

Aus der Klinik für Neurologie

(Prof. Dr. med. M. Bähr)

im Zentrum Neurologische Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Untersuchungen zu
Aquaporin 1 und Aquaporin 4 im Liquor von Patienten
mit bakterieller Meningitis und
viraler Meningitis im Vergleich zu einer Kontrollgruppe

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Isabel Eckert

aus

Recklinghausen

Göttingen 2015

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatter: Prof. Dr. Holger Günter Edmund Schmidt

II. Berichterstatter: Prof. Dr. Roland Nau

Tag der mündlichen Prüfung: 13. September 2016

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Bakterielle Meningitis	1
1.1.1 Klinisches Bild und Diagnostik	1
1.1.2 Verteilung der Erreger für bakterielle Meningitiden	2
1.1.3 Verlauf, Komplikationen und Folgezustände der bakteriellen Meningitis	3
1.1.4 Differenzialdiagnose der bakteriellen Meningitis	4
1.2 Einfluss der bakteriellen Meningitis auf die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke	5
1.3 Liquorproduktion	5
1.4 Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke	7
1.5 Pathophysiologie des Hirnödems	8
1.6 Aquaporine	12
1.6.1 Lokalisation von Aquaporin 1	13
1.6.2 Lokalisation von Aquaporin 4	14
1.6.3 Lokalisation von Aquaporin 9	15
1.7 Pathophysiologie des vasogenen und zytotoxischen Hirnödems bei ausgewählten Erkrankungen unter Berücksichtigung von Aquaporin 1 und Aquaporin 4	17
1.7.1 Hirnödem bei zerebraler Ischämie	17
1.7.2 Hirnödem bei bakteriellem Abszess	18
1.7.3 Hirnödem bei bakterieller Meningitis	19
1.7.4 Hirnödem bei viraler Meningitis	20
1.8 Regulation der Aquaporine	20
1.9 Aquaporine und Kognition	21
2 Fragestellung	22
3 Methodik	23
3.1 Patientenkollektiv für die Aquaporinbestimmung	23
3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien	23
3.1.2 Kontrollgruppe für die Aquaporinbestimmung	24
3.1.3 Klinische Symptomatik bei Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis	24

3.1.4 Liquor- und laborchemische Parameter	25
3.2 Aquaporinbestimmung	26
3.2.1 Messungen zur Stabilität der Aquaporine	29
3.3 Bestimmung des Hirnödems bei Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis	29
3.4 Neuropsychologische Nachuntersuchungen	30
3.4.1 Neuropsychologische Tests	30
3.4.1.1 Tests zur Kognition	30
3.4.1.2 Fragebögen zur psychiatrischen Symptomatik	31
3.4.2 Patientenkollektiv	32
3.4.3 Kontrollgruppe	33
3.5 Statistik	34
4 Auswertung	35
4.1 Studienkollektiv	35
4.1.1 Altersverteilung	35
4.1.2 Erregernachweis	37
4.1.3 Klinische Symptomatik der Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis	38
4.1.4 Lagerung des Liquors	41
4.1.5 Liquor- und laborchemische Parameter	41
4.2 Stabilität der Aquaporine im Liquor	44
4.2.1 Stabilität in Abhängigkeit von der Temperatur	44
4.2.2 Stabilität in Abhängigkeit von den Auftauvorgängen	44
4.2.3 Verdünnungsechtheit des angewandten ELISA-Tests	45
4.3 Aquaporinmessung	46
4.3.1 Bakterielle Meningitis	46
4.3.1.1 Geschlechtsspezifischer Vergleich	46
4.3.2 Virale Meningitis	49
4.3.2.1 Geschlechtsspezifischer Vergleich	50
4.3.3 Kontrollgruppe	51
4.4 Gruppenvergleich	53
4.4.1 Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Konzentrationen	53

4.4.2 Vergleich der Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Liquor-/Serum-Quotienten bei Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe	55
4.4.3 Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Index bei Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe	56
4.4.4 Einfluss von Erythrozytenbeimengungen	57
4.4.5 Aquaporin 4-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze	57
4.4.6 Vergleich der Aquaporinkonzentrationen mit klinischen, liquor- und laborchemischen Daten	58
4.4.7 Vergleich der Aquaporinkonzentrationen mit dem semiquantitativen Ausmaß des Hirnödems bei Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis	60
4.5 Neuropsychologische Nachuntersuchung	61
4.5.1 Kollektiv	61
4.5.2 Vergleich der psychiatrischen Symptomatik der Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe	62
4.5.3 Vergleich kognitiver Tests der Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe	63
4.5.4 Korrelation der Ergebnisse der neuropsychologischen Nachuntersuchung mit den Aquaporinkonzentrationen im Liquor	64
5 Diskussion	66
5.1 Klinische Daten	66
5.1.1 Patientenkollektive	66
5.1.2 Erregerspektrum	67
5.1.3 Klinische Symptomatik der Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis	68
5.2 Methodik der Aquaporinmessung	69
5.3 Ergebnisse der Aquaporinmessung	70
5.3.1 Nachweis von Aquaporin 1 und Aquaporin 4 im Liquor und Serum	70
5.3.2 Aquaporin 1 und Aquaporin 4 in Abhängigkeit von der Patientenstruktur	71
5.3.3 Ursprungsort der gemessenen Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Konzentrationen im Liquor	73
5.3.4 Aquaporin 1 und Aquaporin 4 in Bezug auf laborchemische Parameter und klinische Scores	77

5.3.5 Bedeutung für das Hirnödem	77
5.4 Ausblick: Aquaporin 1 und Aquaporin 4 und neue Behandlungsmöglichkeiten des Hirnödems	79
5.5 Ergebnisse der neuropsychologischen Nachuntersuchungen	80
6 Zusammenfassung	82
7 Literaturverzeichnis	84
8 Anhang	95
9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	99
9.1 Abbildungsverzeichnis	99
9.2 Tabellenverzeichnis	100
9.3 Tabellenverzeichnis im Anhang	101
10 Abkürzungsverzeichnis	102

1 Einleitung

1.1 Bakterielle Meningitis

1.1.1 Klinisches Bild und Diagnostik

Die bakterielle Meningitis (BM) ist eine akute und lebensbedrohliche Erkrankung mit einer Inzidenz von 5-10/100000 [Meyding-Lamadé und Gruschka 2010]. Eine frühzeitige Diagnose der akuten BM ist wichtig, um die Therapie sofort einleiten zu können, denn mit Verzögerung des Therapiebeginns steigt die Sterblichkeit [Aronin et al. 1998, Dzapova et al. 2009, Proulx et al. 2005].

Meningismus (83-88%), hohes Fieber (59-77%) und Bewusstseinsstörungen (69-80%) sind typische klinische Leitsymptome [Durand et al. 1993, van de Beek et al. 2004]. Alle drei Symptome treten jedoch nur zu maximal 60% bei an einer BM erkrankten Patienten gleichzeitig auf [Durand et al. 1993, Proulx et al. 2005, van de Beek et al. 2004]. Fokal-neurologische Defizite (30%), epileptische Anfälle (23%) [Durand et al. 1993], Kopfschmerzen (87%) [van de Beek et al. 2004], Hörstörungen (10–20%) und Hirnnervenbeteiligungen (10-28%) [Kastenbauer und Pfister 2003] sind weitere Symptome.

Prädisponierende Faktoren sind lokale (z. B. Mastoiditis, Sinusitis) oder systemische Entzündungsherde (z. B. Sepsis, Endokarditis, Pneumonie) und/oder eine Immunschwäche (z. B. bei Diabetes mellitus, bei onkologischen Erkrankungen, bei immunsuppressiver Therapie, bei Alkoholkrankung) [Brouwer et al. 2010a, Durand et al. 1993, Dzapova et al. 2009, Proulx et al. 2005, van de Beek et al. 2004].

In den laborchemischen Untersuchungen finden sich Zeichen eines akut entzündlichen Geschehens (Leukozytose, CRP-Erhöhung) [Brouwer et al. 2010a], bei 30-50% lässt sich in der Blutkultur ein Erreger nachweisen [Proulx et al. 2005].

Zur Diagnosesicherung ist eine zeitnahe Lumbalpunktion erforderlich. Diese sollte bei Verdacht auf eine intrakranielle Druckerhöhung bzw. bei fokalneurologischen Defiziten erst nach computertomografischem Ausschluss eines schweren Hirnödems erfolgen, um eine Herniation, durch die im Rahmen der Lumbalpunktion entstehende Druckverschiebung, zu vermeiden [Meyding-Lamadé und Gruschka 2010, Schmidt und Nau 2004]. Der Beginn der antibiotischen Therapie sollte möglichst immer vor der bildgebenden Diagnostik liegen, um eine Verzögerung des Therapiebeginns zu vermeiden [Proulx et al. 2005].

Eine Pleozytose von > 1000 Leukozyten/ μl im Liquor, eine Liquor-Laktatkonzentration größer 3 mmol/l und eine Gesamteiweißerhöhung größer 1 g/l im Liquor machen eine bakterielle Entzündung des zentralen Nervensystems (ZNS) wahrscheinlich [Jung et al. 2011, Meyding-Lamadé und Gruschka 2010, Schmidt und Nau 2004]. Eine bakterielle Ätiologie der Meningitis ist nur mit positivem Erregernachweis im Liquor sicher zu beweisen. Dies gelingt in etwa der Hälfte aller Fälle durch direkten Erregernachweis mittels Gramfärbung und bei 50-80% mittels Kultur [Brouwer et al. 2010a, Meyding-Lamadé und Gruschka 2010, Welinder-Olsson et al. 2007]. Der Nachweis des Erregergenoms in Form der bakteriellen 16s-rRNA-PCR gelingt bei über 70% der Patienten und ist insbesondere dann von Nutzen, wenn bereits vor der Lumbalpunktion eine antibiotische Therapie eingeleitet wurde [Schuurman et al. 2004, Welinder-Olsson et al. 2007].

1.1.2 Verteilung der Erreger für bakterielle Meningitiden

In Studien wurden am häufigsten Infektionen mit *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*, 43-51%), gefolgt von *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*, 22-37%) als Grund für die BM gefunden [Katchanov et al. 2009, Schmidt et al. 2006b, Weisfelt et al. 2006a].

Weitere typische Erreger sind *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), weitere Streptococcus-Erreger, Gram-negative Bakterien und *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) [Katchanov et al. 2009, Schmidt et al. 2006b, Weisfelt et al. 2008].

Etwa 10% der Infektionen des Nervensystems mit *Borrelia burgdorferi* („Neuroborreliose“) verlaufen als Meningitis [Djukic et al. 2012]. Auch Mykobakterien verursachen Meningitiden, die aber oft durch einen subakuten und klinisch unspezifischen Verlauf von den zuvor genannten Meningitiden zu unterscheiden sind [Pfister et al. 2002].

1.1.3 Verlauf, Komplikationen und Folgezustände der bakteriellen Meningitis

Im Akutstadium entwickeln 14% der an einer BM erkrankten Patienten ein Hirnödem. Im weiteren Verlauf kann es zu einer intrakraniellen Drucksteigerung mit der Gefahr der Einklemmung kommen, welche oft prognosebestimmend ist.

Weitere, auch lebensbedrohliche Komplikationen sind eine enzephalitische oder zerebrovaskuläre Mitbeteiligung (15%), ein Hydrozephalus aresorptivus (12%) und epileptische Anfälle. Ein septischer Schock (12%) und ein *adult respiratory distress syndrome* (ARDS; 4%) stellen mögliche systemische Komplikationen dar [Pfister et al. 1993].

20-40% der Patienten versterben an der akuten Pneumokokken- oder Listerien-Meningitis [Durand et al. 1993, Dzupova et al. 2009, Kastenbauer und Pfister 2003]. Die Letalität der Meningokokken-Meningitis liegt bei 3-10% [Durand et al. 1993, Stephens et al. 2007].

Nach einer überlebten BM lassen sich bei 20-40% der Patienten unterschiedliche Residualzustände nachweisen [Dzupova et al. 2009, Østergaard et al. 2005, van de Beek et al. 2004, Weisfelt et al. 2006a]: z. B. fokalneurologische Defizite (4-16%), symptomatische epileptische Anfälle oder Hörminderungen bis hin zur Taubheit (8-14%) [Dzupova et al. 2009, Østergaard et al. 2005, Weisfelt et al. 2006a].

Neuropsychologische Defizite werden durchschnittlich bei ca. 49% der Erkrankten in den einzelnen Domänen beobachtet [Schmidt et al. 2006b]. Werden alle Parameter zusammen betrachtet (*cognitive sum score* bei einem cut-off Wert der fünften Perzentile), weisen 10% bis 16% der untersuchten Patienten pathologische Parameter auf [Merkelbach et al. 2000, Schmidt et al. 2006b, van de Beek et al. 2002].

Eine niederländische Forschungsgruppe untersuchte Patienten nach einer BM mit *S. pneumoniae*, die klinisch eine gute Genesung zeigten (*Glasgow Outcome Scale* von fünf). Für die Domänen Intelligenz, Aufmerksamkeit, Reaktionszeit und frontale Exekutivfunktionen ergaben sich, im Vergleich zu Gesunden schlechtere Testergebnisse [van de Beek et al. 2002]. Im Vergleich zu Patienten mit viraler Meningitis (VM) erreichten Patienten mit BM in einer weiteren Studie auch in einzelnen Untertests zum Arbeits- und Kurzzeitgedächtnis schlechtere Testergebnisse. Beide Gruppen wiesen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe niedrigere Werte im Bereich der psychischen Gesundheit auf. Mögliche Einflüsse des psychischen Befindens auf die Tests zur Kognition ließen sich nicht nachweisen [Schmidt et al. 2006b].

1.1.4 Differenzialdiagnose der bakteriellen Meningitis

Die virale Meningitis bzw. Meningoenzephalitis ist in Mitteleuropa die wichtigste Differenzialdiagnose zur BM. Im Akutstadium ist eine eindeutige klinische Diagnose, vor allem bei besonders schweren Verläufen einer Herpes-simplex- (HSV), Varizella-Zoster- (VZV) oder Zytomegalie-Infektion (CMV), manchmal schwierig. Klinisch stehen häufig eine Bewusstseinsstörung, epileptische Anfälle und fokalneurologische Defizite im Vordergrund [Meyding-Lamadé und Lenhard 2010].

Der Anstieg der oben genannten Entzündungsparameter ist in der Regel geringer ausgeprägt (Liquor: Pleozytose bis 1500 Leukozyten/ μ l, Gesamteiweiß 0,7-1,0 g/l) [Meyding-Lamadé und Lenhard 2010].

Auch bei der VM, hier insbesondere bei der meningoenzephalitischen Verlaufsform, kann das Hirnödem, in Verbindung mit einem erhöhten intrakraniellen Druck, eine prognosebestimmende Komplikation darstellen [Kumar et al. 2009].

1.2 Einfluss der bakteriellen Meningitis auf die Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke

Die Infektion des ZNS kann hämatogen, *per continuitatem* (z. B. durch Knochenbruch bei Sinusitis, bei Mastoiditis oder bei offenem Schädel-Hirn-Trauma) und iatrogen erfolgen. Bei 42% der durch *S. pneumoniae* verursachten Meningitiden wird jedoch kein Fokus gefunden [Østergaard et al. 2005].

Die Ausbreitung der Infektion erfolgt durch Übertritt über die Blut-Hirn- bzw. Blut-Liquor-Schranke (BHS, BLS) mittels Diapedese durch Gefäßwände oder aufgrund lokaler Zellschäden. Dies wird durch diverse Virulenzfaktoren der Erreger, wie z. B. bei *S. pneumoniae* durch das Pneumolysin, begünstigt. Ein Anstieg von pro-inflammatorischen Zytokinen (Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α)), Interleukinen (Interleukin 1 β (IL-1 β), IL-6) und Chemokinen (IL-8) sowie eine Invasion neutrophiler Granulozyten mit nachfolgender Permeabilitätserhöhung der BHS sind die Folge. Weitere Effektoren der Entzündungsreaktion sind Metalloproteine. Die Zink-abhängigen Endoproteasen können den Zusammenbruch der BHS begünstigen und die Extravasation von Leukozyten hervorrufen [Meli et al. 2002].

Als Reaktion auf die Entzündungsreaktion kommt es zu einem weiteren Untergang von kortikalem Hirngewebe [Coimbra et al. 2006, Barichello et al. 2009, Koedel et al. 2009, Spreer et al. 2009]. Reaktive Sauerstoffradikale, Ischämien und ein veränderter zerebraler Blutfluss begünstigen diesen Prozess [Meli et al. 2002].

1.3 Liquorproduktion

Die physiologische Flüssigkeitshomöostase im ZNS erfolgt über die Regulation der Liquorproduktion. Der Liquor fungiert als mechanischer Schutz, Abflussweg von Endprodukten aus Zellmetabolismus und synaptischer Aktivität sowie als Kommunikationssystem innerhalb des ZNS über Hormon- und Transmittertransport. Es ist bisher nicht eindeutig geklärt, ob über den Liquor auch eine Mitversorgung der Neuronen mit Nährstoffen erfolgt [Brown et al. 2004]. Liquor und interstitielle Flüssigkeit ähneln sich in ihrer Zusammensetzung, zum Blutplasma besteht jedoch ein größerer Unterschied hinsichtlich der Proteinkonzentrationen und der Zellzahlen [Hladky und Barrand 2014, Reiber 2006].

Im gesamten Liquorsystem befinden sich ca. 90 - 150 ml Flüssigkeit. Der Tagesumsatz liegt zwischen 250 – 600 ml (0,3 – 0,4 ml/min) [Brinker et al. 2014, Brown et al. 2004, Jarius et al. 2010] und verringert sich im Alter bis auf ca. 0,1ml/min [Reiber 2006]. Das intrakranielle Liquorvolumen ist abhängig von der Blutdruckhöhe; so verschiebt sich ein Teil des Liquors in der Systole in den Lumbalkanal, hierdurch wird das Gleichgewicht aus intrakranielltem Druck und extrazellulärer Flüssigkeit aufrecht erhalten [Hladky und Barrand 2014]. Atmung und Körperhaltung haben einen ähnlichen Einfluss auf das intrakranielle Liquorvolumen und führen zu temporären Veränderungen [Reiber 2006]. Nielsson et al. wiesen im Rahmen einer Studie zur Liquorproduktion bei gesunden Probanden, basierend auf magnetresonanztomografischen Bildern, eine tageszeitliche Schwankung der Liquorproduktionsrate mit einem nächtlichen Peak nach. [Nilsson et al. 1992]. Eine zirkadiane Liquorproduktionsrate konnte in einer neueren Studie jedoch nicht bestätigt werden [Takahashi et al. 2011].

Die Liquorproduktion erfolgt nach traditioneller Ansicht größtenteils im Plexus choroideus und zu ca. einem Drittel im Hirnparenchym [Brinker et al. 2014]. Der weitere Weg des Liquors wird historisch über das Ventrikelsystem (Seitenventrikel, III. Ventrikel, Aquädukt und IV. Ventrikel) beschrieben. Er gelangt über die Foramina Luschkae, das Foramen Magendii und über die basalen Zisternen in den Subarachnoidalraum. Die Resorption des Liquors erfolgt in den Kapillaren der weichen Hirnhäute, den Pacchioni-Granulationen und den Scheiden der Rückenmarksnerven, in die jeweiligen ableitenden venösen Systeme [Jarius et al. 2010].

Forschungsergebnisse der letzten Jahre haben gezeigt, dass die Produktion und Verteilung des Liquors wesentlich komplexer ist als bisher angenommen. Es gibt Hinweise auf eine Interaktion mit dem Hirnparenchym bzw. der intraependymalen Flüssigkeit, der Gefäßscheiden, der Robinson Virchow Räume und dem lymphatischen System. Zwischen diesen Räumen herrscht ein ständiger Flüssigkeitsaustausch. Als weiterer Ursprungsort größerer interstitieller Flüssigkeitsmengen werden die Zellen der BHS angenommen, die in den Liquor drainiert bzw. sezerniert werden [Hladky und Barrand 2014].

Der im Plexus choroideus produzierte Liquor gelangt entlang eines osmotischen Gradienten trans- und parazellulär in das Ventrikelsystem. Die apikale Zellmembran (zum Liquor hin) ist aufgrund der Expression von Aquaporin 1 (AQP1) gut wasser-durchlässig. Weitere, z. T. energieabhängige Transporter, die den osmotischen Gradienten aufbauen und aufrechterhalten, sind auf beiden Seiten der Zellen lokalisiert (*basal*: Chlorid-Bikarbonat-Austauscher (Cl^- - HCO_3^- -Austauscher), Natrium-gekoppelter Bikarbonat-Transporter (Na^+ -gekoppelter HCO_3^- -Transporter), Kalium-Chlorid-Cotransporter (K^+ - Cl^- -Cotransporter); *apikal*: Natrium-Kalium-ATPase (Na^+ - K^+ -ATPase), Kalium-Kanal (K^+ -Kanal), Natrium-Kalium-2-Chlorid-Cotransporter (Na^+ - K^+ - 2Cl^- -Cotransporter)). Zudem lässt sich eine passive Filtration durch das durchlässige Endothel der Kapillaren nachweisen [Brown et al. 2004].

1.4 Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke

Die BHS trennt das ZNS und den Liquorraum vom Blutkreislaufsystem. An die Basalmembran der Kapillarendothelien legen sich die Astrozytenfortsätze lückenlos an. *Tight junctions* verknüpfen die Endothelzellen miteinander, so dass im Normalzustand nur Partikel unter einem Durchmesser von zwei Nanometern die BHS passieren können. Der Transport niedermolekularer Substanzen, aber auch von Albumin (hydrodynamischer Durchmesser $r = 35,8 \text{ \AA}$, 69 kDa), Transmittern und Sauerstoff, ist möglich [Gruschka 2010, Reiber 1980]. Im geringen Umfang können auch bei Gesunden hochmolekulare Substanzen, wie z.B. IgM oder ganze Zellen, aus dem Blut in den Liquor übertreten [Reiber 2006]. Im Rahmen von Infektionen, Blutungen und Tumorerkrankungen kann es zu einer Schädigung der BHS und zu einer Verlangsamung des Liquorflusses kommen, so dass der Übertritt von weiteren Proteinen in das ZNS möglich bzw. erleichtert wird. Neuere Ergebnisse sprechen dafür, dass die Liquorflussgeschwindigkeit einen entscheidenden Einfluss auf die Proteindynamik der Blut-Hirn-Schrankenfunktion hat [Reiber 2006]. Der Übertritt von Proteinen ist durch die Konzentration des Moleküls in Blut und Liquor, die Liquorflussgeschwindigkeit, die Durchlässigkeit der BHS und die Größe bzw. den hydrostatischen Durchmesser des Proteins bestimmt. Eine weitere Möglichkeit der Konzentrationserhöhung bestimmter

Proteine im Liquorsystem, namentlich der Immunglobuline, ist die lokale Synthese. Anhand des von Reiber und Felgenhauer entwickelten Reiber-Felgenhauer-Diagramms lässt sich unter Zuhilfenahme des Liquor-Serum-Quotienten von Albumin, das nicht im ZNS synthetisiert wird, differenzieren, ob und in welchem Umfang eine Schranken-funktionsstörung oder eine lokale Synthese die Konzentrationen bestimmter Liquor-moleküle beeinflusst. In der klinischen Praxis interessieren hierbei überwiegend die Immunglobulinkonzentrationen. Mit dem Reiber-Felgenhauer-Diagramm lässt sich ebenfalls die große individuelle Spannbreite der einzelnen Proteinkonzentrationen bei Gesunden berücksichtigen [Reiber 1980].

1.5 Pathophysiologie des Hirnödems

Ein Hirnödem ist eine unphysiologische Zunahme des intrazerebralen Wassergehalts mit nachfolgender Erhöhung des intrakraniellen Drucks. Dies kann schnell zu Ischämie, Herniation und Tod führen und ist somit auch als eine akute Komplikation im Rahmen einer BM prognosebestimmend.

Die traditionelle Einteilung des Hirnödems in eine vasogene und eine zytotoxische Form wurde durch Klatzko geprägt [Klatzko 1967]. Beim *vasogenen* Hirnödem treten Wasser, Elektrolyte und Proteine, als Folge einer Öffnung von *tight junctions* des Endothels, ins Interstitium aus. Dieser Prozess wird im weiteren Verlauf durch die Auflockerung der BHS und BLS weiter verstärkt (Abb. 1A) [Papadopoulos und Verkman 2007, Thrane et al. 2014]. Das Ausmaß der Verschiebung von Proteinen über die aufgelockerte BHS mit nachfolgender Wasserbewegung anhand eines osmotischen Gefälles ist blutdruck-abhängig. Nach neuesten Erkenntnissen scheint dieser Mechanismus jedoch nur 10% des Flüssigkeitseinstroms auszumachen. Verschiedene Mediatoren (z.B. Zytokine, Immunkomplexe, freie Sauerstoffradikale etc.) in Verbindung mit einer Perivaskulitis werden als Auslöser einer Zellmembranschädigung diskutiert, welche die erhöhte Kapillarpermeabilität bedingt. Zudem scheint der perivaskuläre Raum, als Ort der Immunreaktionen und Interaktion zwischen den verschiedenen Zelltypen, eine entscheidende Rolle in der Ausbildung des vasogenen Hirnödems zu spielen. Jedoch wird diesem Prozess ebenfalls eine Funktion in der Ödemresorption zugeschrieben

[Thrane et al. 2014]. Das vasogene Hirnödem bildet sich überwiegend im Bereich der weißen Substanz aus [Papadopoulos und Verkman 2007]. Charakteristisch für die *zytotoxische* Form des Hirnödems ist eine intrazelluläre Wasseransammlung, verursacht durch einen Zusammenbruch des zellulären Energiehaushaltes (Abb. 1B). Als Folge des Ausfalls der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und des $\text{Na}^+\text{-Cotransporters}$, erfolgt eine Umverteilung der Na^+ - und Cl^- -Ionen nach intrazellulär. Im Bereich der perikapillären Endfußfortsätze der Astrozyten ist die osmotische Barriere aufgrund der Expression von Aquaporin 4 (AQP4) kaum ausgebildet, so dass es in diesem Bereich, durch die entstandene relative Hypoosmolarität im Vergleich zum Liquorraum, zu einer Umverteilung des Liquors ins Interstitium kommt. Ob das Anschwellen der Astrozytenendfüße nur als Folge der Ödembildung angesehen werden kann, oder ob dies bereits ein Versuch der Kompensation und/oder Teil der Flüssigkeitselimination darstellt, ist Gegenstand der aktuellen Forschung [Thrane et al. 2014]. Im Gegensatz zum vasogenen Hirnödem ist bei der zytotoxischen Form des Hirnödems die graue Substanz betroffen und die BHS bleibt zunächst intakt [Papadopoulos und Verkman 2007].

Die Betrachtung der Hirnödementwicklung und –Einteilung befindet sich aktuell im Wandel und weitere Mechanismen werden neben dem vasogenen und zytotoxischen Hirnödem diskutiert. Jüttler et al. differenzieren z.B. zwischen einer extra- und intrazellulären Genese. Das klassische vasogene Hirnödem und das osmotisch bedingte Hirnödem werden einem extrazellulären Hirnödem zugeordnet [Jüttler et al. 2012]. In der Entstehung des osmotischen Hirnödems ist ein Ungleichgewicht des hydrostatischen und osmotischen Drucks zwischen dem Intra- und Extravaskularraum, bedingt durch eine erniedrigte Osmolarität im Blut, entscheidend. Als häufigster Auslöser ist hier die Hyponatriämie zu nennen, aber auch ein schnelles Absinken des Glucose- oder des Harnstoffspiegels im Blut führen zu einem osmotischen Hirnödem [Thrane et al. 2014]. Dem intrazellulären Hirnödemen wird das zytotoxische Hirnödem untergeordnet. Im Rahmen dieser Einteilung wird nochmals unterschieden, ob das zytotoxische Hirnödem aufgrund eines vorausgehenden Energiemangels oder durch eine Gewebeschädigung hervorgerufen wurde. Die oben beschriebene Schwellung der Astrozytenendfüße in Verbindung mit der AQP4-Expression wird als eigenständiges Konzept betrachtet. Bei allen Unterformen ist der entscheidende gemeinsame

Mechanismus der Zusammenbruch des Energiehaushaltes, verbunden mit einem Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration [Jüttler et al. 2012, Papadopoulos und Verkman 2007, Thrane et al. 2014].

Eine komplette Zerstörung der BHS mit Durchtritt aller Bestandteile aus dem Gefäßsystem, inklusive der roten Blutkörperchen, z.B. durch eine traumatische Hirnläsion, mit nachfolgender Hirnschwellung, beschreibt einen weiteren Mechanismus der Hirnödementstehung. Thrane et al. bezeichnen diese Form des Hirnödems als „hämorrhagisches“ Hirnödem [Thrane et al. 2014]. Im Rahmen eines fehlenden Liquorabflusses über die Paccioni-Granulationen, wie dies beispielsweise im Falle eines Hydrocephalus aresorptivus nach einer Meningitis möglich ist, kann ebenfalls ein Hirnödem entstehen [Jarius et al. 2010, Pfister et al. 1993].

Aufgrund neuer Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Liquorproduktion und -Zirkulation konnten auch neue Erkenntnisse in der Hirnödempforschung gewonnen werden. In dieser Arbeit werden nur das klassische vasogene und zytotoxische Hirnödem berücksichtigt. Eine ergänzende Betrachtung aller aktuellen Forschungsergebnisse würde den Rahmen der Arbeit sprengen. Der Großteil der Forschungen zu Aquaporinen ist bisher auf dem Boden der traditionellen Annahmen durchgeführt worden.

