

Aus dem Institut für Klinische Chemie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Komm. Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel

Nukleosomen bei zerebraler Ischämie

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Sandra Manuela Geiger
aus München
2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. Dietrich Seidel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Reinhard Lorenz
Priv.-Doz. Dr. Martin Kerschensteiner
Prof. Dr. Frank Christ

Mitbetreuung durch die
promovierten Mitarbeiter: Frau Dr. Petra Stieber
Herr Dr. Stefan Holdenrieder

Dekan: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Juni 2008

Vorveröffentlichungen

Originalarbeiten

1. Holdenrieder S, Luetjohann D, **Geiger S**, Stieber P, Hamann GF. Does brain specific 24S-hydroxycholesterol in serum indicate the disruption of the blood brain barrier in patients with ischemic stroke? *Neurosci Lett* 2004; 368: 201-204.
2. Holdenrieder S, Stieber P, Chan LYS, **Geiger S**, Kremer A, Nagel D, Lo YM. Cell-free DNA in serum and plasma: comparison of ELISA and quantitative PCR. *Clin Chem* 2005; 51: 1544-1546.
3. **Geiger S**, Holdenrieder S, Stieber P, Hamann GF, Brüning R, Ma J, Nagel D, Seidel D. Nucleosomes in serum of patients with early cerebral stroke. *Cerebro Vasc Dis* 2006; 21: 32-37.
4. **Geiger S**, Holdenrieder S, Stieber P, Hamann GF, Bruening R, Ma J, Nagel D, Seidel D. Nucleosomes as a new prognostic marker in early cerebral stroke. *J Neurol* 2007; *J Neurol.* 2007; 254: 617-623.

Kongressbeiträge in Form von Vorträgen und Postern

1. **Geiger S**, Holdenrieder S, Hamann GF, Stieber P, Danek A, Mayr M, Mitlewski A, Nagel D, Seidel D. Nukleosomen im Serum bei Patienten mit cerebralem ischaemischen Infarkt. *Laboratoriums Medizin (J Lab Med)* 2002; 26: 502. Kongress für Laboratoriumsmedizin in Düsseldorf 10/2002 (Poster)
2. **Geiger S**, Holdenrieder S, Stieber P, Hamann GF, Danek A, Bender A, Nagel D, Seidel D. Apoptotic products in serum of patients with cerebral ischemic infarction. *Tumor Biol* 2003; 24 (S1): 86. XXXI.Meeting of International Society for Oncodevelopment Biology and Medicine, ISOBM, in Edinburgh, Schottland 10/2003 (Poster)
3. Holdenrieder S, Stieber P, Chan LYS, **Geiger S**, Kremer A, Nagel D, Lo YMD. Circulating nucleic acids in plasma and serum – comparison of ELISA and quantitative PCR. *Clin Chem* 2003; 49 (S2): 35. 3rd Symposium on Circulating

Nucleic Acids in Plasma and Serum, CNAPS-3, in Los Angeles, USA 11/03 (Poster)

4. **Geiger S**, Holdenrieder S, Stieber P, Hamann GF, Danek A, Bender A, Nagel D, Seidel D. Nucleosomes in serum of patients with cerebral stroke. Clin Chem 2003; 49 (S2): 39. 3rd Symposium on Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum, CNAPS-3, in Los Angeles, USA11/03 (Vortrag)
5. **Geiger S**, Holdenrieder S, Stieber P, Hamann GF, Bruening R, Ma J, Nagel D, Seidel D. Prognostic impact of nucleosomal DNA fragments in patients with acute cerebral stroke. Clin Chem 2005; 51 (S10): 33. 4nd Symposium on Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum, CNAPS-4, in London, Großbritannien 09/05 (Poster)
6. **Geiger S**, Holdenrieder S, Stieber P, Hamann GF, Bruening R, Ma J, Nagel D, Seidel D. Prognostic relevance of nucleosomes, S100-protein, neuron-specific enolase, and C-reactive protein in patients with acute cerebral stroke. Tumor Biol 2006; 27 (S1): 82. XXXIV.Meeting of International Society for Oncodevelopment Biology and Medicine, ISOBM, auf Rhodos, Griechenland 10/2006 (Poster)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
2	Hintergrund	10
2.1	Nukleosomen als Zelltodparameter	10
2.1.1	Struktur und Funktion der Nukleosomen	10
2.1.2	Zelltodmechanismen.....	10
2.1.3	Nachweis von zirkulierenden Nukleosomen	13
2.2	Zerebrale Ischämie	14
2.2.1	Epidemiologie	14
2.2.2	Risikofaktoren	14
2.2.3	Pathogenese und Pathophysiologie	18
2.2.4	Physiologische Faktoren.....	23
2.3	Klinische Symptomatik	25
2.3.1	Infarkt der Arteria cerebri media	25
2.3.2	Infarkt der Arteria cerebri anterior	26
2.3.3	Infarkt der Arteria cerebri posterior	27
2.3.4	Hirnstamminfarkte und Basilaristhrombosen	27
2.3.5	Kleinhirnininfarkte	27
2.3.6	Sinus-/Hirnvenenthrombosen	28
2.4	Diagnostik	29
2.4.1	Bildgebende Verfahren	30
2.4.2	Neurodestruktionsmarker.....	33
2.4.3	Schlaganfallskalen.....	36
2.5	Therapie	40
3	Methodik und Patienten	42
3.1	Präanalytik und Probenmaterialien	42
3.2	Bestimmung der Nukleosomenkonzentration	43
3.2.1	Vor der Testdurchführung	43
3.2.2	Testprinzip des Cell Death Detection-ELISApus.....	43
3.3	Bestimmung der NSE- und S100-Protein-Konzentration	47
3.4	Bestimmung weiterer Laborparameter	47
3.5	Patienten	48
3.6	Statistik	53

4	Ergebnisse	56
4.1	Werteverteilung der biochemischen Parameter in der ersten Woche nach zerebraler Ischämie.....	57
4.1.1	Nukleosomen	57
4.1.2	S100-Protein (S100)	58
4.1.3	Neuronen spezifische Enolase (NSE).....	59
4.1.4	C-reaktives Protein (CRP)	60
4.1.5	Leukozyten	61
4.1.6	Zusammenfassung	62
4.2	Korrelationen bei Aufnahme und während der ersten Woche	67
4.2.1	Korrelation der klinischen Marker untereinander	67
4.2.2	Korrelation der laborchemischen Marker untereinander	68
4.2.3	Korrelation der laborchemischen Parameter mit dem BI(A)	70
4.2.4	Korrelation der laborchemischen Marker mit der Läsionsgröße	74
4.2.5	Subgruppenanalyse: Korrelation der biochemischen Parameter in Abhängigkeit der Schwere der klinischen Symptomatik	78
4.2.6	Zusammenfassung	90
4.3	Prognostische Relevanz der klinischen Kenngrößen und der Laborparameter bzgl. der Rekonvaleszenz nach 12 Monaten	90
4.3.1	Korrelation der klinischen Variablen mit der Prognose	91
4.3.2	Korrelation der laborchemischen Marker mit der Prognose.....	91
4.3.3	Partielle Korrelation	92
4.3.4	Zusammenfassung	93
4.3.5	Prognose für Patienten mit Barthel-Index ≥ 50 und < 50 bei Aufnahme	94
4.3.6	Prognostische Relevanz der vier Marker bei Patienten mit Barthel-Index < 50 bei Aufnahme.....	95
4.3.7	Nukleosomen als unabhängig prognostischer Parameter	102
4.3.8	Zusammenfassung	103
5	Diskussion.....	104
6	Zusammenfassung	120
7	Literaturverzeichnis.....	123
8	Abkürzungsverzeichnis.....	134
9	Danksagung	135
10	Lebenslauf.....	136

1 Einleitung

Der Schlaganfall stellt die häufigste Erkrankung aus dem neurologischen Fachgebiet dar und gilt nach kardialen Ereignissen und bösartigen Neubildungen als die dritthäufigste Todesursache in Deutschland. Er ist zugleich der häufigste Grund für eine lebenslange Behinderung im Erwachsenenalter und somit für eine langfristige rehabilitative Behandlung.

Es ist somit von erhöhtem Interesse, die Diagnostik und Therapiemöglichkeiten der zerebralen Ischämie zu verbessern, um zum frühestmöglichen Zeitpunkt mit gezielten Rehabilitationsmaßnahmen wie Krankengymnastik, Gedächtnis- oder Sprachtraining die Prognose und das Outcome verbessern zu können.

In der Routinediagnostik des Schlaganfalls sind vor allem bildgebende Verfahren wie die Computertomographie und Kernspintomographie, gegebenenfalls ergänzt durch angiographische Techniken, zur Lokalisationsbestimmung und Größenabschätzung des ischämischen Areals von Bedeutung. Doppler- und Duplexsonographie, Langzeit-EKG sowie die transthorakale Echokardiographie werden zur Ursachensuche für das ischämische Ereignis eingesetzt.

Klinische Scores zur Einschätzung der Selbstversorgungsmöglichkeit des Patienten werden sowohl bei Aufnahme als auch bei Entlassung erhoben und sind für die anschließenden Rehabilitationsmaßnahmen und die eventuelle Einleitung einer häuslichen Versorgung von großer Bedeutung.

Anhand eines prognoserelevanten Markers wäre es möglich, sehr früh mit gezielten krankengymnastischen oder neuropsychologischen Übungen die Defizite zu verringern und die Selbstständigkeit des Patienten bestmöglich wiederherzustellen.

Es gibt wenige laborchemische Parameter, die für die Diagnosestellung und Prognosevorhersage nach einer zerebralen Ischämie im Rahmen von klinischen Studien untersucht wurden. Hierzu zählen zum einen die unspezifischen Entzündungsparameter wie das C-reaktive Protein (CRP) und Leukozyten, zum anderen neuronale Destruktionsmarker wie die Neuronenspezifische Enolase (NSE) und das S100-Protein (S100). CRP und Leukozyten

gehören im Gegensatz zu den vorgenannten Neurodestruktionsmarkern zur labortechnischen Routinebestimmung nach Schlaganfall, um infektiologische Komplikationen in der Akutphase rechtzeitig zu erkennen.

In der vorliegenden Arbeit wurde neben den vorgenannten Markern sowohl die Kinetik als auch die diagnostische und prognostische Relevanz der Nukleosomen im Serum bei Patienten mit akutem ischämischem Schlaganfall engmaschig im Verlauf der ersten Woche prospektiv untersucht. Im Gegensatz zu vielen Arbeiten wurde hier als Prognoseparameter die vollkommene Wiederherstellung aller Funktionen definiert und nicht die Mortalitätsrate oder das Auftreten eines Reinfarktes wie in anderen Arbeiten.

Bei Nukleosomen handelt es sich um DNA-Bruchstücke, die an bestimmte Eiweißmoleküle, sogenannte Histone, gebunden sind und im Rahmen der Apoptose freigesetzt werden.

Hinsichtlich der im Plasma zirkulierenden DNA-Fragmente bei Patienten mit akutem Schlaganfall deuten erste Ergebnisse auf eine prognostische Wertigkeit hin. Bei einmaliger Messung 3 Stunden nach Symptombeginn wurden signifikant höhere Konzentrationen bei den Patienten nachgewiesen, die im 6-monatigen Beobachtungszeitraum dann auch verstarben, als bei Patienten, die überlebten (Rainer et al. 2003).

In der vorliegenden Arbeit wurde unter der Annahme dynamischer Prozesse der Verlauf der Parameter während der ersten Woche nach der zerebralen Ischämie untersucht. Folgende Fragen standen dabei im Mittelpunkt des Interesses:

- Kommt es nach zerebraler Ischämie zu einer Veränderung der Konzentrationen der laborchemischen Parameter im Blut?
- Korrelieren die laborchemischen Parameter (Nukleosomen, S100, NSE, CRP und Leukozyten) mit den klinischen Variablen (Bildgebung und klinische Scores)?
- Korrelieren die Wertlagen mit dem Schweregrad der neurologischen Defizite und kann frühzeitig eine Aussage über das Ausmaß der Schädigung getroffen werden?

- Korrelieren die genannten laborchemischen Parameter und die klinischen Variablen (Bildgebung und klinische Scores) mit der Prognose?
- Gibt es nach Symptombeginn einen Zeitpunkt mit der größten prognostischen Wertigkeit?
- Bieten die Nukleosomen oder die andere Neurodestruktions- bzw. Inflammationsmarker zusätzlich zu den als Prognosefaktoren anerkannten klinischen Scores eine weiterführende Information über die Regenerationsfähigkeit der Patienten?

2 Hintergrund

2.1 Nukleosomen als Zelltodparameter

2.1.1 Struktur und Funktion der Nukleosomen

99% der DNA des Menschen liegen als Chromatin im Zellkern vor. Das Chromatin selbst setzt sich aus DNA und Proteinen zusammen. Der gering vorkommende Teil von ungebundener DNA ist in den Mitochondrien lokalisiert. Im Zellkern zeigt sich das Chromatin zum Schutz vor einer endogenen und exogenen Schädigung als kondensiertes und komprimiertes Heterochromatin. Während der Mitose oder für Reparationsvorgänge löst sich das Chromatin von den Histonen und liegt in unkondensierter Form unkomprimiert vor. Nur in dieser Form sind die für Reparatur- und Transkriptionsvorgänge vorgesehen Bindungsstellen der DNA freigelegt und damit zugänglich für dafür spezifische Enzyme (Kornberg und Lorch 1999).

Den Grundbaustein des Chromatins bilden die Nukleosomen. Der Proteinanteil der Nukleosomen besteht aus den Histonen H2A, H2B, H3 und H4, die sich zu einer Oktamerstruktur zusammenlagern. Um diesen Histon-Komplex wickeln sich 145-147 DNA-Basenpaare zu einer Superhelix. Über eine Linker DNA sind die einzelnen Nukleosomen miteinander verbunden (Luger et al. 1997; Rhodes 1997; Strahl und Allis 2000). Die Hauptaufgabe der Nukleosomen stellt die Regulation der Transkription dar. Histone fungieren dabei als Pfortner, indem sie den Transkriptionenzymen die Bindung an die DNA gestatten oder verhindern (Hagmann 1999; Strahl und Allis 2000).

2.1.2 Zelltodmechanismen

Nach irreversibler Schädigung der Zelle tritt der Zelltod ein. In welcher Form die Zellstrukturen dabei verändert werden, hängt von der noch verbleibenden Energieversorgung der Zellen ab.

Es kann zwischen zwei verschiedenen Zelltodformen unterschieden werden, an deren Ende die Nekrose als gemeinsames morphologisches Korrelat steht (Riede und Schaefer 1999).

Beim *onkotischen Zelltod*, ausgelöst durch die Einwirkung unphysiologischer endogener oder exogener Noxen kommt es nach einem Versuch der Zellen, sich der Schädigung anzupassen, durch ein Überschreiten der Anpassungskapazität zum raschen Erliegen der Energiezufuhr. Hieraus resultiert ein Zusammenbruch der Adenosintriophosphat (ATP)-abhängigen Reaktionen, wozu auch die Stabilisierung der Zellmembranen zählen. Dadurch gelang das Chromatin als Bestandteil des Zellkerns in den Extrazellulärraum und findet keinen Schutz mehr vor DNA-frakturierenden Enzymen. Es folgt eine Teilung der DNA in unterschiedlich große Komponenten. (Beaulaton 1986; Bessis 1970; Judah et al. 1965; Kanduc et al. 2002; Lockshin und Beaulaton 1974; Majno und Joris 1995; Nicotera et al. 1998; Owens und Cohen 1992; Searle et al. 1982). Die Onkose wird immer von einer unspezifischen Entzündungsreaktion begleitet.

Bei der *Apoptose* handelt es sich um einen physiologischen Selbstzerstörungsmechanismus einzelner Zellen oder kleinerer Zellverbände. Dieser Mechanismus kann durch die Zelle selbst initiiert werden, z.B. wenn die Zelle ein gewisses Alter erreicht hat und nicht mehr zwingend für die Funktion des Organismus benötigt wird oder wenn exogene Noxen zu einer irreversiblen Schädigung geführt haben (Wyllie 1986; Wyllie et al. 1980). Dabei wird deutlich, dass es ein physiologisches Zellsterben gibt (Wyllie 1987; Wyllie 1987), wie in der Embryonalentwicklung (Meier et al. 2000), der Ausbildung des Immunsystems (Krammer 2000; Ucker 1997), der Aufrechterhaltung von Organfunktionen durch regelmäßige Zellerneuerung (Cotter et al. 1990; Cummings et al. 1997) und dem Alterungsprozess (Warner et al. 1997). Neben dem physiologischen Zelltod existiert ebenso ein pathologischer Zelltod. Dabei kann es sowohl zu hyperproliferativen Erkrankungen wie Malignomen als auch zu degenerativen destruktiven Erkrankungen kommen (Fadeel et al. 1999; Granville et al. 1998; Robertson et al. 2002; Thompson 1995).

Es konnte im Laufe der Zeit eine genetische Regulierung des apoptotischen Zelltodes nachgewiesen werden. Die drei wichtigsten Gene sind das Cell-Death-Gen *ced3* und *ced4*, sowie das *ced9*. *Ced3* und *ced4* kodieren die

Ausführung des Zelltodes, *ced9* schützt vor diesem (Hengartner et al. 1992; Robertson et al. 2002; Steller 1995).

Diese Gene interagieren miteinander, um ein Gleichgewicht zwischen Zelltod und Zell-Leben aufrecht zu erhalten (Golstein 1997).

Zusätzlich von großer Bedeutung sind die *Bcl-2*-Familie, das *c-MYC*-Gen und das *p53*-Protein. Eine Überexpression von *Bcl-2* schützt die Zellen vor der Auslösung des physiologischen, sowie des exogen induzierten Zelltodes. (Saikumar et al. 1999) Das *Bcl2* und das *c-Myc* stellen proliferationsfördernde Komponenten durch Hemmung der Zelltodmechanismen dar (Wagener 1999).

Das *p53*-Gen dagegen beaufsichtigt die Antwort der Zelle auf eine endogene oder exogene Schädigung und leitet bei schwerwiegenden Schäden den apoptotischen Zelltod ein (Levine 1997; Webb et al. 1997; Albrechtsen et al. 1999; Woods und Vousden 2001). Für das *p53* konnte eine wichtige Rolle in der Karzinogenese nachgewiesen werden. Mutationen in diesem Gen führen häufig zur Entstehung von Malignomen. *p53* dient als Tumorsuppressor-Gen (Levine 1997).

Es existieren zwei verschiedene Induktionswege der Apoptose: zum einen der rezeptorvermittelte Weg. Dabei kommt es durch die Bindung von TNF alpha und CD95 an die Rezeptoren zur Aktivierung von Caspasen im Zellinneren (Ashkenazi und Dixit 1998; Riede und Schaefer 1999; Krammer 2000).

Zum anderen gibt es den mitochondrien-vermittelten Weg. Aus geschädigten Mitochondrien kommt es zur Freisetzung von Apoptosefaktoren. Hierzu werden Cytochrom C und der mitochondriale Apoptosefaktor AIF gezählt, die zu einer Aktivierung von Caspasen führen (Green und Reed 1998; Riede und Schaefer 1999; Hengartner 2000; Krammer 2000).

Nach Induktion des Zelltodes kann die Zelle aktiv oder passiv zugrunde gehen. Ein aktives Absterben wird bei noch erhaltenen zellulären Funktionen und Strukturen eingeleitet, hingegen im anderen Fall ein passiver Untergang der Zelle erfolgt (Wyllie 1994; Majno und Joris 1995; Darzynkiewicz et al. 1997).

Die Summe der Veränderungen beim partiellen oder totalen Zelltod wird Nekrose genannt.

Im Verlauf des apoptotischen Zelltodes bleibt die Energieversorgung der Zellen noch über einen längeren Zeitraum aufrecht erhalten. Hieraus resultiert ein geordneter Abbau von zellulären Bestandteilen, somit auch des Chromatins. Das Chromatin wird durch spezielle Endonukleasen in spezifische große Bruchstücke gespalten.

2.1.3 Nachweis von zirkulierenden Nukleosomen

1948 wurden zirkulierende Nukleinsäuren im Plasma und Serum erstmalig von Mendel und Metais beschrieben (Mandel und Metais 1948). Bei Gesunden und bei Patienten mit benignen Erkrankungen können die nukleosomalen Komplexe von Lymphozyten, nukleären Blut- oder anderen Körperzellen freigesetzt werden. Generell können sie passiv im Rahmen des onkotischen oder apoptotischen Zelltods sowie von Tumorzellen mit Anschluss an das Gefäßsystem oder aktiv von lebenden Zellen sezerniert werden (Stroun et al. 2000; Lichtenstein et al. 2001). Anhand zirkulierender DNA-Fragmente lässt sich nicht eindeutig zuordnen, welcher Form des Zelltodes sie entstammen. Es wurde allerdings gezeigt, dass es bei gezielter Apoptose-Auslösung zu einem vermehrten Vorkommen von mono- und oligonukleosomaler DNA kommt, hingegen bei Induktion des onkotischen Zelltods überwiegend große DNA-Bruchstücken im Plasma nachgewiesen werden können (Leist und Jaattela 2001).

Zirkulierende DNA kann in freier Form, an Proteine (Histone) gebunden oder verpackt in apoptotische Körperchen verpackt vorliegen. Die DNA-Histon-Komplexe werden als Nukleosomen bezeichnet.

Da die verschiedenen Zelltodarten häufig zeitgleich in einer Zelle ablaufen, kann anhand der gemessenen Nukleinsäuren keine eindeutige Aussage über die Art des Zelltodes getroffen werden (Holdenrieder et al. 2001; Unal-Cevik et al. 2004).

Bei Gesunden lassen sich nur sehr geringe Mengen an DNA-Fragmenten mit Werten zwischen 10 und 30 ng/ml nachweisen. (Steinman 1975; Sorenson et al. 1994; Anker 2000), Bei autoimmunbedingten Erkrankungen wie dem systemischen Lupus erythematodes werden deutlich höhere Wertlagen

gemessen (Holdenrieder et al. 2001; Holdenrieder und Stieber 2004; Pisetsky 2004; Holdenrieder et al. 2006), die höchsten Konzentrationen jedoch bei Patienten mit Malignomen beobachtet (Leon et al. 1977; Shapiro et al. 1983; Maebo 1990; Fournie et al. 1995; Holdenrieder et al. 2001).

2.2 Zerebrale Ischämie

2.2.1 Epidemiologie

Der Schlaganfall ist mit 11,4% die häufigste aller neurologischen Erkrankungen und nimmt damit den 3. Platz der Todesursachen in Deutschland ein (Anonymous 1998). An erster und zweiter Stelle stehen Herzerkrankungen und onkologische Krankheitsbilder. Da der Schlaganfall als die häufigste Ursache für eine lebenslange Behinderung im Erwachsenenalter gilt, ist er auch als der häufigste Grund für eine Langzeit-Rehabilitation anzusehen (Kurtzke 1982). Da das Schlaganfallrisiko mit zunehmendem Alter ansteigt, muss aufgrund der steigenden Lebenserwartung in Deutschland mit einer Zunahme der Inzidenz für Schlaganfälle gerechnet werden (Malmgren et al. 1987). Das statistische Bundesamt hat den Anteil der über 65-Jährigen im Jahr 1999 mit 16% der Gesamtbevölkerung angegeben. Infolge demographischer Hochrechnungen soll der Anteil der über 65 Jährigen bis zum Jahr 2030 auf 33% gestiegen sein (Opitz 1995). Aufgrund dieser Entwicklung wird es zur Überlastung sowohl vorhandener Versorgungseinrichtungen in der Phase des akuten Geschehens kommen als auch in der Nachsorgebehandlung in Form von Rehabilitation und häuslicher Pflege.

2.2.2 Risikofaktoren

2.2.2.1 Zerebrovaskuläre Risikofaktoren

Der Schlaganfall wird definiert als fokal neurologisches Defizit aufgrund einer Perfusionsstörung im Gehirn mit einer Dauer von mindestens 24 Stunden. Es kann ein ischämischer und ein hämorrhagischer Hirninfarkt unterschieden werden. Als Ursachen für einen hämorrhagischen Infarkt werden Diapedeseblutungen im Bereich eines ischämischen Infarktgebietes

angesehen. Sie entstehen auf dem Boden einer durch die Ischämie erhöhten Permeabilität der Kapillaren (Hamann et al. 2002). Als Ursache für Hirninfarkte kommen eine Reihe von Risikofaktoren in Betracht, von denen einige zum Teil gut therapiert werden können, auf andere kein Einfluss genommen werden kann. In Tabelle 1 sind die Risikofaktoren und die damit verbundenen relativen Häufigkeiten für kardiovaskuläre Ereignisse dargestellt. Zu den Hauptrisikofaktoren zählen die Arteriosklerose, die Kardioembolie und die Mikroangiopathie (Hamann et al. 2002).

Herzinfarkt	Ursachen	Hirninfarkt
0%	Arterio-arteriell-embolisch (Arteriosklerose)	60%
1%	Kardiale Embolie (Herzerkrankungen; HF; Gerinnungsstörungen)	15%
0%	Arteriöläre Hyalinose = lakunärer Infarkt (Hypertonus)	15%
1%	Hämodynamische Ischämie (Blutdruckabfall)	<5%
96%	Plaque-Ruptur / In situ-Thrombose (Gerinnungsstörungen; Arteriosklerose)	3%

Tabelle 1: *Relative Häufigkeit von Ursachen von Herz- oder Hirninfarkten*

Die Arteriosklerose führt zu einer Stenosierung der hirnversorgenden Arterien. Durch die Entstehung eines Thrombus an der Engstelle oder einer Embolie kann es zum kompletten Verschluss eines Gefäßes kommen (sogenannte Makroangiopathie). Betrifft der Verschluss eine Hauptarterie oder einen Hauptarterienast wird der hieraus resultierende Infarkt Territorialinfarkt genannt. Kommt es aufgrund einer höhergradigen Stenose oder eines Verschlusses von vorgeschalteten Gefäßen zur Minderperfusion als Fernwirkung, wird dies als Endstrominfarkt bezeichnet. Als Grenzzoneninfarkt wird die Form der Ischämie klassifiziert, bei der es im Rahmen einer simultanen Minderperfusion zweier Endstromarterien im am weitesten distal gelegenen Areal eine Infarzierung entsteht.

Vaskuläre Risikofaktoren begünstigen die Entstehung der Arteriosklerose. Hierzu zählen als alleinige Faktoren der arterielle Hypertonus, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie und Nikotinabusus, als syndromaler Faktor das metabolische Syndrom.

Im Rahmen kardialer Erkrankungen kann es auch zur Streuung thrombotischen Materials mit der Folge des Verschlusses einer der hirnversorgenden Arterien kommen. Als häufigste Ursachen für kardial bedingte Embolien sind Ersatzklappen, Endokarditiden, der akute Myokardinfarkt und Herzrhythmusstörungen, darunter am häufigsten das Vorhofflimmern, zu nennen. Arterieller Hypertonus und Diabetes mellitus können zusätzlich eine Mikroangiopathie bedingen. Dies führt zu einer Lipohyalinose der kleinen Arteriolen, besonders im Bereich der Stammganglien und des Hirnstammes. Zerebrale Infarkte im Rahmen einer Mikroangiopathie werden als lakunäre Infarkte bezeichnet. Als weitere Ursachen für zerebrale Ischämien müssen die Dissektion eines Gefäßes, Vaskulitiden, bakterielle Entzündungen, bestimmte Gerinnungsstörungen und die Einnahme von Antikonzeptiva in Betracht gezogen werden (Hamann et al. 2002).

In den Tabelle 2 und 3 sind zerebrovaskuläre Risikofaktoren mit vermutetem und gesichertem Kausalzusammenhang, getrennt nach therapeutischer Beeinflussbarkeit zusammengefasst (Sacco et al. 1997).

therapeutisch nicht beeinflussbar

- Klima
- Jahreszeit

therapeutisch zum Teil beeinflussbar

- Lebensumstände:
Stress, Bewegungsmangel,
Erziehung, sozialer Status
und Ernährung
 - Alkohol / Drogen
 - Orale Kontrazeption
 - Östrogensubstitution
(Menopause)
 - Migräne
-

Tabelle 2: *Risikofaktoren der zerebralen Ischämie mit vermutetem Kausalzusammenhang*

therapeutisch nicht beeinflussbar:	
• Alter	• Familiäre Belastung
• Geschlecht	• ethnische Zugehörigkeit
therapeutisch zum Teil beeinflussbar:	
• Diabetes mellitus	• Hyperhomocysteinämie
• Hyperlipidämie	
therapeutisch beeinflussbar:	
• arterieller Hypertonus	• vorangegangene TIA
• kardiale Erkrankungen	• Karotisstenose
• Nikotinabusus	

Tabelle 3: *Risikofaktoren der zerebralen Ischämie mit gesichertem Kausalzusammenhang*

Monogene Erkrankungen mit Schlaganfall als zentralem Symptom der Erkrankung

- Erkrankungen mit ischämischen Schlaganfällen (z.B. CADASIL-Syndrom - cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy)
- Erkrankungen mit hämorrhagischen Schlaganfällen (familiäre Kavernome)
- Erkrankungen mit ischämischen und hämorrhagischen Schlaganfällen (Amyloid-Angiopathie, Moya-Moya-Erkrankung)

Monogene Erkrankungen mit Schlaganfällen als Teil eines komplexeren Syndroms

- Hereditäre hämorrhagische Teleangiectasien
- MELAS-Syndrom (Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke like episodes)
- M. Fabry
- Bindegewebserkrankungen (Ehlers-Danlos-Syndrom, Marfan-Syndrom, Pseudoxanthoma elasticum)
- Neurokutane Syndrome (Neurofibromatose Typ I, Tuberöse Sklerose)
- Autosomal dominant vererbte polyzystische Nieren
- Homocysteinurie

Tabelle 4: *Monogene Erkrankungen mit gehäuftem Vorkommen zerebraler Ischämien*

2.2.2.2 Monogene Erkrankungen als Schlaganfallursache

Genetisch bedingte Erkrankungen bedingen nur einen sehr geringen Prozentsatz der Schlaganfallursachen. Sie sollen an dieser Stelle tabellarisch erwähnt, jedoch nicht weiter behandelt werden. Tabelle 4 zeigt zusammenfassend die monogenen Erkrankungen, bei welchen der Schlaganfall das zentrale Symptom (z.B. CADASIL - cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy) darstellt und diejenigen, bei welchen der Schlaganfall als Teil eines komplexen Syndroms (z.B. Marfan-Syndrom) vorkommt (Pavlakakis et al. 1984; Chapman et al. 1992; Grewal 1994; Rizzo und Lessell 1994; Guttmacher et al. 1995; De Paepe et al. 1996; Dichgans et al. 1998; Labauge et al. 1998; Crino und Henske 1999; Desmond et al. 1999; Brunereau et al. 2000; Pepin et al. 2000; Ringpfeil et al. 2000; Auer et al. 2001; Hamann et al. 2002).

2.2.3 Pathogenese und Pathophysiologie

2.2.3.1 Pathogenese

Das Gehirn hat im Vergleich zu anderen Organen des Körpers einen hohen Bedarf und Verbrauch an Sauerstoff und Glukose. Sein Tagesbedarf beträgt 75l Sauerstoff und 115 g Glukose. Die Sicherstellung der Versorgung wird durch eine ausreichende Durchblutung gewährleistet.

Das Gehirn wiegt geschlechtsabhängig ungefähr 1200 bis 1400 Gramm und macht somit ca. 2% des Körpergewichtes aus. Es beansprucht 16-17% des Herzminutenvolumens und 20% des Sauerstoffbedarfes des Körpers. Die Perfusion des Erwachsenen beträgt 50ml/100g/min. Kommt es aufgrund einer Perfusionsminderung zu einer Sauerstoffminderversorgung des Gehirns kann dies zu reversiblen oder irreversiblen Schädigungen führen. Eine temporäre Verminderung des Blutflusses auf 20ml/100g/min zieht noch keine Veränderungen nach sich. Sinkt die Durchblutung dagegen auf 15ml/100g/min kommt es zum Erliegen elektrophysiologischer Vorgänge und bei einer Perfusion von weniger als 6-8ml/100g/min folgt der irreversible Funktionsverlust (Siegenthaler 2001).

Grundsätzlich können zwei Formen der zerebralen Ischämie unterschieden werden: die fokale und die globale Ischämie.

Ursache für eine globale Minderperfusion ist meist der vorübergehende Herzstillstand oder das „Beinahe-Ertrinken“ (Hamann et al. 2002). Bei einer globalen Sauerstoff-Minderversorgung, ist nach 6-8 Sekunden jeglicher Sauerstoff verbraucht, es kommt nach 10-12 Sekunden zur Bewusstlosigkeit und nach 4-5 Minuten bereits zu nekrotischen Veränderungen. Wird eine globale Ischämie überlebt, kommt es zur Entwicklung einer verzögerten, selektiv neuronalen Vulnerabilität (Siegenthaler 2001; Hamann et al. 2002).

Die fokale Ischämie ist in der Regel die Folge einer transienten oder permanenten Verminderung der Perfusion, die auf das Gebiet einer großen hirnversorgenden Arterie beschränkt ist.

Bei der fokalen Ischämie kann ein Kernbereich, der Core, von der Penumbra, dem Kernschatten, abgegrenzt werden. Der Core stellt das Zentrum des Perfusionsdefizits dar. Der Blutfluß beträgt hier maximal noch 20% der normalen Perfusionsmenge. Schon wenige Minuten nach Beginn der Ischämie kommt es in diesem Bereich aufgrund von ATP-Mangel zur dauerhaften Depolarisation der Zellen. Dies führt zur Proteo- und Lipolyse und damit zum irreversiblen Funktionsverlust der Zellen. In der Penumbra hingegen ist aufgrund der minimalen Restdurchblutung das Gewebe nur inkomplett geschädigt und kann im weiteren Verlauf zum Teil komplett infarziert werden oder sich wieder erholen. Daher ist die Aufrechterhaltung der Perfusion in der Penumbra für die Therapie des Schlaganfalls von großem Interesse (Dirnagl et al. 1999).

Auf zellulärer Ebene kommt es als Folge der Ischämie zum kompletten Verbrauch von Sauerstoff und Glukose. Durch den daraus resultierenden Mangel an Energie in Form von ATP bricht das Ruhemembranpotential der Zellen zusammen. Daraus resultiert eine anhaltende Depolarisation der Zellen, die zur Öffnung präsynaptischer und somatodendritischer spannungsabhängiger Kalziumkanäle führt. Eine vermehrte Freisetzung von Glutamat in den Extrazellulärraum exzitotoxisch und aktiviert die Genexpression für Inflammationsgene (Dirnagl et al. 1999).

Glutamat selbst bindet an verschiedene Rezeptoren und bewirkt in der Folge eine erhöhte Freisetzung von Kalzium in den Intrazellulärraum (IZR). So wird über den ionotropen Glutamatrezeptor *N-Methyl-D-Aspartat* (NMDA) eine vermehrte Permeabilität für Kalzium, Natrium und Kalium bewirkt. Ihre Permeabilität in den Neuronen für Kalzium liegt um das fünfzigfache höher als die der AMPA-Rezeptoren (α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure). Die physiologische Blockade dieses Rezeptors wird durch Magnesium sichergestellt. Über die AMPA-Rezeptoren erfolgt ein vermehrter Einstrom von Natrium. Durch die damit verbundene Depolarisation wird die Magnesiumblockade des NMDA-Rezeptors aufgehoben und es kommt zur indirekten Erhöhung des Kalzium-Einstroms. Durch Verbindung mit dem metabotropen Rezeptor wird Phospholipase C aktiviert und das entstehende Inositoltriphosphat (IP₃) setzt Kalzium aus dem Extrazellulärraum frei. Zusammenfassend bewirkt das vermehrte intrazelluläre Kalzium den passiven Einstrom von Natrium und Chlorid, was die Ausbildung eines Ödems nach sich zieht.

Die Bindungen an die verschiedenen Rezeptoren könnten Möglichkeiten für Therapieansatzpunkte stellen, sie sind leider bisher aber nur im Tierversuch erprobt worden und fanden wegen methodischer Probleme und Nebenwirkungen noch keine in-vivo-Anwendung.

Durch den Anstieg des Kalziums über die Glutamat-Rezeptor-Bindung kommt es zur Aktivierung proteolytischer Enzyme, zur Aktivierung von Phospholipase A₂ und Cyclooxygenase mit Entstehung freier Radikale, die zu Mitochondrienschäden führen können. Die geschädigten Mitochondrien setzen Cytochrom C frei und induzieren damit die Apoptose.

Dabei spielen sog. Caspasen eine Schlüsselrolle, die die DNA in Bruchstücke spalten. Neurone scheinen für den durch Caspasen induzierten apoptotischen Zelltod besonders anfällig zu sein. Vor allem trifft dies für die Nervenzellen der Penumbra zu. Eine Blockade der Caspasen könnte das Erliegen des Energiestoffwechsels in den Neuronen der Penumbra verhindern und somit das Volumen untergehender Neurone reduzieren (Dirnagl et al. 1999; Siegenthaler 2001; Hamann et al. 2002).

2.2.3.2 Pathophysiologie

Wie oben beschrieben kommt es als Folge der Minderperfusion und der damit verbundenen Minderversorgung mit Sauerstoff und Glukose zur Schädigung durch verschiedene Mechanismen. Diese können sich im Verlauf von Stunden bis hin zu Wochen entwickeln. Sie unterliegen dabei allerdings bestimmten zeitlichen Abläufen. An erster Stelle steht die sog. Exzitotoxizität, die vor allem durch die gesteigerte Freisetzung von Glutamat gekennzeichnet ist (siehe oben). Anschließend folgt die Peri-Infarkt-Depolarisation. Hierunter versteht man die Aufeinanderfolge von De- und Repolarisation. Diese betrifft vor allem die Neurone in der Penumbra. In diesem Gebiet ist eine Repolarisation der neuronalen Zellen im Anschluß an die Depolarisation durch den noch minimal aufrecht erhaltenen Energiehaushalt zwar möglich, aber infolge der Exzitotoxizität kommt es sofort wieder zur Depolarisation. Als dritte Phase folgt die Inflammation. Die Genexpression für die Phase der Inflammation findet zu Beginn der Ischämie statt. Durch die Inflammationsgene werden verschiedene Entzündungsmediatoren gebildet, wie z.B. der Plättchen aktivierende Faktor (PAF), Tumor Nekrose Faktor-alpha (TNF- α) und Interleukin 1-beta. Durch diese wird die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen angeregt. Dies führt zu Leukozyten-Endothel-Interaktionen, die letztlich zur Einwanderung von Leukozyten in das Hirnparenchym führen (Dirnagl et al. 1999; Siegenthaler 2001; Hamann et al. 2002).

Am Ende der Kaskade steht die Apoptose. Diese ist ein dem physiologischen Zelltod verwandter aktiver Mechanismus, der von der Nekrose abgegrenzt werden kann. Letztere ist überwiegend bei akutem und vollständigem Verschluss der zerebralen Gefäße zu beobachten. Allerdings kann ein und derselbe Reiz aufgrund seiner Stärke sowohl nekrotische als auch apoptotische Vorgänge in Gang setzen (Bonfoco et al. 1995). Bei der fokalen Ischämie kommt nach einer kurzen Ischämiezeit im minderversorgten Gebiet zum selektiven Tod von Neuronen nach einigen Tagen (sog. selektive Parenchymnekrose). Dabei können vermehrt apoptotische Mechanismen

nachgewiesen werden (Endres et al. 1998). Somit führen kürzere Ischämiezeiten vermehrt zum apoptotischen Zellsterben.

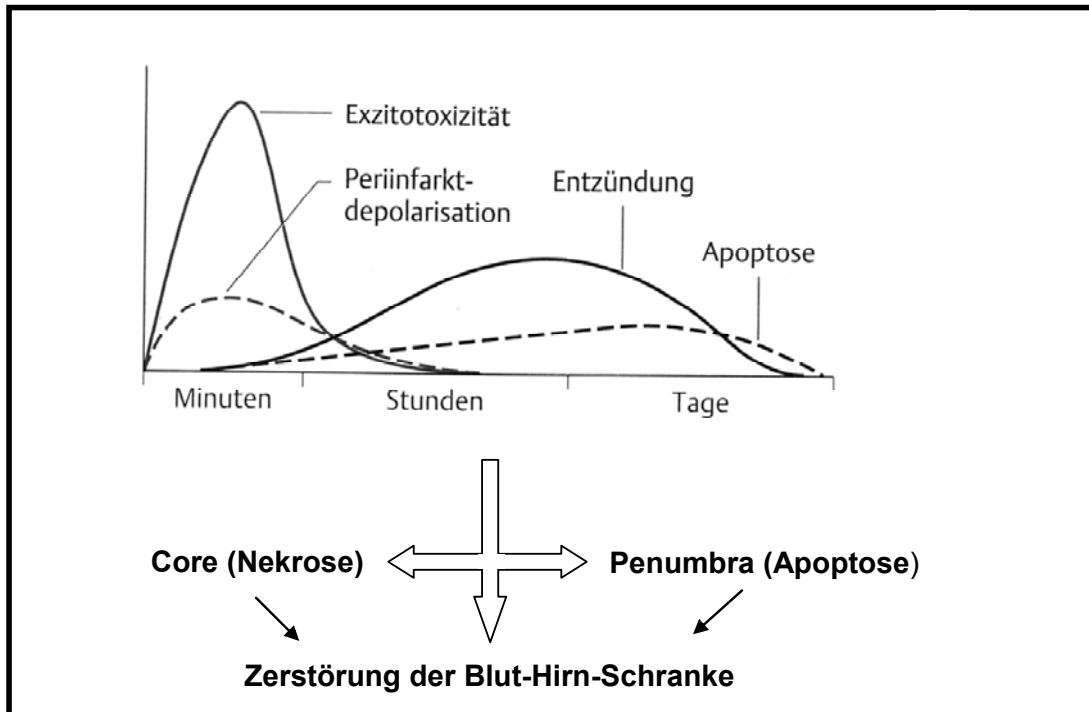


Abbildung 1: Zeitliche Abfolge der zellschädigenden Mechanismen bei der fokalen zerebralen Ischämie

Als Hinweis, dass es bei der zerebralen Ischämie tatsächlich zur Apoptose und dem Caspasen-induzierten Zelltod kommt, konnten folgende Merkmale gefunden werden: Zum einen konnte in der ischämischen Penumbra apoptotisches DNA-Laddering sowie die Markierung apoptotischer DNA mittels TUNEL nachgewiesen werden (Endres et al. 1998). Hierbei handelt es sich um den Nachweis von Einzelstrangbrüchen in der genomischen DNA bei der Untersuchung von Gewebe unter dem Lichtmikroskop. Des Weiteren kommt es bereits Stunden vor dem morphologischen Schaden zur Aktivierung der Caspasen 1 und 3 im Ischämiegebiet. Caspasen spielen eine Hauptrolle bei der Apoptose. Sie gehören der Familie der Cysteinproteasen an. Bisher konnten 12 Caspasen identifiziert werden, von denen bei der Ischämie insbesondere die Vorgenannten von Bedeutung sind. Bei Tieren mit inaktiver oder deletierter Caspase 1 konnten zum Beispiel nur kleinere Schlaganfall-Areale

nachgewiesen werden (Friedlander et al. 1997; Hara et al. 1997; Namura et al. 1998; Schielke et al. 1998).

