



Technische Universität München
Fakultät für Medizin

Tageszeitliche Schwankungen der Blut-, Liquor- und
Speichelkonzentrationen von Oxytocin und
Arginin-Vasopressin bei Intensivpatienten mit
intrakranieller Pathologie

Jennifer Muriel Debus

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der Medizin (Dr.med.)
genehmigten Dissertation.

Vorsitz: apl. Prof. Dr. Stefan Thorban

Prüfer*innen der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Manfred Blobner
2. Priv.-Doz. Dr. Simone Kagerbauer

Die Dissertation wurde am 05.09.2022 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 18.07.2023 angenommen.

Dekan: Prof. Dr. med. Bernhard Hemmer

Betreuer: Prof. Dr. med. Manfred Blobner

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	6
1.1. HYPOPHYSENHINTERLAPPENHORMONE UND IHRE REGULATION	6
1.1.1. Anatomie	6
1.1.2. Struktur von Oxytocin und Arginin-Vasopressin	8
1.1.3. Funktion von Oxytocin und Arginin-Vasopressin im Blut	9
1.1.4. Funktion von Oxytocin und Arginin-Vasopressin im ZNS	10
1.1.5. Zusammenhang zwischen zentraler und peripherer Ausschüttung	11
1.1.6. Dysregulation	12
1.2. ZIRKADIANE RHYTHMIK	15
1.2.1. Physiologie	15
1.2.2. Störungen der zirkadianen Rhythmik	16
1.3. SUBARACHNOIDALE BLUTUNG	17
1.3.1. Pathophysiologie, Diagnostik und Risikofaktoren	17
1.4. ZIELSETZUNG DER STUDIE	21
2. MATERIAL UND METHODEN	23
2.1. PATIENTENCHARAKTERISTIKA UND METHODEN	23
2.1.1. Patientenkollektiv und Patientencharakteristika	23
2.1.2. Ein- und Ausschlusskriterien	23
2.1.3. Aufklärung und Einwilligung	24
2.2. KONZEPTION DER KLINISCHEN STUDIE	25
2.2.1. Zeitlicher Ablauf	25
2.2.2. Blutentnahme und -aufbereitung	25
2.2.3. Liquorentnahme und -aufbereitung	26
2.2.4. Speichelasservierung und -aufbereitung	26
2.3. MESSUNG DER NEUROPEPTIDKONZENTRATIONEN	27
2.3.1. Prinzip des Radioimmunassays	27
2.3.2. Konkrete Durchführung des Radioimmunassays	28
2.4. DATENMANAGEMENT	29
3. ERGEBNISSE	31
3.1. ZEITLICHER VERLAUF DER KONZENTRATIONEN	33
3.1.1. Oxytocin	33
3.1.2. Arginin-Vasopressin	36
3.2. ANALYSE TAGESZEITLICHER SCHWANKUNGEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM GESCHLECHT	39
3.2.1. Oxytocin	39
3.2.2. Arginin-Vasopressin	39

3.3. ANALYSE TAGESZEITLICHER SCHWANKUNGEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM MENOPAUSENSTATUS	42
3.3.1. <i>Verlauf von Oxytocin in Abhängigkeit des Menopausenstatus</i>	42
3.3.2. <i>Arginin-Vasopressin</i>	42
3.4. KORRELATION DER NEUROPEPTIDKONZENTRATIONEN IN DEN VERSCHIEDENEN KOMPARTIMENTEN	45
3.4.1. <i>Vergleich der Messung von Oxytocin in den verschiedenen Kompartimenten</i>	45
3.4.2. <i>Vergleich der Messung von Arginin-Vasopressin in den verschiedenen Kompartimenten</i>	46
3.5. KORRELATION DER NEUROPEPTIDKONZENTRATION MIT GLASGOW OUTCOME SCALE	47
4. DISKUSSION	48
4.1. TAGESZEITLICHE SCHWANKUNGEN DER NEUROPEPTIDKONZENTRATION	48
4.1.1. <i>Ergebnisse tierexperimenteller Studien</i>	48
4.1.2. <i>Vergleich mit Studien an Menschen</i>	50
4.1.3. <i>Einflussfaktoren auf die Neuropeptidkonzentration</i>	53
4.1.4. <i>Einfluss von Geschlecht und Menopausenstatus auf die Oxytocin-Konzentration</i>	55
4.2. KORRELATION ZWISCHEN DEN EINZELNEN KOMPARTIMENTEN	55
4.3. KORRELATION DER NEUROPEPTIDKONZENTRATION MIT DEM KLINISCHEN ERGEBNIS	57
5. ZUSAMMENFASSUNG	59
6. ANHANG	61
7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	62
8. LITERATURVERZEICHNIS	65

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
AVP	Arginin-Vasopressin
CT	Computertomographie
EVD	Externe Ventrikeldrainage
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GCS	Glasgow Coma Scale
GOS	Glasgow Outcome Scale
HHL	Hypophysenhinterlappen
HH Skala	Hunt-Hess Skala
HVL	Hypophysenvorderlappen
LH	Luteinisierendes Hormon
MSH	Melanozytenstimulierendes Hormon
OXT	Oxytocin
RIA	Radioimmunoassay
SAB	Subarachnoidalblutung
STH	Somatotropes Hormon
TSH	Thyreoideastimulierendes Hormon
WFNS	World Federation of Neurosurgical Societies

1. Einleitung

1.1. Hypophysenhinterlappenhormone und ihre Regulation

1.1.1. Anatomie

Die Hypophyse ist die zentrale Stelle der Sekretion und Regulation zahlreicher Hormone, die Wachstum, Stoffwechselforgänge und Fortpflanzung des Organismus steuern. Sie liegt in der Sella turcica an der Schädelbasis in der Fossa hypophysialis, die kranial durch das Diaphragma begrenzt wird. Über den Hypophysenstiel (Infundibulum) steht sie mit dem Hypothalamus in Verbindung. Anatomisch wird sie in Hypophysenvorderlappen (HVL) und Hypophysenhinterlappen (HHL) eingeteilt. Diese unterscheiden sich sowohl entwicklungsgeschichtlich als auch funktionell. Der Hypophysenvorderlappen, auch Adenohypophyse genannt, entsteht in der embryonalen Entwicklung aus der Rathke-Tasche. Histologisch besteht sie aus endokrinen Drüsenzellen und sezerniert die Hormone TSH, ACTH, FSH, LH, GH, MSH und Prolaktin. Die Ausschüttung dieser Hormone wird von Releasinghormonen aus dem Hypothalamus reguliert [1].

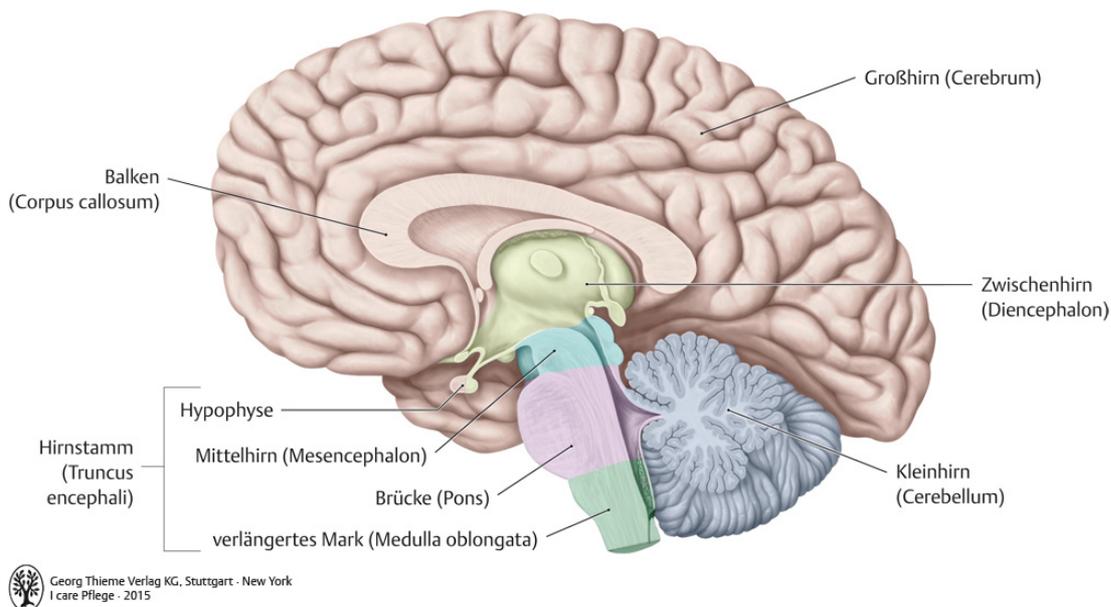


Abb. 1: Anatomie des Gehirns mit Hypophyse

Der Hypophysenhinterlappen, auch Neurohypophyse, ist entwicklungs-technisch Teil des Großhirns und setzt sich aus Nervenenden zusammen, über die die Nonapeptide Oxytocin und Arginin-Vasopressin transportiert werden. Diese werden im Hypothalamus im Nucleus supraopticus und paraventricularis produziert und über die Axone bis in den Hypophysenhinterlappen transportiert. Dort werden sie gespeichert und an Neurophysine gebunden. Bei Bedarf geschieht im HHL eine proteolytische Spaltung, bei der Oxytocin (OXT) und Arginin-Vasopressin (AVP) als Peptidhormone in die Blutbahn sezerniert werden [1].

Abkürzungen:

RH: Releasing Hormone

IH: Inhibiting Hormone

NPY: Neuropeptid Y

NA: Noradrenalin

AVP: Arginin-Vasopressin

OXT: Oxytocin

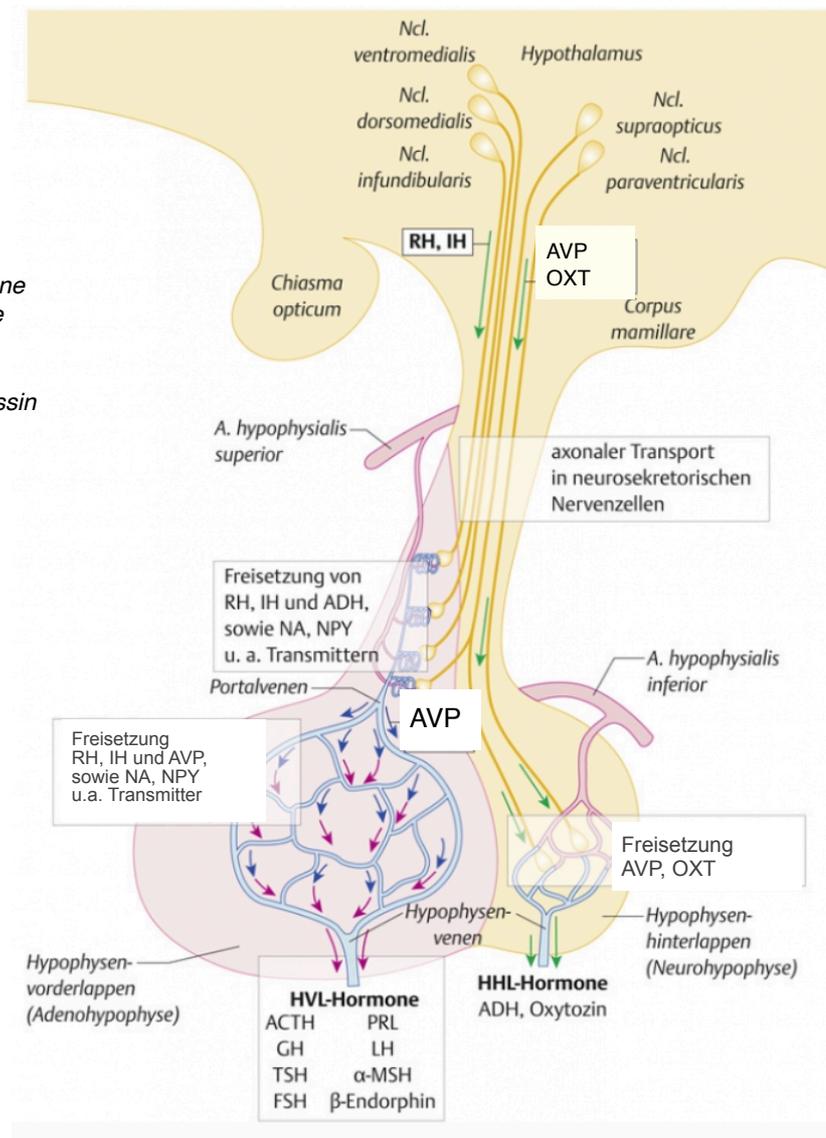


Abb. 2: Hypothalamus und Hypophyse angepasst nach: G. Spinas und S. Fischli, Endokrinologie und Stoffwechsel kompakt; Springer 2. Aufl, 2010 [1]

1.1.2. Struktur von Oxytocin und Arginin-Vasopressin

OXT und AVP sind Nonapeptide, die nach der Sekretion in die Blutbahn als Hormone wirken. Wie nachfolgend in Tabelle 1 ersichtlich ist, unterscheiden sie sich lediglich strukturell in zwei Aminosäuren.

Tab.1: Vergleich der Aminosäuresequenzen von OXT und AVP Quelle: eigene Tabelle nach [4]

Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9
OXT	Cys	Tyr	Ile	Gln	Asn	Cys	Pro	Leu	Gly
AVP	Cys	Tyr	Phe	Gln	Asn	Cys	Pro	Arg	Gly

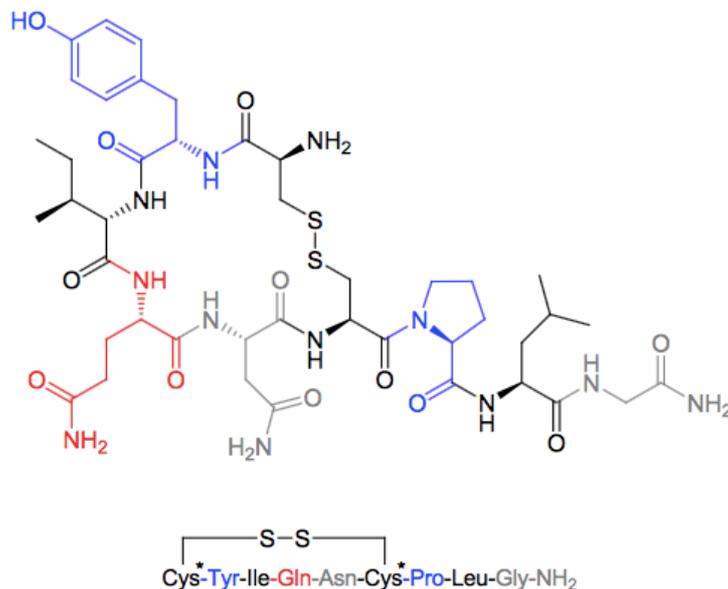


Abb. 3: Strukturformel und Aminosäuresequenz von Oxytocin
 Quelle: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/glossary/de/oxytocin.glos.html>

AVP wird als Vorstufe PräPro-AVP mit seinem Trägerprotein Neurophysin II translatiert und während seines Transports in den Hypophysenhinterlappen mittels neuro-sekretorischer Granula weiter proteolytisch gespalten, sodass nach Abspaltung des Signalpeptids Pro-AVP entsteht. An Neurophysin II gebunden wird es anschließend im HHL gespeichert. OXT wird äquivalent dazu zunächst als PräPro OXT zusammen mit Neurophysin I synthetisiert und ebenfalls im HHL gespeichert. Dort können beide Peptide nach enzymatischer Abspaltung von ihrem Trägerprotein äquimolar in das Blut abgegeben werden [2].

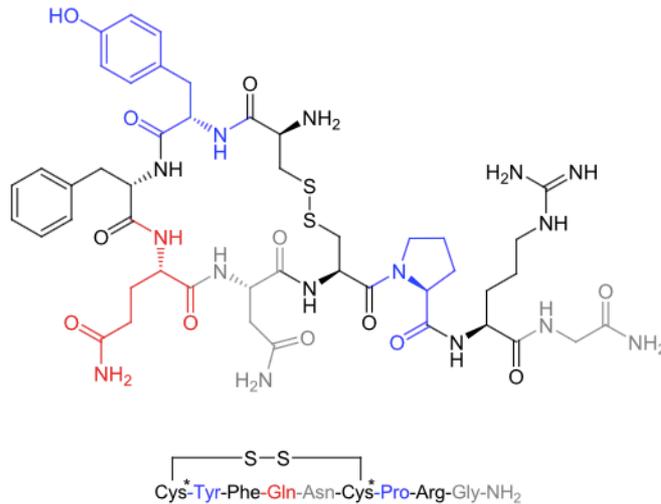


Abb. 4: Strukturformel und Aminosäuresequenz von Arginin-Vasopressin;
 Quelle: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/glossary/de/oxytocin.glos.html>

1.1.3. Funktion von Oxytocin und Arginin-Vasopressin im Blut

Im Blut wirken OXT und AVP als Hormone. Definitionsgemäß sind Hormone chemische Botenstoffe, die von spezialisiertem Gewebe ausgeschüttet werden und nach Transport durch die Blutbahn rezeptorvermittelt an einem Zielorgan wirken, in welchem sie die Aktivität desselben regulieren oder ändern. Somit beeinflussen Hormone komplexe Stoffwechselfvorgänge und die Regulierung des Zusammenspiels der verschiedenen Organsysteme, sowie Anpassung an die Umwelt und Reproduktionsvorgänge im Organismus [3].

Die Ausschüttung von OXT wird hauptsächlich durch Zervixdehnung und Berührung beziehungsweise Saugen an den Mamillen stimuliert. OXT vermittelt die Kontraktion des Uterus und ist somit zum einen für die Entstehung von Wehen verantwortlich, zum anderen auch für die Uterusinvolution, die Plazentalösung und somit für die Blutstillung nach der Geburt von großer Bedeutung. Zudem wird durch OXT die Milchejektion vermittelt. Dadurch spielt die Wirkung von OXT eine zentrale Rolle für den Geburtsverlauf, die Nachgeburtsphase sowie das Stillen [4]. Des Weiteren werden OXT diverse kreislaufbeeinflussende Effekte zugeschrieben. Gutkowska konnte bereits im Jahr 2000 OXT-Rezeptoren an Herz und Gefäßen nachweisen [5]. In weiteren Untersuchungen zeigte sie, dass OXT negativ inotrop und chronotrop wirkt, eine parasympathische Neuromodulation bewirkt und durch die NO-Freisetzung eine Vasodilatation sowie eine Blutdrucksenkung hervorruft und die

Natriumausscheidung fördert. Insgesamt scheint OXT möglicherweise eine kardioprotektive Wirkung zu haben [6].

Die Freisetzung von AVP aus dem Hypophysenhinterlappen wird durch Volumenmangel und Anstieg der Serumosmolalität ausgelöst. So bewirkt AVP über V2-Rezeptoren in der Niere eine Erhöhung der Permeabilität für Wasser im Sammelrohr der Niere durch Einbau von Aquaporin-2-Rezeptoren und damit eine Erhöhung der Wasserrückresorption [7]. Zudem wird es im Rahmen der allgemeinen Stressreaktion des Körpers, beispielsweise nach einem Trauma, freigesetzt. Durch Vasokonstriktion und Wasserrückresorption, sowie Hemmung der Diurese wirkt AVP an den V1-Rezeptoren der glatten Muskulatur der Gefäße blutdrucksteigernd. Über hypophysäre Rückkopplung führt AVP zu einer ACTH-Ausschüttung und somit zu einer Steigerung der Cortisolkonzentration im Blut [7].

1.1.4. Funktion von Oxytocin und Arginin-Vasopressin im ZNS

Neben den Wirkungen im Blut sind OXT und AVP auch als Neuropeptide im ZNS aktiv. Durch direkte Freisetzung aus Nervenzellen der hypothalamischen Nuklei und bestimmter extrahypothalamischer Areale, wie dem limbischen System, gelangen sie in das ZNS. Dort beeinflussen OXT und AVP als eine Art Antagonisten diverse Verhaltenseffekte [8].

OXT wird als das zentrale Hormon für die Paarbindung, sowie die emotionale Bindung zwischen Mutter und Kind gesehen. Als populär-wissenschaftlich bekanntes „Kuschelhormon“ fördert es Vertrauen, Friedlichkeit und emotionale Zusammengehörigkeit [9]. Im Gegensatz dazu werden AVP aggressionssteigernde Effekte zugeschrieben. Es wird als Vermittler der Verhaltensweisen zur „Revierverteidigung“ gesehen und steigert, zumindest im Tierreich, die Kampfbereitschaft und Aggressivität gegenüber Fremden [9].

Insbesondere scheint das zentralnervöse Gleichgewicht zwischen OXT und AVP eine wichtige Rolle für die psychische Gesundheit zu spielen [8]. So wurden in diversen Untersuchungen Zusammenhänge zwischen einer Dysbalance von OXT und AVP und psychischen Erkrankungen wie Depressionen, Autismus und posttraumatischer Belastungsstörung gefunden [8, 10].