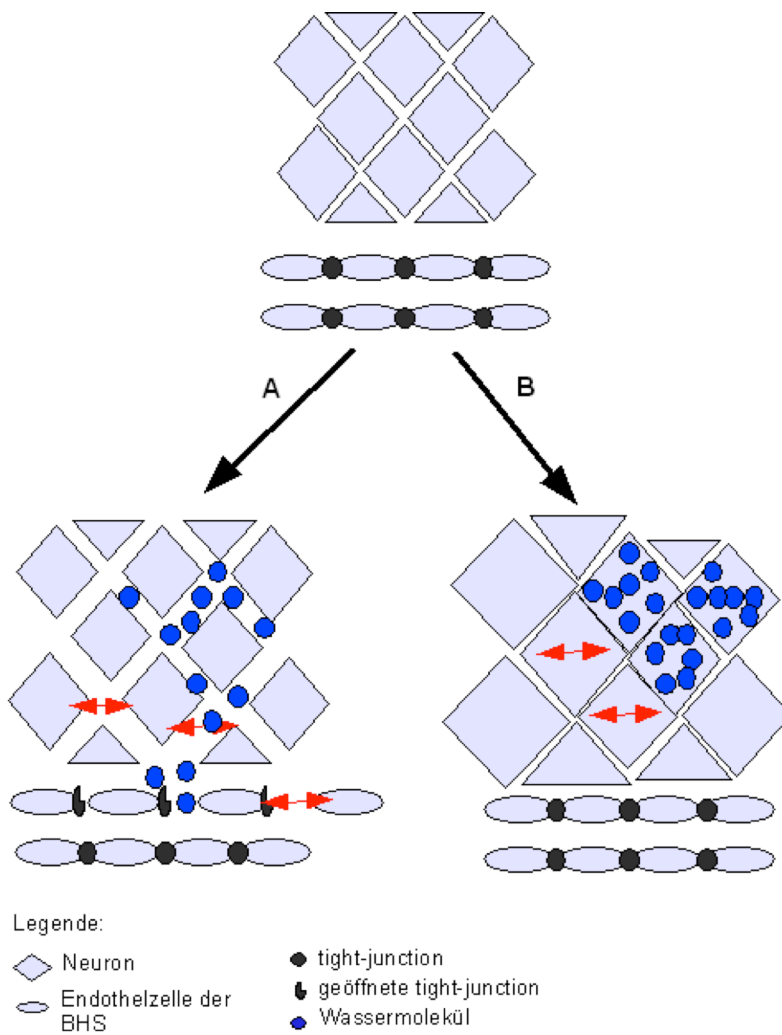


Abb. 1: Pathophysiologie des Hirnödems

- A) vasogenes Hirnödem: extrazelluläre Flüssigkeitsansammlung mit Zerstörung der BHS
B) zytotoxisches Hirnödem: intrazelluläre Flüssigkeitsansammlung

1.6 Aquaporine

Der Wassertransport im ZNS erfolgt nicht nur durch Diffusion über die Zellmembranen sondern auch über Wassertransporter-Moleküle, die so genannten Aquaporine (AQP).

1991 wurden die ersten Aquaporine molekularchemisch identifiziert und sind seitdem als Regulatoren des Flüssigkeitshaushaltes der Niere (AQP1 und AQP2) sowie als Bestandteil der Erythrozytenmembran (AQP1) und der Augenlinse bekannt [Preston und Agre 1991].

In den letzten Jahren konnten dreizehn Typen von Aquaporinen beim Menschen (AQP0-AQP12) [Badaut 2010] molekulargenetisch, örtlich und funktionell charakterisiert werden: AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP6 und AQP8 fungieren als reine Wassertransporter. AQP3, AQP7, AQP9 und AQP10, so genannte Aquaglyceroporine, sind zudem für kleinere Substanzen wie Glycerol (AQP3, AQP7), bzw. im Fall von AQP9 auch für größere neutrale Stoffe durchlässig [Agre und Kozono 2003, Amiry-Moghaddam und Ottersen 2003, Badaut 2010]. Ein direkter Ionentransport wird ebenfalls diskutiert (AQP6) [Amiry-Moghaddam und Ottersen 2003, Badaut 2010]. AQP3 wird z. B. im Gastrointestinaltrakt und dem *Stratum corneum* der Haut und AQP5 in der Lunge und exokrinen Drüsen exprimiert [Detmers et al. 2006, Amiry-Moghaddam und Ottersen 2003].

Die im ZNS lokalisierten Aquaporine AQP1, AQP4 und AQP9 [Arciénega et al. 2010] stehen derzeit im Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses in der Neurologie.

Die einzelnen Aquaporine sind Kanalproteine und als Tetramer aufgebaut. Ein Aquaporin-Monomer besteht aus sechs hydrophoben α -helikalen transmembranären Einheiten mit einer zentralen Wasserpore. Der Durchtritt von Molekülen durch die Pore ist größen- und ladungsreguliert. So beträgt der Porendurchmesser von AQP1 an seiner engsten Stelle 2,8-3 Å, dies entspricht der Größe eines Wassermoleküls [Agre und Kozono 2003, Andrews et al. 2008, Zador et al. 2009].

Die Molekülgröße der einzelnen Aquaporine ist unterschiedlich. Ein AQP1-Monomer ist ca. 28 kDa groß [King und Agre 1996, Preston und Agre 1991]. Der zwei- und dreidimensionale Aufbau von AQP1, durch Kristallografie ermittelt, zeigt eine quadratische Anordnung der vier Monomere. Ein AQP1-Monomer ist mit einer Fassform vergleichbar,

dessen breiter Durchmesser im Bereich der Lipidschicht zu verzeichnen ist (die Oberfläche eines Monomers innerhalb der Lipidschicht beträgt ca. 3,20 Å). Der Durchmesser zur extrazellulären Seite ist kleiner als der zur zytoplasmatischen Seite ($r = < 3 \text{ \AA}$). Die Länge der Wasserpore durch die Membran beträgt ca. 18 Å (in etwa der Länge des Monomers entsprechend). Die Stabilität innerhalb der Lipidschicht wird durch hydrophobe Verbindungen erklärt, außerhalb der Lipidschicht wurden polarisierende Verbindungen nachgewiesen [Andrews et al. 2008, Ren et al. 2001].

AQP4 besteht aus unterschiedlich großen Untereinheiten, die am häufigsten gefundene liegt bei 32 kDa. Weitere Untereinheiten sind in absteigender Häufigkeit 34 kDa, 36 kDa und 38 kDa groß. Die Bedeutung der unterschiedlichen Zusammensetzungen wird in der Regulationsfähigkeit von AQP4 gesehen. Die genauen Funktionsweisen sind jedoch noch nicht bekannt [Neely et al. 1999]. Die einzelnen Monomere von AQP4 bilden ein quadratisch angeordnetes Tetramer, welches sich über ca. 21 Å durch die Membran erstreckt. Eines der Tetramere steht über die jeweiligen Monomere mit vier weiteren Tetrameren in räumlicher Beziehung, der Abstand liegt zwischen 69,0 Å und 82,1 Å. Das Verständnis über die genauen Interaktionsmechanismen ist noch Bestandteil der Forschung [Andrews et al. 2008, Ho et al. 2009].

Weitere Regulierungsmechanismen der Aquaporine werden diskutiert. Bei AQP1 konnte ein intrazellulärer Signaltransduktionsweg über zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) nachgewiesen werden. Unklar ist auch, ob die Regulation gewebe-spezifisch erfolgt [Yool 2007].

1.6.1 Lokalisation von Aquaporin 1

AQP1 wird überwiegend auf der apikalen Seite der Epithelzellen des Plexus choroideus exprimiert (Abb. 2A) [Gunnarson et al. 2004, Yool 2007, Zador et al. 2009]. Etwa 30% des Liquors aus dem Plexus choroideus werden transzellulär über die AQP1-Kanäle abgegeben [Oshio et al. 2005]. Aufgrund der Lokalisation und der Beobachtung, dass bei AQP1-knock-out-Mäusen der intrazerebrale Druck geringer ausgeprägt war [Oshio et al. 2005], wird ihnen eine wichtige Rolle bei der Liquorproduktion zugeschrieben [Brown et al. 2004, Yool 2007, Zador et al. 2009]. In einigen Untersuchungen konnte

AQP1 auch im Bereich hippocampaler Strukturen und der Astrozyten nachgewiesen werden [Gunnarson et al. 2004]. Die Funktion dieser Wasserkanäle scheint also mehr als nur die Produktion des Liquors zu umfassen [Yool 2007].

Bei 20 Monate alten Ratten lässt sich neben einer Reduktion der Mikrovilli im Plexus choroideus eine signifikante Abnahme der mRNA von AQP1 im Vergleich zu drei und zehn Monate alten Ratten feststellen [Masseguin et al. 2005]. Diesen Veränderungen wird eine Bedeutung bei altersassoziierten Krankheiten, wie dem Morbus Alzheimer, aufgrund der Mikrovilli-Reduktion im Plexus choroideus, verbunden mit einer Abnahme von AQP1 und einer verstärkten Ablagerung von β -Amyloid, zugeschrieben [Masseguin et al. 2005, Yool 2007]. Zudem zeigt sich eine verstärkte AQP1-Akkumulation in Amyloid-Ablagerungen bei Morbus Alzheimer-Patienten [Arciénega et al. 2010].

1.6.2 Lokalisation von Aquaporin 4

Den größten Anteil der Aquaporine im ZNS bildet AQP4 [Manley et al. 2004]. AQP4 ist ein reiner Wassertransporter. Dieser wird in Ependymzellen (Abb. 2B) und noch stärker in den astrozytären Endfüßen, die die Synapsen (Abb. 2E) und die Endothelzellen der BHS (Abb. 2F) umschließen, sowie in den Endfußmembranen an der Grenze zur Pia mater (Abb. 2D) und den Ependymzellen (Abb. 2C) exprimiert [Arciénega et al. 2010, Manley et al. 2004, Nagelhus et al. 2004, Papadopoulos und Verkman 2007, Zador et al. 2009]. AQP4 lässt sich auch an astrozytären Nicht-Endfußmembranen, die glutaminerge Synapsen umschließen, [Nagelhus et al. 2004, Papadopoulos und Verkman 2007] und in osmosensitiven Arealen darstellen [Gunnarson 2004].

Die Detektionsrate von AQP4 und dessen mRNA nimmt bei Ratten im Verlauf der postnatalen Periode rasant zu. Die Entwicklung verläuft parallel zu der Abnahme des Volumens des Extrazellulärraums. Diese Beobachtung legt eine Funktion bei der Entwicklung der Wasserhomöostase im ZNS bei Ratten in der Postnatalperiode nahe [Wen et al. 1999, Yool 2007].

Die Expression und Funktion von AQP4 ist eng an die Anwesenheit von α -Syntrophin und Dystrophin gekoppelt. Zudem besteht eine Koexpression von AQP4 und Kir4.1 (*inward rectifying potassium channel*). Diese „multifunktionale Einheit“ wird funktionell in

Zusammenhang mit der Kalium- und Wasserregulation im örtlichen und zeitlichen Umfeld neuronaler Aktivität gesehen [Manley et al. 2004, Nagelhus et al. 2004].

1.6.3 Lokalisation von Aquaporin 9

AQP9 ist ein weiteres Aquaporin, das im ZNS nachgewiesen werden konnte. Der Nachweis von AQP9 gelang in Astrozyten an der Grenze zu Blutgefäßen (Abb. 2G), besonders im Bereich hippocampaler Strukturen [Wang et al. 2009] und in Arealen mit hoher katecholaminerger und dopaminerger Neuronendichte (z. B. am Tegmentum ventralis, im Nucleus arcuatus und an Subpopulationen der Substantia nigra) [Badaut 2010]. Eine Isoform ist u. a. in der inneren Mitochondrienmembran der genannten Areale beschrieben worden [Amiry-Moghaddam et al. 2005]. AQP9 fungiert neben der Funktion als Wasserkanal auch als Kanal für eine Vielzahl spezifischer Substrate, wie z. B. Laktat oder Glycerol [Amiry-Moghaddam et al. 2005, Badaut 2010]. Eine wichtige Rolle im Energiemetabolismus ist aufgrund dessen naheliegend [Badaut 2010, Wang et al. 2009]. Neueste Forschungsergebnisse zeigen, dass die Expression von AQP9 insulinabhängig ist und bei Diabetes mellitus erhöht ist [Badaut 2010]. Ein Einfluss bei der Entwicklung des Morbus Parkinson wird ebenfalls diskutiert [Amiry-Moghaddam et al. 2005, Yool 2007].

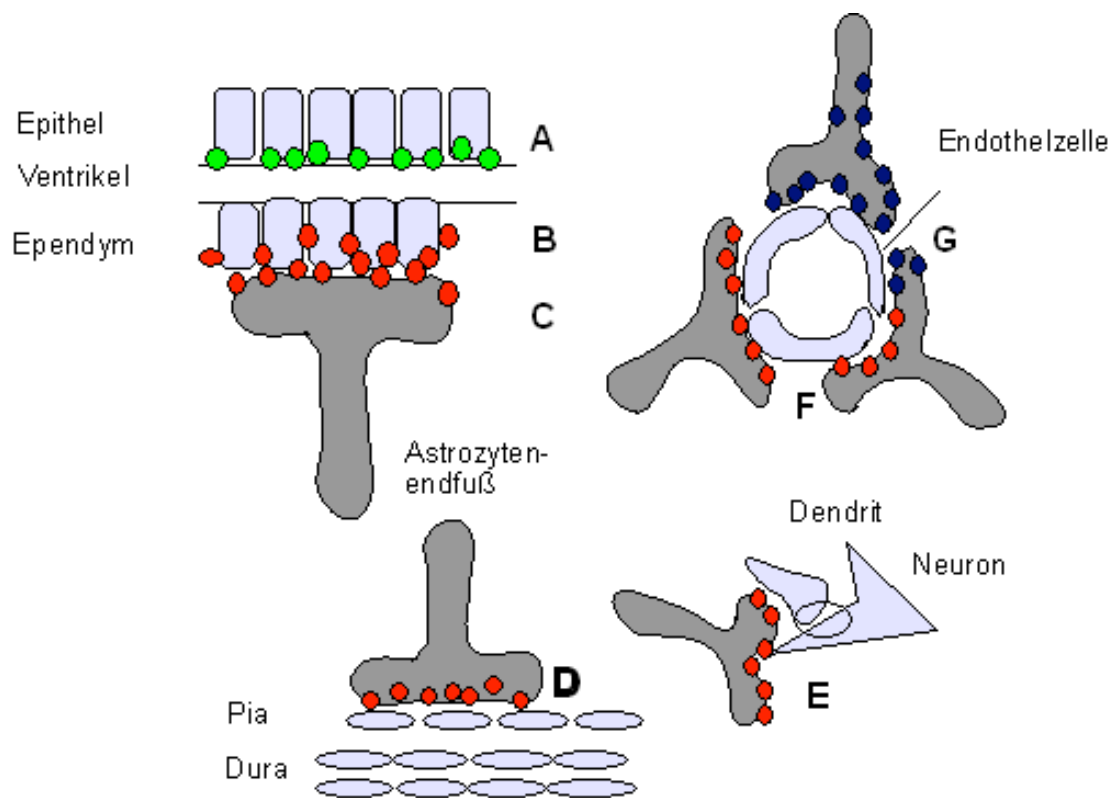


Abb. 2: Hauptlokalisationen von AQP1, AQP4 und AQP9 im zentralen Nervensystem:

- AQP1: apikale Seite der Epithelzellen im Plexus choroideus (A)
- AQP4: Ependymzellen (B), Astrozyten-Endfüße an den Ependymzellen (C), Grenze zur Pia mater (D), um die Synapsen (E), an den Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke (F)
- AQP9: Astrozyten an der Grenze zu Blutgefäßen (G)

[nach Zador et al. 2009, Abbildung 1c, Seite 161; mit freundlicher Genehmigung des Verlages]

1.7 Pathophysiologie des vasogenen und zytotoxischen Hirnödems bei ausgewählten Erkrankungen unter Berücksichtigung von Aquaporin 1 und Aquaporin 4

AQP1 und AQP4 werden eine wichtige Funktion bei der Entstehung, Aufrechterhaltung und Elimination des vasogenen und zytotoxischen Hirnödems zugeschrieben. Zerebrale Ischämien, Wasserintoxikationen, Hyponatriämien und BM verursachen ein zytotoxisches Hirnödem [Papadopoulos und Verkman 2005, 2007, Verkman et al. 2006]. Bei Tumoren, Abszessen oder einem Hydrozephalus überwiegt das vasogene Hirnödem [Verkman et al. 2006]. Diese strikte Trennung ist jedoch nicht haltbar, so treten beispielsweise bei einer zerebralen Ischämie im zeitlichen Verlauf beide Ödemformen auf [Badaut et al. 2007, Verkman et al. 2006, Zador et al. 2009].

Eine Blockade von AQP1-Kanälen *in vitro* führt zu einer verminderten Liquorproduktion und zu einer geringeren Ausbildung des intrakraniellen Druckes. Dies beeinflusst die Entstehung eines Hirnödems über eine Verminderung der Gesamtfüssigkeitsmenge im ZNS [Yool 2007].

Aufgrund der großen Anzahl und der Lokalisation von AQP4 im Bereich der BHS und BLS wird ihnen eine große Bedeutung bei der Flüssigkeitsregulation zugeschrieben [Manley et al. 2004]. Der Einfluss von AQP4 auf die Entwicklung eines Hirnödems ist in verschiedenen Mausmodellen erforscht worden. Als wichtige Voraussetzung konnten Saadoun et al. zeigen, dass die Integrität der BHS und der Hirnstruktur durch eine AQP4-Gendeletion nicht beeinflusst wurde [Saadoun et al. 2009]. AQP4 hat unterschiedliche Einflüsse auf das zytotoxische und vasogene Hirnödem [Manley et al. 2004].

1.7.1 Hirnödem bei zerebraler Ischämie

AQP4 beeinflusst die Entwicklung und Ausprägung eines Hirnödems bei der zerebralen Ischämie. Bei AQP4-knock-out-Mäusen schwoll das Gehirn im Modell des ischämischen Schlaganfalls und der Wasserintoxikation geringer an, und die neurologischen Behandlungsergebnisse waren günstiger [Manley et al. 2000, Papadopoulos und Verkman 2007, Verkman et al. 2006]. Hirt konnte andererseits zeigen, dass eine frühe AQP4-Erhöhung vor der Ausbildung des zytotoxischen Hirnödems schützt, ohne

jedoch die (nachfolgende) Störung der BHS verhindern zu können [Hirt et al. 2009]. Für die Ausbildung des intrazellulären zytotoxischen Hirnödems ist AQP4 entscheidend [Manley et al. 2004]. Liegt eine Überexpression von AQP4 vor (z. B. bei zerebraler Ischämie, Trauma, Entzündung oder Tumor), erfolgt die Hirnschwellung schneller und es kommt zu einer verstärkten Permeabilitätserhöhung der BHS [Yang et al. 2008].

Beim vasogenen Hirnödem wird den AQP4-Kanälen eine gegenläufige Bedeutung zugeschrieben. AQP4-Kanäle erhöhen die transzelluläre Resorption der Flüssigkeit aus dem interstitiellen Raum in die Blutgefäße, den Liquor- und den Subarachnoidalraum und fördern somit die Resorption [Manley et al. 2004, Papadopoulos et al. 2004, Papadopoulos und Verkman 2007, Verkman et al. 2006, Yang et al. 2008].

Die Bedeutung von AQP9 bei der zerebralen Ischämie ist nur wenig erforscht. Nach zerebraler Ischämie ist eine Zunahme von AQP9 in der peri-Infarktzone beschrieben worden [Amiry-Moghaddam 2005]. Als entscheidende Aufgabe für diesen Wasserkanal wird der Transport von Laktat und somit die Regulation des Energiehaushaltes angesehen [Badaut 2010].

1.7.2 Hirnödem bei bakteriellem Abszess

Bei bakteriellen Abszessen überwiegt pathophysiologisch ein vasogenes Hirnödem. Der durch Bindung bakterieller Antigene ausgelöste Anstieg pro-inflammatorischer Zytokine (TNF- α , IL-1 β etc.) verursacht eine Zerstörung der BHS und eine Leukozyten-einwanderung. Dies hat eine Aktivierung von Mikroglia und Astrozyten zur Folge. Durch die Zerstörung der BHS kommt es zu einer AQP4-unabhängigen Ausbildung des vasogenen Hirnödems [Yang et al. 2008]. Pro-inflammatorische Zytokine erhöhen die Expression von AQP4-Kanälen. Bloch et al. ordnen die AQP4-Erhöhung bei bakteriellem Abszess eher als adaptive Antwort auf die Zerstörung der BHS mit folgendem vasogenen Hirnödem ein. Hierdurch soll das Gehirn vor der übermäßigen extrazellulären Flüssigkeitsansammlung geschützt werden. Einer Erhöhung von AQP4 als Ausdruck des innerzellulären Stresses wird eine untergeordnete Rolle zugeschrieben [Bloch et al. 2005].

Beim zytotoxischen Hirnödem wird ein AQP4-abhängiger Weg diskutiert, da bei AQP4-knock-out-Mäusen eine vermehrte Wasseransammlung und ein erhöhter intrakranieller Druck nachgewiesen werden konnten [Papadopoulos et al. 2004, Yang et al. 2008].

1.7.3 Hirnödem bei bakterieller Meningitis

Bei der BM wird aufgrund experimenteller Erkenntnisse ein Überwiegen des zytotoxischen Hirnödems im Vergleich zum vasogenen Hirnödem postuliert [Papadopoulos und Verkman 2005, 2007, Yang et al. 2008]. Ein frühes zytotoxisches Hirnödem konnte auch bei Patienten mit durch *N. meningitidis* verursachte Meningitis nachgewiesen werden [Citton et al. 2009].

Papadopoulos und Verkman konnten im Mausexperiment zur BM, die durch *S. pneumoniae* verursacht worden war, eine Erhöhung von AQP4 und eine Schwellung der Astrozytenendfüße nachweisen. Des Weiteren entwickelten sich ein erhöhter intrakranieller Druck und eine verstärkte Wasseransammlung. Im Vergleich zu AQP4-knock-out-Mäusen war die neurologische Prognose ungünstiger und die Mortalitätsrate erhöht. 80% des Wassereinstroms in das ZNS erfolgte bei der BM über hochregulierte AQP4-Kanäle [Papadopoulos und Verkman 2005].

Bei Mäusen mit AQP4-Überexpression ist die Ausbildung eines zytotoxischen Hirnödems auch nach akuter Wasserintoxikation beschleunigt. Yang et al. gehen von einem limitierenden Einfluss des AQP4 bei der Wasserbewegung in das Gehirn unter physiologischen Bedingungen aus [Yang et al. 2008].

Der Effekt von AQP1 bei der BM wurde bisher noch nicht erforscht. Eine chinesische Forschergruppe fand bei einem durch Lipopolysaccharide (Endotoxin) verursachten vasogenen Hirnödem eine AQP9-Erhöhung [Wang et al. 2009].

Die Ausbildung eines vasogenen Hirnödems im Rahmen einer Perivaskulitis durch bakterielle Antigene und Mediatoren des Entzündungsprozesses mit Zerstörung der BHS, ähnlich wie beim bakteriellen Abszess, wird beschrieben [Coimbra et al. 2006, Papadopoulos und Verkman 2007, Thrane et al. 2014, Yang et al. 2008]. Als AQP-unabhängiger Mechanismen, der zur Ausbildung eines Hirnödems führen kann, ist

weiterhin ein Hydrocephalus aresorptivus aufgrund einer Verlegung des Liquorabflusses zu nennen [Jarius et al. 2010, Pfister et al. 1993].

1.7.4 Hirnödem bei viraler Meningitis

Die Bedeutung von Aquaporinen bei der VM wurde bisher ebenfalls noch nicht näher untersucht. Anhand von diffusionsgewichteten magnetresonanztomografischen Bildern lässt sich zeigen, dass sich bei der VM ein frühes zytotoxisches und ein spätes vasogenes Hirnödem ausbilden [Kiroğlu et al. 2006, Kumar et al. 2009]. Bei der HSV-Enzephalitis ist die Reihenfolge allerdings umgekehrt [Sener 2001].

Bei den vorgestellten Erkrankungen sind das vasogene und zytotoxische Hirnödem verschieden ausgeprägt. AQP1, AQP4 und AQP9 beeinflussen die Entwicklung, Ausprägung und Resorption eines Hirnödems in Abhängigkeit von dessen Stadium unterschiedlich. Aufgrund dieser Beobachtungen ist es wichtig eine differenzierte Betrachtung der Aquaporine in Bezug auf ihre Untergruppen, deren Einfluss auf Entwicklung und Aufrechterhaltung des Hirnödems sowie auf die verschiedenen Hirnödemenformen vorzunehmen.

1.8 Regulation der Aquaporine

Eine Vielzahl körpereigener und pharmakologischer Substanzen wurde in Bezug auf ihre Wirkung auf Aquaporine im ZNS getestet. Unterschiedliche Effekte, abhängig von der Aquaporingruppe, der Art des Hirnödems und dem Zeitpunkt der Ödementwicklung bzw. des –abbaus, wurden beobachtet.

Steroide und eine Veränderung der Osmolarität fördern die Expression von AQP1, AQP4 und AQP9. Eine Reduktion von AQP4 und AQP9 wird bei Hypoxie, der gegenteilige Effekt bei Reoxygenierung beobachtet [Gunnarson et al. 2004]. Ein weiterer wichtiger Mechanismus ist die Phosphorylierung von AQP4, die je nach Lokalisation der Phosphorylierung gegenläufige Effekte hat [Yukutake und Yasui 2009]. Quecksilber

reduziert die Wasserpermeabilität der Aquaporine, mit Ausnahme von AQP6 (das aber im Gehirn keine Rolle spielt); AQP4 reagiert hierauf hingegen gar nicht [Amiry-Moghaddam und Ottersen 2003, Yukutake und Yasui 2009].

Aktuelle Forschungen beschäftigen sich mit Vasopressin-Antagonisten (AVP, Antidiuretisches Hormon). Eine Vasopressin-abhängige Reduktion der Wasserdurchlässigkeit in Bezug auf AQP4, kann über eine Internalisation der Kanalproteine nachgewiesen werden [Moeller et al. 2009]. Die Gabe von AVP V1_a führte zu einer Erhöhung von AQP4 und zu einer Reduktion eines nach experimentell zerebraler Ischämie ausgelösten Hirnödems [Lui et al 2009]. Auch nach experimenteller traumatischer Hirnverletzung zeigte sich eine Reduktion des Hirnödems nach Gabe von AVP V1 [Trabold et al. 2008].

1.9 Aquaporine und Kognition

Die Bedeutung der Aquaporine für kognitive Prozesse wurde noch nicht näher untersucht. Über den Pathomechanismus des Zelluntergangs, wie bei der BM möglich, wäre dies denkbar: Die in den Liquor eingedrungenen Bakterien führen über verschiedene Signalkaskaden und Entzündungsreaktionen zu Apoptosen im Hippocampus und zu kortikalen Nekrosen [Coimbra et al. 2006, Barichello et al. 2009, Koedel et al. 2009, Spreer et al. 2009]. Im Rahmen der Entzündungsreaktion kommt es u. a. zu einer Zerstörung der BHS [Meli et al. 2002] und konsekutiver Ausbildung eines (vasogenen) Hirnödems [Coimbra et al. 2006, Papadopoulos und Verkmann 2007]. Die genaue Bedeutung von AQP1 und AQP4 für die Ausprägung eines Hirnödems wird noch erforscht. Die Aquaporine und das Hirnödem könnten jedoch Teil der Kaskade sein, die zum Zelluntergang in der weißen und grauen Substanz bei der BM beiträgt.

Zudem scheint eine Assoziation zwischen dem Morbus Alzheimer und einer Reduktion der Mikrovilli des Plexus choroideus im Alter zu bestehen. Hierdurch kommt es zu einer Reduktion von AQP1 [Arciénega et al. 2010, Masseguin et al. 2005, Yool 2007]. Vermehrte Ansammlungen von AQP1 in Amyloid-Ablagerungen bei Morbus Alzheimer konnten nachgewiesen werden [Arciénega et al. 2010].

2 Fragestellung

In dieser Arbeit wird untersucht, ob im Liquor (und Serum) von Patienten mit BM und VM sowie einer Kontrollgruppe ohne neurologische Erkrankungen AQP1 und AQP4 in nennenswerten Konzentrationen nachweisbar sind. Im Falle eines solchen Nachweises werden mögliche Korrelationen zu klinischen und laborchemischen Routineparametern herausgearbeitet, um Hypothesen über den Einfluss der genannten Aquaporine auf das Hirnödem bei den untersuchten Meningitiden zu generieren.

In absehbarer Zeit werden mit der Gruppe der Vaptane Medikamente zur Verfügung stehen, die Einfluss auf die Funktion der Aquaporine haben werden. Ein tieferes Verständnis über die Bedeutung der Aquaporine beim Hirnödem im Rahmen einer Meningitis, ist vielleicht ein erster Schritt, der zu einer möglichen Reduktion oder sogar Verhinderung der oft lebensbedrohlichen Hirnschwellung beitragen könnte. Für den klinischen Alltag könnten sich aber auch über eine Quantifizierung von Aquaporinen im Liquor differenzialdiagnostische Möglichkeiten für die unterschiedlichen Meningitisformen eröffnen.

Durch retrospektive Untersuchungen an Patienten mit BM im Vergleich zu Patienten mit VM und einer Kontrollgruppe werden folgende Fragestellungen bearbeitet:

- a) Können AQP1 und AQP4 im Liquor (und im Serum) bei Patienten mit BM und VM sowie in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden?
- b) Besteht eine Korrelation zwischen AQP1 und AQP4 mit klinischen, liquor- und laborchemischen Parametern, der klinischen Prognose, der Entwicklung eines Hirnödems und neuropsychologischen Spätfolgen?
- c) Welchen Stellenwert haben Aquaporine in der Differenzialdiagnose zur VM?