Der Gewebeuntergang nach zerebraler Ischämie kommt also durch das Zusammenspiel mehrerer Pathomechanismen zustande. Hierzu zählen die Exzitotoxizität, die Peri-Infarkt-Depolarisation, die Inflammation und die Apoptose. Alle vier Mechanismen können Ansatzpunkte für die Therapie des Schlaganfalles darstellen. Die Reperfusion ist jedoch stets das primäre Therapieziel, da zu Beginn der Ischämie immer eine Perfusionsstörung steht. Es könnten in naher Zukunft reperfundierende Maßnahmen mit neuroprotektiven Mechanismen kombiniert werden, um die Effektivität therapeutischer Maßnahmen zu optimieren (Martin et al. 1994; Bonfoco et al. 1995; Majno und Joris 1995; Hossmann 1996; Iadecola et al. 1997; Nogawa et al. 1997; O'Neill und Kaltschmidt 1997; Endres et al. 1998; Ruscher et al. 1998; Dirnagl et al. 1999; Siegenthaler 2001; Hamann et al. 2002;).

2.2.4 Physiologische Faktoren

Für physiologische Faktoren wie Temperatur, Sauerstoff, Blutdruck und Glukose konnte sowohl im Tierexperiment als auch in klinischen Studien ein eine bedeutsame Rolle mit dem Outcome nach Schlaganfall nachgewiesen werden (Masuhr und Einhaupl 1999).

Eine erhöhte *Körpertemperatur* findet sich häufig in der Akut- und Subakutphase bei Schlaganfallpatienten. Es konnte tierexperimentell nachgewiesen werden, dass eine subfebrile oder febrile Temperaturen zu einer Vergrößerung des Infarktareals und daher zu einer höheren Mortalitätsrate führen kann. Hypothermie dagegen kann die Größe des Infarktareals reduzieren. Somit sollte die Körpertemperatur im Verlauf des akuten Schlaganfalls engmaschig kontrolliert und bereits bei Temperaturen über 37,5°C durch physikalische und medikamentöse Maßnahmen gesenkt werden. Bei Patienten mit Schlaganfall, insbesondere im Bereich des Hirnstammes und bei vorbestehenden Lungenfunktionseinschränkungen ist die Gefahr von *Hyperkapnie* und *Hypoxie* erhöht ist. Beide führen in Tierexperimenten zu einer Vergrößerung des ischämischen Areal. Trotz Vasodilatation im Rahmen einer

Hyperkapnie kommt es in der Penumbra zu keiner Steigerung der Perfusion, da bereits eine maximale Vasodilatation besteht (Steal-Phänomen). Patienten mit zerebraler Ischämie sollten daher bei drohender Hypoxie oder Hyperkapnie frühzeitig intubiert und maschinell beatmet werden.

Die intrakraniellen hirnversorgenden Gefäße unterliegen einem Autoregulationsmechanismus, der in Abhängigkeit vom systemischen Blutdruck, den Blutgaswerten und dem pH-Wert steht. Der systemische Blutdruck wird somit zu den physiologischen Outcome-Kriterien gezählt. Bei steigendem Blutdruck kommt es zu einer Konstriktion der Arteriolen, bei sinkendem Blutdruck zu einer Arterioldilatation. Die Hirnperfusion kann durch die Autoregulation innerhalb der Blutdruckgrenzen von 60-160 mmHg konstant gehalten werden. In experimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass es im Rahmen einer Ischämie zu einer schweren Schädigung der Autoregulation der Gehirngefäße kommt. Als Folge hängt der Perfusionsdruck nur noch vom arteriellen Blutdruck ab. Ein zu niedriger Blutdruck führt somit zu einer Minderperfusion und ist mit einer schlechteren Prognose verbunden, hingegen ein erhöhter Blutdruck die Aufrechterhaltung der Perfusion gewährleistet. Obwohl es auf diesem Gebiet noch keine beweisenden klinischen Studien gibt, sollte der Blutdruck bei Patienten mit einer akuten zerebralen Ischämie hochnormal gehalten werden. Ein systolischer Blutdruck bis 220 mmHg und ein diastolischer bis 115 mmHg können toleriert werden (Jorgensen et al. 1994; Haberl 1998; Einhäupl 1999; Steiner 1999; Steiner T 1999).

Durch erhöhte Blutzuckerspiegel wird vorrangig der anaerobe Weg der Glykolyse mit einer anschließenden Laktat-Akkumulation begünstigt. Erhöhte Serumglukosespiegel sind somit mit einem schlechten Outcome verbunden und sollten verhindert werden (Jorgensen et al. 1994; Einhäupl und Masuhr 1996; Haberl 1998). Eine Hypoglykämie hingegen kann durch die Freisetzung von Zytokinen des Extrazellulärraumes zu einer Neuronenschädigung und zu einem Absinken Krampfschwelle führen. Zu niedrige Blutzuckerspiegel sollten ebenso wie erhöhte Spiegel vermieden und rechtzeitig therapiert werden (Hamann et al. 2002).

2.3 Klinische Symptomatik

Die Blutversorgung des Gehirns wird über die hirnversorgenden Arterien gewährleistet. Sie lassen sich in eine vordere und eine hintere Strombahn unterteilen. Beide Strombahnen sind an der Hirnbasis durch den Circulus arteriosus Willisii, einem arteriellen anastomosierenden Gefäßring, miteinander verbunden.

Die vordere Strombahn beinhaltet das Stromgebiet der Arteriae carotis interna beidseits. Die Arteria carotis interna ist über Ihre Aufzweigungen, die Arteria cerebri media und die Arteria cerebri anterior, vor allem für die Blutversorgung des Frontallappens, des Parietallappens, von Teilen des Temporallappens, der Basalganglien und der Capsula interna verantwortlich.

Die hintere Strombahn wird aus dem vertebrobasilären Stromgebiet und der Arteria cerebri posterior gebildet. Bei einer Durchblutungsstörung der hinteren Strombahn sind der Hirnstamm, das Kleinhirn und Okzipitallappen betroffen.

Jede Arterie des vorderen und hinteren Stromgebietes kann durch eine Embolie oder Thrombose verschlossen werden und führt zu einer nachfolgenden Minderdurchblutung mit zerebraler Ischämie. Die Symptome und das Ausmaß des neurologischen Defizits hängen dabei vom Versorgungsgebiet des jeweils verschlossenen Gefäßes, der Ausdehnung des Verschlusses (Hauptstamm-, Arterienast- oder Arteriolenverschluss) und von vorhandenen Kollateralkreisläufen ab. In Tabelle 5 sind die Kardinalsymptome bei zerebraler Ischämie, getrennt nach versorgendem Gefäß kurz zusammengefasst.

2.3.1 Infarkt der Arteria cerebri media

Ein Infarkt durch einen Verschluss der Arteria cerebri media (ACM) ist die häufigste Form des ischämischen Schlaganfalls. Die ACM ist die intrazerebrale Fortsetzung der A. carotis interna (ACI) und mit 3 mm Durchmesser die stärkste intrazerebrale hirnversorgende Arterie. Sie ist für die Versorgung von 2/3 einer Großhirnhemisphäre zuständig und kann aufgrund ihres weitreichenden Versorgungsgebietes zu einem weiten Spektrum klinischer Symptome führen. In Abhängigkeit der betroffenen Hemisphäre (dominant oder nicht-dominant)

und der Hirnregion (Frontalhirn, Parietallappen, Inselregion, Temporallappen, Kortex oder subkortikale Strukturen) kann es zu verschiedenen Kombinationen sensibler und motorischer Ausfälle, visueller Symptome und neuropsychologischer Syndrome wie Aphasie, Apraxie, Neglect oder Anosognosie kommen (Hamann et al. 2002; Masuhr und Neumann 2005).

Versorgendes Gefäß bzw. Hirnregion	Leitende Symptome
A. cerebri anterior	Beinbetonte (senso-) motorische Hemiparese, zerebrale Blasenstörung
A. cerebri media	Brachiofacial betonte (senso-) motorische Hemiparese, Aphasie, Neglect
A. cerebri posterior	Hemihypästhesie, Hemianopsie
Hirnstamminfarkt und Basilaristhrombose	Diplopie, Dysarthrie, Dysphagie, beinbetonte Tetraparese, Ataxie, Okulomotorikstörung.
Kleinhirnininfarkt	cerebelläre Ataxie mit Intentionstremor, Nystagmus, Dysmetrie, und Dysarthrophonie

Tabelle 5: *Leitsymptome nach zerebraler Ischämie in Abhängigkeit der Hirnregion bzw. des Versorgungsgebietes eines Gefäßes*

2.3.2 Infarkt der Arteria cerebri anterior

Ein Verschluss der Arteria cerebri anterior (ACA) ist mit 0,6-3% aller Hirninfarkte im Vergleich zu den ACM-Infarkten eher selten. Häufiger zu beobachten hingegen ist ein kombinierter ACA- / ACM-Infarkt. Anatomisch geht die ACA als medialer Ast aus der Bifurkation der Arteria carotis interna hervor. Auch hier kommt es bei Infarzierung vor allem zu beinbetont sensomotorischen Symptomkomplexen. Zusätzlich kann eine Harninkontinenz bei Beteiligung des zentralen Blasenentrums vorliegen (Hamann et al. 2002; Masuhr und Neumann 2005).

2.3.3 Infarkt der Arteria cerebri posterior

Infarkte im Versorgungsgebiet der Arteria cerebri posterior bedingen 5-10% aller zerebralen Insulte. Das durchschnittliche Alter für das Auftreten von Posteriorinfarkten liegt bei 55 Jahren und somit niedriger als bei Infarkten in anderen Versorgungsgebieten (Brandt et al. 1995; Hamann et al. 2002).

Die A. cerebri posterior nimmt ihren Ausgang von der Bifurkation der A. basilaris und versorgt Teile des Temporallappens mit dem Hippocampus, des Parietal- und Okzipitallappens, den größten Teil des Thalamus und Teile des Mittelhirns. Die Hauptsymptome sind eine kontralaterale Hemihypästhesie und Hemi- oder Quadrantenanopsie zur Gegenseite.

2.3.4 Hirnstamminfarkte und Basilaristhrombosen

Zu den Hirnstamminfarkten werden Ischämien der Medulla oblongata, des Pons und des Mesenzephalons gerechnet. Zu den wichtigsten Symptomen der Hirnstamminfarkte zählen Schwindel, Erbrechen, Doppelbilder, Dysarthrie, Dysphagie und gekreuzte Symptome, ebenso beinbetonte Tetraparesen und Ataxien auf. Am häufigsten wird der dorsolaterale Medulla-oblongata-Infarkt (Wallenberg-Syndrom) diagnostiziert. Er ist für 2% aller Infarkte verantwortlich und entsteht durch Verschluss der A. cerebelli inferior posterior, einem Abgang der A. vertebralis. Die klassische Symptomatik ist ein ipsilaterales Horner-Syndrom mit Hemianhidrose und Sensibilitätsstörung des Gesichts, eine ipsilaterale Gaumensegelparese und Hemiataxie sowie eine kontralaterale, dissoziierte Sensibilitätsstörung.

Kommt es zum Verschluss der Arteria basilaris (Basilaristhrombose), können Kombinationen aus Mittelhirn-, Pons-, und Medulla oblongata-Symptomen mit beidseitigen Pyramidenbahnzeichen auftreten.

2.3.5 Kleinhirnininfarkte

Die Blutversorgung des Kleinhirns erfolgt über drei Arterien, die Arteria cerebelli superior (SCA), Arteria cerebelli inferior anterior (AICA) und über die bereits erwähnte Arteria cerebelli inferior posterior (PICA). Infarkte des Kleinhirns

machen 1-10% aller Infarkte aus und rufen vorwiegend Symptome wie Koordinations- (Feinabstimmung zielgerichteter Bewegungen, Ataxie) und Sprechstörungen hervor. Aufgrund der gemeinsamen Gefäßversorgung von Kleinhirn und Hirnstamm können Zerebelluminfarkte kombiniert mit Infarkten des Hirnstammes auftreten.

2.3.6 Sinus-/Hirnvenenthrombosen

Bei Thrombose eines Sinus bzw. einer Hirnvene (sog. Sinus- bzw. Venenthrombose, SVT) handelt es sich um eine Untergruppe der Hirninfarkte, die jedoch nicht auf einer Ischämie eines arteriellen hirnversorgenden Gefäßes beruht, sondern durch eine Perfusionsstörung aufgrund eines thrombotischen Verschlusses der intrakraniellen venösen Blutleiter hervorgerufen wird. Diese Erkrankung kann in jeder Altersstufe auftreten, vorwiegend ist die zweite bis dritte Dekade betroffen. Die Sinusvenenthrombose bedingt 2-4% aller Schlaganfälle. Die Sinus-/Venenthrombosen können in nicht-septische (= blande) und septische (im Rahmen eitriger Infektionen in Gesichts- oder Nasennebenhöhlenbereich, bei Meningitis) SVT unterteilt werden. Die Mortalität bei blanden Sinusthrombosen liegt bei ungefähr 10%, bei septischen Thrombosen steigt sie bis auf 30% an. Die Symptomatik der SVT ist vielgestaltig, und hängt zum einen von der Lokalisation und dem Ausmaß der Thrombosierung ab, zum anderen spielt der Grad der Gefäßkollateralisierung eine Rolle. Zu den fünf Hauptsymptomen zählen: Kopfschmerzen, gegebenenfalls mit Stauungspapille, epileptische Anfälle, sensomotorische Defizite und Bewusstseinsstörungen. Zusätzlich kann es zu Meningismus, Aphasie, Hirnnervenlähmungen, zerebellären Symptomen, Nystagmus, Hörverlust, bilateralen bzw. alternierenden Symptomen kommen. In der Schwangerschaft und im Wochenbett besteht ein erhöhtes Risiko, eine SVT zu entwickeln. Die Häufigkeit einer schwangerschaftsassozierten Sinusthrombose beträgt 10-20/100000 Geburten. Aber auch für Schlaganfälle anderer Genese ist das Risiko in der Schwangerschaft und im Wochenbett erhöht: Das Risiko für einen arteriellen, vor allem embolischen Schlaganfall steigt um das 3-13-fache an, intrazerebrale Blutungen sind um das 6-fache erhöht,

Subarachnoidalblutungen um das 7-fache (Bousser 1999; Hamann et al. 2002; Masuhr und Neumann 2005).

2.4 Diagnostik

Die Basis der Schlaganfalldiagnostik bildet die klinisch-neurologische Untersuchung. Hier erfolgt zunächst eine grobe Einordnung von Dynamik der Akutsymptome und zum betroffenen Stromgebiet. In Abhängigkeit der Bewusstseinslage des Patienten und Zugang zu einer Fremdanamnese lassen sich anamnestische Details zur Entwicklung der Beschwerden, Frühsymptomen und zu den Risikofaktoren erheben. In klinischen Scores (Kapitel 2.4.3) lassen sich das Ausmaß der Symptome und der Funktionsbeeinträchtigungen objektivieren. Bildgebende Verfahren (Neurosonographie, Computer- und Kernspintomographie, digitale Substraktionsangiographie, Kapitel 2.4.1) stehen früh im diagnostischem Ablauf und liefern weitere Hinweise zur Ätiologie (Ischämie oder Blutung, Lokalisation und Ausmaß des Gefäßverschlusses) der Symptome, Ausmaß des Parenchymschadens und Entwicklung der Schadens im Verlauf (John 1997; von Kummer und Weber 1997; Lovblad et al. 1998; Wiesmann und Seidel 2000; Hamann et al. 2002;). Weiterführende technische und laborchemische Untersuchungen dienen der Abschätzung von vaskulären Risikofaktoren und komplizierenden Erkrankungen, der frühzeitigen Erkennung von Komplikationen sowie der gegebenenfalls ergänzenden ätiologischen Einordnung des Hirninfarktes. Diese Untersuchungen umfassen im individuell unterschiedlichen Ausmaß Echokardiogramm, Langzeitechokardiogramm, transthorakale und transösophageale Echokardiographie, laborchemische Analysen inklusive Lipidstatus, Glukoseparametern, Gerinnungs- und Vakulitidsdiagnostik. Die neuronalen Destruktionsmarker NSE und S100 (Kapitel 2.4.2) sind hier bislang von nur untergeordneter Bedeutung.

2.4.1 Bildgebende Verfahren

Die Computertomographie (CT) wird in der Akutdiagnostik des Schlaganfalls aufgrund ihrer weiten Verbreitung, raschen Verfügbarkeit und hohen diagnostischen Sicherheit eingesetzt. Stellt man mittels der CT-Angiographie die Gefäße und mittels der CT-Perfusion die Durchblutungssituation im Infarktareal und seiner Umgebung dar, kann man die Aussagefähigkeit noch erhöhen. In Tabelle 6 sind die CT-morphologischen Frühzeichen der zerebralen Ischämie zusammengefasst. Tabelle 7 beschreibt die zeitliche Entwicklung der CT-morphologischen Veränderungen nach ischämischem Hirninfarkt (Hamann et al. 2002).

Die MRT liefert eine bessere anatomische Auflösung und übertrifft die CT-Diagnostik vor allem bei Perfusionsstörungen im Bereich des Kleinhirns und des Hirnstammes. Durch die verschiedenen Techniken wie die der Diffusions- und der Perfusionsbildgebung, können bereits in der ersten Stunde nach Einsetzen der Symptomatik Veränderungen nachgewiesen werden (Neumann-Haefelin et al. 2000). Ebenso können mit der Kernspintomographie wie auch mit der CT die Hirngefäße mittels der MR-Angiographie (MRA) dargestellt werden. Der Nachteil der MRT liegt in der längeren Untersuchungszeit.

Hyperdensität der ACM (dense media sign, Abbildung 2)	Ursache: erhöhte Dichte des intravasalen Thrombus, bei ca. 50% aller Mediaverschlüsse zu beobachten
Fokaler Dichteausgleich zwischen grauer und weißer Substanz (loss of the insular ribbon, Abbildung 2)	Ursache: ischämisches Ödem im Infarktareal führt zur Dichteabnahme der grauen Substanz, z.B. zwischen <ul style="list-style-type: none">• Rindenband und subkortikalem Marklager• Inselrinde und Capsula externa• Linsenkern und Capsula interna et externa
Fokales Verstreichen der Rindenfurchen	Ursache: lokale Schwellung durch Infarktödem (oft nur im Seitenvergleich zu erkennen)

Tabelle 6: Computertomographische Infarktfrühzeichen

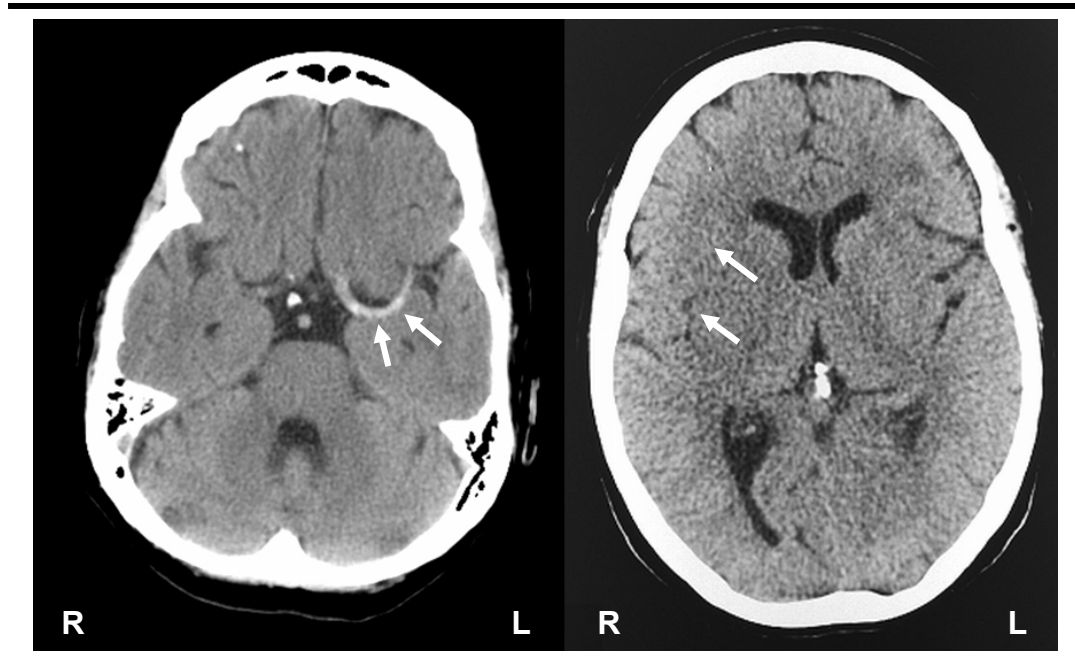


Abbildung 2: Computertomographische Infarktfrühzeichen (siehe Pfeile). Linkes Bild: "dense media sign" der linken A. cerebri media. Rechtes Bild: "loss of the insular ribbon" rechts.

0-12 Stunden	<ul style="list-style-type: none"> • Unauffällig (50-60%) • Hyperdenses Media-Zeichen (25-50%) • Fokaler Dichteausgleich zw. grauer und weißer Substanz
12-24 Stunden	<ul style="list-style-type: none"> • Weitere Dichteabnahme der grauen Substanz (Basalganglien und Kortexband) • Fokales Verstreichen der Rindenfurchen
1-3 Tage	<ul style="list-style-type: none"> • Zunehmende Raumforderung • Keilförmiges hypodenses Infarktareal • Graue und weiße Substanz im Infarktareal hypodens • Hämorrhagische Transformation möglich
4-7 Tage	<ul style="list-style-type: none"> • Raumforderung und Ödem persistieren • Gyrale Schrankenstörung (KM-Aufnahme)
1-8 Wochen	<ul style="list-style-type: none"> • Fortbestehende Schrankenstörung • Abnehmende Raumforderung • Passagere isodense Darstellung möglich (fogging effect) • Transiente Verkalkung möglich (vor allem bei Kindern)
Monate-Jahre	<ul style="list-style-type: none"> • Defektbildung (Enzephalomalazie) • Verkalkung möglich (selten)

Tabelle 7: Zeitliche Entwicklung der CT-Befunde bei Schlaganfall

Die digitale Subtraktionsangiographie (DSA) wird in der Regel nicht zur Diagnostik der zerebralen Ischämie eingesetzt, sondern vorzugsweise zur Therapieentscheidung (Operation versus Angioplastie). Bei komplexen Gefäßveränderungen bei unklaren Befunden im Ultraschall wird in erster Linie die MR-Angiographie, in Einzelfällen jedoch auch die DSA diagnostisch eingesetzt.

Ergänzend zu den Schnittbildverfahren wird die Ultraschalldiagnostik eingesetzt. Sie dient der schnellen, nicht-invasiven Aufklärung des hämodynamischen und embolischen Geschehens beim Schlaganfall. Hier kommen Doppler- und Duplexsonographie zum Einsatz (Baumgartner et al. 1995; Wiesmann und Seidel 2000; Hamann et al. 2002). Mittels der Dopplersonographie können arteriosklerotische Veränderungen oder Dissektionen der arteriellen Gefäße im Verlauf der Arteria carotis interna, den Aa. vertebrales und den Aa. subclaviae erkannt werden. Zur Beurteilung des Stenosegrades werden die Blutflussgeschwindigkeit, das Vorhandensein von Kollateralkreisläufen oder Signalausfälle gemessen. Die Dopplersonographie dient somit hauptsächlich der Überprüfung der hämodynamischen Zustände der extrakraniellen Gefäße. Mit dem Puls-Echo-Verfahrens kann eine Darstellung des Gewebe mittels eines B-Bildes („brightness mode“, B-Mode) erreicht werden. Die Kombination aus B-Bild-Sonographie und Doppler-Sonographieverfahren wird als Duplex-Sonographie bezeichnet und in der Regel mit einer Farbkodierung zur Erhöhung der Sensitivität eingesetzt ("farbkodierte Duplexsonographie").

Hinzu kommen noch die transkranielle Dopplersonographie (TCD) und die transkranielle farbkodierte Duplex-Sonographie. Es wird mittels niedrigen Insonationsfrequenzen die Knochenbarriere überwunden, z.B. transtemporal, transnuchal und transorbital.

Zusammenfassend können in der Frühphase eines ischämischen Schlaganfalls folgende pathologische Veränderungen mit den angewandten bildgebenden Verfahren nachgewiesen werden:

Der Verschluss oder die Stenose eines hirnzuführenden oder hirnversorgenden Gefäßes kann mittels DSA, CTA, MRA oder TCD dargestellt werden.

Des Weiteren können Störungen der Durchblutung im Infarktgebiet mittels CT und MRT in Kombination mit einer Angiographie untersucht werden.

Ein Gefäßverschluss, ein Perfusionsdefizit oder eine Hirnblutung können zeitnah mit bildgebenden Verfahren nachgewiesen werden, das Ödem kann erst im Verlauf diagnostiziert werden. Mit dem Diffusionsverfahren der MRT kann das Ödem aber schon in einem zeitlichen Fenster <1 Stunde aufgezeigt werden (Hamann et al. 2002).

2.4.2 Neurodestruktionsmarker

Bei den Neurodestruktionsmarkern kann zwischen zerebralen Strukturproteinen und Funktionsproteinen differenziert werden.

Die Strukturproteine stellen normale Bestandteile der Zellen des ZNS dar. Unter physiologischen Bedingungen könne sie in geringer Konzentration im Liquor nachgewiesen werden. Zu dieser Gruppe zählen das saure gliale Faserprotein und das basische Myeloprotein. Über ihre Rolle beim ischämischen zerebralen Insult gibt es bisher wenige Berichte.

S100, NSE und die zerebrale CK-Isoform (CK-BB) werden zu den zerebralen Funktionsproteinen gerechnet. Es handelt sich um intrazelluläre Proteine im ZNS, die für den Ablauf bestimmter biochemischer Vorgänge verantwortlich sind. Besonders über die Messung der NSE und des S100 im Zusammenhang mit dem Schlaganfall wurde in der Literatur berichtet.

Bei Schädigung des ZNS kann es zu Zelluntergang mit Auflösung der Zellmembran kommen. In diesem Fall werden die Struktur- und Funktionsproteine aus dem Zellinneren freigesetzt und gelangen in den Liquor, wo erhöhte Konzentrationen nachgewiesen werden können. In bestimmten Fällen, die mit einem Defekt der Blut-Hirn-Schranke einhergehen, kann es zu einem Übertreten dieser Proteine in die Blutbahn kommen. Somit ist eine erhöhte Konzentration dieser Marker im Blut lediglich hinweisend auf das Vorliegen eines strukturellen Schadens im ZNS. Eine Aussage über den Pathomechanismus oder den Ort der Läsion kann durch Bestimmung dieser Läsionsmarker nicht getroffen werden (Hamann et al. 2002).

2.4.2.1 S100-Protein

Zu der Gruppe des S100 werden 19 Kalzium-bindende Proteine gezählt. Sie bestehen jeweils aus zwei Polypeptidketten. Das Monomer S-100B und die aktiven Dimere A1-B und B-B haben in der Diagnostik als neurologische Destruktionsmarker besondere Bedeutung gewonnen. Die Dimere A1-B und B-B wurden früher auch als S-100a und S-100b bezeichnet.

Die verschiedenen Isoproteine der S-100-Gruppe können in unterschiedlichen Zellen des Körpers gefunden werden. Das S-100A1-B kommt vor allem in Gliazellen und Melanozyten, das S-100B-B in den Schwann-Zellen und Astrozyten des peripheren und zentralen Nervensystems, in der Adenohypophyse und den Langerhanszellen des Pankreas vor. S-100A1-A1 ist ein extrazerebrales Funktionsprotein und in Herz, Niere und glatter Muskulatur lokalisiert. S-100A1 und S-100B sind überwiegend intrazelluläre Proteine und üben Einfluss auf einige intrazelluläre Funktionen aus. Hierzu zählen der Zell-Zell-Kontakt, Zellstruktur, Zellwachstum, Energiemetabolismus, Zellkontraktion und intrazelluläre Signaltransduktion (Zimmer et al. 1995; Hamann et al. 2002). Als extrazelluläre Funktion sind sie für die Stimulation für die Proliferation der Gliazellen verantwortlich. Aufgrund dieser Wirkungsmechanismen ist zu verstehen, dass die Gruppe der S-100 Proteine beteiligt ist an Erkrankungen wie malignen Tumoren, neurodegenerativen und entzündlichen Erkrankungen, Kardiomyopathien, Diabetes mellitus und Allergien (Hamann et al. 2002).

Zum Nachweis des S-100 werden nur immunometrische Verfahren angewandt. Da bis zum jetzigen Zeitpunkt keine internationale Standardisierung der Messmethoden existiert, kann derzeit kein gültiger Referenzbereich angegeben werden. Die Referenzbereiche im Blut, die mittels den in der Literatur am häufigsten angewendeten Messverfahren ermittelt wurden, sind allerdings nahezu deckungsgleich und liegen bei $<0,131 \mu\text{g/l}$ (Sangtec „100, LIA“) bzw. $<0,135 \mu\text{g/l}$. (IFMA) (Missler und Wiesmann 1995; Hamann et al. 2002).

2.4.2.2 Neuronen-spezifische Enolase

Bei der NSE handelt es sich um ein Isoenzym der Glykolyse und Gluconeogenese. Es katalysiert dabei die Reaktion von 2-Phosphoglycerat zu Phosphoenolpyruvat, eine wichtige Reaktion der Energiegewinnung. Es ist in den Neuronen des zentralen und peripheren Nervensystems lokalisiert. Bei den Enolasen handelt es sich um dimere Enzyme, die aus jeweils zwei Peptidketten zusammengesetzt sind. Es existieren drei Untereinheiten der Peptidketten, die homodimeren Formen $\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$ sowie eine heterozygote Form $\alpha\gamma$. Je nach Gewebeart können unterschiedliche Dimere angetroffen werden. In der Leber ist nur die Isoform $\alpha\alpha$ vorhanden, im Muskelgewebe dagegen die Isoform $\beta\beta$. Im Gehirn findet man drei Isoformen: die $\gamma\gamma$ -Isoform wird als Neuronen-spezifische Enolase (NSE) bezeichnet. Zusätzlich gibt es eine nicht-neuronale Enolase des ZNS, die mit der $\alpha\alpha$ - Isoform der Leber identisch ist. Die Hybridform aus der α - und γ - Untereinheit ist ebenfalls im ZNS zu finden, ist dort jedoch ebenso nicht in Neuronen lokalisiert. Die beiden nicht neuronalen Enolasen des Gehirns sind in den Gliazellen zu finden (Marangos und Schmechel 1987). Die NSE ist spezifisch für Neurone, allerdings nicht allein für Neurone des ZNS (Hamann et al. 2002).

Im klinischen Alltag hat die Bestimmung der NSE im Serum eine wichtige Rolle bei der Therapiekontrolle neuroendokriner Tumoren, besonders für das kleinzellige Bronchial-Karzinom erlangt. Des Weiteren wurde über Anstiege der NSE-Konzentrationen in Serum und Liquor infolge ZNS-Läsionen berichtet. Ursachen hierfür können ischämische Schädigungen, Schädel-Hirn-Traumata, infektiöse ZNS-Erkrankungen, Hirntumoren und Subarachnoidalblutungen sein. Die NSE ist in geringen Mengen auch in Erythrozyten und Leukozyten zu finden, Aufgrund dieser Tatsache hat sich eine Verfälschung der Messwerte bei Hämolyse als großer Nachteil bei NSE-Bestimmungen ergeben.

Es gibt verschiedene Verfahren, um NSE-Konzentrationen im Serum zu messen. In Deutschland wird überwiegend ein Enzymimmunoassay der Firma Roche benutzt. Hier werden zwei monoklonale Antikörper, die gegen NSE-

Untereinheiten gerichtet sind, verwendet (Jacobi und Reiber 1988; Missler et al. 1997).

Als Referenzwert im Serum werden $\leq 12 \mu\text{g/l}$ angegeben, im Liquor sind unterschiedliche Angaben über Referenzwerte in der Literatur zu finden.

In der Literatur wurde bereits mehrfach über Konzentrationsänderungen der NSE nach zerebraler Ischämie berichtet (Hardemark et al. 1989; Aurell et al. 1991; Barone et al. 1993). In Tierstudien konnte ein semiquantitativer Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des Schlaganfalls und den NSE-Konzentrationen im Liquor nachgewiesen werden (Steinberg et al. 1984; Hardemark et al. 1989). In einigen Studien wurde eine Korrelation zwischen der Infarktgröße und den NSE-Werten erwiesen (Cunningham et al. 1991; Schaarschmidt et al. 1994; Cunningham et al. 1996).

2.4.3 Schlaganfallskalen

Mit Hilfe von Schlaganfallskalen wird versucht, die funktionelle Beeinträchtigung der Patienten objektivierbar, zu jeder Zeit reproduzierbar und mit den Vorergebnissen vergleichbar zu erfassen. Die Skalen bestehen aus verschiedenen Kategorien und jeder Kategorie wird ein Zahlenwert zugeordnet. Die einzelnen Zahlenwerte werden addiert und daraus der Gesamtscore errechnet.

Es können zwei Arten von Skalen unterschieden werden:

1. Erfassung des Impairment auf der Ebene der klinischen Auswirkung; es werden das Ausmaß von Paresen, Ataxie, Aphasie etc. erfasst.
2. Erfassung von Beeinträchtigung und Behinderung in den Alltagsfunktionen. Zu den wichtigsten Impairmentskalen, die auch Neurologic Deficit Scales genannt werden, zählen die NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale), die Scandinavian Stroke Scale und die European Stroke Scale. Sie eignen sich vorwiegend zur Beurteilung der akuten neurologischen Symptomatik.

Die NIHSS wird fast ausschließlich in kontrollierten Studien verwendet. Sie zeichnet sich durch eine ausreichende Validität aus, und ist vor allem geeignet in der Beurteilung von zerebralen Ischämien des hinteren Kreislaufes. Vor

Gebrauch dieser Skala ist ein spezifisches Training erforderlich, um eine genügend hohe Inter-Rater-Reliabilität zu erreichen.

Die Scandinavian Stroke Scale ist eine einfache Skala mit hoher Inter-Rater-Reliabilität (Hamann et al. 2002).

Die Behinderungsskalen, auch Functional Outcome Scales genannt, beinhalten die Glasgow Outcome Scale, die Modified Rankin Scale und den Barthel Index (Masur 2000; Hamann et al. 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl die Modified Rankin Scale als auch der Barthel-Index verwendet. Der Barthel Index wurde routinemäßig bei der Aufnahme und Entlassung der Patienten erhoben, im Follow-up-Screening (6-12 Monate nach Entlassung) erfolgte die Einschätzung der neurologischen Defizite mittels des Barthel-Index und der Modified Rankin Scale. Zur besseren Vergleichbarkeit mit dem Aufnahmezeitpunkt haben wir nur den Barthel-Index als Follow-up-Parameter in die Auswertung einbezogen.

2.4.3.1 Barthel-Index

Der Barthel-Index ist ein Index zur Bewertung von alltäglichen Fähigkeiten und dient der systematischen Erfassung von Selbstständigkeit bzw. Pflegebedürftigkeit. Entwickelt wurde der Barthel-Index 1965 von Mahoney und Barthel als Index der Unabhängigkeit von Patienten mit neuromuskulären oder muskuloskelettalen Erkrankungen (Mahoney und Barthel 1965). Der Barthel-Index wird weltweit angewandt und zählt zu den routinemäßigen Angaben in einem Rehabilitationsantrag. Er dient dabei der Eingliederung des Patienten in die für ihn richtige Rehabilitationsstufe. Für die weitere Entwicklung der Rehabilitation stellt der Barthel-Index keinen guten prognostischen Parameter dar. Die ursprüngliche Version des Barthel-Index (wie in der vorliegenden Arbeit verwendet, Tabelle 10) berücksichtigt wie die Modified Rankin Scale nicht die kognitiven Einschränkungen der Patienten. Aus diesem Grund wurde auch eine abgeänderte Form des Barthel-Index eingeführt, die um die Kategorien Verstehen, Verständlichkeit, soziale Interaktion, Problemlösen, Gedächtnis/ Lernfähigkeit / Orientierung, sowie Sehen / Neglect erweitert wurde. Es handelt sich um eine Punkte-Skala. Maximal können 100 Punkte erreicht werden,

minimal 0 Punkte. Je nachdem ob eine der nachfolgend genannten Tätigkeiten nicht möglich, mit Unterstützung möglich oder ohne Unterstützung ausgeführt werden kann, gibt es 0, 5 oder 10 bzw. 15 Punkte. Tabelle 10 stellt die im Barthel- Index bewerteten Fähigkeiten dar (Mahoney und Barthel 1965; Prosiegel 1996; Masur 2000; Hamann et al. 2002).

2.4.3.2 Modified Rankin Scale

Die Modified Rankin Scale (Tabelle 9) ist eine sehr einfache Skala, um die Behinderung nach einem Schlaganfall zu quantifizieren. Sie wird heute in fast allen Schlaganfallstudien zur Beurteilung des Outcome angewandt.

Für Patienten, die im weiteren Verlauf verstarben, wurde in einigen Studien zusätzlich ein Grad 6 hinzugefügt. Ein wesentlicher Nachteil dieser Skala ist die fehlende Abbildung kognitiver Defizite. So kann ein Patient mit schweren kognitiven Einschränkungen, z.B. im Rahmen einer Aphasie, auf der Modified Rankin Scale nur gering beeinträchtigt erscheinen.

0	Keine Symptome
1	Keine wesentliche Funktionseinschränkung trotz Symptomen: kann alle Aufgaben und Aktivitäten wie gewohnt verrichten
2	Geringgradige Funktionseinschränkung: unfähig alle früheren Aktivitäten zu verrichten, ist aber in der Lage, die eigenen Angelegenheiten ohne Hilfe zu erledigen
3	Mäßiggradige Funktionseinschränkung: bedarf einiger Unterstützung, ist aber in der Lage, ohne Hilfe zu gehen
4	Mittelschwere Funktionseinschränkung: unfähig ohne Hilfe zu gehen und unfähig, ohne Hilfe für die eigenen körperlichen Bedürfnisse zu sorgen
5	Schwere Funktionseinschränkung: bettlägerig, inkontinent, bedarf ständiger Pflege und Aufmerksamkeit

Tabelle 9: *Modified Rankin Skala*

Essen und Trinken, („mit Unterstützung“) wenn Speisen vor dem essen zurechtgeschnitten werden	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	5
	selbstständig	10
Umsteigen aus dem Rollstuhl ins Bett oder umgekehrt (einschl. Aufsetzen im Bett)	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	5
	selbstständig	15
Persönliche Pflege (Gesicht waschen, Kämmen, Rasieren, Zähne putzen)	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	0
	selbstständig	5
Benutzung der Toilette (An- / Auskleiden, Körperreinigung, Wasserspülung)	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	5
	selbstständig	10
Baden / Duschen	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	0
	selbstständig	5
Gehen auf ebenem Untergrund	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	10
	selbstständig	15
Fortbewegung mit dem Rollstuhl auf ebenen Untergrund (<i>dieses Item nur verwenden, falls „Gehen“ mit „nicht möglich“ bewertet wurde</i>)	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	0
	selbstständig	5
Treppen auf- / absteigen	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	5
	selbstständig	10
An - / Ausziehen (einschl. Schuhe binden, Knöpfe schließen)	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	5
	selbstständig	10
Stuhlkontrolle	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	5
	selbstständig	10
Harnkontrolle	nicht möglich	0
	mit Unterstützung	5
	selbstständig	10

Tabelle 10: Barthel-Index

2.5 Therapie

In der Akutversorgung der zerebralen Ischämie stellt Zeit den bedeutendsten Parameter dar. Sowohl die Zeitspanne von Symptombeginn, als auch die Dauer der Diagnostik bis zum Therapiebeginn sollte gemäß dem "time is brain" - Konzept möglichst kurz sein. Aufgrund der häufig zeitlichen Verzögerung bis zur Einweisung in ein Krankenhaus erhält die Mehrheit der Patienten mit Schlaganfall keine adäquate Therapie. Zu den fünf wichtigsten therapeutischen Maßnahmen zählen:

- Monitoring und Behandlung vitaler Parameter wie Blutdruck, Körpertemperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz, O₂-Sättigung, Blutzucker, Elektrolyte u.a.
- Spezifische Behandlung, z.B. rekanalisierende Therapie
- Frühe Sekundärprophylaxe
- Vorbeugung und Behandlung von Komplikationen
- Unterstützung dieser Maßnahmen durch frühe rehabilitative Therapien.

