130520.566	0.479
DCI	0.274	6.807	1	1699858.456	0.018
AFND	0.339	9.224	1	2303354.240	0.007
Ventrikelblutung	0.037	0.683	1	170591.795	0.419
ICP \uparrow	0.093	1.837	1	458660.558	0.192
Clipping * DCI	0.016	0.298	1	74311.550	0.592
Clipping * ICP \uparrow	0.020	0.372	1	92953.847	0.549
WFNS low/high * DCI	0.288	7.286	1	1819297.873	0.015
WFNS low/high * AFND	0.355	9.887	1	2468781.742	0.006
WFNS low/high * ICP \uparrow	0.005	0.084	1	20901.441	0.776
Fehler			18	249709.609	

Tabelle: Zwischensubjekteffekte für IFN- γ (Tag 3, 6, 9) – aufgeklärte Varianz. Gekürzte Wiedergabe ohne n.s. Werte

Für den *Gruppenvergleich* über alle drei transformierten Messzeitpunkte lässt sich feststellen, dass bis zu 35.5% der IFN- γ -Varianz sowohl durch eine frühe neurologische Symptomatik (AFND, hoher WFNS-Grad+AFND) als auch durch eine DCI erklärbar sind.

3.5.3 Ergebnisse der Varianzanalysen für Interleukin-6

Im Zeitverlauf steht die Varianz des IL-6 der Tage 3, 6, 9 des IL-6 am ehesten im Zusammenhang mit der Zugehörigkeit zur Patientengruppe, die sich einer Clipping-OP unterzogen haben ($p=0.041$). Ansonsten fanden sich in der multivariaten Analyse keine signifikanten Effekte. Eine Erklärung für die Varianzunterschiede im Gruppenvergleich über alle drei Messzeitpunkte und damit auch für die *höheren* IL-6-Werte bietet nur das Auftreten einer DCI.

Quelle	Partielles η^2	F	df	Mittelwert ²	p
Konstanter Term	0.356	12.703	1	266125.199	0.002
mit Clipping	0.022	0.513	1	10747.757	0.481
WFNS low/high	0.002	0.050	1	1038.520	0.826
DCI	0.177	4.954	1	103780.982	0.036
AFND	0.003	0.074	1	1546.440	0.788
ICP \uparrow	0.084	2.123	1	44465.787	0.159
DCI * ICP \uparrow	0.104	2.680	1	56139.378	0.115
Fehler			23	20949.600	

Tabelle: Zwischensubjekteffekte für IL-6 (Tag 3, 6, 9) – aufgeklärte Varianz. Gekürzte Wiedergabe ohne n.s. Werte

3.5.4 Ergebnisse der Varianzanalysen für Interleukin-2

Bei den Varianzanalysen der Interleukin-2-Messergebnisse, die sich als prädiktiv für Hospital acquired Pneumonia erwiesen hatten, wurden erneut drei Zwischensubjektfaktoren integriert, bei denen zuvor in der univariaten Analyse ein Median- bzw. Verteilungsunterschied gefunden werden konnte: WFNS-Grad (low/high), ICP-Erhöhung (nein/ja), DCI (nein/ja).

Effekt	Partielles η^2	F	df	Fehler df	p
Zeit	0.020	0.330 ^b	2	32	0.722
Zeit * DCI	0.404	10.848 ^b	2	32	< 0.001
Zeit * WFNS low/high	0.029	0.473 ^b	2	32	0.627
Zeit * ICP↑	0.008	0.126 ^b	2	32	0.882
Zeit * DCI* WFNS low/high	0.265	5.773 ^b	2	32	0.007
Zeit * DCI * ICP↑	0.589	22.895 ^b	2	32	< 0.001
Zeit * WFNS low/high * ICP↑	0.074	1.280 ^b	2	32	0.292
Zeit * DCI * WFNS low/high * ICP↑	0.451	13.132 ^b	2	32	< 0.001

Tabelle: multivariate Analyse für IL-2 (Tag 3, 6, 9); b: exakte Statistik. Gekürzte Wiedergabe ohne n.s. Werte

Das Interleukin-2 im Zeitverlauf unterscheidet sich am deutlichsten bei Patienten mit DCI oder einem ICP-Anstieg. Auch in allen anderen Konstellationen mit DCI besteht über die Zeit ein signifikanter Unterschied mit hoher Varianzaufklärung. Dass der initiale Schweregrad – für sich genommen – hier scheinbar nicht viel zur Erklärung beiträgt, kann bedeuten, dass sich die Varianz bei reinem Vergleich über den *einmal feststehenden* Schweregrad nur wenig ändert, während eine DCI bzw. ein ICP-Anstieg mit einer Veränderung der IL-2-Stimulierbarkeit einhergeht.

Quelle	Partielles η^2	F	df	Mittelwert ²	p
Konstanter Term	0.803	134.711	1	4184555.766	0.000
WFNS low/high	0.144	5.568	1	172964.268	0.024
Fehler			33	31063.112	

Tabelle: Zwischensubjekteffekte für IL-2 (Tag 3, 6, 9) – aufgeklärte Varianz. Gekürzte Wiedergabe ohne n.s. Werte

Als einziger signifikanter Gruppenunterschied für die Stimulierbarkeit der Interleukin-2-Sekretion an den Tagen 3, 6 und 9 erwies sich die Einstufung im WFNS-Grading. Der Schweregrad des initialen Schadens erklärt immerhin 14.4% der Varianz der Varianz an den Folgetagen.

4 Diskussion der Ergebnisse

4.1.1 Vergleich der allgemeinen Studiencharakteristiken mit der Pilotstudie

Die vorgelegte Arbeit und die vorausgegangene Pilotstudie (PS) (Sarrafzadeh et al. 2011) sind in ihrer Grundcharakteristik vergleichbar: beiden Studien rekrutierten ihre Teilnehmer in den gleichen Universitätskliniken bei identischen Rahmenbedingungen der neurochirurgisch-intensivmedizinischen Versorgung. Die Analysemethodik der Immundaten war identisch und erfolgte im selben Labor. In der vorgelegten Arbeit kam kein Patient vor, der bereits in der PS eingeschlossen war. Diese Dissertation betrachtete mit n=66 eingeschlossenen Patienten eine dreifach größere Studiengruppe als die PS (n=16). Während in der PS lediglich die ersten zehn Tage nach aSAB untersucht worden waren und Outcomes bis zu einem Jahr vorlagen, wurden hier Laboranalysen bis zum Tag 180 und Outcomes bis zum Tag 371 einbezogen. Als Messzeitpunkte der Laborparameter wurden bei der vorgelegten Studie längere und gleichmäßiger verteilte Intervalle gewählt, während bei der PS engmaschiger – aber nur bis zum Tag 10 gemessen wurde.

Wichtige Unterschiede finden sich beim Vergleich der Schweregradverteilung mit der Pilotstudie: In der vorgelegten Arbeit wurden 18.6% mehr WFNS-high-grade-Patienten eingeschlossen.

WFNS-Grad	Patienten n (%) diese Studie	Patienten n (%) Pilotstudie	Differenz $\geq 10\%$
I	16 (24.2%)	7 (43.75%)	ja
II	11 (16.7%)	1 (6.25%)	ja
III	2 (3.0%)	2 (12.5%)	ja
insgesamt „low grade“	Σ 29 (43.9%)	Σ 10 (63.5%)	ja
IV	18 (27.3%)	2 (12.5%)	ja
V	19 (28.8%)	4 (25.0%)	nein
insgesamt „high grade“	Σ 37 (56.1%)	Σ 6 (37.5%)	ja
gesamt	66 (100.0%)	16 (100.0%)	-

Tabelle: WFNS-Grade in dieser Studie im Vergleich mit der Pilotstudie

Ein Grund hierfür waren Einschlusskriterien, die zu einem gehäuften Einschluss von Patienten mit WFNS-Graden \geq IV (56.1%) geführt haben, was die generelle Übertragbarkeit der Ergebnisse limitiert. Der Anteil an high-grade Patienten korrelierte hoch mit der Prävalenz einer neurologischen Symptomatik ($p < 0.001$).

Letztere lag in der PS bei 56.2%, wobei 31.2% der Patienten eine delayed cerebral ischemia (DCI) entwickelten. Dagegen wurde in der vorgelegten Arbeit bei 45.4% der Patienten eine DCI nachgewiesen. Auch der Anteil von Patienten mit akutem fokal-neurologischen Defizit (AFND) war mit 57.4% höher als in der PS; das Median-Outcome der AFND-Patienten lag bei EGOS-Score 1 (Tod ; 80.9% der Verstorbenen gehörten der AFND-Gruppe an). Infolge eines großen Anteils von WFNS-Graden \geq IV war auch mit einer erhöhten Prävalenz von Komplikationen zu rechnen. Hohe Inzidenzen von Komplikationen, die bei Prädiktorensuche einbezogen wurden, könnten maßgeblich zu ungünstigen prädiktiven Gütekennwerten beigetragen haben.

4.1.2 Immundepression mit verminderter HLA-DR-Expression nach aSAB

Bezogen auf die Mediane der HLA-DR-Expression war bei der Gesamtheit der Studienpatienten vom ersten bis zum neunten Tag nach aSAB eine auffällig niedrige monozytäre HLA-DR-Expression nachweisbar. Über die Tage 3, 6 und 9 wurden summarisch nur 7281 [10785; 16179] Ak/Zelle gemessen (Median [25%; 75%-Perzentile]), während am Follow-up-Zeitpunkt, ein halbes Jahr später 31110 [28567; 41544] Ak/Zelle messbar waren. Dies bedeutet, dass der Monozyten-Besatz mit immunologisch wichtigen Antigen-präsentierenden MHC Klasse-II-Rezeptoren bei den Studienpatienten während der kritischen ersten Phase nach aSAB nur 23.4% des Follow-up-Niveaus erreichte. Dieser Befund liegt klar unterhalb von 30% der als normal betrachteten Referenz des Nachuntersuchungstermins und muss als eindeutig pathologisch vermindert eingestuft werden (vgl. Strohmeyer et al. 2003; Frazier and Hall 2008). Wendet man die Definition für

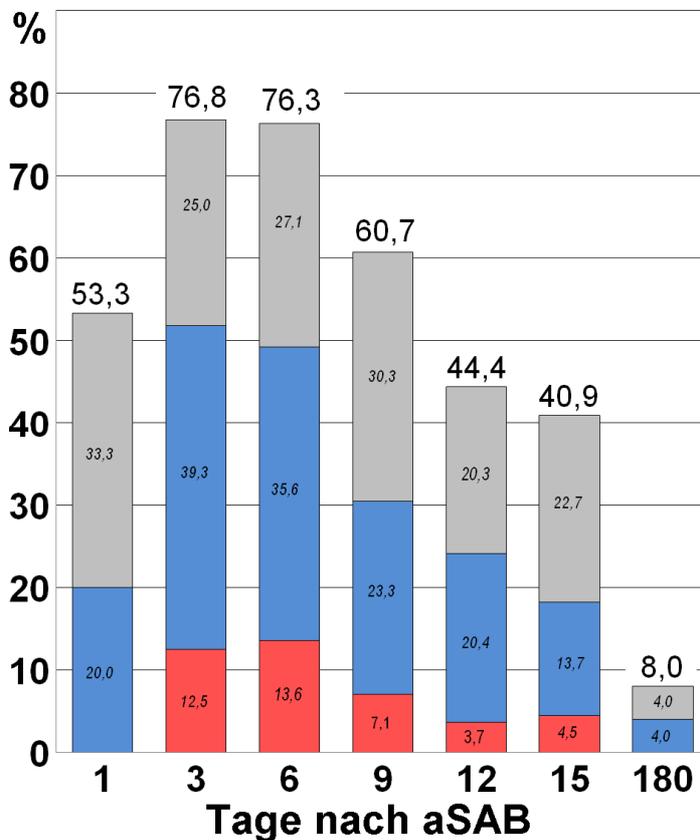


Abb. Patientenanteil (%) mit *moderater Immundepression* (graue Balken: HLA-DR < 15.000 Ak/Zelle), *schwerer Immundepression* (blaue Balken: HLA-DR < 10.000 Ak/Zelle) und *Immunoparalyse* (rote Balken: HLA-DR < 5.000 Ak/Zelle).

eine HLA-DR-Immundefizienz (Döcke et al. 2005; Harms et al. 2008; Kopp et al. 2013) strikt an, dann muss bereits am ersten Tag bei über der Hälfte der Patienten eine *Immundepression* konstatiert werden. Ab dem dritten Tag wird eine mehr-tägige Gipfelzone nachweisbar: hier wiesen sogar mehr als drei Viertel aller Patienten eine pathologische Immunlage auf; darin enthalten sind bis zu 39.3% Patienten mit *schwerer Immundepression* (*borderline immunoparalysis*) und 13.6% Hochrisikopatienten mit *Immunoparalyse*. Bei immerhin 8% der Patienten mit Messungen im Rahmen der Nachuntersuchung war eine verminderte monozytäre HLA-DR-Immunkompetenz feststellbar.