3 Methodik

3.1 Patientenkollektiv für die Aquaporinbestimmung

Das Kollektiv bestand aus Patienten, die in einer Studie zur Erfassung neurologischer Residuen nach Meningitis eingeschlossen wurden (Ethikantrag 030205 mit Amendment, positives Votum S 2008). Es handelte sich um Patienten, die in der Klinik für Neurologie der Universitätsmedizin Göttingen (UMG) in Behandlung waren (zwischen Mai 2002 und August 2004 und zwischen Mai 2007 und Dezember 2009).

Von den Patienten oder deren gesetzlichen Betreuern lagen schriftliche Einverständniserklärungen vor.

3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Aufnahme in die Studie erfolgte nach Aufklärung und schriftlichem Einverständnis. Eingeschlossen wurden Patienten ab einem Alter von 18 Jahren, eine Altersbegrenzung nach oben existierte nicht.

In die Studie wurden Patienten mit einem positiven Erregernachweis bei BM eingeschlossen (n = 35). Der Verdacht einer BM ohne eindeutigen Erregernachweis stellte ein Ausschlusskriterium dar. Bei 20 Patienten mit BM (57%) erfolgte ergänzend zur Bestimmung der Aquaporine im Liquor auch eine Bestimmung der Aquaporine im Serum.

Bei den Patienten mit VM wurden solche mit eindeutigem Erregernachweis von HSV und VZV, die als einzige in der Routinediagnostik mitbestimmt werden, und Patienten mit Verdacht auf VM, die ohne antibiotische Therapie gesundet waren, eingeschlossen (n = 22).

Der mikrobiologische Erregernachweis erfolgte im Mikrobiologischen Institut der UMG. Der Nachweis von Antikörpern im Liquor wurde im Neurochemischen Labor der Klinik für Neurologie der UMG durchgeführt.

Der Nachweis oder Verdacht auf eine *Borrelia burgdorferi*-Infektion stellte ein weiteres Ausschlusskriterium dar, da diese Erkrankung, obwohl sie eine Entzündung des ZNS hervorruft, nur im Ausnahmefall eine Differenzialdiagnose zur BM darstellt. Patienten mit Hirnabszessen, Schlaganfällen und intrazerebralen Blutungen wurden ebenfalls ausgeschlossen. Kein Ausschlusskriterium waren jedoch Folgezustände, die direkt durch eine BM bzw. VM verursacht worden waren.

3.1.2 Kontrollgruppe für die Aquaporinbestimmung

In die Kontrollgruppe (n = 27) wurden Personen aufgenommen, die im Rahmen der Differenzialdiagnostik von Kopfschmerzen in der Klinik für Neurologie der UMG untersucht worden waren und deren Liquoranalytiken Normalbefunde ergeben hatten (Zeitraum: Mai 2009 und zwischen Januar 2010 und Mai 2010). Bei 12 Personen (44%) wurden ergänzend die AQP1- und AQP4-Konzentrationen im Serum bestimmt.

Der Einschluss der Patienten erfolgte nach Aufklärung und schriftlichem Einverständnis.

3.1.3 Klinische Symptomatik bei Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis

Zur Bewertung des klinischen Erscheinungsbildes wurde der Weisfelt-Score und ein modifizierter Bohr-Score verwendet. Mit dem Weisfelt-Score kann anhand verschiedener klinischer und laborchemischer Parameter, die bei Aufnahme erhoben werden, das Risiko eines ungünstigen Verlaufs einer BM abgeschätzt werden [Weisfelt et al. 2008]. Die Parameter, die in die Berechnung mit einfließen, wurden aus den Aufnahmeprotokollen und den vorhandenen Liquorbefunden entnommen. Dazu zählten:

- Alter, Herzfrequenz, *Glasgow Coma Scale* (GCS), Hirnnervenbeteiligung
- Leukozyten im Liquor, Gramfärbung des Liquors

Bohr et al. entwickelten eine einfache kategoriale Einteilung von eins bis drei zur Beurteilung des klinischen Zustandes nach einer durch *S. pneumoniae* hervorgerufenen Meningitis [Bohr et al. 1984]:

- 1 (mild): Kopfschmerz, Müdigkeit, Gedächtnisdefizite, unsicherer Gang, Aktivitäten des täglichen Lebens und Arbeitens nicht beeinträchtigt
- 2 (moderat): mehrere Symptome, Gangataxie, Taubheit, Demenz
- 3 (schwer): klinische Behinderung, tägliches Leben und Arbeiten stark eingeschränkt (evtl. Pflegebedürftigkeit)

Diese Einteilung des Behandlungsergebnisses ergänzten wir um die Kategorie „4“ (entspricht „Tod“).

3.1.4 Liquor- und laborchemische Parameter

Die Routineparameter aus dem Blut wurden in der Abteilung Klinische Chemie der UMG ermittelt. Für die Bestimmung der Leukozytenzahl wurde ein ADVIA 120[®] Analysegerät (SIEMENS, Erlangen, Deutschland) verwendet. CRP- und Fibrinogenkonzentrationen wurden mittels des BCS XP[®] Analysegerätes (SIEMENS, Erlangen, Deutschland) bestimmt.

Die Messungen der Parameter aus dem Liquor wurden im Neurochemischen Labor der Klinik für Neurologie der UMG durchgeführt. Für die Ermittlung der Leukozytenzahl wurde zunächst eine Fuchsin-Färbung durchgeführt und daraufhin mittels Fuchs-Rosenthal-Kammer mikroskopisch die Leukozyten gezählt. Ein Dosascat Nephelometer (Dosatech Co., München, Deutschland) wurde für die Ermittlung des Gesamtproteins und ein BN Prospec[®] Nephelometer (SIEMENS, Erlangen, Deutschland) für die Messung des Albumins und der Immunglobuline im Liquor und Blut verwendet. Die Messung des Liquorlaktats erfolgte über die Laktat-Oxydase-Reaktion (R. Greiner, Flacht, Deutschland). Die Quotienten von Albumin und den Immunglobulinen wurden aus den jeweiligen Quotienten der Serum- und Liquorkonzentrationen (multipliziert mit 1000) berechnet.

3.2 Aquaporinbestimmung

Die Bestimmung von AQP1 und AQP4 im Liquor erfolgte in vier Schritten mit einem kommerziell erhältlichen ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) [USCN Life Science Inc., Wuhan, China]. Die verwendeten ELISAs sind Enzymgekoppelte Sandwich-Immunsorptionstests und ermöglichen die quantitative *in vitro* Bestimmung von AQP1 und AQP4 in einem Bereich von 0,07 ng/ml bis 10 ng/ml.

Der ELISA hat eine hohe Sensitivität mit einer unteren Nachweisgrenze für AQP1 und AQP4 von 0,07 ng/ml. Die Spezifität ist hoch und es liegen keine signifikanten Kreuzreaktionen oder Interferenzen vor. Sowohl die Monomere als auch die Tetramere lassen sich nachweisen [USCN Life Science Inc., Wuhan, China].

Es wurden mit einem monoklonalen Antikörper für AQP1 bzw. AQP4 beschichtete 96 Kavitäten-fassende Kunststoffplatten verwendet. Im ersten Schritt wurden jeweils 100 µl der Standardlösung als Verdünnungsreihe (Leerwert, 10 – 5 - 2,5 - 1,25 - 0,625 - 0,312 - 0,156 ng/ml) und die Liquorproben aufgetragen und für zwei Stunden bei 37 °C inkubiert. Die im Liquor vorhandenen AQPs verbanden sich mit den spezifischen Bindungsstellen der monoklonalen Antikörper (Abb. 3/1A). Der Liquor wurde nach der Inkubationszeit ohne zu Waschen entfernt, so dass nur die an die Antikörper der Kavitäten gebundenen AQPs zurückblieben (Abb. 3/1B).

In Schritt zwei wurden 100µl eines polyklonalen Biotin-konjugierten spezifischen AQP-Antikörpers, jeweils für AQP1 und AQP4, in die Kavitäten gegeben und für eine Stunde bei 37 °C inkubiert (Abb. 3/2). Im Anschluss erfolgte ein mehrmaliges Waschen der Platten.

Im dritten Schritt wurden jeweils 100µl Meerrettich Peroxidase-konjugiertes Avidin zugefügt. Das Avidin verband sich mit den in Schritt zwei zugefügten AQP-Antikörpern. Nach einer einstündigen Inkubationszeit bei 37 °C erfolgte erneut ein mehrmaliges Waschen der Platten (Abb. 3/3).

Wir fügten im vierten Schritt jeweils 90µl 3,5'5,5'tetramethylbenzidin hinzu und inkubierten für 30 Minuten bei 37 °C (Abb. 3/4). Durch Hinzufügen von 50µl einer sauren sulfathaltigen Stopplösung (H₂SO₄) erfolgte der Peroxidase-gesteuerte Farbumschlag (Abb. 3/5).

Die spektrometrische Messung der Farbänderung wurde bei einer Wellenlänge von 450 ± 2 nm durchgeführt.

Je höher die Konzentration des AQPs im Liquor, desto mehr Avidin wurde gebunden, und es kam zu einem stärkeren Farbumschlag nach Zugabe des Farbstoffes. Das Verhältnis von gemessener Farbintensität und AQP-Konzentration folgte einer sigmaförmigen Beziehung.

Die Messungen von AQP1 und AQP4 wurden teilweise an verschiedenen Tagen durchgeführt, wobei Doppelmessungen an gleichen Tagen erfolgten.

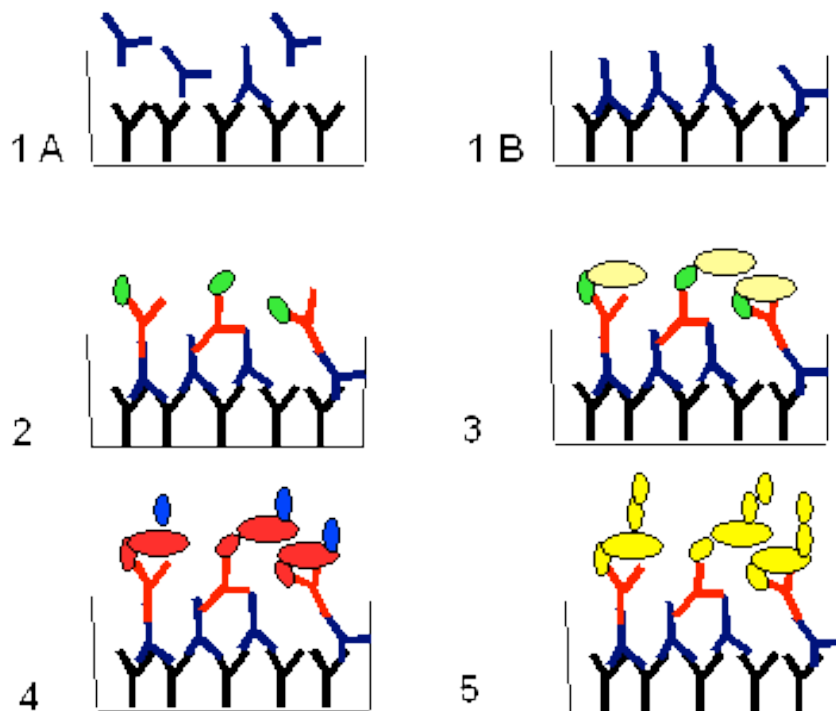








Abb. 3: AQP1- bzw. AQP4-Sandwich-ELISA

- 1A Kavität mit monoklonalem Antikörper (AK) für AQP1 bzw. AQP4 ,
Zugabe von Liquor mit AQP1 bzw. AQP4
- 1B nur an die monoklonalen AK gebundenes AQP bleibt nach Waschen
zurück
- 2 Biotin-konjugierter polyklonaler AK für AQP1 bzw. AQP4 bindet an
AQP1 bzw. AQP4
- 3 Meerrettich Peroxidase-konjugiertes Avidin bindet an den an AQP
gebundenen polyklonalen AK
- 4 Farbumschlag nach Zugabe von 3,5,5'-tetramethylbenzidin
- 5 Zugabe der Stopplösung (H₂SO₄), Farbumschlag

Legende:

-  Monoklonaler AK für AQP1 bzw. AQP4 in der Kavität
-  AQP1 bzw. AQP4 im Liquor
-  Biotin-konjugierter polyklonaler spezifischer AK für AQP1 bzw. AQP4
-  Meerrettich Peroxidase-konjugiertes Avidin
-  3,5,5'-tetramethylbenzidin
-  H₂SO₄

3.2.1 Messungen zur Stabilität der Aquaporine

In der klinischen Praxis war die Zeit von der Entnahme des Liquors bis zum Einfrieren und zur Analyse schwer zu bestimmen. Wir testeten die Nachweisstabilität von AQP1 und AQP4, um mögliche Einflüsse der unterschiedlichen Transport- und Lagerungszeiten auszuschließen.

Die Messungen wurden bei unterschiedlichen Temperaturbedingungen für die Lagerung (Raumtemperatur (RT), 4 °C und -20 °C) und verschiedenen Auftau- und Einfriervorgängen von -20 °C auf Raumtemperatur (zwischen null bis fünf Durchgängen) durchgeführt. Zudem wurde die Verdünnungsechtheit des ELISAs durch verschiedene Verdünnungen mit 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung (NaCl-Lösung) untersucht (Verdünnungsverhältnisse 1:2, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100 und 1:1000). Der für dieser Versuche verwandte Liquor stammte von zwei Patienten mit bakterieller Infektion des ZNS; in Vorversuchen wurden AQP1 und AQP4 im Liquor nachgewiesen.

3.3 Bestimmung des Hirnödems bei Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis

Die Einteilung des Hirnödems bei den Patienten mit BM und VM erfolgte unabhängig durch zwei Ärzte (Facharzt für Neurologie und Facharzt für Neuroradiologie der UMG), für die die Patientendaten verblindet waren. Für drei der Patienten mit BM und für sechs der Patienten mit VM lag kein Bildmaterial vor (cCT oder cMRT). Es wurde eine semiquantitative Einteilung von 0 bis 3 gewählt (0 = kein Hirnödem, 1 = geringes, 2 = mäßiges, 3 = ausgeprägtes Hirnödem).

3.4 Neuropsychologische Nachuntersuchungen

3.4.1 Neuropsychologische Tests

Die neuropsychologische Testung gliederte sich in zwei Teile:

- Teil 1: Kognitive Funktionen wie das Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnis, das verbale und nicht-verbale Gedächtnis, visuokonstruktive Funktionen und frontale Exekutivfunktionen sowie die Aufmerksamkeit wurden anhand verschiedener Tests untersucht.
- Teil 2: Lebensqualität, Depressivität, das allgemeine Krankheitsempfinden und der Gesundheitszustand wurden durch Fragebögen erfasst.

3.4.1.1 Tests zur Kognition

Das *Kurzzeit-* und *Arbeitsgedächtnis* testeten wir mittels der deutschen Version des Wechsler Memory Scale-R Tests (WMS-R, Untertests: Zahlen- und Blockspanne jeweils vor- und rückwärts, Nacherzählen zweier Kurzgeschichten, erster Abruf) [Härting et al. 2000] sowie der deutschen Fassung des California Verbal Learning Tests (CVLT, erster Abruf) [Delis et al. 1988].

Das *verbale Gedächtnis* bestimmten wir mit den verbleibenden Untertests des CVLT [Delis et al. 1988], dem verbalen Lerntest (VLT, Verbal Learning Test) [Sturm und Willmes 1999b] und dem Spätabruf der Kurzgeschichten (WMS-R, Untertest: Nacherzählen zweier Kurzgeschichten, zweiter Abruf) [Härting et al. 2000].

Das *nicht-verbale Gedächtnis* wurde mit dem Spätabruf der Rey-Figur (Complex Rey Figure Test) [Osterrieth 1944], dem Lern- und Gedächtnistest mit Abruf eines Stadtplans (LGT-3) [Bäumler 1974], dem nicht-verbalen Lerntest (NVLT, Non-Verbal Learning Test) [Sturm und Willmes 1999a] und der Zuordnung von Figuren und Farbpaaren aus dem WMS-R [Härting et al. 2000] erfasst.

Die *visuokonstruktiven Funktionen* testeten wir mit dem Mosaiktest aus dem Hamburger-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R) [Tewes 1991] sowie dem ersten Abzeichnen der Rey-Figur [Osterrieth 1944].

Die *frontalen Exekutivfunktionen* wurden mit dem Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT, Wortlisten mit S, G/R, Tieren und Blume/Kleidungsstück) [Aschenbrenner et al. 2000], dem 5-Punkt-Test [Ruff 1988], dem Wisconsin Card Sorting Test (WCST, Version für den PC) [Nelson 1976], dem Erkennen von Kategorien beim CVLT [Delis et al. 1988] und dem Tower of Hanoi mit vier Scheiben [Version für den PC, freundlicherweise von C. Schmidt-Samoa bereitgestellt, UMG] untersucht.

Die *Aufmerksamkeit* untersuchten wir mit der Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP, Untertest: selektive Aufmerksamkeit) [Becker et al. 1996, Zimmermann und Fimm 1994].

Die Zuordnungen der einzelnen Tests zu den Domänen wurden entsprechend der Arbeit von Schmidt et al. vorgenommen [Schmidt et al. 2006b].

3.4.1.2 Fragebögen zur psychiatrischen Symptomatik

Die Fragebögen zur Evaluation des *allgemeinen Gesundheitszustandes* beinhalteten den Lebensqualitätsbalken aus dem QOLIBRI-Fragebogen (Quality of Life after Traumatic Brain Injury) [Truelle et al. 2010] und den SF-36 (Short-Form 36 Health Survey) [Ware 2000].

Der *allgemeine Behinderungsgrad* bzw. die Beeinträchtigung im Alltag erfassten wir mittels des NEADL (Nottingham Extended Activities of Daily Living Test) [Nouri und Lincoln 1987].

Eine bestehende *Depression* oder depressive Stimmungslage wurde durch den Becks Depression Inventory (BDI, Werte <11 „nicht depressiv“) [Beck et al. 1961] und den HADS-D (Hospital Anxiety and Depression Scale) [Bjelland et al. 2002] ermittelt.

Die *Schlafqualität* fragten wir anhand des PSQI (Pittsburgh Sleep Quality Index, Score 0 bis 21, ab 5 liegt eine Schlafstörung vor) [Buysse et al. 1989] ab.

Die *psychische Belastung*, wie z. B. durch Ängstlichkeit, Aggressivität oder paranoides Denken, wurde mittels des SCL-90-R Fragebogens (Symptom Checklist-90-Revised) [Olsen et al. 2004] erfasst.

3.4.2 Patientenkollektiv

Folgende Kriterien führten zu einem Ausschluss der Patienten mit einer BM von der neuropsychologischen Nachuntersuchung:

a) andere Infektionen des ZNS:

- Abszesse
- liegende Ventrikeldrainage
- offenes Schädelhirntrauma

b) akute oder stattgehabte Erkrankungen, die direkt oder durch eine Begleittherapie die Gedächtnisleistung beeinflussen könnten:

- zerebrale Ischämie, intrazerebrale Blutung
- hirneigene Tumore oder Hirnmetastasen
- onkologische Erkrankungen (ausgenommen waren lang zurückliegende kurative Behandlungen ohne Chemo- oder Strahlentherapie, >10 Jahre)
- Alkoholkrankheit
- psychiatrische Erkrankungen, Demenz

c) mangelnde deutsche Sprachkenntnisse

d) Alter unter 18 und über 75 Jahren

e) schlechter klinischer Zustand mit eingeschränkter Kommunikationsmöglichkeit

f) Tod

Acht Patienten mit BM erfüllten die Einschlusskriterien für eine neuropsychologische Nachuntersuchung. Die Testung erfolgte mindestens sechs Monate nach der Erkrankung ($25,5 \pm 26,9$ Monate, Min./Max. 6/71 Monate).

Die Erfassung der Lebensqualität, des allgemeinen Gesundheitszustandes, einer Depression sowie anderer psychischer oder psychiatrischer Belastungszustände bzw. Erkrankungen diente der Ermittlung einer negativen Beeinflussung der kognitiven Testergebnisse. Nach schweren Erkrankungen konnten in anderen Arbeiten bei vielen Patienten eine vorübergehende depressive Verstimmung bzw. ein Verlust kognitiver Funktionen nachgewiesen werden [Penick et al. 1994]. Aus diesem Grund wurde als Zeitabstand mindestens ein halbes Jahr zwischen Erkrankung und Durchführung der neuropsychologischen Testung festgelegt.

Die Patienten, die nach Aktenlage die Einschlusskriterien zur Teilnahme an der neuropsychologischen Nachuntersuchung erfüllten, wurden angeschrieben und im Falle des Einverständnisses telefonisch kontaktiert. Nach telefonischer Rücksprache und Zusage wurden den Patienten die Einwilligungserklärung und auch die Fragebögen zugesandt. Die neuropsychologische Testung erfolgte in der UMG oder, wenn dies nicht möglich war, bei den Teilnehmern zu Hause.

3.4.3 Kontrollgruppe

Die Ausschlusskriterien und die Testdurchführung für die Kontrollpersonen der neuropsychologischen Nachuntersuchung entsprachen denen, der an einer BM erkrankten Patienten. Es erfolgte eine Geschlechts- und Altersadjustierung.

3.5 Statistik

Die Eichkurven (Verdünnungskonzentrationen: 10 – 5 - 2,5 - 1,25 - 0,625 - 0,312 - 0,156 ng/ml und Leerwert) der einzelnen Messplatten der ELISAs für AQP1 und AQP4 wurden mit GraphPad [GraphPad Prism Version 4 for Windows, GraphPad Software, San Diego California, USA] ermittelt. Anhand der Eichkurven wurden die AQP-Konzentrationen über die gemessenen Absorptionswerte bestimmt. Die Detektionsbreite umfasst Konzentrationen von 10 - 0,156 ng/ml. Werte darüber oder darunter wurden mit 0 ng/ml bzw. 11 ng/ml belegt.

Die beschreibende Darstellung der Daten erfolgt als Mittelwert \pm Standardabweichung (MW \pm SD), Median, 25/75 Perzentile und Minimum/Maximum (Min./Max.). Mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurde ermittelt, ob eine Normalverteilung vorlag.

Gruppenvergleiche wurden bei normalverteilten Stichproben mittels des t-Tests für ungepaarte Stichproben vorgenommen. Bei nicht-normalverteilten Werten fand der Mann-Whitney-U-Test Verwendung. Der Vergleich mehrerer Stichproben erfolgte mittels der Varianzanalyse der One-way-ANOVA und des Kruskal-Wallis-Tests bei nicht-normalverteilten Proben. Für die Posthoc-Analyse wurde für normalverteilte Proben der Bonferroni-Test und für nicht-normalverteilte Stichproben der Dunn's-Test angewandt.

Zur Berechnung von Korrelationen wurden der Pearson-Test für normalverteilte und der Spearman-Test für nicht-normalverteilte Stichproben verwendet.

Für den Vergleich dichotomer Parameter in zwei oder mehreren Gruppen wurde der Chi²-Test benutzt.

In allen Fällen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ angenommen. Die Berechnung und grafische Darstellung erfolgte ebenfalls mit GraphPad [GraphPad Prism Version 4 for Windows, GraphPad Software, San Diego California, USA] bzw. mit Excel [Microsoft[®] Office, Excel 2003, Microsoft[®], USA].

4. Auswertung

4.1 Studienkollektiv

AQP1 und AQP4 wurde in 84 Liquores bestimmt: 35 bakterielle (41,7%) und 22 virale Meningitiden (26,2%) sowie 27 Kontrollen (32,1%). Bei 20 Patienten mit BM (57%) und 12 Personen der Kontrollgruppe (44%) erfolgte zudem eine Bestimmung von AQP1 und AQP4 aus dem Serum.

Die Geschlechtsverteilung setzte sich wie folgt zusammen (vgl. Tab. 1):

	BM , n = 35	VM , n = 22	Kontrolle , n = 27
männlich [%]	16 [45,7]	9 [40,9]	12 [44,4]
weiblich [%]	19 [54,3]	13 [59,1]	15 [55,6]

Tab. 1: Geschlechtsverteilung der Gruppen, Anzahl [Prozent]

4.1.1 Altersverteilung

Das Durchschnittsalter der Patienten mit BM lag bei 62 ± 16 Jahren, das der Patienten mit VM bei 49 ± 22 Jahren und das der Patienten der Kontrollgruppe bei 51 ± 19 Jahren. Alle Altersverteilungen waren normalverteilt (vgl. Anhang Tab. 1b).

Das Patientenalter unterschied sich in den drei Gruppen signifikant ($p = 0,022$, ANOVA, vgl. Abb. 4). Das Alter der Patienten mit BM und VM war im Vergleich zu den Kontrollen in der Posthoc-Analyse nicht signifikant unterschiedlich. Das Durchschnittsalter der Patienten mit BM und VM unterschied sich hingegen signifikant voneinander (*bakteriell vs. Kontrollen* und *viral vs. Kontrollen*: $p > 0,05$, *bakteriell vs. viral*: $p < 0,05$).

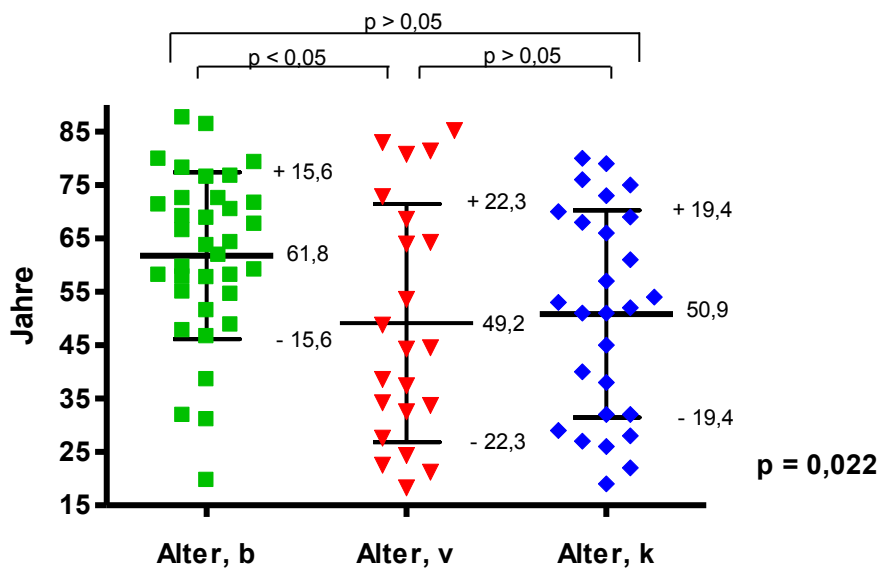


Abb. 4: Altersverteilung der Gruppen; b = bakteriell, v = viral, k = Kontrolle (MW \pm SD)

In der Gruppe der Patienten mit BM und VM ergab sich in der geschlechtsspezifischen Betrachtung ein höheres Durchschnittsalter für die Frauen (*bakteriell*: männlich 58 ± 19 Jahre, weiblich 65 ± 12 Jahre; *viral*: männlich 46 ± 23 Jahre, weiblich 52 ± 23 Jahre). In der Kontrollgruppe lag das Durchschnittsalter der Männer über dem der Frauen (*Kontrolle*: männlich 52 ± 21 Jahre, weiblich 50 ± 18 Jahre) (vgl. Anhang Tab. 2b). Ein signifikanter Altersunterschied zwischen den Geschlechtern fand sich in keiner der Gruppen (*bakteriell*: $p = 0,136$, *Kontrollen*: $p = 0,819$, t-Test; *viral*: $p = 0,689$, Mann-Whitney-U-Test). Im geschlechtsspezifischen Gruppenvergleich ergab sich für die Altersverteilung der weiblichen Patienten ein signifikanter Unterschied. In der Posthoc-Analyse war der Altersunterschied der Patienten mit BM zur Kontrollgruppe signifikant erhöht ($p = 0,024$, ANOVA; *bakteriell vs. Kontrollen*: $p < 0,05$, *viral vs. Kontrollen* und *bakteriell vs. viral*: $p > 0,05$). Die Altersverteilung der männlichen Patienten unterschied sich nicht signifikant voneinander ($p = 0,55$; *bakteriell vs. Kontrollen*, *viral vs. Kontrollen* und *bakteriell vs. viral*: jeweils $p > 0,05$, Kruskal-Wallis-Test).

4.1.2 Erregernachweis

Ein Erregernachweis im Liquor gelang bei 19 Patienten mit BM (54,3%), bei drei der Patienten nur in der Blutkultur und bei den übrigen Patienten (n = 13) in Blut und Liquor. Bei 60% der Patienten mit BM (n = 20) ließen sich *S. pneumoniae* nachweisen, gefolgt von *L. monocytogenes* (n = 5). Andere Erreger waren selten nachweisbar (vgl. Abb. 5).