Für erhöhte Blutglukosespiegel konnten sowohl eine Vergrößerung des Infarktareals, als auch eine Verschlechterung der prognose nachgewiesen werden, so dass Blutglukosewerte ab 200 mg/dl kontinuierlich mit Insulin gesenkt werden sollten (Pulsinelli et al. 1983; Toni et al. 1994; Capes et al. 2001).

Eine Körpertemperatur $>37,5^{\circ}\text{C}$ sollte mit antipyretischen Substanzen behandelt werden, da auch hierfür eine Vergrößerung des ischämischen Gebietes und eine Verschlechterung der Prognose durch die Entstehung toxischer Stoffwechselprodukte nachgewiesen werden konnte (Jorgensen et al. 1994; Reith et al. 1996; Haberl 1998; Einhäupl 1999; Hajat et al. 2000). Kontrollierte Studien liegen bislang allerdings noch nicht vor.

Der Blutdruck sollte vor allem bei hämodynamischen Infarkten leicht hypertensiv gehalten werden, mit blutdrucksenkenden Maßnahmen sollte frühestens drei Tage nach dem Schlaganfall begonnen werden. Häufig kommt es zu einem spontanen Rückgang der erhöhten Blutdruckwerte im Verlauf auch

ohne medikamentöse Intervention (Britton et al. 1986; Jansen et al. 1987; Broderick et al. 1993).

Bei schwerer neurologischer Symptomatik ist die Gabe von 2-4 l O₂/min über die Nasenbrille zu empfehlen, klare Studiendaten bzw. generelle Richtlinien zur routinemäßigen Verabreichung von Sauerstoff nach zerebraler Ischämie gibt es derzeit nicht (Ronning und Guldvog 1999).

Rekanalisierende Maßnahmen sind nur innerhalb eines engen zeitlichen Fensters zugelassen. Die intravenöse Lyse mit recombinant tissue plasminogen activator (rtPA) muss innerhalb von drei Stunden nach Symptombeginn eingeleitet werden, ab einem Zeitraum >3 Stunden ist sie nicht mehr zugelassen. Es konnte ein deutlich verbessertes Outcome durch die Behandlung mittels rtPA im 3-Stunden-fenster erreicht werden (Hacke et al. 1999). Für Patienten mit deutlichen Infarktfrühzeichen in der Bildgebung oder schwerer neurologischer Beeinträchtigung (NIHSS>25) ist die Lysetherapie wegen der hohen Gefahr von Sekundärblutungen kontraindiziert.

Für die intraarterielle Thrombolyse mit pro-Urokinase konnte in einem Zeitfenster von sechs Stunden in einer randomisierten Studie bei Patienten mit Verschlüssen der proximalen Arteria cerebri media eine signifikante Verbesserung des Outcomes gezeigt werden. Allerdings wird für dieses Therapieverfahren die interventionelle Angiographie benötigt, sodass es nur an wenigen spezialisierten Zentren durchführbar ist (Furlan et al. 1999).

Für neuroprotektive Maßnahmen konnte derzeit kein günstiger Effekt nach zerebraler Ischämie nachgewiesen werden.

Die derzeitigen Empfehlungen für die Sekundärprophylaxe beinhalten folgende Richtlinien:

- Die Verabreichung von Acetylsalicylsäure (100-300 mg/Tag) in der Frühphase nach einem Schlaganfall kann empfohlen werden.
- ASS sollte nicht verabreicht werden, wenn eine Thrombolysetherapie geplant ist und in den ersten 24 Stunden nach einer Lysetherapie.
- Andere Thrombozytenaggregationshemmer sollten nicht zur frühzeitigen Sekundärprophylaxe eingesetzt werden.

- Die Heparinisierung in PTT-relevanter Dosierung oder die entsprechende Gabe niedermolekularer Heparine ist im nicht ausgewählten Patientengut nicht wirksam.

Eine Vollheparinisierung kann jedoch bei bestimmten Fällen, in denen eine Emboliquelle mit erhöhtem Rezidivrisiko vorliegt, indiziert sein.

3 Methodik und Patienten

3.1 Präanalytik und Probenmaterialien

Aus einer Vene der oberen Extremität wurde möglichst hämolysefrei ein Serumröhrchen mittels eines Einmal-Blutabnahmebesteckes entnommen. Die Röhrchen werden im klinischen Alltag zur Serumbestimmung verwendet.

Die Proben wurden anschließend mit möglichst geringer zeitlicher Verzögerung ins Hauptlabor transportiert. In einem zeitlichen Rahmen von maximal 1-2 Stunden wurden die Proben für 15 Minuten bei 2000 G zentrifugiert und das überstehende Plasma und Serum dekantiert. Anschließend wurden sofort 1000 µl des Serums mit 100 µl einer 100 millimolaren Ethylendiamin-Tetraacetat-Säure (EDTA)-Lösung versetzt. Die EDTA-Lösung wurde nach folgender Rezeptur hergestellt:

- Auflösen eines 5 mM TRIS-Puffers in bidestilliertem H₂O 605 mg/l
- Zugabe von 154 mM physiolog. NaCl-Lösung (0,9%) 9 000 mg/l
- Zugabe von 100 mM EDTA 37 200 mg/l
- Sorgfältiges Homogenisieren, bis alle festen Bestandteile gelöst sind
- Einstellen des Puffers auf pH 8,0 durch Titration mit NaOH
- Luftdichter Abschluss und Lagerung bei 4°C (Haltbarkeit ca. 12 Monate)

Die somit entstandenen zwei Materialarten, Serum-EDTA und natives Serum wurden aliquotiert. Insgesamt wurden je zwei Aliquots des EDTA-Serums und drei Aliquots des nativen Serums für die nachfolgenden Testdurchläufe bei minus 80°C eingefroren. Innerhalb von 12 Monaten wurden jeweils eines der Aliquots des mit EDTA-behandeltem-Serum und des nativen Serums aufgetaut. Im Serum mit EDTA-Zusatz wurde die Nukleosomenkonzentration manuell mit

dem Cell Death Detection-ELISApus von Roche ermittelt. Im nativen Serum wurden ebenso mittels des Elecsys 2010 die neuronalen Destruktionsmarker NSE und S100 vermessen.

3.2 Bestimmung der Nukleosomenkonzentration

Für die manuelle Untersuchung der Nukleosomenkonzentration wurde der Cell Death Detection-ELISApus (CDDE-Test) von Roche Diagnostics, Mannheim, (Katalog-Nummer 1774425) verwendet.

3.2.1 Vor der Testdurchführung

Die aufgetauten Proben wurden vor Pipettierung auf die Mikrotiterplatte für ungefähr 3 Sekunden mit einem Vortex homogenisiert, und anschließend mit Inkubationspuffer im Verhältnis 1:4 verdünnt (20 µl Serum und 60 µl Inkubationspuffer). Danach erfolgte die Pipettierung von 20 µl dieser verdünnten Proben auf die Mikrotiterplatte.

3.2.2 Testprinzip des Cell Death Detection-ELISApus

Der Cell Death Detection-Elisa stellt einen nicht kompetitiven Enzymimmunoassay dar. Es werden zwei monoklonale Mausantikörper eingesetzt, die das zu untersuchende Antigen an zwei unterschiedlichen Epitopen erkennen und im „Sandwich-Prinzip“ binden.

Bei dem einen Antikörper handelt es sich um einen Festphasen-Antikörper, der gegen die Proteinkomponente der Nukleosomen, die sog. Histone gerichtet ist. Durch die reversible Bindung der Histone an den Festphasen-Antikörper werden die Nukleosomen an der Wand der Mikrotiterplatte fixiert.

Der zweite Antikörper ist mit Peroxidase markiert und bindet den DNA-Anteil der Nukleosomen.

Das Vorhandensein beider Nukleosomenkomponenten ist somit Voraussetzung für den Nachweis der zu bestimmenden Agenzien.

Zu Testbeginn wird zu einer Serumprobe, in der die Mono- und Oligonukleosomen enthalten sind, ein Puffergemisch mit festgelegter Konzentration der beiden Antikörper zugegeben. Dadurch kommt es zur

Bindung der beiden Antikörper an ihre Substrate und zur damit verbundenen Fixierung der Nukleosomen auf der Mikrotiterplatte. Im anschließenden Waschgang werden alle ungebundenen Antikörper entfernt und danach dem Testansatz im Überschuß ein Substrat zugefügt. Das Substrat wird durch die Peroxidase des Anti-DNA-Antikörper umgesetzt und es kommt zu einem Farbumschlag. Dieser Farbumschlag ist direkt proportional zu der von den Antikörpern gebundenen Nukleosomenmenge.

Der Grad des Farbumschlags kann nun bei geeigneter Wellenlänge photometrisch quantifiziert und die Konzentration der Nukleosomen mittels einer Kalibrationskurve bestimmt werden.

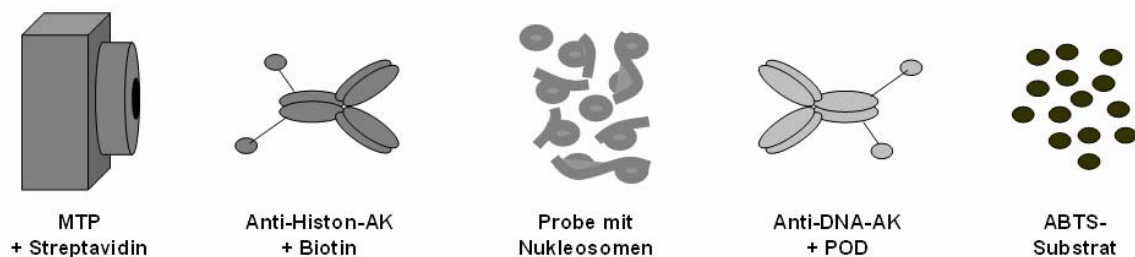


Abbildung 3: Testprinzip des CellDeath Detection-ELISaplus

3.2.2.1 Verwendete Materialien

Die verwendeten Materialien sind teilweise bereits gebrauchsfertig im Testkit enthalten oder können auf folgende Weise vor Durchführung des Testes zubereitet werden:

- PBS (Phosphate Buffer Saline): Gebrauchsfertige Lösung, die 8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na₂HPO₄ x 2H₂O und 0,2 g KH₂PO₄ in einem Liter H₂O enthält und auf pH 7,4 justiert ist.
- Inkubationspuffer: gebrauchsfertige Lösung, die PBS mit 1% Rinder-Serum-Albumin, 0,5% Tween 20 und 1mM EDTA enthält.
- Anti-Histon-Biotin: Tablette eines lyophilisierten und biotinylierten Anti-Histon-Antikörper Panels, die in 450 Mikroliter bidestilliertem H₂O aufgelöst wird.

- Anti-DNA-POD: Tablette eines lyophilisierten und mit Peroxidase markierten Anti-DNA-Antikörper Panels, die in 450 µl bidestilliertem H₂O aufgelöst wird.
- Immunoreagens: 1/20 Volumenanteile der biotinylierten Anti-Histon-Antikörper und 1/20 Volumenanteile der Peroxidase markierten Anti-DNA-Antikörper werden vorsichtig mit 18/20 Volumenanteilen Inkubationspuffer homogenisiert.
- Substratpuffer: Gebrauchsfertige Lösung, die 1047,5 mg Zitronensäure, 62,5 mg Natriumperborat x 3 H₂O, 9,77 mg CaCl₂ x 2 H₂O, 1335 mg Na₂HPO₄ x 2 H₂O in 125 ml enthält und auf pH 4,5 justiert ist.
- Substrat: Drei Tabletten mit 2,2'-Azino-di(3-ethylbenzthiazolin-sulfonat) (ABTS), die unmittelbar vor Gebrauch in 15 ml Substratpuffer gelöst werden und lichtgeschützt gelagert werden müssen.
- Streptavidin-beschichtete-Mikrotiterplatte und Adhäsiv-Folien

3.2.2.2 Antikörper

Beim CDDE-Test werden monoklonale Mausantikörper verwendet: Die Antikörper gegen die Histonkomponente stammen aus dem Mausklon H11-4 und besitzen eine spezifische Affinität für die Histone H1, H2a, H2b, H3 und H4. Die Anti-DNA-Antikörper sind im M-CA-33 Mausklon gezüchtet und erkennen Einzel- und Doppelstrang-DNA.

3.2.2.3 Vorgehensweise bei Testdurchführung

Die Testdurchführung wurde nach der von den Herstellern empfohlenen Vorgehensweise durchgeführt:

Je 20 µl des zu untersuchenden Materials werden in Vertiefungen auf der mit Streptavidin beschichteten Mikrotiterplatte pipettiert. Anschließend werden 80 µl des Immunoreagens hinzugegeben. Das Immunoreagens ist aus biotinylierten Anti-Histon-Antikörpern, Peroxidase-markierten-Anti-DNA-Antikörpern und Inkubationspuffer zusammengesetzt. Danach wird die Mikrotiterplatte mit einer Adhäsivfolie abgedeckt und für 2 Stunden auf einem Mikrotiterplatten-Rüttler bei 500 U/min inkubiert.

Während dieser Inkubationszeit reagieren beide Antikörper mit dem jeweiligen Antigenen. Der Anti-Histon-Antikörper bindet an die Histon-Komponente der Nucleosomen und fixiert diese mittels des Biotins an die mit Streptavidin-beschichtete Mikrotiterplatte. Zusätzlich reagiert der Anti-DNA-Antikörper mit der DNA-Komponente der Nucleosomen.

Anschließend wird die Mikrotiterplatte dreimal mit je 300 bis 400 μ l Inkubationspuffer zur Entfernung ungebundener Antikörper gewaschen. Die fixierten Komplexe werden nun mit 100 μ l ABTS (2,2'-Azino-di(3-ethylbenzthiazolinsulfonat) inkubiert. Danach erfolgt ein erneutes Abdecken der Platte mit Adhäsivfolie und Rütteln bei 500 U/min. Das zugegebene Substrat in Form des ABTS reagiert mit der Peroxidase des Anti-DNA-Antikörpers und bewirkt einen Farbumschlag. Dieser ist proportional zu den Antikörpern und wird photometrisch bei $\lambda=405$ nm gegen die Substratlösung als Blank (Referenzwellenlänge $\lambda=492$ nm) quantifiziert. Während der Testhersteller für die Inkubation des ABTS-Substrats eine „ausreichende Farbentwicklungszeit von 10 bis 20 min“ angibt, wurde diese von uns auf 30 Minuten standardisiert. Der Messbereich wurde durch die zusätzlichen Messungen nach 7,5 und 15 Minuten ausgedehnt, um auch höhere Wertlagen der Nucleosomen erfassen zu können.

3.2.2.4 Standardkurve

Um eine direkte Quantifizierung der Nucleosomen mit einer hohen Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Testläufen zu erzielen, wurde ein Kalibrationskurve aus nucleosomenreichem bekanntem Referenzmaterial hergestellt.

Als Messeinheiten der Skalierung wurden durch Kalibrierung an einer bekannten DNA-Probe in ng/ml angegeben. Die Orientierung erfolgt an der Standardkurve, die wie bei Holdenrieder beschrieben hergestellt wird (Holdenrieder et al. 2001).

3.3 Bestimmung der NSE- und S100-Protein-Konzentration

Bei der maschinellen Vermessung der Proben wurde der Elecsys 2010 von Roche Diagnostics verwendet. Es handelt sich um ein vollautomatisches, softwaregesteuertes Analysesystem zur Durchführung immunologischer Tests nach dem ECL-Verfahren.

Das ECL-Verfahren (ECL=ElektroChemilumineszenz) ist ein Prozess, bei dem aus stabilen Ausgangsstoffen durch Anlegen einer Spannung hochreaktive Stoffe erzeugt werden. Diese hochreaktiven Stoffe reagieren dann in einer durch elektrische Spannung ausgelösten Reaktion, bei der Licht erzeugt wird (Chemilumineszenz). Beim Elecsys 2010 wird zur Erzeugung des Messsignals ein Ruthenium-Chelat-Komplex verwendet.

In das Rotorsystem des Elecsys wurden die benötigten Reagenzien in Form von Kits für die NSE und das S100-Protein von Roche Diagnostics gestellt.

Der NSE-, ebenso wie der S100-Protein-Test von Roche Diagnostics läuft wie der Cell Death Detection ELISApus nach dem Sandwich-Prinzip ab. Der Sandwich-Komplex wird dabei aus 20 µl Probe, einem biotinyliertem monoklonalem NSE- bzw. S100-Protein spezifischem Antikörper und einem mit einem Ruthenium-Komplex (Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-Komplex (Ru(bpy)₃²⁺) markiertem monoklonaler NSE- bzw. S100-Protein spezifischem Antikörper gebildet. Nach Bindung des Komplexes an die Festphase wird durch Anlegung einer elektrischen Spannung die Chemolumineszenzmission induziert. Diese wird mit dem Photomultiplier gemessen.

3.4 Bestimmung weiterer Laborparameter

Die Messung der CRP-Konzentration erfolgte in der Routinediagnostik mittels des Olympus AU 2700, die der Leukozyten mittels des Beckman-Coulter-Analysers LH 750.

3.5 Patienten

Es wurden über den Zeitraum eines Jahres bei Patienten, die im Klinikum Großhadern auf der Stroke Unit aufgenommen wurden, Blutproben zur Bestimmung der Nukleosomen, des S100-Proteins, und der NSE entnommen.

Für die Durchführung der Studie wurde ein Ethikantrag gestellt, der von der Ethikkommission genehmigt wurde. Es wurde von jedem Patienten nach gründlicher Aufklärung über die Studieninhalte, die Studienziele, die gewährleistete Anonymität und die eventuellen Risiken die schriftliche Einverständniserklärung eingeholt. Sollten die Patienten dazu nicht in der Lage gewesen sein, wurde die Einverständniserklärung von einem nahen Verwandten unterschrieben.

Die Blutproben wurden von der Doktorandin abgenommen und ohne zeitliche Verzögerung zur weiteren präanalytischen Verarbeitung und Aliquotierung in das Labor gebracht und vermessen. Vor der ersten Abnahme erfolgte die Aufklärung des Patienten. Ohne schriftliche Einverständniserklärung wurde kein Blut abgenommen. Im Rahmen der Einschlusskriterien mussten die Patienten eine akute neurologische Symptomatik in Form von motorischen oder sensiblen, neu aufgetretenen Ausfällen aufweisen, die auf eine vaskuläre Schädigung der zerebralen Neuronen zurückgeführt werden konnten und länger als 24 Stunden andauerten. Als Ursachen hierfür wurden hauptsächlich Schlaganfälle ischämischer Art und Gehirnblutungen gefunden. Bei den Blutungen handelte es sich vor allem um intrazerebrale Blutungen und Subarachnoidalblutungen.

Ausgeschlossen wurden Patienten mit einer malignen Grunderkrankung und laufender zytostatischer Therapie zum Zeitpunkt des akuten Ereignisses, Patienten mit manifester Anämie ($Hb < 90$ mg/dl) und Patienten, bei denen das Ereignis länger als 24-48 Stunden zurücklag. Es hatte sich bei den Auswertungen gezeigt, dass am Tag des Ereignisses keine relevanten Schwankungen in der Nukleosomenkonzentration zu verzeichnen waren, so dass auch Patienten bis max. 2 Tage nach Symptombeginn nicht ausgeschlossen werden mussten. Von allen Patienten wurden die Daten über Alter und Geschlecht, sowie über die vaskulären Risikofaktoren eingeholt.

Hierzu zählen: Nikotin, Hypertonus, Diabetes, Alkoholabusus, Hypercholesterinämie, Hyperlipidämie und eine positive Familienanamnese für vaskuläre Erkrankungen.

Die erste Blutabnahme erfolgte bei Aufnahme des Patienten (Tag 1 = innerhalb 24-Stunden nach Einsetzen der Symptomatik) und von diesem Zeitpunkt an täglich bis zum Entlassungstermin.

Zu Beginn der Studie erfolgten die Blutabnahmen bei einigen Patienten morgens und abends, zusammen mit den Routineabnahmen zur Bestimmung des Gerinnungsstatus. Es war somit keine zusätzliche Blutentnahme nötig. Da nach einer ersten Auswertung gezeigt werden konnte, dass eine zweimalige Blutabnahme keine großen Unterschiede in der Nukleosomenkinetik aufweist, wurde von diesem Zeitpunkt an nur noch einmal täglich Blut entnommen.

3.5.1.1 Verfahren bei Aufnahme der Patienten

Das Ausmaß der Beeinträchtigung der Patienten wurde mittels des Barthel-Index quantifiziert. Dabei handelt es sich um einen klinischen Score, der aufzeigt, inwiefern die Selbstständigkeit der Patienten in Hinblick auf Hygiene, Selbstversorgung und selbstständige Bewegungsabläufe erhalten geblieben ist. In diesem Zusammenhang wurde regelmäßig der Barthel-Index bei Aufnahme und bei Entlassung von erfahrenen Neurologen der Stroke Unit erhoben.

Nach 6-12 Monaten wurde von einer ausgebildeten medizinischen Assistentin nochmals der Barthel-Index zur Erfassung des Outcomes der Patienten erhoben. Er wird somit zu den sog. „outcome assessments“ gezählt. Der Barthel-Index wurde wie oben beschrieben mittels einer Punkteskala (0-100 Punkte) ermittelt. In Tabelle 11 sind noch einmal kurz die im Barthel-Index berücksichtigten Kriterien zusammengefasst:

Ebenso wurde bei allen Patienten, wenn es vom Gesundheitszustand her möglich war, standardmäßig eine Bildgebung in Form von Computertomographie, Magnetresonanztomographie und Duplex-Sonographie erhoben, um die Lokalisation, Größe und mögliche Ursachen der Läsion einschätzen zu können. Die Messung der Läsionsgröße wird nicht routinemäßig durchgeführt. Durch die freundliche Unterstützung der

Neuroradiologie im Klinikum Großhadern erfolgte die Vermessung der Läsionsgröße.

• Essen (Schneiden = Hilfe)
• Transfer Bett/Rollstuhl (incl. Hinsetzen im Bett)
• Gesichts- und Mundpflege, Haare kämmen
• Toilette (Handling Kleidung, säubern, spülen)
• Körperpflege (baden, duschen, Waschbecken)
• Gehen auf ebenem Gelände (oder Rollstuhl fahren)
• Treppen steigen
• Anziehen (incl. Schuhe)
• Darmkontrolle
• Blasenkontrolle

Table 11: Kurzzusammenfassung Barthel-Index

Zur Abklärung der Pathogenese wurde bei allen Patienten eine Röntgen-Thorax-Aufnahme, ein Elektro- und Echokardiogramm und bei Hinweis auf eine kardiale Emboliequelle zusätzlich ein transösophageales Echokardiogramm durchgeführt.

Zur Einschätzung des Allgemeinzustandes und der Therapiefähigkeit des Patienten (Glukosemetabolismus, Nierenretentionsparameter und Gerinnungsstatus), sowie zur Beurteilung primärer oder sekundärer Infektionen mit eventuell notwendiger Einleitung einer i.v.-Antibiose wurde initial und anschließend einmal täglich im Verlauf eine Serum-, Blutbild- und Gerinnungskontrolle durchgeführt.

Initial nach Aufnahme wurde eine zerebrale Computertomographie zum Ausschluß einer Hirnblutung durchgeführt, bei fast allen Patienten wurde im Verlauf zur genauen Lokalisations- und Größenbestimmung zusätzlich eine Magnetresonanztomographie durchgeführt. Ausgenommen wurden somnolente / komatöse Patienten und Patienten mit nicht beherrschbarer Klaustrophobie.

Eine Kontrollbildgebung wurde nicht routinemäßig durchgeführt. Die Vermessung des Volumens der zerebralen Ischämie wurde von einem

erfahrenen Neuroradiologen ausgeführt. Die Vermessung von MRT-Befunden erfolgte an der Linux Station mit MedX-3.4.1-Software (Sensor Systems), die Vermessung von CT-Befunden an der PACS Station (Magic View B1, Siemens Medical System, Forchheim, Deutschland). Die ischämische Region wurde manuell vermessen und mit der Schnittdicke und dem interslice gap multipliziert. Die Summe ergab das Volumen des ischämisch geschädigten Areal.

3.5.1.2 *Patientenkollektiv*

Die insgesamt 120 Patienten wurden in zwei Gruppen unterteilt. Zu der einen Gruppe wurden 92 Patienten mit der Diagnose eines ischämischen Schlaganfalls gerechnet, in die andere Gruppe fielen vier Subarachnoidalblutungen, 13 transitorische ischämische Attacken und 15 intrazerebrale Blutungen (Abbildung 4).

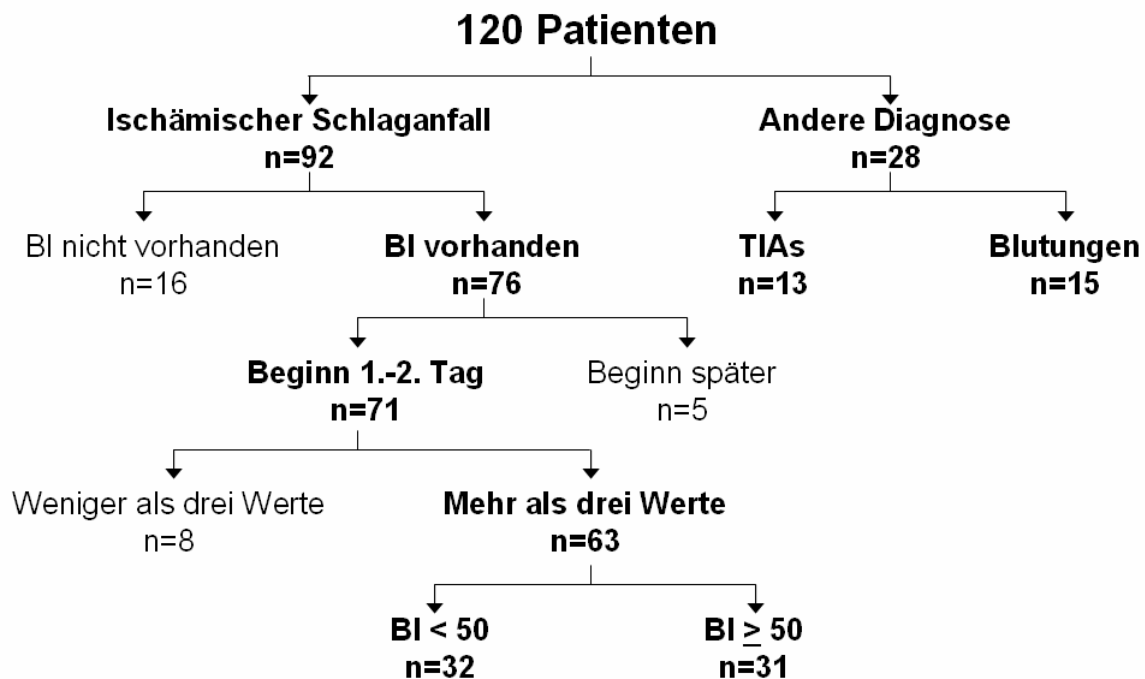


Abbildung 4: *Patientenkollektiv*

In die weitere Auswertung kamen Patienten mit zerebraler Ischämie und motorischen bzw. sensiblen Defiziten, bei denen initial der Barthel-Index zur Objektivierung der klinischen Symptomatik erhoben wurde und die Symptome über mindestens 24 Stunden im Verlauf bestanden. Zwischen Symptombeginn und Aufnahme im Krankenhaus durfte maximal eine Zeitspanne von 48 Stunden liegen und es mussten mindestens drei Blutentnahmen im Verlauf vorhanden sein. Dies war bei 63 Patienten der Fall. In den Tabellen 12 und 13 sind die Patientencharakteristika zusammenfassend dargestellt.

Anzahl (N = 63)			
Alter (Jahre):	Median	67.9	Range: 32.0-88.0
Läsionsgröße (ccm):	Median	11.0	Range: 0-294.5
Krankenhausaufenthalt (Tage):	Mittelwert	6.9	Range: 3-16
Anzahl (N = 63)			
Geschlecht	männlich		36
	weiblich		27
Lokalisation	A. cerebri media		50
	A. cerebri posterior		3
	Thalamus		2
	A. cerebelli posterior		2
	Hirnstamm		6
Ätiologie	kardio-embolisch		27
	arteriell-embolisch		23
	mikroangiopathisch		6
	Dissektion		4
	unbekannt		3
Risikofaktoren	Hypertonus		45
	Hypercholesterinämie		22
	Diabetes mellitus		14
	Nikotinabusus		19
	Koronare Herzerkrankung		11

Tabelle 12: *Patienten-Charakteristika*

		Anzahl
Therapie	Heparin i.v.:	63
	zusätzliche Lyse mit rtPA:	13
Barthel Index bei Aufnahme (Punkte)	0 - <25	26
	25 - <50	6
	50 - <75	14
	75 - <100	8
	100	9
Barthel Index bei Entlassung (Punkte)	0 - <25	16
	25 - <50	9
	50 - <75	6
	75 - <100	4
	100	15
Barthel Index nach 12 Monaten (Punkte)	0 - <25	7
	25 - <50	2
	50 - <75	4
	75 - <100	7
	100	33

Tabelle 13: *Patienten-Charakteristika (Verteilung des Barthel-Index-Scores innerhalb des Patientenkollektivs)*

3.6 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte in enger Zusammenarbeit mit der Statistikerin im Institut für Klinische Chemie, Frau Dr. Nagel.

Es erfolgte die Bestimmung der Konzentrationen der Nukleosomen, des S100-Proteins, der NSE, des C-reaktiven Proteins und der Leukozyten gleich nach der Aufnahme ins Krankenhaus und anschließend einmal täglich im Verlauf der ersten Woche. Diese Werte wurden als Einzelwerte zusammen mit dem Median grafisch dargestellt. Tabellarisch sind außerdem für alle Parameter und Zeitpunkte der Messungen der Median, die Minimum- und Maximumwerte und die 75ste Perzentile dargestellt.

Für die Korrelation der laborchemischen Marker mit dem BI(A), dem BI(E) und dem BI(F) nach 12 Monaten sowie mit der Läsionsgröße wurden zuerst die Werte an den Tagen eins, drei und sechs betrachtet. Bei fehlender Blutprobe an Tag drei wurden stattdessen die Werte von Tag vier verwendet, und fehlende Werte an Tag sechs wurden durch die Werte von Tag 7 oder 5 ersetzt. Alle

Korrelationen wurden mit dem Rang-Korrelations-Koeffizient nach Spearman berechnet.

Je nach Schwere der neurologischen Symptomatik wurden 2 Subgruppen von Patienten gebildet. Hierzu diente der BI(A) mit einem Cut-off von 50, was dem Mittelwert der erreichbaren 0 bis 100 Punkte entspricht und gleichzeitig auch den Median des Kollektivs darstellt. Es wurde geprüft, ob sich die Konzentrationen der biochemischen Parameter während der ersten sieben Tage nach Schlaganfall in den beiden Gruppen unterscheiden. Mit der SAS-Prozedur PROC MIXED konnte der Einfluss der Zeit (Tag 1 bis 7) und der Schwere der Symptomatik (BI bei Aufnahme $<$ oder ≥ 50) sowie die Wechselwirkung zwischen beiden auf die Werte simultan getestet werden. Hierfür wurden die Daten vorher in Ränge transformiert.

Die prognostische Wertigkeit sowohl der klinischen Scores wie auch der Laborparameter wurde hinsichtlich der Regenerationsfähigkeit der Patienten nach einem Jahr beurteilt. Als objektiver prognostischer Marker wurde der Barthel-Index nach 12 Monaten erhoben.

Zusätzlich zur einfachen Korrelation der laborchemischen Parameter mit dem Barthel-Index nach 12 Monaten wurden partielle Korrelationskoeffizienten unter Miteinbeziehung des BI(A) berechnet, um einen möglichst von der Klinik bei Aufnahme unabhängigen Zusammenhang zwischen Laborparametern und Prognose zu ermitteln. Hierfür wurden wieder die Werte an den Tagen eins, drei und sechs betrachtet und der Rang-Korrelations-Koeffizient nach Spearman verwendet.

In einem zweiten Ansatz wurden anhand des Barthel-Index nach 12 Monaten zwei Gruppen gebildet: Gruppe 1 = Patienten, die nach 12 Monaten keinerlei neurologische Defizite mehr aufwiesen (also einen Barthel-Index von 100 Punkten erreichten) und Gruppe 2 = Patienten mit einem Barthel-Index unter 100 Punkten nach 12 Monaten. Es zeigte sich, dass alle Patienten mit einem initialen Barthel-Index oberhalb des Medians aller Patienten (BI ≥ 50) nach 12

Monaten keine neurologischen Defizite mehr aufwiesen. Deswegen wurden sie in die weitere prognostische Auswertung nicht mehr miteinbezogen.

Bei den übrigen Patienten mit einem Barthel-Index <50 bei Aufnahme wurde die prognostische Aussagekraft der verschiedenen klinischen und laborchemischen Parameter untersucht, und zwar mit den folgenden Methoden:

- Es wurden erstens noch einmal die Korrelationen mit dem Barthel-Index nach 12 Monaten berechnet.
- Es wurden zweitens die Werte in den beiden Prognose-Gruppen verglichen und Unterschiede mittels Wilcoxon-Test auf Signifikanz geprüft.
- Für Parameter, die sich dabei als signifikant erwiesen, wurden drittens zusätzlich Grenzwerte definiert.

Für das Zielereignis "Nicht Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten nach 12 Monaten" ließen sich somit Sensitivitäten (Anteil der Patienten oberhalb des Grenzwertes in dieser Gruppe) berechnen. Die entsprechende Spezifität ergibt sich dann als Anteil der Patienten unterhalb des Grenzwerts in der Gruppe 1. Als Grenzwerte wurden der Median aller Patienten mit einem Barthel-Index <50 bei Aufnahme gewählt, sowie das Maximum der Werte in Gruppe 1 um die Sensitivitäten bei 100% Spezifität vergleichen zu können. Signifikante Assoziationen zwischen den so kategorisierten Variablen und den Prognose-Gruppen wurden mit dem exakten Fisher-Test geprüft.

Zusätzlich wurden relative Risiken für das nicht Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten nach 12 Monaten (Risiko für Patienten oberhalb des Grenzwerts/ Risiko für Patienten unterhalb des Grenzwerts) und zugehörige 95-prozentige Konfidenzintervalle errechnet.

Zuletzt wurde mit dem Cochran-Mantel-Haenszel Test geprüft, ob der Einfluss der beiden Parameter, die sich als prognostisch relevant erwiesen hatten (Nukleosomen und BI(A)) jeweils voneinander unabhängig waren.

Generell galt ein p-Wert < 0.05 als signifikant.

Die statistische Auswertung wurde mit der SAS Software (Version 8.2., SAS-Institut Inc. Cary, NC, USA) durchgeführt.

4 Ergebnisse

Zur Beurteilung der diagnostischen Wertigkeit der laborchemischen Parameter nach zerebraler Ischämie wurde zunächst die Kinetik innerhalb der ersten Woche nach Einsetzen der Symptomatik untersucht. Es wurde beobachtet, inwiefern sich die Verläufe bei verschiedenen Patienten und bei den verschiedenen Markern homogen darstellen und zu welchem Zeitpunkt die höchsten Wertlagen erreicht werden (4.1).

Weiterhin erfolgte eine Korrelation der klinischen Variablen (4.2.1), der biochemischen Parameter untereinander (4.2.2), sowie der klinischen Variablen mit den laborchemischen Markern (4.2.3; 4.2.4). Objektiviert wurde das Ausmaß der Schädigung am Barthel-Index, der die funktionelle Beeinträchtigung der Patienten widerspiegelt, und an der Läsionsgröße.

Um zu sehen, ob die Schwere der Schädigung mit der Kinetik der laborchemischen Marker korreliert, wurde eine Subgruppenanalyse durchgeführt (4.2.5). Es erfolgte eine Unterteilung der Patienten in zwei Gruppen. In der einen befanden sich Patienten mit einem Barthel-Index ≥ 50 bei Aufnahme und geringerer Beeinträchtigung, in der anderen Gruppe Patienten mit einem Barthel-Index <50 und stärkerer Symptomatik.

Zusätzlich wurde die prognostische Wertigkeit der klinischen Scores und der Labormarker hinsichtlich der Regenerationsfähigkeit der Patienten durch Erhebung des Barthel-Index nach 12 Monaten untersucht (4.3).

Es wurden Korrelationen eines jeden Parameters mit dem Barthel-Index nach 12 Monaten berechnet.

Schließlich wurden geeignete Grenzwerte für die einzelnen Parameter festgelegt, um eine möglichst sichere prognostische Aussage hinsichtlich der Nicht-Regeneration der Patienten zu erreichen – unter der Vorstellung, dass die so ermittelten Patienten am meisten von einer intensivierten Rehabilitation profitieren würden.

4.1 Werteverteilung der biochemischen Parameter in der ersten Woche nach zerebraler Ischämie

Zu Beginn wurden die Werteverteilungen der biochemischen Marker im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie untersucht. Der erste Wert wurde innerhalb von 24 Stunden (= Tag 1) nach Aufnahme ins Krankenhaus erhoben. Der letzte Wert, der in die Auswertung miteingeht, ist Tag sieben.

4.1.1 Nukleosomen

Die Betrachtung der Werte während der ersten sieben Tage nach der Ischämie zeigt, dargestellt in Dot Plots, einen starken Anstieg der Werte von Tag eins zu Tag zwei. Die Maximalwerte im Median wurden an Tag drei (363.2 ng/ml) erreicht. Bei einigen Patienten konnte ein zeitlich früherer Anstieg der Nukleosomenkonzentration beobachtet werden.

In der Mehrheit der Verläufe ist ein kontinuierlicher Anstieg der Werte bis zu Tag drei oder vier zu verzeichnen, gefolgt von einem Abfall der Konzentrationen bis zu Tag sieben. Dennoch werden an Tag sieben weiterhin erhöhte Konzentrationen im Vergleich zu den Ausgangswerten gemessen.

Es ist eine große Streubreite der Wertlagen innerhalb der ersten Woche zu verzeichnen, wobei sich die Verteilung der Werte am ersten Tag relativ homogen erhöht darstellt. Es konnten Konzentrationen zwischen 1716 ng/ml und 2860 ng/ml gemessen werden. Dabei handelt es sich um eine starke Erhöhung gegenüber dem Median der Gesunden, der bei 14 ng/ml liegt.

Es kommt somit direkt nach dem Ereignis zu einem deutlichen Anstieg der Nukleosomenkonzentration im Serum, bis zum Erreichen der maximalen Konzentration dauert es allerdings bis zu Tag 3 oder 4. In der Abbildung 5 ist die Werteverteilung der Nukleosomen graphisch dargestellt unter Miteinbeziehung des Medians.

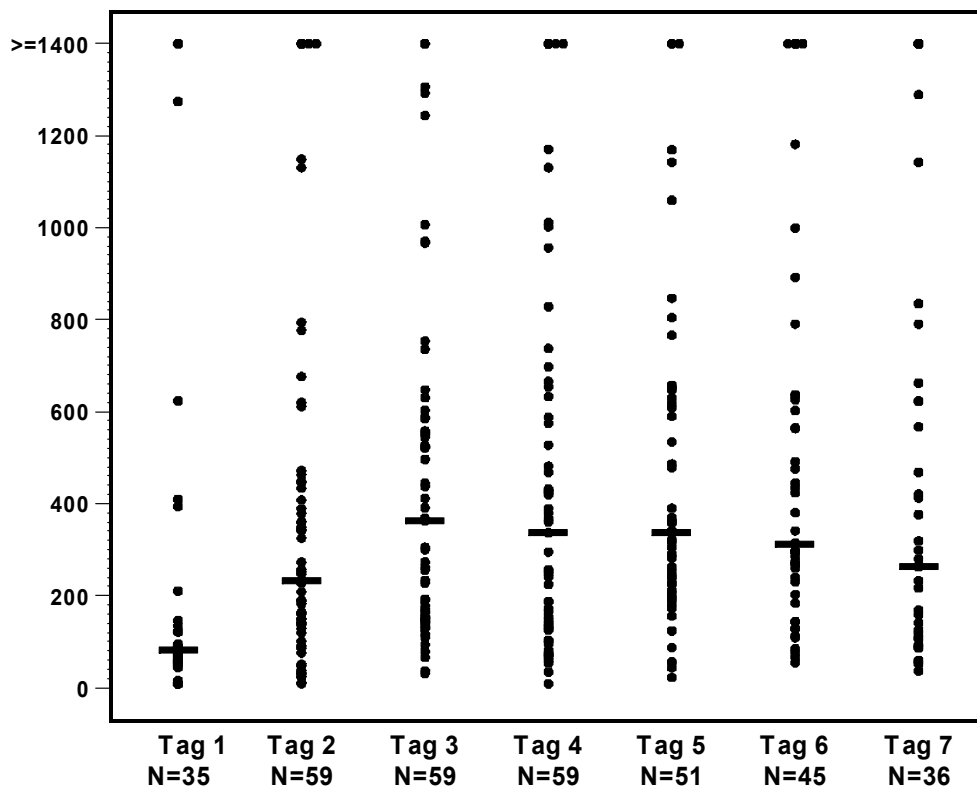


Abbildung 5: Werteverteilung der Nucleosomen (ng/ml) dargestellt in Dot Plots im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie. (— = Median, N=Patientenanzahl)

4.1.2 S100-Protein (S100)

Die Wertlagen des S100-Proteins zeigen am ersten Tag nach der zerebralen Ischämie homogen niedrige Wertlagen. Anschließend zeigt sich ein deutlicher, kontinuierlicher Anstieg mit dem Maximum an Tag 4 (95%-Perzentile: 0.10 ng/ml).