An den Tagen 3, 6 und 9 befanden sich im Mittel 71.6% der Studienpatienten in einer HLA-DR-Immundefizienz, was die Existenz einer Abwehrschwäche bei den aSAB-Patienten dieser Arbeit zweifelsfrei belegt. Die deutlichsten Unterschiede der HLA-DR-Expression fanden sich in der univariaten Analyse beim Vergleich von Patienten mit AFND und/oder DCI mit komplett asymptomatischen Patienten. Während letztere

an allen Messterminen normale Median-HLA-DR-Expressionen aufwiesen, zeigten symptomatische Patienten bis zum Tag 15 stets eine Immundepression. Der Unterschied war an den Tagen 3-15 signifikant. AFND-Patienten zeigten schon am Tag 1 einen signifikant niedrigeren Median der HLA-DR-Expression als Patienten ohne AFND. Dagegen ließ sich bei DCI-Patienten an den Tagen 6-15 eine signifikante Persistenz niedriger HLA-DR-Expressionen nachweisen, während asymptotische Patienten normalisiert erschienen. Studienpatienten mit WFNS-Graden \geq IV, mit AFND, mit DCI, mit AFND+DCI, mit ICP-Erhöhung im Verlauf und mit ICP-Erhöhung vor der 72. Stunde zeigten stets niedrigere HLA-DR-Expressionen an den Tagen 1-15 als ihre jeweilige Kontrollgruppe. Patienten mit WFNS \geq IV wiesen bis zum Tag 15 durchgängig im Median eine Immundepression auf, während bei Patienten mit WFNS \leq III ab Tag 6 im Median Normalwerte vorkamen (signifikante Unterschiede am Tag 6 u. 9). Das Auftreten bzw. Ausbleiben einer DCI erklärt 29.4% der HLA-DR-Varianz, während das Vorkommen bzw. Fehlen eines AFND einen Varianzanteil von 19.4% aufklärt bzw. die Kombination von AFND und DCI 12.6% Varianzaufklärung bietet. Jedoch zeigte sich unerwarteter Weise beim Vergleich von asymptotischen Patienten und Patienten mit reiner DCI (unter Ausschluss der Fälle, die zusätzlich ein AFND aufwiesen), dass bei DCI-Patienten bereits vom Tag 3 an (bis zum Tag 15) persistent immundepressive HLA-DR-Expressionen bestanden, während bei komplett asymptotischen Patienten stets Normalwerte vorlagen. Niedrige HLA-Expressionen am Tag 3 bestanden bei DCI-Patienten bereits vor dem Auftreten einer DCI. In der multivariaten Analyse wurde zusätzlich ersichtlich, dass sich die monozytäre Immunität beim einzelnen Patienten zwischen den Messzeitpunkten allgemein wenig ändert. Da sich hierin Patienten mit/ohne AFND bzw. hohem/niedrigen WFNS-Grad signifikant unterschieden, lässt sich schließen, dass die zeitliche Persistenz niedriger HLA-Werte zum Teil bereits durch *frühe bzw. initial* nach der Blutung auftretende Veränderungen erklärt werden kann. Anders gesagt: die Persistenz niedriger HLA-DR-Expressionen bei DCI kann nicht ausschließlich mit später hinzutretenden Infarkten erklärt werden. Möglicherweise sind noch ungeklärte, am ehesten mit initialen Veränderungen in Verbindung stehende Faktoren gemeinsam an der Entwicklung einer DCI und einer Immundepression beteiligt. AFND und hohe WFNS-Grade, als Ausdruck eines Early brain injury, liefern dazu zwei erste Erklärungsansätze; zudem zeigten sich beide eng korreliert, denn AFND-Patienten der vorliegenden Studie wiesen zu 86.8% auch einen hohen WFNS-Grad auf; $p < 0.0001$. Insgesamt liegt die gefundene Verbreitung eines HLA-DR-Defizits bei aSAB höher als in der Pilotstudie (dort: 67% der Patienten mit Immundepression; n=11 von 16) und übersteigt auch die Verbreitung bei Patienten mit schweren Mediainfarkten, die im Rahmen der PANTHERIS-Studie gemessen wurde: dort zeigten etwa 50% von n=80 Patienten

am Tag 3 eine Immundepression (ID) (Harms et al., 2008). Bei elektiv operierten neurochirurgischen Patienten ist die Verbreitung geringer (17.5% mit Immundepression; n=10 von 57) (Asadullah et al. 1995a). Maximale Inzidenzen einer Immundepression sind bekannt nach großen kardiochirurgischen Operationen: 100% von 22 Bypass-Patienten wiesen eine ID auf (Thiele 2009).

Bei immerhin 5.1% der Patienten der vorgelegten Studie wurden extreme HLA-DR-Expressionen < 4000 Ak/Monozyt gemessen. Hier besteht die Möglichkeit, dass (unkontrolliert) Patienten mit HLA-DR-Gendefekten (Kovats et al. 1995) eingeschlossen wurden. Auch fehlerhaft verarbeitete Proben oder systematische Fehler beim Transport oder der Zwischenlagerung von Blutproben sind denkbare Einflussfaktoren, die falsch niedrige HLA-Expressionen ergeben könnten. Fehlmessungen des Labors wurden mittels Kontrollchargen ausgeschlossen.

Zwar wurde in dieser Arbeit der tiefste Median der HLA-DR-Expression am dritten Tag gemessen 9740 [6909; 14151] Ak/Zelle (Median [25%; 75%-Perzentile]), jedoch kann der exakte Zeitpunkt des Nadirs nicht mit Sicherheit angegeben werden, da zwischen Tag 1 und Tag 6 bedauerlicherweise nur ein einziger Messzeitpunkt definiert war. Vergleiche mit der Pilotstudie und der Arbeit von Urra et al. 2009 legen nahe, dass der Tiefpunkt eher vor dem dritten Tag gelegen haben könnte. Als Limitation muss daher angenommen werden, dass relevante Tiefwerte und der Zeitpunkt des Nadir wahrscheinlich verpasst wurden.

4.1.3 HLA-Immundefizienz und Bedeutung für das Outcome

In der vorliegenden Arbeit konnte nicht nur bewiesen werden, dass HLA-DR bei den meisten untersuchten aSAB-Patienten im Vergleich zur Referenz erniedrigt ist, sondern es konnte auch – nach Kenntnis des Autors erstmalig – gezeigt werden, dass HLA-DR am Tag 3 ein unabhängiger Prädiktor für die Letalität nach aSAB ist. Eine HLA-DR-Immundepression am Tag 3 zeigte sich in der Kaplan-Meier-Analyse direkt mit verkürzter kummulierter Überlebenszeit verbunden. Als Cutoff für HLA-DR wurde hierbei der Wert von ≤ 10000 Ak/Zelle gewählt, der in der Literatur die definitorische Grenze zu einer Immundepression markiert (vgl. Döcke et al. 2005). Für Patienten mit einer Immundepression am Tag 3 konnte ein ausgesprochen ungünstiges Chancenverhältnis gefunden werden, vor dem 180. Tag zu versterben (OR 10.625; 95% CI 2.641-42.743; $p=0.001$; vgl. Kapitel 3.4.1). Aufgrund der niedrigen Sensitivität (0.556) sind für HLA-DR-Expressionen ≤ 10000 viele falsch-negative Prädiktionen zu erwarten. Dies wird durch die hohe Prävalenz niedriger HLA-DR-Expressionen verständlich. Jedoch zeigen die bessere Spezifität des Modells (0.895) und der negative prädiktive Wert (0.810), dass HLA-DR-Expressionen >10000 Ak/Zelle ein Überleben mit mehrheitlich korrekter Klassifikation vorhersagt.

Im Vergleich mit der untersuchten Kohorte zeigen beispielsweise Sepsispatienten eine ganz ähnliche Konstellation: nämlich zumeist niedrige HLA-DR-Expressionen und eine hohe Sterblichkeit; auch bei Sepsispatienten wird die Eignung der HLA-DR-Expression als Prädiktor für das Outcome bezweifelt, weil die Bestimmung von sinnvollen Grenzwerten schwierig ist (Trimmel et al. 2012) (Hynänen et al. 2003). Dies gilt möglicherweise auch für Schlaganfälle. Bei $n=45$ Patienten mit Stroke unterschiedlicher Ätiologie (24% Blutungen und 76% Ischämien) zeigte sich ein schlechtes Outcome zwar mit einer signifikant niedrigeren HLA-DR-Expression an den Tagen 0, 2 und 7 korreliert, jedoch blieben Cutoff-Werte unklar (Urta et al. 2009). Ebenfalls bekannt ist, dass große Infarkt volumina mit niedrigen HLA-DR-Expressionen am Tag 1 und Tag 4 korrelieren (vgl. Hug et al. 2009).

Auch in der vorgelegten Arbeit fanden sich signifikant niedrigere HLA-DR-Expression besonders bei aSAB-Patienten mit Infarkten (DCI, AFND). Eine Begründung, weshalb eine am Tag 3 nachgewiesene Immundepression mit einer höheren Sterblichkeit einhergeht, könnte demnach ganz einfach darin bestehen, dass sich bei Patienten mit höherer HLA-DR-Expression weniger Infarkte finden. Hierbei wären Infektionen, die durch niedriges $HLA-DR_{Tag3}$ begünstigt werden, als Erklärungsansatz für einen Zusammenhang von $HLA-DR_{Tag3}$ und Sterblichkeit nicht zwingend notwendig. Ob $HLA-DR_{Tag3}$ tatsächlich ein geeigneter Prädiktor für das Outcome ist oder ob die Ergebnisse eher als Artefakt des allgemein häufigen Vorkommens einer Immundepression und der hohen aSAB-Letalität in der untersuchten Kohorte aufzufassen ist, bedarf einer Wiederholung mit größerer Fallzahl und natürlicherer Schweregradverteilung. In einer Kohorte mit höherem Anteil an niedrigen WFNS-Graden sind weniger Sterbefälle zu erwarten (vgl. Rosen und Macdonald 2005), was für den Prädiktor $Immundepression_{Tag3}$ zu einer Verbesserung des negativen prädiktiven Wertes führen könnte.

Ähnlich wie bei Urta et al. 2009 an Stroke-Patienten beobachtet, fand sich auch in der vorgelegten Studie am Follow-up-Termin im Median eine normale HLA-DR-Expression. Diese „Normalisierung“ im Vergleich zum dritten Tag wird jedoch durch die hohe Zahl von Sterbefällen in der untersuchten Kohorte verzerrt, denn zwischen Tag 4 und Tag 180 verstarben 48.3% der Patienten mit schwerer Immundepression am Tag 3, während die Sterblichkeit bei Patienten ohne schwere Immundepression am Tag 3 bei 14.8% lag; $p=0.08$. Dies impliziert leider, dass das erhoffte Potenzial für eine Normalisierung niedriger HLA-DR-Expressionen bei aSAB-Patienten möglicherweise höher erscheint als es Wahrheit ist, weil viele Patienten mit Immundepression am Tag 3 zum Follow-up-Zeitpunkt bereits verstorben waren.

4.1.4 Vergleich des Outcomes mit Referenzstudien

Insgesamt verstarben 31.8% der Patienten bis zum Tag 180. Im Vergleich zur Pilotstudie (26.7%) entspricht dies einem schlechteren Ergebnis und kann als Effekt des größeren Anteils von Patienten mit höheren WFNS-Graden in der vorgelegten Arbeit gewertet werden. In der vorliegenden Arbeit fand sich auch ein schlechteres funktionelles Outcome. Während Überlebende der Pilotstudie im Median nach 180 Tagen nur moderate Behinderungen aufwiesen und im Alltag nicht von Hilfsmitteln abhängig waren, waren die Überlebende der vorgelegten Studie im Median nach 180 Tagen schwer pflegebedürftig. In einer häufig zitierten Metastudie wird die aSAB-Sterblichkeit allgemein auf 32-67% beziffert (vgl. Hop et al. 1997). Der direkte Vergleich mit der nominell geringeren Sterblichkeit in der vorgelegten Arbeit erscheint allerdings problematisch. Ein nicht WFNS-Schweregrad-adjustierter Vergleich kann grundsätzlich zu fehlerhaften Schlussfolgerungen verleiten, denn unterschiedliche Schweregradverteilungen innerhalb der Kohorten können aus naheliegenden Gründen mit unterschiedlicher Sterblichkeit einhergehen. Dies ergibt sich bereits aus der Tatsache, dass die WFNS-Graduierung selbst nach prognostischen Gesichtspunkten für das Outcome entwickelt wurde (vgl. Rosen und Macdonald 2005). Daneben ist zu berücksichtigen, dass in der Metastudie von Hop et al. aus dem Jahr 1997 fast ausschließlich ältere Arbeiten bis zum Jahr 1989 ausgewertet wurden und dass über die vergangenen Jahrzehnte ein Trend zu verbesserten Überlebenschancen besteht (vgl. Rinkel and Algra 2011). Daher sollte nach heutigen Maßstäben eine Sterblichkeit von 31.8% in der vorgelegten Studie nicht als per se günstiges Ergebnis gewertet werden, sondern muss vor allem als Indiz für den hohen Anteil von high-grade-Fällen in der hier untersuchten Studienkohorte gelten. Letztere Behauptung wird von einer prospektiven Schweregrad-Studie mit n=3567 SAB-Patienten gestützt. Hier fanden sich 66% WFNS-Grade I-II, während auf die WFNS-Grade III-V je ca. 10% entfielen (Rosen und Macdonald 2005). In der hier vorgelegten Arbeit mit 59.1% Anteil an Patienten mit WFNS III-V findet sich gewissermaßen eine auf den Kopf gestellte Schweregrad-Verteilung.