1.1.5. Zusammenhang zwischen zentraler und peripherer Ausschüttung

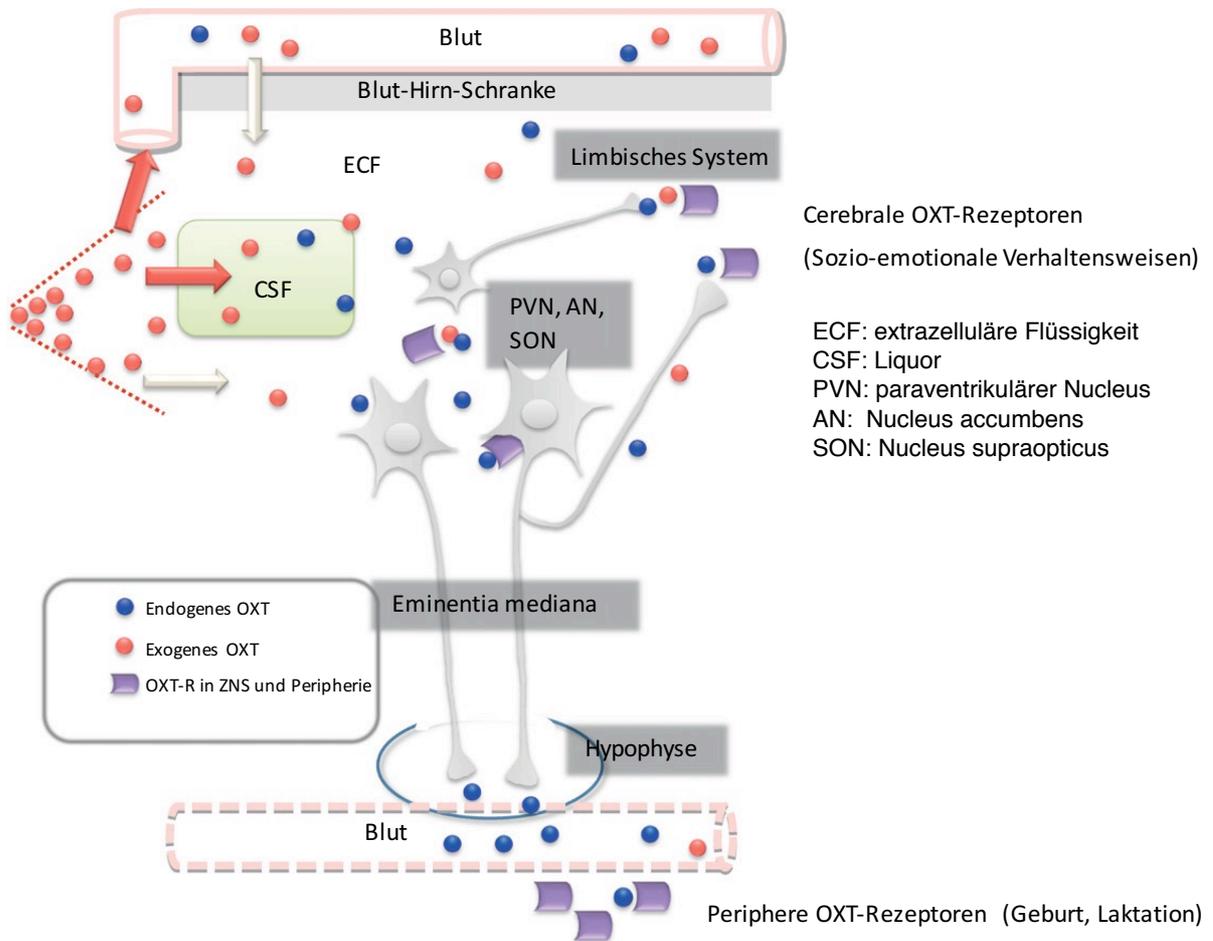


Abb. 5: Ausschüttung von OXT in Blut und Liquor, modifiziert nach [8]. OXT kann die Blut-Hirn-Schranke nur eingeschränkt überwinden. Die Konzentration im Liquor gibt somit im Wesentlichen die zentrale Aktivität wieder, während im Blut die sezernierte Menge aus der Hypophyse gemessen wird. In großer Menge exogen zugeführtes OXT gelangt sowohl in das Blut, als auch in das ZNS. Die zentrale Aktivität steht in Zusammenhang mit sozio-emotionalen Verhaltensweisen während die peripher gemessenen Konzentrationen (die aus dem HHL sezernierte Menge) für die „traditionellen“ OXT-vermittelten Effekte, wie Uteruskontraktion und Laktation, stehen.

Nach der Bildung in Kerngebieten des Hypothalamus gelangen OXT und AVP via axonalen Transport in die Neurohypophyse. Von dort aus können sie bei Bedarf in das Blut sezerniert werden. Hieraus ergibt sich die periphere Wirkung als Hormon.

Neben dieser Form der Sezernierung wird ein Teil des synthetisierten OXT und AVP direkt aus Zellkörpern und Dendriten von Nervenzellen im Hypothalamus und anderen Hirnarealen in das Interstitium des ZNS abgegeben [11]. Nach der Freisetzung diffundieren die Hormone zu den entsprechenden Rezeptoren, was eine intraneuronale G-Protein gekoppelte Signalkaskade auslöst. Hierbei sind die

Lokalisation des Rezeptors, die Konzentration der Neuropeptidliganden in der extrazellulären Flüssigkeit, sowie die Dichte an Rezeptoren für die Wirkung ausschlaggebend. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit von OXT und AVP können OXT-Rezeptoren auch AVP binden und umgekehrt, sodass die Effekte von AVP und OXT sich je nach Konzentration teilweise überschneiden können [8, 12] .

OXT und AVP diffundieren nach der Erfüllung ihrer Aufgabe an den entsprechenden Rezeptoren innerhalb des ZNS, dem Gradienten folgend, in den Liquor und sind dort nachweisbar. Somit wird die Konzentration von AVP und OXT im Liquor als repräsentativ für die Gesamtaktivität im ZNS angesehen.

Da endogenes AVP und OXT die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden können, lassen sich somit periphere und zentrale Sekretion getrennt beobachten, wobei die Freisetzung in das ZNS sowohl separat, als auch mit der Freisetzung in die Peripherie gekoppelt sein kann [13, 14]. So führen manche Stimuli, beispielsweise das Saugen an der mütterlichen Brust, sowohl zu einer zentralen, als auch einer peripheren Freisetzung von OXT. Die Milchejektion beispielsweise wird durch die Oxytocinaktivität im Blut vermittelt, die Förderung der emotionalen Bindung zwischen Mutter und Kind hingegen durch die Oxytocinfreisetzung in das ZNS [15].

Im Gegensatz dazu konnte ein Anstieg der AVP-Konzentration bei psychischem Stress im Wesentlichen innerhalb des ZNS beobachtet werden [16]. Bei sehr starkem Stress finden sich allerdings auch erhöhte AVP-Konzentrationen im Plasma [10].

Insgesamt können sich die Konzentrationen der Hormone in verschiedenen Hirnregionen, im Liquor und im Blut, sowie anderen Kompartimenten wie zum Beispiel Speichel, erheblich unterscheiden [14].

1.1.6. Dysregulation

Die korrekte Regulation von OXT und AVP ist essenziell für den Organismus. Eine Dysregulation der AVP-Konzentration kann zum einen zentral durch eine gestörte Sezernierung aus der Neurohypophyse verursacht sein. Eine unzureichende Sezernierung kann durch einen benignen oder malignen Tumor hervorgerufen werden, aber auch idiopathisch vorliegen. Gegenteilig dazu kann eine übersteigerte

Produktion von AVP durch Schädel-Hirn-Traumen, Entzündungen oder hormonproduzierende Tumore entstehen (Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion, SIADH).

Eine weitere Form der Dysregulation von AVP besteht in einer genetischen Mutation der V2-Rezeptoren der Niere beim Diabetes insipidus renalis, wodurch diese ihre Wirkung nicht entfalten können. Hierbei liegen sehr hohe periphere AVP Konzentrationen durch einen fehlenden negativen Feedback-Mechanismus vor [7].

Ein Überschuss an AVP im Blut äußert sich klinisch als Syndrom der inadäquaten ADH Sekretion. Hierbei kommt es durch die starke Antidiurese zu einer Wasserretention mit daraus folgender Verdünnungshyponatriämie [7]. Ein Mangel an AVP im Blut führt in erster Linie zum Bild eines Diabetes insipidus centralis mit gesteigerter Diurese und Hypernatriämie, Polyurie und Polydipsie.

Ein Mangel von OXT im Blut manifestiert sich klinisch primär im Rahmen der Geburt und Stillphase. So geht dieser mit einer verminderten Wehentätigkeit bis zum Geburtsstillstand, sowie protrahierter Plazentalösung und unzureichender Uterusinvolution nach der Geburt einher, was das Nachblutungsrisiko und die Gefahr einer Uterusatonie deutlich erhöht. Des Weiteren können erniedrigte OXT-Konzentrationen zu Problemen beim Stillen führen, da es eine zentrale Rolle in der Vermittlung des Milchflussreflexes spielt. Anderweitig sind diese Patienten überwiegend frei von körperlichen Symptomen [17].

Im ZNS spielen verminderte Hormonkonzentrationen eine Rolle für die psychische Gesundheit. In verschiedenen Studien konnte bereits die Auswirkung von Stress auf die OXT-Konzentration, sowie die Rolle der Balance des OXT- und AVP-Systems bei der Entstehung von Depressionen, Angststörungen und weiteren psychischen Erkrankungen aufgezeigt werden [8, 18]. So wurden signifikant verringerte Hormonkonzentrationen im Plasma bei Patienten mit Depression, Schizophrenie und posttraumatischem Belastungssyndrom im Vergleich zur Normalbevölkerung nachgewiesen. Dies könnte zukünftig potenzielle therapeutische Konsequenzen haben [19]. Nur wenige Studien haben die Konzentration von Oxytocin im Liquor untersucht, da dies nur invasiv möglich ist. Jokinen und Mitarbeiter konnten zum Beispiel in einer Studie zeigen, dass Patienten nach Selbstmordversuchen geringere

Oxytocinkonzentrationen im Liquor hatten als eine gesunde Vergleichspopulation [20].

1.1.7. Therapeutischer Einsatz

OXT und AVP werden im klinischen Alltag auch therapeutisch eingesetzt. OXT wird in der Geburtshilfe regelmäßig aufgrund seiner steigernden Wirkung auf die Uteruskontraktion perinatal zur Wehensteigerung bei Wehenschwäche, sowie zur Geburtseinleitung verwendet. Ebenso findet es postnatal prophylaktisch Verwendung zur schnelleren Plazentalösung, sowie zur Förderung der Kontraktion des Uterus und der Uterusgefäße, was zu einer schnelleren Blutstillung führt. OXT hat somit eine wichtige therapeutische Rolle bei der Behandlung und Prävention von postnatalen Nachblutungen und der lebensgefährlichen Uterusatonie [21].

Es existiert zudem ein OXT Nasenspray (Synthocinon®), welches allerdings in Deutschland nicht zugelassen ist. Der Einsatz des OXT Nasensprays ist seit längerem Gegenstand intensiver Forschung bei der Therapie von Persönlichkeitsstörungen, sowie der Untersuchung von Paarbindung und Studien in der Marktforschung [22]. Im Gegensatz zu endogenem körpereigenem OXT aus dem Blut kann in großer Menge nasal zugeführtes OXT die Blut-Hirn-Schranke überwinden und zu Effekten im ZNS führen [23, 24] .

AVP kommt aufgrund seiner kreislaufunterstützenden und blutdrucksteigernden Wirkung bei der Behandlung von Schockpatienten bzw. in der Intensivmedizin bei katecholaminrefraktärer Hypotonie zum Einsatz [25].

Als synthetisches Analogon existiert Desmopressin, welches aufgrund einer veränderten Peptidkette lediglich den antidiuretischen Effekt von AVP aufweist. Dieses findet zur Behandlung des Diabetes insipidus Verwendung [26].

1.2. Zirkadiane Rhythmik

1.2.1. Physiologie

Der Begriff der zirkadianen Rhythmik stammt aus der Chronobiologie und bezeichnet endogene biologische Prozesse, die sich mit einer Periodik von circa 24 Stunden wiederholen. Mit einer leicht variablen Periodenlänge kann sich der Organismus so weitgehend unabhängig zeitlich orientieren und auf wiederkehrende äußere Ereignisse, beispielsweise Tag und Nacht, einstellen. Dies erlaubt die Aufrechterhaltung und Optimierung eines konstanten Rhythmus bezüglich Schlaf-Wach-Phasen, Nahrungsaufnahme und Aktivität [27]. Für die Aufrechterhaltung dieser zirkadianen Rhythmik ist ein zentraler Koordinator erforderlich, der über einen äußeren Taktgeber synchronisiert werden kann, sodass eine Anpassung an wechselnde Bedingungen, beispielsweise Zeitzonewechsel, möglich ist. Beim Menschen wird der Nucleus suprachiasmaticus als die Schlüsselstelle der zirkadianen Rhythmik gesehen. So führt eine Zerstörung desselbigen zu einer Aufhebung der zirkadianen Rhythmik bestimmter Hormone [28]. Als wichtigster Taktgeber fungiert in der Regel helles Licht, das den Tag und damit meist Aktivierung vorgibt. Eine Ausnahme findet sich beispielsweise bei nachtaktiven Tieren. Die Synchronisation mit diesem Taktgeber geschieht über Ganglienzellen der Retina, die über den Tractus retinohypothalamicus in den Nucleus suprachiasmaticus projizieren. Dieser liegt im zentralen Teil des Hypothalamus kranial des Chiasma. Einige Fasern aus dem Ncl. suprachiasmaticus projizieren in die Epiphyse (Glandula pinealis). Von dort aus erfolgt die Melatoninausschüttung, die ebenfalls eine zentrale Rolle im Tag-Nacht-Rhythmus spielt und diesen beeinflussen kann [29]. So wird Melatonin hauptsächlich nachts, beziehungsweise in der Ruhephase, ausgeschüttet. Daher kann Melatonin therapeutisch insbesondere bei Schlafstörungen eingesetzt werden, die auf einen gestörten Tag-Nacht-Rhythmus zurückzuführen sind oder zum Beispiel um „jet lag“-bedingte Schlafstörungen zu überwinden [30].

Eine zirkadiane Rhythmik der Sekretion von Hormonen ist im Menschen nicht nur als Vermittler des Schlaf-Wach-Rhythmus, sondern auch zahlreicher anderer Körperfunktionen wie der Herzfrequenz, des Blutdrucks, der Urinproduktion und der Körpertemperatur bekannt. Insbesondere die periodische Ausschüttung von ACTH

und Cortisol, die in den frühen Morgenstunden ihre Maximalkonzentration im Blut aufweisen, spielt hierbei eine große Rolle [31]. Physiologisch ist aufgrund erhöhter AVP Konzentrationen im Blut die Urinproduktion in der Nacht geringer als tagsüber. Es gibt zudem Theorien, dass in den frühen Morgenstunden die Blutkonzentrationen von Oxytocin höher sind, was ursächlich für die Häufung von Geburten in der Nacht und den frühen Morgenstunden sein könnte [32].

1.2.2. Störungen der zirkadianen Rhythmik

Der hypothalamische Nucleus suprachiasmaticus wurde als wichtigster Taktgeber der „inneren Uhr“ des menschlichen Organismus identifiziert [33]. Ein Verlust seiner Funktion führte unter anderem zu einer gestörten Schlaf-Wach-Rhythmik im Tierexperiment [34].

Störungen der zirkadianen Rhythmik stellen eine starke Beeinträchtigung der Lebensqualität dar. So kann beispielsweise durch künstliches Licht oder Zeitzoneübergreifende Reisen die zirkadiane Rhythmik gestört werden und in ihrer Synchronisierung vom gegebenen Tag-Nacht-Rhythmus abweichen. Insbesondere eine gestörte Schlaf-Wach-Rhythmik konnte mit erhöhten Risiken für diverse metabolische Krankheiten in Zusammenhang gebracht werden [27]. In einer Studie von Pisani [35] wurde der Schlaf-Wach-Rhythmus von Patienten untersucht, die auf einer Intensivstation behandelt wurden. Hierbei konnte gezeigt werden, dass dieser sehr häufig von Umgebungsfaktoren, wie unnatürlichen Lichteinflüssen, sowie psychologischen Ursachen gestört ist [36]. Bei kritisch kranken Patienten zeigten sich Störungen der zirkadianen Rhythmik ebenfalls sehr häufig und stellten eine starke Beeinflussung der Lebensqualität dar [37]. Im Bereich der Anästhesie und Intensivmedizin konnte ebenso ein Zusammenhang zwischen der Verwendung von Anästhetika und Sedativa und einer Dysregulation des Schlaf-Wach-Rhythmus identifiziert werden [38].

1.3. Subarachnoidale Blutung

1.3.1. Pathophysiologie, Diagnostik und Risikofaktoren

Im Rahmen der Untersuchungen dieser Arbeit litten 15 der 20 eingeschlossenen Patienten an einer aneurysmatischen Subarachnoidalblutung (SAB), weshalb auf dieses Krankheitsbild im Folgenden näher eingegangen wird.

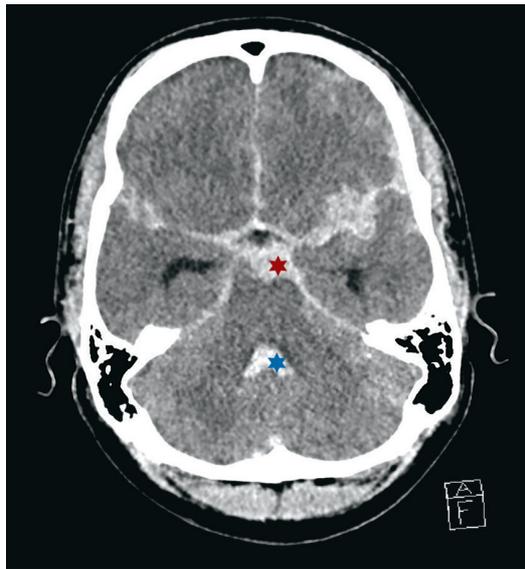


Abb.6: Typisches Bild einer SAB mit Ausdehnung in die basalen Zisternen (rot) und vierten Ventrikel (blau) [82]

Subarachnoidalblutungen sind schwerwiegende Erkrankungen, die mit einer hohen Mortalität und Morbidität einhergehen [39]. Sie stellen 5-10% aller Schlaganfallereignisse und entstehen in 80% der Fälle aus einem Aneurysma der intrakraniellen Gefäße im Subarachnoidalraum [40]. Prädilektionsstelle für ein solches Aneurysma bildet der Circulus arteriosus willisi, der den Carotis- und den Vertebraliskreislauf verbindet. 80-90% aller Aneurysmen sind hierbei im vorderen Kreislauf lokalisiert [41].

Über die Pathophysiologie der Blutung ist bekannt, dass die Ruptur des Aneurysmas, und die damit einhergehende Blutung in den Subarachnoidalraum, den intrazerebralen Druck (ICP) steigert und den zerebralen Blutfluss (CBF) mindert. Hierbei wird die Symptomatik durch die zunehmende meningeale Reizung und die zunehmende Liquorabflussstörung mit daraus resultierendem

Verschlusshydrozephalus geprägt [39]. In der Spätphase der Blutung kommt es als häufige Komplikation zu einem zerebralen Vasospasmus, wobei als Ursache unter anderem Entzündungsmediatoren, endotheliale Faktoren und Oxyhämoglobin, das aus dem angesammelten Blut freigesetzt wurde, in Betracht gezogen werden [42].

Die Inzidenz der SAB liegt bei 2-22/100.000 Einwohnern. Die Prognose der SAB ist nach wie vor als eher schlecht einzustufen. 10-25% der Patienten versterben auf dem Weg in die Klinik, 5% versterben innerhalb der ersten 24h. Insgesamt konnte in den letzten Jahren die Mortalität der SAB von über 50% auf circa 35% gesenkt werden. Ein Drittel der Patienten bleibt auf dauerhafte Pflege angewiesen [39]. Die Prognose ist stark abhängig von Komorbidität und Alter der Patienten, sowie Schwere der Blutung, dem initialen klinischen Zustand, sowie dem Auftreten von Komplikationen im Verlauf [39].