Dem folgt ein deutlicher Abfall der Wertlagen. An Tag 7 sind die Ausgangskonzentrationen bei den meisten Verläufen wieder erreicht.

Der Median der Gesunden des S100-Proteins liegt bei 0,05 ng/ml. Es werden Wertlagen zwischen 2 und 3 ng/ml erreicht, was eine vielfache Erhöhung im Vergleich zu Gesunden darstellt.

In der Abbildung 6 ist die Werteverteilung des S100-Proteins graphisch dargestellt.

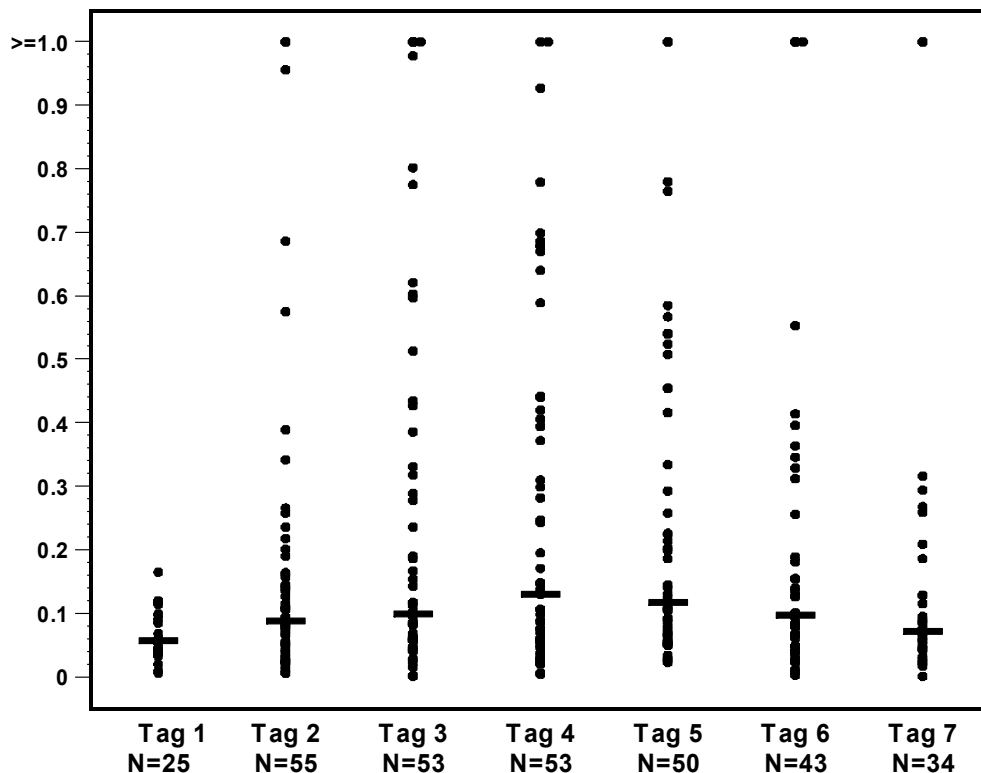


Abbildung 6: Werteverteilung des S100-Proteins (ng/ml) dargestellt in Dot Plots im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie. (— = Median, N= Patientenzahl)

4.1.3 Neuronen spezifische Enolase (NSE)

Für die NSE konnte bei den Ausgangswerten eine größere Streuung als bei den Nukleosomen und dem S100-Protein nachgewiesen werden, wobei ca. 70% der Werte schon über dem Referenzbereich lagen (95%-Perzentile: 16.3 ng/ml). Trotz der großen Streubreite scheint es schon am ersten Tag zu einer deutlichen Erhöhung der Serumkonzentration zu kommen.

Da keine Basiswerte von dem Zeitpunkt vor der zerebralen Ischämie bekannt sind, kann nicht eindeutig beurteilt werden, ob es sich bei den Werten an Tag 1 definitiv um eine Erhöhung handelt. Im weiteren Verlauf kann keine eindeutige Dynamik festgemacht werden.

Die NSE-Werte erreicht Wertlagen zwischen 30 und 50 ng/ml. Der Median der Gesunden für die NSE liegt bei 9.95 ng/ml. Verglichen zur Normalbevölkerung,

zu den Nukleosomen und zum S100 zeigt die NSE eine viel geringere Erhöhung der Wertlagen (Abbildung 7).

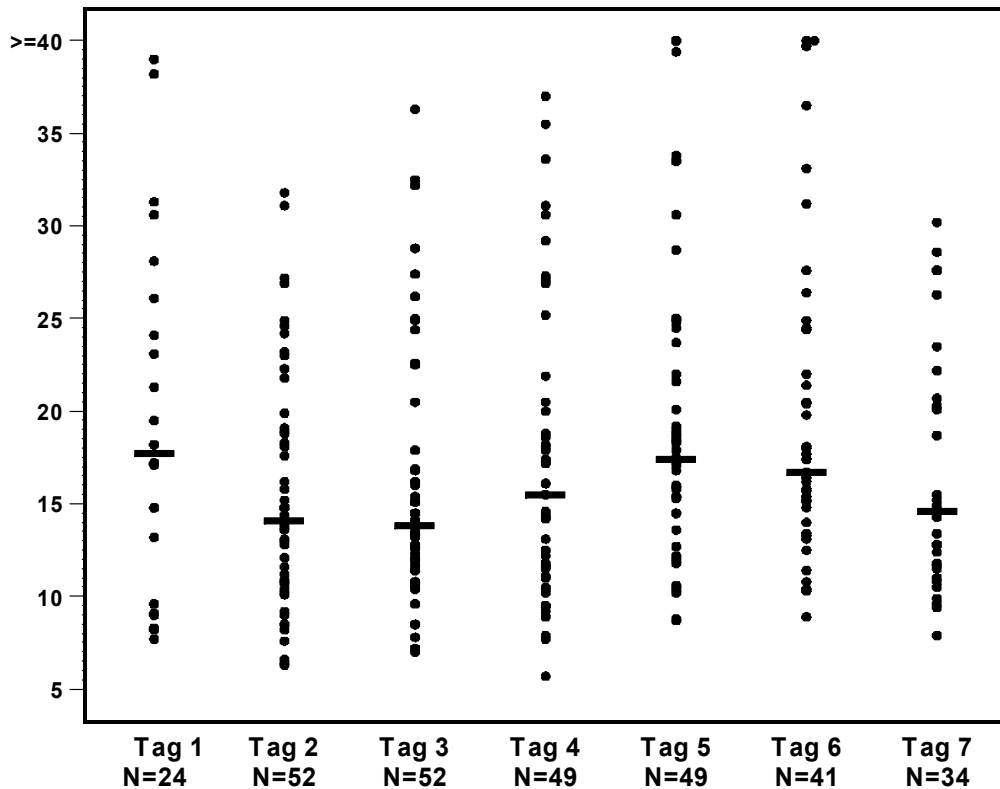


Abbildung 7: Werteverteilung der NSE (ng/ml) dargestellt in Dot Plots im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie. (— = Median, N=Patientenanzahl)

4.1.4 C-reaktives Protein (CRP)

Das C-reaktive Protein zeigte im Verlauf der ersten sieben Tage nach der zerebralen Ischämie im Vergleich zu den anderen laborchemischen Parametern die größte Streuung der Wertlagen. Initial lagen bis auf einen Wert die Werte aller Patienten im Normbereich. Innerhalb der ersten drei Tage ist kaum eine Dynamik zu verzeichnen. Es kommt kurz nach dem Ereignis (Median der Gesunden: 0.5 mg/dl) zu keiner signifikanten Erhöhung der Wertlagen. Erst an Tag 4 kommt es zu einem Anstieg. Das Maximum wird im Median an Tag fünf erreicht (2.5 mg/dl), danach bleiben die Wertlagen bis Tag sieben relativ erhöht

(Median Tag 7: 1.4mg/dl). In der Abbildung 8 ist die Werteverteilung des C-reaktiven Proteins unter Miteinbeziehung des Medians graphisch dargestellt.

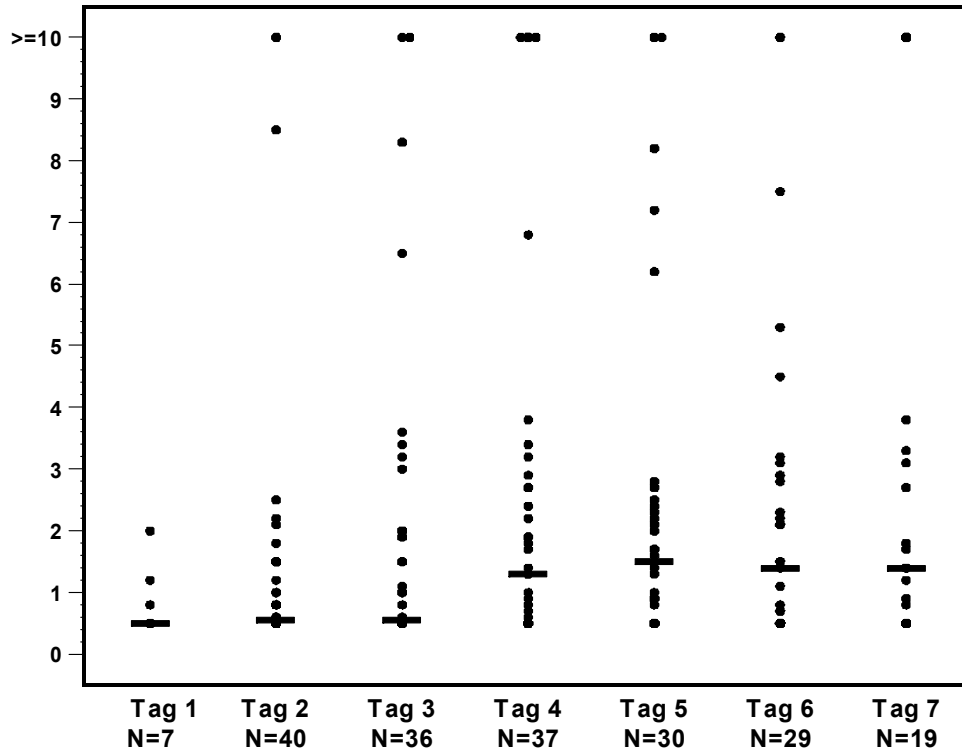


Abbildung 8: Werteverteilung des C-reaktiven Proteins CRP (mg/dl) dargestellt in Dot Plots im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie. (— = Median, N=Patientenzahl)

4.1.5 Leukozyten

Im Verlauf der ersten Woche nach Symptombeginn sind an jedem Tag hohe und niedrige Konzentrationen zu verzeichnen. In den ersten Stunden nach Einsetzen der Symptome kommt es zu keinem deutlichen Anstieg der Leukozytenkonzentrationen über den Referenzbereich (Median der Gesunden : 10.0 G/l). Die Leukozyten zeigen nach einem anfänglichen Anstieg konstant erhöhte Wertlagen. Die Leukozytenkonzentrationen bleiben bis zu Tag sieben erhöht (Abbildung 9).

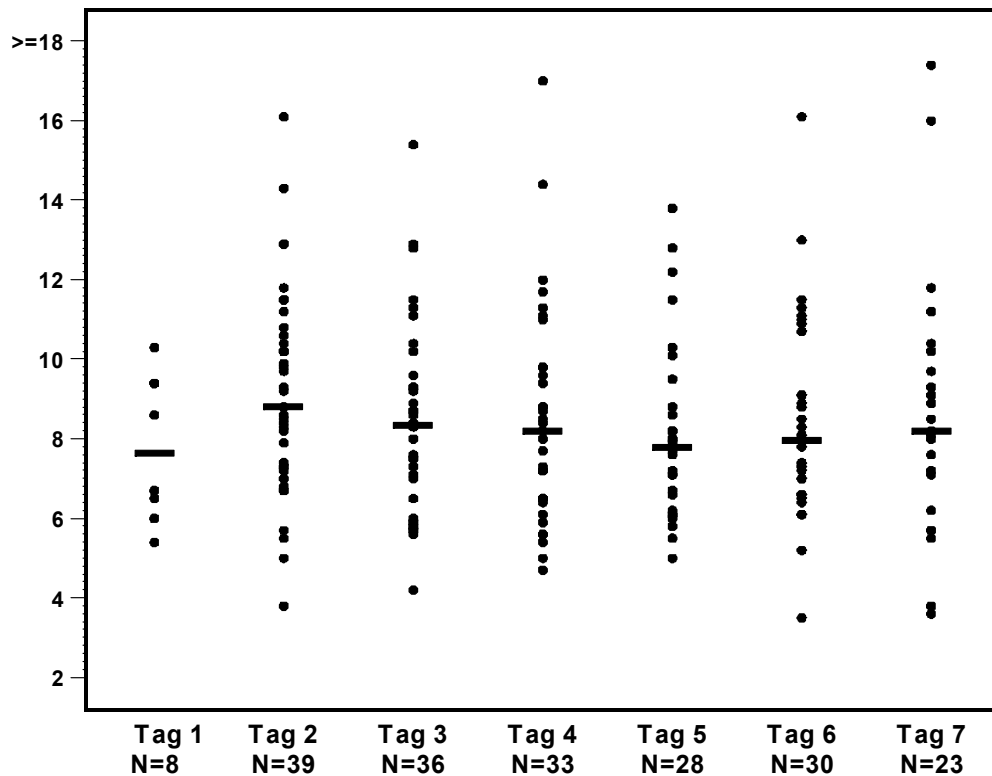


Abbildung 9: Werteverteilung der Leukozyten (G/l) dargestellt in Dot Plots im Verlauf der ersten Woche nach der zerebralen Ischämie. (— = Median, N=Patientenanzahl)

4.1.6 Zusammenfassung

Zusammenfassend ist bei den Nukleosomen und dem S100-Protein eine eindeutige Kinetik im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie zu verzeichnen. Bei beiden laborchemischen Parametern kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg bis zum Erreichen der Maximalwerte an Tag 3 oder 4, gefolgt von einem Absinken der Werte bis zum Tag sieben.

Die NSE zeigt keine eindeutige Dynamik bei größerer Streubreite der Wertlagen im Vergleich zu den Nukleosomen und dem S100-Protein. Eine Tendenz mit dem Maximum an Tag fünf ist zu verzeichnen.

CRP und Leukozyten zeigen die größte Streuung bei keiner einheitlichen Dynamik.

Innerhalb der ersten Stunden nach Eintreten der Symptomatik zeigt sich für die Nukleosomen und das S100-Protein eine relativ homogene Verteilung mit minimal erhöhten Wertlagen im Vergleich zum Median der Gesunden.

Für die NSE konnten relativ erhöhte Konzentrationen an Tag eins gemessen werden.

Die CRP-Konzentrationen bleiben bis zu Tag 4 weitgehend im Normbereich und weisen eine deutliche Homogenität auf.

Die Leukozyten zeigen keine Konzentrationsänderung kurz nach Einsetzen der Symptomatik.

Das CRP und die Leukozyten weisen die geringsten Erhöhungen der Werte auf im Vergleich zur gesunden Normalbevölkerung.

In Abbildung 10 sind die Werteverteilungen aller Parameter im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie dargestellt. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden alle fünf Marker durch einen Cut off geteilt. Als Cutoff wurde der Median der Gesunden gewählt, der bei den Nukleosomen bei 14.0 ng/ml, beim S100 bei 0,05 ng/ml, bei der NSE bei 9,95 ng/ml, beim CRP bei 0,5 mg/dl und bei den Leukozyten bei 6,05 G/l liegt.

Die Werte für jeden Marker sind in der anschließenden Tabelle 14 noch einmal dargestellt unter Miteinbeziehung des Medians, der Minimal- und Maximalwerte, der Patientenanzahl, sowie der 75sten-Perzentile.

Es zeigen sich zwischen den fünf Markern Unterschiede in Zeitpunkt und Höhe der Maximalkonzentrationen. Dennoch sind in allen Verläufen Tendenzen sowohl im Hinblick auf den Zeitpunkt der Anstiege, Erreichen der Maximalkonzentrationen und Abfälle nach Einsetzen der Symptomatik, zu beobachten.

Zur Darstellung der Einzelverläufe eines jeden Patienten wurden alle vier Parameter zur besseren Vergleichbarkeit durch den Median der Gesunden als Cut off geteilt. Bei den Patienten mit einer geringen neurologischen Symptomatik wurden bei Betrachtung der Einzelverläufe starke Übereinstimmungen festgestellt. Dies gilt ebenso für die Verläufe bei Patienten mit starker funktioneller Beeinträchtigung.

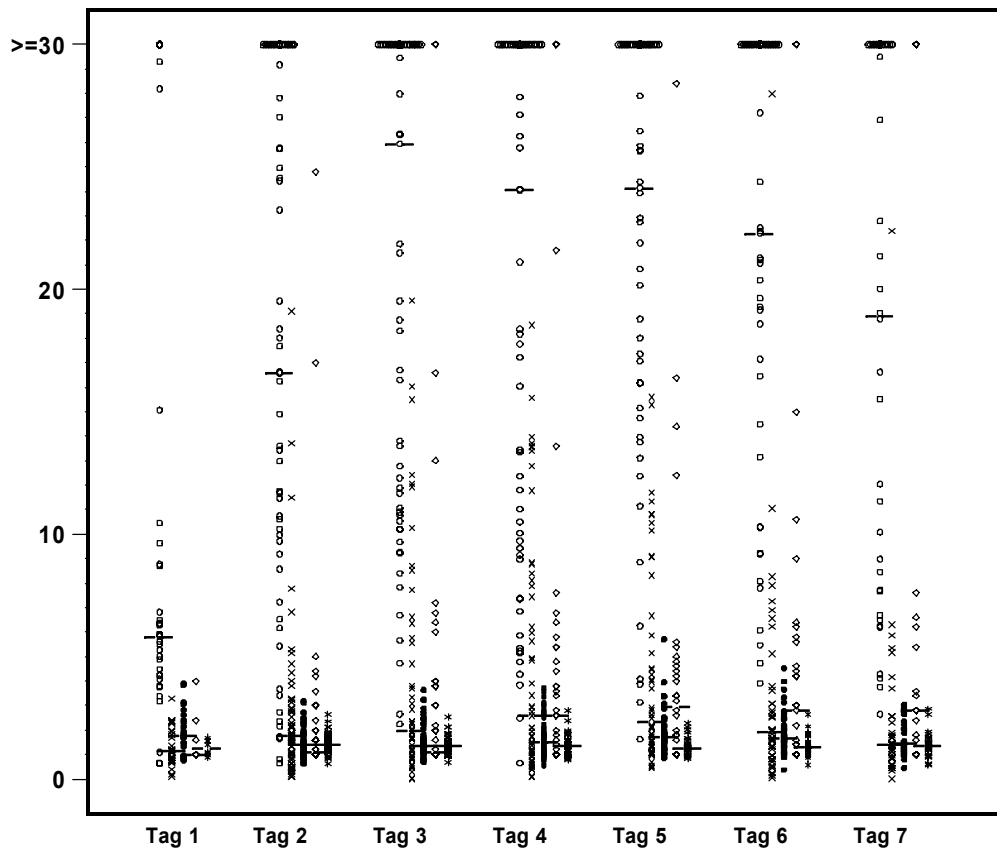


Abbildung 10: Werteverteilung aller Parameter dargestellt in Dot Plots im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie. Legende:
 ○ [Nucleosomen] × [S100] ● [NSE] ◇ [CRP]
 * [Leukozyten] — [Median]. Ordinate: N (=Patientenanzahl)

Tag	Nukleosomen				NSE				S100				CRP				Leukozyten						
	N	Median	Range	75 P	N	Median	Range	75 P	N	Median	Range	75 P	N	Median	Range	75 P	N	Median	Range	75 P	N	Median	Range
1	35	81.2	9.2-1883.0	123.0	24	17.7	7.7-39.0	25.1	25	0.058	0.006-0.165	0.097	7	0.5	0.5-2.0	1.2	8	7.7	5.4 – 10,3	8	7.7	5.4 – 10,3	9.4
2	59	232.2	9.2-2614.0	434.1	52	14.1	6.3-31.8	19.0	55	0.089	0.006-2.05	0.162	40	0.6	0.5-12.4	1.4	39	8.8	3,8 – 16,1	39	8.8	3,8 – 16,1	10,6
3	59	363.2	31.5-1839.0	558.8	52	13.9	7.0-36.3	17.4	53	0.099	0.001-2.27	0.318	36	0.6	0.5-16.8	2.0	36	8.4	4,2 – 15,4	36	8.4	4,2 – 15,4	9,5
4	59	336.9	6.3-2919.5	588.0	49	15.5	5.7-37.0	20.0	53	0.130	0.004-2.91	0.406	37	1.3	0.5-16.1	2.7	33	8.2	4,7 – 17,0	33	8.2	4,7 – 17,0	9,8
5	51	338.1	22.9-2605.5	629.8	49	17.4	8.7-56.9	22.0	50	0.117	0.023-2.29	0.334	30	1.5	0.5-14.2	2.4	28	7.8	5,0 – 13,8	28	7.8	5,0 – 13,8	9,2
6	45	312.3	54.9-1832.7	584.0	41	16.7	3.8-45.1	22.0	43	0.098	0.003-2.08	0.189	29	1.4	0.5-20.4	2.8	30	7.95	3,5 – 16,1	30	7.95	3,5 – 16,1	10,7
7	36	264.8	37.2-1769.2	609.2	34	14.6	4.6-30.2	20.3	34	0.072	0.001-1.12	0.128	19	1.4	0.5-18.7	3.1	23	8.2	3,6 – 17,4	23	8.2	3,6 – 17,4	10,2

Tabelle 14: Werteverteilung der biochemischen Marker im Verlauf der ersten Woche nach der zerebralen Ischämie. Angegeben werden die Patientenzahl, der Median, die Minimum- und Maximumwerte, sowie die 75sten Perzentile (75P).
N=Patientenzahl.

In den folgenden Abbildungen 11 und 12 sind exemplarisch zwei Patientenverläufe dargestellt. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden alle fünf Marker wiederum durch den Median der Gesunden als cutoff geteilt.

Der erste Verlauf (Abbildung 11) spiegelt die Kinetik der fünf laborchemischen Parameter eines Patienten mit starken neurologischen Ausfällen (BI(A) 5 Punkte) wieder, der zweite Verlauf (Abbildung 12) die Kinetik bei einem Barthel-Index von 55 Punkten bei Aufnahme und somit geringerer Neurologie.

Im ersten Verlauf mit einem Barthel-Index <50 und somit deutlich schwereren neurologischen Defiziten sind bei allen Parameter deutlich höhere Konzentrationen zu verzeichnen, als im zweiten Verlauf mit einem Barthel-Index ≥ 50 bei Aufnahme. Dies gilt besonders für die Nukleosomen und das S100-Protein.

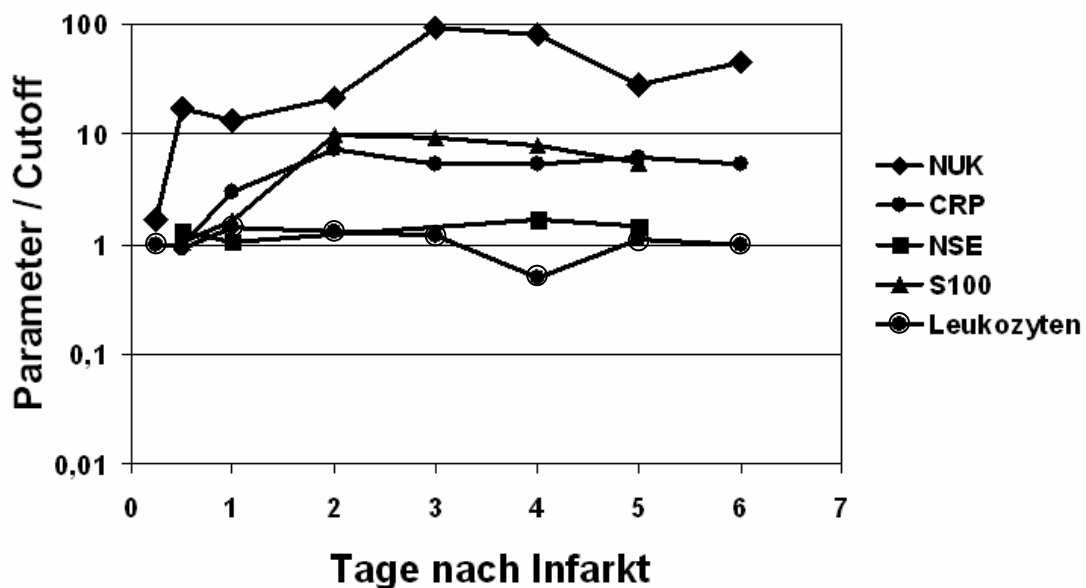


Abbildung 11: Fall 1: Exemplarischer Verlauf der Nukleosomen, des S100-Proteins, der NSE, des CRP's und der Leukozyten bei einem Patienten 67 Jahre mit initialem Barthel-Index von 5 Punkten; (Barthel-Index nach 12 Monaten: 80 Punkte; Läsionsgröße: 34,04 ccm). Cutoff: Median der Gesunden (siehe Text)

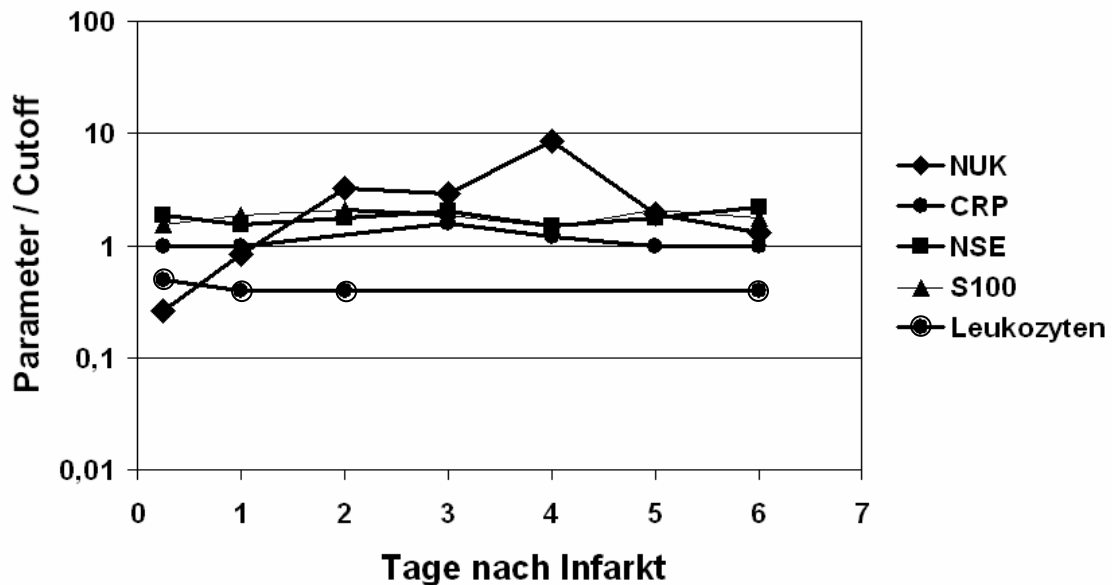


Abbildung 12: Fall 2: Exemplarischer Verlauf der Nukleosomen, des S100-Proteins, der NSE und des CRP's und der Leukozyten bei einem Patienten 52 Jahre mit initialem Barthel-Index von 55 Punkten; (Barthel-Index nach 12 Monaten: 100 Punkte; Läsionsgröße: 1,39 ccm). Cutoff: Median der Gesunden (siehe Text)

4.2 Korrelationen bei Aufnahme und während der ersten Woche

4.2.1 Korrelation der klinischen Marker untereinander

Als klinische Variablen zur Beurteilung der Schwere der Ischämie wurden der BI(A), der BI(E) und die Läsionsgröße bestimmt.

Der BI(A) zeigte eine starke signifikante Korrelation mit dem BI(E), eine inverse Korrelation mit der Läsionsgröße, und wie später noch gezeigt werden wird, eine deutlich signifikante Korrelation mit der Prognose nach 12 Monaten. Der BI(E) zeigte eine etwas schwächere Korrelation mit der Läsionsgröße.

Die weiteren Korrelationen wurden nur mit dem BI(A) errechnet, da die Berücksichtigung des BI(E) zu keiner zusätzlichen Aussage im Vergleich des BI(A) hinsichtlich der Schwere der Symptomatik und des Outcomes führt (Tabelle 15).

	BI bei Aufnahme	Läsionsgröße	BI bei Entlassung
BI bei Aufnahme	R = 1.0000	R= -0.5619 <i>P < 0.0001</i>	R= -0.8323 <i>P < 0.0001</i>
Läsionsgröße		R= 1.0000	R= -0.4410 <i>P= 0.0022</i>
BI bei Entlassung			R= 1.0000

Tabelle 15: Korrelation der klinischen Parameter untereinander

4.2.2 Korrelation der laborchemischen Marker untereinander

Es wurde die Korrelation der laborchemischen Marker an verschiedenen Tagen untersucht, um herauszufinden, ob sich durch die zeitgleiche Bestimmung von mehreren Parametern eine additive Aussage treffen lässt. Die Werte der Tage 1, 3 und 4, sowie 5, 6 und 7 wurden zusammengefasst. An erster Stelle gehen die Werte der Tage 1, 3 und 6 in die Auswertung ein. Sollte an einem dieser Tage kein Wert vorhanden sein, wird auf die Tage 4 und 7 ausgewichen. Sollte an Tag 1 kein Wert vorhanden sein, wurde auf diesen Wert in der Auswertung verzichtet.

An Tag 1 zeigten die Nukleosomen nur eine signifikante Korrelation mit dem CRP. Die Nukleosomen korrelierten weder mit dem S100-Protein, noch mit der NSE, noch mit den Leukozyten. Auch die NSE zeigte keine Korrelation mit einem der anderen Markern für die Werte an Tag 1, ebenso nicht das S100-Protein und das C-reaktive Protein. Die Korrelationen der laborchemischen Parameter sind in den Tabellen 16-18 zusammengefasst.

An Tag 3 zeigten die Nukleosomen eine signifikante Korrelation mit S100, CRP und Leukozyten, nicht jedoch mit der NSE. Die NSE korrelierte an Tag 3 nur mit dem S100-Protein signifikant. Das S100-Protein wies eine signifikante Korrelation mit den Nukleosomen, dem CRP und der NSE auf, nicht jedoch mit den Leukozyten.

An Tag 6 wiesen die Nukleosomen eine Korrelation mit der NSE, dem CRP und den Leukozyten auf. Es konnte keine Signifikanz für die Nukleosomen und das S100-Protein nachgewiesen werden. Die NSE korrelierte signifikant mit dem

S100-Protein und den Nukleosomen. Das S100-Protein korrelierte weder mit dem CRP, noch mit den Leukozyten signifikant.

Variable	Nukleos	S100	NSE	CRP	Leukos
Nukleosomen	1.0000	R= 0.3266 P= 0.1111	R= -0.2184 P= 0.3047	R= 0.8078 P= 0.0280	R= 0.3473 P= 0.3003
S100		1.0000	R= 0.2877 P= 0.1832	R= -0.2236 P= 0.9545	R= -0.1442 P= 0.7578
NSE			1.0000	R= -0.0304 P= 0.7177	R= 0.4058 P= 0.4247
CRP				1.0000	R=0.2883 P=0.5307
Leukozyten					1.0000

Tabelle 16: Korrelation der laborchemischen Parameter an Tag 1 innerhalb der ersten Woche nach der zerebralen Ischämie

Variable	Nukleos	S100	NSE	CRP	Leukos
Nukleosomen	1.0000	R=0.2887 P=0.0240	R=-0.0334 P=0.8006	R=0.3528 P=0.0150	R=0.4154 P=0.0033
S100		1.0000	R=0.5182 P<0.0001	R=0.3668 P=0.0132	R=0.2795 P=0.0599
NSE			1.0000	R=0.0131 P=0.9333	R=-0.0554 P=0.7341
CRP				1.0000	R=0.3914 P=0.0094
Leukozyten					1.0000

Tabelle 17: Korrelation der laborchemischen Parameter untereinander an Tag 3 innerhalb der ersten Woche nach der zerebralen Ischämie

Variable	Nukleos	S100	NSE	CRP	Leukos
Nukleosomen	1.0000	R=0.1953 P=0.1531	R=0.4615 P=0.0004	R=0.4269 P=0.0054	R=0.3083 P=0.0470
S100		1.0000	R=0.6017 P<0.0001	R=0.2602 P=0.1003	R=0.0771 P=0.6277
NSE			1.0000	R=0.0915 P=0.5696	R=-0.0390 P=0.8062
CRP				1.0000	R=0.5559 P=0.0002
Leukozyten					1.0000

Tabelle 18: Korrelation der laborchemischen Parameter untereinander an Tag 6 innerhalb der ersten Woche nach der zerebralen Ischämie

Zusammenfassend korrelierten an den Tagen 3 die meisten Marker untereinander. Die Werte an Tag 3 wiesen bei allen Korrelationen die höchsten Signifikanzen auf. Es handelt sich um die Tage, an denen die Konzentrationen der Parameter im Verlauf einen deutlichen Anstieg zeigen und einige ihre Maximalwerte erreichen.

4.2.3 Korrelation der laborchemischen Parameter mit dem BI(A)

Es wurde die Korrelation des BI(A) mit den biochemischen Markern im Verlauf der ersten Woche untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 zusammengefasst.

Es galt herauszufinden, ob die Werte an bestimmten Tagen eine besonders gute Korrelation mit der Klinik aufweisen und dadurch die Kinetik der Marker widerspiegeln. Sollten die Werte an einem bestimmten Tag besonders aussagekräftig sein, könnten Blutentnahmen zu anderen Zeitpunkten eingespart werden. Die Korrelation wurde wieder zu den bekannten Zeitpunkten innerhalb der ersten Woche errechnet.

An Tag 1 nach Symptombeginn ergab sich für keinen der fünf Parameter eine signifikante Korrelation mit dem BI(A). An Tag 3 wiesen alle fünf Marker eine signifikante Korrelation mit der Klinik bei Aufnahme auf (Nukleosomen $P=0.0023$, NSE $P=0.0009$, S100 $P=<0.0001$, CRP $P=0.0004$, Leukozyten $P=0.0247$). An Tag 6 zeigte sich noch eine signifikante Übereinstimmung mit der Schwere der Symptomatik für Nukleosomen ($P=0.0284$), NSE ($P=0.0007$) und S100 ($P=<0.0001$).

Trotz signifikanter Korrelation des BI(A) mit den biochemischen Markern an Tag 3 konnte ein inhomogenes Verteilungsmuster nachgewiesen werden. Bei den meisten Patienten mit einem initial niedrigen Barthel-Index kommt es zu höheren Konzentrationen der laborchemischen Markern, allerdings können auch bei initial hohem Barthel-Index hohe Wertlagen beobachtet werden.

Aufgrund der höchsten Signifikanz aller Marker an Tag drei erfolgte die grafische Darstellung des BI(A) mit der Höhe der Wertlagen der Laborparameter nur an Tag 3. Die Abbildungen 13-16 spiegeln den BI(A) und die Konzentration der anderen 4 laborchemischen Parameter an Tag 3 wieder.