4.1.5 Infektionen, Infektionshäufigkeiten und Bedeutung für das Outcome

In der untersuchten Kohorte wurden bei 34.8% der Studienpatienten eine im Krankenhaus erworbene Pneumonie (Hospital acquired pneumonia; HAP) diagnostiziert. Hierin sind n=12 Fälle (18.1%) enthalten, bei denen 48-96 Stunden nach Aufnahme eine Hospital acquired early-onset pneumonia (HAEOP) auftrat. Die vorgefundene HAP-Inzidenz der vorliegenden Arbeit ist vergleichbar mit der Pilotstudie (dort 37.5%) und auch vergleichbar mit der nach dem Schweregrad stratifizierten Inzidenz bei Patienten mit ischämischem Stroke: hier existiert ein Pneumonierisiko-Score, der anhand der Datenbasis des Berliner Schlaganfallsregister an n=15335 Patienten entwi-

ckelt und an n=45085 Patienten validiert wurde. Für die Teilgruppe von Patienten jener Studie, die mit den aSAB-Patienten der vorgelegten Arbeit vergleichbar erscheint, nämlich Strokepatienten mit besonders schwer ausgeprägter neurologischer Symptomatik, Dysphagie und anderen mittels Scoring erfassten Eigenschaften, wird dort eine Pneumonieinzidenz von 39.4% angegeben. (Hoffmann et al. 2012). In der vorgelegten Arbeit fällt neben der Prävalenz hoher und höchster WFNS-Schweregrade auch der große Anteil beatmeter Patienten (93.9%) mit Beatmungsdauern von 12 [2.75; 15] Tagen (Median [25%; 75%-Perzentile]) auf, was einen Vergleich mit einer Studie von Cinotti und Kollegen erlaubt. In ihrer retrospektiven Analyse an einer vergleichbar schwer erkrankten aSAB-Kohorte mit n=193 Patienten, 74% Anteil WFNS III-V und 100% Prävalenz einer mechanischen Ventilation ≥ 2 Tage (Einschlusskriterium) fanden die Autoren n=81 (48.7%) Ventilations-assoziierte Pneumonien (Cinotti et al. 2014). Bei einer anderen Arbeit mit n=26 aSAB-Patienten, die einen Anteil 61.5% der beiden höchsten Schweregrades aufwiesen, wurden sogar n=19 (73%) Pneumonien diagnostiziert (Helbok et al. 2015). In der Referenzstudie von Frontera und Kollegen an n=573 konsekutiven Patienten mit einer nativen SAB-Schweregradverteilung, also einem geringeren Anteil hoher Schweregrade als in der vorgelegten Arbeit, wird die Pneumonie-Inzidenz nach SAB auf 20% beziffert (Frontera et al. 2008). Ein Bias der vorgelegten Arbeit könnte gewesen sein, dass ein besonderes Augenmerk auf das Nicht-Übersehen von Pneumonien gerichtet wurde. Dies hatte in einer ersten Auswertung zu falsch-positiven Wertungen geführt, insbesondere an den ersten Tagen nach aSAB-Onset. Um Diagnosen strikt an den Definitionen auszurichten, erfolgte bei allen Fällen eine Reevaluation der Studiendokumentation. Als nosokomiale Pneumonie (HAP) wurden nur Pneumonien gewertet, die ≥ 48 Stunden nach Aufnahme auftraten. In der analysierten Kohorte manifestierten sich HAP oft früh (52.1% Onset vor der 96. Stunde), was mit anderen Studien vergleichbar erscheint: nach einer Meta-Analyse an n=137817 Schlaganfallspatienten haben bis zu drei Viertel der Poststroke-Infektionen einen frühen Beginn (Westendorp et al. 2011).

Das Auftreten einer HAEOP zeigte sich in der Kaplan-Meier-Analyse mit einer signifikant kürzeren Überlebensdauer verbunden; HAP verfehlte die Signifikanz (vgl. Kapitel 3.4.2). Darüber hinaus ist HAEOP ein unabhängiger Prädiktor für das Versterben vor dem Tag 180 (OR 5.4; 95% CI 1.309-22.257; p=0.021) bzw. vor dem Tag 15 (OR 7.5; 95% CI 1.609-34.954; p=0.012). Diese Ergebnisse müssen allerdings mit großer Vorsicht interpretiert werden. In Bezug auf das Chancenverhältnis zu versterben, muss für Patienten mit HAEOP ein Einfluss durch gleichzeitig bestehende neurologischer Komplikationen angenommen werden, denn n=11 von 12 Patienten (91.6%) mit HAEOP wiesen gleichzeitig ein AFND und/oder eine DCI auf (p=0.036).

Leider bleibt die Interpretierbarkeit der kürzeren Überlebensdauer von Patienten mit HAEOP – und natürlich auch von Patienten mit Immundepression – grundsätzlich limitiert, solange keine belastbaren Angaben zur Todesursache vorliegen; besonders bedauerlich erscheint hierbei, dass die Bereitschaft zur Autopsie kein Einschlusskriterium war.

Die nicht-pneumoniebezogenen Infektionsinzidenzen der vorgelegten Arbeit sind vergleichbar mit den Angaben von Frontera und Kollegen: dort wurden 13% Harnwegsinfekte, 8% Sepsis, 5% ZNS-Infektionen gefunden, während in der vorgelegten Studie 9% Harnwegsinfektionen, 7.5% Sepsis und ZNS-Infektionen auftraten. Es ist aus der Literatur bekannt, dass mit mehrtägig niedrigen HLA-DR-Expressionen steigende Infektions-Inzidenzen zu erwarten sind; so traten in einer Studie nach einer zweitägigen $< 30\%$ der Norm erniedrigten HLA-DR-Expression bei 25% der Patienten Infektionen auf. Nach dreitägiger Persistenz einer verminderten HLA-DR-Expression waren sogar 75% der Patienten von Infektion betroffen (Frazier und Hall 2008). In der vorgelegten Arbeit traten bei 60.6% der Patienten Infektionen auf. Vor dem Hintergrund der niedrigen HLA-Expressionen in der Kohorte ist die Infektionsprävalenz mit Frazier und Hall 2008 vergleichbar. Sie befindet sich am oberen Ende des Intervalls von 5-65% Infektionen, die bei Schlaganfallpatienten in einer Metastudie berichtet wird (Westendorp et al. 2011). Das gefundene Keimspektrum weist große Ähnlichkeiten mit den Erregern auf, über die in den Ergebnissen des *Krankenhausinfektion-Surveillance-Systems* KISS berichtet wurde (Geffers and Gastmeier 2011). In der vorgelegten Arbeit machten die vier häufigsten Pathogene (Pseudomonas-Arten, Klebsiellen, Staphylococcus aureus und Escherichia Coli) einen Anteil von 55.1% aus. Allgemein zeigte sich eine Akzentuierung gram-negativer Stäbchen gegenüber den Angaben von Geffers und Gastmeier 2011. Die zahlreichen Nachweise von *Enterobacter-Arten* und *Escherichia Coli* müssen nicht zwangsläufig mit Hygienemängeln in Verbindung stehen, sondern könnten hypothetisch auch als Folge einer *bacterial translocation* bei gestörter Darm-Mukosa-Barriere und hämatogener Ausbreitung entstanden sein. Obwohl derartige Mechanismen bei *Poststroke-Infektionen* im Tiermodell nach *media-occlusion* experimentell belegt sind (Tascilar et al. 2010), bleibt dies für aSAB-Patienten natürlich nur eine Spekulation.

4.1.6 Immundepression und Infektionen

Eine niedrige HLA-DR-Expression ≤ 9740 Ak/Zelle am Tag 3 hat sich in der vorgelegten Arbeit als unabhängiger Prädiktor für Infektionen (OR 3.938; 95% CI 1.068-14.523; $p=0.033$) erwiesen (vgl. Kapitel 3.3.3), was den Ergebnissen anderer HLA-DR-Studien ähnelt (Strohmeier et al. 2003; Döcke et al. 1997). Wie dort konnte auch in der vorgelegten Arbeit kein natürlicher Cutoff mit Hilfe der ROC-Analyse bestimmt werden, der mit klinisch nützlichen Spezifitäts- bzw. Sensi-

tivitätskennzahlen verbunden wäre. Von den Patienten *mit* einer Infektion zeigten in der vorgelegten Arbeit 83.8% bereits am dritten Tag eine Immundepression mit einer HLA-DR-Expression von 9522 [6689; 11233] Ak/Zelle (Median [25%; 75%-Perzentile]), während bei Patienten *ohne* Infektion mit 12830 [8660; 22375] Ak/Zelle höhere Messwerte erhoben wurden ($p=0.026$). Jede Erhöhung der HLA-DR-Expression um 1000 Ak/Zelle ging in der Regressionsanalyse mit einer 7.8%-igen Abnahme des Chancenverhältnis für Infektionen einher, so dass bei Patienten mit einer höheren HLA-DR-Expression der oberen Quartile nur 58% des ungünstigen Chancenverhältnis für Infektionen bestand, das bei einer niedrigeren HLA-DR-Expression der unteren Quartile errechnet wurde. Auch DCI stellt einen unabhängigen Prädiktor für Infektionen dar (OR 4.329; 95% CI 1.325-14.143; $p=0.012$). In einem gemeinsamen Regressionsmodell bestätigten DCI und HLA-Immundepression ihren gleichermaßen ungünstigen Einfluss auf das Chancenverhältnis, eine Infektion zu erleiden (OR 3.902). Trotz günstig erscheinender Sensitivität (0.811) ist der Nutzen des Modells aufgrund der niedrigen Spezifität und des niedrigen negativen prädiktiven Wertes (beide 0.563) limitiert. Als Erklärungsansatz für den niedrigen negativen prädiktiven Wert muss zuerst die hohe Infektionsinzidenz selbst genannt werden. Denn ein hoher Anteil an Infizierten impliziert, dass es überhaupt nur wenig richtig-negative Befunde in einer Kohorte geben kann. Hierdurch können schon wenige falsch-negative Klassifikationen das Verhältnis von richtig-negativen zu falsch-negativen Klassifikationen beeinflussen und somit den negativen prädiktiven Wert deutlich mindern. Diese Argumentation bedeutet aber auch, dass der hohe positive prädiktive Wert mit Skepsis betrachtet werden muss. Denn aufgrund der Merkmalsverteilung (hohe Inzidenz des Prädiktors DCI, hohe Prävalenz einer Immundepression), besteht natürlich auch hier eine hohe Chance für zufällig richtig-positive Klassifikationen. Ob das Modell bei einer größeren Fallzahl und neutralerer Schweregradverteilung (mit hypothetisch geringerem Anteil von Patienten DCI, Immundepression und Infektionen) besser diskriminiert, wird die laufende Weiterführung der Messungen an mehr Patienten zeigen.

Eine HLA-DR-Expression_{Tag3} ≤ 9740 Ak/Zelle erwies sich darüber hinaus auch als unabhängiger Prädiktor für das Auftreten einer HAEOP (OR 7.071; 95% CI 1.328-37.651; $p=0.015$) (vgl. Kapitel 3.3.6). Hervorzuheben ist der hohe negative prädiktive Wert (0.917) bei einer mäßigen Spezifität (0.611), wodurch höhere HLA-DR-Expressionen_{Tag3} mehr zur Identifikation von Patienten mit *geringerem* HAEOP-Risiko beitragen könnten als zur Identifikation von tatsächlich Erkrankten. Die hohe Sensitivität (0.818) und der niedrige positive prädiktive Wert (0.391) zeugen davon, dass zwar viele der Erkrankten korrekt positiv erkannt wurden, zusätzlich aber sehr viele falsch-positive Klassifikationen entstanden. Die pessimistische HAEOP-Prädiktion ist direkt erklärbar

mit der hohen Prävalenz des Prädiktors $\text{HLA-DR-Expressionen}_{\text{Tag3}} \leq 9740 \text{ Ak/Zelle}$ und einer – im Vergleich dazu – niedrigeren HAEOP-Inzidenz. Es bleibt zu konstatieren, dass die Eignung der $\text{HLA-DR-Expressionen}_{\text{Tag3}}$ als Prädiktor für Infektionen und für HAEOP in dieser Arbeit belegt worden ist, jedoch ein erhebliches Fehlerpotenzial bestehen bleibt, das direkt mit der hohen Prävalenz pathologisch niedriger HLA-DR-Messergebnisse zusammenhängt. Die Bedeutung pathologisch niedriger $\text{HLA-DR-Expressionen}_{\text{Tag3}}$ bei aSAB-Patienten ist allein anhand der vorgelegten Arbeit an $n=66$ Patienten mit überwiegend hohem Schweregrad weder allgemein übertragbar noch abschließend einzuordnen. Aus pathophysiologischer Sicht erscheint es nicht unplausibel, dass eine niedrige HLA-DR-Expression auch funktionell zu einer verminderten Immunität gegenüber bakteriellen Pathogenen führt und somit die Entstehung von Infektionen nach aSAB begünstigt. Dieser Verdacht wurde bereits vor Jahren allgemein im Konzept zu *CNS-induced Immunodeficiency-Syndromen* (Meisel et al. 2005) geäußert und für aSAB-Patienten präzisiert (Sarrafzadeh et al. 2011).

4.1.6.1 Gestörte Monozytenfunktion nach aSAB

TNF- α nach LPS-Stimulation: bei Betrachtung der *nicht*-gruppierten Patienten zeigte die TNF- α -Sekretion im Median einen normalen Zeitverlauf innerhalb der Referenzbereiche mit einem Tal der Stimulierbarkeit am dritten/sechsten Tag. Die univariate Analyse ergab eine verminderte Stimulierbarkeit der monozytären TNF- α Sekretion bei Patienten mit high-grade WFNS ($p_{\text{Tag6}}=0.016$) und verifiziertem AFND ($p_{\text{Tag6}}=0.020$). Eine durchgängig verminderte Reaktion auf LPS-Stimulation lag vor bei Patienten der Fisher-Gruppe 4 (erniedrigte Sekretion Tag 1-180; $p_{\text{Tag3}}=0.006$) und bei Patienten mit einem ICP-Anstieg vor der 72. Stunde (erniedrigte Sekretion Tag 1-12; $p_{\text{Tag6}}=0.003$). Limitierend für letzteren Befund ist, dass ein ICP-Monitoring lediglich bei 83% der Patienten im Rahmen der regulären Versorgung erfolgte. Die Befunde legen aber nahe, dass eine gestörte Monozytenfunktion bei aSAB-Patienten mit einem *Early-brain-Injury* (Sehba et al. 2012) in Zusammenhang steht, denn in der multivariaten Analyse bot besonders der WFNS-Grad, als Indikator für die Schwere des initialen Schadens, eine hervorragende Erklärung für 50.2% der TNF- α -Varianz. Welche Mechanismen dem bekannten funktionellen Monozytenimpairment beim Stroke zugrundeliegen, ist nicht abschließend geklärt (Prass et al. 2003; Haeusler et al. 2008; Urra et al. 2009a). Bekannt ist aber, dass monozytäre Funktionsstörungen beim *CNS-Immunodeficiency-Syndrome* im Gefolge einer adrenergen Reaktion bei ICP-Erhöhungen auftreten (Meisel et al. 2005). Der Einbezug von Katecholamindaten in der geplanten Folgestudie bzw. den Nachanalysen könnte für aSAB-Patienten neue Erkenntnisse bringen.