Tab. 2: Hunt-Hess Skala Quelle: [43]

Grad	Klinik
0	unrupturiert
I	geringe Kopfschmerzen und leichte Nackensteife, keine neurologischen Defizite
II	moderater Kopfschmerz, Nackensteife, ggfs. Hirnnervendefizite, keine weiteren neurologischen Ausfälle
III	Somnolenz, ggfs. mildes neurologisches Defizit
IV	Stupor, milde bis schwere Hemiparese
V	tiefes Koma

Tab. 3: Einteilung der SAB nach der World Federation Of Neurosurgical Societies, nach [42]

Grad	GCS	fokales neurologisches Defizit(Aphasie, Hemiparese)
1	15	nein
2	13 - 14	nein
3	13 - 14	ja
4	7 - 12	ja oder nein
5	3 - 6	ja oder nein

In der Erstversorgung existieren vor allem zwei wichtige Skalen, um die Schwere der SAB zu klassifizieren und damit sowohl prognostische Abschätzungen, als auch therapeutische Entscheidungen treffen zu können: Die Hunt-Hess Skala (Tab. 2),

sowie das Grading System der World Federation of Neurosurgical Societies for Subarachnoid Hemorrhage (WFNS) (Tab. 3), das wiederum auf der Glasgow Coma Scale (GCS) basiert [43, 44]. Zur Diagnostik der Subarachnoidalblutung wird initial ein CCT durchgeführt (Abb.6).

Therapeutische Möglichkeiten umfassen sowohl interventionelle Formen, als auch konservative Behandlungsmethoden. Standardverfahren für Interventionen stellen derzeit das operative Clipping (Abklemmen) des Aneurysmas, sowie das endovaskuläre Coiling dar. Das Aneurysma-Clipping ist eine neurochirurgische Intervention bei der das Aneurysma nach operativer Schädelöffnung durch Metallclips abgeklemmt wird. Beim endovaskulären Coiling wird das Aneurysma von der Gefäßseite sondiert, mit Metallspiralen gefüllt und damit verschlossen. Die Entscheidung, welches der Verfahren angewendet wird, hängt unter anderem von Größe und Lokalisation des Aneurysmas und insbesondere seiner Form ab [39].

Patienten mit einer SAB können als Komplikation der Blutung einen erhöhten Hirndruck entwickeln. Daher müssen diese Patienten engmaschig überwacht werden. Im Bedarfsfall wird frühzeitig zum ICP Monitoring und zur Druckentlastung eine externe Ventrikeldrainage (EVD) angelegt (Abb.7). Da ein erhöhter Hirndruck seinerseits zu einer schlechteren Perfusion des Hirngewebes führt, ist die Kontrolle des Hirndrucks von prognostisch wichtiger Bedeutung [40]. Die EVD ist hierfür die zuverlässigste diagnostische Maßnahme, da sie erlaubt den Hirndruck zu überwachen und zur Druckentlastung oder zur Diagnostik Liquor abzulassen. Für die Anlage der EVD wird ein Schlauch über eine Bohrloch-Trepanation durch die Schädeldecke und möglichst stumme Bereiche des Gehirns in das Ventrikelsystem eingebracht.

Tab. 4: Glasgow Outcome Scale, Quelle: eigene Tabelle nach [44]

GOS	Definition
1 Tod	Schwerste Schädigung mit Todesfolge
2 persistierender vegetativer Zustand	Andauernder Zustand fehlender Reaktionsfähigkeit und höherer kognitiver Fähigkeit
3 Schwere Behinderung	Dauerhafte Hilfsbedürftigkeit bei Aktivitäten des täglichen Lebens
4 Mäßige Behinderung	keine Abhängigkeit von Hilfsmitteln, arbeitsfähig in speziellen Einrichtungen
5 geringe Behinderung	geringe oder keine neurologische Beeinträchtigung

Das Outcome nach SAB, beziehungsweise nach Schädigungen des Gehirngewebes, kann nach der Glasgow Outcome Scale (GOS) eingeteilt werden. Hierbei wird der neurologische Status und die Einschränkung im Alltag des Patienten bewertet [45].

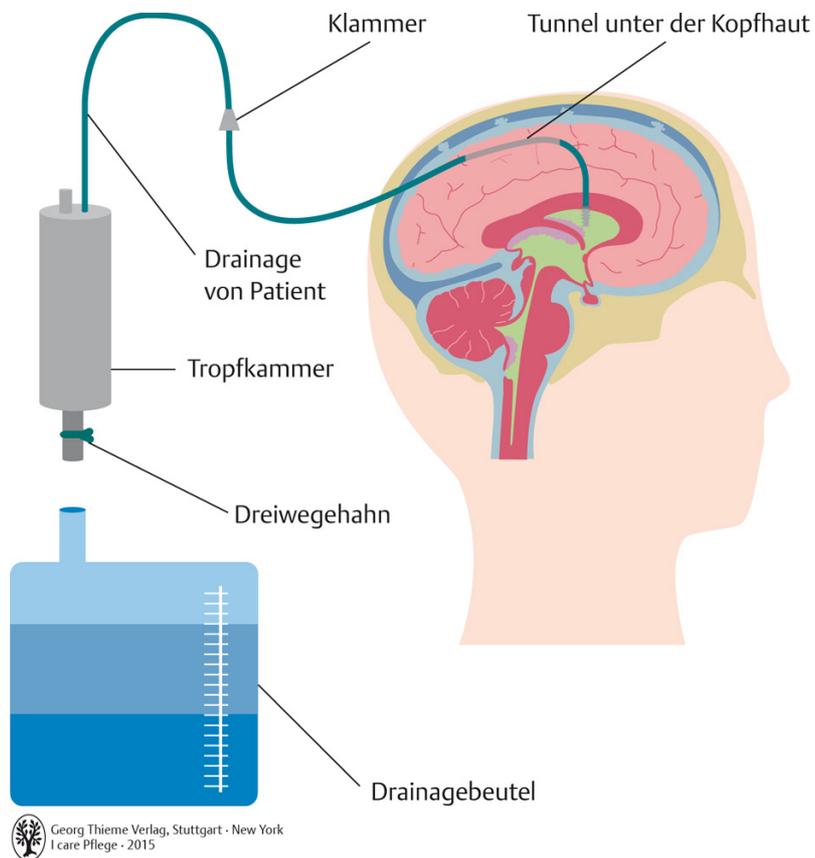


Abb. 7: Skizze einer EVD Quelle: https://www.thieme.de/statics/dokumente/thieme/final/de/dokumente/tw_pflegepaedagogik/abb-61-04-externe-ventrikeldrainage.jpg

1.4. Zielsetzung der Studie

Ziel der Studie ist zum einen herauszufinden, ob eine zirkadiane Rhythmik für OXT und AVP existiert, sowie die Daten der bereits existierenden Studien zu tageszeitlichen Schwankungen von Oxytocin und Arginin-Vasopressin zu überprüfen. Die wenigen vorangegangenen Studien wiesen alle sehr geringe Patientenzahlen sowie inhomogenes Patientengut auf, weshalb in der vorliegenden Arbeit Wert auf homogene Bedingungen und den Ausschluss von Störfaktoren gelegt wurde. Amico konnte bereits im Jahr 1983 bei einer Studie an Patienten mit verschiedenen Erkrankungen ein Maximum der OXT-Konzentration im Liquor um 12 Uhr mittags nachweisen. Allerdings gingen insgesamt nur 4 Patienten in die statistische Analyse ein [46]. Kuboyama untersuchte 1988 bei 4 SAB Patienten alle 2 Stunden im Verlauf von 2 Tagen die OXT und AVP Konzentrationen im Liquor und zeigte, dass die OXT Konzentration einen Peak um 12 Uhr hatte und in der Nacht abnahm, während AVP keinen festen Rhythmus aufwies [47]. Konzentrationsbestimmungen im Blut erfolgten nicht. In den Studien von Kuboyama und Amico lagen zahlreiche Störfaktoren vor, wie zum Beispiel unklarer Einfluss von Bettruhe, zentral wirksamen Medikamenten, Neurostatus der Patienten und einer unbalancierten Anzahl von Männern und prä- und postmenopausalen Frauen.

Vorrangiges Ziel der Studie ist es, diese klinischen Ergebnisse aus den 1980er Jahren an einem größeren und einheitlicheren Patientenkollektiv unter den Bedingungen der modernen Intensivmedizin zu überprüfen. Diese Erkenntnisse haben besondere Relevanz für die Planung und Durchführung zukünftiger klinischer Studien in Bezug auf die Neuropeptidkonzentration und möglichen Einfluss der Abnahmezeitpunkte.

Insbesondere für die psychischen Wirkungen der OXT- und AVP-Konzentrationen ist die zentrale Neuropeptidkonzentration, also die Konzentration im ZNS, von großer Relevanz. Diese kann beim Menschen am ehesten im Liquor untersucht werden [8]. Da Liquor beim Menschen normalerweise nicht regelhaft zu gewinnen ist, ist die Suche nach einem Medium, das repräsentative Konzentrationen aufweist, naheliegend. Bisher wurde dafür in zahlreichen Studien Blut verwendet [48]. Allerdings gibt es Hinweise, dass Blutkonzentrationen von Neuropeptiden nur schwach mit den Liquorwerten korrelieren und damit nur eingeschränkt als

Surrogatparameter für zentrale Neuropeptidkonzentrationen dienen können [14]. Vor diesem Hintergrund soll untersucht werden, ob es möglich ist, in anderen Körperflüssigkeiten die Konzentrationen der relevanten Hormone zu bestimmen. Speichel bietet sich durch seine einfache und sichere Verfügbarkeit als mögliches Medium an. Inwiefern von Speichelkonzentrationen auf Blut- und Liquorkonzentrationen geschlossen werden kann, ist noch nicht ausreichend untersucht.

Ein drittes Ziel der Studie ist es zu untersuchen, ob Konzentrationen von OXT und AVP im Liquor oder Speichel mit dem neurologischen Status bei Krankheitsbeginn und nach Ende der Akutphase korrelieren. Zu diesem Zweck wurden der initiale neurologische Status mit Hilfe der Hunt-Hess Skala (bei SAB Patienten), sowie der funktionelle Status nach 3 Monaten mit Hilfe der Glasgow Outcome Scale dokumentiert.

Zusammenfassend ist das primäre Ziel somit, neue Erkenntnisse für Diagnostik und Prognose von neurochirurgischen Intensivpatienten zu gewinnen und die Planung zukünftiger Studien zu erleichtern. Hierzu sollen tageszeitliche Schwankungen der Konzentrationen von OXT und AVP in den drei Kompartimenten Liquor, Plasma und Speichel untersucht werden. Ferner wird analysiert, ob Korrelationen zwischen den Neuropeptidkonzentrationen in den einzelnen Kompartimenten nachweisbar sind, und inwieweit eine Korrelation mit dem neurologischen Status und Outcome der Patienten möglich ist.

2. Material und Methoden

2.1. Patientencharakteristika und Methoden

2.1.1. Patientenkollektiv und Patientencharakteristika

Das Patientenkollektiv stammt aus den Intensivstationen IS 1 und IS 2 des Klinikums rechts der Isar in München und besteht aus 12 weiblichen (6 prä- und 6 postmenopausal) und 8 männlichen Patienten (weiblich 60%, männlich 40%). Das mittlere Alter der Patienten beträgt 54,5 Jahre (min. 34 Jahre; max. 75 Jahre).

15 der 20 untersuchten Patienten litten an einer aneurysmatischen SAB. Diese Patienten mit SAB wurden nach der Hunt-Hess Skala (HHS) näher klassifiziert. Davon waren alle Patienten symptomatisch, wobei 7 von 15 Patienten eine Grad 2 Symptomatik nach HHS hatten, weitere 7 eine HHS vom Grad 3 und ein Patient unter einer HHS Grad 4 litt. Fünf der Patienten wiesen andere Diagnosen auf (1 mit einer Ponsblutung, 1 Meningeom, 1 Hydrozephalus bei Metastase, 1 Schädel-Hirn-Trauma, 1 nicht-aneurysmatische SAB). Das Outcome nach 3 Monaten wurde in Follow up Untersuchungen mittels Glasgow Outcome Scale (GOS) klassifiziert. Hierbei konnten 18 Patienten nachverfolgt werden. 9 Patienten hatten einen GOS 5, 6 Patienten einen GOS 4 und 3 Patienten mit GOS 3.

Ebenso wurden die Tage zwischen Ereignis und Gewinnung der Proben erfasst. Dieser lag bei durchschnittlich 10,9 Tagen (min. 5 Tage, median 9 Tage, max. 28 Tage).

2.1.2. Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Patienten, die das 18. Lebensjahr vollendet hatten, einwilligungsfähig waren, und die eine liegende EVD zu Zwecken des Hirndruck-Monitorings bzw. der Liquorableitung hatten.

Ausschlusskriterien waren Minderjährigkeit, Desorientiertheit, Sedierung, floride Infektionen, Katecholaminpflichtigkeit, Cortisonsubstitution, Hirndruck und Ablehnung durch den Patienten.

2.1.3. Aufklärung und Einwilligung

Eine Aufklärung über den Ablauf der Studie sowie Nutzen und Risiken einer Studienteilnahme erfolgte durch ein vorformuliertes Merkblatt und eine mündliche Aufklärung durch den zuständigen Arzt. Die Einwilligung erfolgte schriftlich und durch den Patienten selbst.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München genehmigt (Projektnummer 5459/12).

2.2. Konzeption der Klinischen Studie

2.2.1. Zeitlicher Ablauf

Patienten, die im Zeitraum von 11/2015–12/2016 mit einer Ventrikeldrainage versorgt waren und auf einer der beiden operativen Intensivstationen des Klinikums rechts der Isar in Behandlung waren, wurden bezüglich des Studieneinschlusses gescreent.

Eingeschlossen wurden 20 neurochirurgische Patienten, die nach überstandener Akutphase ihrer Erkrankung rein zu Zwecken des Hirndruckmonitorings mit einer externen Ventrikeldrainage versorgt waren, einwilligungsfähig waren und dem Studieneinschluss zustimmten.

Die Lichter auf der Intensivstation wurden um 06:00 Uhr morgens eingeschaltet und um 22:00 Uhr ausgeschaltet. Zusätzlich war jeder Raum mit Tageslicht versehen und die Jalousien der Fenster waren tagsüber geöffnet, so dass auch natürliches Licht im Tagesrhythmus die Patienten erreicht hat.

Den Patienten wurden protokollmäßig im Zeitraum eines Tages jeweils im 6-Stunden-Rhythmus (6:00, 12:00, 18:00, 24:00 Uhr) Blut-, Liquor- und Speichelproben entnommen. Der Liquor wurde aus der vorhandenen externen Ventrikeldrainage gewonnen. Das Blut wurde aus vorhandenen arteriellen Gefäßzugängen abgenommen. Der Speichel wurde über einen Watteträger, den die Patienten ca. eine Minute in der Backentasche behielten, gesammelt.

Die Probenentnahme und -asservierung erfolgte auf folgende Weise:

2.2.2. Blutentnahme und -aufbereitung

Die Blutentnahme erfolgte aus dem liegenden arteriellen Zugang. Nach Vorwegabzug von 2ml wurden jeweils 2,7ml arterielles Blut in eine EDTA S-Monovette® (Sarstedt) abgenommen. Die für die Blutproben verwendeten EDTA-Röhrchen waren bereits auf 4°C gekühlt, wurden auf Eis transportiert und innerhalb weniger Minuten bei 4°C mit 3000g 10 min lang zentrifugiert. Vom Plasma wurden 800µl abpipettiert und in einem Eppendorf Tube bei -80°C tiefgefroren.

2.2.3. Liquorentnahme und -aufbereitung

Die Liquorentnahme von 2ml in eine gekühlte EDTA-Monovette erfolgte aus der vorhandenen EVD nach 1ml Vorwegabzug. Die Proben wurden ebenso wie die Blutproben zentrifugiert, um eventuelle Blutrückstände vom Liquor zu trennen, sowie um Liquor und Blut gleich zu behandeln und somit Verfälschungen zu vermeiden. Ebenso wurden 800µl Liquor in ein Eppendorf Cup pipettiert und bei -80°C tiefgefroren.

2.2.4. Speichelasservierung und -aufbereitung

Der Speichel wurde über einen Watteträger (Salivette von Sarstedt®) gewonnen, den der Patient ca. 1min in der Backentasche aufbewahrte. Danach wurde der Watteträger wieder in die Hülle gesteckt und bei -80°C tiefgefroren. Kurz vor Analyse erfolgte nach Auftauen eine Ultrazentrifugation des Watteträgers.



Abb. 8: Watteträger der Firma Sarstedt®, die zur Speichelgewinnung verwendet wurden; Quelle: eigene Fotos

2.3. Messung der Neuropeptidkonzentrationen

2.3.1. Prinzip des Radioimmunassays

Die Hormonbestimmungen für AVP und OXT wurden in Kooperation mit dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie (Abteilung Verhaltensneuroendokrinologie, Prof. Dr. Landgraf) durchgeführt. Hierfür wurde ein hochsensitiver Radioimmunoassay (RIA) verwendet.

Der RIA eignet sich für die Messung von Peptidhormonen, da im Vergleich zum ELISA (enzyme linked sorbent assay) auch sehr geringe Konzentrationen zuverlässig bestimmt werden können.

Diese Methode zählt zu den „Ligandenassays“. Beim Immunoassay ist der Ligand ein spezifischer Antikörper, der über den entstehenden Antigen-Antikörper-Komplex die Quantifizierung des zu messenden Antigens erlaubt. Die Antikörper können mono-, poly- oder gemischt-monoklonal/polyklonal sein. Zum Versuchsansatz gehören außerdem zwei verschiedene Antigene, ein (radioaktiv- oder enzymatisch-) markiertes Antigen und der analytische Antikörper.

Die Assays können in nicht-kompetitiv und kompetitiv unterschieden werden. Ein RIA ist ein kompetitiver Ansatz, es konkurrieren dabei das radioaktiv markierte Antigen und das zu messende Antigen um die Bindungsstellen des Antikörpers.

Zum gesuchten Antigen wird eine definierte Menge eines markierten Tracers, ebenfalls ein Antigen, gegeben. Der spezifische Antikörper wird der Probe im Unterschuss (in geringerer Konzentration als das gesuchte Antigen) beigelegt. Beide Antigene konkurrieren um die Bindungsstellen des Antikörpers. Je mehr markierte Antigene an den Antikörper gebunden vorliegen, desto geringer ist die Konzentration des gesuchten Antigens. Im nächsten Schritt werden die gebundenen Antigen-Antikörper-Komplexe von den freien, ungebundenen Antigenen getrennt und nur das gebundene Antigen wird bestimmt. Je höher die Konzentration des gesuchten Antigens im Serum ist, desto geringer ist das Signal, da die nicht-markierten Antigene die Bindungsstellen für die markierten Antigene besetzen [49].

Dieser umgekehrt-proportionale Zusammenhang wird in einer Standardkurve

wiedergegeben. Das Signal des Antigen-Antikörper-Komplexes wird gegen den Logarithmus der Antigenkonzentration aufgetragen, um daraus die Konzentration in der Probe bestimmen zu können.