		Anzahl	R-Koeffizient	P-Wert
Nukleosomen	Tag 1	35	-0.1565	0.369
	Tag 3	63	-0.3778	0.0023
	Tag 6	55	-0.2957	0.0284
S100	Tag 1	25	-0.1592	0.4470
	Tag 3	61	-0.6312	<0.0001
	Tag 6	55	-0.5060	<0.0001
NSE	Tag 1	24	-0.0988	0.6459
	Tag 3	58	-0.4227	0.0009
	Tag 6	54	-0.4482	0.0007
CRP	Tag 1	7	-0.0099	0.9831
	Tag 3	47	-0.4975	0.0004
	Tag 6	41	-0.2865	0.0694
Leukozyten	Tag 1	8	-0.2771	0.5064
	Tag 3	48	-0.3222	0.0247
	Tag 6	42	-0.0461	0.7721

Tabelle 19: Korrelation der laborchemischen Parameter mit dem BI(A) zu verschiedenen Zeitpunkten im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie

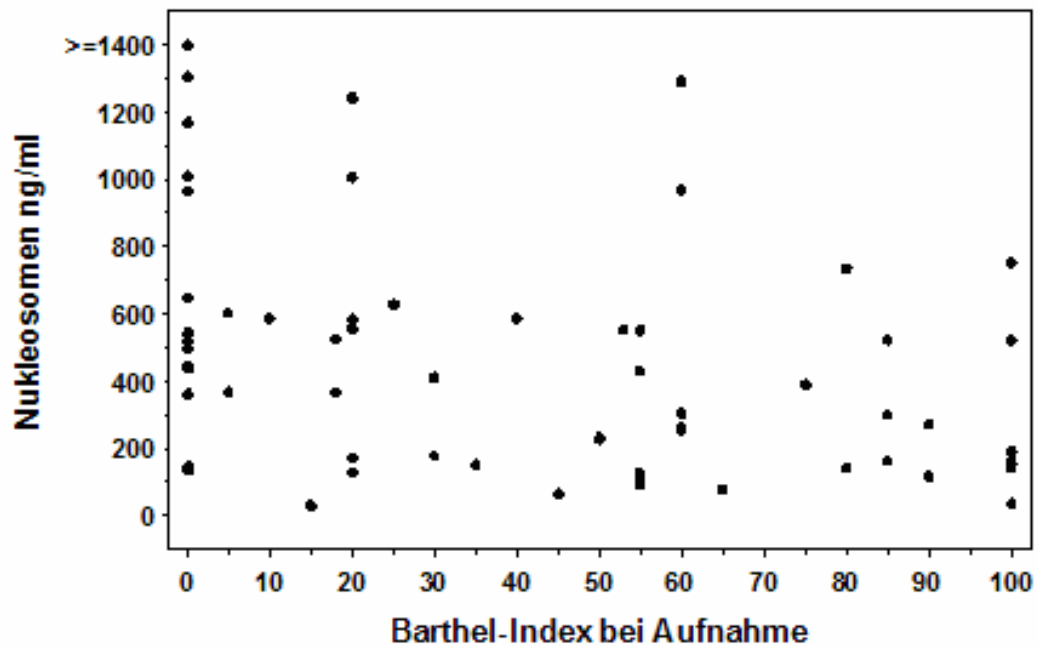


Abbildung 13: Korrelation der Nukleosomen-Konzentrationen an Tag 3 mit dem Barthel-Index bei Aufnahme

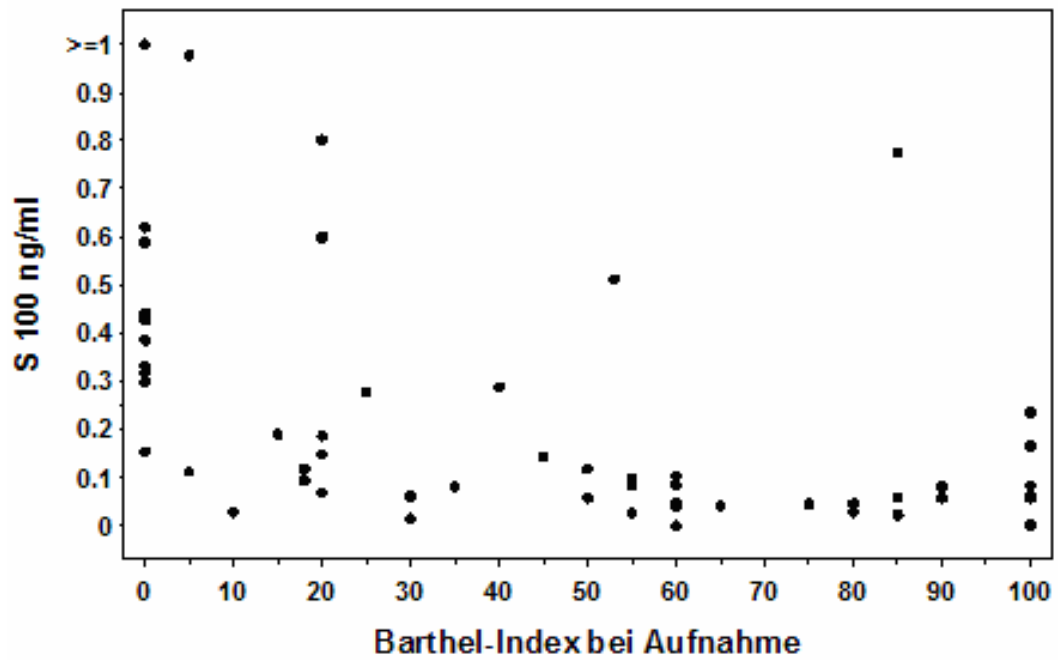


Abbildung 14: Korrelation der S100-Protein-Konzentrationen an Tag 3 mit dem Barthel-Index bei Aufnahme

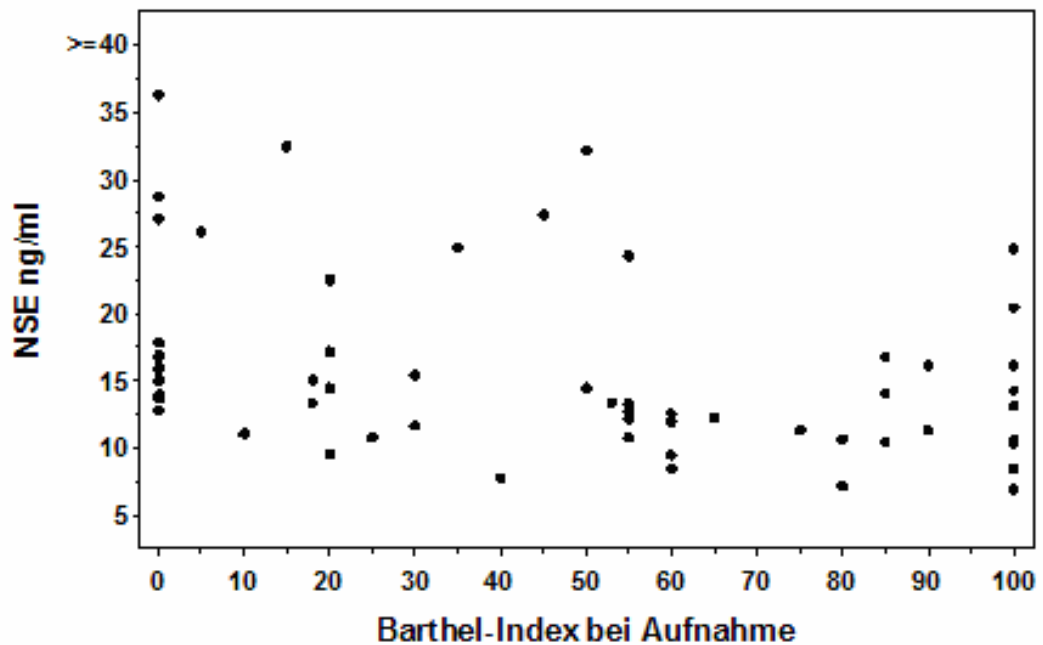


Abbildung 15: Korrelation der NSE-Konzentrationen an Tag 3 mit dem BI(A)

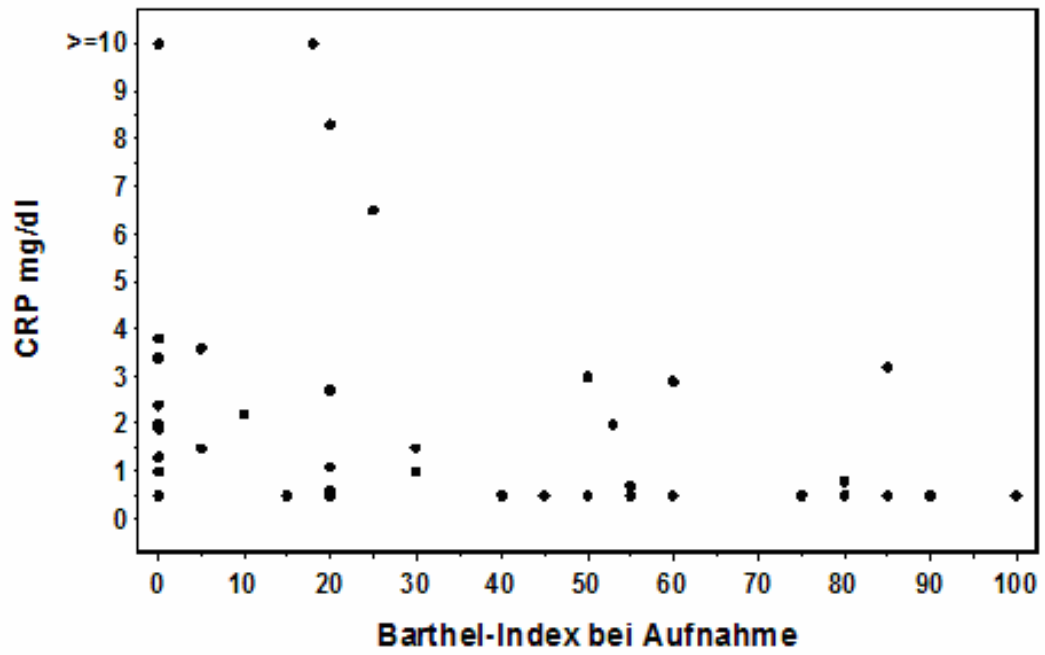


Abbildung 16: Korrelation der CRP-Konzentrationen an Tag 3 mit dem BI(A)

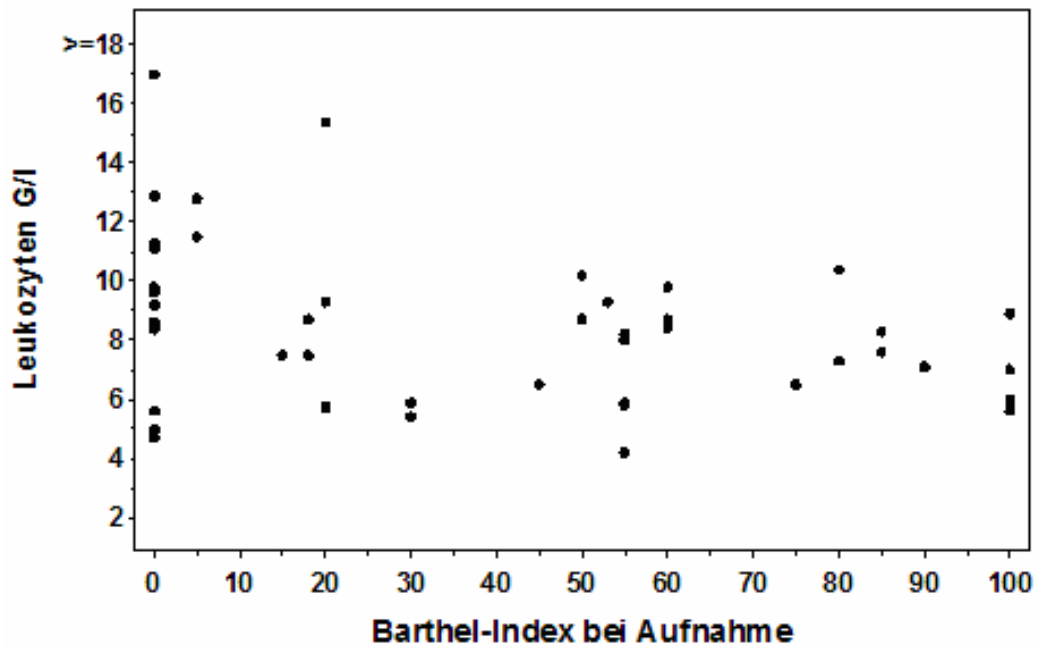


Abbildung 17: Korrelation der Leukozytenzahl an Tag 3 mit dem BI(A)

4.2.4 Korrelation der laborchemischen Marker mit der Läsionsgröße

Ebenso wie die fünf biochemischen Parameter an Tag 1 nicht signifikant mit dem BI(A) korrelierten, konnte auch für die Läsionsgröße an Tag 1 keine signifikante Korrelation mit den laborchemischen Markern nachgewiesen werden (Tabelle 20).

An Tag 3 korrelieren die Werte der Nucleosomen, des S100-Proteins und der Leukozyten signifikant mit der Läsionsgröße. Zu eben diesem Zeitpunkt kommt es zu deutlich erhöhten Wertlagen der drei Marker im Blut.

An Tag sechs konnten immerhin noch für das S100-Protein und die NSE eine signifikante Korrelation mit dem Volumen des Schlaganfalls nachgewiesen werden.

Das CRP korrelierte an keinem Tag signifikant mit dem Ausmaß der zerebralen Schädigung.

Für Tag drei nach zerebraler Ischämie ist für alle fünf Parameter die deutlichste Korrelation (Tabelle 20) sowohl mit der Klinik bei Aufnahme, als auch mit der Läsionsgröße zu verzeichnen.

Bei den meisten Parametern zeigt sich zu diesem Zeitpunkt ein eindeutiges Ansteigen der Wertlagen, bei einigen liegen schon die Maximalkonzentrationen vor.

Für Tag 3 nach Einsetzen der Symptomatik konnte bei allen biochemischen Parametern außer der NSE die höchste Korrelation mit dem BI(A) und der Läsionsgröße nachgewiesen werden.

Die anschließende Korrelation der Einzelwerte von Tag 3 mit der Läsionsgröße zeigte, dass die Markerkonzentrationen mit der Größe des geschädigten Areals korrelieren, aber auch kleine Ischämieareale zu sehr hohen Wertlagen führen können. Es führen demnach sowohl sehr große Infarkte als auch kleine Läsionen, die mit einer schweren klinischen Symptomatik verbunden sind, zu hohen Wertlagen der Parameter im Blut,.

		Anzahl	R-Koeffizient	P-Wert
Nukleosomen	Tag 1	33	0.1414	0.4327
	Tag 3	59	0.4744	0.0001
	Tag 6	51	0.2639	0.0612
NSE	Tag 1	22	0.3598	0.1000
	Tag 3	54	0.2637	0.0541
	Tag 6	50	0.3049	0.0313
S100	Tag 1	23	- 0.0912	0.6764
	Tag 3	57	0.5503	< 0.0001
	Tag 6	51	0.5268	< 0.0001
CRP	Tag 1	6	- 0.2125	0.6860
	Tag 3	43	0.2731	0.0764
	Tag 6	38	0.2743	0.0956
Leukozyten	Tag 1	7	0.1786	0.7017
	Tag 3	44	0.4115	0.0055
	Tag 6	39	0.2235	0.1714

Tabelle 20: *Korrelation der laborchemischen Parameter mit der Läsionsgröße zu verschiedenen Zeitpunkten im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie*

Zusammenfassend korrelieren die biochemischen Marker sowohl mit dem BI(A), als auch mit der Läsionsgröße. Die höchste Korrelation konnte für alle Parameter an Tag 3 gezeigt werden.

Aufgrund der höchsten Signifikanz aller Korrelation an Tag drei erfolgte die graphische Darstellung des Volumens des ischämischen Areals mit dem BI(A) und der Höhe der Wertlagen der Laborparameter nur an Tag 3.

Hierfür erfolgte eine Unterteilung der Patienten in eine Gruppe mit Barthel-Index ≥ 50 (geringe neurologische Beeinträchtigung) bei Aufnahme und < 50 (starke neurologische Beeinträchtigung) bei Aufnahme. Der Barthel-Index von 50 entspricht dem Median des Patientenkollektivs. Bei schwerer beeinträchtigten Patienten konnte eine stärkere Korrelation mit der Läsionsgröße nachgewiesen werden.

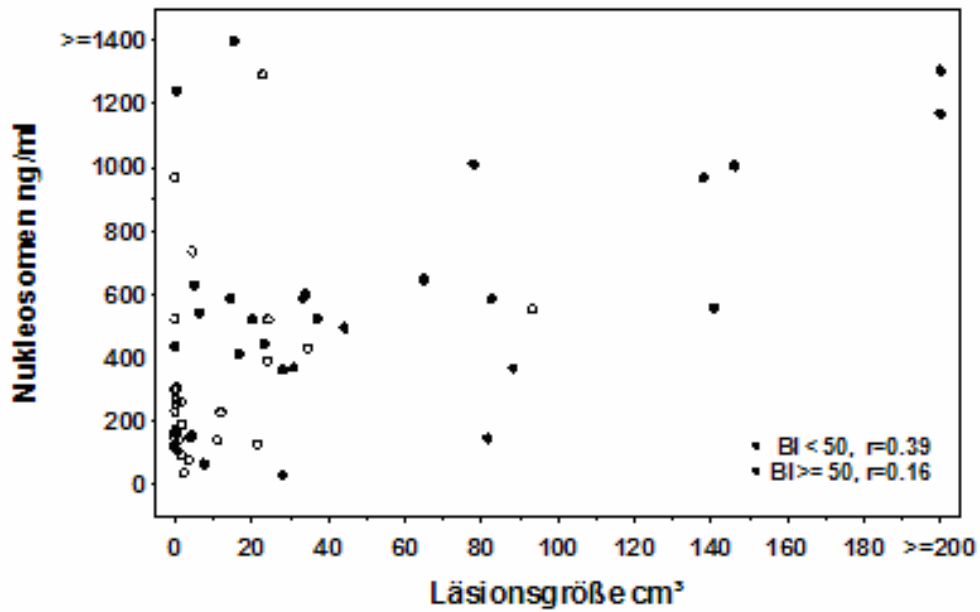


Abbildung 18: Korrelation der Nucleosomen-Konzentrationen an Tag 3 mit der Läsionsgröße bei Patienten mit Barthel-Index ≥ 50 und Barthel-Index < 50 bei Aufnahme

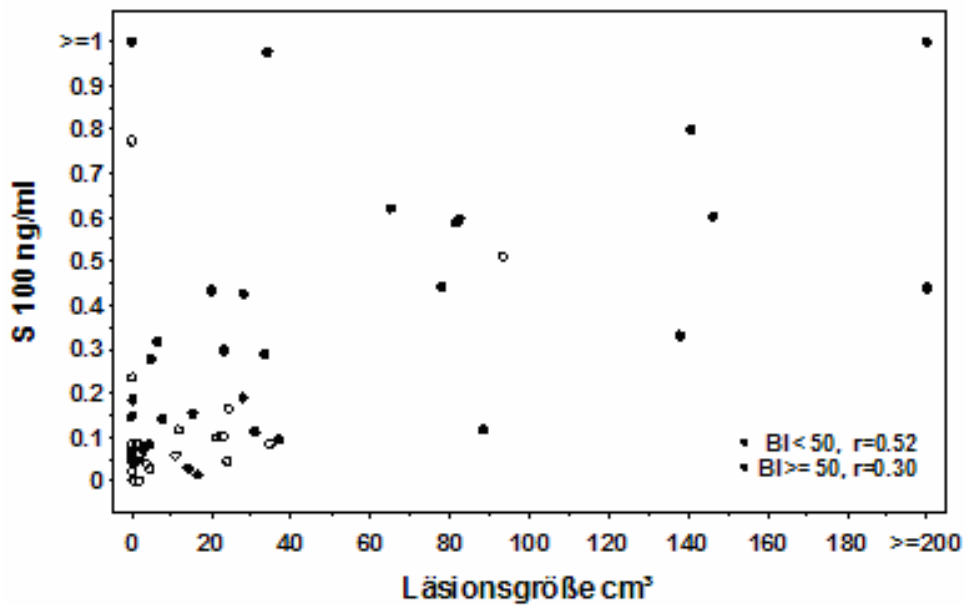


Abbildung 19: Korrelation der S100-Protein-Konzentrationen an Tag 3 mit der Läsionsgröße bei Patienten mit Barthel-Index ≥ 50 und Barthel-Index < 50 bei Aufnahme

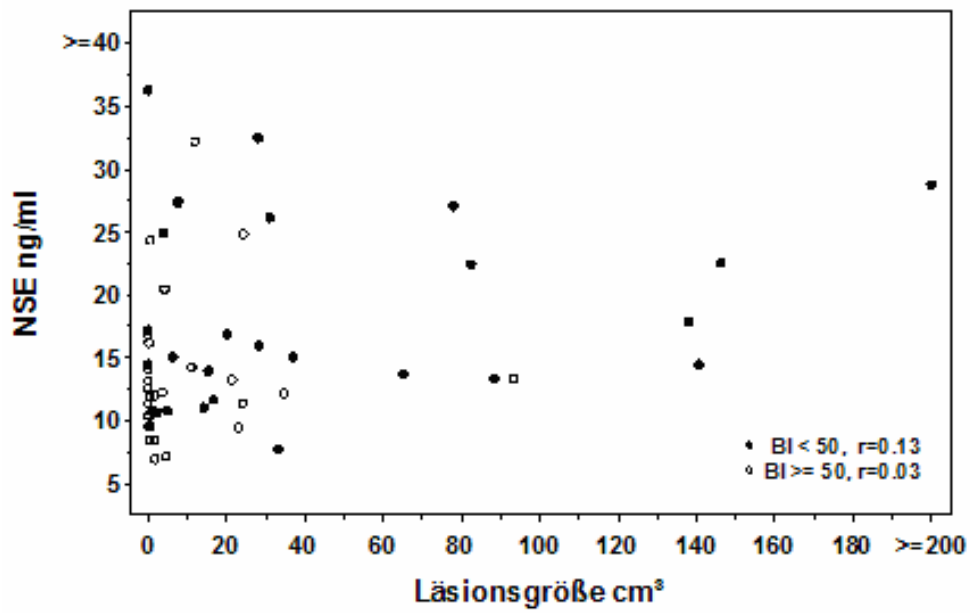


Abbildung 20: Korrelation der NSE-Konzentrationen an Tag 3 mit der Läsionsgröße bei Patienten mit Barthel-Index ≥ 50 und < 50 bei Aufnahme

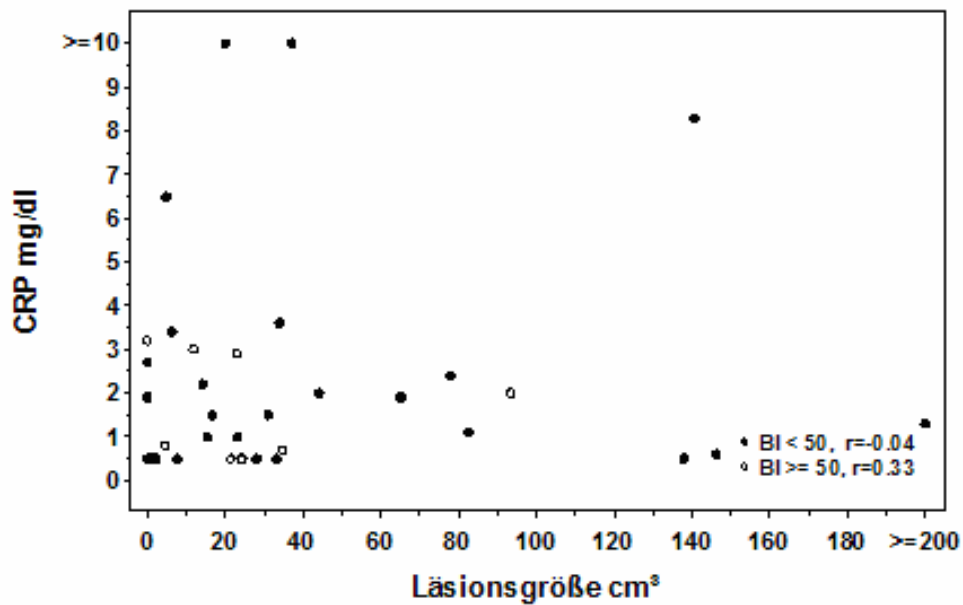


Abbildung 21: Korrelation der CRP-Konzentrationen an Tag 3 mit der Läsionsgröße bei Patienten mit Barthel-Index ≥ 50 und < 50 bei Aufnahme

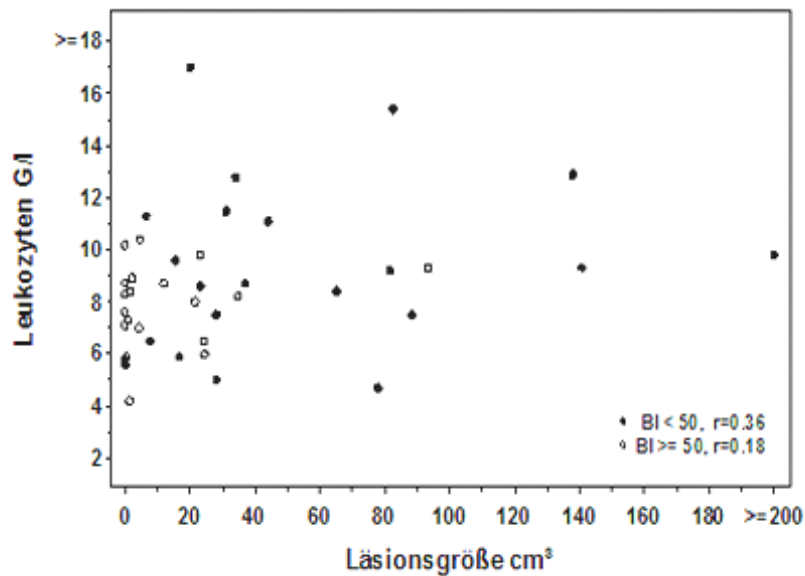


Abbildung 22: Korrelation der Leukozytenzahl an Tag 3 mit der Läsionsgröße bei Patienten mit Barthel-Index ≥ 50 und < 50 bei Aufnahme

Zusammenfassend wurde gezeigt, dass die schwerer betroffene Gruppe eine Tendenz zu größeren Infarktarealen zu haben scheint. Dies wiederum führt nicht zwingend zu deutlich höheren Werten der biochemischen Marker. Patienten mit einem Barthel-Index ≥ 50 bei Aufnahme weisen vermehrt kleine Infarktareale auf, allerdings kommen ebenso hier massiv erhöhte Konzentrationen der Laborparameter im Blut vor.

4.2.5 Subgruppenanalyse: Korrelation der biochemischen Parameter in Abhängigkeit der Schwere der klinischen Symptomatik

Wie oben beschrieben erfolgte eine Unterteilung des Patientenkollektivs in Abhängigkeit von der Schwere der Symptomatik. Objektiviert wurden die körperlichen und kognitiven Defizite anhand des BI(A). Es erfolgte eine Unterteilung der Patienten in eine Gruppe mit geringerer Beeinträchtigung und einem BI(A) ≥ 50 Punkte bei Aufnahme und eine Gruppe mit schwerer klinischer Beeinträchtigung und einem BI(A) < 50 Punkte. Es wurde bei beiden Subgruppen die Kinetik und die Maximalkonzentrationen der biochemischen Marker im Verlauf der ersten Woche untersucht, um herauszufinden, ob

Unterschiede im Verlauf und in den erreichten Wertlagen in Abhängigkeit der klinischen Symptomatik bestehen.

4.2.5.1 Nukleosomen

Es konnte ein deutlicher Unterschied der Wertlagen zwischen den beiden Subgruppen gezeigt werden. Die Subgruppe mit dem Barthel-Index <50 bei Aufnahme zeigte einen schnelleres Ansteigen der Nukleosomen-Werte, mit einem Maximum des Medians an Tag 3. Die Patientengruppe mit der geringeren Neurologie bei Aufnahme wies einen langsameren Anstieg der Konzentrationen auf, mit dem Maximum des Medians an Tag 5. Signifikante Konzentrationsunterschiede ergaben sich für den dritten (P= 0.027) und vierten (P= 0.032) Tag. Abbildung 23 und Tabelle 21 stellen die Wertlagen der Nukleosomen nach Schweregrad der Symptomatik (BI(A)) dar.

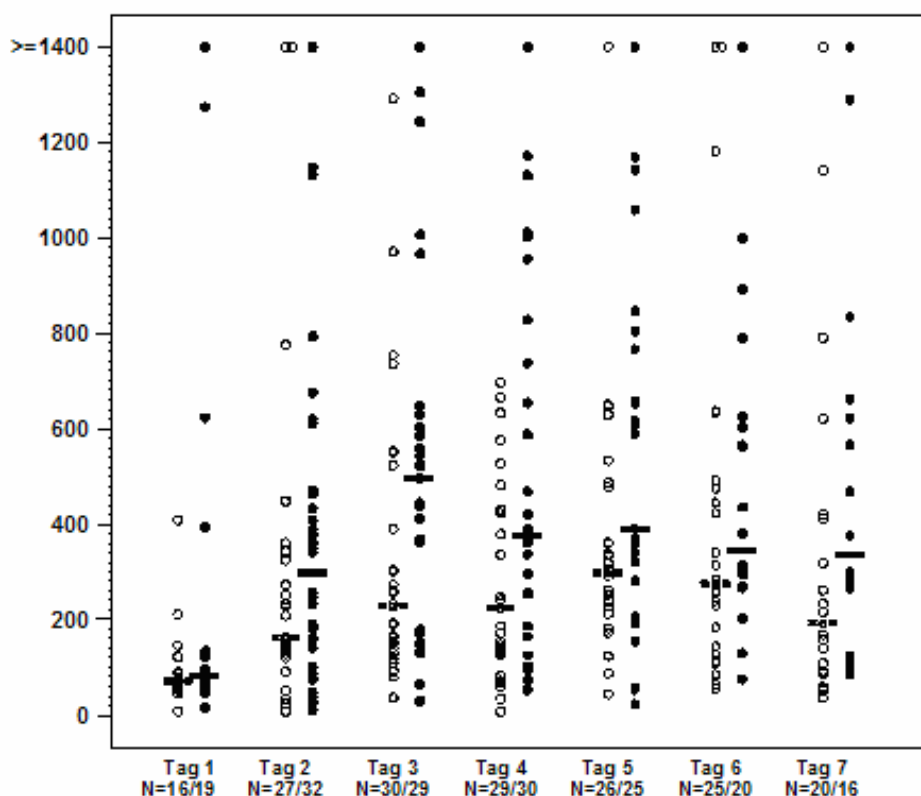


Abbildung 23: Nukleosomen-Konzentrationen (ng/ml) im Verlauf der ersten Woche bei Patienten mit schwerer klinischer Symptomatik (● ; BI(A)<50) und Patienten mit geringerer Beeinträchtigung (○ ; BI(A) ≥ 50). N=Patientenanzahl.

Nukleosomen (ng/ml)										P-Wert
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Schwere der Symptomatik										0.003
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Zeit nach Schlaganfall (Tage)										< 0.0001
Interaktion zwischen Schwere der Symptomatik und Zeit										0.978
Barthel-Index bei Aufnahme <50					Barthel-Index bei Aufnahme ≥50					
	N	Median	Wertebereich	75P	N	Median	Wertebereich	75P		
Tag 1	19	82.9	15.4 - 1883.0	135.0	16	71.2	9.2 - 410.1	107.0	0.183	
Tag 2	32	299.7	11.4 - 1567.3	467.9	27	164.7	9.2 - 2614.0	343.8	0.222	
Tag 3	29	497.1	31.5 - 1838.9	603.5	30	231.1	37.2 - 1292.7	522.8	0.027	
Tag 4	30	378.9	53.8 - 2919.5	956.9	29	224.8	9.2 - 697.8	428.4	0.032	
Tag 5	25	390.7	22.9 - 2278.8	766.5	26	299.2	44.0 - 2605.5	478.8	0.215	
Tag 6	20	347.2	76.6 - 1591.3	614.6	25	275.1	54.9 - 1832.7	476.5	0.108	
Tag 7	16	338.1	86.9 - 1752.6	642.9	20	193.1	37.2 - 1769.2	417.0	0.118	

Tabelle 21: Signifikante ($P < 0.05$) Korrelation der Nukleosomenkonzentrationen sowohl mit der Schwere der Symptomatik, als auch mit dem Zeitpunkt der Abnahme nach Einsetzen der Symptomatik. Keine signifikante Interaktion zwischen Schwere und Zeit nach Symptombeginn. Darstellung der Nukleosomenkonzentration bei Patienten mit initialem BI <50 und ≥50 mit Median, Wertebereich und 75ster Perzentile (75P). N= Patientenzahl.

4.2.5.2 S100-Protein

Die Wertlagen des S100-Proteins zeigten die deutlichsten Konzentrationsunterschiede für beide Patientengruppen. Die Gruppe mit BI(A) <50 bei Aufnahme zeigte zum einen einen zeitlich früheren Anstieg der Wertlagen, zum anderen wurden an den einzelnen Tagen bei Median und bei den Minimal- und Maximalwerten höhere Konzentrationen erreicht.

Es wurde für die Tage zwei ($P < 0.0001$), drei ($P < 0.0001$), vier ($P < 0.0001$), fünf ($P < 0.0001$) und sechs ($P = 0.0003$) eine signifikante Korrelation mit der Schwere der zerebralen Ischämie nachgewiesen. In der folgenden Abbildung 24 und der Tabelle 22 sind die Wertlagen des S100-Proteins je nach BI(A) und der damit verbundenen funktionellen Beeinträchtigung dargestellt.

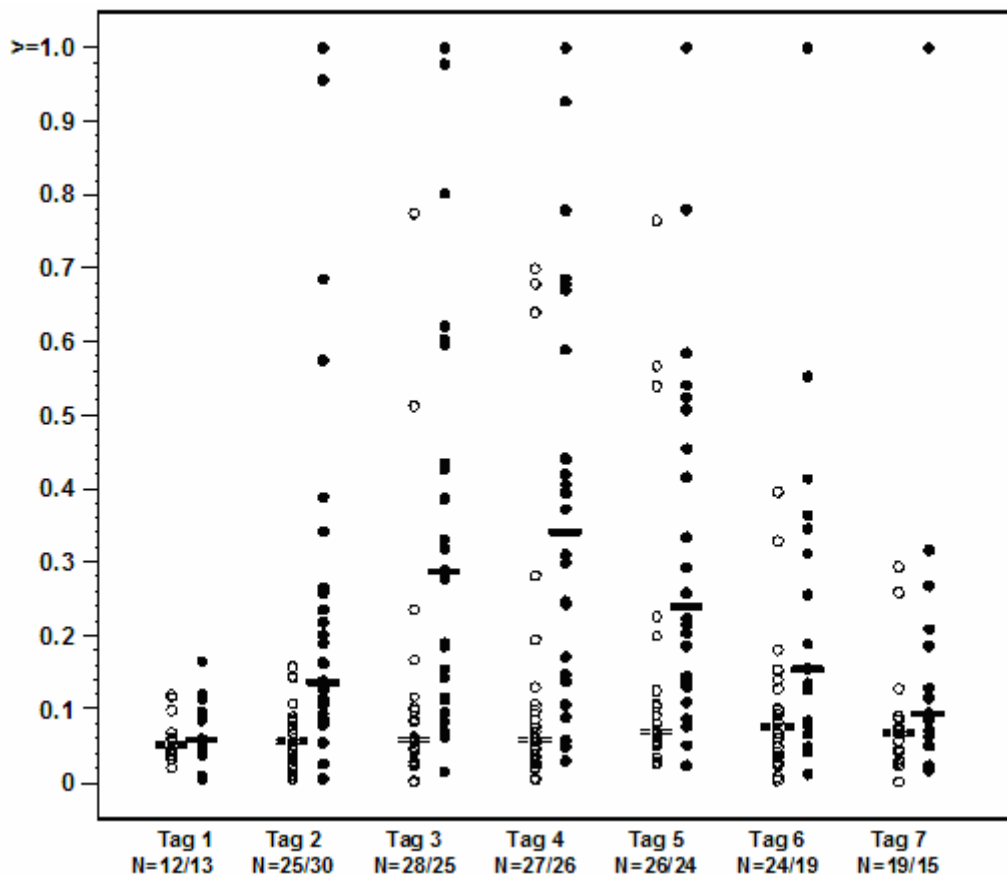


Abbildung 24: S100-Konzentrationen (ng/ml) im Verlauf der ersten Woche bei Patienten mit schwerer klinischer Symptomatik (● ; BI(A)<50) und Patienten mit geringerer Beeinträchtigung (○ ; BI(A) ≥ 50). N=Patientenanzahl.

S100-Protein (ng/ml)							P-Wert
Abhängigkeit des S100-Proteins von der Schwere der Symptomatik							< 0.0001
Abhängigkeit des S100-Proteins von der Zeit nach Schlaganfall (Tage)							< 0.0001
Interaktion zwischen Schwere der Symptomatik und Zeit							< 0.0001
	Barthel-Index bei Aufnahme <50			Barthel-Index bei Aufnahme ≥50			
	N	Median	Wertebereich	75 P	N	Median	Wertebereich
Tag 1	13	0.06	0.01-0.17	0.1	12	0.05	0.02-0.12
Tag 2	30	0.14	0.01-2.05	0.26	25	0.06	0.01-0.16
Tag 3	25	0.29	0.02-2.27	0.6	28	0.06	0.0-0.78
Tag 4	26	0.34	0.03-2.91	0.59	27	0.06	0.0-0.70
Tag 5	24	0.24	0.02-2.29	0.48	26	0.07	0.03-0.77
Tag 6	19	0.16	0.01-2.08	0.36	24	0.08	0.0-0.40
Tag 7	15	0.10	0.02-1.12	0.21	19	0.07	0.0-0.29
							75 P
							0.08
							0.09
							0.09
							0.11
							0.11
							0.11
							0.09

Tabelle 22: Signifikante ($P < 0.05$) Korrelation der S100-Protein-Konzentration sowohl mit der Schwere der Symptomatik, als auch mit dem Zeitpunkt der Abnahme nach Einsetzen der Symptomatik. Keine signifikante Interaktion zwischen Schwere und Zeit nach Symptombeginn. Darstellung der S100-Protein-Konzentration bei Patienten mit initialem BI <50 und ≥50 mit Median, Wertebereich und 75ster Perzentile (75P). N=Patientenanzahl.

4.2.5.3 Neuronen-spezifische Enolase

Im Vergleich zu den Nukleosomen und dem S100-Protein zeigte die Neuronen-spezifische Enolase weniger deutliche Unterschiede im zeitlichen Verlauf und in der Höhe der erreichten Konzentrationen in beiden Patientengruppen. In der Gruppe mit einem Barthel-Index <50 bei Aufnahme lagen die Konzentrationen nur geringfügig höher als bei Patienten mit einem Barthel-Index >50.

In der Subgruppe mit der schwereren neurologischen Symptomatik wurde ein Peak an Tag 6 gemessen (Median: 19.8 ng/ml).

In der Gruppe mit der geringeren neurologischen Symptomatik wurden zwei Peaks erreicht. Der erste an Tag eins (Median: 17.2 ng/ml), der zweite an den Tagen 5 und 6 (Median: 16.0 ng/ml), wobei die höchsten Konzentrationen somit an Tag eins erhoben wurden.

Es zeichnet sich bei der NSE eine Tendenz für höhere Wertlagen bei den Patienten mit einem Barthel-Index <50 bei Aufnahme ab, eine signifikante Korrelation mit der Schwere der Ischämie wurde an den Tagen 3 (P= 0.004), 4 (P= 0.006) und 5 (P= 0.034) nachgewiesen. Es konnten geringere Unterschiede in den Minima und Maxima der Einzelwerte gezeigt werden. In der folgenden Abbildung 25 und der Tabelle 23 sind die Wertlagen der NSE für die beiden Subgruppen mit schwerer und geringer neurologischer Symptomatik aufgeführt.

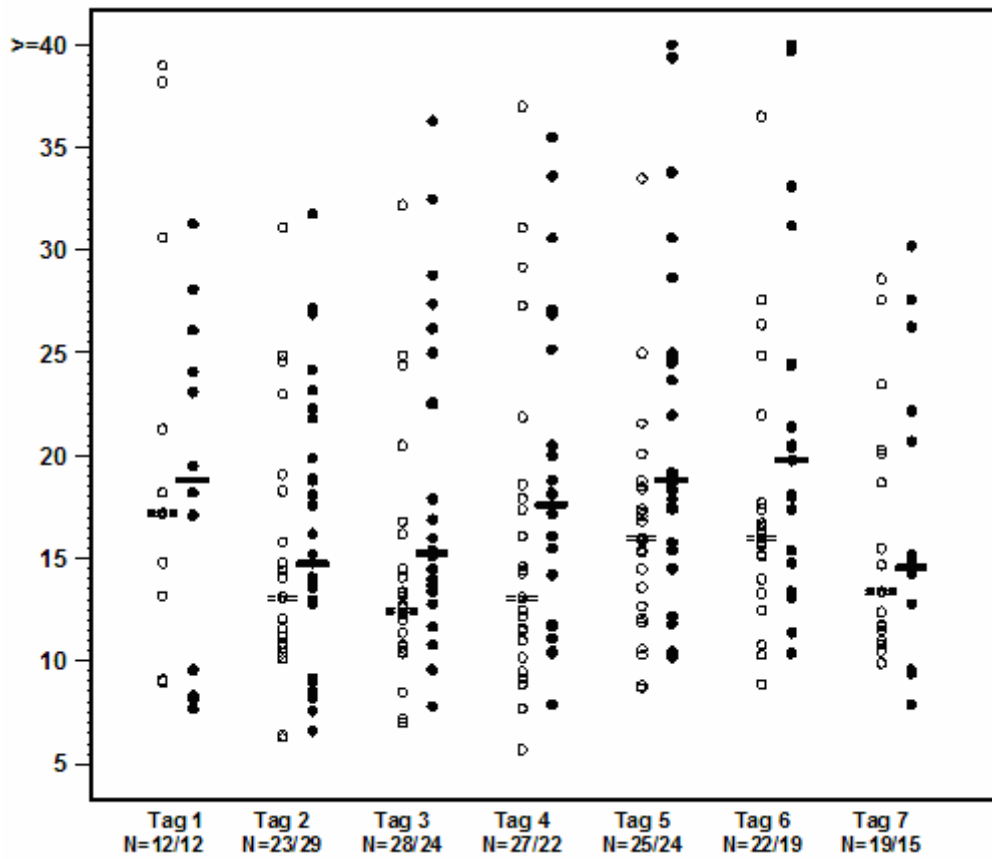


Abbildung 25: NSE-Konzentrationen (ng/ml) im Verlauf der ersten Woche bei Patienten mit schwerer klinischer Symptomatik (● ; BI(A)<50) und Patienten mit geringerer Beeinträchtigung (○ ; BI(A) ≥ 50). N = Patientenzahl.

NSE (ng/ml)							P-Wert	
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Schwere der Symptomatik							0.023	
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Zeit nach Schlaganfall (Tage)							0.013	
Interaktion zwischen Schwere der Symptomatik und Zeit							0.254	
		Barthel-Index bei Aufnahme <50						
	N	Median	Wertebereich	75P	N	Median	Wertebereich	75P
Tag 1	12	18.9	7.7 - 31.3	25.1	12	17.2	9.0 - 39.0	26.0
Tag 2	29	14.8	6.6 - 31.8	19.9	23	13.1	6.3 - 31.1	18.3
Tag 3	24	15.3	7.8 - 36.3	23.8	28	12.5	7.0 - 32.2	15.4
Tag 4	22	17.7	7.9 - 35.5	25.2	27	13.1	5.7 - 37.0	17.9
Tag 5	24	18.9	10.2 - 56.9	24.9	25	16.0	8.7 - 33.5	18.5
Tag 6	19	19.8	10.4 - 45.1	24.5	22	16.0	3.8 - 36.5	17.7
Tag 7	15	14.6	7.9 - 30.2	22.2	19	13.4	4.6 - 28.6	20.1

Tabelle 23: Signifikante ($P < 0.05$) Korrelation der NSE-Konzentrationen sowohl mit der Schwere der Symptomatik, als auch mit dem Zeitpunkt der Abnahme nach Einsetzen der Symptomatik. Keine signifikante Interaktion zwischen Schwere und Zeit nach Symptombeginn. Darstellung der NSE-Konzentrationen bei Patienten mit initialem BI <50 und ≥ 50 mit Median, Wertebereich und 75ster Perzentile (75P). N=Patientenanzahl.

4.2.5.4 C-reaktives Protein

Das CRP zeigte in der Patientengruppe mit einem Barthel-Index ≥ 50 bei Aufnahme nur eine sehr geringe Kinetik im Verlauf der ersten Woche.

Bei Betrachtung der Einzelwerte fallen in der Gruppe mit einem Barthel-Index ≥ 50 bei Aufnahme höhere Werte an den Tagen sechs und sieben auf, als der erreichte Maximalwert an Tag 3 in der Subgruppe mit schwererer Beeinträchtigung.

An den Tagen zwei ($P= 0.002$), drei ($P= 0.0003$), vier ($P < 0.0001$), fünf ($P= 0.009$), 6 ($P= 0.018$) und an Tag 7 ($P= 0.012$) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Patientengruppen gezeigt werden. Die Subgruppe mit Barthel-Index < 50 erreichte an den Tagen 4 und 5 die Maximalwerte im Median, die Gruppe mit BI(A) ≥ 50 an Tag 5. In Abbildung 26 und Tabelle 24 sind die Wertlagen des CRP für die beiden Subgruppen mittels dot plots dargestellt.