Aus der Pilotstudie und anderen Arbeiten war eine verminderte LPS induzierte TNF- α -Sekretion bei Patienten mit Schlaganfalls-assoziierten Infektionen bekannt (Haeusler et al. 2008; Urra et al. 2009a). Die monozytäre TNF- α -Sekretion_{Tag3} war daher ein potenzieller Kandidat für die Suche nach Prädiktoren von Infektionen, Frühinfektionen, HAP und HAEOP. In den Regressionsanalysen der vorgelegten Arbeit verfehlte TNF- α als Marker die Signifikanz (für alle Analysen $p \geq 0.09$) und konnte sich nicht gegen bessere Prädiktor-Kandidaten durchsetzen.

IL-10 nativ: messbare, pathologische Plasmakonzentrationen (ohne Stimulation) fanden sich bei 40.6% (Tag 1) bis 32.6% (Tag 15) der untersuchten Patienten mit einem abnehmenden Trend und einem relativen Tief am neunten Tag. Erst am FollowUp-Termin lagen alle Messergebnisse wieder im Bereich knapp über bzw. unter der Nachweisgrenze. Höhere IL-10 Plasmakonzentrationen als bei ihrer jeweiligen Kontrollgruppe fanden sich besonders bei Patienten mit high-grade-WFNS, AFND ($p_{\text{Tag6+9}} < 0.05$) und HAP ($p_{\text{Tag9}} = 0.014$). Diese Befund ergänzen die bekannten IL-10-Ergebnisse, die für ischämische Hirninfarkte publiziert wurden (Klehmet et al. 2009). Dass höhere IL-10-Plasmakonzentrationen mit einer verminderten monozytären HLA-DR-Expression assoziiert sind, ist seit langem bekannt (Woiciechowsky et al. 1999b). Obwohl IL-10 in der vorliegenden Arbeit nicht prädiktiv für Infektionen ist, könnte es also indirekt – über eine nachfolgend verminderte HLA-DR-Expression – mit Infektionen in Zusammenhang stehen. Die zur Kontrolle durchgeführte Korrelationsanalyse ergab erwartungsgemäß einen schwachen, aber stets negativen Zusammenhang (Spearman Rho -0.245 bis -0.456) zwischen den IL-10- und HLA-DR-Messergebnissen des gleichen und des jeweils folgenden Termins an den Tagen 3-12 ($p_{\text{Tag3}}=0.050$; $p_{\text{Tag6}}=0.004$; $p_{\text{Tag9}}<0.001$; $p_{\text{Tag9}}=0.034$). Dass diese Spekulation zumindest unter pathophysiologischen Aspekten gerechtfertigt ist, zeigt eine Arbeit an 110 Strokepatienten, die IL-10 als unabhängigen Prädiktor von Infektionen nachwies (Chamorro et al. 2006). Eine weitere Untersuchung des IL-10 bei aSAB-Patienten mit einer größeren Gruppe asymptomatischer Patienten erscheint notwendig, bevor weitere Interpretationen möglich sind.

IL-10 nach LPS-Stimulation: die überwiegende Mehrzahl der Patienten (62.5-71.9%) zeigte an allen Messterminen eine pathologisch verminderte monozytäre IL-10-Sekretion nach LPS-Stimulation. Am dritten Tag war bei 37.7% der Patienten überhaupt keine Sekretion auslösbar (Nachweisgrenze < 5 pg/ml), was einer kompletten Monozyten-Deaktivierung gleichkommt. Währenddessen war allerdings die Gesamtkonzentration an IL-10 (nativ) im Plasma von Tag 1-15 pathologisch erhöht, so dass als Quelle der IL-10-Erhöhung eine vermehrte T_H2-Aktivität angenommen werden kann. Diese Konstellation ist bereits bekannt bei ischämischen Hirninfarkten (Meisel et al. 2012; Klehmet et al. 2009; Chamorro et al. 2007a, 2006) und traumatischen Hirnver-

letzungen (Woiciechowsky et al. 1999b), wurde jedoch bei aSAB-Patienten bisher noch nicht beschrieben. Während bei Patienten mit/ohne DCI keine signifikanten Unterschiede festzustellen waren, fielen im Trend durchgängig niedrigere Mediane bis zum sechsten Tag bei Patienten mit high-grade WFNS, AFND und HAP auf (nicht signifikant). Ähnlich wie beim TNF- α -LPS existiert für IL-10-LPS ein Zusammenhang von niedriger Stimulierbarkeit und einem ICP-Anstieg vor der 72. Stunde. Eine niedrigere IL-10-Sekretion ließ sich hierbei an den Tagen 1, 3, 6 und 12 belegen ($p < 0.05$). Es ist daher anzunehmen, dass die monozytäre IL-10-Sekretion am ehesten mit der Schwere der *initialen* Schädigung und *frühen* SAB-Komplikationen zusammenhängt. Eine niedrige IL-10-Sekretion nach LPS-Stimulation zeigte sich nicht als prädiktiv für Infektionen, was angesichts des seltenen Vorkommens normaler oder höherer Messergebnisse wenig überrascht. Die fehlende Normalisierung der monozytären nach LPS-Stimulation beim FollowUp zeigt, dass aSAB-Patienten auch langfristige Veränderungen der Immunität aufweisen, die potenziell abträglich sind (Chamorro et al. 2007a).

4.1.6.2 Inflammation / Interleukin-6-Erhöhungen nach aSAB

Pathologisch erhöhte IL-6-Plasmakonzentrationen fanden sich bei bis zu 95.2% aller Patienten. Am Follow-up-Termin zeigte die Gesamtheit der Patienten im Median eine Remission. Auffällig hohe Werte waren beim Follow-up nur noch bei DCI-Patienten zu finden. Dies könnte mit der möglicherweise Inflammations-assoziierten Pathogenese einer DCI (Sarrafzadeh et al. 2010) zusammenhängen. Bei Patienten mit neurologischer Symptomatik und auch bei Infektionspatienten wurden im univariaten Gruppenvergleich durchweg höhere Werte gemessen als in der jeweiligen Kontrollgruppe ohne diese Komplikation. In den Regressionsanalysen, unter alleiniger Betrachtung der IL-6-Messergebnisse vom Tag 3 bzw. Tag 6, zeigten sich nur ungenügende Güteeigenschaften. Ein klarer Zusammenhang von hohen IL-6-Leveln mit dem Auftreten von Infektionen, wie er bei Strokepatienten belegt ist (Wartenberg et al. 2011), konnte bei den untersuchten aSAB-Studienpatienten nicht gefunden werden. Im Regressionsmodell mit mehreren Prädiktorkandidaten ergaben sich für IL-6-Plasmakonzentrationen divergente Ergebnisse: höhere IL-6-Messergebnisse vom Tag 3 deuteten ein diskret günstigeres Chancenverhältnis an, eine Infektion zu entwickeln, während höhere IL-6-Messergebnisse vom Tag 6 ein diskret ungünstigeres Chancenverhältnis ergaben. Da bis zu 95.2% der untersuchten aSAB-Patienten pathologische IL-6-Plasmakonzentrationen aufwiesen, wundert die mangelnde Eignung von IL-6 als alleiniger Infektionsmarker nicht. Die Varianz des IL-6 im Zeitverlauf wurde in der multivariaten Analyse am besten erklärt durch eine postoperative Erhöhung und durch das Auftreten einer DCI (41% bzw. 36% Varianzaufklärung). Es kann angenommen werden, dass IL-6 im Hauptzeitraum der Infekti-

onen (Tag 3-7) möglicherweise überlagert wird von den gerade abklingenden postoperativen Inflammationsprozessen und Vorgängen, die mit einer sich entwickelnden DCI in Verbindung stehen. Dafür, dass die Höhe der IL-6-Sekretion mit dem Schaden des ZNS-Gewebes zusammenhängt, spricht auch der unterschiedliche IL-6-Verlauf im Gruppenvergleich der neurologischen Schäden: so existierte schon früh (ab Tag 3) ein signifikanter Gruppenunterschied zwischen Patienten mit bzw. ohne AFND, während bei Patienten mit bzw. ohne DCI erst spät (Tag 9) eine hochsignifikante Differenz feststellbar war. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits früher publiziert (Sarrafzadeh et al. 2010; McMahon et al. 2012). Als weitere potenzielle Störgröße, die hier jedoch nicht kontrolliert wurde, müssen auch exogene Katecholamine genannt werden. Stover, Sakowitz et al. hatten bereits im Jahr 2003 darauf hingewiesen, dass Katecholamingaben bei der Interpretation von IL-6-Messungen berücksichtigt werden müssen. Zusammenhänge zwischen exogenen Katecholamingaben und der IL-6-Plasmakonzentration bzw. der Immunfunktion von SAB-Patienten sind, nach Kenntnis des Autors, momentan nicht durch Studien belegt. Da von allen Patienten Plasmaproben in *ethylene glycol tetraacetic acid*-(EGTA)-Blutröhrchen bei -80° C asserviert wurden, bietet sich eine Analyse in Folgestudien an.

4.1.7 Gestörte Balance der Leukozyten-Subpopulationen nach aSAB

Monozyten: analog zu Sarrafzadeh et al., 2011, war über den Gesamtverlauf eine Monozytose nachweisbar. Bei DCI-Patienten persistierten hohe Werte bis zum 15. Tag, so dass sich dort ein signifikanter Unterschied zur asymptomatischen Kontrollgruppe herausbildete. Noch bei Follow-up bestanden bei den DCI-Patienten grenzwertig hohe Monozytenzahlen. Ein allgemeines Erklärungsmodell für die vorherrschende Monozytose nach Stroke ist fehlende Apoptose (Chamorro et al. 2012). Die Zahl periphere Monozyten zeigten sich nicht als prädiktiv für die untersuchten Komplikationen. Wie vorher dargelegt, wurde bei den meisten Patienten ein verminderter Besatz der einzelnen Monozyten mit HLA-DR-Rezeptoren gemessen. Bei einer gleichzeitig bestehenden Monozytose im peripheren Blut ist es natürlich interessant zu erfahren, ob die *Gesamtmenge an HLA-DR-Rezeptoren pro ml Plasma* (also die Messergebnisse der HLA-DR Antikörper/Zelle multipliziert mit der Absolutzahl monozytärer Zellen/ml) ebenfalls Gruppenunterschiede zeigt. Es ist denkbar, dass potenziell gleichgerichtete oder gegensinnige Verminderungen/Erhöhungen der beiden Messgrößen bei bestimmten Patientengruppen auftreten. Dies sollte weiter untersucht werden.

Granulozyten: wie in der Pilotstudie, zeigte sich im Gesamtverlauf bei den Patienten mehrheitlich eine ausgeprägte Granulozytose, die am Tag 180 normalisiert war. Signifikant höhere Werte fanden sich bei AFND-Patienten am Tag 9. Ein Zusammenhang von einer Granulozytose vor dem Onset von Infektionen, wie bei Chamorro et al., 2007 berichtet, war nicht zu reproduzie-

ren. Im Verlauf konnte eine signifikante Granulozytose an den Tagen 9, 12, 15 und 180 bei Patienten mit vorherigem AFND beobachtet werden. Wie diese Veränderungen zu erklären sind, ist noch gänzlich unklar. Hohe Schweregrade, Infektionen und DCI bieten jedenfalls keinen naheliegenden Erklärungsansatz für diese Beobachtung. Auch der Vergleich über andere Patientengruppen (die Behandlungsart Coiling vs. Clipping, ohne/mit Ventrikeleinblutungen, ohne/mit pathologischer ICP-Erhöhung) lieferte keine Resultate. Zeitlich ist am ehesten ein Zusammenhang mit verzögerten Infarkten zu vermuten, die – wie beschrieben – mit AFND korreliert sind.

Lymphozyten-Gesamtzahl: schon am ersten Tag hatten 46.9% alle Patienten eine Lymphopenie. Mit 76.3%, wurde die höchste Zahl pathologisch niedriger Werte am Tag 6 gemessen. Auch zum Follow-up zeigten noch ~20% der Studienteilnehmer niedrige Werte. Hierzu trugen vor allem grenzwertig niedrige Zahlen an NK-Zellen und zytotoxischen T-Zellen bei. Die Lymphozyten-Gesamtzahl unterschied sich nicht über den Schweregrad, ohne/mit AFND, ohne/mit DCI, ohne/mit Infektionen (auch nicht für Sepsis [sic!]) und ebenfalls nicht über die Behandlungsart. Eine allgemeine Lymphopenie war bereits in der Pilotstudie beobachtet worden.

NK-Zellen: Im Gesamtverlauf war die Absolutzahl an NK-Zellen stets grenzwertig niedrig mit einem Tief der Mediane an Tag 6, was ähnlich bei Hug et al., 2009 berichtet wurde. Im Vergleich zur Pilotstudie waren Gruppendifferenzen nur diskret ausgeprägt. Patienten mit AFND, DCI, Infektionen und high-grade WFNS zeigten nur geringfügig niedrigere Werte als ihre jeweilige Vergleichsgruppe (ohne Signifikanz) und erholten sich im Trend ähnlich.