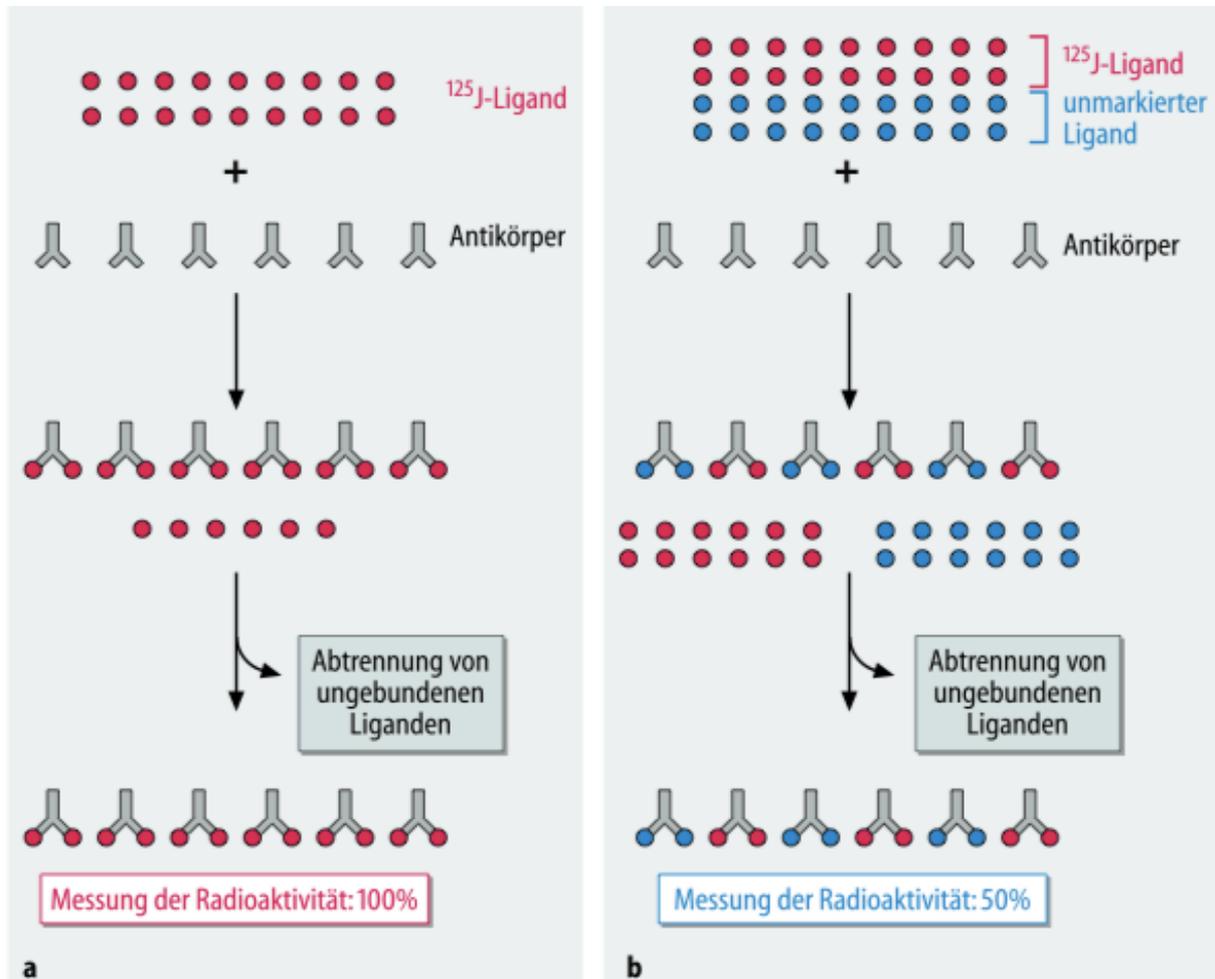


Abb. 9: Schematische Darstellung des Ablaufs eines Radioimmunoassays
 Quelle: „Biochemie und Pathobiochemie“ von Löffler, Petrides, Springer Verlag 2006 S. 761 Abb 25.2

2.3.2. Konkrete Durchführung des Radioimmunassays

Die Proben wurden bei -80°C bis zur Extraktion gelagert. Alle Proben wurden identisch behandelt und in demselben Arbeitsgang analysiert. Zunächst erfolgte eine Extraktion der Proben unter Verwendung von LiChroprep Si60 (Merck) als Sorbens, das bei 700°C für 3 Stunden hitzeaktiviert wurde. Zunächst wurden 20mg des LiChroprep Si60 in 1ml destilliertem Wasser zu den Proben hinzugefügt. Diese wurden 30min lang vermischt und mit destilliertem Wasser und 0,01 N HCl zweimalig gewaschen. Anschließend wurde das LiChroprep mit 60% Aceton eluiert. Das

Extrakt wurde lyophilisiert und dann für die getrennte Analyse von Oxytocin und AVP durch einen hochsensitiven und spezifischen RIA partitioniert. Die Extraktion dient dazu, potentiell interferierende Moleküle zu entfernen und den Analyten anzureichern.

Dann erfolgte die radioimmunometrische Analyse mittels in Kaninchen gezogener Anti-OXT und Anti-AVP-Antikörper. Als Tracer wurden Iod-125 markierte Neuropeptide (PerkinElmer) verwendet. Die Sensitivität dieser Methode beträgt 0,5pg/Ansatz dabei wurde ein Volumen von 400 μ l eingesetzt. Die Inter- bzw Intraassayvariabilität beträgt weniger als 10%. Aufgrund der hohen Spezifität der Antikörper finden sich Kreuzreaktionen mit anderen ähnlichen Peptiden nur in 0,7% der Grundgesamtheit [14].

2.4. Datenmanagement

Die Dokumentation startete bei Studieneinschluss und erfasste die Daten im Verlauf des Intensivaufenthaltes, bei Entlassung und im Follow-up nach 3 Monaten.

Dokumentiert wurden Alter, Geschlecht, Vorerkrankungen und Vormedikation, initiale Punkte der Glasgow Coma Scale (GCS) und körperliche Untersuchungsbefunde, sowie die Befunde der Follow-up-Untersuchungen mit Glasgow Outcome Scale (GOS). Die Archivierung der klinischen Daten sowie der Ergebnisse der endokrinologischen Untersuchungen erfolgte in pseudonymisierter Form in einer elektronischen Datenbank.

2.5. Statistische Analyse

Die primäre Datenerfassung erfolgte mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Excel (Version 15.16). Die primären Daten wurden anschließend zur statistischen Analyse in die Statistiksoftware R (Version 3.5.2) eingelesen und im Hinblick auf Unterschiede der Neuropeptidkonzentrationen zwischen verschiedenen Abnahmezeiten und Geschlechtern ausgewertet. Korrelationen von Hunt-Hess Skala, sowie GOS mit den Neuropeptidkonzentrationen in den drei Kompartimenten Blut, Speichel und Liquor wurden mit Hilfe der Statistiksoftware SPSS (Version 24) sowie der Statistiksoftware R berechnet. Die Datenanalyse erfolgte unter

Hilfestellung des Instituts für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie.

Die Neuropeptidkonzentrationen in den drei Kompartimenten wurden mittels Friedman-Test mit post-hoc-Wilcoxon-Test und Bonferri Korrektur analysiert.

Die Korrelation der verschiedenen Konzentrationen von Oxytocin und AVP im Blut, Speichel und Liquor zu den jeweiligen Zeitpunkten wurde mit der Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman bestimmt.

Die tageszeitlichen Schwankungen im gesamten Patientenkollektiv und getrennt nach Geschlechtern wurden in einer Analysis of Variance (ANOVA) untersucht. Die post-hoc-Analyse erfolgte mit Hilfe des Rangsummentests nach Wilcoxon. Etwaige Korrelationen der Neuropeptidkonzentrationen in den drei Kompartimenten mit GOS-Scores wurden mit Hilfe des Kruskal-Wallis Tests berechnet. Bei der Analyse des Zusammenhangs zwischen Hunt/Hess und Neuropeptidkonzentrationen wurde ein Mann-Whitney-U-Test angewandt, da nur zwei HH-Gruppen vorlagen. Als statistisch signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 0,05 gewählt.

3. Ergebnisse

Bei allen Patienten konnten die Proben zu allen vier Zeitpunkten gewonnen und asserviert, sowie im RIA nachgewiesen werden. 18 von 20 Patienten konnten bis zum Studienende, 3 Monate nach Studieneinschluss, klinisch nachverfolgt werden.

Die Proben wurden zunächst daraufhin untersucht, ob die Konzentrationen der Neuropeptide in den einzelnen Kompartimenten (also Blut, Speichel und Liquor) eindeutig bestimmbar sind und sich grundsätzlich signifikant voneinander unterscheiden. Im Liniendiagramm (Abb 10) ist bereits sichtbar, dass keine deutlichen tageszeitlichen Schwankungen zu finden sind.

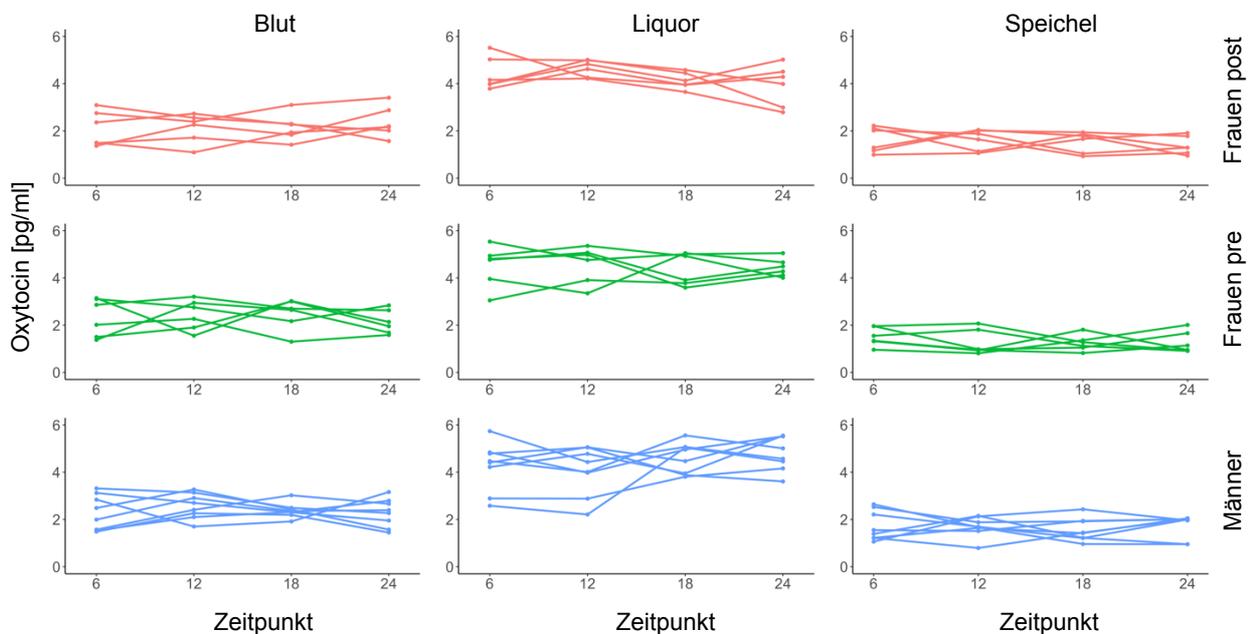


Abb. 10: Die Abbildung zeigt die individuellen Verläufe der Oxytocinkonzentration getrennt nach Geschlecht und Menopausenstatus (rot: postmenopausal, grün: prämenopausal, blau: Männer) aus [50]

Schon auf den ersten Blick ist in Abbildung 10 zu erkennen, dass die Messwerte für OXT im Liquor im Bereich von 2,2–5,7 pg/ml systematisch höher sind als im Blut (1,1–3,4 pg/ml). Die Blutkonzentrationen liegen wiederum systematisch über denen im Speichel (0,8–2,6 pg/ml). Diese Konzentrationsunterschiede zwischen den drei Kompartimenten ohne Berücksichtigung der Tageszeit waren in der statistischen Auswertung signifikant ($p < 0,001$).

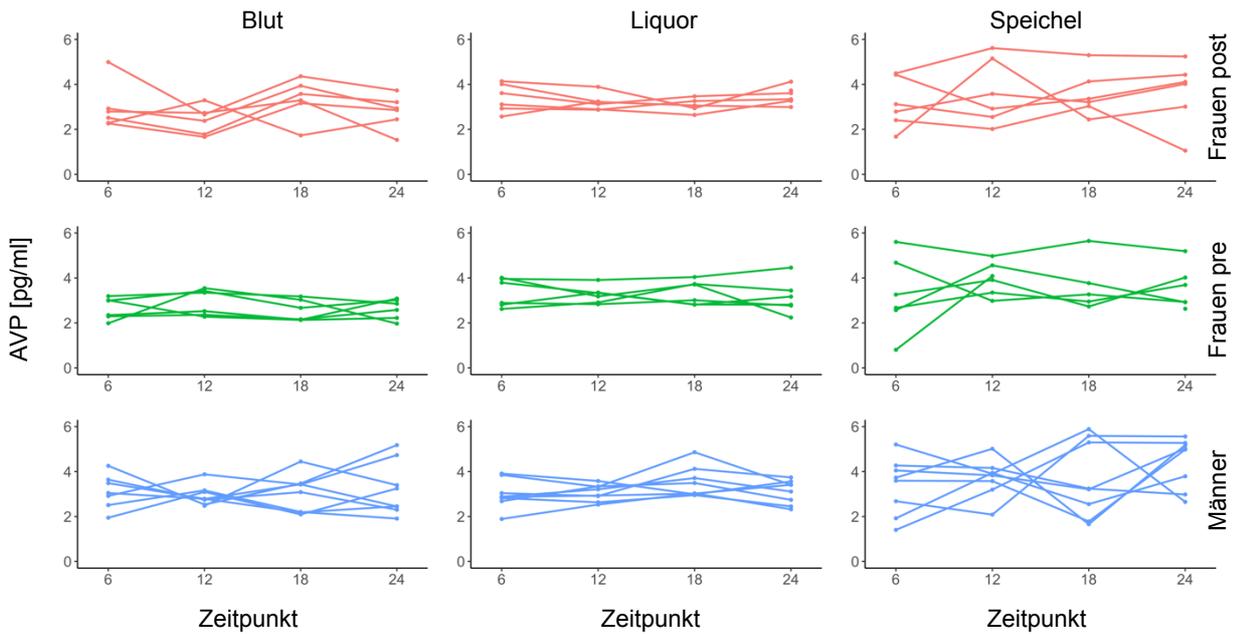


Abb. 11: Die Abbildung zeigt die individuellen Verläufe der AVP Konzentration getrennt nach Geschlecht und Menopausenstatus aus [50]

Die Konzentrationen von AVP im Blut und Speichel waren signifikant unterschiedlich ($p < 0,001$), ebenso wie die Konzentration zwischen Blut und Liquor. Bezüglich den Konzentrationen in Liquor und Speichel konnte kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Diese Konzentrationsunterschiede zwischen den drei Kompartimenten waren in der statistischen Auswertung ebenso wie beim OXT in allen Geschlechtergruppen und im Gesamtkollektiv signifikant ($p < 0,001$).

3.1. Zeitlicher Verlauf der Konzentrationen

Die tageszeitlichen Schwankungen der Neuropeptidwerte wurden getrennt nach den verschiedenen Kompartimenten (Blut, Speichel und Liquor) mittels ANOVA auf signifikante Unterschiede hin analysiert. Als post-hoc Test wurde der Wilcoxon Test verwendet. Im Folgenden werden Neuropeptidkonzentrationen für das gesamte Patientenkollektiv als Boxplots dargestellt.

3.1.1. Oxytocin

3.1.1.1. Blut

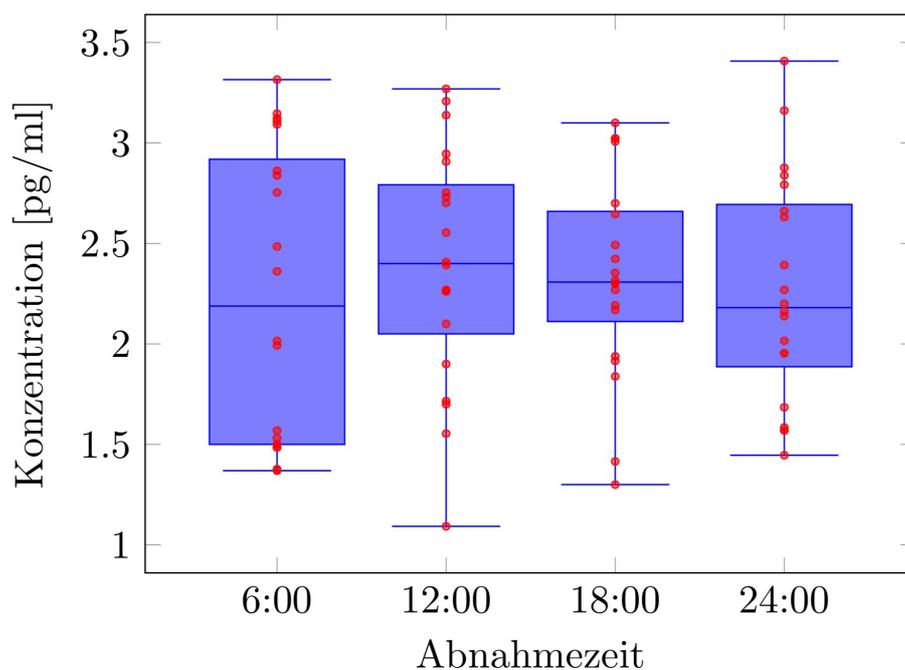


Abb. 12: OXT-Konzentrationen im Blut zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil als Box und die Minimum und Maximumwerte als Antenne.

Tab. 5: Konzentrationen von OXT in pg/ml im Blut aller Patienten der Studie abhängig vom Abnahmezeitpunkt

Uhrzeit	6	12	18	24
Min	1.37	1.09	1.30	1.45
Median	2.19	2.41	2.31	2.18
MW	2.24	2.43	2.34	2.27
Max	3.32	3.27	3.10	3.41

Es findet sich keine eindeutige tageszeitliche Rhythmik in der Konzentration von OXT im Plasma der Studienpatienten. Man findet jedoch eine starke interindividuelle Schwankungen der Oxytocinkonzentration zu allen Zeitpunkten.

3.1.1.2. Liquor

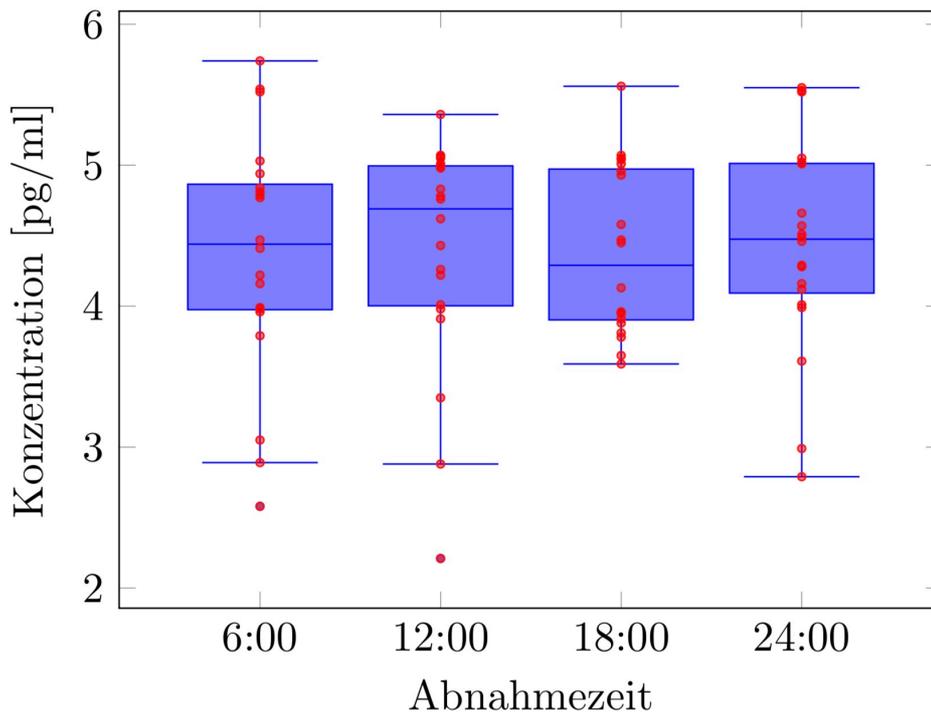


Abb. 13: OXT-Konzentrationen im Liquor zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Tab. 6: Konzentrationen von OXT in pg/ml im Liquor aller Patienten der Studie abhängig vom Abnahmezeitpunkt

Uhrzeit	6	12	18	24
Min.	2.58	2.21	3.59	2.79
Median	4.44	4.62	4.29	4.48
MW	4.36	4.37	4.39	4.43
Max	5.74	5.36	5.56	5.55

Es findet sich keine eindeutige tageszeitliche Rhythmik in den Konzentrationen von OXT im Liquor der Studienpatienten. Insbesondere findet sich um 12 Uhr kein

eindeutiges Maximum der OXT Werte. Der Liquor war bei der Entnahme bei 6 von 20 Patienten leicht blutig.

3.1.1.3. Speichel

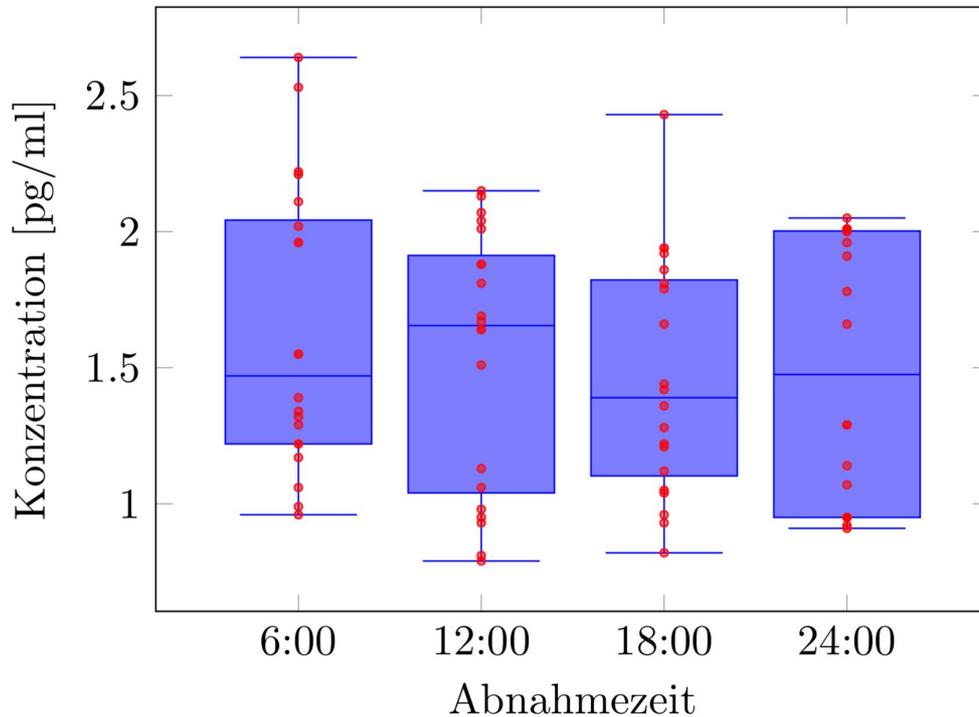


Abb. 14: OXT-Konzentrationen im Speichel zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Tab. 7: Konzentrationen von OXT in pg/ml im Speichel aller Patienten der Studie abhängig vom Abnahmezeitpunkt

Uhrzeit	6	12	18	24
Min.	0.88	0.79	0.82	0.91
Median	1.47	1.64	1.39	1.48
MW	1.62	1.53	1.46	1.49
Max.	2.64	2.15	2.43	2.05

Das Neuropeptid OXT ließ sich eindeutig im Speichel nachweisen. Die Speichelkonzentrationen waren durchgehend niedriger als die Liquorkonzentrationen und größenordnungsmäßig etwa so hoch wie im Blut. Es fand sich keine eindeutige tageszeitliche Rhythmik in den Konzentrationen von OXT im Speichel der Studienpatienten.