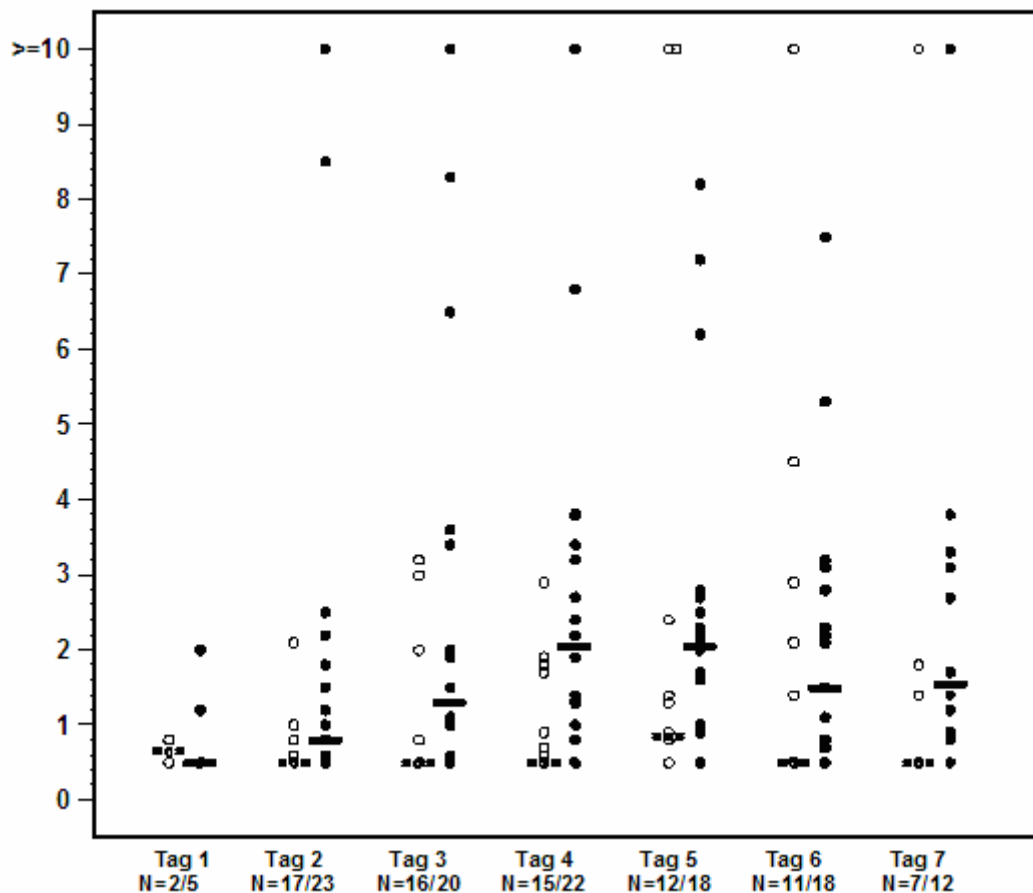


Abbildung 25: CRP-Konzentrationen (mg/dl) im Verlauf der ersten Woche bei Patienten mit schwerer klinischer Symptomatik (O ; BI(A)<50) und Patienten mit geringerer Beeinträchtigung (● ; BI(A) ≥ 50). N = Patientenzahl.

CRP (mg/dl)							P-Wert	
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Schwere der Symptomatik							0.0001	
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Zeit nach Schlaganfall (Tage)							0.018	
Interaktion zwischen Schwere der Symptomatik und Zeit							0.707	
		Barthel-Index bei Aufnahme <50			Barthel-Index bei Aufnahme ≥50			
	N	Median	Wertebereich	75P	N	Median	Wertebereich	75P
Tag 1	5	0.5	0.5 - 2.0	1.2	2	0.7	0.5 - 0.8	0.8
Tag 2	23	0.8	0.5 - 12.4	1.5	17	0.5	0.5 - 2.1	0.5
Tag 3	20	1.3	0.5 - 16.8	2.7	16	0.5	0.5 - 3.2	0.7
Tag 4	22	2.05	0.5 - 16.1	3.4	15	0.5	0.5 - 2.9	1.7
Tag 5	18	2.05	0.5 - 8.2	2.7	12	0.9	0.5 - 14.2	1.4
Tag 6	18	1.5	0.5 - 7.5	2.8	11	0.5	0.5 - 20.4	2.9
Tag 7	12	1.6	0.5 - 16.2	3.2	7	0.5	0.5 - 18,8	1.8

Tabelle 24: Signifikante ($P < 0.05$) Korrelation der CRP-Konzentration sowohl mit der Schwere der Symptomatik, als auch mit dem Zeitpunkt der Abnahme nach Einsetzen der Symptomatik. Keine signifikante Interaktion zwischen Schwere und Zeit nach Symptombeginn. Darstellung der CRP-Konzentration bei Patienten mit initialem BI <50 und ≥50 mit Median, Wertebereich und 75ster Perzentile (75P). N=Patientenzahl

4.2.5.5 Leukozyten

Für die Leukozyten konnten die geringsten Unterschiede in den Gruppen $BI(A) \geq 50$ und $BI(A) < 50$ nachgewiesen werden. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Subgruppen ausgemacht werden. In der folgenden Abbildung 27 und der Tabelle 25 sind die Werteverteilungen der Leukozytenzahl die beiden Subgruppen mit Barthel-Index ≥ 50 und < 50 bei Aufnahme dargestellt.

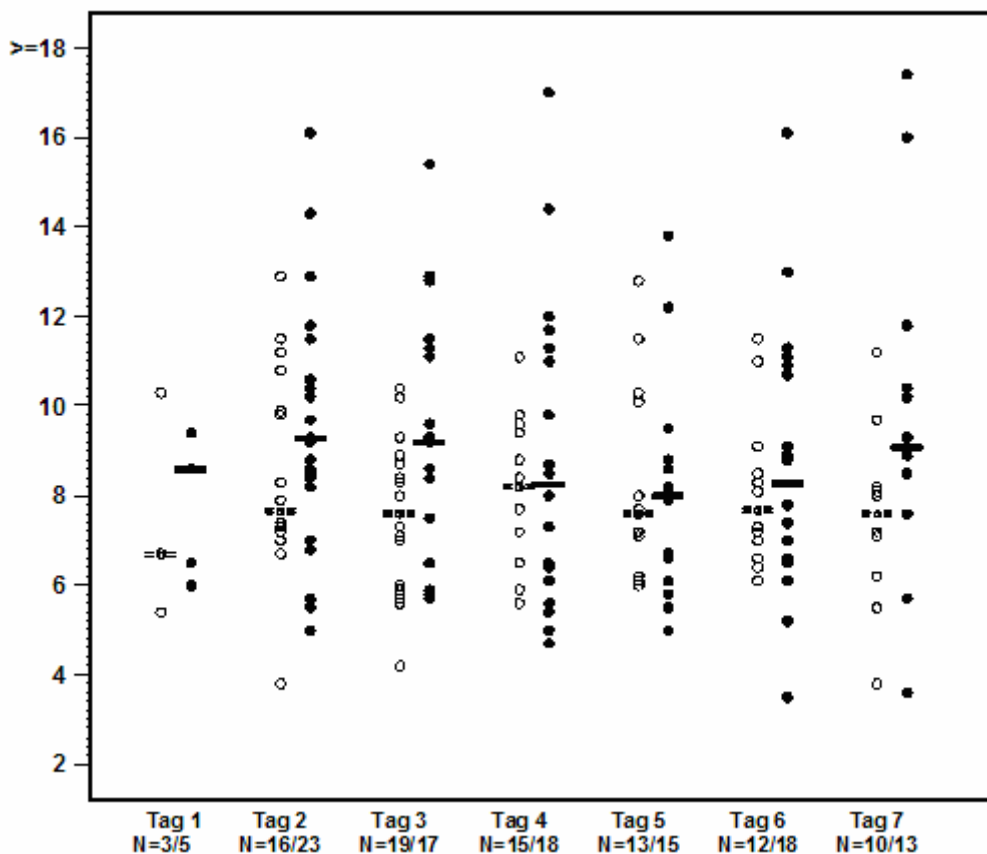


Abbildung 27: Leukozytenzahl (G/l) im Verlauf der ersten Woche bei Patienten mit schwerer klinischer Symptomatik (○ ; $BI(A) < 50$) und geringerer Beeinträchtigung (● ; $BI(A) \geq 50$). N = Patientenzahl.

Leukozyten (G/l)		P-Wert						
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Schwere der Symptomatik		0.113						
Abhängigkeit der Nukleosomen von der Zeit nach Schlaganfall (Tage)		0.089						
Interaktion zwischen Schwere der Symptomatik und Zeit		0.249						
		Barthel-Index bei Aufnahme ≥ 50						
		Barthel-Index bei Aufnahme < 50		Barthel-Index bei Aufnahme ≥ 50				
	N	Median	Wertebereich	75P	N	Median	Wertebereich	75P
Tag 1	5	8.6	6.0 - 9.4	9.4	3	6.7	5.4 - 10.3	10.3
Tag 2	23	9.3	5.0 - 16.1	10.6	16	7.7	3.8 - 12.9	10.4
Tag 3	17	9.2	5.7 - 15.4	11.3	19	7.6	4.2 - 10.4	8.7
Tag 4	18	8.3	4.7 - 17.0	11.3	15	8.2	5.6 - 11.1	9.4
Tag 5	15	8.0	5.0 - 13.8	8.8	13	7.6	6.0 - 12.8	10.1
Tag 6	18	8.3	3.5 - 16.1	10.9	12	7.7	6.1 - 11.5	8.8
Tag 7	13	9.1	3.6 - 17.4	10.4	10	7.6	3.8 - 11.2	8.2

Tabelle 25:

Keine signifikante ($P > 0.05$) Korrelation der Leukozyten mit der Schwere der Symptomatik, wohl aber mit dem Zeitpunkt der Abnahme nach Einsetzen der Symptomatik. Keine signifikante Interaktion zwischen Schwere und Zeit nach Symptombeginn. Darstellung der Leukozyten bei Patienten mit initialem BI < 50 und ≥ 50 mit Median, Wertebereich und 75ster Perzentile (75P).
N= Patientenzahl.

4.2.6 Zusammenfassung

Zusammenfassend zeigt sich für die Nukleosomen und das S100-Protein die stärkste Kinetik im zeitlichen Anstieg und der Höhe der Konzentrationen in Abhängigkeit von der Klinik. Sowohl bei den Nukleosomen, als auch dem S100-Protein kommt es bei den schwerer betroffenen Patienten zu einem frühzeitigeren Anstieg und sehr viel höheren Wertlagen als in der Gruppe mit einem Barthel-Index >50 bei Aufnahme. Das S100-Protein und die Nukleosomen zeigen somit eine Korrelation mit der Schwere des Schlaganfalls und erlauben vor allem an den Tagen drei und vier eine Differenzierung zwischen Patienten mit $BI \geq 50$ und $BI < 50$ bei Aufnahme anhand der Konzentrationen der Marker im Blut.

Für die NSE zeigt sich nur eine Tendenz zu höheren Wertlagen bei Patienten mit größerer neurologischer Beeinträchtigung (Barthel-Index <50), die zeitliche Abfolge der Anstiege ist bei beiden Gruppen annähernd identisch. Die NSE eignet sich somit im Vergleich zu den Nukleosomen und dem S100-Protein weniger, um eine Aussage über die Schwere des Schlaganfalls zu treffen.

Das C-reaktive Protein zeigt bei den Patienten mit der geringeren neurologischen Ausfallssymptomatik kaum eine Kinetik, in der Gruppe mit einem Barthel-Index <50 kommt es dagegen zu einem frühzeitigen Anstieg der Werte und erhöhten Konzentrationen. An den Tagen 6 und 7 lagen in der Subgruppe mit einem $BI \geq 50$ höhere Konzentrationen als bei Patienten mit geringerer neurologischer Symptomatik vor. Das CRP differenziert deutlich zwischen beiden Patientengruppen.

Die Leukozyten zeigten einen weniger deutlichen Unterschied zwischen beiden Patientenkollektiven als die Nukleosomen, das S100-Protein und die NSE. Dennoch konnten für den Tag 3 ein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

4.3 Prognostische Relevanz der klinischen Kenngrößen und der Laborparameter bzgl. der Rekonvaleszenz nach 12 Monaten

Aufgrund der Korrelation der Marker sowohl mit der Klinik (BI(A) und bei Entlassung), als auch mit der Läsionsgröße, wurde als neue Fragestellung die prognostische Relevanz der vier biochemischen Marker untersucht. In dieser Arbeit wurde als Prognosekriterium nicht die Reinfarkt- oder Mortalitätsrate gewählt, sondern die Wiedererlangung der alltagsrelevanten funktionellen Integrität. Zur Objektivierung der Prognose wurde der Barthel-Index nach 12 Monaten erhoben.

4.3.1 Korrelation der klinischen Variablen mit der Prognose

In einem ersten Schritt wurde die Korrelation des Barthel-Index sowohl bei Aufnahme, als auch bei Entlassung und der Läsionsgröße mit dem Outcome nach 12 Monaten untersucht. Es konnte für alle drei klinischen Parameter eine signifikante Korrelation mit der Prognose nachgewiesen werden. Es wurde gezeigt, dass der BI(A) und der BI(E) gleich stark mit der Prognose korrelieren. Für die Läsionsgröße dagegen konnte eine geringere Korrelation mit dem Outcome nachgewiesen werden.

	Anzahl	R-Koeff.	P-Wert
BI bei Aufnahme	53	0.7405	< 0.0001
Läsionsgröße	49	- 0.5063	0.0002
BI bei Entlassung	42	0.7938	<0.0001

Tabelle 26: Korrelation der klinischen Parameter mit der Prognose nach 12 Monaten, objektiviert durch Erhebung des Barthel-Index nach 12 Monaten.

4.3.2 Korrelation der laborchemischen Marker mit der Prognose

In einem zweiten Schritt wurde die prognostische Relevanz der biochemischen Marker zu den verschiedenen Zeitpunkten im Verlauf der ersten Woche ermittelt. In Tabelle 27 ist die Korrelation der Parameter mit der Prognose nach 12 Monaten dargestellt. Die Korrelation der biochemischen Marker mit der Prognose zeigte, dass Nukleosomen, NSE und S100 signifikant mit der Prognose an Tag 3 und 6 korrelieren.

Für das CRP und die Leukozyten konnte an keinem Tag eine signifikante Korrelation mit dem Outcome nachgewiesen werden.

Für die prognostisch relevanten Marker war Tag 3 wiederum am stärksten signifikant. BI(A) und BI(E) korrelierten gleich stark mit der Prognose, so dass nur der BI(A) in der weiteren Auswertung berücksichtigt wurde.

Die laborchemischen Kenngrößen zeigten eine vergleichbar starke Korrelation mit dem prognostischen Outcome wie die Läsionsgröße. Die klinischen Scores korrelierten am stärksten mit der Prognose nach 12 Monaten.

		Anzahl	R-Koeff.	P-Wert
Nukleosomen	Tag 1	33	- 0.0391	0.8290
	Tag 3	53	- 0.4524	0.0007
	Tag 6	47	- 0.4304	0.0025
NSE	Tag 1	23	- 0.2038	0.3509
	Tag 3	49	- 0.4158	0.0030
	Tag 6	46	- 0.3982	0.0061
S100	Tag 1	24	- 0.1641	0.4435
	Tag 3	51	- 0.6252	< 0.0001
	Tag 6	47	- 0.5253	0.0001
CRP	Tag 1	7	0.1957	0.6742
	Tag 3	40	- 0.2854	0.0742
	Tag 6	36	- 0.2715	0.1092
Leukozyten	Tag 1	8	-0.4939	0.2135
	Tag 3	42	-0.2095	0.1830
	Tag 6	36	-0.0840	0.6261

Tabelle 27: Korrelation der laborchemischen Parameter mit der Prognose nach 12 Monaten, objektiviert durch Erhebung des Barthel-Index nach 12 Monaten

4.3.3 Partielle Korrelation

Es wurde untersucht, ob trotz der hochsignifikanten Korrelation der klinischen Parameter (BI(A), BI(E) sowie die Läsionsgröße) mit dem Outcome hinsichtlich der Regeneration der alltagsrelevanten Funktionen eine zusätzliche Aussage durch die Korrelation der laborchemischen Parameter mit der Prognose getroffen werden kann. Hierfür müssen die laborchemischen Parameter unabhängig vom BI(A) mit der Prognose korrelieren.

Es wurde die partielle Korrelation der laborchemischen Kenngrößen mit der Prognose unter Berücksichtigung des BI(A) ermittelt (Tabelle 29). Es erwiesen sich nur die Nukleosomen und das S100-Protein an Tag 3 als unabhängige Parameter mit prognostischer Relevanz (Nukleosomen an Tag 3: P= 0.0391, S100 an Tag 3: P= 0.0367). Für NSE und CRP konnte keine unabhängige Korrelation mit der Prognose nach 12 Monaten gefunden werden.

		Anzahl	R-Koeff.	P-Wert
Nukleosomen	Tag1	33	0.0241	0.8960
	Tag 3	53	-0.2869	0.0391
	Tag 6	47	-0.2804	0.0591
S100	Tag1	24	-0.0996	0.6510
	Tag 3	51	-0.2963	0.0367
	Tag 6	47	-0.2707	0.0687
NSE	Tag1	23	-0.1647	0.4646
	Tag 3	49	-0.1055	0.4755
	Tag 6	46	-0.1292	0.3975
CRP	Tag1	7	0.3707	0.4694
	Tag 3	40	0.1198	0.4675
	Tag 6	36	-0.1058	0.5451
Leukozyten	Tag 1	8	-0.4873	0.2673
	Tag 3	42	-0.0227	0.8882
	Tag 6	36	-0.1218	0.4859

Tabelle 28: Partielle Korrelation der laborchemischen Parameter innerhalb der ersten Woche nach zerebraler Ischämie.

4.3.4 Zusammenfassung

Zusammenfassend besteht sowohl eine hohe Korrelation zwischen Prognose und klinischen Parametern (BI(A), BI(E) und Läsionsgröße), als auch zwischen laborchemischen Markern und Prognose. Die Korrelation des BI(E) mit der Prognose erbrachte eine vergleichbar gute Korrelation wie die des BI(A), so dass in die weitere Auswertung nur der BI bei Aufnahme einfluss. Korrelierte man die verschiedenen Marker mit der Prognose, waren wieder die Werte an Tag 3 die aussagekräftigsten. Mit partieller Korrelation wurden nur noch die Nukleosomen und das S100-Protein als als vom BI(A) unabhängige prognostisch relevante Marker gefunden. Für die NSE, das CRP und die Leukozyten konnte keine prognostische Relevanz nachgewiesen werden.

4.3.5 Prognose für Patienten mit Barthel-Index ≥ 50 und <50 bei Aufnahme

Es erfolgte der Vergleich des initialen Barthel-Index mit dem Barthel-Index nach 12 Monaten. In Abbildung 28 wird gezeigt, dass der Großteil der Patienten im Outcome mindestens die gleiche Punktzahl erreichte oder sogar eine Verbesserung erzielte. Bei sehr wenigen Patienten konnte eine Verschlechterung nach 12 Monaten im Vergleich zu den initialen Werten nachgewiesen werden.

In der Subgruppe mit BI (A) ≥ 50 erreichten alle Patienten 12 Monate nach Ereignis wieder eine völlige funktionelle Rekonvaleszenz (BI=100) (Abbildung 29).

Die Subgruppe mit initialem Barthel-Index < 50 zeigte ein heterogenes Outcome, dargestellt in Abbildung 98. Es wird deutlich, dass nicht alle Patienten nach 12 Monaten wieder 100 Punkte erreichten, sondern dass es bei einigen sogar zu einer Verschlechterung oder zumindest nur zur teilweisen Wiederherstellung der initialen beeinträchtigten, alltagsrelevanten Funktionen kam. Bei anderen wiederum sieht man trotz eines initial sehr niedrigen Barthel-Indexes eine funktionelle Vollremission (BI=100 nach 12 Monaten).

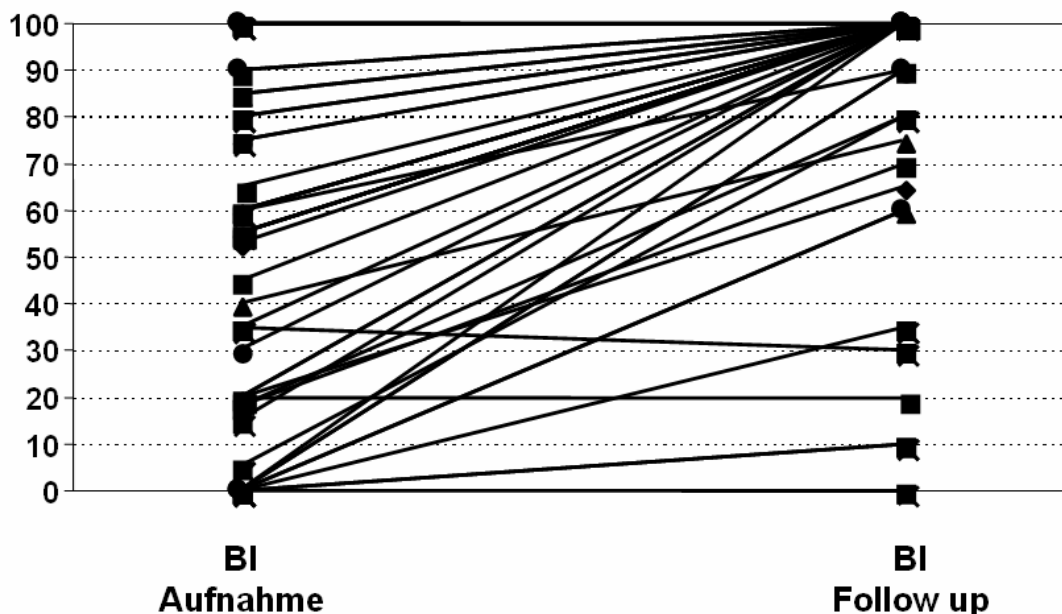


Abbildung 28: Darstellung des BI(A) und des BI(F) bei allen 63 Patienten

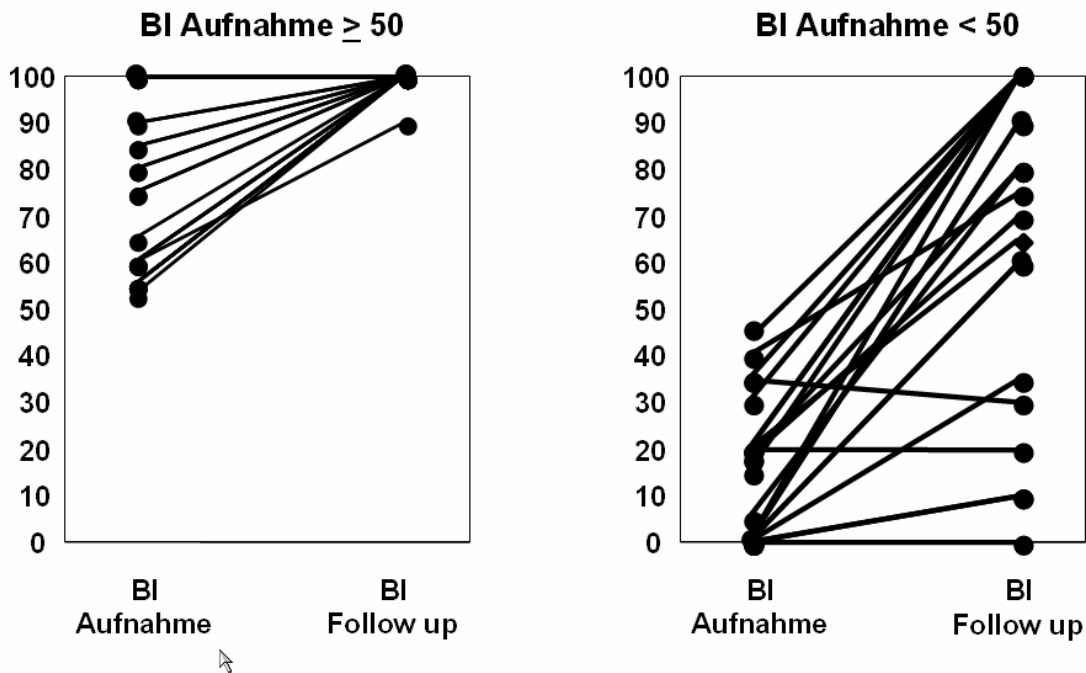


Abbildung 29: Darstellung des BI(A) und des BI(F) bei Patienten mit BI(A) \geq und $<$ 50

Die Bestimmung der laborchemischen Marker spielt bei Patienten mit einem BI \geq 50 bei Aufnahme keine Rolle. In diesem Fall kann allein durch den BI(A) eine eindeutige prognostische Aussage getroffen werden. Im Folgenden wird die zusätzliche prognostische Relevanz der biochemischen Parameter bei Patienten mit BI \geq 50 getestet. Das wäre insofern von Relevanz, als bei frühzeitiger Erkennung der Patienten mit schlechter Prognose durch rechtzeitige Einleitung gezielter physiotherapeutischer Maßnahmen die Prognose deutlich verbessert werden könnte.

4.3.6 Prognostische Relevanz der vier Marker bei Patienten mit Barthel-Index $<$ 50 bei Aufnahme

Nachdem alle Patienten mit initialem BI \geq 50 im Verlauf wieder einen BI von 100 erreichten, wurde die prognostische Aussagekraft der klinischen und laborchemischen Kenngrößen in der Subgruppe mit initialem BI $<$ 50 untersucht.

In der folgenden Tabelle 29 sind für den BI(A), für die laborchemischen Marker an Tag 3 nach Symptombeginn der Median, der Wertebereich und die 75ste Perzentile für Patienten mit Barthel = 100 Punkten und $<$ 100 Punkte im Follow up dargestellt.

Variable	Barthel-Index = 100 Punkte im Follow up				Barthel-Index < 100 Punkte im Follow up				P-Wert
	N	Median	Wertebereich	75P	N	Median	Wertebereich	75P	
Läsionsgröße	6	18.4	0.0-140.8	27.9	18	40.6	0.0-294.5	88.3	0.142
BI (A)	7	20.0	0.0-45.0	30.0	19	0.0	0.0-40.0	20.0	0.032
Nukleosomen (Tag 3)	7	179.0	31.5-558.8	521.7	19	585.7	129.3-1838.9	1006.7	0.026
S100-Protein (Tag 3)	7	0.14	0.02-0.80	0.44	18	0.41	0.08-2.3	0.60	0.069
NSE an (Tag 3)	7	15.4	11.7-32.5	27.4	15	17.2	7.8-36.3	25.0	0.916
CRP an (Tag 3)	7	1.5	5.6-15.3	8.3	16	1.2	0.5-16.8	2.20	0.686
Leukozyten an (Tag 3)	7	6.5	5.4-17.0	9.3	15	8.6	4.7-15.4	11.1	0.438

Tabelle 29: Median, Wertebereich und 75ste Perzentile (75P) für die Gruppe mit initialem Barthel-Index <50 unterteilt in die Gruppe mit 100 Punkten und die Gruppe <100 Punkten im Follow up (nach 6-12 Monaten). N= Patientenzahl, BI(A)= Barthel-Index bei Aufnahme. Statistisch signifikante Werte (P<0.05) sind in fett und kursiv dargestellt.

Es konnten deutliche Unterschiede in der Höhe der Wertlagen der laborchemischen Kenngrößen an Tag 3, der Läsionsgröße und des BI(A) zwischen Patienten mit 100 Punkten und <100 Punkten im Outcome nachgewiesen werden.

In Tabelle 30 sind die Korrelationskoeffizienten und P-Werte für die allgemeine Korrelation der Prognose nach einem Jahr mit den klinischen und biochemischen Markern dargestellt.

		Anzahl	R-Koeff.	P-Wert
Nukleosomen	Tag 1	18	0.2311	0.3561
	Tag 3	26	-0.3773	0.0574
	Tag 6	22	-0.2302	0.3027
S100	Tag 1	13	-0.2576	0.3955
	Tag 3	25	-0.4792	0.0154
	Tag 6	22	-0.5308	0.0110
NSE	Tag 1	12	-0.3675	0.2399
	Tag 3	22	-0.3438	0.1172
	Tag 6	22	-0.3351	0.1274
CRP	Tag 1	5	0.5707	0.3441
	Tag 3	23	0.1179	0.5920
	Tag 6	20	0.0877	0.7131
Leukozyten	Tag 1	5	-0.7895	0.1122
	Tag 3	22	0.0063	0.9777
	Tag 6	20	0.1073	0.9642
BI bei Aufnahme		26	0.4938	0.0104
Läsionsgröße		24	-0.2965	0.1595

Tabelle 30: Korrelation der Marker und der Klinik mit der Prognose (Barthel-Index nach 12 Monaten) bei Patienten BI <50 bei Aufnahme

Es zeigte sich nur für den BI(A) und das S100-Protein an Tag 3 eine signifikante Korrelation mit dem Barthel-Index nach 12 Monaten.

Weder für die anderen laborchemischen Parameter, noch für die Läsionsgröße konnte eine Korrelation mit der Prognose nachgewiesen werden.

Wie oben erwähnt wurde in der vorliegenden Arbeit als Prognosekriterium nicht die Reinfarkt- oder Mortalitätsrate gewählt, sondern die Wiedererlangung der

alltagsrelevanten funktionellen Integrität. Es war von großem Interesse, mittels der laborchemischer Marker diejenigen Patienten, die sich komplett erholen werden (Barthel-Index = 100 nach 12 Monaten), von den Patienten mit bleibenden Schäden (= Barthel-Index <100 Punkte nach 12 Monaten) zu unterscheiden.

Es wurde untersucht, ob durch die Höhe der Marker an Tag 3 gezielt die Patienten mit schlechter Prognose ohne eine zu hohe Rate an falsch positiv Beurteilten identifiziert werden können.

Aus diesem Grund wurden folgende Cutoffs herangezogen: zum einen wurde der Median der Patienten mit einem initialen Barthel-Index < 50 als Cutoff verwendet, zum anderen die 100-prozentige Spezifität für das Nicht-Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten im Outcome zum Ausschluß von falsch positiven Befunden.

Als falsch positiv galt das Erreichen von 100 Punkten im Outcome mit initialen Wertlagen der biochemischen Parameter oberhalb des Cutoffs.

Die Spezifität spiegelt Patienten mit Werten unterhalb des Cutoffs an Tag 3 und mit einem Barthel-Index bei Follow-up (BI(F)) von 100 Punkten wider. Die Sensitivität zeigt die Patienten, die mit Werten unterhalb des Cutoffs an Tag drei und einem BI(F) < 100 Punkten lagen.

Der Median für das S100-Protein in der Gruppe mit einem initialen BI <50 lag bei 0.3 ng/ml, die 100%ige Spezifität bei 0.9 ng/ml. Der Median für die Nukleosomen lag bei 525 ng/ml, die 100%ige Spezifität bei 560 ng/ml.

Wir prüften, ob die S100-Protein- oder Nukleosomen-Konzentrationen oberhalb des Medians oder der 100%igen Spezifität eine eindeutige Aussage über die Prognose zulassen. Als Zielgruppe sollten die Patienten mit schlechter Prognose (Werte oberhalb des Cutoffs und BI <100 Punkte im Follow up) identifiziert werden.

In Tabelle 31 sind Spezifität und Sensitivität für die Nukleosomenwerte an Tag 3 für den Barthel-Index nach 12 Monaten mit dem Median als Cutoff dargestellt (Spezifität = Werte unterhalb des Cutoffs und BI = 100 Punkte im Follow up; Sensitivität = Werte oberhalb des Cutoffs und BI < 100 im Follow up).

Mit dem Median als Cutoff lag die Spezifität bei 85.7%, die Sensitivität bei 57.9%. Es gab einen falsch Positiven, der Werte oberhalb des Cutoffs an Tag 3 erreichte und im Outcome dennoch einen Barthel-Index von 100 Punkten aufwies. Die Nukleosomen korrelierten mit dem Nicht-Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten nach 12 Monaten nicht signifikant.

Nukleosomen	BI = 100	BI < 100	P-Wert
< Cut off	6 (85.7%)	8 (42.1%)	
≥ Cut off	1 (14.3%)	11 (57.9%)	0.081

Tabelle 31: Zusammenhang der Nukleosomen mit der Prognose nach 6-12 Monaten bei Patienten mit einem BI<50 bei Aufnahme. Cut-off = Median aller Patienten mit einem BI<50 bei Aufnahme (525 ng/ml)

Zur Optimierung der Spezifität durch den Ausschluß von falsch Positiven wurde nun als Cutoff die 100%ige Spezifität gewählt. In Tabelle 32 ist die Sensitivität der Nukleosomen für das Nicht-Erreichen eines BI von 100 Punkten im Follow up bei der 100%igen Spezifität als Cutoff (560 ng/ml) dargestellt. Die Sensitivität liegt hier bei 52.6%. Es gab keine falsch Positiven mehr.

Es konnte somit eine signifikante Korrelation der Nukleosomen mit der Prognose nachgewiesen werden.

Nukleosomen	BI = 100	BI < 100	P-Wert
< Cut off	7 (100%)	9 (47.4%)	
≥ Cut off	0 (0%)	10 (52.6%)	0.023

Tabelle 32: Zusammenhang der Nukleosomen mit der Prognose nach 6-12 Monaten bei Patienten mit einem BI<50 bei Aufnahme. Cut-off = 100%ige Spezifität (560 ng/ml)

Dasselbe Verfahren wurde für das S100-Protein angewandt. Mit dem Median als Cutoff liegt die Spezifität bei 71.4%, die Sensitivität bei 61.1%. Dabei handelt es sich um keine sigifikante Korrelation für das Nicht-Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten im Outcome p = 0.202 (Tabelle 33).

Nukleosomen	BI = 100	BI < 100	P-Wert
< Cut off	5 (71.4%)	7 (38.9%)	
≥ Cut off	2 (28.6%)	11 (61.1%)	0.202

Tabelle 33: Zusammenhang des S100-Protein mit der Prognose nach 6-12 Monaten bei Patienten mit einem BI<50 bei Aufnahme. Cut-off = Median aller Patienten mit einem BI<50 bei Aufnahme (0.3 ng/ml)

Mit dem Median als Cutoff lag die Spezifität bei 71.4%, die Sensitivität bei 61.1%. Bei zwei Patienten (28.6%) zeigte sich die Konzentration von S100 an Tag drei oberhalb des Cutoffs, dennoch wurden ein BI von 100 im Follow up erreicht.

Um die beiden Patienten, die trotz eines Barthel-Index < 50 bei Aufnahme und Markern oberhalb des Cutoffs im Follow up einen Barthel-Index von 100 Punkten erreichten, als falsch Positive auszuschließen, wurde auch hier als zweiter Cutoff wiederum die 100%ige Spezifität gewählt. Die anschließende Tabelle zeigt, dass die Sensitivität nur noch 16,7% bei dem Cutoff der 100%igen Spezifität beträgt. Es konnte keine signifikante Korrelation gezeigt werden.

Nukleosomen	BI = 100	BI < 100	P-Wert
< Cut off	7 (100%)	15 (83.3%)	
≥ Cut off	0 (0%)	3 (16.7%)	0.534

Tabelle 34: Zusammenhang des S100-Protein mit der Prognose nach 6-12 Monaten bei Patienten mit einem BI<50 bei Aufnahme. Cut-off = 100%ige Spezifität (0.9ng/ml)

Die Quote der falsch Positiven konnte beim S100-Protein nur auf Kosten der Sensitivität gesenkt werden, da auch Patienten mit sehr hohen Konzentrationen an Tag 3 im Follow up einen Barthel-Index von 100 Punkten erlangten. Für die Nukleosomen zeigte sich für beide Cutoffs eine vergleichbar hohe Sensitivität.

Wegen der hohen Korrelation des BI(A) mit dem Outcome wurde für die Patientengruppe mit einem BI(A) <50 ebenso die Korrelation der klinischen Symptome bei Aufnahme mit der Prognose nach 12 Monaten untersucht. Der Median aus der Subgruppe mit BI <50 bei Aufnahme lag bei 10 Punkte und wurde hier als Cutoff gewählt.

Die Spezifität spiegelt die Anzahl an Patienten wieder, die bei einem Barthel Index ≥ 10 bei Aufnahme 100 Punkte nach 12 Monaten erreichen, die Sensitivität die Patienten mit BI <10 bei Aufnahme und BI <100 im Follow up.

Die Spezifität lag bei 85.7%, die Sensitivität, hier definiert als der Anteil der Patienten, die Werte unterhalb des Cutoffs aufwiesen und keine 100 Punkte im Outcome erreichten, lag bei 63.2% (Tabelle 35).

Es ergab sich auch für dieses Subkollektiv keine signifikante Korrelation der Klinik bei Aufnahme mit der Prognose (P= 0.073).

Nukleosomen	BI = 100	BI < 100	P-Wert
< Cut off	1 (14.3%)	12 (63.2%)	
≥ Cut off	6 (85.7%)	7 (36.8%)	0.073

Tabelle 35: Zusammenhang des BI(A) mit der Prognose nach 6-12 Monaten bei Patienten mit einem BI <50 bei Aufnahme. Cut-off = Median dieser Patientengruppe (BI ≥100 und <100 Punkte)

Zusammenfassend sind in der folgenden Tabelle 36 die Spezifitäten und Sensitivitäten für den BI(A), sowie für die Nukleosomen und das S100 Protein – jeweils an Tag 3 – für das Nichterreichen von BI = 100 Punkten nach 12 Monaten mit beiden Cutoffs (Median und 100%ige Spezifität) dargestellt.

BI <50	Cut off	richtig negativ (Spezifität)	falsch positiv	falsch negative	richtig positiv (Sensitivität)	P-Wert
BI (A)	Median	6	1	7	12	0.073
	10 Punkte	(85.7%)	(14.3%)	(36.8%)	(63.2%)	
Nukleo- somen an Tag 3	Median	6	1	8	11	0.081
	525 ng/ml	(85.7%)	(14.3%)	(42.1%)	(57.9%)	
	100 % Spezifität	7	0	9	10	0.023
S100 an Tag 3	560 ng/ml	(100%)	(0%)	(47.4%)	(52.6%)	
	Median	5	2	7	11	0.202
	0.3 ng/ml	(71.4%)	(28.6%)	(38.9%)	(61.1%)	
	100 % Spezifität	7	0	15	3	0.534
	0.9 ng/ml	(100%)	(0%)	(83.3%)	(16.7%)	

Tabelle 36: Spezifität und Sensitivität für den BI(A), sowie für die Nukleosomen und das S100 Protein – jeweils an Tag 3 – für das Nichterreichen von BI = 100 Punkten nach 12 Monaten mit beiden Cutoffs (Median und 100%ige Spezifität) dargestellt.

Zur Veranschaulichung sind die Korrelationen des BI(A), der Nukleosomen und des S100-Proteins an Tag 3 mit der Prognose auch graphisch dargestellt. Deutlich zu sehen ist beim S100-Protein der Verlust der Sensitivität bei Verwendung des Cutoffs der 100%igen Spezifität. Bei den Nukleosomen zeigt sich dass auch mit dem Cutoff der 100%igen Spezifität die Sensitivität nicht abfällt.

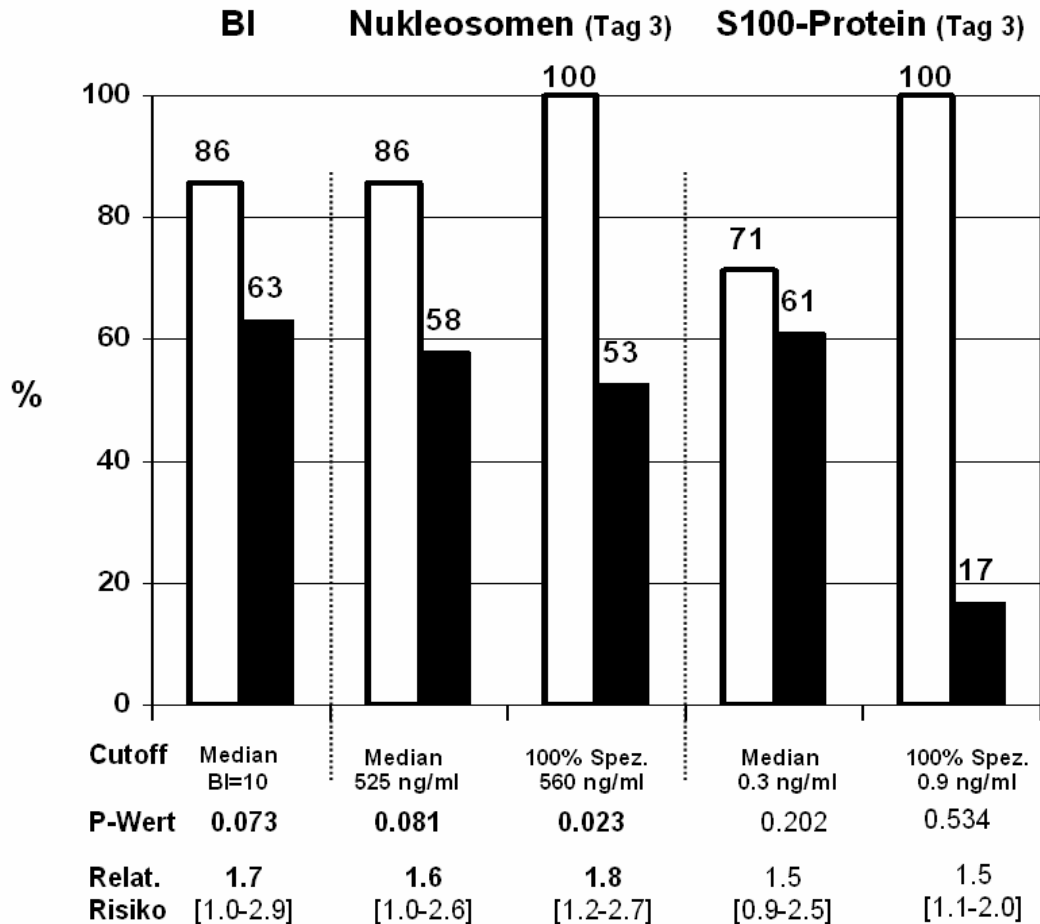


Abbildung 29: Spezifität (□) und Sensitivität (■) für die Vorhersage des Nicht-Erreichens der Wiederherstellung aller alltagsrelevanten Funktionen (BI(F) <100) in der Subgruppe mit BI(A) <50. Als Cut off wurden der Median aller Patienten in dieser Subgruppe und die 100%-Spezifität für das Nicht-Erreichen BI = 100 nach 12 Monaten. Für den BI(A), Werte < 10 Punkte (= Cut off) wurden als positiv definiert, da sie mit einem schlechteren Outcome vergesellschaftet sind.