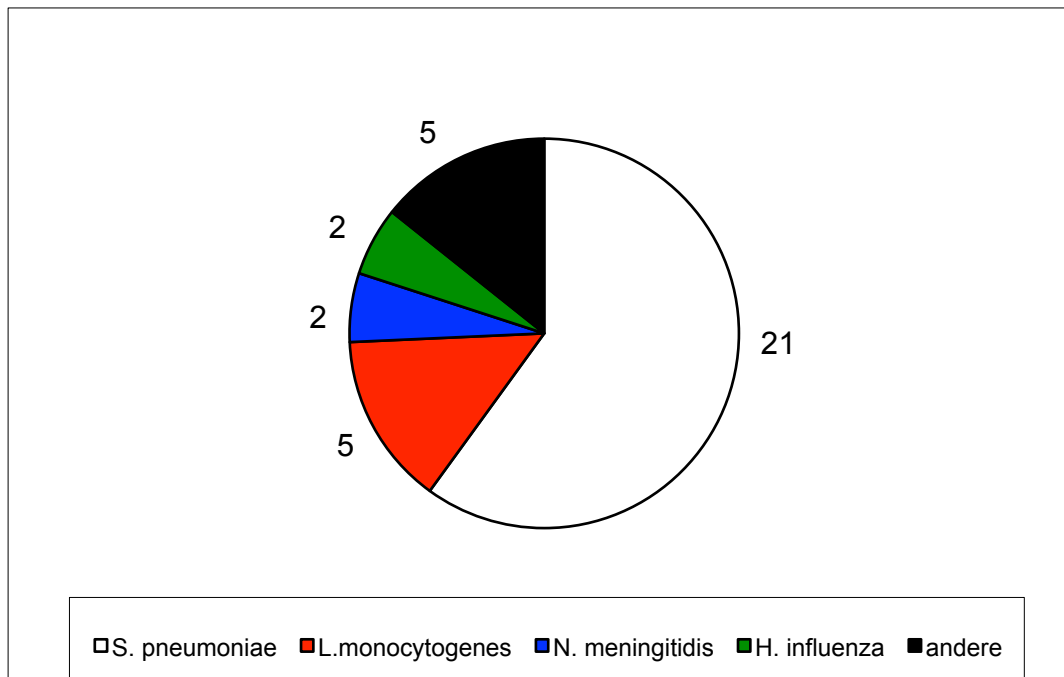


Abb. 5: Erregerverteilung bei den Patienten mit BM (Anzahl);
andere (je 1x): *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. viridans*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*

Bei 16 der 22 Liquorproben der Patienten mit VM gelang ein Erregernachweis. Die häufigsten Erreger waren das Varizella-Zoster-Virus (n = 10) und das Herpes-Simplex-Virus (n = 4). Der FSME-Virus und der Coxsackie-Virus wurden jeweils einmal in einer Liquorprobe nachgewiesen. Bei sechs Patienten mit VM gelang kein Erregernachweis. Vier Patienten wiesen klinisch eine Enzephalitis auf. Bei zwei dieser Patienten lag eine VZV- und bei einem Patienten eine HSV-Infektion vor. Beim vierten Patienten gelang kein Erregernachweis.

4.1.3 Klinische Symptomatik der Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis

Die Mehrzahl der Patienten mit einer BM und auch einer VM präsentierten sich bei Aufnahme mit Kopfschmerzen, Meningismus und Fieber (Temperatur (T) $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$). Eine Vigilanzminderung (GCS <13) wiesen 18 der Patienten mit einer BM, jedoch nur zwei Patienten mit einer VM auf. Die Trias aus Meningismus, Fieber und Vigilanzminderung [Durand et al. 1993, Proulx et al. 2005, van de Beek et al. 2004] ließ sich bei sechs Patienten mit einer BM feststellen. Eine Hirnnervenbeteiligung konnte bei zwölf der Patienten mit BM und bei neun der Patienten mit VM nachgewiesen werden (vgl. Tab. 2).

	BM (n)	VM (n)
Kopfschmerzen	26	16
Meningismus	26	12
Fieber (T $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$)	19	18
Vigilanzminderung (GCS <13)	18	2
Hirnnervenbeteiligung	12	9
Trias*	6	0

Tab. 2: Klinische Symptomatik der Patienten mit BM und VM bei Aufnahme, Anzahl;
*Trias = Meningismus, Fieber und Vigilanzminderung

Im Vergleich der klinischen Daten der Patienten mit BM und VM waren Temperatur, GCS bei Aufnahme, Aufenthaltsdauer und modifizierter Bohr-Score bei Entlassung signifikant unterschiedlich (vgl. Tab. 3). Der Bohr-Score der Patienten mit BM korrelierte signifikant mit dem Weisfelt-Score ($r = 0,53$, $p = 0,001$, Spearman-Test).

Während des Klinikaufenthaltes verstarben vier Patienten an den Folgen der BM. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung und Liquoruntersuchung waren zwei weitere Patienten verstorben. Beide waren vorher aus dem Krankenhaus in eine Reha-Klinik entlassen worden. Ein Patient mit VM verstarb an den Komplikationen einer VZV-Meningo-enzephalitis.

Alle 35 Patienten, die an einer BM erkrankt waren, erhielten eine antibiotische Therapie. Vier der Patienten wurden zu Beginn zusätzlich noch mit einem Virostatikum behandelt. 22 der Patienten (62,9%) erhielten adjuvant Dexamethason, hierunter waren zwei der sechs verstorbenen Patienten mit BM (jeweils ein Patient mit und ohne Dexamethasontherapie verstarb nach der Entlassung).

Patienten mit VM wurden nicht mit Dexamethason behandelt. Neun Patienten mit einer VM wurden bei Aufnahme sowohl antibiotisch als auch virostatisch therapiert, sieben Patienten erhielten nur ein Virostatikum. Einem Patienten wurde nur ein Antibiotikum verabreicht und fünf Patienten wurden symptomatisch behandelt (bei vier dieser Patienten erfolgte kein Erregernachweis).

4 Auswertung

	BM	VM	p-Wert
Symptomdauer			
MW ± SD [Tage]	2,6 ± 3,4	2,9 ± 2,6	0,279 ⁺
Median [25/75 Perzentile] [Tage]	1 [0,5/4]	2 [1/3,5]	
Min./Max. [Tage]	0/14	1/10	
Temperatur bei Aufnahme			
MW ± SD [°C]	38,4 ± 1,1	37,6 ± 1,1	0,005 ^{\$}
Median [25/75 Perzentile] [°C]	38,4 [37,7/39,0]	37,4 [36,8/38,1]	
Min./Max. [°C]	36,1/41,1	35,9/40,2	
GCS bei Aufnahme			
MW ± SD	11,4 ± 3,8	14 ± 2,5	0,002 ⁺
Median [25/75 Perzentile]	12 [10/15]	15 [14/15]	
Min./Max.	3/15	4/15	
Prognosescore bei Aufnahme*			
MW ± SD [%]	39,5 ± 24,4		
Median [25/75 Perzentile] [%]	37,6 [21,5/54,7]		
Min./Max. [%]	3,8/88,0		
Outcomescore bei Entlassung **			
MW ± SD	1,74 ± 1,4	0,91 ± 1,14	0,036 ⁺
Median [25/75 Perzentile]	1 [0,5/3]	1 [0/1]	
Min./Max.	0/4	0/4	
Aufenthaltsdauer			
MW ± SD [Tage]	25,5 ± 17,2	13,2 ± 6,9	0,0001 ⁺
Median [25/75 Perzentile]	22 [14,5/32]	12 [8/17,5]	
Min./Max.	4/106	4/31	
Tab. 3: Klinische Daten der Patienten mit BM und VM (Mann-Whitney-U-Test ⁺ , t-Test ^b), GCS = Glasgow Coma Scale; *Weisfelt-Score (%-unfavorable outcome nach Weisfelt [Weisfelt et al. 2008]: Alter, Herzfrequenz, GCS, Hirnnervenbeteiligung, CSF, Leukozyten und Gramfärbung; ** Outcomescore bei Entlassung modifiziert nach Bohr [Bohr et al 1984]: 4 = Tod, 3 = schwere, 2 = moderate, 1 = milde neurologische Defizite, 0 = keine Symptome			

4.1.4 Lagerung des Liquors

Eine Lumbalpunktion wurde bei 77,1% der Patienten mit BM (n = 27) und bei 86,4% der Patienten mit VM (n = 19) am Aufnahmetag durchgeführt, bei den restlichen Patienten innerhalb der ersten zwei Tage nach Aufnahme (BM: n = 5; VM: n = 2). Drei der Patienten mit BM erhielten die primäre Lumbalpunktion in einem auswärtigen Krankenhaus. Von den dort durchgeführten Lumbalpunktionen standen keine Liquorproben mehr zur Verfügung, so dass innerhalb von fünf Tagen eine erneute Liquorpunktion erfolgte und AQP1 und AQP4 bestimmt wurden. Bei einem Patienten mit VM erfolgte die Lumbalpunktion nach vier Tagen, da initial nicht von einer infektiösen Genese ausgegangen worden war.

Im Vergleich der AQP1- und AQP4-Konzentrationen der Liquorpunktionen am Aufnahmetag und der Punktionen, die im weiteren Verlauf durchgeführt wurden, ließ sich sowohl für Patienten mit BM als auch mit VM kein signifikanter Unterschied feststellen (*bakteriell*: AQP1: p = 0,469, AQP4: p = 0,503; *viral*: AQP1: p = 0,056, AQP4: p = 0,598, Mann-Whitney-U-Test).

4.1.5 Liquor- und laborchemische Parameter

Die bereits in der klinischen Routine bestimmten liquorchemischen Parameter (Liquor: Leukozyten, Laktat, Gesamtprotein, Q_{Albumin} , Q_{IgG} , Q_{IgA} , Q_{IgM}) aller drei Gruppen unterschieden sich im Kruskal-Wallis-Test signifikant voneinander (p < 0,0001). Im Vergleich der einzelnen Gruppen miteinander ergab sich für alle liquorchemischen Parameter ebenfalls ein signifikanter Unterschied (*bakteriell* vs. *Kontrolle*: alle p < 0,001; *viral* vs. *Kontrolle*: Laktat p < 0,01, restliche Parameter p < 0,001; *bakteriell* vs. *viral*: Laktat und Q_{IgM} p < 0,001, restliche Parameter p < 0,01; vgl. Tab. 4).

4 Auswertung

Liquor	BM	VM	Kontrolle	p-Wert
Leukozyten				
MW ± SD [/mm ³]	2413 ± 3188	213,7 ± 163,9*	1,3 ± 0,96	< 0,0001
Median [/mm ³] [25/75 Perzentile]	1120 [341/3812]	175 [63/349]	1 [1/2]	\$\$\$,
Min./Max. [/mm ³]	8,0/13500	15/549	0/ 3	+++ , °°
Laktat				
MW ± SD [mmol/L]	12,03 ± 6,88 *	2,78 ± 1,33	1,50 ± 0,27 *	< 0,0001
Median [mmol/L] [25/75 Perzentile]	12,20 [6,40/16,20]	2,35 [1,95/3,50]	1,5 [1,3/1,75]	\$\$\$,
Min./Max. [mmol/L]	2,60/26,50	1,30/7,30	1,0/1,90	++ , °°°
Gesamtprotein				
MW ± SD [mg/L]	4885 ± 5089	1566 ± 2483	390 ± 98,2 *	< 0,0001
Median [mg/L] [25/75 Perzentile]	3130 [1335/7310]	983 [501,5/1447]	388 [312/425]	\$\$\$,
Min./Max. [mg/L]	465/26901	399/12300	208/673	+++ , °°
Q_{Albumin}				
MW ± SD	95,32 ± 99,44	28,67 ± 56,85	5,83 ± 1,44 *	< 0,0001
Median [25/75 Perzentile]	66,70 [29,45/119,0]	14,10 [8,40/22,30]	5,70 [5,1/6,7]	\$\$\$,
Min./Max.	9,20/486	5,30/277	2,7/9,3	+++ , °°
Q_{IgG}				
MW ± SD	68,09 ± 77,99	16,59 ± 37,09	2,79 ± 0,79 *	< 0,0001
Median [25/75 Perzentile]	41,25 [17,55/83,15]	7,35 [4,60/12,25]	2,7 [2,5/3,1]	\$\$\$,
Min./Max.	5,30/299,0	2,80/180	1,2/5,3	+++ , °°
Q_{IgA}				
MW ± SD	58,04 ± 67,03	12,84 ± 32,72	1,49 ± 0,51	< 0,0001
Median [25/75 Perzentile]	31,60 [12,6/75,45]	4,75 [2,60/9,05]	1,5 [1,4/1,7]	\$\$\$,
Min./Max.	4,0/337,0	1,70/158	0,5/3,2	+++ , °°
Q_{IgM}				
MW ± SD	47,78 ± 65,79	5,82 ± 16,10	0,29 ± 0,19	< 0,0001
Median [25/75 Perzentile]	25,75 [8,5/68,0]	2,0 [0,70/3,70]	0,2 [0,2/0,40]	\$\$\$,
Min./Max.	2,7/366,0	0,30/77,30	0,10/1,0	+++ , °°°
Tab. 4: Liquorchemische Parameter der Gruppen (*normalverteilt, Kruskal-Wallis-Test); [§] bakteriell vs. Kontrolle, ⁺ viral vs. Kontrolle, [°] bakteriell vs. viral; entsprechend: einfaches Zeichen p < 0,05, doppeltes Zeichen p < 0,01, dreifaches Zeichen p < 0,001 (Dunn's-Test)				

4 Auswertung

Alle überprüften laborchemischen Daten unterschieden sich signifikant voneinander (*CRP*: $p < 0,0001$, *Leukozyten*: $p = 0,001$; *Fibrinogen*: $p < 0,001$, Kruskal-Wallis-Test). Im Vergleich der laborchemischen Daten der Patienten mit BM mit den Kontrollen bzw. mit den Patienten mit VM zeigte sich im Dunn's-Test ein signifikanter Unterschied. Für den Vergleich der Patienten mit VM mit den Kontrollen traf dies nicht zu (*bakteriell vs. Kontrolle*: *CRP* und *Leukozyten* $p < 0,05$, *Fibrinogen* $p < 0,01$; *bakteriell vs. viral*: $p < 0,001$; *viral vs. Kontrolle*: $p > 0,05$; vgl. Tab. 5).

Blut	BM	VM	Kontrollen	p-Wert
Leukozyten				
MW \pm SD [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	17,39 \pm 10,53	10,39 \pm 5,18	10,01 \pm 4,32 *	0,001
Median [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$] [25/75 Perzentile]	16,9 [9,20/22,0]	8,85 [7,10/12,45]	9,45 [5,95/13,60]	\$, °°
Min./Max. [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	6,0/ 62,50	5,10/ 29	4,5/ 17,9	
CRP				
MW \pm SD [mg/L]	172,1 \pm 122,7	10,93 \pm 22,51	47,58 \pm 62,91	<
Median [mg/L] [25/75 Perzentile]	157,9 [66,4/291,2]	2,35 [2/11,60]	8,20 [2,0/102,6]	0,0001 \$, °°°
Min./Max. [mg/L]	2,0/405,0	2/105	2,0/153,1	
Fibrinogen				
MW \pm SD [mg/dl]	718,5 \pm 193,0	408,1 \pm 127,5	390,6 \pm 193,0	< 0,001
Median [mg/dl] [25/75 Perzentile]	746,0 [546,5/853,0]	395,0 [307,0/482,0]	310 [279/542,5]	\$\$, °°°
Min./Max. [mg/dl]	408/1174	242,0/696,0	264/731	
Tab. 5: Laborchemische Parameter der Gruppen (*normalverteilt, Kruskal-Wallis-Test); <i>bakteriell vs. Kontrolle</i> \$, <i>viral vs. Kontrolle</i> +, <i>bakteriell vs. viral</i> °; entsprechend: einfaches Zeichen $p < 0,05$, doppeltes Zeichen $p < 0,01$, dreifaches Zeichen $p < 0,001$ (Dunn's-Test)				

4 Auswertung

4.2 Stabilität der Aquaporine im Liquor

4.2.1 Stabilität in Abhängigkeit von der Temperatur

In der Varianzanalyse ergab sich kein signifikanter Unterschied für die AQP1_{CSF}-Konzentrationen bei verschiedenen Lagerungstemperaturen (RT, 4°C, -20°C; p = 0,998; vgl. Tab. 6). Eine Aussage über die AQP4_{CSF}-Konzentrationen war bei zu geringer Anzahl der zur Verfügung stehenden Liquorproben nicht möglich.

AQP1 _{CSF}	RT	4°C	-20°C	p-Wert
Anzahl	5	5	4	0,998
MW ± SD [ng/ml]	5,4 ± 2,0	5,4 ± 1,7	5,5 ± 1,7	
Median [ng/ml] [25/75 Perzentile]	4,5 [3,8/7,6]	4,6 [4,2/7,0]	5,2 [4,1/6,8]	
Min./Max. [ng/ml]	3,7/8,1	4,2/8,3	3,8/7,7	
Tab. 6: AQP1 _{CSF} -Konzentrationen bei Lagerung bei Raumtemperatur (RT), 4°C und -20°C.				

4.2.2 Stabilität in Abhängigkeit von den Auftauvorgängen

Die Konzentrationen für die verschiedenen Auftau- und Einfriervorgänge (zwischen null- und fünfmal) zeigten in der Varianzanalyse für die AQP1-Konzentrationen keinen signifikanten Unterschied (p = 0,830; vgl. Tab. 7). Eine Aussage über die AQP4_{CSF}-Konzentrationen war bei zu geringer Anzahl der zur Verfügung stehenden Liquorproben ebenfalls nicht möglich.

Auftauvorgänge	0	1	2	3	4	5
AQP1_{CSF}						
Anzahl	4	5	5	5	5	5
MW ± SD [ng/ml]	5,5 ± 1,7	5,2 ± 1,7	5,9 ± 3,2	4,8 ± 1,4	5,1 ± 2,0	4,2 ± 0,4
Median [ng/ml]	5,2	4,4	4,0	4,5	5,1	4,4
[25/75 Perzentile]	[4,1/6,8]	[3,9/7,0]	[3,8/8,9]	[3,5/6,3]	[3,5/6,6]	[3,9/4,5]
Min./Max. [ng/ml]	3,8/7,7	3,7/7,2	3,8/11	3,3/6,6	2,7/8,2	3,6/4,5
p-Wert	0,830					
Tab. 7: AQP1 _{CSF} -Konzentrationen in Abhängigkeit von den Auftauvorgängen (null- bis fünfmal)						

4.2.3 Verdünnungsexakte des angewandten ELISA-Tests

Die Liquorproben wurden mit 0,9%iger NaCl-Lösung im Verhältnis 1:2, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100 und 1:1000 verdünnt. Die Konzentrationen für AQP4_{CSF} lagen danach unterhalb des Messbereichs, so dass nur für die AQP1_{CSF}-Konzentrationen verwertbare Messergebnisse erzielt werden konnten. Ab einer Verdünnung von 1:50 lagen die Konzentrationen an der Grenze des unteren Messbereichs. Die AQP1_{CSF}-Konzentrationen innerhalb des Messbereichs waren mit den Erwartungswerten vergleichbar, so dass von einer Verdünnungsexakte ausgegangen werden konnte (vgl. Abb. 6).

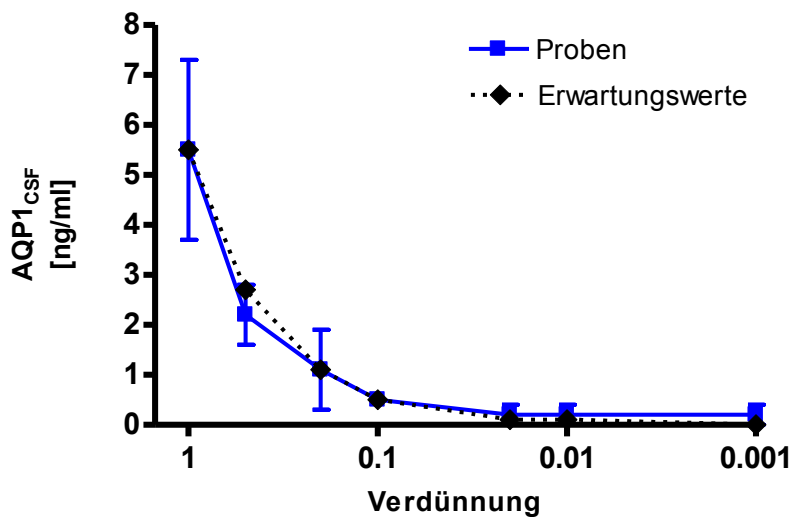


Abb. 6: AQP1_{CSF}-Konzentrationen bei Verdünnung mit 0,9%-NaCl-Lösung im Vergleich zu Erwartungswerten

4.3 Aquaporinmessung

4.3.1 Bakterielle Meningitis

Bei den Liquorproben der Patienten mit einer BM ergab sich ein Mittelwert von $3,9 \pm 3,9$ ng/ml für AQP1_{CSF} und $1,8 \pm 3,1$ ng/ml für AQP4_{CSF}. Eine Normalverteilung lag nicht vor (vgl. Tab. 8). Es ließ sich eine negative Korrelation der AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen feststellen ($r = -0,519$, $p = 0,002$, Spearman-Test, vgl. Abb. 7).

Bei 20 Patienten (57%) erfolgte zudem die Bestimmung der AQP1- und AQP4-Konzentrationen im Serum. Hier fanden sich Konzentrationen im Mittelwert von $5,6 \pm 3,0$ ng/ml für AQP1_{Serum} und $0,4 \pm 1,1$ ng/ml für AQP4_{Serum}, respektive $5,7 \pm 3,5$ ng/ml und $1,1 \pm 2,7$ ng/ml im Liquor der Patientenuntergruppe, bei denen AQP im Liquor und Serum gemessen wurde (vgl. Anhang Tab. 3b). Die Konzentrationen von AQP1 waren in Liquor und Serum normalverteilt. Bei zehn der Liquorproben und bei zwölf der Serumproben ließ sich kein AQP4 nachweisen. Im Vergleich der Liquor- und Serumwerte fand sich kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte und es lag keine signifikante Korrelation vor (AQP1: $p = 0,929$, t-Test und $r = -0,021$, Pearson-Test; AQP4: $p = 0,565$ Mann-Whitney-U-Test und $r = -0,017$, Spearman-Test).

	AQP1_{CSF}	AQP4_{CSF}
MW \pm SD [ng/ml]	3,9 \pm 3,9	1,8 \pm 3,1
Median [ng/ml] [25/75 Perzentile]	3,1 [0,9/6,5]	0,1 [0,0/2,2]
Min./Max. [ng/ml]	0,3/11	0,0/10,5
Tab. 8: AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit BM		

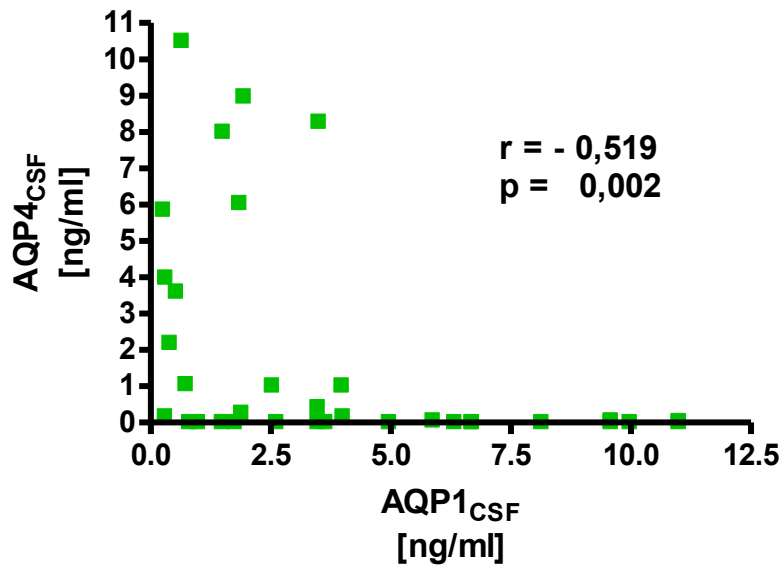


Abb. 7: Korrelation der AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen der Patienten mit BM, Spearman-Korrelation

4.3.1.1 Geschlechtsspezifischer Vergleich

Die AQP1_{CSF}-Konzentrationen waren sowohl bei Frauen als auch bei Männern mit BM normalverteilt, die AQP4_{CSF}-Konzentrationen hingegen nicht. Die Konzentrationen für AQP1_{CSF} und AQP4_{CSF} wiesen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern auf (AQP1_{CSF}: $p = 0,176$, t-Test; AQP4_{CSF}: $p = 0,594$, Mann-Whitney-U-Test; vgl. Abb. 8 und 9, Anhang Tab. 4b).

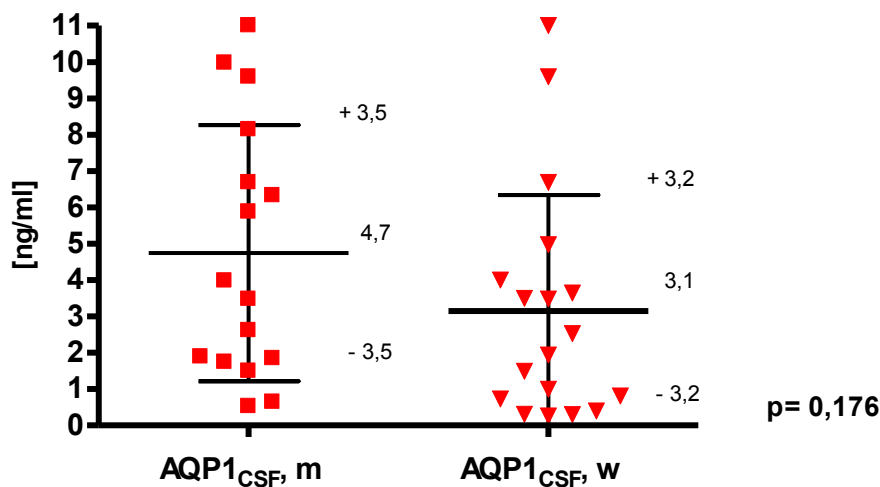


Abb. 8: AQP1_{CSF}-Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit BM (MW ± SD)

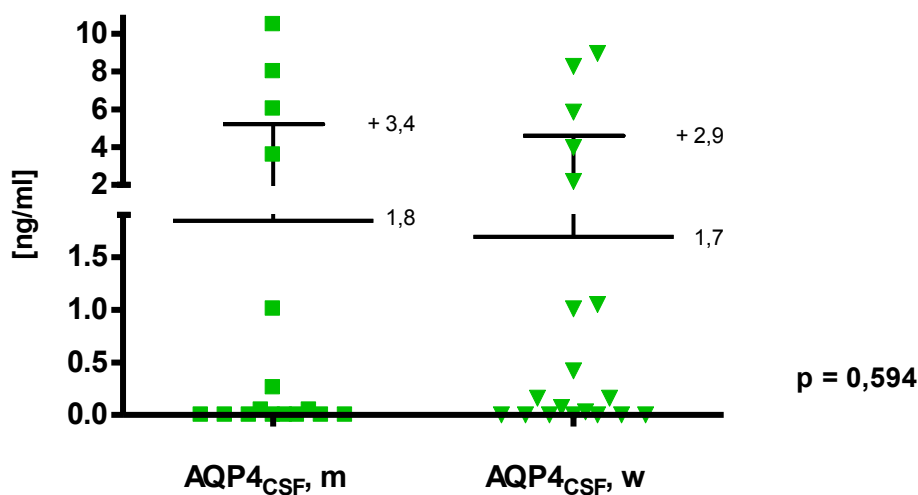


Abb. 9: AQP4_{CSF}-Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit BM (MW + SD)

4.3.2 Virale Meningitis

Der Mittelwert in der Gesamtgruppe der Patienten mit VM (n = 22) lag bei $2,6 \pm 3,1$ ng/ml für AQP1 und bei $1,8 \pm 3,2$ ng/ml für AQP4 (vgl. Tab. 9) im Liquor. Sowohl die AQP1_{CSF}- als auch die AQP4_{CSF}-Konzentrationen waren nicht normalverteilt. Es besteht keine Korrelation zwischen den AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen ($r = -0,06$, $p = 0,792$).

	AQP1_{CSF}	AQP4_{CSF}
MW \pm SD [ng/ml]	2,6 \pm 3,1	1,8 \pm 3,2
Median [ng/ml] [25/75 Perzentile]	1,2 [0,7/3,5]	0,1 [0,0/2,1]
Min./Max. [ng/ml]	0,4/11,0	0,0/11
Tab. 9: AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit VM		

Im Vergleich der einzelnen Untergruppen der Patienten mit VM mit dem Restkollektiv der Patienten mit VM ließen sich keine Konzentrationsunterschiede feststellen (*kein Erregernachweis*: AQP1_{CSF}: $p = 0,912$; HSV: AQP1_{CSF}: $p = 0,766$, AQP4_{CSF}: $p = 0,764$; VZV: AQP1_{CSF}: $p = 0,223$, AQP4_{CSF}: $p = 0,136$; *Enzephalitis*: AQP1_{CSF}: $p = 0,64$, AQP4_{CSF}: $p = 0,766$; Mann-Whitney-U-Test). Eine Ausnahme bestand bei AQP4_{CSF}-Konzentrationen in der Gruppe der Patienten mit VM ohne Erregernachweis (AQP4_{CSF}: $p = 0,036$, Mann-Whitney-U-Test). Auch Im Kruskal-Wallis-Test aller Untergruppen (*kein Erregernachweis*: n = 6, HSV: n = 4, VZV: n = 10 und *andere*: n = 2) ergab sich kein signifikanter Unterschied der AQP_{CSF}-Konzentrationen (AQP1_{CSF}: $p = 0,222$, AQP4_{CSF}: $p = 0,167$; Posthoc-Analyse jeweils $p > 0,05$ für AQP1_{CSF} und AQP4_{CSF}). Angesichts der geringen Gruppengrößen müssen jedoch die Korrelationskoeffizienten und deren p-Werte mit Vorsicht interpretiert werden.

4.3.2.1 Geschlechtsspezifischer Vergleich

Die AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen waren weder bei den Männern noch bei den Frauen mit VM normalverteilt (vgl. Abb. 10 und 11, Anhang Tab. 5b). Sowohl für AQP1_{CSF} als auch für AQP4_{CSF} bestand kein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied (AQP1_{CSF}: $p = 0,083$, AQP4_{CSF}: $p = 0,481$, Mann-Whitney-U-Test).

