

Aus dem
Institut für Schlaganfall- und Demenzforschung (ISD)
Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Martin Dichgans

Einfluss von Komorbiditäten auf zirkulierende Level von
Neurofilament light chain bei Schlaganfallpatienten

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

vorgelegt von
Aslı Gizem Kaya Wenig
aus
Bakırköy, Türkei
Jahr
2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Martin Dichgans
Mitberichterstatter: PD Dr. Markus Pfirrmann
Prof. Dr. Frank A. Wollenweber
Prof. Dr. Eva Hoster

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Dr. med. Steffen Tiedt

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 09.11.2023

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen, die mich bei dieser Dissertation unterstützt haben, meinen Dank aussprechen. Allen voran bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Martin Dichgans für die Möglichkeiten an der CIRCULAS-Studie mitzuwirken sowie an seinem Institut zu promovieren. Auch gilt mein besonderer Dank meinem Betreuer Herrn Dr. Dr. med. Steffen Tiedt, der mich von Anfang an mit Rat und Tat unterstützt, mit anhaltender Geduld betreut und in den herausfordernden Phasen, die das Verfassen einer Dissertation mit sich bringt, ermutigt hat. Außerdem danke ich meinen Mitdoktorandinnen Julia Böck und Hanna Kollmeier für die gemeinsame Arbeit und die gegenseitige Unterstützung. Die Forschungsarbeit wäre nicht möglich und so erfolgreich gewesen, ohne die tatkräftige Unterstützung der Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter am Institut für Schlaganfall- und Demenzforschung am Klinikum Großhadern. Ich erinnere mich gerne an die schöne Zeit zurück und bedanke mich für die kollegiale Zusammenarbeit. Ausdrücklich danke ich auch den Patienten und ihren Angehörigen, die sich trotz der zumeist schwierigen, persönlichen Umstände bereit erklärt haben an dem Forschungsprojekt teilzunehmen.

Es hat sich gezeigt, dass die lange Zeit bis zur Finalisierung der Dissertation auch persönliche Weiterentwicklungen mit sich gebracht hat. Ich danke meinen früheren und aktuellen Kolleginnen und Kollegen am Klinikum Passau und an der München Klinik Harlaching für die gemeinsame Zusammenarbeit im Rahmen meiner Weiterbildung. Nicht zuletzt bedanke ich mich außerordentlich bei meinem engen familiären Umfeld, meinen Eltern Semra und Kazim, meinem Bruder Hasan sowie meinem Ehemann Christoph für den steten Glauben, die Motivation und die umfangreiche Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	VIII
1 Einleitung	1
2 Theoretischer Hintergrund	2
2.1 Schlaganfall.....	2
2.1.1 Definition.....	2
2.1.2 Epidemiologie	3
2.1.3 Klassifikation der Subtypen.....	4
2.1.4 Pathophysiologie	5
2.1.5 Risikofaktoren.....	7
2.1.6 Symptome eines Schlaganfalls.....	11
2.1.7 Patientenversorgung, Diagnostik und Therapie in der Akutphase	11
2.1.8 Folgen, Prognose und Kosten	15
2.2 NfL als Biomarker in der Neurologie.....	16
2.2.1 Begriffliche Grundlagen und Einsatz von Biomarkern in der Medizin	16
2.2.2 Neurofilament light chain	18
2.2.3 Stand der Forschung	20
2.3 Zusammenfassung und weitere Fragestellung.....	22
3 Studiendesign und Methodik.....	24
3.1 Rekrutierung der Probandengruppen	24
3.2 Datenerhebung.....	26
3.3 Statistische Auswertung	28
4 Empirische Analyse.....	32
4.1 Deskriptive Analyse der Populationseigenschaften.....	32
4.2 Bivariate Korrelationsanalyse der Probandengruppen	36
4.2.1 Korrelationsanalyse der Gruppe Schlaganfall.....	36
4.2.2 Korrelationsanalyse der Gruppe Stroke Mimics.....	39
4.2.3 Korrelationsanalyse der Kontrollgruppe.....	42