3.1.2. Arginin-Vasopressin

3.1.2.1. Blut

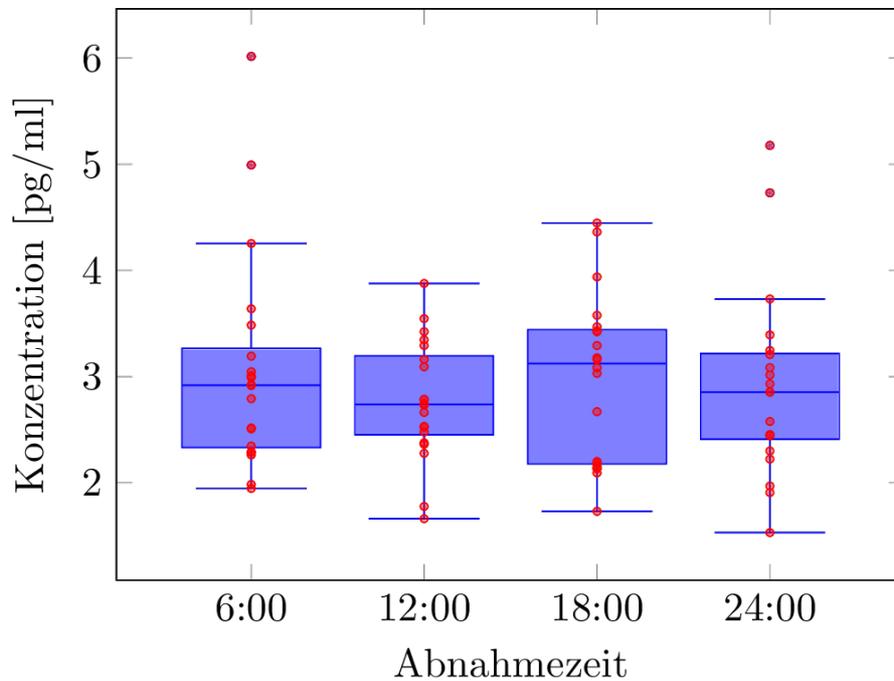


Abb. 15: AVP-Konzentrationen im Blut zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Tab. 8: Konzentrationen von AVP im Blut in pg/ml aller Patienten der Studie abhängig vom Abnahmezeitpunkt

Uhrzeit	6	12	18	24
Min.	1.95	1.66	1.73	1.53
Median	2.88	2.73	3.12	2.85
MW	3.04	2.76	2.99	2.90
Max.	6.02	3.88	4.45	5.18

Es findet sich keine eindeutige tageszeitliche Rhythmik in den Konzentrationen von AVP im Blut der Studienpatienten. Die Messwerte lagen im Mittel etwa bei 3 pg/ml. Es finden sich insbesondere praktisch keine Ausreißer nach oben im Sinne einer inadäquaten AVP Sekretion. Auch hier zeigen sich starke interindividuelle Unterschiede in der AVP Konzentration.

3.1.2.2. Liquor

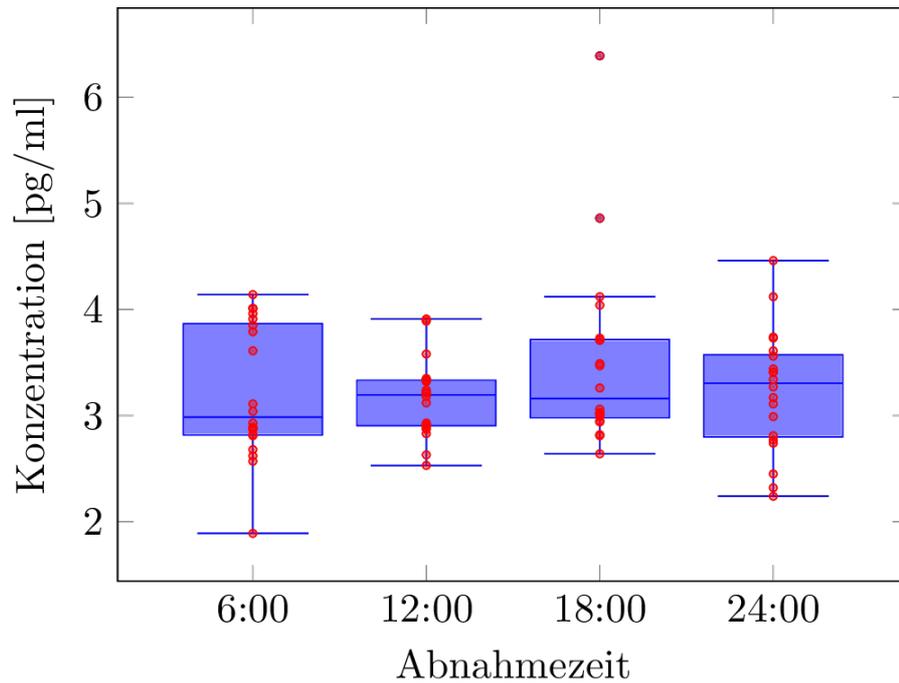


Abb. 16: AVP-Konzentrationen im Liquor zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Tab. 9: Konzentrationen von AVP im Liquor in pg/ml aller Patienten der Studie abhängig vom Abnahmezeitpunkt

Uhrzeit	6	12	18	24
Min.	1.89	2.53	2.64	2.24
Median	3.08	3.21	3.16	3.31
MW	3.26	3.23	3.50	3.23
Max.	4.14	4.66	6.39	4.46

Es findet sich keine eindeutige tageszeitliche Rhythmik in den Konzentrationen von AVP im Liquor der Studienpatienten.

3.1.2.3. Speichel

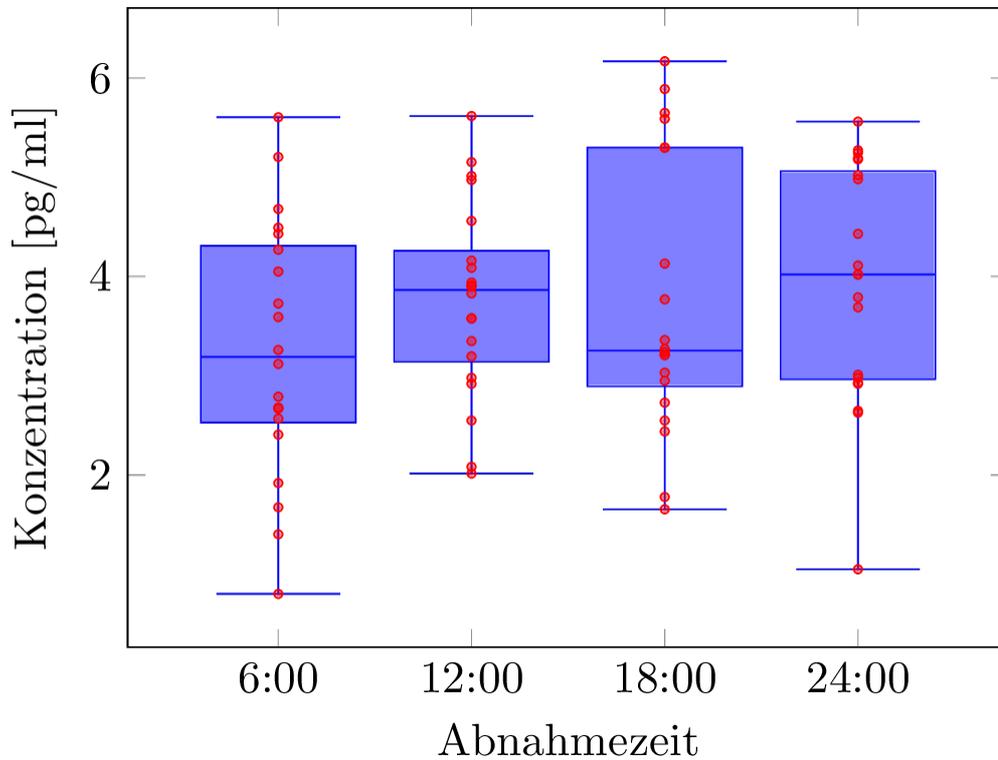


Abb. 17: AVP-Konzentrationen im Speichel zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Tab. 10: Konzentration von AVP in pg/ml im Speichel aller Patienten der Studie abhängig vom Abnahmezeitpunkt

Uhrzeit	6	12	18	24
Min.	0.80	2.02	1.66	1.05
Median	3.19	3.90	3.26	4.02
MW	3.24	3.82	3.76	3.93
Max.	5.60	5.62	6.17	5.56

Es findet sich keine eindeutige tageszeitliche Rhythmik in den Konzentrationen von AVP im Speichel der Studienpatienten.

3.2. Analyse tageszeitlicher Schwankungen in Abhängigkeit vom Geschlecht

Die Konzentrationen von OXT und AVP im Tagesverlauf wurden geschlechtsspezifisch betrachtet und die Subgruppen mittels Wilcoxon Rangsummentest verglichen.

3.2.1. Oxytocin

In der Gegenüberstellung der Konzentrationen von OXT zeigt sich in keiner der beiden Gruppen eine signifikante Rhythmik im Blut. In Abbildung 18 wurde der zeitliche Verlauf für Männer und Frauen gegenübergestellt. Interessanterweise finden sich weder geschlechtsspezifisch noch im tageszeitlichen Verlauf signifikante Schwankungen.

3.2.2. Arginin-Vasopressin

In der Gegenüberstellung der Konzentrationen von AVP zeigt sich in keiner der beiden Gruppen eine signifikante Rhythmik im Blut, Liquor oder Speichel. In Abbildung 19 wurde der zeitliche Verlauf für Männer und Frauen gegenübergestellt.

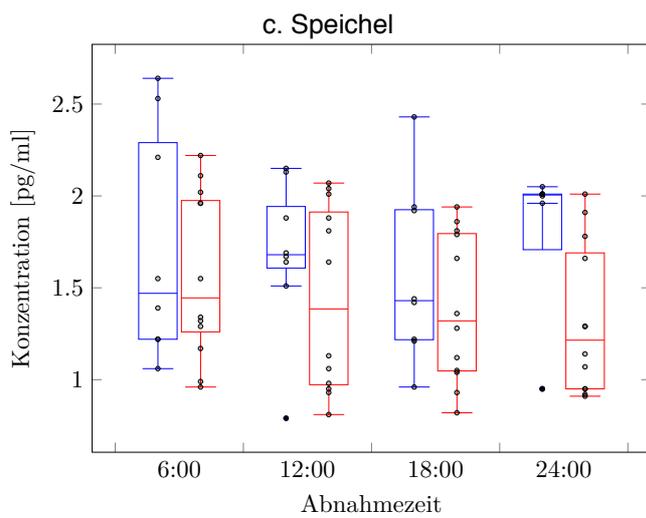
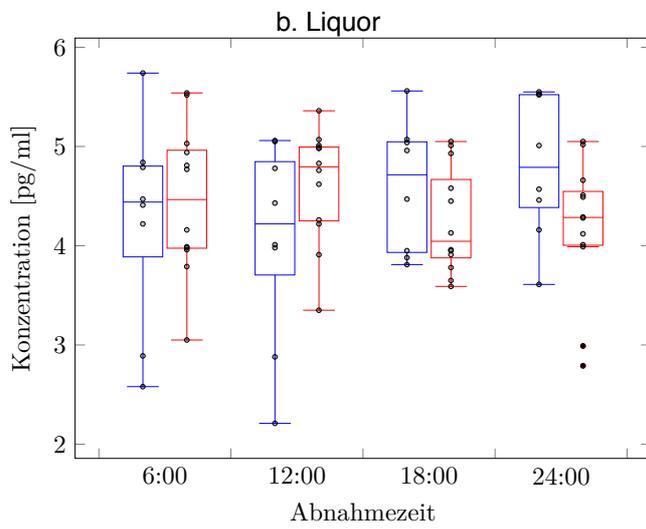
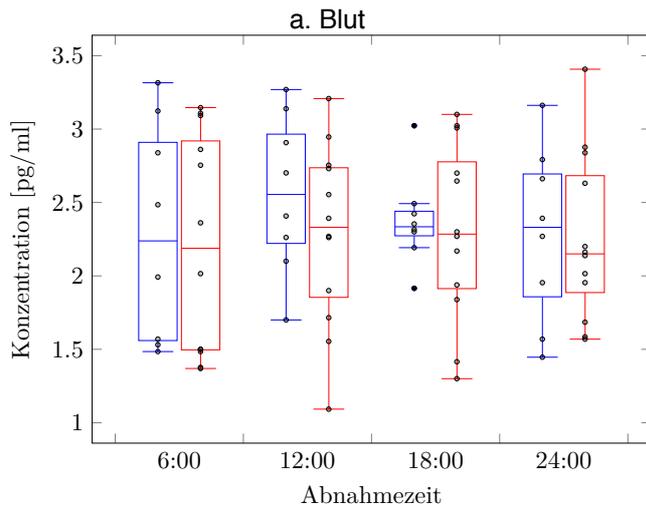


Abb. 18: Konzentration von OXT bei Männern (blau) und Frauen (rot) im zeitlichen Verlauf im a. Blut, b. Liquor, c. Speichel. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil als Box und die Minimum und Maximumwerte bzw. der 1,5 fache Interquartilabstand als Antenne.

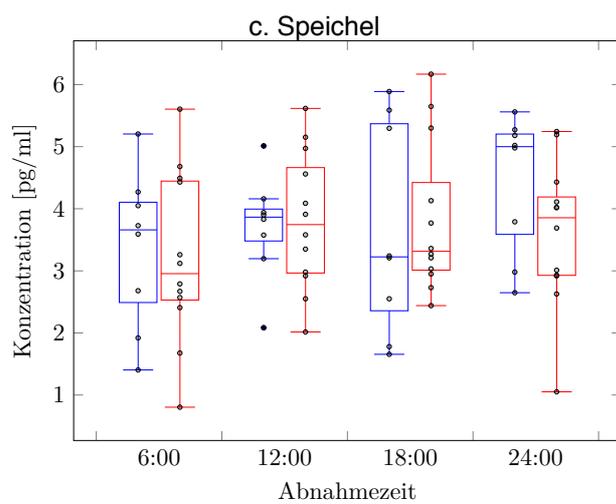
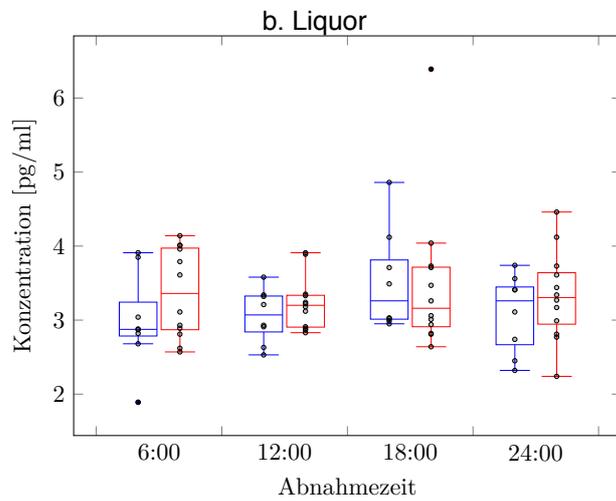
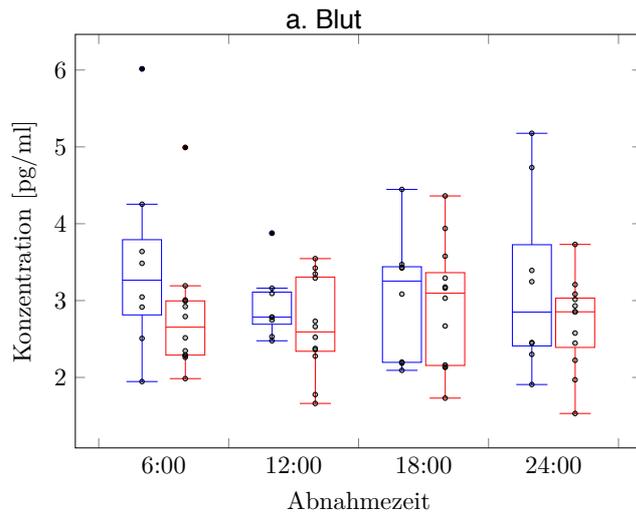


Abb. 19: Konzentration von AVP bei Männern (blau) und Frauen (rot) im zeitlichen Verlauf im a. Blut, b. Liquor, c. Speichel. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil als Box und die Minimum und Maximumwerte bzw. der 1,5 fache Interquartilabstand als Antenne.

3.3. Analyse tageszeitlicher Schwankungen in Abhängigkeit vom Menopausenstatus

Die Konzentrationen von OXT und AVP im Tagesverlauf wurden in der Untergruppe der Frauen bezüglich des Menopausenstatus betrachtet und die Subgruppen mittels Wilcoxon Rangsummentest verglichen.

3.3.1. Verlauf von Oxytocin in Abhängigkeit des Menopausenstatus

Innerhalb der Gruppe der Frauen wurde eine Subgruppenanalyse der OXT Konzentrationen bei prä- und postmenopausalen Frauen durchgeführt. Abb. 20 zeigt eine Gegenüberstellung der tageszeitlichen Verläufe für diese beiden Gruppen der Studie. Es zeigte sich hier keine signifikante Rhythmik für die Neuropeptidkonzentration im Speichel in beiden Gruppen. Für Liquor zeigte sich ein signifikanter zeitlicher Trend in der Gruppe der postmenopausalen Frauen, da der 12 Uhr Wert der OXT Konzentration höher als der 18 Uhr Wert lag ($p=0,031$).

3.3.2. Arginin-Vasopressin

Abb. 21 zeigt eine Gegenüberstellung des tageszeitlichen Verlaufes der AVP Konzentration bei den Frauen der Studie. Innerhalb dieser Gruppe wurde eine Subgruppenanalyse der AVP Konzentrationen bei prä- und postmenopausalen Frauen durchgeführt. Es zeigte sich hierbei keine signifikante Rhythmik für Blut, Liquor und Speichel in einer der beiden Gruppen.