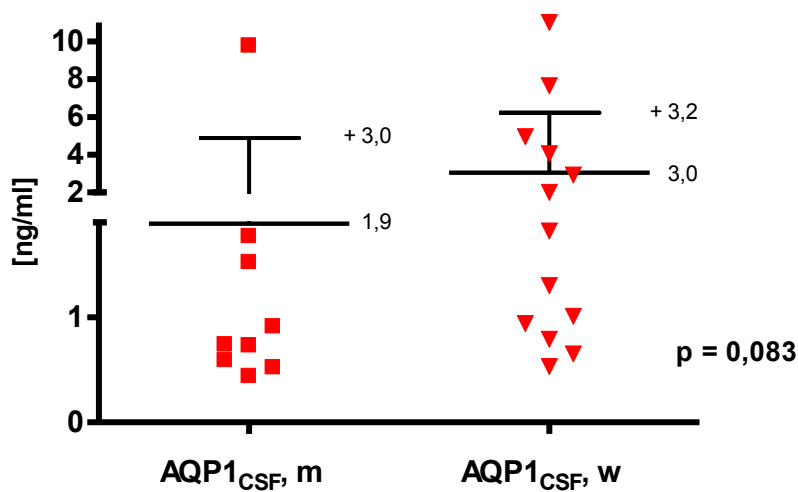


Abb. 10: AQP1_{CSF}-Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit VM (MW + SD)

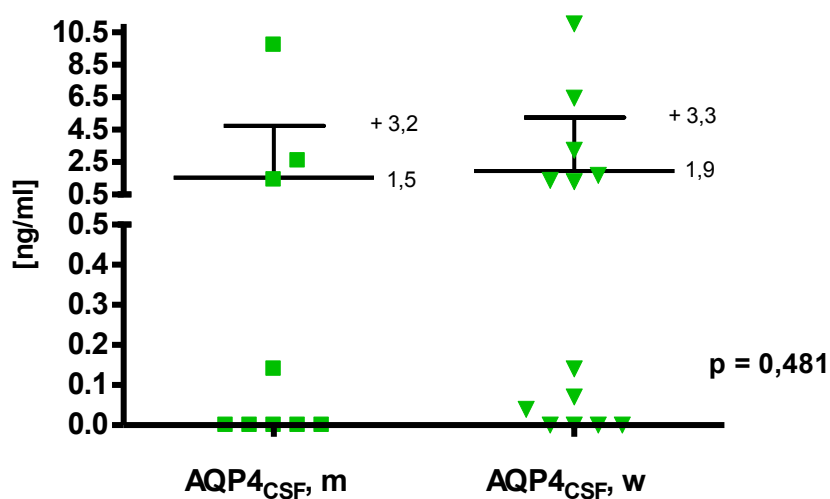


Abb. 11: AQP4_{CSF}-Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit VM (MW + SD)

4.3.3 Kontrollgruppe

In der Kontrollgruppe lag der Mittelwert von AQP1_{CSF} bei $0,8 \pm 0,5$ ng/ml, für AQP4_{CSF} ergab sich ein Mittelwert von $0,1 \pm 0,2$ ng/ml (vgl. Tab. 10). Ein Unterschied der AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen im geschlechtsspezifischen Vergleich für die Kontrollpersonen konnte nicht festgestellt werden (AQP1_{CSF}: $p = 0,893$, t-Test; AQP4_{CSF}: $p = 0,369$, Mann-Whitney-U-Test, Werte vgl. Anhang Tab. 6b). Es bestand keine signifikante Korrelation zwischen den AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen ($r = 0,033$, $p = 0,87$, Spearman-Test).

	AQP1_{CSF}	AQP4_{CSF}
MW \pm SD [ng/ml]	$0,8 \pm 0,5$	$0,1 \pm 0,2$
Median [ng/ml] [25/75 Perzentile]	0,8 [0,3/1,0]	0,0 [0,0/0,1]
Min./Max. [ng/ml]	0,1/2,2	0,0/0,5
Tab. 10: AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen in der Kontrollgruppe		

Die Bestimmung der AQP1- und AQP4-Konzentrationen erfolgte bei 12 Kontrollliquores im Serum und ergab einen Mittelwert von $7,8 \pm 3,5$ ng/ml für AQP1_{Serum} und $0,4 \pm 0,8$ ng/ml für AQP4_{Serum} (respektive $0,9 \pm 0,7$ ng/ml für AQP1_{CSF}; in den entsprechenden Liquorproben ließ sich kein AQP4 nachweisen; vgl. Anhang Tab. 7b). Im Vergleich der Liquor- und Serumwerte waren die Serumkonzentrationen für AQP1 in der Kontrollgruppe im Mittel höher als die Liquorkonzentrationen ($p < 0,0001$, Mann-Whitney-U-Test). Da sich für diese Proben AQP4 im Liquor nicht nachweisen ließ, konnten weder ein Unterschied noch eine Korrelation zum Serum ermittelt werden. Für AQP1 bestand eine signifikante Korrelation zwischen den Liquor- und Serumkonzentrationen ($r = 0,682$, $p = 0,015$, Spearman-Test, vgl. Abb. 12).

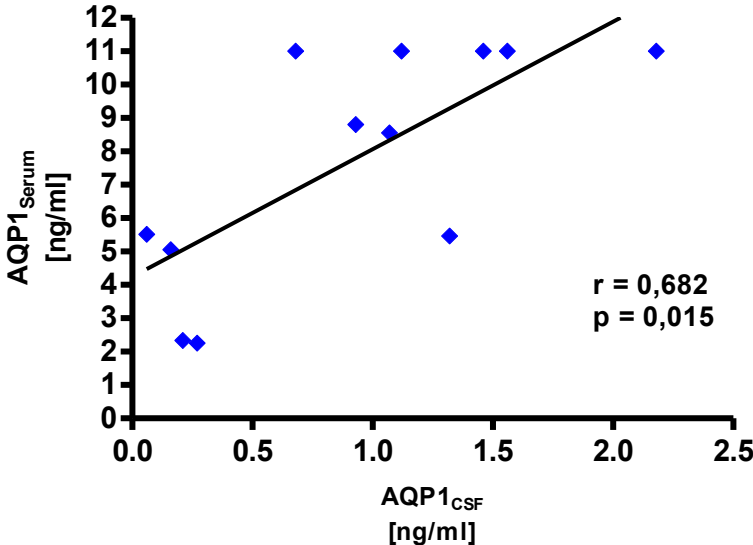


Abb. 12: Korrelation der AQP1-Konzentrationen im Liquor und Serum in der Kontrollgruppe

4.4 Gruppenvergleich

4.4.1 Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Konzentrationen

Im Vergleich der drei Gruppen (Patienten mit BM und VM sowie der Kontrollgruppe) ergab sich im Kruskal-Wallis-Test für die AQP1_{CSF}-Konzentrationen ein signifikanter Unterschied (AQP1_{CSF}: $p = 0,0001$; vgl. Abb. 13). Die Patienten mit BM wiesen in der Posthoc-Analyse signifikant höhere AQP1_{CSF}-Konzentrationen als die Kontrollen auf (*bakteriell vs. Kontrollen*: $p < 0,0001$, Dunn's-Test). Die Unterschiede der AQP1_{CSF}-Konzentrationen zwischen den Patienten mit VM im Vergleich zu den Patienten mit BM und zu den Kontrollen waren nicht signifikant (*bakteriell vs. viral*: $p > 0,05$; *viral vs. Kontrolle*: $p > 0,05$, Dunn's-Test).

Für die AQP4_{CSF}-Konzentrationen konnte ebenfalls ein signifikanter Unterschied im Vergleich aller drei Gruppen nachgewiesen werden (AQP4_{CSF}: $p = 0,035$, Kruskal-Wallis-Test; vgl. Abb. 14). In der Posthoc-Analyse ließen sich zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede für die AQP4_{CSF}-Konzentrationen feststellen (*bakteriell vs. Kontrollen*, *viral vs. Kontrollen*, *bakteriell vs. viral*: jeweils $p > 0,05$, Dunn's-Test).

Im Vergleich der Serumwerte der Patienten mit BM und den Kontrollen ergab sich weder für die AQP1- noch für die AQP4-Konzentrationen ein signifikanter Unterschied (AQP1_{Serum}: $p = 0,067$, AQP4_{Serum}: $p = 0,875$, Mann-Whitney-U-Test). Der Mittelwert der AQP1_{Serum}-Konzentrationen beider Gruppen war signifikant höher als der Mittelwert der AQP1_{CSF}-Konzentrationen (AQP1_(bakteriell und Kontrolle): AQP1_{Serum}: $6,4 \pm 3,3$ ng/ml, AQP1_{CSF}: $3,8 \pm 3,6$ ng/ml; $p = 0,003$, t-Test). Für die AQP4_{Serum}-Konzentrationen ergab sich kein signifikanter Unterschied (AQP4_(bakteriell und Kontrolle): $p = 0,49$, t-Test). Eine Korrelation aller AQP1- bzw. AQP4-Messungen zwischen Liquor und Serum konnte nicht nachgewiesen werden (AQP1: $r = -0,114$, $p = 0,542$; AQP4: $r = -0,021$, $p = 0,908$, Spearman-Test).

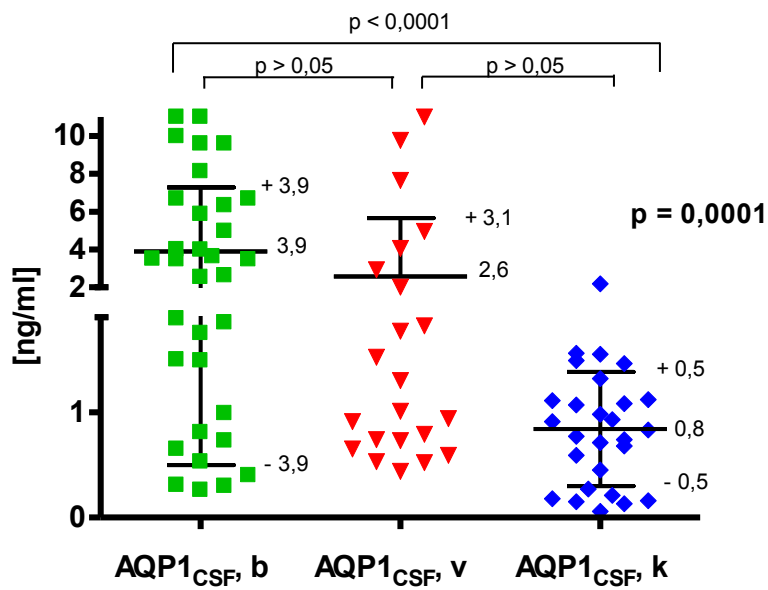


Abb. 13: Gruppenvergleich der AQP1_{CSF}-Konzentrationen, b = bakteriell, v = viral, k = Kontrolle (MW ± SD)

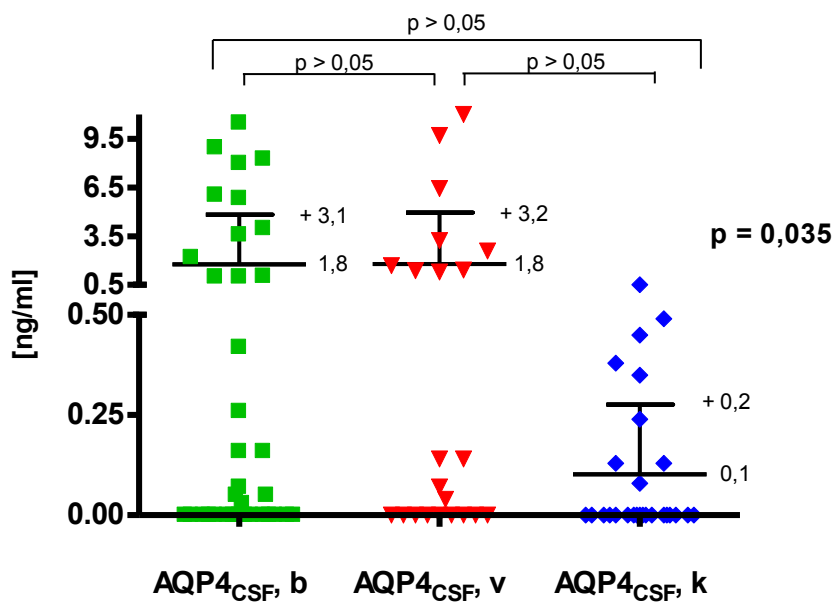


Abb. 14: Gruppenvergleich der AQP4_{CSF}-Konzentrationen, b = bakteriell, v = viral, k = Kontrolle (MW + SD)

4.4.2 Vergleich der Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Liquor-/Serum-Quotienten bei Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe

In der Gruppe der Patienten mit BM bestand für alle Patienten, bei denen Aquaporinbestimmungen im Liquor und Serum durchgeführt wurden (n = 19, 54% der Patienten mit einer BM), eine Schrankenfunktionsstörung. In der Kontrollgruppe wies nur ein Patient eine grenzwertige Schrankenfunktionsstörung auf (von 12 der insgesamt 27 Kontrollliquores). Bei den Patienten mit BM lag der Mittelwert des Liquor-/Serum-Quotienten für AQP1 bei $2,9 \pm 6,5$ [einheitslos]. Für AQP4 ließ sich die Berechnung nur für acht Proben durchführen, da die restlichen Werte für AQP4 unterhalb des Messbereichs lagen. Der Mittelwert für Q_{AQP4} lag hier bei $8,7 \pm 23,7$. In der Kontrollgruppe konnte der Liquor-/Serum-Quotient nur für AQP1 bestimmen werden ($0,1 \pm 0,1$, normalverteilt). Die AQP4-Konzentrationen lagen auch hier unterhalb des Messbereiches (vgl. Tab. 11).

	$Q_{AQP1, b}$	$Q_{AQP4, b}$	$Q_{AQP1, k}$	$Q_{AQP4, k}$
Anzahl	19	8	12	
MW \pm SD	$2,9 \pm 6,5$	$8,7 \pm 23,7$	$0,1 \pm 0,1$	
Median [25/75 Perzentile]	0,8[0,5/2,3]	0 [0/1,2]	0,1 [0,1/0,1]	
Min./Max.	0/28,9	0/67,4	0/0,2	
Tab. 11: Q_{AQP1} und Q_{AQP4} [CSF/Serum] der Patienten mit BM und der Kontrollgruppe				

Im Vergleich von Q_{AQP1} zwischen Patienten mit BM und der Kontrollgruppe ließ sich ein signifikanter Unterschied feststellen ($p < 0,0001$, Mann-Whitney-U-Test).

Das relative Ausmaß der Schrankenfunktionsstörung berechneten wir anhand der altersadjustierten Grenzwerte für Q_{Alb} ($Q_{Alb} \times 10^3 = (4 + \text{Alter}/15) \times 10^3$). Es erfolgte eine Einteilung der AQP1-Quotienten anhand des prozentualen Anstiegs des Q_{Alb} (bis 200 %, 200-500 %, 500-1000 %, 1000-2000 %, >2000 %). Ein signifikanter Unterschied des AQP1-Quotienten innerhalb der fünf Gruppen ließ sich im Kruskal-Wallis-Test nicht nachweisen ($p = 0,104$). Aufgrund nicht nachweisbarer AQP4-Konzentrationen konnte diese Berechnung für AQP4 nicht durchgeführt werden. In der Kontrollgruppe lag eine signifikante Korrelation für Q_{Alb} und Q_{AQP1} vor, in der Gruppe der Patienten mit einer BM

fand sich keine signifikante Korrelation (*Kontrolle*: $r = 0,577$, $p = 0,019$, Pearson-Test; *bakteriell*: $r = -0,01$, $p = 0,964$, Spearman-Test, vgl. Abb. 15).

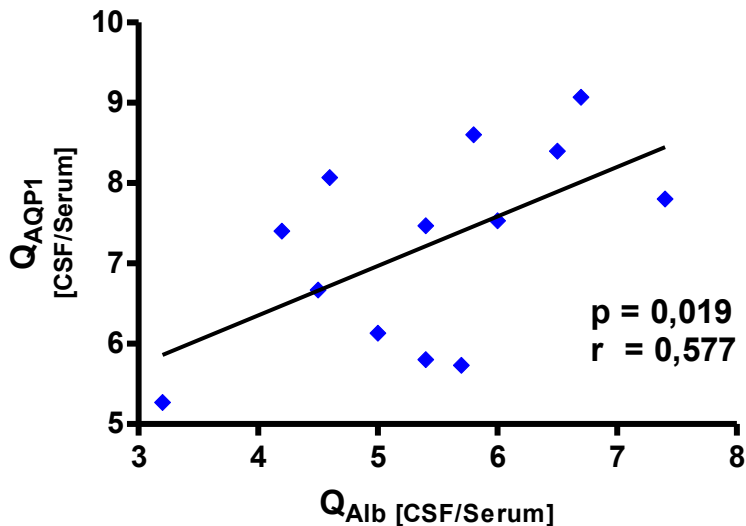


Abb. 15: Korrelation von Q_{Alb} und Q_{AQP1} in der Kontrollgruppe

4.4.3 Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Index bei Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe

Analog zur Bestimmung der Antikörperindices im Liquor zur Berechnung einer lokalen Synthese bei infektiösen ZNS-Erkrankungen, wie durch Reiber beschrieben, wurden die Indices für AQP1 bei neunzehn der Patienten mit BM und bei zwölf der Personen aus der Kontrollgruppe bestimmt. Bei keiner der Liquorproben lag der Q_{IgG} -Wert oberhalb der Diskriminierungslinie Q_{Lim} . Die Berechnung erfolgte nach:

$$Q_{lim}(IgG) = 0,93\sqrt{((Q_{Alb})^2 + 6 \times 10^{-6})} - 1,7 \times 10^{-3},$$

so dass $I(AQP) = Q_{AQP}/Q_{IgG}$ bei $Q_{IgG} < Q_{lim}$ verwendet wurde, wobei

$$Q_{AQP1} = c(AQP1_{CSF})/c(AQP1_{Serum}) \text{ und } Q_{IgG} = c(IgG_{CSF})/c(IgG_{Serum})$$

c = Konzentration; pathologische AQP1-Indices lagen ab 1,5 vor [Reiber 2006].

4 Auswertung

Alle AQP1-Indices lagen in der Gruppe der Patienten mit BM und der Kontrollgruppe über 1,5, als Hinweis auf einen Ursprung von AQP1 im ZNS (vgl. Tab. 12). Es fällt jedoch eine große Streubreite auf. Die AQP4-Konzentrationen lagen überwiegend unterhalb des Messbereiches, so dass eine Bestimmung der AQP4-Indices nicht möglich war (im Messbereich befindliche Daten: *bakteriell*: n = 4, *Kontrollen*: n = 0).

	I _{AQP1, b}	I _{AQP1, k}
Anzahl	19	12
MW ± SD	106 ± 302	47 ± 32
Median [25/75 Perzentile]	21[8/51]	42 [28/59]
Min./Max.	1,4/1331	7/127
Tab. 12: AQP1-Indices der Patienten mit BM und der Kontrollgruppe		

4.4.4 Einfluss von Erythrozytenbeimengungen

Bei 21 der Patienten mit BM (60%) ließen sich im Liquorpunktat Erythrozyten nachweisen, bei den Patienten mit VM in elf und in der Kontrollgruppe in sieben der Liquorproben. Es lag kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit von Patienten mit „blutiger“ Liquorpunktion vor ($p = 0,996$, Chi²-Test).

Sowohl bei den Patienten mit BM als auch in der Kontrollgruppe war weder bei den AQP1- noch bei den AQP4-Konzentrationen ein signifikanter Unterschied zwischen den Liquorproben mit und ohne Erythrozytennachweis feststellbar (*bakteriell*: AQP1_{CSF}: $p = 0,104$, AQP4_{CSF}: $p = 0,467$, Mann-Whitney-U-Test; *Kontrolle*: AQP1_{CSF}: $p = 0,209$, t-Test, AQP4_{CSF}: $p = 0,777$, Mann-Whitney-U-Test). Im jeweiligen Vergleich der AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen mit und ohne Erythrozytennachweis zeigte sich bei den Patienten mit VM für die AQP1_{CSF}-Konzentrationen ein signifikanter Unterschied (AQP1_{CSF}: $p = 0,004$, AQP4_{CSF}: $p = 0,792$, Mann-Whitney-U-Test).

4.4.5 Aquaporin 4-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze

Die Anzahl der Proben, bei denen die AQP4_{CSF}-Konzentration unterhalb des Messbereichs lag, betrug bei den Patienten mit BM 15, mit VM neun und in der Kontrollgruppe 17. Im Chi²-Test ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den

Gruppen hinsichtlich der Anzahl der AQP4_{CSF}-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze und denen im Messbereich ($p = 1,0$, Chi²-Test) feststellen.

4.4.6 Vergleich der Aquaporinkonzentrationen mit klinischen, liquor- und laborchemischen Daten

Das Patientenalter der Kontrollgruppe korrelierte signifikant mit den AQP1_{CSF}-Konzentrationen ($r = 0,402$, $p = 0,038$, Pearson-Test; vgl. Abb. 15). Zu den AQP4_{CSF}-Konzentrationen bestand keine signifikante Korrelation ($r = 0,017$, $p = 0,87$, Spearman-Test).

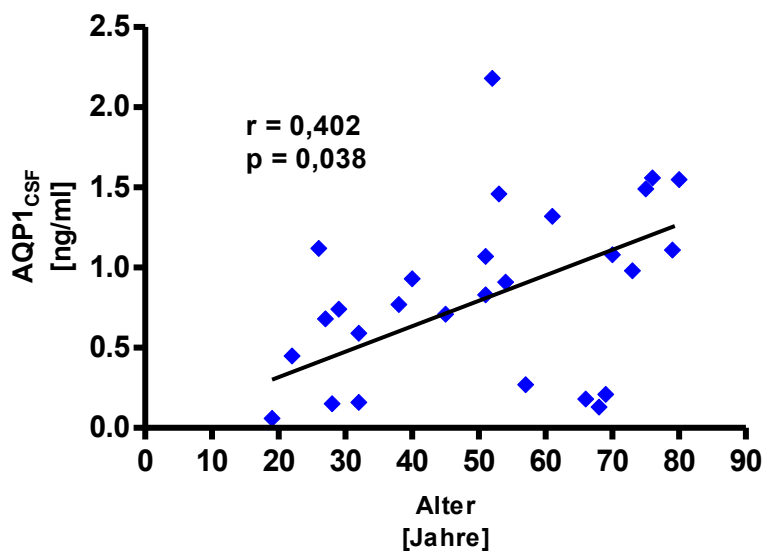


Abb. 16: Korrelation des Alters mit den AQP1_{CSF}-Konzentrationen in der Kontrollgruppe

Signifikante Korrelationen der AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen der Patienten mit BM mit dem Weisfelt- und dem Bohr-Score (als Parameter für die klinische Prognose bzw. für das Behandlungsergebnis der Patienten) lagen nicht vor. Es bestand keine signifikante Korrelation zwischen Symptombdauer vor der Krankenhauseinweisung und den AQP_{CSF}-Konzentrationen. Auch für die Patienten mit VM zeigte sich keine Korrelation der AQP_{CSF}-Konzentrationen zum Bohr-Score (vgl. Tab. 13).

4 Auswertung

		AQP1 _{CSF}		AQP4 _{CSF}	
		r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert
BM	Weisfelt-Score [%]	- 0,064	0,721	0,178	0,310
	Symptombdauer [Tage]	0,218	0,216	- 0,269	0,118
	Bohr-Score	0,10	0,575	0,106	0,550
VM	Symptombdauer [Tage]	- 0,091	0,688	- 0,099	0,660
	Bohr-Score	0,073	0,754	- 0,099	0,670

Tab. 13: Korrelation von AQP1_{CSF} und AQP4_{CSF} mit dem Weisfelt-Score, der Symptombdauer und dem Bohr-Score der Patienten mit BM und mit der Symptombdauer und dem Bohr-Score der Patienten mit VM (Spearman-Test)

In der Gruppe der Patienten mit VM ließ sich eine signifikante Korrelation der AQP1_{CSF}-Konzentrationen zu den Konzentrationen des Laktats, des Gesamtproteins sowie den Albumin-, IgG- und IgA-Quotienten aus dem Liquor und der CRP-Konzentration aus dem Serum feststellen (vgl. Tab. 14; Werte der Patienten mit BM, der Kontrollgruppe und der AQP4 der Patienten mit VM, vgl. Anhang Tab. 9b, 10b und 11b).

AQP1 _{CSF} , v	r-Wert	p-Wert		r-Wert	p-Wert
Liquor			Serum		
Leukozyten [/mm ³]	-0,018	0,938	Leukozyten [*10 ⁻³ /μl]	-0,235	0,292
Laktat [mmol/L]	0,534	0,011*	CRP [mg/L]	0,469	0,028*
Gesamtprotein [mg/L]	0,479	0,024*	Fibrinogen [mg/dl]	0,107	0,654
Q _{Albumin}	0,518	0,014*			
Q _{IgG}	0,501	0,018*			
Q _{IgA}	0,453	0,034*			
Q _{IgM}	0,382	0,09			

Tab. 14: Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP1_{CSF}-Konzentrationen der Patienten mit VM (*signifikant, Spearman-Test)

4.4.7 Vergleich der Aquaporinkonzentrationen mit dem semiquantitativen Ausmaß des Hirnödems bei Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis

Im Vergleich der AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen, bezogen auf das Ausmaß des Hirnödems, ergaben sich sowohl für die Patienten mit einer BM als auch für die Patienten mit einer VM keine signifikanten Unterschiede (*bakteriell*: AQP1_{CSF}: $p = 0,423$, AQP4_{CSF}: $p = 0,513$; *viral*: AQP1_{CSF}: $p = 0,535$, AQP4_{CSF}: $p = 0,461$, Kruskal-Wallis-Test). Die Aussagekraft dieses Vergleiches ist jedoch aufgrund der geringen Anzahl der Patienten in den einzelnen Untergruppen eingeschränkt zu bewerten. In der Gruppe der Patienten mit BM hatten insgesamt nur sechs Patienten ein mäßiges oder ausgeprägtes Hirnödem. Nur bei sechs Patienten mit VM konnte ein Hirnödem nachgewiesen werden (vgl. Tab. 15).

	k. A.	0	1	2	3
BM					
Anzahl	3	14	12	4	2
VM					
Anzahl	6	10	4	2	0

Tab. 15: Semiquantitative Verteilung der Schweregrade der Hirnödeme bei den Patienten mit BM und VM (k. A. = keine Angabe bzw. keine Bildgebung, 0 = kein Hirnödem, 1 = geringes, 2 = mäßiges, 3 = ausgeprägtes Hirnödem)

4.5 Neuropsychologische Nachuntersuchung

4.5.1 Kollektiv

Acht Patienten mit einer BM (männlich: $n = 2$, weiblich: $n = 6$) erfüllten die Kriterien zur Teilnahme an der neuropsychologischen Nachuntersuchung (Ausschlusskriterien vgl. Abb. 17, Mehrfachnennungen waren möglich). Zwischen der Erkrankung und der Testung lagen $2,2 \pm 2,2$ Jahre ($25,5 \pm 26,9$ Monate, Median [25/75-Perzentile]: $10,3$ [7,75/45,5], Min./Max.: 6/71 Monate).

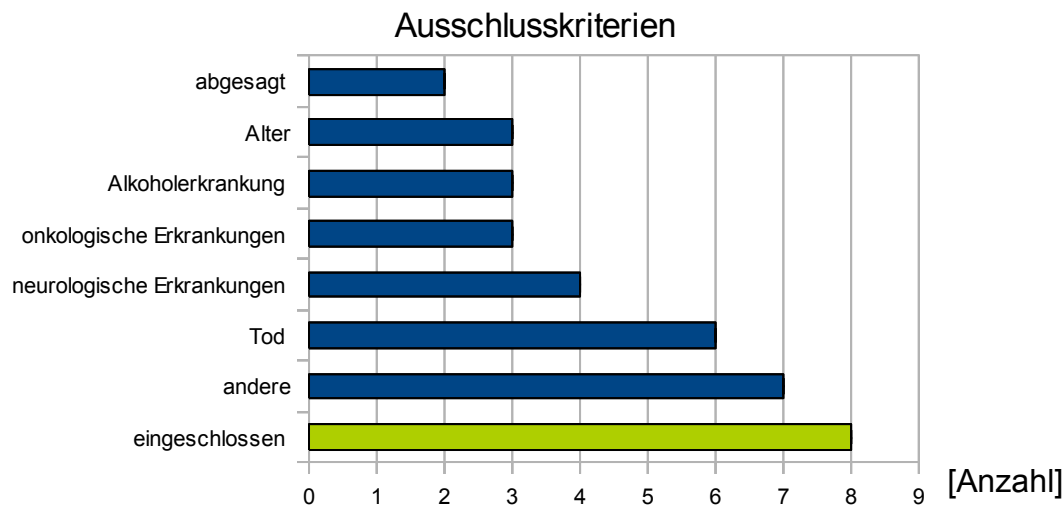


Abb. 17: Verteilung der Ausschlusskriterien der Patienten mit BM für die neuropsychologische Nachuntersuchung (Anzahl)

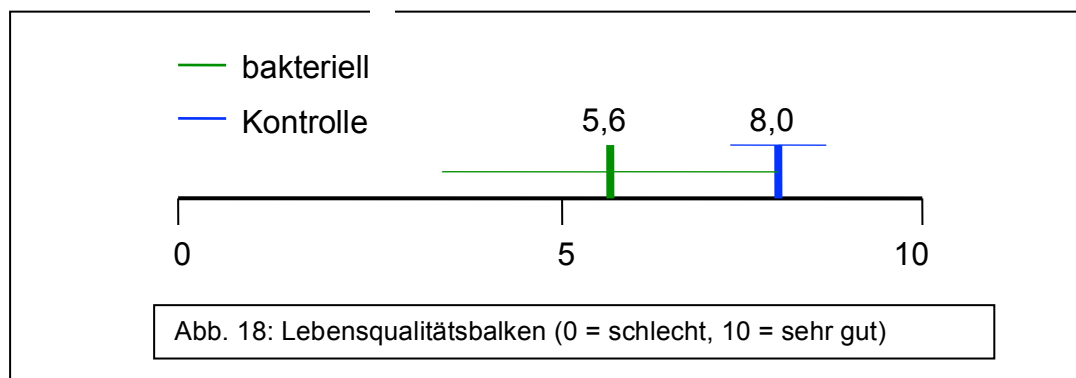
Als Kontrollgruppe dienten acht alters- und geschlechtsadjustierte Personen (männlich: $n = 2$, weiblich: $n = 6$). Aufgrund der geringen Anzahl wurden alle Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt.