Verzeichnisse

4.2.4	Korrelationsanalyse mit wiederholten Blutproben im zeitlichen Verlauf ..	44
4.2.5	Zusammenfassung der bivariaten Korrelationsanalyse	46
4.3	Multiple lineare Regressionsanalyse	50
4.3.1	Modellierungsansatz und Vorgehen der Modellentwicklung	50
4.3.2	Modellentwicklung für die Gruppe Schlaganfall	53
4.3.3	Modellanalyse mit den Vergleichsgruppen	59
4.3.4	Modellanalyse mit wiederholten Blutproben im zeitlichen Verlauf.....	60
4.3.5	Zusammenfassung der multiplen linearen Regressionsanalyse	62
5	Diskussion.....	65
5.1	Interpretation der Ergebnisse	65
5.2	Limitationen und weitere Forschungsfelder	70
6	Kurzzusammenfassung.....	72
7	Literaturverzeichnis	73
	Eidesstattliche Versicherung	88

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Überprüfung der Normalverteilung mit Dichtefunktion und QQ-Plot	28
Abbildung 2: Übersicht des Studiendesigns und Analysefelder der statistischen Auswertung.....	29
Abbildung 3: Demographische Struktur der Probandengruppen	32
Abbildung 4: Korrelation von NfL-Werten mit stetigen klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Schlaganfall.....	37
Abbildung 5: Korrelation von NfL-Werten mit ordinalskalierten klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Schlaganfall.....	38
Abbildung 6: Korrelation von NfL-Werten mit nominalskalierten klinischen Parametern bei Patienten mit Schlaganfall.....	39
Abbildung 7: Korrelation von NfL-Werten mit stetigen klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Stroke Mimics.....	40
Abbildung 8: Korrelation von NfL-Werten mit ordinalskalierten klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Stroke Mimics.....	41
Abbildung 9: Korrelation von NfL-Werten mit nominalskalierten klinischen Parametern bei Patienten mit Stroke Mimics.....	41
Abbildung 10: Korrelation von NfL-Werten mit stetigen klinischen und laborchemischen Parametern bei Probanden der Kontrollgruppe	42
Abbildung 11: Korrelation von NfL-Werten mit ordinalskalierten klinischen und laborchemischen Parametern bei Probanden der Kontrollgruppe	43
Abbildung 12: Korrelation von NfL-Werten mit nominalskalierten klinischen Parametern bei Probanden der Kontrollgruppe	43
Abbildung 13: NfL-Werte der untersuchten Proben in der longitudinalen Kohorte....	44
Abbildung 14: Vorgehen der Modellentwicklung der multiplen linearen Regressionsanalyse	52
Abbildung 15: Interaktionen ausgewählter Parameter mit den NfL-Leveln	53
Abbildung 16: Ergebnis der Parameterselektion.....	55
Abbildung 17: Plots zur visuellen Prüfung der Regressionsvoraussetzungen für das MfSP (n=174).....	57
Abbildung 18: Kalibrierungsdiagramme der Probandengruppen auf Basis des MfSP	59
Abbildung 19: Kalibrierungsdiagramme wiederholter Blutproben bei Schlagfall auf Basis des MfSP _L	61

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Messwerte von Neurofilament light chain in den Probandengruppen	33
Tabelle 2: Zusammenfassung der stetigen Variablen.....	34
Tabelle 3: Zusammenfassung der ordinalskalierten Variablen	35
Tabelle 4: Zusammenfassung der nominalskalierten Vorerkrankungen	35
Tabelle 5: Korrelationsanalyse mit wiederholten Blutproben im zeitlichen Verlauf ...	45
Tabelle 6: Zusammenfassung der bivariaten Korrelationsanalyse	48
Tabelle 7: Ergebnisse der Modellentwicklung für die Gruppe Schlaganfall	58
Tabelle 8: Ergebnisse der Modellschätzung des MfSP _L für den longitudinalen Blutprobenvergleich	62