4.3.7 Nukleosomen als unabhängig prognostischer Parameter

Sowohl die Nukleosomen als auch der BI(A) hatten sich in der Patientengruppe mit einem Barthel-Index <50 als prognostisch relevant erwiesen. Im Anschluss wurde ermittelt, ob die Nukleosomen einen vom Barthel-Index unabhängigen Prognosefaktor darstellen. Als Cutoff für den Barthel-Index wurde der Median gewählt (BI = 10), als Cutoff für die Nukleosomen wurde wiederum die 100%ige Spezifität mit 560 ng/ml gewählt.

Für die Subgruppe mit einem Barthel-Index von 10 bis <50 bei Aufnahme konnte gezeigt werden, dass bei Nukleosomenwerten oberhalb des Cutoffs (560 ng/ml) die

Wahrscheinlichkeit keine vollkommene funktionelle Rekonvaleszenz zu erzielen um 2,5-fach höher ist als für niedrige Nukleosomenwerte (relatives Risiko 2,5).

Für die Patientengruppe mit einem Barthel-Index <10 bei Aufnahme lag das relative Risiko nur bei 1,2. Allerdings erreichte in dieser Subgruppe ohnehin nur ein Patient eine vollständige Wiedererlangung der alltagsrelevanten Funktionen, so dass bei einer Hinzunahme eines zusätzlichen Markers als Prognoseparameter nur eine geringe Verbesserung der prognostischen Aussage erwartet werden konnte.

Der Zusammenhang der Nukleosomen mit der Prognose ist auch bei Berücksichtigung des BI(A) signifikant (P= 0.0392).

	Nuk Tag 3	BI = 100		BI < 100		Relatives Risiko	P Wert
		N	%	N	%		
BI >10	< Cutoff	6	60.0	4	40	2.5	0.0392
	≥ Cutoff	0	0	3	100		
BI ≤10	< Cutoff	1	16.7	5	83.3	1.2	
	≥ Cutoff	0	0	7	100		

Tabelle 37: Kombination von BI bei Aufnahme und den Nukleosomen-Werten an Tag 3 bei der Subgruppe mit BI <50 bei Aufnahme zum Nachweis der Nukleosomen als unabhängigen prognostischen Parameter. Als Cutoff wurde für den BI der Median = 10 Punkte verwendet, für die Nukleosomen die 100%ige Spezifität = 560 ng/ml.

4.3.8 Zusammenfassung

Im Gesamtkollektiv wiesen Nukleosomen, S100-Protein, sowie NSE jeweils an Tag drei, und der BI(A) eine signifikante Korrelation mit der Prognose auf. Unabhängig vom initialen BI waren nur die Nukleosomen und das S100-Protein prognostisch relevante Parameter (partielle Korrelation).

In der Subgruppenanalyse konnte gezeigt werden, dass bei alle Patienten mit einem initialen Barthel-Index >50 nach 12 Monaten keine funktionellen alltagsrelevanten neurologischen Defizite mehr nachzuweisen waren.

In der Gruppe mit einem Barthel-Index <50 nach Symptombeginn lag ein heterogenes Outcome vor.

Bei der differenzierten Analyse der Patienten mit einem Barthel-Index <50 stellten sich nur die Nukleosomen, das S100-Protein und der BI(A) als prognostische Faktoren heraus.

Um die prognostische Relevanz der Nukleosomen, des S100-Proteins und des BI(A) näher zu spezifizieren, wurden Grenzwerte gewählt: zum einen der Median, zum anderen die 100%ige Spezifität für das Nicht-Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten nach 12 Monaten.

Für das S100-Protein konnte eine hohe Spezifität für das Nicht-Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten (entsprechend der kompletten Wiederherstellung der alltagsrelevanten Funktionen) nur mit niedriger Sensitivität erreicht werden. Bei den Nukleosomen lag eine hohe Spezifität bei hoher Sensitivität vor. Auch der BI(A) ließ eine spezifische prognostische Aussage mit hoher Sensitivität zu. Die Nukleosomen zeigten sich als vom BI(A) unabhängige prognostische Marker und sind besonders für das Patientenkollektiv mit einem BI(A) von 10 bis <50 von besonderer Bedeutung. Als wichtige relevante prognostische Marker in der Subgruppe mit einem Barthel-Index von 10 bis <50 haben sich nur die Nukleosomen und der BI(A) erwiesen.

5 Diskussion

Der Schlaganfall stellt nicht nur die dritthäufigste Todesursache nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Malignomen weltweit dar, sondern auch die häufigste Ursache für eine irreversible Behinderung im Erwachsenenalter. Die wichtigste Bedeutung für die Langzeitprognose ist die frühzeitige Diagnosesicherung in Verbindung mit einer schnellen und gezielten therapeutischen Intervention.

In der Routinediagnostik werden bildgebende Verfahren, wie die Kernspin- und die Computertomographie zum Ausschluß einer akuten intrazerebralen Blutung und zur Lokalisationsbestimmung eingesetzt.

In der Routineversorgung stellen die Körpertemperatur, die Blutglukose, die Sauerstoffversorgung und der Blutdruck unabhängige physiologische Prognosefaktoren dar. Sie werden engmaschig kontrolliert und gemäß therapeutischer Richtlinien zur Prognoseverbesserung eingestellt. (Boysen und Christensen 2001)

Die Schwere eines Schlaganfalls, bezogen auf die noch vorhandene Selbstversorgungsfähigkeit des Patienten und die kognitiven Defizite, wird anhand klinischer Scores erhoben und objektiviert.

Neben diesen Parametern werden seit geraumer Zeit verschiedene Marker im Hinblick auf ihre diagnostische und prognostische Wertigkeit untersucht. Durch einfache Methodik und die frühe Beurteilung von Ausmaß, Schwere und Prognose nach einem Schlaganfall soll eine frühzeitige gezielte therapeutische Intervention ermöglicht und die rechtzeitige Einleitung spezifischer Rehabilitationsmaßnahmen ermöglicht werden. Die Prognose kann in eine Lang- und Kurzzeitprognose unterteilt werden. Für die Kurzzeitprognose stehen vor allem die ischämie-assoziierten Komplikationen wie die sekundäre Hämorrhagie, die Hirnschwellung und Infektionen bis zum Zeitpunkt der Entlassung im Vordergrund, nach der Entlassung gelten bleibende Beeinträchtigungen, die Nicht-Wiedererlangung der Selbstversorgung im Alltag und Reinfarkte als Prognosekriterien.

Im Vordergrund des Interesses stehen Parameter, welche im Blut durch eine einfache Testmethode nachgewiesen werden können. Hierzu wurden in der Literatur bisher insbesondere die Verläufe des Akut-Phase Proteins CRP, sowie der Neurodestruktionsmarker NSE und S100 nach zerebraler Ischämie diskutiert. Es wurde dabei die Kinetik allgemein, die Maximalwerte, sowie deren Korrelationen mit der Klinik, der Läsionsgröße und der Prognose untersucht.

Nach einem Schlaganfall konnte ein Anstieg der Konzentration des S-100 B und der NSE im Liquor und im Serum nachgewiesen werden (Hardemark et al. 1989; Aurell et al. 1991; Barone et al. 1993; Fassbender et al. 1997; Missler et al. 1997).

Bei dem Vergleich zwischen Liquor- und Serumkonzentrationen der beiden Proteine wurde gezeigt, dass es vor allem bei großen Infarktarealen auch zu einer Freisetzung der neuronalen Strukturproteine in die Blutbahn kommt (Persson et al. 1987).

Aufgrund zu starker Belastung für den Patienten durch regelmäßige Liquorpunktionen und eines oftmals erhöhten Hirndruckes nach einem Schlaganfall, der eine Liquoruntersuchung verbietet, konnte die Bestimmung dieser Marker im Liquor nicht in den klinischen Alltag etabliert werden.

Da zusätzlich ein mäßiger Anstieg der S-100 Konzentration im Liquor mit zunehmendem Alter zu verzeichnen ist, kann der Nachweis erhöhter Wertlagen nach einem Schlaganfall außerdem nicht zwingend nur auf diesen zurückgeführt werden (Hamann et al. 2002).

Bei der Bestimmung des S100-B im Blut konnte dagegen weder eine Geschlechts-, noch eine Altersabhängigkeit nachgewiesen werden (Wiesmann et al. 1998).

Die Serum-Werte der NSE sind besonders anfällig für Hämolyse und Nikotinabusus (Hamann et al. 2002).

Neben den soeben genannten Parametern ist in letzter Zeit die Bestimmung zirkulierender DNA-Fragmente im Blut, die im Rahmen des apoptotischen Zelltodes freigesetzt werden, in den Blickpunkt des Interesses gerückt.

Der Zelltod ist ein wesentlicher Faktor, der das Ausmaß der geschädigten Neuronen widerspiegelt. Im Kerngebiet der Ischämie (Core) mit irreversibler Schädigung der Neuronen dominiert unmittelbar nach dem Infarkt die Nekrose, während in der Penumbra mit noch minimal aufrechterhaltener Energieversorgung die Zellen vorwiegend mit einer gewissen Latenz durch den apoptotischen Zelltod zugrunde gehen (Dirnagl et al. 1999). In einigen Neuronen treten auch beide Formen des Zelltodes nebeneinander auf, was als Aponekrose bezeichnet wird (Unal-Cevik et al. 2004).

Ein Erliegen der Perfusion in der Penumbra führt zur irreversiblen Schädigung der Zellen in diesem Gebiet und zur Vergrößerung des ischämischen Areal. Im Hinblick auf die damit verbundene Verschlechterung der Prognose, könnte die Bestimmung von Apoptoseprodukten zur Verlaufskontrolle und eventuellen Einschätzung der Prognose hilfreich sein (Dirnagl et al. 1999).

Beim Nachweis erhöhter Wertlagen zirkulierender DNA-Bruchstücke im Serum kann nicht eindeutig festgelegt werden, ob sie wirklich der Freisetzung aus geschädigten Neuronen in Zusammenhang mit einer nicht intakten Blut-Hirn-Schranke entstammen, oder ob sie einfach eine unspezifische lokale oder generalisierte Entzündungsreaktion darstellen, da es sich um nicht-spezifische Zelltodprodukte handelt. Auch eine eindeutige Unterscheidung zwischen Apoptose und Nekrose anhand zirkulierender DNA-Bruchstücke ist nicht möglich.

Da die zerebrale Ischämie einen dynamischen Entwicklungsprozess mit einer bestimmten zeitlichen Abfolge an pathophysiologischen Vorgängen darstellt (Siegenthaler 2001), könnte durch die Bestimmung der DNA-Konzentrationen im Verlauf eventuell Rückschlüsse auf die Art des Zelltodes gezogen werden.

Wir haben somit engmaschige Kontrollen der laborchemischen Parameter durchgeführt, um einerseits zu sehen, ob sich in der Kinetik die verschiedenen pathophysiologischen Abläufe widerspiegeln und andererseits die verschiedenen Zeitpunkte der Bestimmung je nach deutlichem Anstieg oder Abfall der

laborchemischen Parameter mit einer unterschiedlichen prognostischen Bedeutung einhergehen.

Wir konnten für die Nukleosomen als Apoptoseparameter, für Leukozyten und C-reaktives Protein als unspezifischen Inflammationsparameter, wie für NSE und S100-Protein als Neurodestruktionsmarker eine Veränderung der Konzentrationen im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie nachweisen. Für die Nukleosomen und das S100-Protein konnten im Vergleich zu den Referenzwerten der gesunden Normalbevölkerung die deutlichsten Erhöhungen der Wertlagen im Serum nachgewiesen werden, mit Maximalwerten zwischen Tag drei und Tag vier, gefolgt von einem kontinuierlichen Abfall. Für die anderen drei biochemischen Marker konnte ebenso eine charakteristische Kinetik im Verlauf der ersten Woche beobachtet werden mit moderat erhöhten Wertlagen, aber ebenfalls einer deutlichen zeitlichen Abfolge mit Anstieg, Maximum und Abfall.

Über die engmaschige Kinetik zirkulierender DNA-Bruchstücke nach zerebraler Ischämie ist in der Literatur bisher nichts berichtet worden, über die prognostische Relevanz zirkulierender Nukleinsäuren bei einmaliger Bestimmung wird später noch näher eingegangen.

Über erhöhte NSE- und S100-Konzentrationen im Serum und im Liquor nach zerebraler Ischämie ist in der Literatur schon mehrfach berichtet worden (Hardemark et al. 1989; Aurell et al. 1991; Barone et al. 1993; Cunningham et al. 1994; Fassbender et al. 1997).

Die Gruppe um Büttner konnte bei Bestimmung der S100-Werte im Blut eine signifikante Erhöhung der Konzentrationen bei Patienten mit schweren neurologischen Defiziten bei Aufnahme oder sehr großem Infarktareal, verglichen mit einer gesunden Kontrollgruppe oder Patienten mit geringerem Ausmaß der Schädigung zeigen (Buttner et al. 1997). Die Maximalwerte lagen hier an den Tagen 2 und 3 nach dem Infarkt ereignis. Die Werte wurden 12 Stunden und 24 Stunden nach Einsetzen der Symptome gemessen.

Missler et al. zeigten bei der Messung der NSE- und S100-Protein-Werte im Serum an den Tagen 3, 4, 7 und 14 nach zerebraler Ischämie ein Erreichen der Maximalwerte für das S100-Protein an nach 2.5 ± 1.5 Tagen. Die höchsten NSE-Konzentrationen wurden an Tag 1.9 ± 0.8 gemessen (Missler et al. 1997). Die Angaben für das S100 entsprechen somit unseren Beobachtungen, die für die NSE nicht. Wir konnten für die NSE am ersten Tag nach zerebraler Ischämie höhere

Konzentrationen nachweisen als am zweiten Tag. Da keine Ausgangswerte zum Zeitpunkt vor dem Ereignis vorliegen, lässt sich schwer sagen, ob es sich wirklich um eine Wertlagenerhöhung handelt. Wunderlich et al. konnten ebenso wie wir einen ersten Peak der NSE-Werte am ersten Tag nach dem Ereignis nachweisen, mit einem Abfall am Tag zwei und einem erneuten Anstieg der Werte von Tag 3 bis 5 (Wunderlich et al. 1999).

Die Bestimmung der Nukleosomenkonzentration im Verlauf der ersten Woche nach zerebraler Ischämie zeigte, ebenso wie die zeitliche Abfolge der verschiedenen pathophysiologischen Mechanismen, einen dynamischen Ablauf. Dies zeigt sich im kontinuierlichen Anstieg bezüglich des Medians der Gruppe bis zu Tag 4, gefolgt von einem langsamen Abfall der Werte bis zu Tag 7 bei deutlicher interindividueller Variabilität. An Tag 4 scheint das Ausmaß der zerebralen Schädigung im Median ihr Maximum erreicht zu haben, da die Halbwertszeit der Nukleosomen bei ca. 30-60 Minuten liegt. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass die Nukleosomenkonzentration solange ansteigt, wie neuronale Zellen geschädigt werden und Zellprodukte über eine geschädigte Blut-Hirn-Schranke in die Blutbahn gelangen. Da die Nukleosomen als Apoptosemarker vor allem für den Verlauf der Schädigung innerhalb der Penumbra stehen, scheint als Erklärung für die zeitliche Verzögerung der Maximalwerte der Nukleosomenkonzentration der Zelltod über einen längeren Zeitraum aufgrund weiterer Infarzierung in der Penumbra zu sein. Im Kerngebiet der Ischämie müsste es sich anders verhalten. Da hier hauptsächlich ein irreversibler Schaden gesetzt wird, müsste die Maximalkonzentration von Nekroseprodukten kurze Zeit nach dem Ereignis erreicht werden. Diesen ersten Peak konnten wir vor allem bei Patienten mit schwerer neurologischer Beeinträchtigung beobachten, bei leichteren Fällen war der erste Peak nicht so deutlich zu verzeichnen.

Die Maximalkonzentration für das S100-Protein im Median wird drei Tage (Buttner et al. 1997; Fassbender et al. 1997; Missler et al. 1997), die der NSE 96 Stunden nach Einsetzen der Symptome erreicht. Die Halbwertszeit des S100 liegt bei 2,2 Stunden (Blomquist et al. 1997), die der NSE bei 48 Stunden (Ishiguro et al. 1983). Der Serumspiegel der NSE und des S100 steigen solange an, wie es zum Neuronenuntergang und zur Freisetzung aus dem ZNS kommt. Da es im Kerngebiet der Ischämie sofort nach Beginn der Hypoperfusion zum irreversiblen Untergang von

Neuronen kommt (Dirnagl et al. 1999), müsste die höchste Konzentration der Neurodestruktionsmarker bei Ischämiebeginn vorliegen.

Ein möglicher Grund für das verspätete Erreichen der Maximalkonzentrationen der Marker im Serum kann eine verzögerte Freisetzung der Parameter sein. Ursächlich hierfür kann zum einen ein verzögerter Eintritt der assoziierten Blut-Hirn-Schranken-Störung sein, zum anderen können NSE und S100-Protein der Dynamik der Pathologie nach zerebraler Ischämie folgen und erst vermehrt während der Inflammation und Apoptose freigesetzt werden. Da die NSE einen neuronalen Marker darstellt, das S100-Protein einen der Astrogliazellen, könnte es zu einem verzögerten Absterben je nach Empfindlichkeit der jeweiligen Zellart kommen.

Das C-reaktive Protein als Akut-Phase-Protein steht für die unspezifische Entzündungsreaktion in der Pathophysiologie der zerebralen Ischämie (Dirnagl et al. 1999; Muir et al. 1999). Ob es zu einer Erhöhung der CRP-Werte nach einem Schlaganfall kommt und ob diese mit der Schwere des Infarktes, der Läsionsgröße und der Prognose korrelieren, ist in der Literatur viel diskutiert worden. Di Napoli et al. haben einmalig innerhalb 72 Stunden nach Einsetzen der Symptome die CRP-Konzentrationen im Serum bestimmt. Es wurde gezeigt, dass es bei einem Viertel der Patienten zu gar keiner Erhöhung der CRP-Werte zu diesem Zeitpunkt im Blut kommt (Di Napoli et al. 2001). Die zerebrale Ischämie selbst scheint somit nicht zwingend eine Akut-Phase-Reaktion nach sich zu ziehen. In anderen Arbeiten wurde gezeigt, dass hohe CRP-Konzentrationen eventuell die Ausdehnung des Infarktareals widerspiegeln (Di Napoli et al. 2001; Smith et al. 2004). Allerdings wurden die CRP-Anstiege in Zusammenhang mit dem Ausmaß der Nekrose gesehen (Di Napoli et al. 2001).

Zusammenfassend wurde herausgefunden, dass die CRP-Werte indirekt mit der Schwere der Symptomatik (Canova et al. 1999; Anuk et al. 2002; Winbeck et al. 2002) und der Größe der Läsion korrelieren (Di Napoli et al. 2001; Smith et al. 2004). Während der ersten drei Tage konnten wir keine Erhöhung der CRP-Werte über die Norm hinaus verzeichnen. Zu einem Anstieg kam es erst ab Tag 4, gefolgt von konstant erhöhten Werten bis zu Tag 7. Da auch die inflammatorische Reaktion nach einer zerebralen Ischämie erst viele Stunden bis Tage nach dem Ereignis einsetzt, ist zu verstehen, warum die Werte erst um diesen Zeitpunkt herum erhöht sind (Dirnagl et al. 1999; Siegenthaler 2001).

Die Korrelation mit den klinischen Variablen zeigte eine signifikante Korrelation aller laborchemischen Marker mit dem BI(A) und bei Entlassung, sowie der Läsionsgröße. Aufgrund der gleich hohen signifikanten Korrelation der klinischen Parameter mit dem BI(A) und bei Entlassung, haben wir die weiteren Auswertungen mit dem BI(A) berechnet. Die Korrelationen verhielten sich unterschiedlich für die verschiedenen Zeitpunkte nach Beginn der Symptomatik. An Tag 1 zeigte kein Marker eine signifikante Korrelation mit der Schwere der klinischen Symptomatik (BI(A)). An Tag 3 nach Symptombeginn korrelierten alle fünf Parameter stark signifikant mit dem BI(A). Dies entspricht dem ungefähren Zeitpunkt der Maximalkonzentrationen im Blut. Somit würde eine erste Messung der Laborparameter an Tag 3 reichen, um eine Aussage über die Schwere der Ischämie treffen zu können. An den folgenden Tagen weisen immer mehr Parameter keine eindeutige Korrelation mit dem BI(A) auf.

Ursächlich hierfür kann der Einfluß anderer unspezifischer Prozesse sein.

Die Unterteilung des Patientenkollektivs in Patienten mit starken Funktionsausfällen und weniger starker Beeinträchtigung wurde anhand des Barthel-Index objektiviert. Es erfolgte die Unterteilung in eine Gruppe mit einem Barthel-Index ≥ 50 und einer Gruppe mit Barthel-Index <50 entsprechend dem Median des untersuchten Patientenkollektivs. Für die Gruppe mit der schwereren neurologischen Symptomatik konnten in den meisten Fällen signifikant höhere Wertlagen der biochemischen Marker nachgewiesen werden als für die Gruppe mit der geringeren klinischen Symptomatik.

Auch für die Korrelation mit der Läsionsgröße zeigte sich Tag 3 am aussagekräftigsten. Bei Patienten mit sehr starker neurologischer Beeinträchtigung konnte eine Tendenz zu größeren Infarktrealen verzeichnet werden, die nicht zwingend mit hohen Wertlagen der Laborparameter verbunden war. Patienten mit geringer neurologischer Beeinträchtigung wiesen vermehrt kleine Infarktareale auf, aber in Einzelfällen lagen dennoch massiv hohe Serumkonzentrationen der laborchemischen Parameter vor. Die Schwere der neurologischen Ausfälle hängt somit nicht nur mit der Größe des betroffenen Gebietes zusammen, sondern auch mit der Funktion des geschädigten Areals.

Cunningham et al. zeigten, dass die NSE ihr Maximum mit steigendem Infarktvolumen zeitlich später erreicht und dass die Maximalwerte die Größe des Infarktareals am besten widerspiegeln. Wie auch beim S100-Protein, besteht eine positive Korrelation der NSE mit dem Infarktvolumen (Cunningham et al. 1996).

Bei Bestimmung der NSE-Serumkonzentration zu den Zeitpunkten 24, 28, 72 und 96 Stunden nach cerebraler Ischämie konnte 72 Stunden nach Einsetzen der Symptomatik eine signifikante Korrelation mit dem Infarktvolumen nachgewiesen werden (Cunningham et al. 1991).

Büttner et al. bestimmten die Konzentrationen des S100-Proteins direkt nach Einlieferung ins Krankenhaus, dann zu Stunde 24 und im Anschluss einmal täglich bis zu Tag 8. An Tag 10 erfolgte die letzte Messung. Es konnten für das S100-Protein sowohl eine signifikante Korrelation mit der neurologischen Beeinträchtigung bei Aufnahme, objektiviert mittels der Scandinavian stroke scale (SSS), nachgewiesen werden, als auch mit der Größe des Ischämieareals. Große Infarkte führten zu höheren Konzentrationen des S100 im Blut. Es wurde in dieser Arbeit nicht untersucht, an welchem Tag die Korrelation mit der Infarktgröße am höchsten ist (Buttner et al. 1997).

Wunderlich et al. beschrieben ebenso eine signifikante Korrelation der NSE und des S100-Proteins mit der Klinik bei Aufnahme, objektiviert mittels des NIHSS und der Läsionsgröße. Die Blutentnahmen erfolgten direkt nach Aufnahme ins Krankenhaus und dann kontinuierlich einmal täglich über die ersten vier Tage (Wunderlich et al. 1999).

Das S100-Protein zeigte eine signifikante Korrelation mit der Läsionsgröße an den Tagen 1-4, nicht jedoch kurz nach Einsetzen der Symptomatik. Die NSE zeigte zum Zeitpunkt der Aufnahme und dann bis zu Tag drei eine signifikante Korrelation mit dem Infarktvolumen. Die höchste Korrelation mit dem NIHSS konnte für die S100-Werte an Tag vier gezeigt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die NIHSS-Werte bei Entlassung wurden als Outcome-Score verwendet. Dabei zeigte sich eine höhere Signifikanz zwischen dem NIHSS bei Entlassung und den Serum S100- und NSE-Werten, als zwischen mit dem NIHSS bei Aufnahme und den Laborparametern.

Wir konnten in Übereinstimmung mit den oben erwähnten Studien zeigen, dass die Maximalkonzentrationen erst einige Tage nach dem Ereignis erreicht werden, und dass die Schwere der Symptomatik und die Läsionsgröße am deutlichsten mit den Serumkonzentrationen einige Tage nach Einsetzen der Symptomatik korrelierten. Die Blutentnahmen kurz nach Einlieferung und an Tag 1 können somit hinsichtlich der Aussagekraft bezüglich neurologischer Defizite und der Läsionsgröße diskutiert werden.

Die exakte Vermessung der Läsionsgröße zählt in der Regel nicht zu den Routineuntersuchungen nach zerebraler Ischämie. Klinisch ist hauptsächlich die Lokalisation des Infarktes von Bedeutung. Initial wird zum Ausschluß einer intrazerebralen Blutung oder einer Hirnschwellung mit Mittellinienverlagerung immer eine kranielle Computertomographie durchgeführt, im Verlauf folgt meistens eine kranielle Kernspintomographie. Um eine exakte Bestimmung der Läsionsgröße zu gewährleisten wurden in der vorliegenden Arbeit alle Bilder von einem erfahrenen Neuroradiologen vermessen.

Die Subgruppenanalyse zeigte für das S100-Protein zwar höhere Werte bei Patienten mit größerem neurologischem Defizit ($BI(A) < 50$), als bei Patienten mit geringerer Symptomatik ($BI(A) \geq 50$), der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Die NSE verhielt sich in beiden Subgruppen gleich (Wunderlich et al. 1999).

Auch Missler et al. wiesen für die NSE- und das S100-Protein-Konzentration eine eindeutig signifikante Korrelation mit der Läsionsgröße am Tag der Maximalkonzentration (Tag 2 oder 3) nach (Missler et al. 1997).

Die signifikante Korrelation zwischen dem Infarktausmaß und den Wertlagen der NSE im Serum wurden in mehreren Studien bestätigt. Das Infarktvolumen wurde in all diesen Studien zuverlässig mit standardisierten Computerprogrammen von einem erfahrenen Neuroradiologen vermessen (Cunningham et al. 1991; Schaarschmidt et al. 1994; Cunningham et al. 1996).

Hinsichtlich des C-reaktiven Proteins konnte bereits eine indirekte Korrelation mit der Schwere der Symptomatik und der Größe der Läsion nachgewiesen werden (Muir et al. 1999; Di Napoli et al. 2001; Hamidon et al. 2004). Außerdem gingen höhere CRP-Werte innerhalb von 24-72 Stunden nach Einsetzen der Symptome mit einer schlechteren Prognose bezüglich des Gesamtüberlebens einher (Muir et al. 1999).

Die prognostische Relevanz der Marker wurde in dieser Arbeit definiert als die Wiedererlangung der alltagsrelevanten Funktionen nach 12 Monaten. Die Aussage zielt somit auf die Rehabilitationsfähigkeit der Patienten ab und unterscheidet sich von der in der Literatur angegebenen Prognose hinsichtlich Mortalität und dem Auftreten von Komplikationen (Cunningham et al. 1991; Buttner et al. 1997; Rainer et al. 2003). Dafür waren zwei Gründe ausschlaggebend:

a) in der vorliegenden Studie verstarben zwischen Erstsymptomatik und dem 12-Monats-Follow-up insgesamt nur zwei Patienten. Dies könnte z.B. die optimale Versorgung durch die Schlaganfallintensiveinheit (Stroke Unit) widerspiegeln.

b) die Wiedererlangung der alltagsrelevanten Funktionen wurde von uns als klinisch bedeutender angesehen als die Mortalitäts- oder Komplikationsrate.

Da die Korrelation des BI(E) und des BI(A) mit dem Outcome nach 12 Monaten eine etwa gleich hohe Korrelation mit der Prognose aufwies, wurde in der weiteren Auswertung nur der BI(A) berücksichtigt. Unter den gemessenen Werten waren für die meisten Marker jene an Tag 3 am aussagekräftigsten. Pathophysiologisch trifft dies mit dem Zeitpunkt der apoptotischen Prozesse zusammen (Dirnagl et al. 1999). Das C-reaktive Protein und die Leukozyten korrelierten zu keinem Zeitpunkt signifikant mit der Prognose.

Da die klinischen Parameter (Barthel-Index und Läsionsgröße) sehr stark mit der Prognose korrelierten, stellte sich die Frage, ob die Laborparameter eine unabhängige prognostische Relevanz haben. Hierzu erfolgte die Berechnung der partiellen Korrelation, wobei die Korrelation der Laborparameter unabhängig vom BI(A) mit der Prognose geprüft wurde. Dadurch sank die Relevanz der meisten biochemischen Parameter (NSE, CRP, Leukozyten).

Als unabhängige prognostische Parameter fungierten nur die Nukleosomen und das S100-Protein.

Aufgrund der fast eindeutigen prognostischen Vorhersagemöglichkeit des Outcomes durch Bestimmung des BI(A) für Patienten mit einem initialen Barthel-Index ≥ 50 , war hierfür die zusätzliche Bestimmung von Laborparametern nicht erforderlich.

Bei Patienten mit einem Barthel-Index < 50 war hingegen das Outcome sehr inhomogen. Aus diesem Grund wurde die prognostische Relevanz der laborchemischen Kenngrößen zusätzlich zur Aussagekraft des Barthel-Index in diesem Subkollektiv getestet. Um die Verwendung im klinischen Alltag zu erleichtern, wurden von uns geeignete Cutoffs für Nukleosomen, S100-Protein und den Barthel-Index definiert, da in der Literatur hierzu bisher keine Angaben vorhanden sind. Zum einen wurde der Median der Patienten mit Barthel-Index < 50 bei Aufnahme als allgemeines Maß verwendet, zum anderen die 100-prozentige Spezifität zum Ausschluß von falsch Positiven, um wirklich nur die Patienten zu identifizieren, die keine vollständige Regeneration erreichten und so von frühzeitigen intensiven rehabilitativen Maßnahmen profitieren würden. Die Höhe der Cutoffs beruht in dieser Arbeit auf den Daten unseres Patientenkollektivs. Für den Median als Cutoff konnte für Nukleosomen und S100-Protein eine hohe Spezifität und Sensitivität für die Vorhersage des Nicht-Erreichens von 100 Punkten im Follow up gezeigt werden. Der

Nachteil bestand hier jedoch bei einigen falsch positiven Befunden. Diese sollen mit dem zweiten Cutoff der 100-prozentige Spezifität minimiert werden. Dabei zeigte sich für die Nukleosomen immer noch eine prognostische Relevanz bei hoher Sensitivität und Spezifität. Bei dem S100-Protein kam es auch bei Patienten mit initial sehr hohen Werten zum Erreichen von 100 Punkten im Follow up, so dass der Cutoff der 100%igen Spezifität sehr hoch gewählt werden musste. Dies führte zu einem starken Verlust der Sensitivität (16,7%).

Die Nukleosomen erwiesen sich als einzige prognostisch relevante Parameter mit hoher Sensitivität und Spezifität.

Die Arbeitsgruppe um Missler konnte eine signifikante Korrelation des S100-Proteins mit dem klinischen Outcome, gemessen mittels der „Activities of daily living“ Scale bei Entlassung aus dem Krankenhaus und der Glasgow Coma Scale nach 6 Monaten aufzeigen (Missler und Wiesmann 1995). Dabei waren höhere S100-Werte mit einer schlechteren Prognose sowohl bei Entlassung, als auch nach 6 Monaten assoziiert. Für die NSE zeigte dagegen keine signifikante Korrelation mit der Prognose.

Wunderlich et al. untersuchten die Aussagekraft von NSE und S100-Protein hinsichtlich der Prognose. Als Prognosefaktor wurde hier bei Entlassung der NIHSS erhoben. Für Patienten mit einem schlechten Outcome konnten höhere Wertlagen über einen längeren Zeitraum, sowie eine signifikante Korrelation beider Marker mit dem Outcome (NIHSS bei Entlassung) gefunden werden. Die multivariate Analyse mit einem Regressionsmodell unter Berücksichtigung der Läsionsgröße, der NSE- und der S100-Konzentrationen mit dem NIHSS-Score bei Entlassung zeigte nur für das S100-Protein eine unabhängige prognostische Relevanz (Wunderlich et al. 1999).

Büttner et al wiesen ebenso für Patienten mit einem schlechten Outcome höhere Serum-S100-Level nach, als für Patienten mit einer besseren Prognose. Als Outcome wurde die die Modified Rankin Scale 4 Wochen nach Diagnose der zerebralen Ischämie ermittelt. Allerdings wiesen Patienten, die während des stationären Aufenthaltes an den Folgen des Schlaganfalls verstarben, keine höheren Konzentrationen auf als Patienten mit einem schlechten Outcome nach 4 Wochen (Buttner et al. 1997).

Bei Messung der CRP-Werte 24 Stunden nach Einsetzen der Symptome, nach 48-72 Stunden und bei Entlassung aus dem Krankenhaus konnte gezeigt werden, dass die

CRP-Werte bei Entlassung mit dem 1-Jahres-Überleben korrelieren (Di Napoli et al. 2001).

Bis auf die Studie von Wunderlich et al. werden die einzelnen Marker nur in univariaten Analysen und nicht in multivariaten Modellen, die ebenso klinische und andere Laborparameter berücksichtigen, untersucht. Darüber hinaus ist die definierte Blutentnahme während der ersten Woche und die Berücksichtigung verschiedener Zeitpunkte in einem übergreifenden Modell heraus zu stellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde routinemäßig vom ärztlichen Personal der Stroke Unit der Barthel-Index bei Aufnahme und bei Entlassung erhoben. Es handelt sich dabei um eine Behinderungsskala mit Erfassung von Behinderungen und Alltagsfunktionen unter Berücksichtigung der kognitiven Funktionen. Die Dauer der Datenerhebung liegt bei ungefähr 10 Minuten.

In den oben genannten Studien wurden die Scandinavian Stroke Scale (SSS) und die National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) verwendet. Dabei handelt es sich um Impairmentskalen, die die klinische Manifestation der Symptomatik auf mehrdimensionaler Ebene erfassen sollen. Zudem wird der Schweregrad von Paresen, Ataxien und Aphasien miterhoben. Die NIHSS ist weit verbreitet und findet immer mehr Einsatz im klinischen Alltag. Im Vergleich zu anderen Schlaganfallskalen werden hier auch Symptome des hinteren, vertebrobasilären Stromgebietes erfasst. Allerdings ist vor routinemäßiger Verwendung der NIHSS ein ausführliches Training mit teils eines Videobandes nötig, um eine ausreichend hohe Inter-Rater-Reliabilität zu gewährleisten. Die SSS ist valide, überzeugt durch eine kontinuierlich hohe Inter-rater-Reliabilität und benötigt kein Training vor der Anwendung.

Welche Skala routinemäßig angewendet wird, ist die Entscheidung der jeweiligen Klinik selbst. Aufgrund der einfachen Durchführbarkeit ohne spezielles Training und der routinemäßigen Anforderung für einen Rehabilitationsantrag wurde auf der Stroke-Unit im Klinikum Großhadern der Barthel-Index verwendet.

Insgesamt wurden verschiedene Marker zu unterschiedlichen Zeitpunkten hinsichtlich der prognostischen Aussagefähigkeit untersucht. Dabei zeigten alle Parameter dieselbe Tendenz: hohe Wertlagen sind mit einer ungünstigen Prognose assoziiert.

Um die aussagekräftigsten und klinisch relevantesten Marker zu finden, wurden sie mit schon etablierten klinischen Scores in Beziehung gesetzt. Dabei sollte geprüft werden, welcher der Marker zusätzliche Informationen bietet – insbesondere in der

heterogenen Gruppe mit BI(A) <50. Zur Erlangung einer hohen Spezifität wurden entsprechend hohe Grenzwerte für die Marker definiert. So konnte verhindert werden, dass Patienten mit ohnehin gutem Outcome fälschlicherweise eine schlechte Prognose zugeschrieben wurde. Bei einer 100-prozentigen Spezifität waren die Nukleosomen prognostisch relevant. Der BI(A) ist zwar bei BI <50 nicht mehr signifikant, aber immer noch bedeutsam.

Für Patienten mit einem Barthel-Index >10 und <50 bei Aufnahme lag das relative Risiko bei 2.5 für das Nicht-Erreichen eines Barthel-Index von 100 Punkten im Outcome. Bei Patienten mit einem Barthel-Index <10 bei Aufnahme liegt dagegen das relative Risiko für eine weiterhin eingeschränkte Selbstversorgung nur bei 1.2, da es in dieser Subgruppe nur bei einem Einzigen die völlige Wiederherstellung der alltagsrelevanten Funktionen erreicht wurde. Die Nukleosomen stellen somit den einzigen unabhängigen Marker mit prognostischer Relevanz dar. Am aussagekräftigsten sind sie für Patienten, die einen initialen BI >10 und <50 aufweisen, da in dieser Gruppe das Outcome heterogen ist und somit die frühzeitige Abschätzung der Prognose von besonderer Bedeutung ist.

Die Arbeitsgruppe um Dennis Lo hat in mehreren Arbeiten die diagnostische und prognostische Relevanz von zirkulierenden Nukleinsäuren im Plasma bei Patienten nach akutem Schlaganfall untersucht (Rainer et al. 2003; Lam et al. 2006; Rainer et al. 2007). In allen Studien wurden jedoch die DNA-Konzentrationen nur einmal im akuten Stadium (ca 3 Stunden nach Symptombeginn) gemessen.

In einer Studie wurden 88 Patienten eingeschlossen. Bei 70 Patienten wurde die Diagnose einer zerebralen Ischämie (11 intrazerebrale Blutungen, 7 transitorisch ischämische Attacken) gestellt und die DNA-Konzentrationen nach Aufnahme ins Krankenhaus vermessen. Es konnten signifikant höhere Wertlagen bei Patienten nachgewiesen werden, die noch während des stationären Aufenthaltes oder innerhalb von 28 Tagen verstarben als bei Patienten, die überlebten und nach Hause entlassen werden konnten. Sechs Patienten verstarben innerhalb der ersten 28 Tage nach Aufnahme ins Krankenhaus, 11 Patienten innerhalb von sechs Monaten. Es erfolgte eine Einteilung der Patienten je nach Schwere des neurologischen Defizits bei Aufnahme. Objektiviert wurde die Beeinträchtigung mit der NIH Stroke Scale. Patienten, die bei Aufnahme einen NIHSS >8 Punkte aufwiesen, wurden als schwer beeinträchtigt eingestuft. Von diesen zeigten wiederum diejenigen signifikant höhere Werten, als diejenigen, die nach sechs Monaten noch lebten. Im Gegensatz zur

vorliegenden Arbeit wurde als einer der primären Endpunkte die Korrelation mit der Mortalität angesehen. Dabei wurde ermittelt, dass ab einer bestimmten Konzentration der Nukleinsäuren im Plasma die Sterblichkeitswahrscheinlichkeit mit einer Spezifität von 100% bei einer Sensitivität von 74.4% vorhergesagt werden kann (Rainer et al. 2003).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in dieser Arbeit gezeigt wurde, dass sich die Plasma-DNA-Werte und die erreichten Punkte in der NIHSS und der GCS sich signifikant zwischen Patienten unterschieden, die noch während des stationären Aufenthaltes verstarben und Patienten, die nach sechs Monaten noch am Leben waren. Zusätzlich konnten Lo et al. auch eine Korrelation der Nukleinsäuren mit der Läsionsgröße nachweisen (Rainer et al. 2003).

In einer weiteren dieser Arbeiten wurde die prognostische Relevanz der Plasma-DNA- und S100-Protein-Werte bei Patienten mit Schlaganfall-Symptomatik, aber keiner vermessbaren Läsion in der Bildgebung untersucht (Lam et al. 2006). Als primärer Prognoseendpunkt galt wiederum die Morbiditäts- und Mortalitätsrate 6 Monaten nach Schlaganfallereignis, objektiviert an der Modified Rankin Scale. Die Blutentnahme zur Bestimmung der Plasma-DNA erfolgte wiederum einmalig gleich nach Aufnahme ins Krankenhaus, die Bildgebung innerhalb von 24 Stunden nach Symptombeginn. Ziel war es auch für Patienten ohne Korrelat in der Bildgebung eine Aussage hinsichtlich der Prognose treffen zu können. Es wurden 44 Patienten mit Schlaganfallsymptomatik, aber keiner vermessbaren Läsion in die Studie eingeschlossen. Für die Patienten mit schlechtem Outcome nach 6 Monaten (Poststroke Modified Rankin Scale 3-6 Punkte) wurden signifikant höhere Konzentrationen der Plasma-DNA gefunden. Für das S100-Protein zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Prognose (Lam et al. 2006).

Darüber hinaus konnten für die Plasma-DNA signifikant höhere Wertlagen bei hämorrhagischen als bei nicht hämorrhagischen Infarkten bei den überlebenden Patienten nachgewiesen werden im Vergleich zu denjenigen, die verstarben.

Hinsichtlich der diagnostischen Wertigkeit zeigte sich das S100-Protein der Plasma-DNA deutlich überlegen. 126 von 197 Patienten zeigten initial eine Erhöhung der S100-Protein-Konzentrationen, die Plasma-DNA-Werte waren nur bei 36 von 197 Patienten erhöht (Rainer et al. 2007).