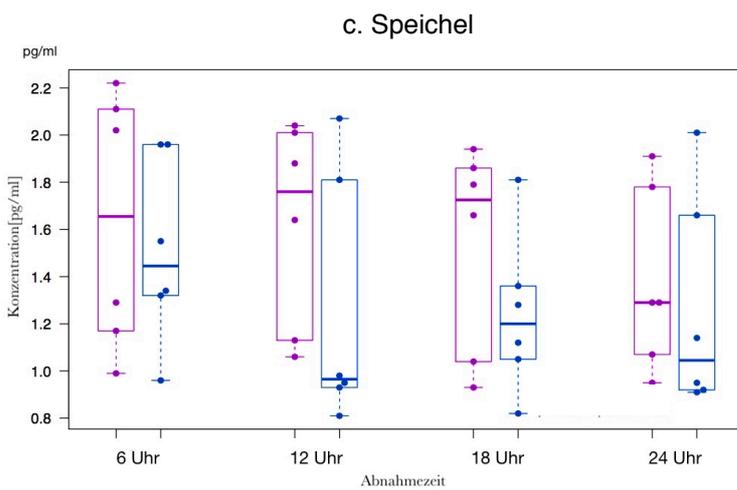
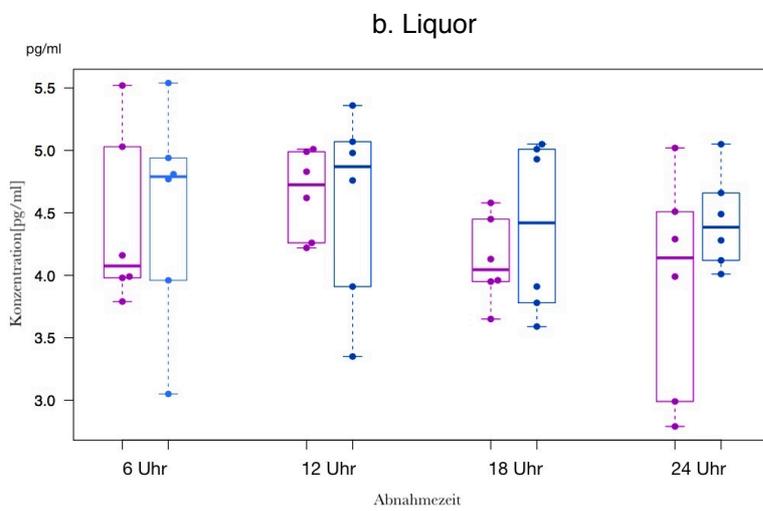
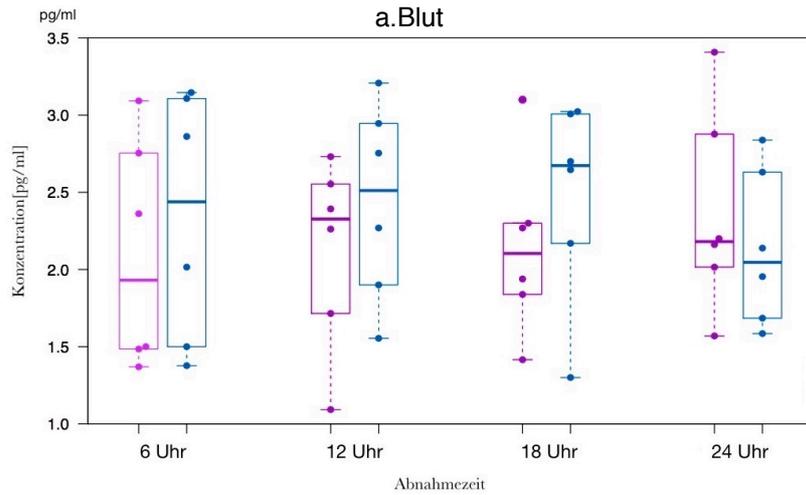


Abb. 20: Konzentration von OXT bei Frauen abhängig vom Menopausenstatus im zeitlichen Verlauf im a. Blut , b. Liquor, c. Speichel (blau=prä-, lila=postmenopausal) Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil als Box und die Minimum und Maximumwerte bzw der 1,5 fache Interquartilabstand als Antenne.

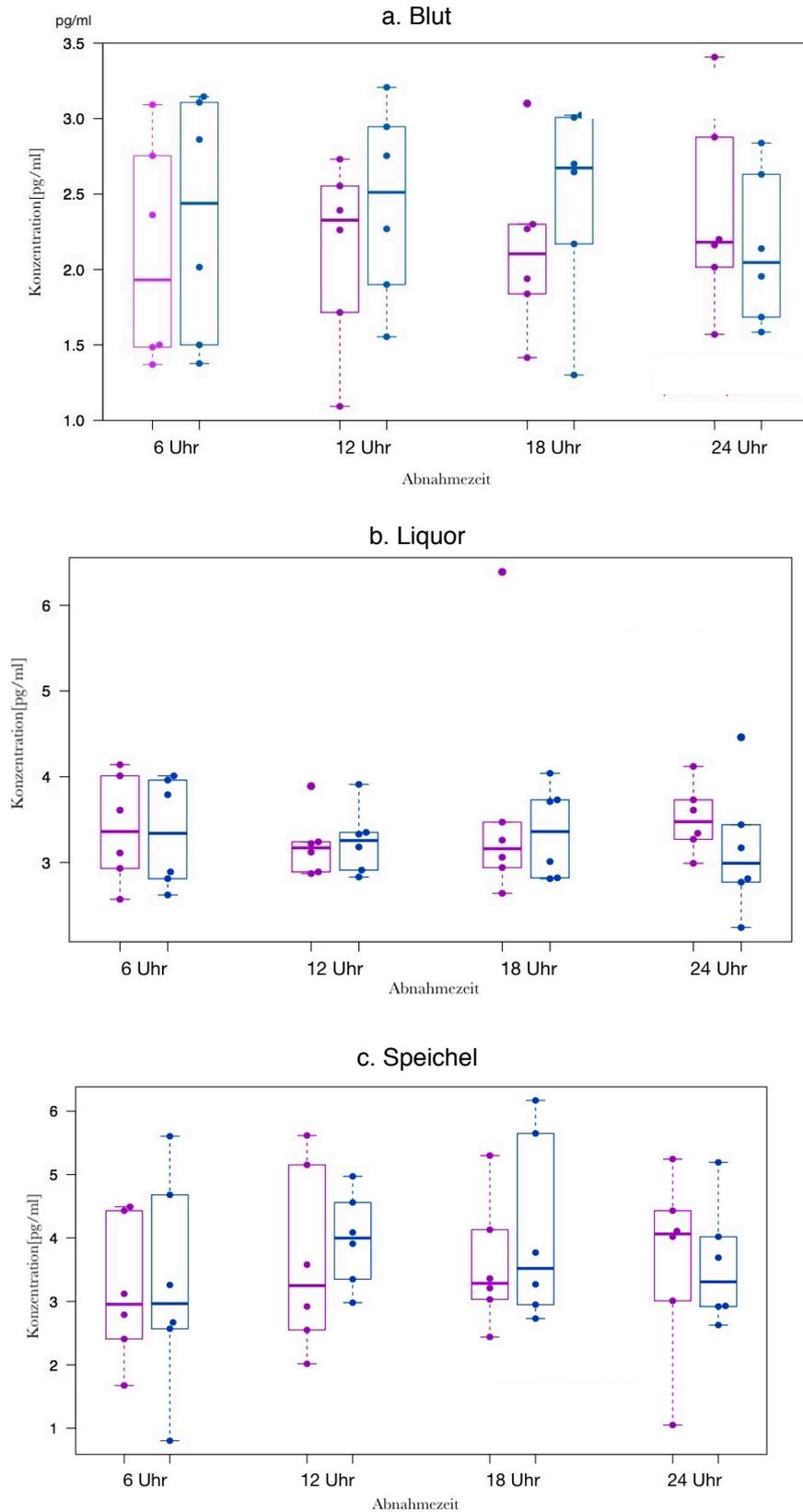


Abb. 21: Konzentration von AVP bei Frauen abhängig vom Menopausenstatus im zeitlichen Verlauf im a. Blut, b. Liquor, c. Speichel (blau=prä-, lila=postmenopausal). Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil als Box und die Minimum und Maximumwerte bzw der 1,5 fache Interquartilabstand als Antenne.

3.4. Korrelation der Neuropeptidkonzentrationen in den verschiedenen Kompartimenten

3.4.1. Vergleich der Messung von Oxytocin in den verschiedenen Kompartimenten

Die Stärke der Korrelation der Neuropeptide in den verschiedenen Kompartimenten wird mittels Spearman Rho Korrelationskoeffizienten angegeben. Hierbei ergeben sich Werte zwischen -1 und +1, welche jeweils einen sehr stark positiven, bzw. negativen Zusammenhang zwischen zwei Variablen angeben. Ein Korrelationskoeffizient von 0 bedeutet keinen Zusammenhang. Je näher die Werte an 0 sind desto schwächer ist der Zusammenhang zwischen den betrachteten Variablen. Als Maß für die Stärke der Korrelation kann zum Beispiel die Faustregel nach Cohen verwendet werden [51]. Ein rho von 0,1 entspricht einer schwachen, von 0,3 einer moderaten und von 0,5 eine starken positiven Korrelation. Analoges gilt für negative Werte.

Es zeigt sich eine sehr schwache Korrelation von OXT Konzentrationen in Liquor und Blut, sowie Blut und Speichel, und eine schwache Korrelation zwischen Liquor und Speichel. Somit zeigt sich die deutlichste Korrelation, wenn auch schwach, zwischen Liquor und Speichelwerten. Tabelle 11 zeigt, dass die stärkste Korrelation dieser OXT Konzentration im CSF zu Blut und Speichel um 6 Uhr früh besteht. Statistische Signifikanz für die Korrelationskoeffizienten lässt sich allerdings nicht nachweisen.

Tab. 11: Spearman's Rangkorrelationskoeffizient (ρ) der OXT Konzentration zu vier Zeitpunkten

Zeitpunkt	CSF- Blut	Blut-Speichel	CSF-Speichel
06:00	0.330	-0.058	0.402
12:00	-0.263	-0.058	0.065
18:00	0.081	-0.070	0.068
24:00	0.198	-0.017	-0.092

3.4.2. Vergleich der Messung von Arginin-Vasopressin in den verschiedenen Kompartimenten

Bei der Analyse der AVP- Konzentration zwischen den Kompartimenten zeigt sich eine sehr schwache Korrelation. Die stärkste Korrelation findet sich zwischen den Werten in Liquor und Blut (0,204 um 24:00Uhr).

Tab. 12: Spearman's Rangkorrelationskoeffizient (ρ) der AVP Konzentration zu vier Zeitpunkten

Zeitpunkt	Blut-CSF	Blut-Speichel	CSF-Speichel
06:00	-0,162	-0.353	-0,168
12:00	-0,208	-0,100	-0,131
18:00	0,135	-0,091	0,120
24:00	0,204	-0,035	0,081

3.5. Korrelation der Neuropeptidkonzentration mit Glasgow Outcome Scale

Von 18 der 20 Patienten konnten nach 3 Monaten eine Follow-Up-Untersuchung erhoben werden.

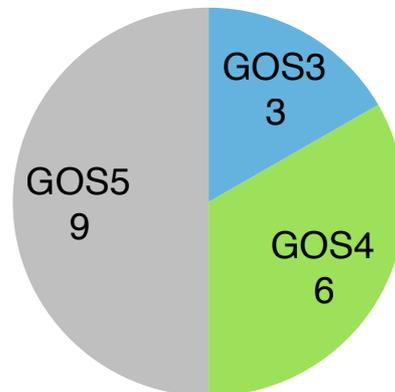


Abb. 22: Anteil der GOS Werte aller Patienten. Die Mehrheit der Patienten zeigte nach 3 Monaten ein gutes Outcome. Keiner der Patienten war in diesem Zeitraum verstorben

Das Outcome der Patienten wurde anhand des Glasgow Outcome Scale (GOS) objektiviert. Hierbei wird der Grad der Genesung nach neurologischem Ereignis von 1-5 klassifiziert (1 = Tod, 5= nur geringste Defizite). Insgesamt hatte keiner der Patienten ein sehr schlechtes Outcome (GOS < 3) nach 3 Monaten. Fast die Hälfte der Patienten hatte ein sehr gutes Outcome mit nur geringfügiger bis keiner körperlichen oder kognitiven Einschränkung.

Darüber hinaus untersuchten wir die Korrelation zwischen Hunt Hess Grad und der mittleren AVP Konzentrationen im Blut, Liquor und Speichel. Es fanden sich Spearman-Rho Korrelationskoeffizienten von 0,42 für Blut, 0,26 für Liquor und 0,06 für Speichel. Bezüglich der GOS war die Korrelation nur schwach mit -0,24 für das Blut, -0,21 für den Liquor und 0,36 für Speichel.

Für die mittleren Oxytocin- Konzentrationen fanden sich wesentlich schwächere Korrelationen mit der Hunt-Hess Skala in den verschiedenen Kompartimenten. Der Spearman-Rho Koeffizient betrug -0,12 für Blut, 0,23 für Liquor und 0,14 für Speichel. Die Korrelationskoeffizienten mit der GOS betrug -0,05 für Blut, -0,53 für Liquor und 0,28 für Speichel.

Insgesamt zeigt sich hier, dass Neuropeptidkonzentration, initialer klinischer Zustand, sowie Outcome nach 3 Monaten keine starke Korrelation aufweisen.

4. Diskussion

Zusammenfassend konnten wir in der hier vorliegenden Arbeit die Neuropeptide Oxytocin und Arginin-Vasopressin sicher in Blut, Liquor und Speichel mittels RIA bestimmen und unterschiedliche Konzentrationen in diesen Kompartimenten feststellen. Eine zirkadiane Rhythmik der Neuropeptidkonzentrationen konnte bei uns nicht gezeigt werden. Ebenso fand sich kein Einfluss des Geschlechts oder Menopausenstatus auf tageszeitliche Schwankungen der Neuropeptidkonzentrationen. Zwischen Neuropeptidkonzentrationen und Outcome der Patienten konnte ebenso keine starke Korrelation gezeigt werden.

4.1. Tageszeitliche Schwankungen der Neuropeptidkonzentration

4.1.1. Ergebnisse tierexperimenteller Studien

In diversen tierexperimentellen Studien wurden tageszeitliche Schwankungen von OXT und AVP in CSF untersucht. Die Meilensteine dieser Entwicklungen sollen hier chronologisch vor dem Hintergrund der Ergebnisse dieser Arbeit erläutert werden. Die meisten Vermutungen im Hinblick auf zirkadiane Rhythmik im OXT/AVP System stammen aufgrund der invasiven Gewinnungsmethode aus tierexperimentellen Studien, wo jedoch verschiedene Tierarten (tag- und nachtaktiv) untersucht wurden.

Hinweise auf eine zirkadiane Rhythmik der Neuropeptidsekretion ergaben sich sowohl bei Primaten als auch bei Nagern. Im Jahr 1984 wurde von Reppert gezeigt, dass eine zirkadiane Rhythmik von OXT im Liquor bei Affen erhalten bleibt, selbst wenn der Nucleus suprachiasmaticus zerstört wurde [52]. Diese Tatsache lässt vermuten, dass der zirkadiane Rhythmus der OXT-Sekretion im ZNS zumindest im Tierexperiment außerhalb des Nucleus suprachiasmaticus generiert wird. In darauf aufbauenden Untersuchungen wurde von Amico 1989 OXT und AVP im Liquor bei männlichen und weiblichen Rhesus-Affen bestimmt. Die Tiere wurden unter sehr standardisierten Bedingungen gehalten bezüglich der Beleuchtung und Fütterung, um externe Einflussfaktoren zu minimieren. Die Liquorentnahme erfolgte über einen implantierten intrathekalen Katheter mittels einer automatisierten Pumpe. Dieses

Experiment zeigte einen zirkadianen Rhythmus der OXT Konzentration im Liquor mit Maximum in den frühen Morgenstunden und Minimum in der Nacht [53].

Im Jahr 1992 untersuchte Windle die OXT und AVP Schwankungen bei Ratten unter normalen Tagesrhythmen im Vergleich zu konstanter Lichtexposition ohne äußeren Tag-Nacht-Rhythmus. Hierbei zeigte sich eine Abnahme der OXT- und AVP-Konzentration im Plasma in den Nachtstunden und eine Zunahme über Tag, wobei auch unter konstanter Lichtexposition ein Rhythmus festzustellen war. Dieser neue Rhythmus war aber gegenüber dem Alten phasenverschoben [54].

Kalsbeek untersuchte 1995 die Konzentrationen von OXT und AVP in Ratten in verschiedenen Hirnregionen mittels Mikrodialyse. Hierbei stellte er fest, dass die AVP-Freisetzung im Nucleus suprachiasmaticus ihr Maximum zum Mittag, und ihr Minimum um Mitternacht hatte, während die OXT-Konzentrationen zu niedrig waren um gemessen werden zu können [55]. Im Nucleus supraopticus und paraventricularis fand sich hingegen keine zirkadiane Rhythmik.

In einer Studie von 2004 wurden ebenso Unterschiede zwischen OXT CSF- und Blutkonzentrationen bei Ratten zu Tag und Nacht untersucht. Hierbei zeigte sich ein Verschwinden der Tag-Nacht-Unterschiede, nachdem die Mäuse an die Injektionen und Prozeduren gewöhnt waren. Daraus wurde geschlossen, dass emotionaler Stress die tageszeitlichen Schwankungen beeinflusst [56].

2014 zeigte Gannon, dass durch den Einsatz von OXT- Rezeptoragonisten und -antagonisten die tageszeitlichen Aktivitätsschwankungen beim Hamster beeinflusst werden können [57].

Insgesamt sind die bisher durchgeführten tierexperimentellen Studien hinsichtlich Studiendesign, untersuchten Körperflüssigkeiten (Blut, Liquor, Extrazellulärflüssigkeit) und Ergebnissen so heterogen, dass keine definitiven Schlüsse über das Vorhandensein einer zirkadianen Rhythmik im zentralen Neuropeptidsystem gezogen werden können.

4.1.2. Vergleich mit Studien an Menschen

4.1.2.1 Das Studiendesign

Es gibt im wesentlichen nur zwei Studien am Menschen, bei denen die Konzentration der Neuropeptide auch im Liquor bestimmt wurden. Eine der frühen Studien wurde von Amico 1983 beschrieben [46]. Bei drei Patienten mit Lumbaldrainage wurden im 6-Stunden-Rhythmus sowohl Liquor als auch Plasma gewonnen. Hier wurde ein Oxytocin Peak im Liquor um 12 Uhr mittags festgestellt, im Blutplasma blieb dieser aus. Es war ein heterogenes Patientengut bezüglich Alter, Geschlecht und Grunderkrankungen, das zahlreichen Einflussfaktoren wie zum Beispiel Bettruhe, sedierenden Medikamenten und künstlichem Licht unterlag.

Kuboyama untersuchte im Jahr 1988 die OXT und AVP Konzentrationen im Liquor von postoperativen SAB Patienten in zweistündlichen Messungen und fand erhöhte OXT Konzentrationen am Tag im Vergleich zu den Nachtstunden und keinerlei Rhythmik für AVP. Hierbei waren lediglich 4 Patienten in die Studie eingeschlossen worden. Messungen aus anderen Körperflüssigkeiten erfolgten hierbei nicht. Ebenso gab es kein ausgeglichenes Geschlechterverhältnis (3 weiblich, 1 männlich). Genauere Angaben über den neurologischen Status der Patienten fehlen ebenfalls in den historischen Arbeiten. Laut Kuboyama lag aber zumindest kein neurologisches Defizit vor [47].

Unser Studiendesign zielte dagegen darauf ab möglichst „basale“ Bedingungen herzustellen, also äußere Störfaktoren wie Interventionen, Tageslicht, Immobilisation und parenterale Ernährung zu vermeiden. Die einzige unvermeidbare Störgröße war die kontinuierliche Zufuhr an intravenöser Flüssigkeit, was möglicherweise die AVP-Sekretion in das Blut beeinflusst hat.

Aufgrund der, verglichen mit der oben erwähnten historischen Studie, deutlich größeren Patientenzahl (20 Patienten im Vergleich zu 4 und 3 Patienten) konnte eine höhere statistische Aussagekraft erreicht werden.

Unser untersuchtes Patientenkollektiv war deutlich homogener als das von Amico beschriebene. Die Homogenität lag vor allem im Bereich der Grunderkrankung (fast ausschließlich SAB-Patienten), aber auch in den des von außen vorgegebenen Faktoren wie: Tagesrhythmus, Flüssigkeitsadministration und Medikamentengabe. Die Patienten waren ausschließlich Intensivpatienten, und hatten somit geregelte

Tag-Nachtzeiten, sowie Medikamentengabe und Flüssigkeitsadministration zu weitgehend festen Zeiten. Hiermit waren die Tagesbedingungen deutlich vergleichbarer als bei Patienten, die sich auf Normalstation, beziehungsweise im häuslichen Umfeld befinden. Eine wichtige Voraussetzung war auch die Einwilligungsfähigkeit, sodass das Patientenkollektiv keine sedierten, bewusstseinsgetrübten oder komatösen Patienten enthielt.

Darüberhinaus wurden die Abnahmezeitpunkte genau definiert eingehalten, und die Proben nach einem standardisierten Protokoll aufgearbeitet.

Da die Halbwertszeit von Oxytocin und Vasopressin im Blut nur wenige Minuten beträgt[58], hängen die Messergebnisse kritisch von der zeitlichen Abfolge der Aufarbeitung der Proben ab. In unserer Untersuchung wurde daher sehr darauf geachtet, die Proben stets frisch zu gewinnen und direkt aufzuarbeiten. Für die Bestimmung von Oxytocin und Vasopressin bestehen verschiedene Methoden, aktuell vorzugsweise ELISA, wobei der RIA als Goldstandard gilt [15], allerdings deutlich aufwändiger und teurer ist. Die Konzentrationsbestimmung der Neuropeptide erfolgte bei uns mittels eines hochsensitiven RIA, genau wie in den hier erwähnten historischen Studien. Diese Messungen haben sich als reproduzierbar und valide erwiesen. Die gemessenen Konzentrationen befanden sich in der gleichen Größenordnung wie bei den genannten historischen Studien.