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria (deutsch: Arterie, Schlagader)
AIC-Wert	Akaike-Informationskriterium
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
ApoA1	Apolipoprotein A1
ApoB	Apolipoprotein B
ASPECTS	The Alberta Stroke Program Early CT Score
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
CADASIL	Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (deutsch: zerebrale autosomal-dominante Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie)
CIRCULAS	Circulating Biomarkers in Acute Stroke
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease (deutsch: chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DALYs	Disability-Adjusted Life Years
DBS	Dry bloodspot
DM	Diabetes mellitus
DWI	Diffusion weighted imaging (deutsch: diffusionsgewichtete Bilderstellung)
F-Aktin	Filamentöse Aktin
G-Aktin	Globuläre Aktin
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GIT	Gastrointestinaler Trakt
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Hb1Ac	Hämoglobin A1c
HDL	High-Density Lipoprotein (deutsch: Lipoprotein hoher Dichte)
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
ICB	Intrazerebrale Blutung
INR	International Normalized Ratio
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAE	Lungenarterienembolie
LDH	Laktat-Dehydrogenase

Verzeichnisse

LDL	Low-Density Lipoprotein (deutsch: Lipoprotein geringer Dichte)
MfSP	Modell für Schlaganfallpatienten
MfSP _L	Modell für Schlaganfallpatienten im longitudinalen Vergleich
MI	Myokardinfarkt
MR-A	Magnetresonanzangiographie
MRT	Magnetresonanztomographie
na	Non available
NfL	Neurofilament light chain
NfL (log)	Logarithmierte (natürlicher Logarithmus) NfL-Wert
NHLBI	National Heart, Lung, and Blood Institute
NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale
OCSP	The Oxfordshire Community Stroke Project
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PTT	partielle Thromboplastinzeit
Rheuma.	Rheumatische Erkrankungen
rtPA	Recombinant tissue plasminogen activator (deutsch: Gewebespezifischer Plasminogenaktivator)
SAB	Subarachnoidalblutung
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SDH	Subdural Hämatom
SD-Erkrankungen	Erkrankungen der Schilddrüse
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
Simoa™	Single Molecule Array Technologie
SVT	Sinusvenenthrombose
MORGAM	MOnica Risk, Genetics, Archiving and Monograph
TIA	Transitorische ischämische Attacke
TNF	Tumornekrosefaktor
TOAST	Trial of ORG 10172 in acute stroke treatment
TVT	Tiefe Venenthrombose
VHF	Vorhofflimmern
VIF	Varianzinflationsfaktor
WHO	World Health Organization
Willis	Circulus arteriosus Willisii
Z.n.	Zustand nach

1 Einleitung

Schlaganfälle sind ein großes Volksgesundheitsproblem. Der Schlaganfall ist weltweit die zweithäufigste Todesursache und Überlebende haben nicht selten bleibende Defizite. Die Betroffenen, die Angehörigen und die Gesellschaft werden durch den Schlaganfall enorm belastet, da der Schlaganfall zu einer chronischen Behinderung führen kann, die die Teilhabe am alltäglichen Leben sowie die Rückkehr an den Arbeitsplatz einschränkt und in der Folge die Lebensqualität der Betroffenen beeinflusst. Mit dem zunehmenden Verständnis über die Pathophysiologie sowie den darauf aufbauenden Fortschritten in der Diagnostik, Therapie und Versorgung des Schlaganfalls sinkt die Mortalität. Allerdings lässt sich eine Steigerung der absoluten Fallzahlen als Folge der Bevölkerungszunahme und Alterung der Population beobachten. Aus diesem Grund ist es notwendig kontinuierlich an neuen Methoden zur Erkennung, Behandlung und Nachversorgung des Schlaganfalls zu forschen.

