

## **Vitamin D Effekt auf cerebrale Vasospasmen nach Subarachnoidalblutung**

### **Hintergrund:**

Die Suche nach einem effektiven Behandlungsschema von cerebralen Vasospasmen (CVS) nach einer Subarachnoidalblutung (SAB), welche für die resultierende Einschränkung der Lebensqualität der betroffenen jungen Patienten verantwortlich sind<sup>1</sup>, ist weiterhin im Fokus vieler cerebrovaskulären Forschungsprojekte. Trotzdem konnten sich viele in früheren experimentellen und klinischen Studien untersuchte Substanzen als Therapiestandard in der täglichen Praxis nicht durchsetzen<sup>2,3</sup>. Die Inflammation als ein mitwirkender Mechanismus in der Pathophysiologie von Vasospasmen nach SAB steht aktuell im Mittelpunkt der Interessen<sup>4</sup>. In bereits publizierten Arbeiten wurde Vitamin D ein anti-inflammatorischer sowie vaskulär-regenerativer Effekt zugeschrieben<sup>5,6,7</sup>.

Unser Ziel ist den Vitamin D Effekt auf cerebralen Vasospasmen als Folge einer Inflammationsreaktion im Rahmen einer translationalen Studie zu untersuchen, und damit eine neue therapeutische Perspektive für SAB Patienten zu erschaffen.

### **Klinischer Arm der Studie**

#### **Methoden und Ergebnisse:**

Im ersten Schritt analysierten wir den Vitamin D Spiegel (25-Hydroxy-Vitamin D3) von allen im Jahr 2016 im Universitätsklinikum Frankfurt untersuchten 15738 Patienten, wohnhaft in Frankfurt Rhein-Main Gebiet, um die Monate mit den höchsten sowie niedrigsten Vitamin D Werten detektieren zu können. Dementsprechend haben wir die Daten von SAB Patienten, welche zum Zeitpunkt der ausgesuchten Monate seit 2008 bis 2016 in unserer Abteilung behandelt wurden, untersucht. Im Rahmen dieser retrospektiven Analyse konnten wir nachweisen, dass im Winter aufgenommenen SAB Patienten, die erwartungsgemäß eine höhere VitaminD-Mangel-Rate aufwiesen, ein signifikant höheres Risiko für die Entwicklung von cerebralen Vasospasmen und schlechtes klinisches Outcome 6 Monate nach der SAB haben.

Im prospektiven klinischen Teil unserer Studie konnten wir ebenfalls eine Assoziation zwischen höheren Vitamin D Spiegeln im Blut und niedrigerem Risiko von SAB folgenden Komplikationen (Vasospasmus, Infarkte, neurologische Defizite) nachweisen. Zudem haben wir nach Isolation von mononukleären Zellen (CD 14) aus dem Blut unserer Patienten (Zeitpunkt der Blutentnahmen: bei der Aufnahme, Vasospasmus-Höhepunkt, Fehlender Nachweis von CVS) eine Autoregulation von Vitamin D Aktivität während der Vasospasmus

Phase festgestellt. Es bestand eine Korrelation zwischen dem schwer ausgeprägten Vasospasmus und schwacher Aktivität von Vitamin D Metabolismus-abhängigen Faktoren.

### **Experimenteller Arm der Studie**

#### **Methoden und Ergebnisse:**

In einem SAB Blutinjektionsmodell<sup>8</sup> in C57Bl6 Maus konnten wir zunächst nachweisen, dass eine Vorbehandlung mit Vitamin D über 5 Tage (100 ng/kg/d 1,25-dihydroxy-VitaminD<sub>3</sub>, intraperitoneale Injektion)<sup>7</sup> das Risiko von Entwicklung von cerebralen Vasospasmen (Abnahme der Gefäßdurchmesser) sowie neurologischen Ausfällen (Neuroscore nach Chen et al.<sup>9</sup>) signifikant reduziert. Zudem konnten wir nach Vitamin D Vorbehandlung in den entnommenen Basilarisarterien neben der Hochregulation von Vitamin D Metabolismus-abhängigen Genen, einen anti-inflammatorischen, vasoregenerativen sowie vasodilatativen Effekt auf Gen-Expressionsebene feststellen. An dieser Stelle erkannten wir die Vitamin D abhängige Hochregulation der SDF1 $\alpha$  Produktion nach der SAB Induktion. Es konnte zudem ein signifikanter Anstieg der Endothelzell-abhängigen Faktoren wie VEGF (Vascular endothelial growth factor) und eNOS (endothelial nitric oxide synthase), welche für den vasoregenerativen und vasodilatativen Vitamin D Effekt verantwortlich sind, nachgewiesen werden. Zusätzlich gelang der Nachweis vom anti-inflammatorischen Effekt, welcher über die Aktivierung von Makrophagen die SDF1 $\alpha$  Produktion anregt. Um die Rolle dieser mitwirkenden Zelllinien näher untersuchen zu können, wiederholten wir den Versuch in 2 Knockout-Maus-Linien: VDRflox-LysM-Cre: Fehlender Vitamin D Rezeptor in LysM-positive myeloiden Zellen; VDRflox-Cdh5-Cre-ERT2: Fehlender Vitamin D Rezeptor in Gefäß-Endothelzellen. Da der in Wildtyp Maus untersuchte therapeutische Effekt von Vitamin D, in beiden Knockout-Maus-Linien nicht nachgewiesen werden konnte, haben wir der Vitamin D Wirkung einer Interaktion zwischen Makrophagen und Gefäßendothelzellen zugeschrieben. Um dieses Erkenntnis näher zu untersuchen, etablierten wir ein in vitro SAB Model, indem wir eine Co-Kultur mit humanen Makrophagen und Endothelzellen mit/ohne Blutstimulation sowie mit/ohne Vitamin D Behandlung kreierten, welche den bereits in Tierversuchen vermuteten Vitamin D regenerativen Effekt als Ergebnis einer engen Interaktion zwischen Makrophagen und Endothelzellen bestätigte.