4.1.2.2 Oxytocin-Konzentration im Liquor

In der Untersuchung von Amico zeigte sich, dass die OXT-Konzentrationen im Liquor ein Maximum um 12 Uhr mittags aufweisen. Im Jahr 1988 wurde von Kuboyama eine weitere Studie an vier Patienten (3 Frauen, 1 Mann) mit SAB durchgeführt. Hierbei hatte keiner der Patienten neurologische Ausfälle, die Tagesrhythmik war standardisiert mit Schlafperiodik zwischen 21-6 Uhr. Kuboyama untersuchte die OXT- und AVP-Konzentrationen im Liquor mittels RIA alle zwei Stunden im Verlauf von zwei Tagen, wobei er ähnlich wie Amico zu dem Ergebnis kam, dass die OXT-Konzentrationen im Liquor nachts niedriger sind als tagsüber, während AVP keinerlei Rhythmik unterlag [45]. Die Messergebnisse für Oxytocin lagen im Bereich von 1-6 pg/ml und sind mit den absoluten Messergebnissen der hier vorliegenden Arbeit vergleichbar. In unserem Gesamtkollektiv fanden sich keine signifikanten tageszeitlichen Schwankungen. Eine Subgruppenanalyse unserer Arbeit, bei der

Männer und Frauen getrennt ausgewertet wurden, ergab ebenso keine signifikanten Unterschiede. Zur weiteren Analyse wurden die Frauen in eine prä- und postmenopausale Gruppe aufgeteilt. In dieser Analyse ergab sich als einziger signifikanter zeitlicher Trend, dass bei postmenopausalen Frauen die OXT-Konzentration im Liquor um 12 Uhr mittags höher war als um 18:00 Uhr.

Es ließ sich somit, trotz gleicher Messmethoden, verglichen mit einem zu Amico und Kuboyama deutlich größeren und homogeneren Kollektiv der beschriebene Peak der OXT Konzentration um 12:00 Uhr nicht reproduzieren [56].

4.1.2.3 Oxytocin Konzentration im Blut

In der Untersuchung von Amico zeigte sich, dass die OXT-Konzentrationen im Plasma keine tageszeitlichen Schwankungen aufweisen[44]. Bei uns fanden sich ebenso keine zirkadianen Schwankungen von OXT. Einer Hypothese von Forsling zufolge treten Geburten gehäuft in den frühen Morgenstunden auf, weil zu dieser Zeit die Oxytocinkonzentration im Blut am höchsten ist[31]. Untersuchungen an nicht schwangeren Patienten bestätigen diese Annahme nicht. Auch in unserer Studie fanden sich in den morgendlichen Abnahmen keine erhöhten Oxytocinkonzentrationen [83].

4.1.2.4 AVP Konzentration im Liquor

Tageszeitliche Schwankungen von AVP im Liquor konnten auch in den historischen Studien nicht gezeigt werden [46, 47, 59]. Dies deckt sich mit den Ergebnissen unserer Studie.

4.1.2.5 AVP Konzentration im Blut

Es gibt mehrere Untersuchungen, welche eine verringerte AVP Plasmakonzentration in der Nacht zeigten. Dies soll für eine nächtlich verringerte Diurese verantwortlich sein [60, 61]. In unserer Studie konnte dies nicht gezeigt werden. Allerdings fand in unserer Studie aufgrund des intensivmedizinischen Standards zusätzlich zur oralen Flüssigkeitsgabe auch eine kontinuierliche intravenöse Flüssigkeitszufuhr statt, sodass möglicherweise hierdurch die zirkadiane Rhythmik von AVP gestört wurde.

4.1.2.6 Neuropeptide im Speichel

Bislang gibt es nur wenige Daten zum Neuropeptidnachweis im Speichel. Im Rahmen dieser Arbeit konnten frühere Ergebnisse bestätigt werden, die zeigten,

dass eine Neuropeptidbestimmung im Speichel sicher und zuverlässig möglich ist, und dass die Konzentrationen im Speichel besser mit den Liquorkonzentrationen korrelieren als mit den Blutkonzentrationen [62]. Insbesondere für Oxytocin im Speichel und Liquor fand sich eine stärkere Korrelation. Es wurde allerdings auch bei der Bestimmung der Neuropeptide im Speichel keine zirkadiane Rhythmik gefunden.

4.1.3. Einflussfaktoren auf die Neuropeptidkonzentration

Die Patienten in der vorliegenden Studie waren alle wach und weder bewusstseinsgetrübt, noch komatös. Durch strenge Ein- und Ausschlusskriterien wurde ein homogenes Patientenkollektiv definiert. Es ist zu berücksichtigen, dass durch die Grunderkrankung, beziehungsweise durch weitere Hirnpathologien, die hypothalamische Neuropeptidsynthese und deren Freisetzung aus dem Hypophysenhinterlappen gestört werden kann [63], ein Problem, das bei den oben genannten historischen Studien nicht näher diskutiert wurde.

Es ist insbesondere bekannt, dass Schädel-Hirn-Traumata und Blutungen zu einer inadäquaten Produktion von Vasopressin führen können (SIADH). Diese kann sich als Schwartz-Bartter-Syndrom mit einer Hyponatriämie manifestieren [64, 65]. Patienten mit einem offenkundigen Schwartz-Bartter-Syndrom und mit Diabetes insipidus wurden aus unserer Studie ausgeschlossen. Die Medikamenteneinnahme auf Intensivstation wurde erfasst, die Einnahme von Steroiden oder Sedativa zählte zu den primären Ausschlusskriterien.

Die Konzentration von Vasopressin im Patienten unterliegt zahlreichen patientenspezifischen Faktoren. Aufgrund der geringen Halbwertszeit von Vasopressin von wenigen Minuten können diese Effekte auch in vergleichsweise kurzen Zeitintervallen eine Rolle spielen. Zum Beispiel spielen die Einnahme von Medikamenten oder der Genuss von Alkohol eine starke Rolle [66]. In unserem Kollektiv scheidet Alkohol als Einflussfaktor aus, da die Patienten schon einige Tage auf Intensivstation lagen [50]. Aus demselben Grund ist der Einfluss von Medikamenten, die vor dem Intensivaufenthalt eingenommen wurden, aufgrund des zeitlichen Abstands unwahrscheinlich.

Ein weiterer starker Einflussfaktor auf die AVP Konzentration ist die

Flüssigkeitszufuhr [67]. Auf Intensivstation ist die Flüssigkeitszufuhr mit einer kontinuierlichen Basisinfusion relativ standardisiert, im Gegensatz zu Patienten auf Normalstation. Zudem erfolgt in der Regel eine Bilanzierung des Flüssigkeitshaushalts. Alle eingeschlossenen Patienten waren schon einige Tage auf der Intensivstation und konnten ad libitum essen und trinken, erhielten aber zusätzlich intravenöse Flüssigkeit.

Die Einflussfaktoren auf Oxytocin wie Stillen oder Geburt sind in unserer Studie obsolet. Es sind allerdings psychische Einflussfaktoren auf die Oxytocinkonzentration zu berücksichtigen. So kann der Aufenthalt auf einer Intensivstation und die Erkrankung selbst in Form von emotionalem Stress einen starken Einfluss auf die Hormonkonzentrationen haben. Diese Einflussfaktoren waren in der vorliegenden Arbeit, wo die Patienten auch soweit möglich mobilisiert wurden, vermutlich geringer als in den historischen Studien, bei denen die Patienten strenge Bettruhe einhalten mussten. Es gibt Daten aus experimentellen Studien die zeigen, dass die Neuropeptidfreisetzung durch eine Immobilisation stark beeinflusst wird. Experimente von Li [68] zeigen einen deutlichen „restraint stress“ bei immobilisierten Ratten, der mit Erhöhung von zentralem Oxytocin einhergeht.

Es ist bekannt, dass die körperlichen Funktionen und Hormonausschüttungen einem Tag-Nacht-Rhythmus unterliegen. Unter den Bedingungen einer Intensivstation kann nicht immer sichergestellt werden, dass sich ein natürlicher Tag-Nacht-Rhythmus einstellt, da sowohl die Beleuchtungssituation, die Pflegemaßnahmen, als auch die Geräusentwicklung in der Regel dem entgegenstehen [69-71]. Die Einflüsse von Licht und Lärm auf den Schlaf von Patienten auf Intensivstationen, sowie der negative Einfluss von gestörtem Schlafrythmus auf den Metabolismus wurden schon oben genannt [27, 35]. In unserer Untersuchung wurden unter den Bedingungen einer modernen Intensivmedizin diese Störfaktoren im Vergleich zu älteren Arbeiten minimiert. Beispielsweise war die Probengewinnung relativ schonend, da sie nicht-invasiv aus vorhandenen Zugängen erfolgte.

Bezüglich der Methode der Messungen ist der hier verwendete RIA hinreichend genau und auch vielfach validiert, um klinisch signifikante Unterschiede zu detektieren [14, 62, 72]. Der RIA wurde ebenso in den Vorarbeiten von Amico und Kuboyama verwendet. In der Literatur findet sich kein genaueres Verfahren. Selbst

aktuelle massenspektroskopische Methoden liefern keine genaueren Ergebnisse [73].

4.1.4. Einfluss von Geschlecht und Menopausenstatus auf die Oxytocin-Konzentration

In einer Studie von 1981 wurde bei 6 Patientinnen eine Steigerung der OXT Konzentration im Blut in den Tagen um die Ovulation herum beschrieben [74]. Man kann daher schließen, dass bei prämenopausalen Frauen die zirkadiane Rhythmik der Hormone schwierig zu vergleichen ist, da die OXT-Konzentration von der Zyklusphase abhängt. In weiteren Studien wurden Effekte von OXT auf die LH-Sekretion und somit den Zeitpunkt der Ovulation beschrieben [75]. Insgesamt flacht bei postmenopausalen Frauen die zirkadiane Rhythmik im Allgemeinen ab [84]. Darüber hinaus wurde in einer aktuellen Arbeit gezeigt, dass der Blut-Oxytocin Spiegel bei postmenopausalen Frauen signifikant geringer ist [76].

In unserer Studie wurden die Geschlechter in Subgruppenanalysen getrennt ausgewertet. Auch innerhalb der Gruppen ließ sich kein zeitlicher Trend nachweisen. In der getrennten Auswertung nach prä- und postmenopausalen Frauen zeigten sich lediglich in der Gruppe der postmenopausalen Frauen für OXT jeweils signifikant höhere Konzentrationen um 12 Uhr im Vergleich zu 18 Uhr. Schwangere oder stillende Patientinnen waren von der Studie ausgeschlossen, sodass eine diesbezügliche Beeinflussung ausgeschlossen werden kann. Kritisch muss angemerkt werden, dass die Signifikanzniveaus nicht für multiples Testen korrigiert wurden. Daher kann dieses Ergebnis dieser beiden kleinen Subgruppen (6 prämenopausal, 6 postmenopausal) nur der Hypothesengenerierung dienen und sollte in einer unabhängigen Untersuchung geprüft werden.

4.2. Korrelation zwischen den einzelnen Kompartimenten

Die Messung der Neuropeptidkonzentration gelingt sicher in den verschiedenen Körperflüssigkeiten. Die Messwerte für OXT lagen im Liquor im Bereich von 2,2–5,7 pg/ml, im Blut von 1,1–3,4 pg/ml und im Speichel von 0,8–1,6 pg/ml, sodass systematisch im Liquor höhere Konzentrationen gemessen wurden als im Blut, was

mit den Ergebnissen verschiedener anderer Arbeiten übereinstimmt [14, 72].

Innerhalb des ZNS wird ein Teil der im Hypothalamus gebildeten Neuropeptide direkt aus Zellkörpern und Dendriten in die Extrazellulärflüssigkeit sezerniert [8]. Nach der Freisetzung diffundieren die Hormone zu den entsprechenden Rezeptoren. Zusätzlich wird ein Teil der Neuropeptide per axonalem Transport in die Neurohypophyse und von dort in das Blut abgegeben. Hier entfalten die Neuropeptide ihre Wirkung als Hormone in der Peripherie. Aufgrund der fehlenden Passierbarkeit der Blut-Hirn-Schranke für OXT und AVP können zentrale und periphere Konzentration getrennt betrachtet werden. Die Liquorkonzentration wird als repräsentativ für die zentrale Aktivität der Neuropeptide gesehen, die in Zusammenhang mit kognitiven und Verhaltenseffekten steht [8]. In Vorarbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass die OXT-Konzentrationen im Blut und Liquor nur schwach korrelieren und damit Blutkonzentrationen möglicherweise kein geeigneter Parameter zum Rückschluss auf die Konzentration im Liquor sind [14, 77].

In unseren Untersuchungen findet sich insgesamt eine stärkere Korrelation der Konzentration von OXT im Liquor mit der Konzentration im Speichel als mit der Konzentration im Blut. Diese Daten bestätigen die Ergebnisse von Martin et al. [62]. In dieser Studie erhielten 50 Patienten eine einmalige Abnahme von Liquor, Blut und Speichel. Ein Vergleich der Daten zeigte, dass die Liquorkonzentration am besten mit der Speichelkonzentration korreliert und weniger mit der Konzentration im Blut. Diese Daten sind wichtig, weil die Gewinnung von Liquor in der Regel nur invasiv möglich ist. Falls eine Liquorgewinnung nicht möglich ist, wäre es demnach besser, Speichelproben zu asservieren, als Blutproben, um zentrale Neuropeptideffekte zu untersuchen. Allerdings muss beachtet werden, dass die Korrelation zwischen Liquor und Speichelkonzentration in unserer Untersuchung zwar besser als zwischen anderen Kompartimenten ist, trotzdem aber nur einen schwachen Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten von $r=0,22$ ergeben hat. Insbesondere zeigte sich eine tageszeitlich unterschiedliche Korrelationsstärke zwischen den Kompartimenten. Die beste Korrelation zwischen Liquor und Speichel OXT-Konzentrationen zeigte sich um 6 Uhr morgens. Möglicherweise ist die Ursache hierfür eine höhere Konzentrierung des Speichels in den Morgenstunden [78].

Dennoch ist auch die Bestimmung der Neuropeptide im Speichel mit deutlichen

Unsicherheiten bei der Gewinnung verbunden. Hierbei ist insbesondere zu nennen: Die Art und der Umfang der Nahrungsaufnahme, die Mundpflege, aber auch unterschiedliche Speichelsekretion der Patienten (z.B. aufgrund eines unterschiedlichen Parasympathikotonus), unterschiedliche Flüssigkeitsbilanz der Patienten (Infusion etc), sowie unterschiedliche Medikation (Parasympatholytika, Opioid). Die Liste der Medikamente, die zu einer Xerostomie führen, ist lang. Eine Übersicht findet sich in Arbeiten von Wolff et al. [79]. In unserer Studie wurde um eine sichere Bestimmung der Speichelkonzentrationen zu gewährleisten darauf geachtet offensichtliche Störfaktoren zu vermeiden. Die Patienten waren wach, oben genannte Medikamente, insbesondere Sedativa und Parasympatholytika, wurden vermieden. Unter den Rahmenbedingungen dieser Studie war die Speichelkonzentration sicher messbar und korrelierte am besten mit der Liquorkonzentration.

Für AVP fanden sich im Gegensatz dazu in allen Kompartimenten lediglich sehr schwache Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen, wobei die beste Korrelation interessanterweise zwischen Blut und Liquor bestand. Dies könnte möglicherweise mit der kurzen Halbwertszeit von AVP zusammenhängen. Die Plasmahalbwertszeiten von OXT und AVP betragen jeweils nur wenige Minuten [7, 80]. Zudem wird AVP durch viele Faktoren beeinflusst, die schwierig zu eliminieren sind, wie Volumenzufuhr, beziehungsweise -mangel, Körpergewicht bzw. BMI [81].

4.3. Korrelation der Neuropeptidkonzentration mit dem klinischen Ergebnis

In einer Studie von Martin et al. wurden die Neuropeptidkonzentrationen von 12 Patienten mit SAB, sowie deren Outcome untersucht. Hier zeigte sich, dass Patienten mit schlechterem klinischen Outcome signifikant geringere AVP Konzentrationen im Liquor und tendenziell erniedrigte Oxytocinkonzentrationen aufwiesen. Die Plasmakonzentrationen zeigten keinen signifikanten Zusammenhang [72].

Vor diesem Hintergrund wurde in dieser Arbeit eine Korrelation der OXT- und AVP-Konzentrationen mit dem klinischen Zustand der Patienten durchgeführt, wofür die Glasgow Outcome Scale verwendet wurde. Von den 20 eingeschlossenen Patienten

konnte bei 18 der GOS nach 3 Monaten ermittelt werden. Die Hälfte der nachbeobachteten Patienten hatte ein sehr gutes Outcome (GOS 5). Kein Studienteilnehmer ist im Laufe der Nachbeobachtung verstorben. Typischerweise erwartet man, dass 40-50% der Patienten in den ersten 30 Tagen nach einer SAB versterben [39]. Die Patienten dieser Analyse hatten im Schnitt ein deutlich besseres klinisches Ergebnis welches in der Abb. 22 dargestellt ist.

Anhand der Ein- und Ausschlusskriterien wurde für die Studie ein homogenes Patientenkollektiv definiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass alle Patienten beim Einschluss in die Studie einwilligungsfähig waren, sodass allein schon dadurch Patienten in besserem Allgemeinzustand selektiert wurden. Darüber hinaus wurde versucht, zusätzliche Unsicherheiten aufgrund Komorbidität oder Komedikation zu vermeiden. Der Nachteil dieser strengen Selektion war eine vergleichsweise lange Rekrutierungsdauer von 18 Monaten. Aufgrund der bewusst engen Patientenselektion durch die definierten Ein- und Ausschlusskriterien der Studie war ein gutes klinisches Ergebnis deutlich wahrscheinlicher als es bei einer zufälligen Auswahl an Patienten ohne Blick auf Nebenerkrankungen und Medikation der Fall gewesen wäre. Die Korrelationsanalyse bestätigte in dieser Arbeit nicht wie in Martin et al. [62] die prognostische Aussagekraft der Neuropeptidkonzentration für den GOS. Es lässt sich vermuten, dass aufgrund des homogenen Kollektives mit insgesamt sehr gutem klinischen Ergebnis die Neuropeptidkonzentration in unserem Kollektiv keine prognostische Bedeutung hatte. Dazu diente jedoch nicht das Design der hier vorliegenden Studie, die sich hauptsächlich mit der Untersuchung der zirkadianen Rhythmik befasst hat. Um bessere Schlüsse zum Zusammenhang zwischen der Neuropeptidkonzentration und dem GOS herstellen zu können müssten zahlreiche Patienten mit einer größeren Varianz des klinischen Ergebnisses berücksichtigt werden.

5. Zusammenfassung

Oxytocin und Vasopressin sind wichtige Neuropeptide, die vielfältige Einflüsse auf Sozialverhalten, Emotionen, Gedächtnis und psychische Gesundheit, sowie Vitalfunktionen wie die Flüssigkeitsbilanz des Körpers, Kreislaufregulierung, Immunsystem, sowie den Geburtsvorgang und das Stillen haben. OXT und AVP werden innerhalb des ZNS als Neuropeptide sezerniert, beziehungsweise von der Neurohypophyse als Hormone in das Blut ausgeschüttet. Die Bestimmung der Neuropeptide im Liquor ist der Goldstandard für die Bestimmung der zentralen Neuropeptidaktivität. Da die Liquorgewinnung einen invasiven Eingriff darstellt, wird die Bestimmung der Neuropeptidkonzentrationen in vielen Studien aufgrund der besseren Verfügbarkeit im Blut durchgeführt. Des Weiteren wird in der Literatur immer wieder diskutiert, in wieweit die Neuropeptidausschüttung einer zirkadianen Rhythmik unterliegt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine prospektive monozentrische Beobachtungsstudie auf der operativen Intensivstation des Klinikums rechts der Isar durchgeführt. Die Fragestellung war, ob sich bei den Patienten eine zirkadiane Rhythmik der Neuropeptide finden lässt, und ob zentrale Konzentrationen durch Blut- oder Speichelkonzentrationen repräsentiert werden können. Es wurden 20 konsekutive Patienten anhand von vordefinierten Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie im Zeitraum von 2016–2017 rekrutiert. Dabei handelte es sich um 8 Männer und 12 Frauen mit einem mittleren Alter von 55 Jahren (34–75 Jahre), von denen 15 an einer Subarachnoidalblutung litten. Alle Patienten hatten eine externe Ventrikelableitung, aus der viermal Proben im 6h-Abstand gewonnen wurden. Parallel dazu wurden Speichelproben und Blutproben entnommen. Die Neuropeptidkonzentration wurde mittels eines hochspezifischen RIA bestimmt. Das klinische Ergebnis wurde nach 3 Monaten anhand der Glasgow Outcome Skala erfasst.

In allen Kompartimenten konnten die Neuropeptidkonzentrationen sicher bestimmt werden. Hinweise auf eine zirkadiane Rhythmik wie sie in den 1980er Jahren in Tierexperimenten oder auch an sehr kleinen Patientenkollektiven beschrieben

wurden, fanden sich dabei nicht, mit Ausnahme von postmenopausalen Frauen, wo um 12:00 Uhr signifikant höhere OXT-Konzentrationen im Liquor gemessen wurden als um 18:00 Uhr. Für Oxytocin korrelierte die Bestimmung im Speichel stärker mit der Liquorbestimmungen als für die Blutbestimmung. Dieser Effekt war für Vasopressin nicht nachweisbar.