CD8⁺Lymphozyten: wie in der Pilotstudie und ähnlich den Ergebnissen von Urrea et al., 2009, fand sich bis Tag 6 eine pathologische Zellverminderung. Analog zur Voruntersuchung wiesen Patienten mit AFND, DCI, Infektionen und high-grade WFNS ab Tag 3 im Trend niedrigere Werte auf als ihre jeweilige Kontrollgruppe (nicht signifikant). Patienten mit AFND hatten signifikant höhere Werte beim Follow-up, während sonst am Tag 180 Normalwerte vorlagen.

CD4⁺Lymphozyten: insgesamt verblieb die T_H-Population durchgängig auf normalem Niveau. Eine (geringe) T_H-Lymphopenie (wie in der Pilotstudie) war nicht reproduzierbar; jedoch ließen sich konform zu Voruntersuchung vom dritten bis fünfzehnten Tag stets niedrigere T_H-Konzentrationen bei Patienten mit AFND, DCI, Infektionen und high-grade WFNS nachweisen; signifikant nur beim Vergleich der WFNS-Grade und unauffällig beim Follow-up.

B-Lymphozyten: hier traten zumeist Normwerte auf, was die Messungen von Hug et al., 2009 und der Pilotstudie bestätigt. Im Verlauf lagen die Werte von Patienten mit AFND, DCI und high-grade WFNS geringfügig unter der jeweiligen Kontrollgruppe. Insgesamt liegt demnach also eine T-Zell-betonte Lymphopenie vor, was in der Vorstudie bereits gezeigt wurde

4.1.7.1 Lymphokine und T_H1/ T_H2-Balance- und T_H17-Veränderungen nach aSAB

IL-17 nach Stimulation mit Staphylococcus Enterotoxin B (IL-17-SEB) wurde bei jedem zweiten Patienten als experimenteller Marker gemessen und befand sich durchgängig innerhalb des Referenzintervalls zwischen 16-323 pg/ml. High-Grade-WFNS-Patienten wiesen am Tag 3 und 9 niedrigere Sekretionen auf; ebenso Patienten mit AFND an den Tag 3 und 9-15. Für Patienten mit DCI ließ sich kein signifikanter Unterschied finden. Auch Patienten mit HAP zeigten im Trend niedrigere IL-17-SEB-Sekretionen (nicht signifikant). Eine detaillierte Analyse wird separat publiziert.

IL-10 nach ConA-Stimulation (IL-10-ConA): ab Tag 3 zeigten Patienten mit Infektionen, AFND und high-grade-WFNS durchgängig pathologische Stimulierbarkeit der T_H2-Zellen, die bei high-grade Patienten auch am Tag 180 nicht normalisiert war. Die Gruppenunterschiede waren insgesamt gering, da sich die Werte fast aller untersuchten Patienten im unteren Quartil des Referenzbereichs bewegten; IL-10-ConA erwies sich nicht als prädiktiv für Infektionen.

TNF- α nach ConA-Stimulation (TNF- α -ConA): Die ungruppierten Ergebnisse zeigten für die Mehrzahl der Patienten eine niedrig-normale TNF- α -ConA-Sekretion der T_H2-Lymphozyten. Pathologische Mediansekretionen wurden insgesamt nur am Tag 15 beobachtet. TNF- α -ConA erwies sich nicht als infektionsprädiktiv. Auffällig waren high-grade-WFNS-Patienten mit einer pathologisch niedrigen Sekretion bis Tag 12 und 15 ($p < 0.05$) und Normalisierung bis zum Follow-up. Für einen Zusammenhang mit der Schwere der *initialen* Läsionen spricht auch ein erniedrigter Verlauf bei Patienten mit Ventrikelblutungen ($p < 0.05$ am Tag 1, 6, 12) und AFND. Ein Zusammenhang mit ICP-Erhöhungen, wie beim TNF- α -LPS, war hier nicht nachweisbar.

Für die IL-2 nach ConA-Stimulation konnten in der Gesamtheit normale Median- und sogar normale untere Quartilen gefunden werden. Die Varianz der Sekretion bzw. tiefere IL-2-Sekretionsleistungen wurden in der multivariaten Analysen am besten durch einen hohen WFNS-Grad und eine DCI erklärt, aber auch durch das Vorkommen von ICP-Erhöhungen. Bereits in der Pilotstudie und bei einer Strokestudie (Vogelgesang et al. 2008) waren erniedrigte IL-2-Sekretionsleistungen bei neurologisch-symptomatischen Patienten nachgewiesen worden. Da IL-2 an der Regulation der T-Zellproliferation beteiligt ist (Murphy et al. 2009 S. 1008), war es sinnvoll zu prüfen, ob eine erniedrigte IL-2-Sekretion auch in einem Zusammenhang mit der Dysregulation der Lymphozyten-Anzahl bzw. des Verhältnisses einzelner Subpopulationen steht. Während die beobachtete allgemeine Lymphopenie in keiner Korrelation zu den IL-2-Konzentrationen stand, korrelierte die IL-2-Stimulierbarkeit am Tag 3 leicht ausgeprägt, aber signifikant (Spearman Rho = 0.395; $p = 0.005$) mit der Menge an CD4⁺Zellen im Plasma desselben Tages. Im multiplen Regressionsmodell der vorliegenden Arbeit erhärtete sich der Verdacht, dass zudem ein Zusammen-

hang mit Hospital acquired Pneumonia (HAP) besteht. Mit höherer Stimulierbarkeit von IL-2 am Tag 3 verbesserte sich das Chancenverhältnis, *keine* Pneumonie zu entwickeln (OR 0.860; $p=0.048$). Der ermittelte Grenzwert (≤ 231.7 pg/ml) lag höher als die Referenzuntergrenze des Immunlabors (≤ 80 pg/ml). Legt man letztere zugrunde, dann erkrankten 100% der Patienten mit pathologischen IL-2-Leveln am Tag 3 ($n=5$) an einer HAP, während kein einziger Patient mit normalem IL-2 eine HAP entwickelte ($p=0.038$). Hohe IL-2-Werte konnten in einer großen retrospektiven Studie mit Schädel-Hirn-Trauma-Patienten als protektiv für beatmungsassoziierte Pneumonien identifiziert werden (LaPar et al. 2012). Hier sind weitere Forschungsanstrengungen notwendig, um die möglichen Zusammenhänge zwischen einer niedrigen IL-2-Sekretion und Pneumonien nach aSAB funktionell zu verstehen. Neben IL-2 waren im mehrfaktoriellen Regressionsmodell für HAP auch noch DCI und eine längere Beatmungsdauer als Prädiktoren enthalten. Auch wenn IL-2_{Tag3}, das als isolierte Variable keinen Prädiktor darstellt, aus dem Regressionsmodell entfernt wird, lassen sich DCI- und längerer Beatmungsdauer als Prädiktoren einer HAP reproduzieren. Eine höhere Odds-Ratio für HAP bei längerer Beatmungsdauer ist zwar kaum überraschend, aber dennoch schwierig zu interpretieren. Längere Beatmungsdauern kamen in der Studienkohorte auch bei hohem WFNS-Schweregrad ($p < 0.001$), AFND ($p < 0.001$) und DCI ($p=0.036$) vor. Das Ergebnis muss daher als mehrfach konfundiert betrachtet werden. Aufgrund der kleinen Fallzahl lässt sich der Einfluss der Beatmungsdauer nicht sicher von anderen Einflüssen abgrenzen; zu nennen sind höhergradige initiale Bewusstseinsstörungen (high-grade-WFNS), eine neurologische Symptomatik (AFND, DCI) und die damit verbundene (unkontrollierte) Möglichkeit einer Aspiration sowie die nachgewiesene gestörte HLA-DR-Immunkompetenz bei high-grade-WFNS-, AFND- und DCI-Patienten.

IFN- γ nach ConA-Stimulation (IFN- γ -ConA): während der ersten fünfzehn Tage fanden sich bei den ungruppierten Ergebnissen im Median zumeist niedrig-normale Sekretionsleistungen, die allerdings nur etwa 30% des Follow-Up-Niveaus erreichten. Bereits am ersten Tag befanden sich alle Ergebnisse in der niedrigsten Quartile des Referenzbereiches. Für Patienten, deren Lymphozyten am Tag 3 nach ex vitro-Stimulation mit Concanavalin-A weniger als 602 pg/ml IFN- γ sezernierten, konnte ein ungünstiges Chancenverhältnis für Frühinfektionen vor der 72. Stunde nachgewiesen werden (OR 7.392; 95% CI 1.392-39.273; $p=0.012$). Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich für Patienten mit einer HAEOP. Auch hier geht eine geringe Stimulierbarkeit der T_H1-Zellen zur IFN- γ -Sekretion am Tag 3 mit einem ungünstigen Chancenverhältnis für Infektionen einher, nur dass diesmal der Zeitraum der Prädiktor-„Vorausschau“ um einen Tag länger ist, denn HAEOP treten per definitionem bis zur 96. Stunde nach Krankenhausaufnahme auf. Das kalkulier-

te Chancenverhältnis für HAEOP (OR 6.417; 95% CI 1.147-35.895; $p=0.028$) ist nahezu identisch mit den Ergebnissen für Frühinfektionen < 72. Stunde. Diese Ergebnisse bestätigen die Vermutung der Pilotstudie (Sarrafzadeh et al. 2011), dass eine verminderte Sekretion von T_H1 -Zellen nach ConA-Stimulation in einem Zusammenhang mit (früh) nach aSAB auftretenden Infektionen steht und ergänzen das Mosaik von Arbeiten, die im Tiermodell (Prass et al. 2003) und bei Patienten (Vila et al. 2003; Dirnagl et al. 2007; Theodorou et al. 2008; Klehmet et al. 2009; Salat et al. 2013) eine verminderte T_H1 -Sekretion mit Stroke-assoziierten Infektionen bzw. Pneumonien in Verbindung bringen. Auch der dimensionslose Quotient aus den gemessenen IFN- γ - und IL-4-Sekretionen, der das Verhältnis der beiden T-Helferzellpopulationen (T_H1/T_H2) abbildet, zeigte in der univariaten Analyse bei Patienten mit Frühinfektion (Tag 3; $p=0.003$) bzw. mit HAEOP (Tag 1; $p=0.049$) signifikant niedrigere, das heißt in Richtung T_H2 verschobene Ergebnisse. Die wichtige Rolle des IFN- γ bei der Regulation der monozytären HLA-DR-Expression ist seit langem bekannt (Rosa et al. 1983; Young and Hardy 1995; Döcke et al. 1997). In der vorgelegten Arbeit wurden zur Kontrolle bivariate Korrelationen zwischen der IFN- γ -Sekretion und der HLA-DR-Expression des jeweils folgenden Messtermins berechnet. Dabei zeigte die IFN- γ -Sekretion vom Tag 1 eine hohe Korrelation mit der HLA-DR-Expression vom Tag 3 (Spearman Rho 0.714; $p=0.036$). Auch die IFN- γ -Sekretion vom Tag 9 und die HLA-DR-Expression vom Folgetermin Tag 12 korrelierten (Spearman Rho 0.786; $p=0.018$). Für andere Messterminpaare fand sich nur ein Trend (Rho > 0.5; $p < 0.09$). Die in der vorgelegten Arbeit berechneten Testgütekennwerte für die Prädiktion von Frühinfektionen und HAEOP sind einander sehr ähnlich. Sie zeigen jedoch, dass der Zusammenhang zwischen einer niedrigen IFN- γ -Sekretion und Frühinfektionen bzw. HAEOP eher aus pathophysiologischen Gründen von Interesse ist. Die Sensitivitäten (0.778-0.818) mögen zunächst nicht einmal ungenügend erscheinen, jedoch enttäuschen die positiven prädiktiven Werte (0.368-0.391) mit bis zu 64.2% falsch-positiven Vorhersagen. Die guten negativen prädiktiven Werte (0.917-0.920) erklären sich aber am ehesten aus der Inzidenz von Frühinfektionen bzw. HAEOP und der damit verbundenen höheren Chance für eine richtig-negative Prädiktion. Möglicherweise könnte in einer größeren Kohorte mit (hypothetisch) geringerer HAEOP- bzw. Frühinfektionsinzidenz die Spezifität (0.617-0.622) sogar ausreichend sein, um Patienten mit geringem Risiko für früh auftretende Infektionen zu identifizieren.

Ein Szenario, in dem eine solch späte IFN- γ -Stimulationsanalyse (am dritten Tag) dennoch sinnvoll erscheint, könnte beispielsweise darin bestehen, bei Patienten ein kalkuliertes Ende besonderer prophylaktischer (oder der besseren Früherkennung dienenden) Maßnahmen unter Einbezug der gemessenen IFN- γ -Sekretionsleistung am dritten Tag zu entscheiden.

Die Varianz der IFN- γ -Sekretion beim einzelnen Patienten im Zeitverlauf konnte am besten durch einen Anstieg des ICP ($\eta^2=0.665$) erklärt werden. Auch dies ist klinisch interessant, da sich vielleicht mit der unmittelbaren Therapie pathologischer ICP-Erhöhungen nicht nur die allgemein abträglichen Effekte intrakranieller Drucksteigerungen, sondern (hypothetisch) auch niedrige IFN- γ -Sekretionsleistungen vermeiden lassen könnten. Auch ohne die kausalistische Unterstellung eines funktionellen Zusammenhangs mit einer niedrigen IFN- γ -Sekretion kommen bei Patienten mit pathologischen ICP-Erhöhungen im Trend ($p=0.086$) HAEOP häufiger vor. Da in der vorgelegten Arbeit für Patienten mit HAEOP eine verkürzte kumulative Überlebensdauer belegt wurde, sollten die möglicherweise wechselseitigen Zusammenhänge zwischen ICP-Erhöhungen, IFN- γ -Sekretion, HAEOP und aSAB-Letalität in einer Nachanalyse genauer beleuchtet werden. Die multivariate Analyse der IFN- γ -Sekretion der Tage 3, 6 und 9 zeigte darüber hinaus, dass bis zu 35.5% der IFN- γ -Varianz durch eine frühe neurologische Symptomatik (AFND, hoher WFNS-Grad+AFND) und durch eine DCI erklärbar sind. Es darf somit davon gesprochen werden, dass eine neurologische Symptomatik mit niedriger IFN- γ -Sekretion nach ConA-Stimulation an den Tagen 3-9 *assoziiert* ist und dass eine niedrige IFN- γ -Sekretion einen unabhängigen Prädiktor sowohl für Frühinfektionen < 72. Stunde als auch für HAEOP darstellt.