Das Alter der Patienten mit BM lag bei $54,9 \pm 18,2$ Jahren (Median [25/75 Perzentile]: $60,5$ [44/67,5], Min./Max.: 20/75) und das der Kontrollprobanden bei $54,6 \pm 18,1$ Jahren (Median [25/75 Perzentile]: 55 [44,5/71,5], Min./Max.: 21/74). Im Vergleich der beiden Gruppen ließ sich kein Altersunterschied feststellen ($p = 0,96$, Mann-Whitney-U-Test).

4.5.2 Vergleich der psychiatrischen Symptomatik der Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe

Sieben Probanden der Kontrollgruppe und acht der Patienten mit BM beantworteten die Fragebögen.

Im Vergleich zeigte sich eine signifikant bessere *Lebensqualität* für die Kontrollgruppe (*Kontrolle*: $8,0 \pm 0,6$, *bakteriell*: $5,6 \pm 2,4$; $p = 0,029$, Mann-Whitney-U-Test; vgl. Abb. 18; *Kontrolle*: (Median [25/75 Perzentile]: 8 [7,5/8,5], Min./Max.: 7/9; *bakteriell*: Median [25/75 Perzentile]: 5 [4,8/7,3], Min./Max.: 1,5/9,5).



In der Auswertung der Fragebögen zur Depression ergab der *BDI* für die Patienten mit BM einen Mittelwert von $3,3 \pm 3,5$ (Median [25/75 Perzentile]: 2 [0/6], Min./Max.: 0/9) und in der Kontrollgruppe einen Mittelwert von $3,1 \pm 6,1$ (Median [25/75 Perzentile]: 1 [0/2], Min./Max.: 0/17). Ein signifikanter Unterschied bestand nicht ($p = 0,620$, Mann-Whitney-U-Test). Ab einem Wert von 11 liegt eine Depression vor (in der Kontrollgruppe trifft dies für einen Probanden zu).

Die Ergebnisse des *HADS-Depressions*-Fragebogens zeigten für die Patienten mit BM einen Mittelwert von $3,5 \pm 2,7$ (Median [25/75 Perzentile]: 4 [1/5,5], Min./Max.: 0/7), der Mittelwert in der Kontrollgruppe lag bei $1,9 \pm 2,1$ (Median [25/75 Perzentile]: 1 [0/3], Min./Max.: 0/6). Auch hier ließ sich kein signifikanter Unterschied nachweisen ($p = 0,281$, Mann-Whitney-U-Test).

4 Auswertung

Die *Schlafqualität* der Patienten mit BM war im *PSQI*-Test signifikant schlechter als die der Kontrollprobanden (bakteriell: $6,3 \pm 2,9$, $6 \geq 5$; Kontrolle: $2,4 \pm 1,5$, $0 \geq 5$; $p = 0,009$, Mann-Whitney-U-Test; ≥ 5 zeigt eine Schlafstörung an).

Im *NEADL* ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen feststellen ($p = 0,536$, Mann-Whitney-U-Test). Auch die Ergebnisse der Fragebögen zum allgemeinen Gesundheitszustand (SF-36) und der psychischen Belastung (SCL-90-R, HADS-Angst) wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit BM und den Kontrollprobanden auf (vgl. Tab. 16).

		BM, n = 8	Kontrolle, n = 7	p-Wert
SF-36 [z-Wert]	körperl. Sum.	- 0,7 ± 1,3	0,1 ± 0,7	0,232
	psych. Sum.	0,2 ± 1,0	0,5 ± 0,6	0,536
SCL-90-R [T-Werte]	GSI	46,7 ± 7,1	36,7 ± 10,7	0,073
	PST	46,7 ± 5,3	37,0 ± 10,1	0,097
	PDI	51,7 ± 5,3	45,1 ± 8,0	0,128
HADS-Angst		4,8 ± 3,4	2,4 ± 2,7	0,281
Tab. 16: Vergleich des SF-36, SCL-90-R und des HADS-Angst der Patienten mit BM und der Kontrollprobanden (Mann-Whitney-U-Test, MW ± SD); SCL-90-R: GSI = Global Severity Index, PST = Positive Symptom Total, PDI = Positive Symptom Distress Index; SF-36: körperlicher und psychischer Summenscore				

4.5.3 Vergleich kognitiver Tests der Patienten mit bakterieller Meningitis und der Kontrollgruppe

Der Vergleich der einzelnen Domänen (als z-Werte dargestellt) ergab im Bereich der frontalen Exekutivfunktionen einen signifikanten Unterschied ($p = 0,03$, Mann-Whitney-U-Test), die restlichen Domänen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (vgl. Tab. 17, Abb. 19).

4 Auswertung

	BM	Kontrolle	p-Wert
Arbeitsgedächtnis	0,1 ± 0,9	0,2 ± 0,6	0,955
verbales Gedächtnis	0,2 ± 0,9	0,6 ± 0,6	0,279
nicht-verbales Gedächtnis	-0,0 ± 0,5	-0,3 ± 0,4	0,382
visuokonstruktives Gedächtnis	-0,4 ± 0,6	-0,3 ± 0,7	0,8
frontale Exekutivfunktion	-0,3 ± 0,4	0,2 ± 0,3	0,03
Aufmerksamkeit	-0,8 ± 0,8	-0,5 ± 1,0	0,645

Tab. 17: z-Werte (MW ± SD) und Vergleich der Gedächtnisdomänen der Patienten mit BM und der Kontrollprobanden

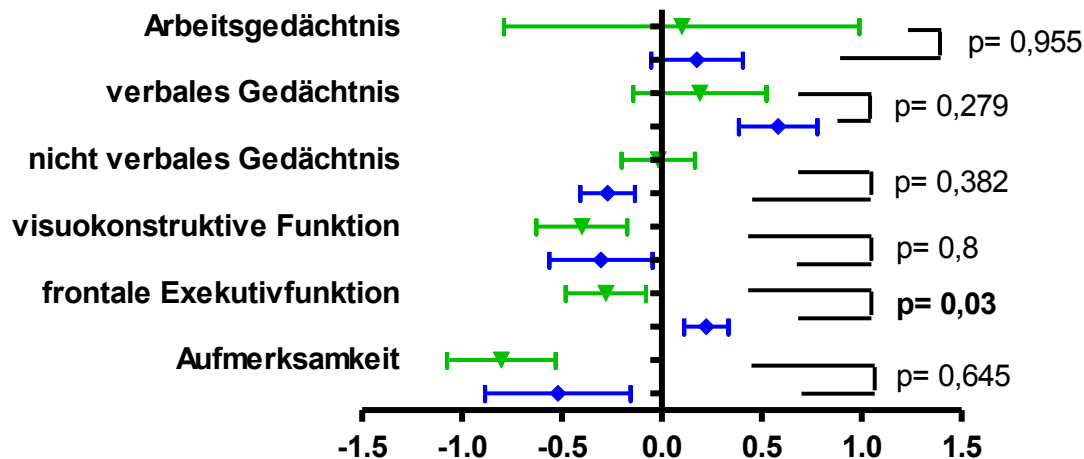


Abb. 19: z-Werte der Gedächtnisdomänen der Patienten mit BM und der Kontrollprobanden (MW ± SD), ● = BM, ◆ = Kontrolle

4.5.4 Korrelation der Ergebnisse der neuropsychologischen Nachuntersuchung mit den Aquaporinkonzentrationen im Liquor

Es konnten keine Korrelationen zwischen den AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen mit den z-Werten der einzelnen Domänen der kognitiven Tests für die Patienten mit BM nachgewiesen werden (vgl. Tab. 18). Bei den Ergebnissen der Fragebögen ließ sich eine negative signifikante Korrelation für den HADS-Depression und den PSQI zu den AQP1_{CSF}-Konzentrationen der Patienten mit BM nachweisen (vgl. Tab. 19).

4 Auswertung

	AQP1 _{CSF}		AQP4 _{CSF}	
	r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert
Arbeitsgedächtnis	0,357	0,444	0,185	0,713
verbales Gedächtnis	-0,048	0,935	0,024	0,977
nicht-verbales Gedächtnis	0,476	0,243	-0,098	0,840
visuokonstruktives Gedächtnis	-0,667	0,233	-0,057	0,950
frontale Exekutivfunktion	-0,667	0,233	-0,057	0,950
Aufmerksamkeit	0,476	0,243	0,098	0,840

Tab. 18: Korrelation der z-Werte der Gedächtnisdomänen mit den AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen der Patienten mit BM (Spearman-Test)

		AQP1 _{CSF}		AQP4 _{CSF}	
		r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert
Lebensqualitätsbalken		-0,244	0,582	-0,30	0,462
BDI		-0,090	0,84	0,224	0,595
HADS	Depression	-0,735	0,046	0,383	0,36
	Angst	-0,393	0,327	0,04	0,935
PSQI		-0,916	0,002	0,272	0,501
SCL-90	GSI	0,286	0,556	0,259	0,556
	PST	0,198	0,662	0,224	0,595
	PSDI	-0,09	0,84	0,692	0,088
SF-36	körperl. Sum.	0,214	0,619	-0,659	0,083
	psych. Sum.	-0,167	0,703	0,195	0,665

Tab. 19: Korrelation der Ergebnisse der Fragebögen mit den AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen der Patienten mit BM (Spearman-Test); *BDI* = Beck Depressions Index, *HADS* = Hospitality Anxiety and Depression Index, *PSQI* = Pittsburgh Sleep Quality Index; *SCL-90-R*, T-Werte: GSI = Global Severity Index, PST = Positive Symptom Total, PDI= Positive Symptom Distress Index; *SF-36*, z-Werte: körperlicher und psychischer Summenscore

5 Diskussion

5.1 Klinische Daten

5.1.1 Patientenkollektive

Im untersuchten Kollektiv waren 35 (41,7%) Patienten an einer BM erkrankt (vgl. Kap. 4.1). Bezogen auf die Einwohnerzahl des Landkreises Göttingen (258000 Einwohner im Jahr 2011) [Landkreis Göttingen, Zensus 2011] und einem Beobachtungszeitraum von vier Jahren, ist die Anzahl unserer Patienten mit BM bei einer Inzidenz der BM von 5-10/100000 annähernd vergleichbar (Erwartungswert im Landkreis Göttingen 50-100 Patienten mit BM). Zu beachten ist ebenfalls, dass nur Patienten mit einem eindeutigen Erregernachweis einbezogen wurden (vgl. Kap 1.1.1). Die Krankenhausletalität lag mit 11% unterhalb der in der Literatur genannten Werte (um 20%) [Durand et al. 1993, Dzapova et al. 2009].

Zwei Drittel der verstorbenen Patienten wurde nicht mit Dexamethason therapiert (vgl. Kap. 4.1.3). Aufgrund der geringen Patientenzahl ist aber nicht nachzuvollziehen, ob die Gabe von Dexamethason einen Einfluss auf die Sterblichkeit hatte, wie dies in einer früheren europäischen Studie diskutiert wurde [Weisfelt et al. 2006b]. Die Datenlage hinsichtlich des Nutzens der Glukokortikoidgabe auf die Morbidität und Mortalität ist mittlerweile umstritten und wird von anderen Wissenschaftlern in Frage gestellt [Brouwer et al. 2010b, van de Beek et al. 2010].

Das Alter der Patienten mit BM und VM war in der Posthoc-Analyse im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant höher (vgl. Kap. 4.1.1). Auch im Vergleich zu anderen Studienkollektiven waren unsere Patienten mit BM älter [Dzapova et al. 2009, Katchanov et al. 2009]. Dies ist am ehesten durch den Umstand zu erklären, dass nur Patienten über 18 Jahren eingeschlossen waren und keine Altersbegrenzung nach oben bestand. Jedoch konnte auch in Studien, die keine Altersbeschränkung aufwiesen, eine Zunahme des Durchschnittsalters im Verlauf der letzten Jahre festgestellt werden [Thigpen et al. 2011]. Das höhere Durchschnittsalter könnte auch die geringe

Überlegenheit der weiblichen Geschlechts in allen Kollektiven erklären (BM: 46% männlich, 54% weiblich, VM: 41% männlich, 59% weiblich, Kontrolle: 57% weiblich, 44% männlich; vgl. Kap. 4.1).

5.1.2 Erregerspektrum

Der Haupterreger der BM war, wie auch in anderen Studien aus Mitteleuropa, *S. pneumoniae* (62,9%, n = 21) [Katchanov et al. 2009, Schmidt et al. 2006b, Weisfelt et al. 2006a]. Der Anteil der Meningitiden, die durch *L. monocytogenes* (n = 5) verursacht worden waren, lag in unserem Kollektiv über denen aus anderen Studien. Der Anteil der Meningitiden, die durch *N. meningitidis* (n = 2) verursacht worden waren, war niedriger [Katchanov et al. 2009, Weisfelt et al. 2008] (vgl. Kap. 4.1.2). Auch dies lässt sich durch die Altersstruktur der hier untersuchten Patienten mit BM erklären, denn Meningitiden mit *N. meningitidis* überwiegen in der Gruppe älterer Kinder und jüngerer Erwachsener. In anderen Studien konnte auch ein Anstieg der Infektionsrate mit *L. monocytogenes* im höheren Lebensalter nachgewiesen werden [Domingo et al. 2013, Thigpen et al. 2011].

Bei den VM wird im klinischen Alltag nur für die behandelbaren Viruserreger, also das Varizella-Zoster- und Herpes-Simplex-Virus, ein Erregernachweis durchgeführt. Dies erklärt deren Hauptanteil von 63,7% am Erregerspektrum der untersuchten Patienten mit VM (vgl. Kap. 4.1.2). Andere, z. B. durch eine Adeno- oder Enterovirusinfektion (Coxsackie- und Echoviren) hervorgerufene VM wurden somit nicht differenziert. Es ist anzunehmen, dass die VM ohne Erregernachweis durch diese Erreger hervorgerufen worden waren. Dies lässt sich auch in der Häufigkeitsverteilung der viralen Erreger für Meningitiden ablesen, die das Landesuntersuchungsamt in Hannover in einer großen Überwachungsstudie erhoben hat [Niedersächsisches Landesgesundheitsamt, MERIN-Studie]. Eine differenzierte Diagnostik weiterer viraler Erreger ist sehr kostspielig, wäre aber für zukünftige Studien wünschenswert.

5.1.3 Klinische Symptomatik der Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis

Betrachtet man nur das Vorhandensein von Kopfschmerzen, Meningismus, Fieber und Vigilanzminderung, so wiesen weniger unserer Patienten mit einer BM bei Aufnahme diese Symptome auf, als in der Literatur erwähnt [van de Beek et al. 2004]; jedoch immer noch die Hälfte der Patienten mit BM. Patienten mit einer VM präsentierten sich häufiger mit Kopfschmerzen und Fieber (vgl. Kap. 4.1.3). Die klassische Trias aus Meningismus, Fieber und Vigilanzminderung findet sich in der Literatur bei 60% der Patienten mit BM, in unserem Kollektiv konnte diese Trias nur bei sechs Patienten mit BM nachgewiesen werden [Proulx et al. 2005, van de Beek et al. 2004]. Eine diagnostische Hilfestellung war hierdurch nicht gegeben. Im Vergleich zu anderen Studien wiesen unsere Patienten mit BM und VM häufiger eine Hirnnervenbeteiligung auf [Kastenbauer und Pfister 2003].

Eine Vigilanzminderung bei Aufnahme konnte bei Patienten mit BM im Vergleich zu Patienten mit VM häufiger nachgewiesen werden (BM: n = 18, VM: n = 2). Dies kann als Hinweis gewertet werden, dass sich Patienten mit BM bei Aufnahme klinisch kränker präsentierten. Auch im Vergleich der weiteren klinischen Daten (Temperatur, GCS bei Aufnahme, Aufenthaltsdauer und modifizierter Bohr-Score bei Entlassung) ergab sich ein vergleichbares Bild.

Der Weisfelt-Score korrelierte signifikant mit dem Bohr-Score (vgl. Kap. 4.1.3). Dies kann als Bestätigung verstanden werden, dass der Weisfelt-Score in der Praxis einen prognostischen Wert für die BM darstellen kann [Bohr et al. 1984, Weisfelt et al. 2008].

Wie angenommen, konnte für alle betrachteten Routine-Liquor-Parameter ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten mit VM und BM im Vergleich zu der Kontrollgruppe festgestellt werden. Bei Patienten mit BM waren die Parameter am stärksten pathologisch verändert (vgl. Kap. 4.1.5). Vor allem in Kombination ist hierdurch eine Differenzierung der Meningitiden in bakterielle und virale Genese noch vor endgültigem Erregernachweis möglich [Jung et al. 2011].

5.2 Methodik der Aquaporinmessung

Da in der klinischen Routine der Transport und die Lagerung der Liquorproben nicht unter standardisierten Bedingungen erfolgte, wurden Messungen zur Stabilität von AQP1_{CSF} und AQP4_{CSF} unter verschiedenen Temperaturbedingungen und nach unterschiedlichen Einfrier- und Auftauvorgängen durchgeführt. Die Untersuchungen zeigten, dass weder die Lagerungstemperatur noch mehrfaches Einfrieren und Auftauen einen signifikanten Einfluss auf die AQP1_{CSF}-Konzentrationen hatten. Aufgrund der geringen Probenanzahl konnte dies nur bedingt für AQP4_{CSF} bestätigt werden (vgl. Kap. 4.2.1 und 4.2.2).

Die Verdünnungsechtheit des ELISA-Assays konnte für AQP1_{CSF} bis zu einer Verdünnung von 1:50 nachgewiesen werden (vgl. Kap. 4.2.3). Die Messung der AQP1_{CSF}-Konzentrationen für höhere Verdünnungen war ungenau. Anhand der uns vorliegenden Patienten-Liquores konnte die Verdünnungsechtheit des ELISAs für die AQP4_{CSF}-Konzentrationen hingegen nicht gezeigt werden, da bereits unverdünnt alle gemessenen Konzentrationen nahe an der unteren Nachweisgrenze des ELISAs lagen. Für die Messwerte mit seriell verdünnter AQP1- und AQP4-Standardlösung wurde eine Verdünnungsechtheit bis zu einer Konzentration von 0,156 ng/ml reproduzierbar gezeigt. Dies entspricht den Angaben des Begleitheftes der ELISAs.

Sowohl für AQP1 als auch für AQP4 stellten wir eine Interassay-Varianz der optischen Dichte der Eichkurve fest. Hierfür ließ sich kein methodischer Fehler bei der Durchführung der ELISAs finden. Die wahrscheinlichste Erklärung für dieses Phänomen ist eine variierende Beschichtung der Messplatte mit dem Primärantikörper.

Der verwendete ELISA basiert auf Antikörpern gegen AQP1 bzw. AQP4, mit dem sowohl die Tetramere als auch die Monomere der APQs nachgewiesen werden können. Zur genaueren Differenzierung der Anteile wäre hier die Durchführung eines Western Blots mit Bestimmung der Proteingröße, unter der Annahme, dass sich ihre Anteile zwischen den Gruppen nicht unterscheiden, empfehlenswert. Zudem müsste berücksichtigt werden, dass auch bei Verwendung eines Western Blots aufgrund von Denaturierung möglicherweise nur die Monomere gemessen würden.

5.3 Ergebnisse der Aquaporinmessung

5.3.1 Nachweis von Aquaporin 1 und Aquaporin 4 im Liquor und Serum

Wir konnten zeigen, dass in beiden Krankheitsgruppen und in der Kontrollgruppe AQP1 und AQP4 im Liquor nachweisbar waren. Bei den Patienten mit BM und in der Kontrollgruppe gelang dieser Nachweis auch im Serum.

Im Kruskal-Wallis-Test zeigte sich im Hinblick auf eine differenzialdiagnostische Wertigkeit der untersuchten Proteine für die AQP1_{CSF}-Konzentrationen ein signifikanter Unterschied zwischen den drei verglichenen Gruppen (Patienten mit BM und VM und der Kontrollgruppe; AQP1_{CSF}: $p = 0,0001$). Für die AQP4_{CSF}-Konzentrationen fand sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen allen drei vergleichenden Gruppen (AQP4_{CSF}: $p = 0,035$, Kruskal-Wallis-Test). In der Posthoc-Analyse fand sich nur für AQP1 im Liquor ein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Patienten mit BM und der Kontrollgruppe (vgl. Kap. 4.4.1). Eine signifikante Unterscheidung zwischen den Patienten mit BM und VM war mittels der AQP-Bestimmung nicht möglich, so dass die Bestimmung von AQP1 im Liquor zum aktuellen Zeitpunkt keine Methode zur Differenzialdiagnose zwischen BM und VM darstellt.

Die Konzentrationen von AQP4_{CSF} lagen bei 43% der Patienten mit BM, bei 41% der Patienten mit VM und bei 63% der Kontrollen unterhalb des Messbereiches des ELISAs ($p = 1,0$, Chi²-Test, vgl. Kap. 4.4.4). Es wird postuliert, dass eine AQP4-Überexpression das zytotoxische Hirnödeme verstärkt [Manley et al. 2004, Papadopoulos und Verkman 2007, Yang et al. 2008]. Ein möglicher Grund wäre demnach bei den Patienten ohne Nachweis von AQP4 im Liquor ein kaum vorhandenes Hirnödeme, vergleichbar mit den Ergebnissen bei AQP4-knock-out-Mäusen [Manley et al. 2000, Papadopoulos und Verkman 2007] (vgl. Kap. 1.7.1 und 1.7.3).

Wir konnten bei den Patienten mit BM weder eine Korrelation von AQP1, noch von AQP4 mit dem Schweregrad des Hirnödems feststellen. Aufgrund geringer Patientenzahlen in den einzelnen Untergruppen, ist dieser Vergleich nur eingeschränkt verwertbar (vgl. Kap. 4.4.7). Eine quantifiziertere und genauere Bestimmung zum Ausmaß eines Hirnödems und der Hirnödemeformen konnte aufgrund von Limitierungen in der Bildgebung (CT- und MRT-Untersuchung ohne diffusionsgewichtete/hirnödeme-

spezifische Sequenzen) nicht vorgenommen werden. Anhand der vorliegenden Daten lässt sich der oben dargestellte Erklärungsansatz nicht abschließend klären.

Eine noch sensitivere Bestimmung der AQP-Konzentrationen im unteren Messbereich ist für die Zukunft wünschenswert, um auch hier eine genauere Differenzierung zu ermöglichen. In zukünftigen Studien sollte eine größere Kontrollgruppe gewählt werden, damit eine genauere Einordnung der Messergebnisse erfolgen kann. Die Zusammenstellung von Patienten für eine Liquorkontrollgruppe würde sich hierbei jedoch als schwierig erweisen, da nach aktuellem Kenntnisstand bisher keine bzw. nur wenige Forschungsergebnisse zu AQP-Konzentrationen bei Patienten mit anderen neurologischen Symptomen, wie z.B. Kopfschmerzen, oder den physiologischen AQP-Konzentrationen und deren Spannweite vorliegen. Mögliche Einflussfaktoren auf den Nachweis von AQP im Liquor bei Patienten mit Meningitis sollten in Zukunft in weiteren Studien untersucht werden.

5.3.2 Aquaporin 1 und Aquaporin 4 in Abhängigkeit von der Patientenstruktur

Der Altersunterschied zwischen den drei Patientengruppen war signifikant, wobei die Patienten mit BM das höchste Durchschnittsalter hatten (vgl. Kap. 4.1.1). Bei Ratten konnte gezeigt werden, dass mit dem Alter die Anzahl der Mikrovilli des Plexus choroideus abnimmt und es infolgedessen zu einer signifikanten Reduktion von AQP1-mRNA, und somit von AQP1, im Plexus choroideus kommt [Masseguin et al. 2005]. Die bei den Patienten mit BM gemessene Erhöhung der AQP1-Konzentration lässt sich aufgrund dieser Forschungsergebnisse nicht auf das Alter zurückführen. Im Falle eines Einflusses des Alters wäre eine Abnahme der AQP1-Konzentrationen mit zunehmendem Alter zu erwarten gewesen. Eine signifikant positive Korrelation zwischen der AQP1_{CSF}-Konzentration und dem Patientenalter fand sich in der Kontrollgruppe ($r = 0,402$, $p = 0,038$, vgl. Kap. 4.4.6). Diese Beobachtung widerspricht den Forschungsergebnissen an Ratten [Masseguin et al. 2005]. Das Alter der Patienten mit VM lag unter denen der Kontrollen, und dennoch waren die gemessenen AQP1_{CSF}-Konzentrationen höher. Daher ist anzunehmen, dass dem Patientenalter ein geringerer Einfluss auf die Messergebnisse zuzuschreiben ist als den pathologischen Prozessen, die während der VM selber ablaufen.

Die Geschlechterverteilung innerhalb unserer Gruppen war nicht ausgewogen. Es fand sich aber weder für die AQP1_{CSF}- noch für AQP4_{CSF}-Konzentrationen ein geschlechtsspezifischer Unterschied zwischen den betrachteten Gruppen (vgl. Kap. 4.3.1.1, 4.3.2.1 und 4.3.3). Diese Ergebnisse decken sich mit experimentellen Daten für AQP4 bei zerebraler Ischämie [Liu et al. 2008]. Auch in klinischen Beobachtungsstudien zur BM ergaben sich keine geschlechtsspezifischen Unterschiede hinsichtlich Morbidität und Mortalität. Das Geschlecht konnte nicht als unabhängiger Risikofaktor identifiziert werden [Bohr et al. 1985, Weisfelt et al. 2008].

Die Patienten mit VM wurden als eine nicht weiter nach Erregern differenzierte Gruppe betrachtet. Patienten, bei denen klinisch eine Enzephalitis, als auch Patienten, bei denen lediglich eine Meningitis vorlag, wurden gemeinsam betrachtet (vgl. Kap. 4.3.2). Die Konzentrationen für AQP1_{CSF} wiesen im Vergleich der einzelnen Untergruppen miteinander im Kruskal-Wallis-Test keinen signifikanten Unterschied auf (AQP1: $p = 0,806$). Auch die AQP4_{CSF}-Konzentrationen der Untergruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (AQP4: $p = 0,699$, Kruskal-Wallis-Test). Zu erwarten wäre aus der klinischen Erfahrung heraus, dass sich bei den Patienten mit einer durch HSV oder VZV verursachten VM und bei den Patienten mit viraler Enzephalitis ein stärkeres Hirnödem entwickelt hätte [Meyding-Lamadé 2010b] und sich somit die AQP_{CSF}-Konzentrationen von denen der Patienten mit VM ohne enzephalitische Beteiligung unterscheiden würden. Diese Hypothese ließ sich aber auf dem Boden der gewonnenen Ergebnisse nicht bestätigen. Ein Grund hierfür könnte die kleine Gruppenstärke in den einzelnen Untergruppen der Patienten mit VM sein, die keine signifikant statistische Aussage zulässt. Ebenfalls zu erwägen ist eine interindividuelle Expression auf den Zellen und Freisetzung der Kanäle in den Liquor sowie eine zeitliche Dynamik bei Abschilferung und Zelluntergang. Dies konnte in unserer punktuellen Liquoranalytik nicht erfasst werden.

5.3.3 Ursprungsort der gemessenen Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Konzentrationen im Liquor

Grundsätzlich muss diskutiert werden, ob es sich bei den höheren Konzentrationen von AQP1 und AQP4 im Liquor bei Patienten mit BM (und auch in geringerem Umfang bei Patienten mit VM) ursächlich entweder

1. um einen Übertritt aus dem Serum durch Diffusion oder bei gestörter BHS bzw. BLS,
2. um eine erhöhte Syntheserate im ZNS oder
3. um eine vermehrte Abschilferung (*shedding*) in den Liquor und/oder eine vermehrte Freisetzung durch Zelluntergang, z. B. im Rahmen der Inflammation, handelt.

1. Im Vergleich der Liquor- und Serumkonzentrationen von AQP1 und AQP4 in der Gruppe der Patienten mit BM und in der Kontrollgruppe nur für AQP1 lassen sich für die Kontrollgruppe signifikant höhere Mittelwerte für AQP1 im Serum nachweisen. In der Kontrollgruppe liegt eine signifikante Korrelation der AQP1-Konzentrationen zwischen Liquor und Serum vor (vgl. Kap. 4.3.3). Diese Ergebnisse sprechen für einen Übertritt über die BHS bzw. BLS anhand eines Konzentrationsgefälles im physiologischen Zustand.

Es findet sich eine positive Korrelation des Liquor-/Serum-Quotienten für AQP1 mit dem Liquor-/Serum-Quotienten für Albumin in der Kontrollgruppe (vgl. Kap. 4.4.2). Betrachtet man die Gruppe der Patienten mit VM, so ließ sich ebenfalls eine Korrelation von AQP1 zu Q_{Albumin} nachweisen (die Bestimmung von Q_{AQP1} war nicht möglich). Diese Korrelation konnte jedoch für AQP1 und Q_{Albumin} bei Patienten mit BM nicht beobachtet werden (vgl. Kap. 4.4.6). Aufgrund der stärkeren Ausprägung der Schrankenstörung bei Patienten mit BM wäre eine Korrelation von AQP1 und Q_{Albumin} zu erwarten gewesen.