Bezogen auf die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmt dies insofern überein, als dass es sich bei zirkulierenden DNA-Bruchstücken hauptsächlich um

Apoptoseprodukte handelt, die erst einige Zeit nach Ablauf der akuten Ischämie nachweisbar sind (Dirnagl et al. 1999) und somit nicht unmittelbar postischämisch erhöht sind. Für das S100-Protein waren die Maximalkonzentrationen in der vorliegenden Studie und in der Literatur erst einige Zeit nach dem Einsetzen der Symptome zu beobachten. Zu erhöhten Wertlagen gegenüber dem gesunden Kontrollkollektiv, dessen Wertlagen sehr niedrig sind (Median: 0.04 ng/ml; 95ste Perzentile: 0.1 ng/ml) kann es allerdings sehr rasch nach dem akuten Ereignis kommen.

Um die Übertragbarkeit der Ergebnisse unserer und der Arbeitsgruppe um Lo et al. zu untersuchen, wurde eine Vergleichsmessung von identischen Proben einiger Patienten nach zerebraler Ischämie einerseits mit der real-time PCR Methode nach Prof. Dennis Lo, die derzeit als Goldstandard für die Quantifizierung von zellfreier DNA gilt, und andererseits unserer Nukleosomen-ELISA-Methode durchgeführt. Dabei zeigte sich trotz der unterschiedlichen Testformate eine gute Korrelation der beiden Methoden sowohl für die einzelnen Werte wie auch im Longitudinalverlauf einzelner Patienten. Eine ähnlich gute Korrelation beider Methoden wurde auch bei Patienten mit Pankreaskarzinom während Radiochemotherapie beobachtet. Somit ist prinzipiell von einer guten Übertragbarkeit der Ergebnisse beider Arbeitsgruppen auszugehen (Holdenrieder et al. 2005).

Zusammenfassend wurde in den Studien von Rainer und Lo et al einmalig zum Zeitpunkt der Einlieferung ins Krankenhaus Blut zur Bestimmung der Plasma-DNA und des S100-Proteins entnommen. Es konnte eine Erhöhung der Plasma-DNA- und der S100-Protein-Konzentrationen nach zerebraler Ischämie gezeigt werden. Insgesamt zeigte sich das S100 der Plasma-DNA als diagnostischer Marker überlegen. Hinsichtlich der Prognose war die Plasma-DNA der aussagekräftigste Marker. Außerdem wies die Plasma-DNA höhere Werte bei hämorrhagischen Infarkten im Vergleich zu nicht hämorrhagischen Infarkten auf. Dies stellt ein wichtiges Kriterium für den Verlauf, die Prognose und die therapeutischen Konsequenzen dar. Die kombinierte Bestimmung von Plasma-DNA und S100-Protein erlaubt die zuverlässigsten Aussagen hinsichtlich der Diagnose und der Prognose (Rainer et al. 2003; Lam et al. 2006; Rainer et al. 2007).

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Bestimmung der Nukleosomen und der Neurodestruktionsmarker NSE und S100-Protein, sowie der Inflammationsmarker CRP und Leukozyten über diese initiale Bestimmung hinaus einmal täglich im Verlauf

der ersten Woche nach zerebraler Ischämie. Durch diese engmaschige Kinetik und anhand des Verlaufes konnte ein individuelles Profil der Verläufe der laborchemischen Parameter erstellt werden.

Dabei konnten zum einen interindividuelle Heterogenitäten aufgezeigt werden, zum anderen war eine Zuordnung durch die Verläufe hinsichtlich der Schwere des Infarktes möglich.

Durch die Kinetik und die Zeitpunkte der Maximalwerte konnte die Reihenfolge der pathophysiologischen Schädigungsmechanismen nachvollzogen werden.

Die signifikantesten Korrelationen mit der klinischen Symptomatik bei Aufnahme, der Läsionsgröße und der späteren Prognose zeigten sich nicht für die initialen Werte, sondern für die Konzentrationen an Tag 3, die häufig der Maximalkonzentration im Wochenverlauf entsprach. Hinsichtlich der Abschätzung der Rekonvaleszenzfähigkeit (Prognose) ist schon der initiale klinische Zustand für Patienten mit BI(A) ≥ 50 sehr aussagekräftig und somit ist keine zusätzliche Bestimmung von Laborparametern zur Prognosebestimmung notwendig. Bei Patienten mit initialem Barthel-Index < 50 ist jedoch die zusätzliche Bestimmung der Nukleosomen an Tag 3 von prognostischer Relevanz. Diese Ergebnisse zeigen die Bedeutung des Verlaufs zirkulierender Nukleosomen als prognostische Parameter bei Patienten mit zerebraler Ischämie. Auch wenn die Fallzahlen gering erscheinen, zeichnet sich die Qualität des Ansatzes durch die engmaschige Verlaufsbeobachtung, die standardisierte Erhebung der klinischen und radiologischen Befunde, die Gewährleistung einer standardisierten Präanalytik, der gleichzeitige Bewertung mehrerer Laborparameter und der multivariaten prognostischen Analyse aus. Somit kann diese Studie als Grundlage für weitere Validierungsstudien dienen, die sich prospektiv bei größeren Fallzahlen auf wenige Blutentnahmezeitpunkte (z.B. bei Aufnahme und an Tag 3) und die wesentlichen Marker Nukleosomen und S100 beschränken.

6 Zusammenfassung

Bei der zerebralen Ischämie handelt es sich um die häufigste neurologische Erkrankung, die häufig mit aufwendigen Rehabilitationsmaßnahmen verbunden ist, um eine Langzeitbehinderung nach Möglichkeit zu verhindern oder zu begrenzen. Aufgrund verbesserter diagnostischer und therapeutischer Möglichkeiten, vor allem durch die Einführung von speziellen Schlaganfall-Intensiv-Einheiten (Stroke Units), hat sich die Prognose des Schlaganfalls in den letzten Jahren deutlich verbessert. Auch gibt es bereits einige klinische Scores zur Abschätzung der Langzeit-Prognose nach ischämischen Hirninfarkten.

Um Patienten, die einer intensiven Rehabilitation zur Wiedererlangung der relevanten Alltagsfunktionen bedürfen, noch besser zu identifizieren, werden dennoch zusätzliche biochemische Marker zur Prognoseeinschätzung dringend gesucht. Vor allem für die prognostische Aussagekraft der neuronalen Destruktionsmarker NSE und S100 liegen zum Teil vielversprechende Ergebnisse in der Literatur vor, allerdings haben diese Marker noch nicht Eingang in die Routinediagnostik bei Schlaganfallpatienten gefunden.

In einem umfassenden Ansatz wurde in der vorliegenden Arbeit deshalb prospektiv im Serum von insgesamt 63 Patienten mehrere laborchemische Parameter engmaschig während der ersten Woche nach Schlaganfall bestimmt und in Hinblick auf ihre diagnostische und prognostische Wertigkeit untersucht. Darunter befanden sich die neuronalen Marker NSE und S100, die unspezifischen Inflamationsparameter CRP und Leukozyten, sowie als neuen Zelltod-Marker die Nukleosomen. Dabei handelt es sich um DNA-Bruchstücke, die im Rahmen des apoptotischen und nekrotischen Zelltodes freigesetzt werden.

Für die Nukleosomen konnten charakteristische Verläufe während der ersten Woche nach zerebralem Infarkt gezeigt werden mit einem Anstieg innerhalb weniger Tage bis zum Maximum an Tag 2 bis 4 gefolgt von einem raschen Rückgang der Werte. Bei Patienten mit stärkeren neurologischen Ausfällen (Barthel-Index <50) stiegen die Werte schneller und stärker an als bei Patienten mit geringerer klinischer Symptomatik (Barthel-Index ≥ 50). Eine ähnliche Korrelation fand sich auch zwischen den Nukleosomenwerten an Tag 3 nach Symptombeginn und der Läsionsgröße. Ähnlich charakteristisch korrelierte S100 im Verlauf mit der klinischen Symptomatik und dem Infarktvolumen. Die restlichen Parameter korrelierten nicht so ausgeprägt.

Die Rekonvaleszenzfähigkeit (Prognose) wurde anhand des Barthel-Index (BI) nach 12 Monaten beurteilt. Sowohl Nukleosomen wie auch die anderen Laborparameter und die Läsionsgröße zeigten in der univariaten Analyse an mehreren Tagen der ersten Woche nach Infarkt eine hohe prognostische Wertigkeit. Auch der Barthel Score bei Aufnahme (BI(A)) hatte eine hohe prognostische Relevanz, so dass sich die Frage stellte, ob durch die Laborparameter eine zusätzliche Verbesserung der Aussage möglich sei. Die bedingte (partielle) Korrelation der Marker mit dem Outcome nach 12 Monaten unter Berücksichtigung des initialen Barthel-Index-Scores zeigte allerdings, dass nur die Nukleosomen und das S100-Protein an Tag 3 als unabhängige prognostische Parameter Bestand hatten. Bei genauerer Datenanalyse wurde zudem deutlich, dass fast alle Patienten mit initial nur geringen neurologischen Defiziten (BI(A) ≥ 50) im ersten Jahr eine vollständige Wiederherstellung der alltagsrelevanten Funktionen erreichten, so dass in dieser Subgruppe auf die zusätzliche Bestimmung von Laborparametern zur Prognoseabschätzung verzichtet werden konnte.

In der Subgruppe der Patienten mit schwereren neurologischen Defiziten (BI(A) < 50) war das Outcome hingegen sehr heterogen, so dass der Einsatz zusätzlicher prognostischer Marker sinnvoll war, insbesondere um jene Patienten mit unzureichender Rekonvaleszenz zu identifizieren, die von zusätzlichen Rehabilitationsmaßnahmen profitieren könnten. Unter dieser Maßgabe erfüllten nur noch die Nukleosomen an Tag 3 die prognostischen Kriterien. Sie detektierten etwa 53% der Patienten mit schlechtem Outcome bei einer 100-prozentigen Spezifität. Somit wurde ausgeschlossen, dass Patienten mit guter Prognose durch die Laborparameter ein schlechtes Outcome zugeschrieben wurde. Selbst unter Berücksichtigung des initialen klinischen Zustandes in dieser Subgruppe behielten die Nukleosomen ihre unabhängige prognostische Bedeutung mit einer besonders hohen Aussagekraft für Patienten mit initialen Barthel-Index zwischen 10 und 50 Punkte, deren Outcome allein klinisch schwer einzuschätzen ist.

Trotz des explorativen Charakters der Studie und der dadurch bedingten begrenzten Fallzahl zeichnet sie sich durch ihren umfassenden Ansatz aus mit der Bewertung mehrerer etablierter und neuer Laborparameter, die engmaschig während der ersten Woche nach cerebralem Infarkt erhoben, mit klinischen und radiologischen Befunden korreliert und detailliert statistisch ausgewertet wurden. Somit kann sie als Grundlage

für zukünftige prospektive Validierungsstudien dienen, die sich an größeren Fallzahlen auf wenige Marker und Blutentnahmezeitpunkte fokussieren kann.

7 Literaturverzeichnis

- Albrechtsen N, Dornreiter I, Grosse F, Kim E, Wiesmuller L und Deppert W (1999). Maintenance of genomic integrity by p53: complementary roles for activated and non-activated p53. *Oncogene* 18: 7706-17.
- Anker P (2000). Quantitative aspects of plasma/serum DNA in cancer patients. *Ann N Y Acad Sci* 906: 5-7.
- Anonymous (1998). Kap.16: Gesundheitswesen. In: *Statistisches Jahrbuch 1998*. Wiesbaden: Statistisches Bundesamt. 430-460.
- Anuk T, Assayag EB, Rotstein R, Fusman R, Zeltser D, Berliner S, Avitzour D, Shapira I, Arber N und Bornstein NM (2002). Prognostic implications of admission inflammatory profile in acute ischemic neurological events. *Acta Neurol Scand* 106: 196-9.
- Ashkenazi A und Dixit VM (1998). Death receptors: signaling and modulation. *Science* 281: 1305-8.
- Auer DP, Putz B, Gossl C, Elbel G, Gasser T und Dichgans M (2001). Differential lesion patterns in CADASIL and sporadic subcortical arteriosclerotic encephalopathy: MR imaging study with statistical parametric group comparison. *Radiology* 218: 443-51.
- Aurell A, Rosengren LE, Karlsson S, Olsson JE, Zbornikova V und Haglid KG (1991). Determination of S-100 and glial fibrillary acidic protein concentrations in cerebrospinal fluid after brain infarction. *Stroke* 22: 1254-8.
- Barone FC, Clark RK, Price WJ, White RF, Feuerstein GZ, Storer BL und Ohlstein EH (1993). Neuron-specific enolase increases in cerebral and systemic circulation following focal ischemia. *Brain Res* 623: 77-82.
- Baumgartner RW, Mattle HP und Aaslid R (1995). Transcranial color-coded duplex sonography, magnetic resonance angiography, and computed tomography angiography: methods, applications, advantages, and limitations. *J Clin Ultrasound* 23: 89-111.
- Beaulaton J(1986). Programmed cell death. Cytochemical evidence for accumulation of calcium in mitochondria and its translocation into lysosomes: X-ray microanalysis in metamorphosing insect muscles. *Histochem J* 18: 527-36.
- Bessis M (1970). Cell death. *Triangle* 9: 191-9.
- Blomquist S, Johnsson P, Luhrs C, Malmkvist G, Solem JO, Alling C und Stahl E (1997). The appearance of S-100 protein in serum during and immediately after cardiopulmonary bypass surgery: a possible marker for cerebral injury. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 11: 699-703.
- Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, Nicotera P und Lipton SA (1995). Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults

- with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 7162-6.
- Bousser MG (1999). Cerebral venous thrombosis: nothing, heparin, or local thrombolysis? *Stroke* 30: 481-3.
- Boysen G und Christensen H (2001). Early stroke: a dynamic process. *Stroke* 32: 2423-5.
- Brandt T, Thie A, Caplan LR und Hacke W (1995). Infarkte im Versorgungsgebiet der A. cerebri posterior. *Nervenarzt* 66: 267-274.
- Britton M, Carlsson A und de Faire U (1986). Blood pressure course in patients with acute stroke and matched controls. *Stroke* 17: 861-4.
- Broderick J, Brott T, Barsan W, Haley EC, Levy D, Marler J, Sheppard G und Blum C (1993). Blood pressure during the first minutes of focal cerebral ischemia. *Ann Emerg Med* 22: 1438-43.
- Brunereau L, Labauge P, Tournier-Lasserre E, Laberge S, Levy C und Houtteville JP (2000). Familial form of intracranial cavernous angioma: MR imaging findings in 51 families. French Society of Neurosurgery. *Radiology* 214: 209-16.
- Buttner T, Weyers S, Postert T, Sprengelmeyer R und Kuhn W (1997). S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke* 28: 1961-5.
- Canova CR, Courtin C und Reinhart WH (1999). C-reactive protein (CRP) in cerebrovascular events. *Atherosclerosis* 147: 49-53.
- Capes SE, Hunt D, Malmberg K, Pathak P und Gerstein HC (2001). Stress hyperglycemia and prognosis of stroke in nondiabetic and diabetic patients: a systematic overview. *Stroke* 32: 2426-32.
- Chapman AS, Rubinstein D, Hughes R, Stears JC, Earnest MP, Johnson AM, Gabow PA und Kaehny WD (1992). Intracranial aneurysms in autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 327: 916-20.
- Cotter TG, Lennon SV, Glynn JG und Martin 5J (1990). Cell death via apoptosis and its relationship to growth, development and differentiation of both tumour and normal cells. *Anticancer Res* 10: 1153-9.
- Crino PB und Henske EP (1999). New developments in the neurobiology of the tuberous sclerosis complex. *Neurology* 53: 1384-90.
- Cummings MC, Winterford CM und Walker NI (1997). Apoptosis. *Am J Surg Pathol* 21: 88-101.
- Cunningham RT, Morrow JI, Johnston CF und Buchanan KD (1994). Serum neurone-specific enolase concentrations in patients with neurological disorders. *Clin Chim Acta* 230: 117-24.
- Cunningham RT, Watt M, Winder J, McKinstry S, Lawson JT, Johnston CF, Hawkins

- SA und Buchanan KD (1996). Serum neurone-specific enolase as an indicator of stroke volume. *Eur J Clin Invest* 26: 298-303.
- Cunningham RT, Young IS, Winder J, O'Kane MJ, McKinstry S, Johnston CF, Dolan OM, Hawkins SA und Buchanan KD (1991). Serum neurone specific enolase (NSE) levels as an indicator of neuronal damage in patients with cerebral infarction. *Eur J Clin Invest* 21: 497-500.
- Darzynkiewicz Z, Juan G, Li X, Gorczyca W, Murakami T und Traganos F (1997). Cytometry in cell necrobiology: analysis of apoptosis and accidental cell death (necrosis). *Cytometry* 27: 1-20.
- Desmond DW, Moroney JT, Lynch T, Chan S, Chin SS und Mohr JP (1999). The natural history of CADASIL: a pooled analysis of previously published cases. *Stroke* 30: 1230-3.
- De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC, Hennekam RC und Pyeritz RE (1996). Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. *Am J Med Genet* 62: 417-26.
- Di Napoli M, Papa Fund Bocola V (2001). C-reactive protein in ischemic stroke: an independent prognostic factor. *Stroke* 32: 917-24.
- Di Napoli M, Papa F und Bocola V (2001). Prognostic influence of increased C-reactive protein and fibrinogen levels in ischemic stroke. *Stroke* 32: 133-8.
- Dichgans M, Mayer M, Uttner I, Bruning R, Muller-Hocker J, Rungger G, Ebke M, Klockgether T und Gasser T (1998). The phenotypic spectrum of CADASIL: clinical findings in 102 cases. *Ann Neurol* 44: 731-9.
- Dirnagl U, Iadecola C und Moskowitz MA (1999). Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 22: 391-7.
- Einhaupl KD, HCh.;Hacke, W.; Humerici, M.: Ringelstein EB. (1999). Behandlung des akuten ischamischen Insults. *Deutsches Arzteblatt* 94: A 1131-113.
- Einhaupl KM und Masuhr F (1996). [Cerebral sinus and venous thrombosis]. *Ther Umsch* 53: 552-8.
- Endres M, Namura S, Shimizu-Sasamata M, Waeber C, Zhang L, Gomez-Isla T, Hyman BT und Moskowitz MA (1998). Attenuation of delayed neuronal death after mild focal ischemia in mice by inhibition of the caspase family. *J Cereb Blood Flow Metab* 18: 238-47.
- Fadeel B, Orrenius S und Zhivotovsky B (1999). Apoptosis in human disease: a new skin for the old ceremony? *Biochem Biophys Res Commun* 266: 699-717.
- Fassbender K, Schmidt R, Schreiner A, Fatar M, Muhlhauser F, Daffertshofer M und Hennerici M (1997). Leakage of brain-originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke. *J Neurol Sci* 148: 101-5.
- Fournie GJ, Courtin JP, Laval F, Chale JJ, Pourrat JP, Pujazon MC, Lauque D und

- Carles P (1995). Plasma DNA as a marker of cancerous cell death. Investigations in patients suffering from lung cancer and in nude mice bearing human tumours. *Cancer Lett* 91: 221-7.
- Friedlander RM, Gagliardini V, Hara H, Fink KB, Li W, MacDonald G, Fishman MC, Greenberg AH, Moskowitz MA und Yuan J (1997). Expression of a dominant negative mutant of interleukin-1 beta converting enzyme in transgenic mice prevents neuronal cell death induced by trophic factor withdrawal and ischemic brain injury. *J Exp Med* 185: 933-40.
- Furlan A, Higashida R, Wechsler L, Gent M, Rowley H, Kase C, Pessin M, Ahuja A, Callahan F, Clark WM, Silver F und Rivera F (1999). Intra-arterial prourokinase for acute ischemic stroke. The PROACT II study: a randomized controlled trial. Prolyse in Acute Cerebral Thromboembolism. *JAMA* 282: 2003-11.
- Golstein P (1997). Controlling cell death. *Science* 275: 1081-2.
- Granville OJ, Carthy CM, Hunt OW und McManus BM (1998). Apoptosis: molecular aspects of cell death and disease. *Lab Invest* 78: 893-913.
- Green DR und Reed JC (1998). Mitochondria and apoptosis. *Science* 281: 1309-12.
- Grewal RP (1994). Stroke in Fabry's disease. *J Neurol* 241: 153-6.
- Guttmacher AE, Marchuk DA und White RI, Jr. (1995). Hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N Engl J Med* 333: 918-24.
- Haberl R (1998). Schlaganfall: Notbehandlung in den ersten Stunden *Der Notarzt* 14: 106-109.
- Hacke W, Brott T, Caplan L, Meier D, Fieschi C, von Kummer R, Donnan G, Heiss WD, Wahlgren NG, Spranger M, Boysen G und Marler JR (1999). Thrombolysis in acute ischemic stroke: controlled trials and clinical experience. *Neurology* 53: S3-14.
- Hagmann M (1999). How chromatin changes its shape. *Science* 285: 1200-1, 1203.
- Hajat C, Hajat S und Sharma P (2000). Effects of poststroke pyrexia on stroke outcome: a meta-analysis of studies in patients. *Stroke* 31: 410-4.
- Hamann GF, Siebler M und von Scheidt W (2002). *Schlaganfall. Klinik, Diagnostik, Therapie*. Landsberg: ecomed.
- Hamidon BB, Sapiah S, Nawawi H und Raymond AA (2004). The prognostic value of C-reactive protein (CRP) levels in patients with acute ischaemic stroke. *Med J Malaysia* 59: 631-7.
- Hara H, Friedlander RM, Gagliardini V, Ayata C, Fink K, Huang Z, Shimizu-Sasamata M, Yuan J und Moskowitz MA (1997). Inhibition of interleukin 1 beta converting enzyme family proteases reduces ischemic and excitotoxic neuronal damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 2007-12.
- Hardemark HG, Ericsson N, Kotwica Z, Rundstrom G, Mendel-Hartvig I, Olsson Y, Pahlman S und Persson L (1989). S-100 protein and neuron-specific enolase

- in CSF after experimental traumatic or focal ischemic brain damage. *J Neurosurg* 71: 727-31.
- Hengartner MO (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407: 770-6.
- Hengartner MO, Ellis RE und Horvitz HR (1992). Caenorhabditis elegans gene ced-9 protects cells from programmed cell death. *Nature* 356: 494-9.
- Holdenrieder S, Eichhorn P, Beuers U, Samtleben W, Schoenermarck U, Zachoval R, Nagel D und Stieber P (2006). Nucleosomal DNA fragments in autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1075: 318-27.
- Holdenrieder S und Stieber P (2004). Apoptotic markers in cancer. *Clin Biochem* 37: 605-17.
- Holdenrieder S, Stieber P, Bodenmuller H, Busch M, Fertig G, Furst H, Schalhorn A, Schmeller N, Untch M und Seidel O (2001). Nucleosomes in serum of patients with benign and malignant diseases. *Int J Cancer* 95: 114-20.
- Holdenrieder S, Stieber P, Bodenmuller H, Busch M, Von Pawel J, Schalhorn A, Nagel D und Seidel D (2001). Circulating nucleosomes in serum. *Ann N Y Acad Sci* 945: 93-102.
- Holdenrieder S, Stieber P, Bodenmuller H, Fertig G, Furst H, Schmeller N, Untch M und Seidel D (2001). Nucleosomes in serum as a marker for cell death. *Clin Chem Lab Med* 39: 596-605.
- Holdenrieder S, Stieber P, Chan L Y, Geiger S, Kremer A, Nagel D und Lo YM (2005). Cell-free DNA in serum and plasma: comparison of ELISA and quantitative PCR. *Clin Chem* 51: 1544-6.
- Hossmann KA (1996). Periinfarct depolarizations. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 8: 195-208.
- Iadecola C, Zhang F, Casey R, Nagayama M und Ross ME (1997). Delayed reduction of ischemic brain injury and neurological deficits in mice lacking the inducible nitric oxide synthase gene. *J Neurosci* 17: 9157-64.
- Ishiguro Y, Kato K, Ito T, Nagaya M, Yamada N und Sugito T (1983). Nervous system-specific enolase in serum as a marker for neuroblastoma. *Pediatrics* 72: 696-700.
- Jacobi C und Reiber H (1988). Clinical relevance of increased neuron-specific enolase concentration in cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta* 177: 49-54.
- Jansen PA, Schulte BP, Poels EF und Gribnau FW (1987). Course of blood pressure after cerebral infarction and transient ischemic attack. *Clin Neurol Neurosurg* 89: 243-6.
- John CE, Müller A, von Kummer R (1997). Computertomographische Diagnostik bei akuter Hirnischämie. *Radiologe* 37: 853-858.
- Jorgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO und Olsen TS (1994). Effect of blood

- pressure and diabetes on stroke in progression. *Lancet* 344: 156-9.
- Judah JO, Ahmed K und McLean AE (1965). Pathogenesis of cell necrosis. *Fed Proc* 24: 1217-21.
- Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E, Sinha AA, Natale C, Santacroce R, Di Corcia MG, Lucchese A, Dini L, Pani P, Santacroce S, Simone S, Bucci R und Farber E (2002). Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* 21: 165-70.
- Kornberg RD und Lorch Y (1999). Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 98: 285-94
- Krammer PH (2000). Apoptose. *Dt. Ärzteblatt* 97: 1752-1759.
- Krammer PH (2000). C095's deadly mission in the immune system. *Nature* 407: 789-95
- Kurtzke JF (1982). The current neurologic burden of illness and injury in the United States. *Neurology* 32: 1207-14.
- Labauge P, Laberge S, Brunereau L, Levy C und Tournier-Lasserre E (1998). Hereditary cerebral cavernous angiomas: clinical and genetic features in 57 French families. *Societe Francaise de Neurochirurgie. Lancet* 352: 1892-7.
- Lam NY, Rainer TH, Wong LK, Lam W und Lo YM (2006). Plasma DNA as a prognostic marker for stroke patients with negative neuroimaging within the first 24 h of symptom onset. *Resuscitation* 68: 71-8.
- Leist M und Jaattela M (2001). Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2: 589-98.
- Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM und Yaros MJ (1977). Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res* 37: 646-50.
- Levine AJ (1997). p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88: 323-31. Lichtenstein AV, Melkonyan HS, Tomei LO und Umansky SR (2001). Circulating nucleic acids and apoptosis. *Ann N Y Acad Sci* 945: 239-49.
- Lockshin RA und Beaulaton J (1974). Programmed cell death. *Life Sc*; 15: 1549-65.
- Lovblad KO, Laubach HJ, Baird AE, Curtin F, Schlaug G, Edelman RR und Warach S (1998). Clinical experience with diffusion-weighted MR in patients with acute stroke. *AJNR Am J Neuroradiol* 19: 1061-6.
- Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF und Richmond T J (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389: 251-60.
- Maebo A (1990). [Plasma DNA level as a tumor marker in primary lung cancer]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 28: 1085-91.
- Mahoney FI und Barthel DW (1965). Functional Evaluation: The Barthel Index. *Md*

State Med J 14: 61-5.

Majno G und Joris I (1995). Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 146: 3-15.

Malmgren R, Warlow C, Bamford J und Sandercock P (1987). Geographical and secular trends in stroke incidence. *Lancet* 2: 1196-200.

Mandel P und Metais P (1948). Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'homme. *C.R. Acad. Sci. Paris* 142: 241-243.

Marangos PJ und Schmechel DE (1987). Neuron specific enolase, a clinically useful marker for neurons and neuroendocrine cells. *Annu Rev Neurosci* 10: 269-95.

Martin RL, Lloyd HG und Cowan AI (1994). The early events of oxygen and glucose deprivation: setting the scene for neuronal death? *Trends Neurosci* 17: 251-7.

Masuhr F und Einhaupl K (1999). Treatment of ischaemic stroke. *Thromb Haemost* 82 Suppl1: 85-91.

Masuhr F und Neumann M (2005). *Neurologie*. Stuttgart: Thieme.

Masur H (2000). *Skalen und Scores in der Neurologie*. Stuttgart: Thieme.

Meier P, Finch A und Evan G (2000). Apoptosis in development. *Nature* 407: 796-801.

Missler U und Wiesmann M (1995). Measurement of S-100 protein in human blood and cerebrospinal fluid: analytical method and preliminary clinical results. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 33: 743-8.

Missler U, Wiesmann M, Friedrich C und Kaps M (1997). S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke* 28: 1956-60.

Muir KW, Weir CJ, Alwan W, Squire IB und Lees KR (1999). C-reactive protein and outcome after ischemic stroke. *Stroke* 30: 981-5.

Namura S, Zhu J, Fink K, Endres M, Srinivasan A, Tomaselli KJ, Yuan J und Moskowitz MA (1998). Activation and cleavage of caspase-3 in apoptosis induced by experimental cerebral ischemia. *J Neurosci* 18: 3659-68.

Neumann-Haefelin T, Moseley ME und Albers GW (2000). New magnetic resonance imaging methods for cerebrovascular disease: emerging clinical applications. *Ann Neurol* 47: 559-70.

Nicotera P, Leist M und Ferrando-May E (1998). Intracellular ATP, a switch in the decision between apoptosis and necrosis. *Toxicol Lett* 102-103: 139-42.

Nogawa S, Zhang F, Ross ME und Iadecola C (1997). Cyclo-oxygenase-2 gene expression in neurons contributes to ischemic brain damage. *J Neurosci* 17: 2746-55.

- O'Neill LA und Kaltschmidt C (1997). NF-kappa B: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function. *Trends Neurosci* 20: 252-8.
- Opitz P (1995). Weltprobleme. Bonn, Bundeszentrale für politische Bildung.
- Owens GP und Cohen JJ (1992). Identification of genes involved in programmed cell death. *Cancer Metastasis Rev* 11: 149-56.
- Pavlakakis SG, Phillips PC, DiMauro S, De Vivo DC und Rowland LP (1984). Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes: a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol* 16: 481-8.
- Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A und Byers PH (2000). Clinical and genetic features of Ehlers-Danlos syndrome type IV, the vascular type. *N Engl J Med* 342: 673-80.
- Persson L, Hardemark HG, Gustafsson J, Rundstrom G, Mendel-Hartvig I, Esscher T und Pahlman S (1987). S-100 protein and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system. *Stroke* 18: 911-8.
- Pisetsky DS (2004). The immune response to cell death in SLE. *Autoimmun Rev* 3: 500-4.
- Prosiegel MB, Schenk T. et al. (1996). Der erweiterte Barthel-Index (EBI)- eine neue Skala zur Erfassung von Fähigkeitsstörungen bei neurologischen Patienten. *Neurol Rehabil* 1: 7-13.
- Pulsinelli WA, Levy DE, Sigsbee B, Scherer P und Plum F (1983). Increased damage after ischemic stroke in patients with hyperglycemia with or without established diabetes mellitus. *Am J Med* 74: 540-4.
- Rainer TH, Wong KS, Lam W, Lam NY, Graham CA und Lo YM (2007). Comparison of plasma beta-globin DNA and S-100 protein concentrations in acute stroke. *Clin Chim Acta* 376: 190-6.
- Rainer TH, Wong LK, Lam W, Yuen E, Lam NY, Metreweli C und Lo YM (2003). Prognostic use of circulating plasma nucleic acid concentrations in patients with acute stroke. *Clin Chem* 49: 562-9.
- Reith J, Jorgensen HS, Pedersen PM, Nakayama H, Raaschou HO, Jeppesen LL und Olsen TS (1996). Body temperature in acute stroke: relation to stroke severity, infarct size, mortality, and outcome. *Lancet* 347: 422-5.
- Rhodes D (1997). Chromatin structure. The nucleosome core all wrapped up. *Nature* 389: 231, 233.
- Riede UN und Schaefer HE (1999). *Allgemeine und spezielle Pathologie*. Stuttgart: Thieme.
- Ringpfeil F, Lebwohl MG, Christiano AM und Uitto J (2000). Pseudoxanthoma elasticum: mutations in the MRP6 gene encoding a transmembrane ATP-binding cassette (ABC) transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 6001-6.

- Rizzo JF, 3rd und Lessell S (1994). Cerebrovascular abnormalities in neurofibromatosis type 1. *Neurology* 44: 1000-2.
- Robertson JO, Fadeel B, Zhivotovsky B und Orrenius S (2002). 'Centennial' Nobel Conference on apoptosis and human disease. *Cell Death Differ* 9: 468-75.
- Ronning OM und Guldvog B (1999). Should stroke victims routinely receive supplemental oxygen? A quasi-randomized controlled trial. *Stroke* 30: 2033-7.
- Ruscher K, Isaev N, Trendelenburg G, Weih M, Iurato L, Meisel A und Dirnagl U (1998). Induction of hypoxia inducible factor 1 by oxygen glucose deprivation is attenuated by hypoxic preconditioning in rat cultured neurons. *Neurosci Lett* 254: 117-20.
- Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JO, Feinberg WM, Goldstein LB, Gorelick PB, Howard G, Kittner SJ, Manolio TA, Whisnant JP und Wolf PA (1997). American Heart Association Prevention Conference. IV. Prevention and Rehabilitation of Stroke. Risk factors. *Stroke* 28: 1507-17.
- Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM und Venkatachalam MA (1999). Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease. *Am J Med* 107: 489-506.
- Schaarschmidt H, Prange HW und Reiber H (1994). Neuron-specific enolase concentrations in blood as a prognostic parameter in cerebrovascular diseases. *Stroke* 25: 558-65.
- Schielke GP, Yang GY, Shivers BO und Betz AL (1998). Reduced ischemic brain injury in interleukin-1 beta converting enzyme-deficient mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 18: 180-5.
- Searle J, Kerr JF und Bishop CJ (1982). Necrosis and apoptosis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. *Pathol Annu* 17 Pt 2: 229-59.
- Shapiro B, Chakrabarty M, Cohn EM und Leon SA (1983). Determination of circulating DNA levels in patients with benign or malignant gastrointestinal disease. *Cancer* 51: 2116-20.
- Siegenthaler W (2001). *Klinische Pathophysiologie*. Stuttgart: Thieme.
- Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, del Zoppo GJ, Hallenbeck JM, Rothwell NJ, Hopkins SJ und Tyrrell PJ (2004). Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. *BMC Neurol* 4: 2.
- Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, Memoli VA, Bzik DJ und Yao SL (1994). Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 3: 67-71.
- Steinberg R, Scarna H und Pujol JF (1984). Neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid: a possible indicator of neuronal damage in kainic acid lesions. *Neurosci*

- Lett* 45: 147-50.
- Steiner T, Hennes HJ, Ringleb P, Bertram M und Hacke W (1999). Zeitbasiertes Management des akuten Schlaganfalles *Notfall- und Rettungsmedizin* 2: 400-407.
- Steinman CR (1975). Free DNA in serum and plasma from normal adults. *J Clin Invest* 56: 512-5.
- Steller H (1995). Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 267: 1445-9.
- Strahl BD und Allis CD (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature* 403: 41-5.
- Stroun M, Maurice P, Vasioukhin V, Lyautey J, Lederrey C, Lefort F, Rossier A, Chen XQ und Anker P (2000). The origin and mechanism of circulating DNA. *Ann N Y Acad Sci* 906: 161-8.
- Thompson CB (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 267: 1456-62.
- Toni D, De Michele M, Fiorelli M, Bastianello S, Camerlingo M, Sacchetti ML, Argentino C und Fieschi C (1994). Influence of hyperglycaemia on infarct size and clinical outcome of acute ischemic stroke patients with intracranial arterial occlusion. *J Neurol Sci* 123: 129-33.
- Ucker DS (1997). Death and dying in the immune system. *Adv Pharmacol* 41: 179-218.
- Unal-Cevik I, Kilinc M, Can A, Gursoy-Ozdemir Y und Oalkara T (2004). Apoptotic and necrotic death mechanisms are concomitantly activated in the same cell after cerebral ischemia. *Stroke* 35: 2189-94.
- von Kummer R und Weber J (1997). Brain and vascular imaging in acute ischemic stroke: the potential of computed tomography. *Neurology* 49: S52-5.
- Wagener C (1999). *Molekulare Onkologie. Entstehung und Progression maligner Tumoren*. Stuttgart: Thieme.
- Warner HR, Hodes RJ und Pocinki K (1997). What does cell death have to do with aging? *J Am Geriatr Soc* 45: 1140-6.
- Webb SJ, Harrison DJ und Wyllie AH (1997). Apoptosis: an overview of the process and its relevance in disease. *Adv Pharmacol* 41: 1-34.
- Wiesmann M, Missler U, Gottmann D und Gehring S (1998). Plasma S-100b protein concentration in healthy adults is age- and sex-independent. *Clin Chem* 44: 1056-8.
- Wiesmann M und Seidel G (2000). Ultrasound perfusion imaging of the human brain. *Stroke* 31: 2421-5.
- Winbeck K, Poppert HI, Etgen T, Conrad B und Sander O (2002). Prognostic relevance of early serial C-reactive protein measurements after first ischemic

- stroke. *Stroke* 33: 2459-64.
- Woods DB und Vousden KH (2001). Regulation of p53 function. *Exp Cell Res* 264: 56-66.
- Wunderlich MT, Ebert AD, Kratz T, Goertler M, Jost S und Herrmann M (1999). Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke* 30: 1190-5.
- Wyllie AH (1986). What is apoptosis? *Histopathology* 10: 995-8.
- Wyllie AH (1987). Apoptosis: cell death in tissue regulation. *J Pathol* 153: 313-6.
- Wyllie AH (1987). Apoptosis: cell death under homeostatic control. *Arch Toxicol Suppl* 11: 3-10.
- Wyllie AH (1994). Death from inside out: an overview. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 345: 237-41.
- Wyllie AH, Kerr JF und Currie AR (1980). Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 68: 251-306.
- Zimmer DB, Cornwall EH, Landar A und Song W (1995). The S100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res Bull* 37: 417-29.

8 Abkürzungsverzeichnis

ACA	Arteria cerebri anterior
ACM.....	Arteria cerebri media
ACP	Arteria cerebri posterior
AICA	Arteria cerebelli inferior anterior
AMPA.....	alpha-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
BI	Barthel-Index
BI(A).....	Barthel-Index bei Aufnahme
BI(E).....	Barthel-Index bei Entlassung
BI(F).....	Barthel-Index nach 12 Monaten
Ca	Kalzium
CK.....	Kreatinkinase
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CTA.....	CT-Angiographie
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DSA	Digitale Substraktionsangiographie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
GCS	Glasgow Coma Scale
IP3	Inositoltriphosphat-3
IZR	Intrazellulärraum
K	Kalium
Leukos	Leukozyten
MRA.....	MR-Angiographie
MRT	Magnetresonanztomographie
Na	Natrium
NIHSS.....	National Institute of Health Stroke Scale
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NSE	Neuronen-spezifische Enolase
Nuk	Nukleosomen
PAF	Platelet activating factor
PICA	Arteria cerebelli inferior posterior
PTT	partielle Thromboplastinzeit
rtPA.....	recombinant tissue plasminogen activator
S100	S100-Protein
SCA	Arteria cerebelli superior
SSS.....	Skandinavian Stroke Scale
TCD	Transkranielle Dopplersonographie
TNF-alpha.....	Tumor-Nekrose Faktor alpha
TUNEL.....	Terminale Desoxyribosyl-Transferase mediated dUTP Nick End Labeling

9 Danksagung

Diese vorliegende Arbeit wurde am Institut für Klinische Chemie, (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel) in enger Zusammenarbeit mit der Stroke Unit der Neurologischen Klinik und Poliklinik (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. T. Brandt), beide im Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität, Campus Großhadern, durchgeführt.

Mein Dank gilt:

- Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Seidel für die Überlassung des Themas und die Gewährleistung der Arbeitsmöglichkeiten am Institut für Klinische Chemie
- Frau Dr. med. Petra Stieber für die Betreuung der Arbeit, insbesondere für die fachliche Ausbildung und Förderung und die menschliche Unterstützung.
- Herrn Dr. med. Stefan Holdenrieder für die fortwährende Unterstützung und Geduld sowie die vielen lehr- und hilfreichen Diskussionen
- Frau Dr. rer. nat. Dorothea Nagel für die hilfreiche Beratung und fachliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten
- Prof. Dr. med. Gerhard Hamann für die gute Zusammenarbeit, die die Durchführung der Studie und die engmaschigen Kontrolle der Blutparameter erst ermöglicht hat, sowie die fachliche Beratung und Unterstützung hinsichtlich klinisch relevanter Fragen
- Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe „Onkologische Labordiagnostik“ sowie des Bereichs Protein- und Immunchemie für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung beim Erlernen technischer Grundlagen.
- Meiner Familie und meinen Freunden für die ihre Geduld und verständnisvolle Unterstützung.

10 Lebenslauf

Vorname **Sandra Manuela**
Name **Geiger**
Geburtsdatum 1. März 1979
Geburtsort München

Schulbildung

1985-1989 Volksschule München
1989-1998 Theresien-Gymnasium, München
Abschluß: **Allgemeine Hochschulreife**

Hochschulbildung

1998-2005 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
August 2000 **Ärztliche Vorprüfung**
August 2001 **1. Staatsexamen**
März 2004 **2. Staatsexamen**
2004-2005 **Praktisches Jahr**

- an der Neurologischen Klinik und Poliklinik, Klinikum der Universität München, Campus Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. T. Brandt)
- an der Medizinischen Klinik und Poliklinik III, Klinikum der Universität München, Campus Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. W. Hiddemann)
- an der Chirurgischen Klinik und Poliklinik, Klinikum der Universität München, Campus Innenstadt (Direktor: Prof. Dr. med. W. Mutschler)

Oktober 2005 **3. Staatsexamen** und Approbation
seit November 2005 Assistenzärztin in der Medizinischen Klinik und Poliklinik III, Klinikum der Universität München, Campus Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. W. Hiddemann)