Natürlich lässt sich daraus keine Kausalität ableiten und behaupten, dass eine neurologische Symptomatik zu einer niedrigen IFN- γ -Sekretion führe, aber es kann gefolgert werden, dass nicht nur die frühe neurologische Symptomatik allein (und die damit wahrscheinlich verbundene Aspirationsgefahr), sondern auch eine Regulationsstörung der zellulären Immunität mit einem ungünstigeren Chancenverhältnis für HAEOP und frühe Infektionen einhergeht.

4.2 Abschließende Folgerungen

Die Diskussion, welche Prädiktoren für das Auftreten von Infektionen in der Akutphase nach aSAB den größten Stellenwert besitzen, kann auch durch diese Studie nicht beendet werden. Es ist jedoch klarer geworden, dass nicht ein einzelner Prädiktor im Fokus steht, sondern dass mehrere, untereinander vernetzte Einflussgrößen mit der Entwicklung von Infektionen in Verbindung stehen. Die größten Einflüsse auf die Immunkompetenz konnten mit der Schwere des initialen Schadens der Blutung erklärt werden.

Insbesondere die Lymphozytenzahl, die regulatorisch wichtige IFN- γ -Sekretionsfähigkeit der T_H1-Zellen und die zur Antigenpräsentation essentielle monozytäre HLA-DR-Expression waren vom ersten Tag an allgemein auffällig vermindert, während der proinflammatorische Mediator IL-6 und das immunitätshemmende IL-10 aus den T_H2-Zellen allgemein auffällig erhöht waren. Dies entspricht den Beobachtungen, die beim ischämischen Hirninfarkt bekannt sind (Chamorro et al.

2012; Klehmet et al. 2009; Meisel et al. 2006) und erscheint funktionell plausibel. Nach Ansicht des Autors kann die Existenz einer allgemeinen Immundepression in der untersuchten aSAB-Kohorte nicht mehr bezweifelt werden.

Anders als beim ischämischen Hirninfarkt waren bei aSAB aber neben dem primären Ereignis, das oft von einem AFND mit frühen Infarkten begleitet wurde, auch noch die sekundären Läsionen infolge einer DCI zu berücksichtigen. Der Stellenwert einer primären Bewusstseinsstörung bei high-grade-WFNS-Patienten und die somit zu erwartende Begünstigung von Aspirationspneumonien konnten mit dem Studiendesign nicht aufgeklärt werden. Das Gleiche gilt für HAP und die Bedeutung einer verlängerten Beatmungsnotwendigkeit, die in der vorgelegten Studie ausschließlich als Indikator eines gravierenderen Verlaufs verstanden werden darf.

Aufgeklärt werden konnte dagegen, dass AFND bzw. DCI, also frühe bzw. späte Ischämien, die Varianz der Immundepressionsmarker besser erklärten als ein höherer WFNS-Schweregrad, der in erster Linie nur das Ausmaß einer Bewusstseinsstörung reflektiert. Die Tatsache, dass das Vorkommen einer DCI sich als prädiktiv für Infektionen, insbesondere HAP, erwiesen hat, unterstreicht den hohen Stellenwert von späten Ischämien. Obwohl, neben den bereits genannten Limitationen, eine Vielzahl an Parametern unkontrolliert blieb, etwa der Einsatz von Katecholaminen, Sedativa und Anästhetika, für die es Hinweise bezüglich einer Wirkung auf das Immunsystem gibt (Heine and Piepenbrock 2002), kann angenommen werden dass die profunde und persistente Verminderung der Immunkompetenz eine Folge des *strukturellen* ZNS-Schadens ist.

Potenziell abträgliche Immunstörungen im Zusammenhang mit einer ICP-Erhöhung, etwa durch Behinderung der Liquorzirkulation, könnten sich bei frühzeitiger Therapie möglicherweise als reversibel erweisen. Hierzu wäre ein frühzeitiges ICP-Monitoring notwendig. Die Erkenntnisse zur Immundepression nach aSAB sollten Anlass geben, die zelluläre Immunität auch in der Routineversorgung früh nach einer aneurysmatischen Blutung zu überwachen. Für die Frage, ob Studien zu einer Antibiotikaprophylaxe nach aSAB durchgeführt werden sollten, wie beim Stroke (Harms et al. 2008; van de Beek et al. 2009; Ulm et al. 2013), kann diese Arbeit nur Anhaltspunkte liefern. Neben der rein pragmatischen Fragestellung, für welche Patienten eine Antibiotikaprophylaxe nützlich ist (Marker-Cutoff mit hoher *Sensitivität*), könnte möglicherweise auch die ethisch bedeutsame Implikation, für wen eine Antibiotikaprophylaxe eher keinen Nutzen bringt (Marker-Cutoff mit hoher *Spezifität*), durch Einbezug von Immunmarkern und ihrer ROC-Daten besser gelöst werden. Dazu bedarf es auch Multicenterstudien oder wenigstens einer größeren Datenbasis ohne Vorauswahl-Bias, insbesondere was die Schweregradverteilungen betrifft.

Als beste Kandidaten für das Immunmonitoring einer etwaigen Marker-gestützten-Therapie haben sich die IFN- γ -Sekretion nach ConA-Stimulation und die HLA-DR-Expression erwiesen. Die Interleukin-2-Sekretion dagegen setzte sich zwar als Marker für Hospital-acquired-Pneumonia im mehrfaktoriellen Regressionsmodell durch, jedoch finden sich hierzu, im Gegensatz zu IFN- γ und HLA-DR, nur eine Studie (LaPar et al. 2012), die für höhere IL-2-Sekretionen überhaupt einen günstigen Zusammenhang mit Pneumonien belegt. Daher muss IL-2 mit besonderer Skepsis betrachtet werden. Neben einer Antibiotikaphylaxe, sind erst kürzlich die Ansätze einer Beta-Adrenorezeptorblockade erneut ins Blickfeld geraten. In retrospektiven Schlaganfallsstudien ging die Einnahme von Beta-Blockern mit einer verminderten Risiko-Ratio für Pneumonien (Sykora et al. 2015) bzw. Harnwegsinfektionen (Maier et al. 2015) einher. Welche infektionspräventiven Strategien einen Nutzen für aSAB-Patienten bieten, und ob hierdurch eine Reduktion der Sterblichkeit oder eine Verbesserung des Outcomes erwartet werden darf, bleibt eine dringende Frage. Wie beim ischämischen Hirninfarkt, besteht auch bei aSAB ein großer Forschungsbedarf, um hier die klinische Entscheidungsfindung zu unterstützen.

5 Literaturverzeichnis

- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guideline for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Feb 15;171(4):388–416.
- Asadullah K, Woiciechowsky C, Döcke WD, Egerer K, Kox WJ, Vogel S, u. a. Very low monocytic HLA-DR expression indicates high risk of infection--immunomonitoring for patients after neurosurgery and patients during high dose steroid therapy. *Eur J Emerg Med Off J Eur Soc Emerg Med.* Dezember 1995a; 2(4):184–90.
- Asadullah K, Woiciechowsky C, Döcke WD, Liebenthal C, Wauer H, Kox W, u. a. Immunodepression following neurosurgical procedures. *Crit Care Med.* Dezember 1995b; 23(12):1976–83.
- BD Biosciences. Multiplexed Bead-Based Immunoassays. San Jose, USA; 2012.
- Van de Beek D, Wijdicks EFM, Vermeij FH, de Haan RJ, Prins JM, Spanjaard L, u. a. Preventive antibiotics for infections in acute stroke: a systematic review and meta-analysis. *Arch Neurol.* September 2009;66(9):1076–81.
- Bilguvar K, Yasuno K, Niemelä M, Ruigrok YM, von Und Zu Fraunberg M, van Duijn CM, u. a. Susceptibility loci for intracranial aneurysm in European and Japanese populations. *Nat Genet.* Dezember 2008;40(12):1472–7.
- Brown J, Wang H, Hajishengallis GN, Martin M. TLR-signaling networks: an integration of adaptor molecules, kinases, and cross-talk. *J Dent Res.* April 2011;90(4):417–27.
- Cai J, He C, Yuan F, Chen L, Ling F. A novel haemodynamic cerebral aneurysm model of rats with normal blood pressure. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas.* Januar 2012;19(1):135–8.
- Chaichana KL, Pradilla G, Huang J, Tamargo RJ. Role of inflammation (leukocyte-endothelial cell interactions) in vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg.* Januar 2010;73(1):22–41.

- Chamorro A, Amaro S, Vargas M, Obach V, Cervera A, Torres F, u. a. Interleukin 10, monocytes and increased risk of early infection in ischaemic stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. November 2006;77(11):1279–81.
- Chamorro Á, Meisel A, Planas AM, Urta X, van de Beek D, Veltkamp R. The immunology of acute stroke. *Nat Rev Neurol*. Juli 2012;8(7):401–10.
- Chamorro A, Urta X, Planas AM. Infection after acute ischemic stroke: a manifestation of brain-induced immunodepression. *Stroke J Cereb Circ*. März 2007a;38(3):1097–103.
- Cockroft KM, Thompson RC, Steinberg GK. Aneurysms and arteriovenous malformations. *Neurosurg Clin N Am*. Juli 1998;9(3):565–76.
- Crowley RW, Medel R, Dumont AS, Ilodigwe D, Kassell NF, Mayer SA, u. a. Angiographic vasospasm is strongly correlated with cerebral infarction after subarachnoid hemorrhage. *Stroke J Cereb Circ*. April 2011;42(4):919–23.
- Dalyai RT, Randazzo C, Ghobrial G, Gonzalez LF, Tjoumakaris SI, Dumont AS, u. a. Redefining Onyx HD 500 in the Flow Diversion Era. *Int J Vasc Med*. 2012;2012:435490.
- Dettenkofer M, Ebner W, Hans FJ, Forster D, Babikir R, Zentner J, u. a. Nosocomial infections in a neurosurgery intensive care unit. *Acta Neurochir (Wien)*. 1999;141(12):1303–8.
- Dirnagl U, Klehmet J, Braun JS, Harms H, Meisel C, Ziemssen T, u. a. Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance. *Stroke J Cereb Circ*. Februar 2007;38(2 Suppl):770–3.
- Döcke W-D, Höflich C, Davis KA, Röttgers K, Meisel C, Kiefer P, u. a. Monitoring temporary immunodepression by flow cytometric measurement of monocytic HLA-DR expression: a multicenter standardized study. *Clin Chem*. Dezember 2005;51(12):2341–7.
- Döcke W-D, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, u. a. Monocyte deactivation in septic patients: Restoration by IFN- γ treatment. *Nat Med*. Juni 1997;3(6):678–81.
- Dreier J, Ebert N, Priller J, Megow D, Lindauer U, Klee R, u. a. Products of hemolysis in the subarachnoid space inducing spreading ischemia in the cortex and focal necrosis in rats: a model for delayed ischemic neurological deficits after subarachnoid hemorrhage? *J Neurosurg*. Oktober 2000;93(4):658–66.
- Dreier J, Woitzik J, Fabricius M, Bhatia R, Major S, Drenckhahn C, u. a. Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarizations. *Brain J Neurol*. Dezember 2006;129(Pt 12):3224–37.
- Dreier JP. Cortical spreading ischaemia and delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage [Internet]. Berlin: Humboldt-Universität zu Berlin, Medizinische Fakultät - Universitätsklinikum Charité; 2003 [zitiert 5. Februar 2013]. Verfügbar unter: <http://edoc.hu-berlin.de/docviews/abstract.php?id=20193>
- Drenckhahn C, Brabetz C, Major S, Wiesenthal D, Woitzik J, Dreier JP. Criteria for the Diagnosis of Noninfectious and Infectious Complications After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage in DISCHARGE-1. *Acta Neurochir Suppl*. 2013;115:153–9.
- Dziedzic T, Slowik A, Szczudlik A. Nosocomial infections and immunity: lesson from brain-injured patients. *Crit Care*. 2004;8(4):266–70.
- Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery*. Januar 1980;6(1):1–9.
- Frazier WJ, Hall MW. Immunoparalysis and Adverse Outcomes from Critical Illness. *Pediatr Clin North Am*. Juni 2008;55(3):647–xi.
- Frontera JA, Fernandez A, Schmidt JM, Claassen J, Wartenberg KE, Badjatia N, u. a. Impact of nosocomial infectious complications after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. Januar 2008;62(1):80–87; discussion 87.
- Frontera JA, Fernandez A, Schmidt JM, Claassen J, Wartenberg KE, Badjatia N, u. a. Defining vasospasm after subarachnoid hemorrhage: what is the most clinically relevant definition? *Stroke J Cereb Circ*. Juni 2009;40(6):1963–8.