Die Quantifizierung zirkulierender Level von Neurofilament light chain (NfL) könnte zu einer Verbesserung der Versorgung von Schlaganfallpatienten führen. Das Protein NfL ist ein Bestandteil des Zytoskeletts von Nervenzellen und spiegelt bei Freisetzung eine Schädigung der Zellen wider. Die Höhe der NfL-Level in der Cerebrospinalflüssigkeit und im Serum korrelieren. Die Konzentration im Serum ist jedoch ca. 40-fach geringer als in der Cerebrospinalflüssigkeit [1]. Die neuartige *Single-Molecule Array* Technologie (Simoa™) quantifiziert NfL-Level mit einer bis zu 126-fach erhöhten Sensitivität, sodass heute verlässliche und valide Messungen aus Blutproben möglich sind. Es ist bekannt, dass mit dem Älterwerden sowie bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen, einschließlich traumatischen Hirnverletzungen, Multiple Sklerose sowie neurodegenerativen Erkrankungen erhöhte NfL-Level auftreten. Die Level weisen zudem einen Zusammenhang mit der Krankheitsaktivität, dem Therapieansprechen sowie der Prognose auf. Damit präsentiert sich NfL als ein zukunftsversprechender Biomarker in der Neurologie.

Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass die NfL-Level auch bei Schlaganfallpatienten erhöht sind, mit der Schwere der Symptomatik und Infarktgröße korrelieren sowie den klinischen Outcome vorhersagen. Um NfL als Laborparameter zur Versorgung der Schlaganfallpatienten einsetzen zu können, muss der Einfluss von demographischen Faktoren, Vorerkrankungen sowie des Konsums von Alkohol und Tabak auf die NfL-Level geklärt werden. Diese Information ist essenziell für die Interpretation der Ergebnisse, um im klinischen Alltag Entscheidungen abzuleiten. In der vorliegenden Arbeit werden diese Zusammenhänge untersucht.

2 Theoretischer Hintergrund

Nachfolgend wird der wissenschaftliche Hintergrund erläutert, um ein einheitliches Verständnis über das Krankheitsbild Schlaganfall und den Biomarker NfL sowie dessen potenziellen Einsatzes in der Neurologie und insbesondere bei Schlaganfallpatienten zu erzielen. Die Erkenntnisse der Literaturanalyse werden zusammengefasst und Forschungsfragen für die empirische Untersuchung formuliert.

2.1 Schlaganfall

Der ischämische Schlaganfall bildet das Untersuchungsfeld der Arbeit. Nach einer allgemeingültigen Definition, der Darstellung der epidemiologischen Fallzahlen und der Klassifikation der Subtypen erfolgt die detaillierte Erläuterung des medizinischen Hintergrunds, der Risikofaktoren, Symptome, Behandlungsschritte sowie Auswirkungen und Kosten des ischämischen Schlaganfalls.

2.1.1 Definition

Gemäß der Definition der *World Health Organisation* (WHO) handelt es sich bei einem Schlaganfall um ein sich rasch entwickelndes Krankheitsbild mit den klinischen Zeichen einer fokalen oder globalen Störung der zerebralen Funktion, welche länger als 24 Stunden oder bis zum Tod andauert und nicht auf andere symptomklärende, nicht-vaskulären Ursachen zurückzuführen ist [2]. Im Jahr 2013 haben die *American Heart Association* und die *American Stroke Association* die Definition des Schlaganfalls aktualisiert und erweitert, sodass diese einen Infarkt des zentralen Nervensystems, eine intrazerebrale Blutung oder eine subarachnoidale Blutung umfasst. Ein Infarkt des zentralen Nervensystems ist demnach ein ischämiebedingter Zelltod im Gehirn, im Rückenmark oder in der Retina, welcher entweder auf pathologischen, bildgebenden oder sonstigen objektivierbaren Nachweisen der ischämischen Schädigung in einer definierten vaskulären Distribution basiert oder sich mit länger als 24 Stunden andauernden, beziehungsweise bis zum Tod anhaltenden, klinischen Symptomen präsentiert und bei dem andere Ursachen ausgeschlossen werden. Gemäß dieser Definition werden durch zerebrale Sinus und Venenthrombose verursachte Infarkte und Blutungen ebenfalls als Schlaganfall eingeordnet [3]. Der Schlaganfall ist von der transitorisch ischämischen Attacke (TIA), die vergleichbare Symptome wie der Schlaganfall verursacht und zur gleichen Krankheitsgruppe zählt, abzugrenzen. Easton et al. definieren TIA als eine durch eine Ischämie des zentralen Nervensystems, des Rückenmarks oder der Retina bedingte, vorübergehende Episode neurologischer Dysfunktion ohne akuten Infarkt [4]. Trotz dieser Abgrenzung umfasst die Definition des Schlaganfalls ein breites Spektrum an Ursachen und Krankheitsbildern, sodass epidemiologisch ein großer Bevölkerungsanteil betroffen ist.