Nachdem SDF1 $\alpha$  im Rahmen unserer Experimente als ein Vitamin D induzierter Mediator im Pathomechanismus vom anti-inflammatorischen sowie vasoregenerativen Effekt von Vitamin D erkannt wurde, starteten wir ein weiterer Studienarm, um dies näher zu untersuchen. Es gelang im Tierversuch (Blutinjektions SAB Model in C57Bl6 Maus) durch die intrathekale

Injektion von SDF1 $\alpha$  denselben Vasospasmus-vorbeugenden Effekt wie mit Vitamin D Vorbehandlung zu erzielen. Zudem konnten wir als Bestätigung den SDF1 $\alpha$ -Effekt nach intraperitonealer Injektion von AMD3100, ein SDF1 $\alpha$ -Rezeptor-Inhibitor beheben.

### **Schlussfolgerung:**

Vitamin D verbessert das vaskuläre Remodeling nach einer Subarachnoidalblutung durch Induktion von SDF1 $\alpha$  im Rahmen einer Interaktion zwischen Makrophagen und Endothelzellen. Sowohl unsere retrospektive als auch prospektive klinische Daten unterstützen unsere experimentelle Ergebnisse. Unsere Studie stellt Vitamin D erstmalig als eine neue Perspektive in Behandlung von SAB Patienten vor.

### **Dr. med. Sepide Kashefiolasl**

Klinik und Poliklinik für Neurochirurgie

Zentrum der Neurologie und Neurochirurgie

Goethe-Universitätsklinikum Frankfurt am Main

Schleusenweg 2 - 16

60528 Frankfurt/Main

069 – 6301-5295

Sepide.Kashefiolasl@kgu.de

### **Referenzen:**

1. Connolly ES, Rabinstein AA, Carhuapoma JR, Derdeyn CP, Dion J, Higashida RT, Hoh BL, Kirkness CJ, Naidech AM, Ogilvy CS, Patel AB, Thompson BG, Vespa P. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/american Stroke Association. *Stroke*. 2012; 43:1711–1737.
2. Haley EC, Kassell NF, Torner JC, Truskowski LL, Germanson TP. A randomized trial of two doses of nicardipine in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A report of the Cooperative Aneurysm Study. *Journal of neurosurgery*. 1994; 80:788–796.
3. Macdonald RL, Kassell NF, Mayer S, Ruefenacht D, Schmiedek P, Weidauer S, Frey A, Roux S, Pasqualin A. Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1). Randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 dose-finding trial. *Stroke*. 2008; 39:3015–3021.
4. Provencio JJ. Inflammation in subarachnoid hemorrhage and delayed deterioration associated with vasospasm. A review. *Acta neurochirurgica. Supplement*. 2013; 115:233–238.
5. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients*. 2013; 5: 2502–2521.

6. Beveridge LA, Witham MD. Vitamin D and the cardiovascular system. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2013; 24:2167–2180.
7. Wong MSK, Leisegang MS, Kruse C, Vogel J, Schürmann C, Dehne N, Weigert A, Herrmann E, Brüne B, Shah AM, Steinhilber D, Offermanns S, Carmeliet G, Badenhop K, Schröder K, Brandes RP. Vitamin D promotes vascular regeneration. *Circulation*. 2014; 130:976–986.
8. Lin C-L, Calisaneller T, Ukita N, Dumont AS, Kassell NF, Lee KS. A murine model of subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm. *Journal of neuroscience methods*. 2003; 123:89–97.
9. Chen J, Sanberg PR, Li Y, Wang L, Lu M, Willing AE, Sanchez-Ramos J, Chopp M. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke*. 2001; 32:2682–2688.