- Gaskill PJ, Carvallo L, Eugenin EA, Berman JW. Characterization and function of the human macrophage dopaminergic system: implications for CNS disease and drug abuse. *J Neuroinflammation*. 2012;9:203.
- Geffers C, Gastmeier P. Nosocomial infections and multidrug-resistant organisms in Germany: epidemiological data from KISS (the Hospital Infection Surveillance System). *Dtsch Arztebl Int*. Februar 2011;108(6):87–93.
- Gonzalez CF, Cho YI, Ortega HV, Moret J. Intracranial aneurysms: flow analysis of their origin and progression. *AJNR Am J Neuroradiol*. Februar 1992;13(1):181–8.
- Graetz D, Nagel A, Schlenk F, Sakowitz O, Vajkoczy P, Sarrafzadeh A. High ICP as trigger of proinflammatory IL-6 cytokine activation in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*. September 2010;32(7):728–35.
- Greenberg MS. *Handbook of Neurosurgery*. 7th Ed. New York: Thieme Medical Publishers; 2010.
- Haeusler KG, Schmidt WUH, Föhring F, Meisel C, Helms T, Jungehülsing GJ, u. a. Cellular immunodepression preceding infectious complications after acute ischemic stroke in humans. *Cerebrovasc Dis Basel Switz*. 2008;25(1-2):50–8.
- Harms H, Hoffmann S, Malzahn U, Ohlraun S, Heuschmann P, Meisel A. Decision-making in the diagnosis and treatment of stroke-associated pneumonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Dezember 2012;83(12):1225–30.
- Harms H, Prass K, Meisel C, Klehmet J, Rogge W, Drenckhahn C, u. a. Preventive antibacterial therapy in acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *PLoS One*. 2008;3(5):e2158.
- Harms H, Reimnitz P, Bohner G, Werich T, Klingebiel R, Meisel C, u. a. Influence of stroke localization on autonomic activation, immunodepression, and post-stroke infection. *Cerebrovasc Dis Basel Switz*. 2011;32(6):552–60.
- Heine J, Piepenbrock S. *Anaesthetics and Cellular Immunity*. *Ains · Anästhesiol · Intensivmed · Notfallmedizin · Schmerzther*. August 2002;37(8):439–40.
- Hijdra A, Braakman R, van Gijn J, Vermeulen M, van Crevel H. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Complications and outcome in a hospital population. *Stroke J Cereb Circ*. Dezember 1987;18(6):1061–7.
- Hoffmann S, Malzahn U, Harms H, Koennecke H-C, Berger K, Kalic M, u. a. Development of a clinical score (A2DS2) to predict pneumonia in acute ischemic stroke. *Stroke J Cereb Circ*. Oktober 2012;43(10):2617–23.
- Hop JW, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Initial loss of consciousness and risk of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke J Cereb Circ*. November 1999;30(11):2268–71.
- Hug A, Dalpke A, Wiczorek N, Giese T, Lorenz A, Auffarth G, u. a. Infarct volume is a major determinant of post-stroke immune cell function and susceptibility to infection. *Stroke J Cereb Circ*. Oktober 2009;40(10):3226–32.
- Inamasu J, Nakatsukasa M, Mayanagi K, Miyatake S, Sugimoto K, Hayashi T, u. a. Subarachnoid Hemorrhage Complicated With Neurogenic Pulmonary Edema and Takotsubo-Like Cardiomyopathy. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2012;52(2):49–55.
- Ionita CC, Baker J, Graffagnino C, Alexander MJ, Friedman AH, Zaidat OO. Timing of symptomatic vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: the effect of treatment modality and clinical implications. *J Stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc*. März 2010;19(2):110–5.
- Jayaraman T, Paget A, Shin YS, Li X, Mayer J, Chaudhry HW, u. a. TNF- α -mediated inflammation in cerebral aneurysms: A potential link to growth and rupture. *Vasc Health Risk Manag*. August 2008;4(4):805–17.
- Klehmet J, Harms H, Richter M, Prass K, Volk HD, Dirnagl U, u. a. Stroke-induced immunodepression and post-stroke infections: lessons from the preventive antibacterial therapy in stroke trial. *Neuroscience*. 6. Februar 2009;158(3):1184–93.
- Kopp MA, Druschel C, Meisel C, Liebscher T, Prilipp E, u. a. The SCIntinel study - prospective multicenter study to define the spinal cord injury-induced immune depression syndrome (SCI-IDS) - study protocol and interim feasibility data. *BMC Neurol*. 9. November 2013;13:168.

- Kovats S, Nepom GT, Coleman M, Nepom B, Kwok WW, Blum JS. Deficient antigen-presenting cell function in multiple genetic complementation groups of type II bare lymphocyte syndrome. *J Clin Invest*. Juli 1995;96(1):217–23.
- Laborberlin SOP DZ 02-06. Verfahrensweisung zur Bestimmung der prozentualen Anteile von Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten, T-Zellen, B-Zellen und NK-Zellen mittels Durchflußzytometrie. 2013.
- Laborberlin SOP DZ 05-06. Verfahrensweisung [zur Bestimmung der] monozytäre[n] HLA-DR-Expression. 2013.
- Laborberlin SOP DZ 09-08. Verfahrensweisung zur Durchführung eines Cytometric Bead Array TH1/TH2 (Becton Dickinson). 2013.
- Laborberlin SOP FT 01-07. Verfahrensweisung zur Durchführung einer LPS-Vollblutstimulation. 2013.
- Laborberlin SOP LM 04-06. Verfahrensweisung zur Durchführung der Bestimmung von Tumor Nekrose Faktor-alpha (TNFa) mittels Immulite 1000 (R). 2013.
- Laborberlin SOP LM 09-05. Verfahrensweisung zur Bestimmung von Interleukin-10 (IL-10) mittels Immulite 1000 (R). 2013.
- Laborberlin SOP LM 28-03. ELISA zur quantitativen Bestimmung von humanem IL-17 (Quantikine-Test von R&D Systems). 2013.
- Lambert E, Lambert G, Fassot C, Friberg P, Elghozi JL. Subarachnoid hemorrhage induced sympathoexcitation arises due to changes in endothelin and/or nitric oxide activity. *Cardiovasc Res*. März 2000;45(4):1046–53.
- LaPar DJ, Rosenberger LH, Walters DM, Hedrick TL, Swenson BR, Young JS, u. a. Severe traumatic head injury affects systemic cytokine expression. *J Am Coll Surg*. April 2012;214(4):478–486; discussion 486–488.
- Liesz A, Ruger H, Purrucker J, Zorn M, Dalpke A, Mohlenbruch M, u. a. Stress Mediators and Immune Dysfunction in Patients with Acute Cerebrovascular Diseases. *PLoS ONE* [Internet]. 19. September 2013 [zitiert 12. Februar 2014];8(9). Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3777986/>
- Linn FH, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Headache characteristics in subarachnoid haemorrhage and benign thunderclap headache. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. November 1998;65(5):791–3.
- Linn FH, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. The notion of „warning leaks“ in subarachnoid haemorrhage: are such patients in fact admitted with a rebleed? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. März 2000;68(3):332–6.
- Maier IL, Karch A, Mikolajczyk R, Bähr M, Liman J. Effect of beta-blocker therapy on the risk of infections and death after acute stroke--a historical cohort study. *PLoS One*. 2015;10(2):e0116836
- McMahon CJ, Hopkins S, Vail A, King AT, Smith D, Illingworth KJ, u. a. Inflammation as a predictor for delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *J Neurointerventional Surg*. 11. Oktober 2012;
- Meisel A, Meisel C, Harms H, Hartmann O, Ulm L. Predicting post-stroke infections and outcome with blood-based immune stress markers. *Cerebrovasc Dis Basel Switz*. 2012;33(6):580–8.
- Meisel C, Schwab JM, Prass K, Meisel A, Dirnagl U. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. *Nat Rev Neurosci*. Oktober 2005;6(10):775–86.
- Miketic JK, Hravnak M, Sereika SM, Crago EA. Elevated cardiac troponin I and functional recovery and disability in patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Am J Crit Care Off Publ Am Assoc Crit-Care Nurses*. November 2010;19(6):522–528; quiz 529.
- Molyneux A, Kerr R, Stratton I, Sandercock P, Clarke M, Shrimpton J, u. a. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial. *Lancet*. 26. Oktober 2002;360(9342):1267–74.

- Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1. Juli 2005;175(1):5–14.
- Murphy KM, Travers P, Walport M. *Janeway Immunologie*. 7. Aufl. 2009. Mahlke K, Herausgeber. Spektrum Akademischer Verlag; 2009.
- Nance DM, Sanders VM. Autonomic Innervation and Regulation of the Immune System (1987-2007). *Brain Behav Immun*. August 2007;21(6):736–45.
- Naredi S, Lambert G, Friberg P, Zäll S, Edén E, Rydenhag B, u. a. Sympathetic activation and inflammatory response in patients with subarachnoid haemorrhage. *Intensive Care Med*. Dezember 2006;32(12):1955–61.
- Neil-Dwyer G, Lang DA, Doshi B, Gerber CJ, Smith PW. Delayed cerebral ischaemia: the pathological substrate. *Acta Neurochir (Wien)*. 1994;131(1-2):137–45.
- Ostergaard JR. Headache as a warning symptom of impending aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cephalalgia Int J Headache*. Februar 1991;11(1):53–5.
- Peterfalvi A, Molnar T, Banati M, Pusch G, Miko E, Bogar L, u. a. Impaired function of innate T lymphocytes and NK cells in the acute phase of ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis Basel Switz*. 2009;28(5):490–8.
- Pierrakos C, Taccone FS, Decaux G, Vincent J-L, Brimiouille S. Urea for treatment of acute SIADH in patients with subarachnoid hemorrhage: a single-center experience. *Ann Intensive Care*. 30. Mai 2012;2:13.
- Pluta RM, Hansen-Schwartz J, Dreier J, Vajkoczy P, Macdonald RL, Nishizawa S, u. a. Cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage: time for a new world of thought. *Neurol Res*. März 2009;31(2):151–8.
- Prass K, Meisel C, Höflich C, Braun J, Halle E, Wolf T, u. a. Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation. *J Exp Med*. 1. September 2003;198(5):725–36.
- Rinkel GJ, Djibuti M, Algra A, van Gijn J. Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systematic review. *Stroke J Cereb Circ*. Januar 1998;29(1):251–6.
- Rinkel GJE. Natural history, epidemiology and screening of unruptured intracranial aneurysms. *J Neuroradiol J Neuroradiol*. Mai 2008;35(2):99–103.
- Rinkel GJE, Algra A. Long-term outcomes of patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Lancet Neurol*. April 2011;10(4):349–56.
- Robert Koch Institut. Definitionen nosokomialer Infektionen (CDC-Definitionen) 7. Auflage 2011. 2011;
- De Rooij NK, Linn FHH, van der Plas JA, Algra A, Rinkel GJE. Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Dezember 2007;78(12):1365–72.
- Rosa F, Hatat D, Abadie A, Wallach D, Revel M, Fellous M. Differential regulation of HLA-DR mRNAs and cell surface antigens by interferon. *EMBO J*. 1983;2(9):1585–9.
- Rosen DS, Macdonald RL. Subarachnoid hemorrhage grading scales: a systematic review. *Neurocrit Care*. 2005;2(2):110–8.
- Salat D, Penalba A, García-Berrocoso T, Campos-Martorell M, Flores A, Pagola J, u. a. Immunological biomarkers improve the accuracy of clinical risk models of infection in the acute phase of ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis Basel Switz*. 2013;35(3):220–7.
- Sarrafzadeh A. Untersuchung des zerebralen Stoffwechsels bei Patienten nach zerebralen Läsionen, insbesondere nach einer aneurysmatischen Subarachnoidalblutung, mittels bettseitiger Mikrodialyse. Berlin: Habilitationsschrift Humboldt-Universität Berlin; 2003.
- Sarrafzadeh A, Haux D, Sakowitz O, Benndorf G, Herzog H, Kuechler I, u. a. Acute focal neurological deficits in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: relation of clinical course, CT findings, and metabolite abnormalities monitored with bedside microdialysis. *Stroke J Cereb Circ*. Juni 2003;34(6):1382–8.