2.1.2 Epidemiologie

Die Auswirkungen des Schlaganfalls auf die globale und nationale Gesamtbevölkerung werden in den nachfolgenden epidemiologischen Daten beschrieben. Laut der WHO sind Schlaganfälle im Jahr 2019 nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache gewesen. Dabei sind weltweit ca. 6 Mio. Menschen an den Folgen eines Schlaganfalls verstorben [5]. Der Schlaganfall führt jedoch nicht zwangsläufig zum Tod, sondern kann auch in einer Behinderung münden. Um die Krankheitslast aus Mortalität und Morbidität zu quantifizieren, werden behinderungsbereinigte Lebensjahre, sogenannte Disability-Adjusted Life Years (DALYs), als Summe der nach vorzeitigem Todeseintritt in Folge einer Krankheit verlorenen Lebensjahre und der mit Krankheit oder Behinderung gelebten Lebensjahre verrechnet [6]. Die Daten der Global Burden of Disease Studie 2016, die die globale Krankheitsbelastung reflektiert, bestätigen den Schlaganfall als weltweit zweithäufigste Ursache der DALYs auf globaler Basis [7]. Die Relevanz lässt sich für die Zukunft als hoch prognostizieren. Obwohl die altersstandardisierte Schlaganfallrate zwischen 1990 und 2015 eine fallende Tendenz aufweist, hat die absolute Zahl der von einem Schlaganfall betroffenen Menschen aufgrund der Bevölkerungszunahme und Alterung der Population zugenommen [8, 9].

Im Vergleich zu den globalen Fallzahlen haben nach Angaben des statistischen Bundesamtes im Jahr 2016 innerhalb Deutschlands 258.480 Patienten den Verschluss und die Stenose zerebraler und präzerebraler Arterien mit resultierendem Hirninfarkt (ICD-Code I63,-) erlitten. Davon sind 1.734 Patienten gestorben. Im gleichen Zeitraum haben 50.003 Patienten eine Subarachnoidalblutung (ICD-Code I60), eine intrazerebrale Blutung (ICD-Code I61) oder einen nicht als Blutung oder Infarkt bezeichneten Schlaganfall (ICD-Code I64) erlitten [10, 11]. Für ein engmaschiges Monitoring und Analysieren der Epidemiologie des Schlaganfalls in Deutschland werden regionale Register eingesetzt. Ein Beispiel hierfür ist das bevölkerungsbezogene Erlanger Schlaganfall-Register, in welches seit 1994 alle stationär und ambulant behandelten Schlaganfallpatienten aus dem Stadtgebiet Erlangen prospektiv und standardisiert aufgenommen werden. Im Zeitraum von 1992 bis 1994 hat die jährliche Inzidenz eines erstmaligen Schlaganfalls bei 182 pro 100.000 Einwohner in allen Altersgruppen gelegen. Die Analyse zeigt zudem eine steigende Inzidenz mit zunehmendem Alter. Beispielsweise hat in der Altersgruppe 35-45 Jahre die Inzidenz 4 pro 100.000 Einwohner betragen, während zum Vergleich in der Altersgruppe über 84 Jahre 2.117 pro 100.000 Einwohner von einem erstmaligen Schlaganfall betroffen gewesen sind [12]. Es ist anzunehmen, dass diese Altersabhängigkeit vor dem Hintergrund des steigenden Durchschnittsalters der Bevölkerung zukünftig zu höheren Fallzahlen führt.