Es zeigte sich keine signifikante Korrelation der Neuropeptidkonzentrationen mit dem klinischen Outcome. Unter anderem aufgrund der günstigen Patientenselektion ist kein Patient innerhalb der Nachsorge verstorben.

Fazit

- Die Ergebnisse von Studien zur zirkadianen Rhythmik von Neuropeptiden aus den 1980er Jahren mit geringer Patientenzahl konnten nicht bestätigt werden.
- Falls eine Bestimmung der Neuropeptide im Liquor nicht möglich ist und man die zentrale OXT-Konzentration messen möchte, kann die frühmorgendliche Bestimmung im Speichel als bessere Option gegenüber der Bestimmung im Blut gelten.
- Zu genaueren Aussagen über den Zusammenhang von Neuropeptidkonzentration und Outcome sind weitere Untersuchungen nötig.

6. Anhang

In der Gutachterversion dieser Arbeit waren die Rohdaten inkludiert. In der veröffentlichten Version wird aus Datenschutzgründen darauf verzichtet.

Aus der Arbeit ging folgende Publikation hervor:

“Absence of a diurnal rhythm of oxytocin and arginine-vasopressin in human cerebrospinal fluid, blood and saliva” S. M. Kagerbauer, J. M. Debus, J. Martin, J. Gempt, B. Jungwirth, A. Hapfelmeier, et al. *Neuropeptides* 78 (2019) 101977 [50]

7. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Anatomie des Gehirns mit Hypophyse https://www.thieme.de/statics/dokumente/thieme/final/de/dokumente/tw_pflegepaedagogik/abb-14-12-das-gehirn-und-seine-abschnitte.jpg (18.2.2018)

Abb. 2: Hypothalamus und Hypophyse angepasst nach: G.Spinas und S. Fischli, Endokrinologie und Stoffwechsel kompakt; Springer 2. Aufl, 2010 [1]

Abb. 3: Strukturformel und Aminosäuresequenz von Oxytocin Quelle: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/glossary/de/oxytocin.glos.html>

Abb. 4: Strukturformel und Aminosäuresequenz von Arginin-Vasopressin; Quelle: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/glossary/de/oxytocin.glos.html>

Abb. 5: Übersicht über die Sezernierung von OXT in Blut und Liquor, modifiziert nach [8]

Abb.6: Typisches Bild einer SAB mit Ausdehnung in die basalen Zisternen (rot) und vierten Ventrikel (blau) [82]

Abb. 7: Skizze einer EVD Quelle: https://www.thieme.de/statics/dokumente/thieme/final/de/dokumente/tw_pflegepaedagogik/abb-61-04-externe-ventrikeldrainage.jpg (04.01.2019)

Abb. 8: Watteträger der Firma Sarstedt®, die zur Speichelgewinnung verwendet wurden; Quelle: eigene Fotos

Abb. 9: Schematische Darstellung des Ablaufs eines Radioimmunoassays Quelle: „Biochemie und Pathobiochemie“ von Löffler, Petrides, Springer Verlag 2006 S. 761 Abb 25.2

Abb. 10: Die Abbildung zeigt die individuellen Verläufe der Oxytocinkonzentration getrennt nach Geschlecht und Menopausenstatus

Abb. 11: Die Abbildung zeigt die individuellen Verläufe der AVP Konzentration getrennt nach Geschlecht und Menopausenstatus

Abb. 12: OXT-Konzentrationen im Blut zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Abb. 13: OXT-Konzentrationen im Liquor zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Abb. 14: OXT-Konzentrationen im Speichel zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Abb. 15: AVP-Konzentrationen im Blut zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Abb. 16: AVP-Konzentrationen im Liquor zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Abb. 17: AVP-Konzentrationen im Speichel zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten aller Patienten der Studie

Abb. 18: Konzentration von OXT bei Männern (m) und Frauen (w) im zeitlichen Verlauf im a. Blut , b. Liquor, c. Speichel

Abb. 19: Konzentration von AVP bei Männern (M) und Frauen (W) im zeitlichen Verlauf im a. Blut, b. Liquor, c. Speichel

Abb. 20: Konzentration von OXT bei Frauen abhängig vom Menopausenstatus im zeitlichen Verlauf im a. Blut , b. Liquor, c. Speichel

Abb. 21: Konzentration von AVP bei Frauen abhängig vom Menopausenstatus im zeitlichen Verlauf im a. Blut , b. Liquor, c. Speichel

Abb. 22: Anteil der GOS Werte aller Patienten

Danksagung

Die Durchführung dieser Arbeit wurde erst möglich durch die Unterstützung von sehr vielen Menschen, denen ich hier danken möchte.

Hiermit möchte ich in erster Linie meiner Betreuerin PD Dr. Simone Kagerbauer danken. Sie hat ganz wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen, indem sie diese über den gesamten Zeitraum begleitet hat, immer ansprechbar war, und mir mit großem Engagement und Fachwissen über diverse organisatorischen Klippen geholfen hat. Diese hier vorliegende Arbeit baut ganz wesentlich auf ihrer Expertise und Begeisterung im Gebiet der Neuropeptide auf.

Herrn Prof. Dr. Manfred Blobner danke ich sehr für die Unterstützung des Themas, die Bereitstellung der Mittel für die Durchführung der Messungen und die Vertretung der Arbeit vor der Medizinischen Fakultät.

Die Durchführung der statistischen Analysen erfolgte durch PD Dr. Alexander Hapfelmeier vom Institut für Medizinische Statistik der TUM. Ich bedanke mich besonders für die umfangreichen Analysen und die intensiven und geduldigen Diskussion dieser Ergebnisse mit ihm.

Für die Durchführung der RIAs zur Neuropeptidmessung danke ich Herrn Prof. Dr. Rainer Landgraf vom Max Planck Institut für Neurowissenschaften.

Meine Co-Doktorandin Henriette Beyer, „Netti“, hat mir die Durchführung der Arbeit durch viele aufmunternde Worte und eine sehr gute Zusammenarbeit einfacher gemacht. Ich möchte mich für diese gute Zeit bedanken, die durch die gemeinsame Prüfungsgruppe im 3. Staatsexamen gekrönt wurde.

Abschließend möchte ich den Patienten danken, die trotz ihrer Erkrankung der Teilnahme in dieser Studie zugestimmt haben und damit diese Arbeit ermöglicht haben. Ihnen und den Ärzte- und Pflegeteams der neurochirurgischen Intensivstation, die mich freundlich aufgenommen haben, gebührt mein besonderer Dank.

8. Literaturverzeichnis

1. Fischli S., Schweikert, H.-U., Hypothalamus und Hypophyse, in Duale Reihe Innere Medizin. 2013, Georg Thieme Verlag.
2. Kurtz, A., Regulation des Wasserhaushalts, in Löffler Petrides : Biochemie und Pathobiochemie. 2014, Springer Verlag. p. S.832.
3. Heinrich P, et al., Hormone, in Löffler Petrides: Biochemie und Pathobiochemie. 2014, Springer Verlag. p. 407.
4. Deutzmann, R., Hypothalamisch-hypophysäres System: Integration von ZNS und endokrinem System, in Duale Reihe Physiologie. 2012, Georg Thieme Verlag. p. 347-353.
5. Gutkowska, J., et al., Oxytocin is a cardiovascular hormone. Braz J Med Biol Res, 2000. 33(6): p. 625-33.
6. Gutkowska, J. and Jankowski, M., Oxytocin revisited: It is also a cardiovascular hormone. J Am Soc Hypertens, 2008. 2(5): p. 318-25.
7. Kurtz, A., Regulation des Wasser- und Elektrolythaushalts, in Duale Reihe Physiologie. 2012, Georg Thieme Verlag. p. 316-320.
8. Neumann, I.D. and Landgraf, R., Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. Trends Neurosci, 2012. 35(11): p. 649-59.
9. Bachner-Melman, R. and Ebstein, R.P., The role of oxytocin and vasopressin in emotional and social behaviors. Handb Clin Neurol, 2014. 124: p. 53-68.
10. de Kloet, C.S., et al., Elevated plasma arginine vasopressin levels in veterans with posttraumatic stress disorder. J Psychiatr Res, 2008. 42(3): p. 192-8.
11. Deutzmann, R., Hypothalamisch-hypophysäres System: Integration von ZNS und endokrinem System, in Duale Reihe Physiologie. 2012, Georg Thieme Verlag. p. 347-353.
12. Baribeau, D.A. and Anagnostou, E., Oxytocin and vasopressin: linking pituitary neuropeptides and their receptors to social neurocircuits. Front Neurosci, 2015. 9: p. 335.
13. Hattori, T., Sundberg, D.K., and Morris, M., Central and systemic oxytocin release: a study of the paraventricular nucleus by in vivo microdialysis. Brain Res Bull, 1992. 28(2): p. 257-63.
14. Kagerbauer, S.M., et al., Plasma oxytocin and vasopressin do not predict neuropeptide concentrations in human cerebrospinal fluid. J Neuroendocrinol, 2013. 25(7): p. 668-73.
15. Jurek, B. and Neumann, I.D., The Oxytocin Receptor: From Intracellular Signaling to Behavior. Physiol Rev, 2018. 98(3): p. 1805-1908.
16. Wotjak, C.T., et al., Dissociated central and peripheral release of vasopressin, but not oxytocin, in response to repeated swim stress: new insights into the secretory capacities of peptidergic neurons. Neuroscience, 1998. 85(4): p. 1209-22.
17. Nishimori, K., et al., Oxytocin is required for nursing but is not essential for parturition or reproductive behavior. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. 93(21): p. 11699-704.
18. Jobst, A., et al., Oxytocin and vasopressin levels are decreased in the plasma of male schizophrenia patients. Acta Neuropsychiatr, 2014. 26(6): p. 347-55.
19. Slattery, D.A. and Neumann, I.D., Oxytocin and major depressive disorder: experimental and clinical evidence for links to aetiology and possible treatment. Pharmaceuticals, 2010. 3: p. 702-724.

20. Jokinen, J., et al., Low CSF oxytocin reflects high intent in suicide attempters. *Psychoneuroendocrinology*, 2012. 37(4): p. 482-90.
21. Harris, J.C. and Carter, C.S., Therapeutic interventions with oxytocin: current status and concerns. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2013. 52(10): p. 998-1000.
22. Alos-Ferrer, C. and Farolfi, F., Trust Games and Beyond. *Front Neurosci*, 2019. 13: p. 887.
23. Striepens, N., et al., Elevated cerebrospinal fluid and blood concentrations of oxytocin following its intranasal administration in humans. *Sci Rep*, 2013. 3: p. 3440.
24. Modi, M.E., et al., Aerosolized oxytocin increases cerebrospinal fluid oxytocin in rhesus macaques. *Psychoneuroendocrinology*, 2014. 45: p. 49-57.
25. Anand, T. and Skinner, R., Arginine vasopressin: the future of pressure-support resuscitation in hemorrhagic shock. *J Surg Res*, 2012. 178(1): p. 321-9.
26. Ziai, F., Walter, R., and Rosenthal, I.M., Treatment of central diabetes insipidus in adults and children with desmopressin. *Arch Intern Med*, 1978. 138(9): p. 1382-5.
27. Potter, G.D., et al., Circadian Rhythm and Sleep Disruption: Causes, Metabolic Consequences, and Countermeasures. *Endocr Rev*, 2016. 37(6): p. 584-608.
28. Moore, R.Y. and Eichler, V.B., Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res*, 1972. 42(1): p. 201-6.
29. Reppert, S.M., et al., Putative melatonin receptors in a human biological clock. *Science*, 1988. 242(4875): p. 78-81.
30. Herxheimer, A. and Petrie, K.J., Melatonin for the prevention and treatment of jet lag. *Cochrane Database Syst Rev*, 2002(2): p. CD001520.
31. Degroot, L.J., et al., Advances in endocrinology. *Practitioner*, 1967. 119(192): p. 485-97.
32. Forsling, M.L., Diurnal rhythms in neurohypophysial function. *Exp Physiol*, 2000. 85 Spec No: p. 179S-186S.
33. Nishino, H., Kiyomi, K., and Brooks, C.M., The role of suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in the production of circadian rhythm. *Brain Res*, 1976. 112(1): p. 45-59.
34. Ibuka, N. and Kawamura, H., Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. *Brain Res*, 1975. 96(1): p. 76-81.
35. Pisani, M.A., et al., Sleep in the intensive care unit. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015. 191(7): p. 731-8.
36. Knauert, M.P., Haspel, J.A., and Pisani, M.A., Sleep Loss and Circadian Rhythm Disruption in the Intensive Care Unit. *Clin Chest Med*, 2015. 36(3): p. 419-29.
37. Kagerbauer, S.M., Rothoerl, R.D., and Brawanski, A., Pituitary dysfunction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*, 2007. 29(3): p. 283-8.
38. Brainard, J., et al., Circadian rhythms in anesthesia and critical care medicine: potential importance of circadian disruptions. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*, 2015. 19(1): p. 49-60.
39. Kundra, S., et al., Principles of neuroanesthesia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*, 2014. 30(3): p. 328-37.
40. van Gijn, J., Kerr, R.S., and Rinkel, G.J., Subarachnoid haemorrhage. *Lancet*, 2007. 369(9558): p. 306-18.
41. Petridis, A.K., et al., Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Dtsch Arztebl Int*, 2017. 114(13): p. 226-236.

42. Nazli Janjua, S.A.M., Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Current opinion in critical care*, 2003, April: p. 113-9.
43. Hunt, W.E. and Hess, R.M., Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. *J Neurosurg*, 1968. 28(1): p. 14-20.
44. Rosen, D.S. and Macdonald, R.L., Subarachnoid hemorrhage grading scales: a systematic review. *Neurocrit Care*, 2005. 2(2): p. 110-8.
45. Teasdale, G. and Jennett, B., Assessment and prognosis of coma after head injury. *Acta Neurochir (Wien)*, 1976. 34(1-4): p. 45-55.
46. Amico, J.A., et al., A time-dependent peak of oxytocin exists in cerebrospinal fluid but not in plasma of humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983. 57(5): p. 947-51.
47. Kuboyama, T., et al., Diurnal changes in vasopressin and oxytocin levels in cerebrospinal fluid of post-operative patients with intracranial aneurysms. *Endocrinol Jpn*, 1988. 35(2): p. 249-54.
48. Jones, C., et al., Oxytocin and social functioning. *Dialogues Clin Neurosci*, 2017. 19(2): p. 193-201.
49. Heinrich, P.C. et al. *Stoffwechsel und Analyse von Hormonen und Cytokinen*, in *Biochemie und Pathobiochemie*, Editor. 2006, Springer Verlag. p. 761-762.
50. Kagerbauer, S.M., et al., Absence of a diurnal rhythm of oxytocin and arginine-vasopressin in human cerebrospinal fluid, blood and saliva. *Neuropeptides*, 2019. 78: p. 101977.
51. Cohen, J., *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 1988. second edition.
52. Reppert, S.M., et al., The circadian rhythm of oxytocin in primate cerebrospinal fluid: effects of destruction of the suprachiasmatic nuclei. *Brain Res*, 1984. 307(1-2): p. 384-7.
53. Amico, J.A., S.C. Levin, and J.L. Cameron, Circadian rhythm of oxytocin in the cerebrospinal fluid of rhesus and cynomolgus monkeys: effects of castration and adrenalectomy and presence of a caudal-rostral gradient. *Neuroendocrinology*, 1989. 50(6): p. 624-32.
54. Windle, R.J., Forsling, ML and Guzek, JW, Daily rhythms in the hormone content of the neurohypophysial system and release of oxytocin and vasopressin in the male rat: effect of constant light. *J Endocrinol*, 1992. 133(2): p. 283-90.
55. Kalsbeek, A., et al., In vivo measurement of a diurnal variation in vasopressin release in the rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res*, 1995. 682(1-2): p. 75-82.
56. Devarajan, K. and Rusak, B. Oxytocin levels in the plasma and cerebrospinal fluid of male rats: effects of circadian phase, light and stress. *Neurosci Lett*, 2004. 367(2): p. 144-7.
57. Gannon, R.L., Non-peptide oxytocin receptor ligands and hamster circadian wheel running rhythms. *Brain Res*, 2014. 1585: p. 184-90.
58. De Groot, A.N., et al., Bioavailability and pharmacokinetics of sublingual oxytocin in male volunteers. *J Pharm Pharmacol*, 1995. 47(7): p. 571-5.
59. Sorensen, P.S., et al., 24-hour cerebrospinal fluid levels of vasopressin in hydrocephalic patients. *Regul Pept*, 1985. 10(2-3): p. 115-26.
60. George, C.P., et al., Diurnal variation of plasma vasopressin in man. *J Clin Endocrinol Metab*, 1975. 41(2): p. 332-8.
61. Graugaard-Jensen, C., et al., Urinary concentration does not exclusively rely on plasma vasopressin. A study between genders. *Gender and diurnal urine regulation. Acta Physiol (Oxf)*, 2014. 212(1): p. 97-105.

62. Martin, J., et al., Oxytocin levels in saliva correlate better than plasma levels with concentrations in the cerebrospinal fluid of patients in neurocritical care. *J Neuroendocrinol*, 2018: p. e12596.
63. Kleindienst, A., et al., Hyponatremia in Neurotrauma: The Role of Vasopressin. *J Neurotrauma*, 2016. 33(7): p. 615-24.
64. Kirkman, M.A., et al., Hyponatremia and brain injury: historical and contemporary perspectives. *Neurocrit Care*, 2013. 18(3): p. 406-16.
65. Dick, M., et al., Persistent syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion following traumatic brain injury. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*, 2015. 2015: p. 150070.
66. Harper, K.M., et al., Vasopressin and alcohol: a multifaceted relationship. *Psychopharmacology (Berl)*, 2018. 235(12): p. 3363-3379.
67. Verbalis, J.G., Disorders of water metabolism: diabetes insipidus and the syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion. *Handb Clin Neurol*, 2014. 124: p. 37-52.
68. Li, J., et al., Effects of chronic restraint stress on social behaviors and the number of hypothalamic oxytocin neurons in male rats. *Neuropeptides*, 2016. 60: p. 21-28.
69. Boyko, Y., P. Jennum, and P. Toft, Sleep quality and circadian rhythm disruption in the intensive care unit: a review. *Nat Sci Sleep*, 2017. 9: p. 277-284.
70. Bani Younis, M., F. Hayajneh, and A.M. Batiha, Measurement and Nonpharmacologic Management of Sleep Disturbance in the Intensive Care Units: A Literature Review. *Crit Care Nurs Q*, 2019. 42(1): p. 75-80.
71. Delaney, L., E. Litton, and F. Van Haren, The effectiveness of noise interventions in the ICU. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2019. 32(2): p. 144-149.
72. Martin, J., et al., Vasopressin and oxytocin in CSF and plasma of patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Neuropeptides*, 2014. 48(2): p. 91-6.
73. Franke, A.A., et al., Oxytocin analysis from human serum, urine, and saliva by orbitrap liquid chromatography-mass spectrometry. *Drug Test Anal*, 2018.
74. Mitchell, M.D., et al., Plasma oxytocin concentrations during the menstrual cycle. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1981. 12(3): p. 195-200.
75. Evans, J.J., et al., Evidence that oxytocin is a physiological component of LH regulation in non-pregnant women. *Hum Reprod*, 2003. 18(7): p. 1428-31.
76. Maestrini, S., et al., Plasma Oxytocin Concentration in Pre- and Postmenopausal Women: Its Relationship with Obesity, Body Composition and Metabolic Variables. *Obes Facts*, 2018. 11(5): p. 429-439.
77. Lefevre, A., et al., A comparison of methods to measure central and peripheral oxytocin concentrations in human and non-human primates. *Sci Rep*, 2017. 7(1): p. 17222.
78. Proctor, G.B., The physiology of salivary secretion. *Peridonotology* 2000, 2016.
79. Wolff, A., et al., A Guide to Medications Inducing Salivary Gland Dysfunction, Xerostomia, and Subjective Sialorrhea: A Systematic Review Sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Drugs R D*, 2017. 17(1): p. 1-28.
80. Saameli, K., An indirect method for the estimation of oxytocin blood concentration and half-life in pregnant women near term. *Am J Obstet Gynecol*, 1963. 85: p. 186-92.
81. Gavalda-Manso, M., et al., Reduced levels of vasopressin, an independent mechanism in the obesity paradox in patients with chronic heart failure: Insights from the DAMOCLES study. *Int J Cardiol*, 2019. 276: p. 171-176.

82. Heim, T.M., Subarachnoidalblutung: Tücken der Intensivtherapie nach Clips und Coils. Deutsches Ärzteblatt. 47/2020.
83. Graugaard-Jensen, C., Hvistendahl, G., Frøkiær, J., Bie, F., Djurhuus, J., Oral contraceptive and renal water handling: A diurnal study in young women, *Physiol Rep* 2017 Dec;5(23)
84. Lønning, PE., Dowsett MS, Jacobs,S., Schem B, Hardy J., Powles TJ., There are no circadian estradiol plasma profiles in postmenopausal women. *Steroid Biochem* 1989; 43; 551-3