Die Molekülmasse von Albumin beträgt 69 kDa [Jelkmann 2005], die eines AQP1- bzw. AQP4-Monomers ist mit 28 kDa bzw. 32 kDa kleiner und eine Diffusion wäre somit leichter möglich (vgl. Kap. 1.6) [King und Agre 1996, Neely et al. 1999, Preston und Agre 1991]. Die Aquaporine liegen jedoch in der Regel als Tetramere mit entsprechend größerer Molekülmasse vor [Zador et al. 2009], so dass für den Durchtritt eines Tetramers eine stärkere Störung der BLS für einen Übertritt zu diskutieren ist.

Neben der Molekülmasse muss auch der hydrodynamische Durchmesser bei Diffusion von AQP1 und AQP4 über die BLS berücksichtigt werden. Die genaue Anordnung und Funktionsweise der AQP1- und AQP4-Monomere als Tetramere mit stabilisierenden hydrophoben Verbindungen zur Lipidschicht und polarisierenden extramembranären Anteilen ist hoch komplex und aktuell noch Bestandteil der Forschung. Insbesondere bei AQP4 erscheint erst die Interaktion von fünf Tetrameren zur vollen Funktionsfähigkeit beizutragen [Andrews et al. 2008, Ren et al. 2001]. Die beschriebenen stabilisierenden Mechanismen würden einen Durchtritt der Aquaporine sowohl für die Monomere als auch die Tetramere durch die BLS bei bestehender Integrität nur schwer möglich erscheinen lassen. Welcher Durchmesser der dreidimensionalen Struktur der Aquaporine der entscheidende für einen möglichen Durchtritt durch die BLS ist, lässt sich anhand der bisher vorliegenden Daten nicht klären (vgl. Kap. 1.6).

Eine Reduktion der Liquorflussgeschwindigkeit als wichtigster Mechanismus für eine Erhöhung der Liquorproteine durch Diffusion aus dem Serum, wie durch Reiber beschrieben, ist ein weiterer entscheidender Mechanismus, der berücksichtigt werden muss. Im Unterschied zu älteren Theorien der Schrankenfunktionsstörung bleibt hier die Integrität der BLS jedoch erhalten [Reiber 1994]. Je größer ein Molekül ist, desto mehr Zeit wird benötigt, bis sich ein Diffusionsgleichgewicht eingestellt hat [Reiber 2006]. Unsere Messungen erfolgten jedoch alle aus Liquorproben, welche zu Beginn der Erkrankung entnommen worden waren, serielle Vergleiche wurden nicht durchgeführt. Zur Klärung welcher Anteil des AQP1 bzw. AQP4 aus dem Liquor stammt und welcher mittels Diffusion ins ZNS gelangte, erscheint die Berechnung eines entsprechenden Reiber-Felgenhauer-Nomogramms für eine große gesunde Kontrollgruppe sinnvoll [Felgenhauer 1974]. Ebenso sind weitere Forschungen zur Liquorflussrate und der Interaktion von Aquaporinen und der BLS notwendig, um diese Frage beantworten zu können.

Zusammenfassend wäre eine Diffusion von AQP1 und AQP4 möglich, erscheint aber nicht der primäre Mechanismus der gemessenen Konzentrationserhöhung im Liquor zu sein und bedarf weiterer (molekularchemischer) Forschungen.

2. Eine erhöhte Syntheserate von AQP1 und AQP4 im ZNS kommt bei Patienten mit BM als weitere Ursache einer Konzentrationserhöhung in Betracht. Für AQP4 konnte für die experimentelle BM eine gesteigerte Syntheserate nachgewiesen werden [Papadopoulos und Verkman 2005]. Für AQP1 liegen hierzu bisher keine Forschungsergebnisse vor. AQP1 wird eine entscheidende Rolle bei der Liquorproduktion im Plexus choroideus zugeschrieben [Brown et al. 2004, Yool 2007, Zador et al. 2009] und trägt über eine Zunahme der Gesamtfüssigkeitsmenge zur Entstehung eines Hirnödems bei [Yool 2007]. Da das Hirnödem bei der BM prognostisch entscheidend ist, könnte eine gesteigerte Syntheserate von AQP1 im Plexus choroideus für die Hirnödemenese eine bedeutsame Rolle spielen.

Analog zu den Antikörperindices von infektiösen ZNS-Erkrankungen berechneten wir AQP1-Indices. Sowohl in der Kontrollgruppe als auch bei den Patienten mit BM weisen die deutlich erhöhten Indices auf einen Ursprung des gemessenen AQP1 im ZNS hin (vgl. Kap. 4.4.3) [Reiber 2006].

3. Durch Abschilferung von AQP1-exprimierenden Zelloberflächen und durch Zerstörung im Rahmen des entzündlichen Geschehens kann das Vorhandensein von AQP im Liquor erklärt werden. Bei der BM kommt es durch die Entzündung zur Apoptose und Nekrose von Hirnzellen [Barichello et al. 2009, Coimbra et al. 2006, Koedel et al. 2009, Spreer et al. 2009]. Im Rahmen dieses Zelluntergangs ist eine Abgabe von AQP1 in den Liquor möglich und könnte die gemessenen AQP1-Konzentrationen erklären. AQP1 wird besonders in Zellen des Plexus choroideus exprimiert, so dass eine Schädigung in diesem Bereich mit berücksichtigt werden müsste.

Die Hauptloci für AQP4 im ZNS sind weiter vom Liquorsystem entfernt als jene von AQP1 [Arciénega et al. 2010, Manley et al. 2004, Nagelhus et al. 2004, Papadopoulos und Verkman 2007, Zador et al. 2009]. Eine Erhöhung der AQP4-Expression, eine Abschilferung von AQP4 aus der Zellwand oder eine Freisetzung von AQP4 durch Zellnekrosen sind somit generell schwerer im Liquor zu erfassen. An den Meningen selber wurde bisher kein AQP4 nachgewiesen [Manley et al. 2004], so dass die AQP4-Erhöhung nicht primär als Reaktion auf die Entzündung der Meningen bei der BM zurückzuführen ist. Die AQP4-Erhöhung ist allenfalls als Resultat der Fernwirkung der Inflammation anzusehen.

Bei den AQPs handelt es sich um transmembranöse Proteine und bisher ist kein Mechanismus einer Abgabe in das Serum oder den Liquor ohne die Zerstörung entsprechender Zellen bekannt. Dies würde bedeuten, dass es auch im Falle einer erhöhten AQP1- oder AQP4-Synthese im ZNS immer zu einer Zellschädigung mit konsekutivem Anstieg der gemessenen Konzentration im Liquor kommen müsste.

Als weitere Ursache der gemessenen AQP1-Erhöhung in den Liquores wäre auch eine artifizielle Verunreinigung der Proben mit Blut bei der Punktion durch Hämolyse denkbar. Insbesondere für AQP1, da dieses auf Erythrozyten nachgewiesen wurde [Preston und Agre 1991]. Eine Erhöhung der AQP1-Konzentration ließ sich jedoch in allen drei Gruppen auch bei Patienten nachweisen, bei denen keine Erythrozyten in der Liquorprobe nachzuweisen waren. Einschränkend ist allerdings festzustellen, dass die AQP1-Konzentrationen in Proben mit Erythrozytennachweis in der Gruppe der Patienten mit VM im Vergleich zu erythrozytenfreien Proben signifikant höher waren (vgl. Kap. 4.4.4).

Eine Beeinflussung der Messergebnisse durch freigesetztes AQP1 in Rahmen einer Hämolyse von Erythrozyten ist in der Kontrollgruppe jedoch unwahrscheinlich.

Der genaue Ursprungsort von AQP1 und AQP4 im Liquor kann in dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden. Alle drei aufgezeigten Mechanismen (Diffusion über die BLS, lokale Synthese und Abschilferung von Zellen) kommen ursächlich in Frage, könnten aber auch nebeneinander bestehen und sich gegenseitig beeinflussen. Welcher Mechanismus den entscheidenden Faktor zur gemessenen AQP-Freisetzung leistet, ist mit den hier verwendeten Methoden nicht festzustellen. Aufgrund der erhobenen Daten ergeben sich Hinweise, dass es sich um einen lokalen Ursprung von AQP1 und AQP4 im ZNS handelt. Um dies zu klären, müsste auf ein Tiermodell zurückgegriffen werden.

5.3.4 Aquaporin 1 und Aquaporin 4 in Bezug auf laborchemische Parameter und klinische Scores

Die Erhöhung von AQP1 bei den Patienten mit BM korreliert weder mit dem klinischen Schweregrad der BM bei Aufnahme noch mit den erhobenen Scores für das Behandlungsergebnis und den laborchemischen Parametern (vgl. Kap. 4.4.6). Zum aktuellen Zeitpunkt ist somit keine Einschätzung zur Schwere oder Prognose der BM anhand der AQP1- und auch der AQP4-Konzentrationen im Liquor möglich.

Bei den Patienten mit VM ließ sich ebenfalls keine Korrelation zwischen den AQP_{CSF}-Konzentrationen und den klinischen Scores herstellen. Bei den laborchemischen Parametern zeigte sich jedoch eine Korrelation von AQP1_{CSF} zur CRP-Konzentration als mögliches Zeichen der Schwere der Entzündungsreaktion, zu Q_{Albumin} als mögliches Zeichen einer Schrankenfunktionsstörung und zu Q_{IgG} als möglichen Hinweis auf eine autochthone Synthese und schlechteres neurologisches Behandlungsergebnis (vgl. Kap. 4.4.6) [Lackner et al. 2010, Reiber et al. 2006].

Aufgrund dieser Beobachtungen ist nicht auszuschließen, dass die AQP1- und AQP4-Messungen im Liquor bei Patienten mit BM und VM nach einer Verbesserung der Sensitivität der Assays in Zukunft im Vergleich zu Normwerten auch Rückschlüsse auf das Ausmaß der Entzündung und ggf. auch auf die Prognose zuließen.

Ob es im Verlauf der BM zu einer Veränderung der AQP-Konzentrationen im Liquor oder Serum der Patienten kommt, und ob eine Korrelation mit dem klinischen Bild der Erkrankten besteht, wurde nicht untersucht. Hierzu wären (ethisch schwer zu rechtfertigende) Messungen in sequentiellen Liquorentnahmen notwendig.

5.3.5 Bedeutung für das Hirnödem

Die Ausprägung eines Hirnödems konnte nicht durch die Bestimmung der AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen verifiziert werden (vgl. Kap. 4.4.7). Die genaue Quantifizierung des Hirnödems wäre z. B. im Tiermodell mittels Dehydratation möglich [z.B. *dry weight method*, nach Elliott und Jasper 1949]. Eine Korrelation des Ausmaßes und der Form des Hirnödems zu AQP1- bzw. AQP4-Konzentration im Liquor bleibt im Tiermodell zu erforschen.

Für die Liquorkonzentrationen von AQP1 und AQP4 bei Patienten mit BM konnten wir eine signifikante inverse Korrelation nachweisen (vgl. Kap. 4.3.1). Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass AQP1 eher an der Produktion des Liquors, AQP4 aber eher für dessen Resorption verantwortlich ist [Papadopoulos und Verkman 2007, Manley et al. 2004]. Eine Interaktion von AQP1 und AQP4 im Rahmen der Hirnödementwicklung oder auch im Rahmen eines entzündlichen Geschehens im ZNS wäre demnach durchaus möglich. Ob Interaktionen zwischen den einzelnen AQP-Unterformen bestehen und wie diese möglicherweise reguliert werden, ist bisher noch nicht erforscht.

In bisher durchgeführten experimentellen Studien wurden Änderungen der Funktion von AQP4 im Verlauf der Hirnödementwicklung und –resorption nachgewiesen. Hirt et al. zeigten, dass eine frühe AQP4-Expression zu einer geringeren Ausprägung des zytotoxischen Hirnödems führte [Hirt et al. 2009]. Andererseits war eine AQP4-Überexpression mit einer Zunahme des Ödems vergesellschaftet [Manley et al. 2004, Papadopoulos und Verkman 2007, Yang et al. 2008]. AQP4 werden gegenläufige Effekte beim vasogenen Hirnödem zugeschrieben [Manley et al. 2004]. Bisher haben sich experimentelle Studien bei der BM auf AQP4 konzentriert. Um die gefundenen Ergebnisse, insbesondere die höheren Konzentrationen von AQP1 und eine mögliche Interaktion von AQP1 und AQP4 besser verstehen und einordnen zu können, sind weitere experimentelle Studien vor allem zu AQP1 notwendig.

In dieser Arbeit konnte aus methodischen Gründen nicht untersucht werden in welcher Phase sich das Hirnödem zum Zeitpunkt der Liquorentnahme befand. Eine Korrelation zwischen Symptombdauer und AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen konnte nicht festgestellt werden. Der gezeigten inversen Korrelation könnte dennoch eine zeitliche Abfolge der Konzentrationsmaxima von AQP1 und AQP4 im Liquor bei der BM zu Grunde liegen. Aufgrund der zu geringen Fallzahl in dieser Arbeit konnte dies nicht abschließend geklärt werden.

5.4 Ausblick: Aquaporin 1 und Aquaporin 4 und neue Behandlungsmöglichkeiten des Hirnödems

Neue Behandlungsmethoden des Hirnödems werden derzeit intensiv beforscht. Für (Nicht-Peptid) Arginin-Vasopressin-Antagonisten (Vaptane), die selektiv für Vasopressin V1 sind und eine Internalisation von AQP4 bewirken, zeigte sich ein positiver Effekt auf die Entwicklung des Hirnödems bei experimentellem ischämischen Schlaganfall [Lui et al 2009] und bei experimenteller traumatischer Hirnverletzung [Trabold et al. 2008]. Aus der Gruppe der Vaptane ist das Conivaptan für die Behandlung der hyponatriämischen Euvolämie in den USA zugelassen [Wright et al. 2009]. Bei dieser Erkrankung entwickelt sich in der Pathogenese ein (überwiegend) zytotoxisches Hirnödem, das die Prognose bestimmt [Sterns und Silver 2006, Verkman et al. 2006]. Die Vaptane könnten auch bei der BM eine vielversprechende Therapieoption darstellen. Im Mausmodell zur BM überwiegt ebenfalls das zytotoxische Hirnödem mit Überexpression von AQP4 und verbunden mit einer ungünstigen Prognose [Papadopoulos und Verkman 2005].

Für das vasogene Hirnödem erscheint hingegen eine vermehrte AQP4-Expression protektiv zu sein [Manley et al. 2004, Yang et al. 2008] und auch bei der Resorption des Hirnödems spielt AQP4 eine wichtige Rolle [Manley et al. 2004, Papadopoulos und Verkman 2007, Papadopoulos et al. 2004, Verkman et al. 2006], so dass hier die Vaptane therapeutisch keine Rolle spielen dürften.

Die Anwendung eines Vaptans müsste somit in Abhängigkeit des optimalen Zeitpunkts des Hirnödems, bzw. der spezifischen Hirnödemform im Verlauf der Erkrankung erfolgen. Die angesprochenen Tierexperimente wären daher von großer klinischer Bedeutung.

Eine therapeutische Beeinflussung von AQP1 ist hingegen anders als bei AQP4 bisher nicht (sicher) möglich.

Für die Praxis wäre es wichtig, eine sichere und schnelle Methode zur Erfassung der Art des Hirnödems, z.B. mittels magnetresonanztomografischer Bildgebung, zu entwickeln. Über Fortschritte in der Differenzierung von vasogenen und zytotoxischen Hirnödemen mittels eines diffusionsgewichteten Magnetresonanztomogramms ist berichtet worden [Citton et al. 2009, Kiroğlu et al. 2006, Sener 2001]. Die Messung von AQP im Liquor von Patienten stellt möglicherweise eine weitere dazu komplementäre

Möglichkeit dar. Im Vorfeld sollten jedoch die bisher gefundenen Ergebnisse der AQP1- und AQP4-Konzentrationserhöhung im Liquor bei Patienten mit BM reproduziert werden. Eine eindeutige Zuordnung zwischen AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentration und dem vasogenen bzw. zytotoxischen Hirnödem sowie dem Zeitpunkt des Ödems (hinsichtlich Entwicklung und Resorption) ist ebenfalls noch zu untersuchen.

AQP9 wurde in den Untersuchungen nicht bestimmt. Die Bedeutung bei verschiedensten neurologischen Erkrankungen, wie z. B. dem ischämischen Schlaganfall oder dem Morbus Parkinson, wird erforscht. Für die BM liegen noch keine Studien vor. Es gibt Anzeichen, dass auch AQP9 eine Rolle bei der Hirnödementstehung und -resorption sowie der Energiehomöostase spielt [Badaut 2010]. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse sollte AQP9 in zukünftigen Arbeiten ebenfalls untersucht werden.

5.5 Ergebnisse der neuropsychologischen Nachuntersuchungen

Das Kollektiv für die neuropsychologische Testung umfasste aufgrund der geringen Inzidenz der BM bei gleichzeitig hoher Morbidität und Mortalität und der gewählten Ausschlusskriterien jeweils nur acht Personen (vgl. Kap. 3.4.2 und 4.5.1), so dass statistisch sichere Vergleiche und Korrelationen nicht möglich sind.

Die Lebensqualität der Patienten, die an einer BM erkrankt waren, war signifikant schlechter. In den Fragebögen zur Depressivität konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (vgl. Kap. 4.5.2). Ähnliche Ergebnisse wurden auch schon in anderen Arbeiten beschrieben [Schmidt et al. 2006b]. Die Schlafqualität der Patienten mit BM war signifikant schlechter. Besonders auffällig war, dass sechs der Patienten im pathologischen Bereich (≥ 5) lagen, hingegen niemand aus der Kontrollgruppe. Diese Beobachtung deckte sich mit den Ergebnissen von Schmidt et al., die sowohl für Patienten mit BM als auch VM eine schlechtere Schlafqualität nach durchgemachter Meningitis festgestellt hatten [Schmidt et al. 2006a].

Alle weiteren Ergebnisse der Fragebögen wiesen keine Unterschiede zwischen den Patienten mit BM und der Kontrollgruppe auf.

Die Auswertung der kognitiven Tests ergab ein signifikant schlechteres Ergebnis im Vergleich der z-Werte für die frontalen Exekutivfunktionen der Patienten nach BM im Vergleich zur Kontrollgruppe (vgl. Kap. 4.5.3). Frühere Arbeiten wiesen diese Beeinträchtigung nach BM ebenfalls nach [Schmidt et al. 2006b, van de Beek et al. 2002].

Eine Korrelation zwischen den z-Werten und den Konzentrationen für AQP1 und AQP4 fanden wir nicht. Für den HADS-Depression und den PSQI ließen sich signifikant negative Korrelationen zu den AQP1_{CSF}-Konzentrationen nachweisen. Ob hier ein relevanter Zusammenhang besteht und inwieweit die Entwicklung und Ausprägung eines Hirnödems, bzw. die AQP1_{CSF}-Konzentration von Bedeutung sind, kann aus den vorliegenden Daten nicht abgeleitet werden, zumal das Kollektiv der getesteten Personen sehr klein war.

Die Komplikationen bei der BM sind schwerwiegend und viele Patienten weisen Residualzustände auf [Dzupova et al. 2009, Katchanov et al. 2009, Østergaard et al. 2005, Pfister et al. 1993, van de Beek et al. 2004, Weisfelt et al. 2006]. Die Inzidenz der BM erschwert es, eine ausreichend große und definierte Gruppe für die Durchführung neuropsychologischer Tests aufzustellen. Aufgrund dieser Überlegungen erscheint es sinnvoll, den Hauptfokus in zukünftigen Studien auf einen möglichen Zusammenhang zwischen den AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen, der klinischen Residualsymptomatik und den laborchemischen Veränderungen der Patienten in der Akutphase zu richten.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit konnte erstmalig gezeigt werden, dass Aquaporin 1 und Aquaporin 4 im Liquor (und Serum) von Patienten mit einer bakteriellen und viralen Meningitis sowie in einer Kontrollgruppe nachweisbar sind. Der Ursprung der gemessenen Aquaporine bei Patienten mit Meningitis lässt sich im Wesentlichen auf drei mögliche Mechanismen zurückführen: Diffusion von Aquaporinen über die Blut-Liquor-Schranke, erhöhte Syntheseraten der Aquaporine im Zentralen Nervensystem sowie Zelloptosen/-nekrosen und Abschilferung von Zellen, die Aquaporine exprimieren. Der Diffusion aus dem Serum wird eine untergeordnete Rolle zugeschrieben.

Im Vergleich aller drei Gruppen (Patienten mit bakterieller und viraler Meningitis und einer Kontrollgruppe) fand sich im Kruskal-Wallis-Test ein signifikanter Unterschied für die Aquaporin 1-Konzentrationen im Liquor. In der Posthoc-Analyse konnte für die Aquaporin 1-Konzentrationen im Liquor ein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Patienten mit BM und der Kontrollgruppe festgestellt werden. Für die Aquaporin 4-Konzentrationen im Liquor ließ sich im Kruskal-Wallis-Test ebenfalls ein signifikanter Unterschied im Vergleich aller drei Gruppen nachweisen. Zum aktuellen Zeitpunkt lässt sich hieraus noch keine differenzialdiagnostische Bedeutung von Aquaporin 1 und Aquaporin 4 für die bakterielle Meningitis ableiten.

Eine inverse Korrelation besteht zwischen den Konzentrationen von Aquaporin 1 und Aquaporin 4 im Liquor bei Patienten mit bakterieller Meningitis. Als mögliche Ursache wurden unterschiedliche Konzentrationsmaxima im zeitlichen Verlauf der bakteriellen Meningitis diskutiert. Wir fanden keine Korrelationen der Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Konzentrationen im Liquor zu anderen klinischen, labor- und liquorchemischen Parametern bei den Patienten mit einer bakteriellen Meningitis.

Aufgrund der geringen Inzidenz der bakteriellen Meningitis in unseren geografischen Breiten ist die wissenschaftliche Klärung der Bedeutung von Aquaporin 1 und Aquaporin 4 für die Entwicklung, Ausprägung und Resorption eines Hirnödems sowie möglicher Behandlungsergebnisse nur in prospektiven multizentrischen Studien auf europäischer Ebene möglich. Eine zuverlässige und spezifische pharmakologische

Beeinflussung der Aquaporin 1- und Aquaporin 4-Expression und hierdurch möglicherweise auf die Prognose des Hirnödems ist bisher nicht sicher belegt. Aus zukünftig gewonnenen Erkenntnissen über die Aquaporine und ihrer Bedeutung in der Genese eines Hirnödems könnten sich aber hoffnungsvolle Therapieoptionen ergeben.

7 Literaturverzeichnis

1. Agre P, Kozono D (2003): Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett* 555, 72-78
2. Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP (2003): the molecular basis of water transport in the brain. *Nat Rev Neurosci* 4, 991-1001
3. Amiry-Moghaddam M, Lindland H, Zelenin S, Roberg B^Á, Gundersen BB, Petersen P, Rinvik E, Torgner IA, Ottersen OP (2005): Brain mitochondria contain aquaporin water channels: evidence for the expression of a short AQP9 isoform in the inner mitochondrial membrane. *FASEB J* 19, 1459-1467
4. Andrews S, Reichow SL, Gonen T (2008): Electron crystallography of aquaporins. *IUBMB Life* 60(7): 430-436. doi:10.1002/iub.53.
5. Arciénega II, Brunet JF, Bloch J, Badaut J (2010). Cell locations for AQP1, AQP4 and AQP9 in the non human primate brain. *Neuroscience* 167, 1103-1114
6. Aronin SI, Peduzzi P, Quagliarello VJ (1998): community-acquired bacterial meningitis: risk stratification for adverse clinical outcome and effect of antibiotic timing. *Ann Intern Med* 129:11, 862-869
7. Aschenbrenner S, Tucha O, Lange K: Regensburger Wortflüssigkeitstest. Swets and Zeitlinger Verlag, Lisse 2000
8. Badaut J (2010): Aquaglyceroporin 9 in brain pathologies. *Neuroscience* 168, 1047-1057
9. Badaut JM, Ashwal S, Tone B, Regli L, Tian HR, Obenaus A (2007): temporal and regional evolution of aquaporin-4 expression and magnetic resonance imaging in a rat pup model of neonatal stroke. *Pediatr Res* 62:3, 248-254
10. Barichello T, Silva GZ, Savi GD, Torquato JM, Batista AL, Scaini G, Rezin GT, Santos PM, Feier G, Streck EL (2009): brain creatine kinase activity after meningitis induced by *Streptococcus pneumoniae*. *Brain Res Bul* 80, 85-88
11. Bäuml G: Lern- und Gedächtnistest LGT-3. Hogrefe, Göttingen 1974
12. Beck A, Ward C, Mendelson M, Mock L, Erbaugh J (1961): An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 4, 561-571
13. Becker M, Sturm W, Willmes K, Zimmermann P (1996): Normierungsstudie zur

- Aufmerksamkeitstestbatterie (TAP) von Zimmermann und Fimm. *Zeitschr Neuropsychol* 1, 3-15
14. Bjelland I, Dahl AA, Haug TT, Neckelmann D (2002): The validity of the hospital anxiety and depression scale an updated literature review. *J Psychosom Res* 52, 69-77
 15. Bloch O, Papadopoulos MC, Manley GT, Verkman AS (2005): Aquaporin-4 gene deletion in mice increases focal edema associated with staphylococcal brain abscess. *J Neurochem* 95, 254-262
 16. Blocher J, Eckert I, Elster J, Wiefek J, Eiffert H, Schmidt H (2011): Aquaporins AQP1 and AQP4 in the cerebrospinal fluid of bacterial meningitis patients. *Neurosci Lett* 504(1): 23-7. doi: 10.1016/j.neulet.2011.08.049.
 17. Bohr V, Rasmussen N, Hansen B, Gade A, Kjersem H, Johnsen N, Paulson O (1984): Penumococcal meningitis: an evaluation of prognostic factors in 164 cases based on mortality and on a study of lasting sequelae. *J Infect* 10, 14-157
 18. Brinker T, Stopa E, Morrison J, Klinge P (2014): A new look at cerebrospinal fluid circulation. *Fluids and Barriers of the CNS* 11:10. doi:10.1186/2045-8118-11-10
 19. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D (2010a): Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 23:3, 467-492
 20. Brouwer MC, McIntyre P, de Gans J, Prasad K, van de Beek D (2010b): Corticosteroids for acute bacterial meningitis. *Cochrane Database Syst* 8;(9):CD004405. doi: 10.1002/14651858.CD004405.pub3.
 21. Brown PD, Davies SL, Speake T, Millart ID (2004): Molecular mechanisms of cerebrospinal fluid production. *Neuroscience* 129, 957-970
 22. Buysse D, Reynolds III C, Monk T, weitere (1989). The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 28:193–213
 23. Citton V, Toldo I, Calderone M, Sartori S, Manara R (2009): Early cortical cytotoxic edeme in meningococcal meningitis. *Pediatr Neurol* 41, 146-150
 24. Coimbra RS, Voisin V, de Saizieu AB, Lindberg ALP, Wittwer M, Leppert D, Leib SL (2006): Gene expression in cortex and hippocampus during acute pneumococcal meningitis. *BMC Biol* 4:15 doi:10.1186/1741-7007-4-15

25. Delis D, Freeland J, Kramer J, Kaplan E (1988): Integrating clinical assessment with cognitive neuroscience: construct validation of the California verbal learning test. *J Consult Clin Psychol* 56:1, 123-130
26. Detmers FJM, de Groot B, Müller EM, Hinton A, Konings IBM, Sze M, Flitsch SL, Grubmüller H, Deen PMT (2006): Quaternary ammonium compounds as water channel blockers. *J Biol Chem* 281:20, 14207-14214
27. Djukic M, Schmidt-Samoa C, Lange P, Spreer A, Neubieser K, Eiffert H, Nau R, Schmidt H (2012): Cerebrospinal fluid findings in adults with acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 259: 630-636
28. Domingo P, Pomar V, de Benito N, Coll P (2013): The spectrum of acute bacterial meningitis in elderly patients. *BMC Infect Dis* 13:108, 1471-2334
29. Durand ML, Calderwood SB, Weber DJ, Miller SI, Southwick FS, Caviness VS, Swartz MN (1993): Acute bacterial meningitis in adults: a review of 493 episodes. *N Eng J Med* 328:1, 21-28
30. Dzupova O, Rozsypal H, Prochazka B, Benes J (2009): Acute bacterial meningitis in adults: Predictors of outcome. *Scan J Infect Dis* 41:5, 348-354
31. Elliott KAC, Jasper H (1949): Measurement of experimentally induced brain swelling and shrinkage. *Am J Physiol* 157, 122-129
32. Felgenhauer K (1974): Protein size and cerebrospinal fluid composition. *Klin Wochenschr* 52: 1158-1164
33. Gruschka P: Hirntumoren. In *Neurologie*: Hrsg. v. Hacke W; 13. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg 2010, 291-341
34. Gunnarson E, Zelenina M, Aperia A (2004): Regulation of brain aquaporins. *Neuroscience* 129, 947-955
35. Härting C, Markowitsch H, Neufeld H, Calabrese P, Deisinger K, Kessler J: *Wechsler Gedächtnis Test Revidierte Fassung (WMS-R)*. Huber, Bern 2000
36. Hirt L, Ternon B, Price M, Mastour N, Brunet J-F, Badaut J (2009): Protective role of early aquaporin 4 induction against postischemic edema formation. *J Cereb Blood Flow Metab* 29, 423-433
37. Hladky SB and Barrand MA (2014): Mechanism of fluid movement into, through and out of the brain: evaluation of the evidence. *Fluids and barriers of the CNS* 11:26. doi:10.1186/2045-8118-11-26