- Sarrafzadeh A, Schlenk F, Gericke C, Vajkoczy P. Relevance of cerebral interleukin-6 after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. Dezember 2010;13(3):339–46.
- Sarrafzadeh A, Schlenk F, Meisel A, Dreier J, Vajkoczy P, Meisel C. Immunodepression after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke J Cereb Circ*. Januar 2011;42(1):53–8.
- Sarrafzadeh AS, Kaisers U, Boemke W. [Aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Significance and complications]. *Anaesthesist*. September 2007;56(9):957–966; quiz 967.
- Schievink WI. Intracranial aneurysms. *N Engl J Med*. 2. Januar 1997;336(1):28–40.
- Schievink WI. Genetics and aneurysm formation. *Neurosurg Clin N Am*. Juli 1998;9(3):485–95.
- Sehba FA, Hou J, Pluta RM, Zhang JH. The Importance of Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage. *Prog Neurobiol*. April 2012;97(1):14–37.
- Sehba FA, Pluta RM, Zhang JH. Metamorphosis of subarachnoid hemorrhage research: from delayed vasospasm to early brain injury. *Mol Neurobiol*. Februar 2011;43(1):27–40.
- Shirani M, Alimohamadi SM. Impact of electrolyte imbalances on the outcome of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a prospective study. *J Inj Violence Res [Internet]*. November 2012 [zitiert 25. März 2013];4(3 Suppl 1). Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3571554/>
- Spendel MC. Die aneurysmatische Subarachnoidalblutung: Epidemiologie, Ätiologie, Klinik und Komplikationen. *J Für Neurol Neurochir Psychiatr*. 2009;9(2):20–30.
- Stehbens WE. Etiology of intracranial berry aneurysms. *J Neurosurg*. Juni 1989;70(6):823–31.
- Stein SC, Browne KD, Chen X-H, Smith DH, Graham DI. Thromboembolism and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: an autopsy study. *Neurosurgery*. Oktober 2006;59(4):781–787; discussion 787–788.
- Strohmeyer J-C, Blume C, Meisel C, Doecke W-D, Hummel M, Hoeflich C, u. a. Standardized immune monitoring for the prediction of infections after cardiopulmonary bypass surgery in risk patients. *Cytometry B Clin Cytom*. Mai 2003;53(1):54–62.
- Stubbe T, Ebner F, Richter D, Randolph Engel O, Klehmet J, Roysl G, u. a. Regulatory T cells accumulate and proliferate in the ischemic hemisphere for up to 30 days after MCAO. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 12. September 2012;
- Sykora M, Diedler J, Poli S, Rizos T, Turcani P, Veltkamp R, u. a. Autonomic shift and increased susceptibility to infections after acute intracerebral hemorrhage. *Stroke J Cereb Circ*. Mai 2011;42(5):1218–23.
- Sykora M, Siarnik P, Diedler J, VISTA Acute Collaborators. β -Blockers, Pneumonia, and Outcome After Ischemic Stroke: Evidence From Virtual International Stroke Trials Archive. *Stroke J Cereb Circ*. 2015 May;46(5):1269–74.
- Tam AKH, Ilodigwe D, Mocco J, Mayer S, Kassell N, Ruefenacht D, u. a. Impact of systemic inflammatory response syndrome on vasospasm, cerebral infarction, and outcome after subarachnoid hemorrhage: exploratory analysis of CONSCIOUS-1 database. *Neurocrit Care*. Oktober 2010;13(2):182–9.
- Tascilar N, Irkorucu O, Tascilar O, Comert F, Eroglu O, Bahadir B, u. a. Bacterial translocation in experimental stroke: what happens to the gut barrier? *Bratisl Lekárske Listy*. 2010;111(4):194–9.
- Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet*. 13. Juli 1974;2(7872):81–4.
- Teasdale GM, Drake CG, Hunt W, Kassell N, Sano K, Pertuiset B, u. a. A universal subarachnoid hemorrhage scale: report of a committee of the World Federation of Neurosurgical Societies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. November 1988;51(11):1457.
- Theodorou GL, Marousi S, Ellul J, Mougiou A, Theodori E, Mouzaki A, u. a. T helper 1 (Th1)/Th2 cytokine expression shift of peripheral blood CD4+ and CD8+ T cells in patients at the post-acute phase of stroke. *Clin Exp Immunol*. Juni 2008;152(3):456–63.
- Thiele K. Differenzierte immunologische Charakterisierung der postoperativen Immundepression nach kardiochirurgischen Eingriff [Internet] [Dissertation]. [Berlin]: Charité Universitätsmedizin Berlin; 2009. http://www.diss.fu-berlin.de/diss/receive/FUDISS_thesis_000000011543

- Tilg H, Ulmer H, Kaser A, Weiss G. Role of IL-10 for induction of anemia during inflammation. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15. August 2002;169(4):2204–9.
- Trampisch HJ, Windeler J, Ehle B, Lange S. *Medizinische Statistik*. 2. Aufl. Springer; 2000.
- Ulm L, Ohlraun S, Harms H, Hoffmann S, Klehmet J, Ebmeyer S, u. a. STROke Adverse outcome is associated With NoSocomial Infections (STRAWINSKI): procalcitonin ultrasensitive-guided antibacterial therapy in severe ischaemic stroke patients - rationale and protocol for a randomized controlled trial. *Int J Stroke Off J Int Stroke Soc*. Oktober 2013;8(7):598–603.
- Urrea X, Cervera A, Obach V, Climent N, Planas AM, Chamorro A. Monocytes are major players in the prognosis and risk of infection after acute stroke. *Stroke J Cereb Circ*. April 2009a;40(4):1262–8.
- Urrea X, Cervera A, Villamor N, Planas AM, Chamorro A. Harms and benefits of lymphocyte subpopulations in patients with acute stroke. *Neuroscience*. 6. Februar 2009b;158(3):1174–83.
- Urrea X, Chamorro A. Stroke-induced immunodepression is a marker of severe brain damage. *Stroke J Cereb Circ*. Februar 2010;41(2):e110; author reply e111.
- Vergouwen MDI, Fang J, Casaubon LK, Stamplecoski M, Robertson A, Kapral MK, u. a. Higher incidence of in-hospital complications in patients with clipped versus coiled ruptured intracranial aneurysms. *Stroke J Cereb Circ*. November 2011;42(11):3093–8.
- Vergouwen MDI, Vermeulen M, Coert BA, Stroes ESG, Roos Y. Microthrombosis after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an additional explanation for delayed cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. November 2008;28(11):1761–70.
- Vergouwen MDI, Vermeulen M, van Gijn J, Rinkel GJE, Wijndicks EF, Muizelaar JP, u. a. Definition of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage as an outcome event in clinical trials and observational studies: proposal of a multidisciplinary research group. *Stroke J Cereb Circ*. Oktober 2010;41(10):2391–5.
- Vila N, Castillo J, Dávalos A, Esteve A, Planas AM, Chamorro Á. Levels of Anti-Inflammatory Cytokines and Neurological Worsening in Acute Ischemic Stroke. *Stroke*. 3. Januar 2003;34(3):671–5.
- Vlak MH, Algra A, Brandenburg R, Rinkel GJ. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. Juli 2011;10(7):626–36.
- Vogelgesang A, Grunwald U, Langner S, Jack R, Bröker BM, Kessler C, u. a. Analysis of lymphocyte subsets in patients with stroke and their influence on infection after stroke. *Stroke J Cereb Circ*. Januar 2008;39(1):237–41.
- Wang X, Li Y-M, Li W-Q, Huang C-G, Lu Y-C, Hou L-J. Effect of clazosentan in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis of randomized controlled trials. *PloS One*. 2012;7(10):e47778.
- Ward NS, Casserly B, Ayala A. The compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients. *Clin Chest Med*. Dezember 2008;29(4):617–625, viii.
- Wartenberg KE, Schmidt JM, Claassen J, Temes RE, Frontera JA, Ostapkovich N, Parra A, Connolly ES, Mayer SA. Impact of medical complications on outcome after subarachnoid hemorrhage. *Crit Care Med*. 2006;34:617–623; quiz 624.
- Wartenberg KE, Stoll A, Funk A, Meyer A, Schmidt JM, Berrouschot J. Infection after acute ischemic stroke: risk factors, biomarkers, and outcome. *Stroke Res Treat*. 2011;2011:830614.
- Wasmuth HE, Kunz D, Graf J, Stanzel S, Purucker EA, u. a. Hyperglycemia at admission to the intensive care unit is associated with elevated serum concentrations of interleukin-6 and reduced ex vivo secretion of tumor necrosis factor-alpha. *Crit Care Med*. Mai 2004;32(5):1109–14.
- Wilson JT, Pettigrew LE, Teasdale GM. Structured interviews for the GOS and the extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. *J Neurotrauma*. August 1998;15(8):573–85.
- Woiciechowsky C, Schöning B, Daberkow N, Asche K, Lanksch WR, Döcke WD, u. a. Brain IL-1beta increases neutrophil and decreases lymphocyte counts through stimulation of neuroimmune pathways. *Neurobiol Dis*. Juni 1999a;6(3):200–8.

- Woiciechowsky C, Schöning B, Lanksch WR, Volk H-D, Döcke W-D. Catecholamine-induced interleukin-10 release: a key mechanism in systemic immunodepression after brain injury. *Crit Care*. 1999b;3(6):R107–R111.
- Woiciechowsky C, Volk HD. Increased intracranial pressure induces a rapid systemic interleukin-10 release through activation of the sympathetic nervous system. *Acta Neurochir Suppl*. 2005;95:373–6.
- Woitzik J. DISCHARGE-1, Standard-Operating-Procedure, Appendix I; Studienprotokolle. 2010.
- Woitzik J, Dreier JP, Hecht N, Fiss I, Sandow N, Major S, u. a. Delayed cerebral ischemia and spreading depolarization in absence of angiographic vasospasm after SAH. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. Februar 2012;32(2):203–12.
- Woratyła SP, Morgan AS, Mackay L, et al. Factors associated with early onset pneumonia in the severely brain-injured patient. *Conn Med*. November 1995;59(11):643–7.
- Yasuno K, Bilguvar K, Bijlenga P, Low SK, Krischek B, u. a. Genome-wide association study of intracranial aneurysm identifies three new risk loci. *Nat Genet*. Mai 2010;42(5):420–5.
- Yoshimoto Y, Tanaka Y, Hoya K. Acute systemic inflammatory response syndrome in subarachnoid hemorrhage. *Stroke J Cereb Circ*. September 2001;32(9):1989–93.
- Young HA, Hardy KJ. Role of interferon-gamma in immune cell regulation. *J Leukoc Biol*. Oktober 1995;58(4):373–81.
- Zetterling M, Engström BE, Hallberg L, Hillered L, Enblad P, Karlsson T, u. a. Cortisol and adrenocorticotrophic hormone dynamics in the acute phase of subarachnoid haemorrhage. *Br J Neurosurg*. Dezember 2011;25(6):684–92.

6 Abkürzungsverzeichnis

AFND	acute focal neurological Deficit	GCS	Glasgow Coma Scale
Ab	Antibody; Antibodies	HAP	Hospital Acquired Pneumonia
Ak	Antikörper	HAEOP	Hospital Acq. early-Onset Pneumonia
aSAB	aneurysmatische SAB	HLA	human leukocyte antigen
AUC	area under the curve	ICP	intrakranieller Druck
CARS	compensatory antiinflammatory response syndrome	IFN- γ	Gamma-Interferon
CD	cluster of differentiation	IL	Interleukin; z.B. IL-2
CDC	Centers for Disease Control	LPS	Lipopolysaccharid
df	degrees of freedom: Freiheitsgrade	MRT	Magnetresonanztomographie
χ^2	Chi-Quadrat	MWU	Mann-Whitney-U-Test
CI	Konfidenzintervall	OR	Odds ratio: Chancenverhältnis
CIDS	entral nervous system injury-induced immune deficiency syndrome	PR	Prävalenzrate
ConA	Concanavalin A	ROC	Receiver Operating Characteristic
COSBID	Cooperative Study on Brain Injury	SAB	Subarachnoidalblutung
Depolarization		SAP	SAP-Krankenhaussoftware
CCT	cranielle Computertomografie	SEB	Staphylococcus Enterotoxin B
DCI	delayed cerebral ischemia	SOP	Standard Operating Procedure
DIND	delayed ischemic neurol. deficit	TCD	transkranielle Dopplersonografie
η^2	Eta-Quadrat: Effektstärke;	T_H	T-Helferzelle; T_H1 , T_H2
EBI	early brain injury	TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha
EGOS	extended Glasgow Outcome-Scale	WFNS	World Federation of Neurosurgical Societies
EVD	externe Ventrikeldrainage	VNS	vegetatives Nervensystem
		ZNS	zentrales Nervensystem

7 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Stefan Radolf versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „*Immundepression nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung*“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

8 Anteilserklärung an erfolgten Publikationen

Radolf S., Smoll N., Drenckhahn C., Dreier JP., Vajkoczy P., Sarrafzadeh AS.

Cerebral Lactate Correlates with Early Onset Pneumonia after Aneurysmal SAH. Transl Stroke Res. 2013 Oct 17; Beitrag im Einzelnen: 50% Anteil: Idee, Statistik, Textbeitrag für Journal und zusätzlich Poster für den Kongress *Vasospasmus 2013*, Luzern 09.06.2013

Radolf S., Sarrafzadeh AS., Smoll N., Dreier J., Meisel A., Schaller K., Vajkoczy P., Meisel C.
Immunodepression and Severity of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage comparing infections and biomarkers between low and high WFNS grades. Beitrag im Einzelnen: 50% Anteil: Text, Statistik, Gestaltung eines Poster für den Kongress *SFCNS 2013*, Montreux, 05.06.2013, Text und Vortrag beim Kongress *Vasospasmus 2013*, Luzern, 09.06.2013

Unterschrift, Datum und Stempel
der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden

9 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

10 Danksagung

All den zahlreichen Menschen, die mich in meiner Arbeit mit Rat und Tat unterstützt haben möchte ich zum Abschluss meinen herzlichsten Dank ausdrücken.

Frau Prof. Dr. Sarrafzadeh danke ich für die Überlassung des spannenden Themas, ihre unermüdlige Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten, ihre vielen wertvollen Ideen und die freundschaftliche Begleitung bei der Erstellung dieser Dissertation und der damit verbundenen Veröffentlichungen. Herrn Dr. Meisel und seinem Laborteam möchte ich meinen herzlichen Dank ausdrücken für die Durchführung der gesamten Laboranalytik und den regen Gedankenaustausch in vielen Gesprächen und Mails.

Herrn Dipl.-Psych. Marten Kantus bin ich zu ganz besonderem Dank verpflichtet. Ohne seine wunderbare menschliche Unterstützung und fortwährende Ermunterung hätte ich die Arbeit niemals abgeschlossen. Frau Josephine Schneider M.A. danke ich für die akribische Rechtschreibprüfung und Herrn cand. psych. Maurice Schmülling für die technische Endbearbeitung der Abbildungen, sowie Herrn Dipl.-Stat. M. Karaman M.Sc., der mir durch geduldige Anleitung im praktischen Umgang mit SPSS echte Hilfe zur Selbsthilfe vermittelte. Herrn Prof. Dr. Dreier und Herrn PD Dr. Woitzik danke ich für die Möglichkeit, auf die Studiendaten der COSBID- und DISCHARGE-Patienten zurückgreifen zu dürfen; mein besonderer Dank gilt hierbei Herrn Sebastian Major. Den Mitarbeiterinnen des Studiensekretariates, Frau Claudia Altendorf und Nicole Gasse gilt besonderer Dank für die Pflege der Studiendokumentation.