38. Ho JD, Yeh R, Sandstrom A, Chorny I, Harries WEC, Robbins RA, Miercke LJW, Stroud RM (2009): Crystal structure of human aquaporin 4 at 1.8 Å and its mechanism of conductance. *Proc Natl Acad Sci USA* 106 (18): 7437-42. doi: 10.1073/pnas.0902725106.Epub 2009
39. Jarius S, Schwarting S, Schwarz A: Entwicklungsstörungen und Fehlbildungen des Nervensystems. In: *Neurologie*. Hrsg. v. Hacke W; 13. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg 2010, 763-784
40. Jelkmann W: Blut. In: *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. Hrsg. Schmidt RF, Lang F, Thews G; 29. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg 2005, 509-537
41. Jung K, Goerdt C, Lange P, Blocher J, Djukic M, Gerber J, Spreer A, Nau R, Otto M, Schmidt H (2011): The use of S100B and Tau protein concentrations in the cerebrospinal fluid for the differential diagnosis of bacterial meningitis: a retrospective analysis. *Eur Neurol* 66, 128-132
42. Jüttler E, Bardutzky J, Helbok R et al.: Intrakranieller Druck (ICP). In: *Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie*. Hrsg. Diener HC, Weimar C, Berlit P, Deuschl G, Gold R, Hacke W et al.; 5. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart 2012, 1032-1042
43. Kastenbauer S, Pfister H-W (2003): Pneumococcal meningitis in adults: Spectrum of complications and prognostic factors in a series of 87 cases. *Brain* 126, 1015-1025
44. Katchanov J, Heuschmann PU, Endres M, Weber J (2009): Cerebral infarction in bacterial meningitis: predictive factors and outcome. *J Neurol* DOI 10.1007/s00415-009-5395-9
45. King LS and Agre P (1996): Pathophysiology of the aquaporin water channels. *Annu Rev. Physiol* 58, 619-48
46. Kiroğlu Y, Calli C, Yuntun N, Kitis O, Kocaman A, Karabulut N, Isaev H, Yagci B (2006): Diffusion-weighted MR imaging of viral encephalitis. *Neuroradiology* 48, 875-880
47. Klatzko I (1967): Neuropathological aspects of cerebral edema. *J Neuropathol Exp Neurol* 26, 1-14
48. Koedel U, Frankenberg T, Kirschnek S, Obermaier B, Häcker H, Paul R, Häcker G

- (2009): Apoptosis is essential for neutrophil functional shutdown and determines tissue damage in experimental pneumococcal meningitis. *PLoS Pathogens* 5: 5 e1000461, 1-13
49. Kumar G, Kalita J, Misra UK (2009): Raised intracranial pressure in acute viral encephalitis. *Clin Neurol Neurosurg* 111, 399-406
50. Lackner P, Guengoer E, Beer R, Broessner G, Helbok R, Deisenhamer F, Schmutzhard E, Pfausler B (2010): IgG-Index predicts neurological morbidity in patients with infectious central nervous system diseases. *BMC Infect Dis* 10, 202
51. Liu X, Zhang W, Alkayedi NJ, Froehner SC, Adam ME, Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP, Hurn PD, Bhardwaj A (2008). Lack of sex-linked differences in cerebral edema and aquaporin-4 expression after experimental stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 28, 1898-1906
52. Liu X, Nakayama S, Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP, Bhardwaj A (2009): Arginine-Vasopressin V1 but not V2 receptor antagonism modulates infarct volume, brain water content, and aquaporin-4 expression following experimental stroke. *Neurocrit Care* DOI 10.1007/s12028-009-9277-x
53. Manley GT, Fujimura M, Ma T, Noshita N, Filiz F (2000): Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med* 6:2, 159-163
54. Manley GT, Binder DK, Papadopoulos MC, Verkman AS (2004): New insights into water transport and edema in the central nervous system from phenotype analysis of aquaporin-4 null mice. *Neuroscience* 129, 983-991
55. Masseguin C, LePanse S, Corman B, Verbavatz JM, Gabrion J (2005): Aging affects choroidal proteins involved in CSF production in Sprague-Dawley rats. *Neurobiol Aging* 26, 917-927
56. Meli DN, Christen S, Leib SL, Täuber MG (2002): Current concepts in the pathogenesis of meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Curr Opin Infect Dis* 15, 253-257
57. Merkelbach S, Sittinger H, Schweizer I, Müller M (2000): Cognitive outcome after bacterial meningitis. *Acta Neurol Scand* 102, 118-123
58. Meyding-Lamadé U, Gruschka P: Bakterielle Entzündungen des Gehirns und seiner Häute. In: Neurologie. Hrsg. v. Hacke W; 13. Auflage, Springer Verlag,

- Heidelberg 2010, 437-462
59. Meyding-Lamadé U, Lenhard T: Virale Entzündungen und Prionenkrankheit. In: Neurologie. Hrsg. v. Hacke W; 13. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg 2010, 463-487
 60. Moeller HB, Fenton RA, Zeuthen T, Macaulay N (2009): Vasopressin-dependent short term regulation of Aquaporin 4 expressed in *Xenopus* oocytes. *Neuroscience* 164, 1674-1684
 61. Nagelhus EA, Mathiisen TM, Ottersen OP (2004): Aquaporin-4 in the central nervous system: cellular and subcellular distribution and coexpression with KIR4.1. *Neuroscience* 129, 905-913
 62. Neely JD, Christensen BM, Nielsen S, Agre P (1999): Heterotetrameric composition of Aquaporin-4 water channels. *Biochem* 38, 11156-11163
 63. Nelson H (1976): A modified card sorting test sensitive to frontal lobe defects. *Cortex* 12, 313-324
 64. Nilsson C, Ståhlberg F, Thomsen C, Henriksen O, Herning M, Owman CSt (1992): Circadian variation in human cerebrospinal fluid production measured by magnetic resonance imaging. *Am J Physiol* 262 (1 Pt 2): R20-4
 65. Nouri F, Lincoln N (1987): An extended activities of daily living scale for stroke patients. *Clin Rehabil* 1, 301-305
 66. Olsen L, Mortensen E, Bech P (2004): The SCL-90 and SCL-90R version validated by item response models in a Danish community sample. *Acta Psychiatr Scand* 110, 225-259
 67. Oshio K, Watanabe H, Song Y, Verkman AS, Manley GT (2005): Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel Aquaporin-1. *FASEB J* 19. 76-78
 68. Osterrieth P (1944): Le test de copie d'une figure complexe. *Arch Psychol* 30, 206-353
 69. Østergaard C, Konradsen HB, Samuelsson S (2005): Clinical presentation and prognostic factors of *Streptococcus pneumoniae* meningitis according to the focus of infection. *BMC Infect Dis* 5: 93 doi:10.1186/1471-2334-5-93
 70. Papadopoulos MC, Verkman AS (2005): Aquaporin-4 gene disruption in mice reduces brain swelling and mortality in Pneumococcal meningitis. *J Biol Chem*

- 280:14, 13906-13912
71. Papadopoulos MC, Verkman AS (2007): Aquaporin-4 and brain edema. *Pediatr Nephrol* 22, 778-784
 72. Papadopoulos MC, Manley GT, Krishna S, Verkman AS (2004): Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J* 18, 1291-1293
 73. Penick E, Powell B, Nickel E, Bingham S, Riesenmy K, Read M. (1994): Comorbidity of lifetime psychiatric disorder among male alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* 48:1289-93
 74. Pfister HW: Tuberkulöse Meningitis. In: Meningitis – Klinik, Differentialdiagnose, Pathophysiologie, Therapie. Hrsg. Brandt T, Cohen R, Helmchen H, Schmidt LR; Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart 2002, 114-127
 75. Pfister HW, Feiden W, Einhäupl KM (1993): Spectrum of complications during bacterial meningitis in adults. Results of a prospective clinical study. *Arch Neurol* 50(6), 575-581
 76. Preston GM, Agre P (1991): Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: Member of an ancient channel family. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 11110-11114
 77. Proulx N, Fréchette D, Toye B, Chan J, Kravcik S (2005): Delays in the administration of antibiotics are associated with mortality from adult acute bacterial meningitis. *Q J Med* 98, 291-298
 78. Reiber H (1980): The discrimination between different blood-CSF barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. *J Neurol* 224, 89-99
 79. Reiber H (1994): flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) – a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci* 122(2):189-203
 80. Reiber H: Liquordiagnostik. In: Klinische Neurologie. Hrsg. v. Berlit P; 2. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg 2006, 136-170
 81. Ren G, Reddy VS, Cheng A, Melnyk P, Mitra AK (2001): Visualization of a water-selective pore by electron crystallography in vitreous ice. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(4); 1398-403

82. Ruff R: Ruff figural fluency test. Administration Manual, San Diego, Ca, USA 1988
83. Saadoun S, Tait MJ, Reza A, Davies DC, Bell BA, Verkman AS, Papadopoulos MC (2009): AQP4 gene deletion in mice does not alter blood-brain barrier integrity or brain morphology. *Neuroscience* 161, 764-772
84. Schmidt H, Nau R (2004): Therapie der bakteriellen Meningitis. *Akt Neurol* 31, 231-240
85. Schmidt H, Cohrs S, Heinemann T, Goerdts C, Djukic M, Heimann B, Wallesch C-W, Nau R (2006a): Sleep disorders are long-term sequelae of both bacterial and viral meningitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77, 554-558. doi: 10.1136/jnnp.2005.071142
86. Schmidt H, Heimann B, Djukic M, Mazurek C, Fels C, Wallesch C-W, Nau R (2006b): Neuropsychological sequelae of bacterial and viral meningitis. *Brain* 129, 333-345
87. Schuurman T, de Boer RF, Kooistra-Smid AMD, van Zwet AA (2004): Prospective study of use of PCR amplification and sequencing of 16S ribosomal DNA from cerebrospinal fluid for diagnosis of bacterial meningitis in a clinical setting. *J Clin Microbiol* 42:2, 734-740
88. Sener RN (2001): Herpes simplex encephalitis: diffusion MR imaging findings. *Comput Med Imaging Graph* 25, 293-397
89. Spreer A, Lugert R, Stoltefaut V, Hoecht A, Eiffert H, Nau R (2009): short-term rifampicin pretreatment reduces inflammation and neuronal cell death in a rabbit model of bacterial meningitis. *Crit Care Med* 37:7, 2253-2258
90. Stephens DS, Greenwood B, Brandtzaeg P (2007): Epidemic meningitis, meningococcaemia and Neisseria meningitis. *Lancet* 369, 2196-2210
91. Sterns RH, Silver SM (2006): Brain volume regulation in response to hypo-osmolality and its correction. *Am J Med* 119:7a, S12-S16
92. Sturm W, Willmes K: Nonverbaler Lerntest (NVLT). Hogrefe, Göttingen 1999a
93. Sturm W, Willmes K: Verbaler Lerntest (VLT). Hogrefe, Göttingen 1999b
94. Takahashi H, Tanaka H, Fujita N, Murase K, Tomiyama N (2011): Variation in supratentorial cerebrospinal fluid production rate in one day: measurement by non-triggered phase-contrast magnetic resonance imaging. *Jpn J Radiol* 29(2):110-5. doi: 10.1007/s11604-010-0525-y.

95. Tewes R: Hamburger-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene – Revision. Huber, Bern 1991
96. Thigpen MC, Whitney CG, Messonnier NE, Zell ER, Lynfield R, Hadler JL, Harrison LH, Farley MM, Reingold A, Bennett NM (2011): Bacterial meningitis in the United States 1998-2007. *N Engl J Med* 364:21, 2016-2025
97. Thrane AS, Thrane VR, Nedergaard M (2014): Drowning stars: Reassessing the role of astrocytes in brain edema. *Trends Neurosci* 37(11):620-628.doi:10.1016/j.tins.2014.08.010.
98. Trabold R, Krieg S, Schöller K, Plesnila N (2008): Role of Vasopressin V1a and V2 receptors for the development of secondary brain damage after traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma* 25, 1459-1465
99. Truelle J-L, Koskinen S, Hawthorne G, Sarajuuri J, Formisano R, von Wild K, Neugebauer E, Wilson L, Gibbons H, Powell J et al. (2010): Quality of life after traumatic brain injury: The clinical use of the QOLIBRI, a novel disease-specific instrument. *Brain Inj* 24:11, 1272-1291
100. van de Beek D, Schmand B, de Gans J, Weisfelt M, Vaessen H, Dankert J, Vermeulen M (2002): Cognitive impairment in adults with good recovery after bacterial meningitis. *J Infect Dis* 186, 1047-1052
101. van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M (2004): Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med* 351, 1849-1859
102. van de Beek D, Farrar JJ, de Gans J, Mai NTH, Molyneux EM, Peltola H, Peto TE, Roine I, Scarborough M, Schultz C et al. (2010): Adjunctive dexamethasone in bacterial meningitis: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Neurol.* 9(3): 254–263
103. Verkman AS, Binder DK, Bloch O, Auguste K, Papadopoulos MC (2006): Three distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice. *Biochem Biophys Acta* 1758, 1085-1093
104. Wang H, Jin R, Tian P, Zhuo Z (2009): Enhanced expression of Aquaporin-9 in rat brain edema induced by bacterial lipopolysaccharides. *J Huazhong Univ Sci Technol* 29:2, 150-155
105. Ware JE (2000): SF-36 health survey update. *Spine* 25:24, 3130-3139

106. Weisfelt M, van de Beek D, Spanjaard L, Reitsma JB, de Gans J (2006a): Clinical features, complications and outcome in adults with pneumococcal meningitis: a prospective case series. *Lancet Neurol* 5, 123-129
107. Weisfelt M, Hoogman M, van de Beek D, de Gans J, Dreschler WA, Schmand BA (2006b): Dexamethasone and long-term outcome in adults with bacterial meningitis. *Ann Neurol* 60, 456-468
108. Weisfelt M, van de Beek D, Spanjaard L, Reitsma JB, de Gans J (2008): A risk score for unfavourable outcome in adults with bacterial meningitis. *Ann Neurol* 63, 90-97
109. Welinder-Olsson C, Dotevall L, Hogevik H, Jungnelius R, Trollfors B, Wahl M, Larsson P (2007): Comparison of broad-range bacterial PCR and culture of cerebrospinal fluid for diagnosis of community-acquired bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect* 13, 879-886
110. Wen H, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Agre P, Ottersen OP, Nielsen S (1999): Ontogeny of water transport in rat brain: postnatal expression of the aquaporin-4 water channel. *Eur J Neurosci* 11, 935-945
111. Wright WL, Ausbury WH, Gilmore JL, Samuels OB (2009): Conivaptan for hyponatremia in the neurocritical care unit. *Neurocrit Care* 11, 6-13
112. Yang B, Zador Z, Verkman AS (2008): Glial cell aquaporin-4 overexpression in transgenic mice accelerates cytotoxic brain swelling. *J Biol Chem* 283:22, 15280-15286
113. Yool AJ (2007): Aquaporins: Multiple roles in the central nervous system. *Neuroscientist* 13, 470-485
114. Yukutake Y, Yasui M (2009): Regulation of water permeability through aquaporin-4. *Neuroscience* 10.029, doi:10.1016
115. Zador Z, Stiver S, Wang V, Manley GT: Role of aquaporin-4 in cerebral edema and stroke. In: *Aquaporins, Handbook of Experimental Pharmacology* 190; Hrsg. v. Beitz E; Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2009, 159-170
(Verwendung von Abbildung 1c, S. 161 mit freundlicher Genehmigung des Verlages)
116. Zimmermann P, Fimm B: Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP), version 1.02.c. Psytest, Herzogenrath 1994

Internetquellen:

1. Landkreis Göttingen, Zensus 2011, LSKN 27.10.2011.
http://www.landkreisgoettingen.de/pics/medien/1_1281358524/Bevoelkerungsstatistik.pdf; abgerufen am 16.02.2014
2. Niedersächsisches Landesgesundheitsamt (NLGA), MERIN-Studie,
http://www.nlga.niedersachsen.de/portal/live.php?navigation_id=27119&psmand=20; abgerufen am 16.02.2014

8 Anhang

	BM	VM	Kontrollen
MW ± SD [Jahre]	61,8 ± 15,6	49,2 ± 22,3	50,9 ± 19,4
Median [Jahre][25/75 Perzentile]	61,8 [54,6/72,5]	44,4 [30,1/70,7]	52,0 [32,0/69,0]
Min./Max. [Jahre]	19,7/87,6	18,3/85,2	19,0/80,0

Tab. 1b: Altersverteilung der Gruppen

	BM, m	BM, w	VM, m	VM, w	K., m	K., w
Anzahl	16	19	9	13	12	15
MW ± SD [Jahre]	57,5 ± 18,8	65,4 ± 11,6	45,8 ± 22,9	51,5 ± 22,5	51,8 ± 21,3	50,1 ± 18,5
Median [Jahre] [25/75 Perzentile]	63,1 [43,2/71,9]	63,4 [57,8/72,6]	38,6 [30,1/63,8]	53,6 [29,3/70,7]	55 [30,5/70,5]	51 [38/66]
Min./Max. [Jahre]	19,7/79,3	46,7/87,6	22,6/85,2	18,3/81,4	26/79	19/80

Tab. 2b: Geschlechtsspezifische Altersverteilung der Gruppen; m = männlich, w = weiblich, K = Kontrolle

	AQP1_{CSF}	AQP1_{Serum}	AQP4_{CSF}	AQP4_{Serum}
Anzahl	19	20	20	20
MW ± SD [ng/ml]	5,7 ± 3,5	5,6 ± 3,0	1,1 ± 2,7	0,4 ± 1,1
Median [ng/ml] [25/75 Perzentile]	5,9 [2,5/9,6]	6,1 [2,9/7,8]	0,0 [0,0/0,2]	0,0 [0,0/0,2]
Min./Max. [ng/ml]	0,3/11,0	0,2/11,0	0,0/9,0	0,0/4,5

Tab. 3b: AQP1 und AQP4 im Liquor und Serum von Patienten mit BM

	AQP1_{CSF, m}	AQP1_{CSF, w}	AQP4_{CSF, m}	AQP4_{CSF, w}
Anzahl	16	18	16	18
MW ± SD [ng/ml]	4,7 ± 3,5	3,1 ± 3,2	1,8 ± 3,4	1,7 ± 2,9
Median [ng/ml] [25/75 Perzentile]	3,7 [1,8/7,4]	2,2 [0,6/4,5]	0,0 [0,0/2,3]	0,2 [0,0/2,2]
Min./Max. [ng/ml]	0,5/11,0	0,3/11,0	0,0/10,1	0,0/9,0

Tab. 4b: Geschlechtsspezifische AQP1_{CSF}- und AQP4_{CSF}-Konzentrationen von Patienten mit BM; m = männlich, w = weiblich

8 Anhang

	AQP1_{CSF, m}	AQP1_{CSF, w}	AQP4_{CSF, m}	AQP4_{CSF, w}
Anzahl	9	13	9	13
MW ± SD [ng/ml]	1,9 ± 3,0	3,0 ± 3,2	1,5 ± 3,2	1,9 ± 3,3
Median [ng/ml]	0,7	1,8	0,0	0,1
[25/75 Perzentile]	[0,6/1,6]	[0,9/4,5]	[0,0/2,0]	[0,0/2,5]
Min./Max. [ng/ml]	0,4/9,8	0,5/11,0	0,0/9,7	0,0/11,0
Tab. 5b: Geschlechtsspezifische AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen von Patienten mit VM; m = männlich, w = weiblich				

	AQP1_{CSF, m}	AQP1_{CSF, w}	AQP4_{CSF, m}	AQP4_{CSF, w}
Anzahl	12	15	12	15
MW ± SD [ng/ml]	0,8 ± 0,5	0,9 ± 0,6	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,2
Median [ng/ml]	0,9	0,8	0,0	0,0
[25/75 Perzentile]	[0,4/1,1]	[0,2/1,3]	[0,0/0,1]	[0,0/0,4]
Min./Max. [ng/ml]	0,2/1,5	0,1/2,2	0,0/0,4	0,0/0,5
Tab. 6b: Geschlechtsspezifische AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Kontrollgruppe, m = männlich, w = weiblich				

	AQP1_{CSF}	AQP1_{Serum}	AQP4_{CSF}	AQP4_{Serum}
Anzahl	12	12	12	12
MW ± SD [ng/ml]	0,9±0,7	7,8± 3,5	0,0	0,4 ± 0,8
Median [ng/ml]	1,0	8,7	0,0	0,0
[25/75 Perzentile]	[0,2/1,4]	[5,3/11]		[0,0/0,2]
Min./Max. [ng/ml]	0,1/2,2	2,3/11,0	0,0	0,0/2,6
Tab. 7b: AQP1 und AQP4 im Liquor und Serum der Kontrollgruppe				

	Q_{Alb, b}	Q_{Alb, k}
Anzahl	12	12
MW ± SD	96,9±107,9	5,4± 1,2*
Median [25/75 Perzentile]	77,3 [34,2/107,5]	5,6 [4,6/6.3]
Min./Max.	9,2/486	3,2/7,4
Tab. 8b: Q _{Alb} der Patienten mit BM und der Kontrollgruppe,* normalverteilt		

8 Anhang

	AQP1 _{CSF}		AQP4 _{CSF}	
	r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert
Liquor				
Leukozyten [$/\text{mm}^3$]	0,056	0,752	-0,016	0,927
Laktat [mmol/l]	0,181	0,305	0,070	0,689
Gesamtprotein [mg/l]	0,182	0,303	0,102	0,560
Q _{Albumin}	0,208	0,245	0,089	0,616
Q _{IgG}	0,235	0,188	0,097	0,586
Q _{IgA}	0,247	0,173	0,074	0,681
Q _{IgM}	0,243	0,172	0,078	0,663
Serum				
Leukozyten [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	0,072	0,684	0,167	0,339
CRP [mg/L]	-0,011	0,951	0,164	0,354
Fibrinogen [mg/dl]	-0,061	0,758	-0,058	0,765
Tab. 9b: Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit BM (Spearman-Test)				

	AQP1 _{CSF}		AQP4 _{CSF}	
	r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert
Liquor				
Leukozyten [$/\text{mm}^3$]	0,110	0,585	-0,079	0,696
Laktat [mmol/l]	0,236	0,256*	-0,125	0,552
Gesamtprotein [mg/l]	0,020	0,921*	0,178	0,374
Q _{Albumin}	0,189	0,346*	0,114	0,571
Q _{IgG}	0,09	0,656*	0,158	0,431
Q _{IgA}	-0,097	0,63	0,12	0,551
Q _{IgM}	-0,037	0,855	0,189	0,346
Serum				
Leukozyten [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	0,113	0,756*	-0,058	ns
CRP [mg/L]	0,195	ns		
Fibrinogen [mg/dl]	-0,70	ns	0,0	ns
Tab. 10b: Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Kontrollgruppe (Spearman Test, * Pearson Test), ns = nicht signifikant				

AQP4_{CSF}	r-Wert	p-Wert
Liquor		
Leukozyten [/mm ³]	-0,231	0,301
Laktat [mmol/l]	-0,101	0,654
Gesamtprotein [mg/l]	-0,138	0,542
Q _{Albumin}	-0,21	0,348
Q _{IgG}	-0,204	0,363
Q _{IgA}	-0,249	0,265
Q _{IgM}	-0,114	0,615
Serum		
Leukozyten [*10 ³ /μl]	0,194	0,522
CRP [mg/L]	-0,033	0,884
Fibrinogen [mg/dl]	-0,043	0,855
Tab. 11b: Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit VM (Spearman-Test)		

9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

9.1 Abbildungsverzeichnis

Abb.1	Pathophysiologie des Hirnödems	11
Abb. 2	Hauptlokalisationen von AQP1, AQP4 und AQP9 im zentralen Nervensystem	16
Abb.3	AQP1- bzw. AQP4-Sandwich-ELISA	28
Abb. 4	Altersverteilung der Gruppen	36
Abb. 5.	Erregerverteilung bei den Patienten mit BM	37
Abb. 6	AQP1 _{CSF} -Konzentrationen bei Verdünnung mit 0,9%-NaCl-Lösung im Vergleich zu Erwartungswerten	45
Abb. 7	Korrelation der AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit BM	47
Abb. 8	AQP1 _{CSF} -Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit BM	48
Abb. 9	AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit BM	48
Abb. 10	AQP1 _{CSF} -Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit VM	50
Abb. 11	AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der männlichen (m) und weiblichen (w) Patienten mit VM	50
Abb. 12	Korrelation der AQP1-Konzentrationen im Liquor und Serum in der Kontrollgruppe	52
Abb. 13	Gruppenvergleich der AQP1 _{CSF} -Konzentrationen	54
Abb. 14	Gruppenvergleich der AQP4 _{CSF} -Konzentrationen	54
Abb. 15	Korrelation von Q_{Aib} und Q_{AQP1} in der Kontrollgruppe	56
Abb. 16	Korrelation des Alters mit den AQP1 _{CSF} -Konzentrationen in der Kontrollgruppe	58
Abb. 17	Verteilung der Ausschlusskriterien der Patienten mit BM für die neuropsychologische Nachuntersuchung	61

Abb. 18	Lebensqualitätsbalken	62
Abb. 19	z-Werte der Gedächtnisdomänen der Patienten mit BM und der Kontrollprobanden	64

9.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Geschlechtsverteilung der Gruppen	35
Tab. 2	Klinische Symptomatik der Patienten mit BM und VM bei Aufnahme	38
Tab. 3	Klinische Daten der Patienten mit BM und VM	40
Tab. 4	Liquorchemische Parameter der Gruppen	42
Tab. 5	Laborchemische Parameter der Gruppen	43
Tab. 6	AQP1 _{CSF} -Konzentrationen bei Lagerung bei Raumtemperatur (RT), 4°C und -20°C	44
Tab. 7	AQP1 _{CSF} -Konzentrationen in Abhängigkeit von den Auftauvorgängen	44
Tab. 8	AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit BM	46
Tab. 9	AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit VM	49
Tab. 10	AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen in der Kontrollgruppe	51
Tab. 11	Q _{AQP1} und Q _{AQP4} [CSF/Serum] der Patienten mit BM und der Kontrollgruppe	55
Tab. 12	AQP1-Indices der Patienten mit BM und der Kontrollgruppe	57
Tab. 13	Korrelation von AQP1 _{CSF} und AQP4 _{CSF} mit dem Weisfelt-Score, der Symptombdauer und dem Bohr-Score der Patienten mit BM und mit der Symptombdauer und dem Bohr-Score der Patienten mit VM	59
Tab. 14	Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP1 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit VM	59
Tab. 15	Semiquantitative Verteilung der Schweregrade der Hirnödeme bei den Patienten mit BM und VM	60
Tab. 16	Vergleich des SF-36, SCL-90-R und des HADS-Angst der Patienten mit BM und der Kontrollprobanden	63
Tab. 17	z-Werte (MW ± SD) und Vergleich der Gedächtnisdomänen der Patienten mit BM und der Kontrollprobanden	64

Tab. 18	Korrelation der z-Werte der Gedächtnisdomänen mit den AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit BM	65
Tab. 19	Korrelation der Ergebnisse der Fragebögen mit den AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit BM	65

9.3 Tabellenverzeichnis im Anhang

Tab. 1b	Altersverteilung der Gruppen	95
Tab. 2b	Geschlechtsspezifische Altersverteilung der Gruppen	95
Tab. 3b	AQP1 und AQP4 im Liquor und Serum von Patienten mit BM	95
Tab. 4b	Geschlechtsspezifische AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen von Patienten mit BM	95
Tab. 5b	Geschlechtsspezifische AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen von Patienten mit VM	96
Tab. 6b	Geschlechtsspezifische AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Kontrollgruppe	96
Tab. 7b	AQP1 und AQP4 im Liquor und Serum der Kontrollgruppe	96
Tab. 8b	Q _{Alb} der Patienten mit BM und der Kontrollgruppe	96
Tab. 9b:	Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit BM	97
Tab. 10b	Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP1 _{CSF} - und AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Kontrollgruppe	97
Tab. 11b	Korrelation der liquor- und laborchemischen Parameter mit den AQP4 _{CSF} -Konzentrationen der Patienten mit VM	98

10 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
ARDS	<i>adult respiratory distress syndrome</i>
AQP 1/ 4/ 9 (0-12)	Aquaporin 1/ 4/ 9 (0-12)
AVP	antidiuretisches Hormon, Vasopressin-Antagonist
Å	Ångström
b	bakteriell
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BLS	Blut-Liquor-Schranke
BM	bakterielle Meningitis
cCT	zerebrale Computertomographie
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
Cl ⁻ -HCO ₃ ⁻ -Austauscher	Chlorid-Bikarbonat-Austauscher
CMV	Zytomegalie-Virus
cMRT	zerebrale Magnetresonanztomographie
CRP	C-reaktives Protein
CSF	<i>cerebrospinal fluid</i> (Liquor)
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
ELISA	<u><i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i></u> (Enzymgekoppelter Immunabsorptionstest)
GCS	Glasgow Coma Scale
GOS	Glasgow Outcome Scale
H ₂ SO ₄	Wasserstoffsulfat
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
HSV	Herpes-simplex-Virus
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
K ⁺ -Cl ⁻ -Cotransporter	Kalium-Chlorid-Cotransporter

10 Abkürzungsverzeichnis

kDa	Kilodalton
K ⁺ -Kanal	Kalium-Kanal
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
m	männlich
MR-	Magnetresonanz-
mRNA	<i>messenger</i> -Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	Natrium-Kalium-ATPase
Na ⁺ -K ⁺ -2Cl ⁻ -Cotransporter	Natrium-Kalium-2Chlorid-Cotransporter
NaCl	Natrium-Chlorid
Na ⁺ -gekoppelter HCO ₃ ⁻ - Transporter	Natrium-gekoppelter Bikarbonat-Transporter
<i>N. meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
p	Konfidenzintervall
r	Durchmesser; Korrelationskoeffizient
RT	Raumtemperatur
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. pneumoniae</i> (...)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (<i>agalactiae</i> ; <i>pyogenes</i> , <i>viridans</i>)
SD	Standarddeviation/ Standardabweichung
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
UMG	Universitätsmedizin Göttingen
v	viral
vgl.	vergleiche
VM	virale Meningitis
VZV	Varizella-zoster-Virus
w	weiblich
ZNS	zentrales Nervensystem