2.1.3 Klassifikation der Subtypen

Der Schlaganfall kann als ein heterogenes Krankheitsbild mit ca. 150 bekannten Ursachen betrachtet werden [13]. Die ätiologische Einordnung ist für die akute Therapie, die optimale Einstellung der Risikofaktoren sowie die Sekundärprophylaxe entscheidend [14]. Zur groben Orientierung wird der Schlaganfall daher in folgende Gruppen unterteilt [15]:

- Ischämischer Schlaganfall
- Hämorrhagischer Schlaganfall (Intrazerebrale Blutung)
- Subarachnoidalblutung
- Zerebrale Sinus- und Venenthrombose

Mit einem Anteil von ca. 80% aller Schlaganfälle ist der ischämische Schlaganfall die am häufigsten auftretende Untergruppe, gefolgt vom hämorrhagischen Schlaganfall mit ca. 10%–15% und der Subarachnoidalblutung mit ca. 5%. In den übrigen Fällen wird der Schlaganfall durch andere Ursachen, zu denen unter anderem auch die zerebrale Sinus- und Venenthrombose gezählt wird, verursacht [16]. Nachfolgend wird im weiteren Verlauf der Arbeit auf den ischämischen Schlaganfall eingegangen.

Der ischämische Schlaganfall lässt sich nach unterschiedlichen Klassifikationssystemen, die in der Regel entweder auf dem ätiologischen oder phänotypischen Ansatz beruhen, in weitere Subtypen kategorisieren. Die Oxfordshire Community Stroke Project Classification (OCSP) stellt einen dritten Ansatz zur Subtypisierung des ischämischen Schlaganfalles dar. Hierbei werden die Patienten nach klinischer Symptomatik in anatomisch definierte Subgruppen unterteilt [17, 18]. Ein Beispiel für ätiologische Klassifikationssysteme ist die TOAST-Klassifikation. Seit ihrer Entwicklung im Rahmen der Studie „Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment“ (TOAST) im Jahr 1993 zählt diese zu den meistgenutzten Klassifikationen [14]. Sie zeichnet sich durch eine Einteilung des ischämischen Schlaganfalls in die fünf Kategorien Makroangiopathie, kardiale Embolie, Mikroangiopathie, andere definierte Ätiologien und unklare Ätiologie aus. Die Einteilung basiert auf der klinischen Symptomatik, der zerebralen Bildgebung mittels CT oder MRT, der Zusatzdiagnostik mittels Echokardiographie, der Duplex-Bildgebung der extrakraniellen Arterien oder der Arteriographie sowie Laboruntersuchungen. Die Kategorie Makroangiopathie erfasst die Patienten, bei denen es aufgrund einer signifikanten Stenose von über 50% oder eines Verschlusses eines hirnversorgenden Gefäßes zu einem kortikalen, zerebellären, subkortikalen oder im Hirnstamm lokalisierten Infarkt mit einer Größe von über 1,5 cm kommt. Klinisch zeigt sich bei den Patienten eine kortikale und zerebrale Dysfunktion. Die Kategorie kardiale Embolie enthält die Patienten mit zur vorherigen Kategorie ähnlicher Infarktlokalisierung und -größe sowie begleitendem klinischen Bild in Folge von arteriellen Verschlüssen, welche auf eine kardiale

Emboliequelle, z.B. Vorhofflimmern, zurückzuführen sind. Im Gegensatz dazu beinhaltet die Kategorie Mikroangiopathie die Patienten, die klinisch ein lakunäres Syndrom präsentieren und bildgebend einen subkortikalen oder im Hirnstamm lokalisierten Infarkt mit einer Größe bis maximal 1,5 cm aufweisen. Die Einstufung in die Kategorie ist lediglich möglich, sofern außerdem eine kardiale Emboliequelle sowie eine mehr als 50%ige Stenose der ipsilateralen Arterie ausgeschlossen werden können. In die Kategorie andere Ätiologie werden die Patienten mit Schlaganfall der seltenen Genesen, z.B. Gefäßdissektionen, Vaskulitiden, Gerinnungsstörungen oder hämatologische Erkrankungen, eingestuft. Abschließend werden die Patienten, bei denen trotz umfangreicher Abklärung keine wahrscheinliche Ätiologie identifiziert werden kann, zur Kategorie unklare Ätiologie gezählt. Die Kategorie umfasst zudem die Patienten, bei denen zwei oder mehrere mögliche Schlaganfallursachen festgestellt werden [19].

Alle Klassifikationssysteme haben nicht nur wissenschaftliche Relevanz, sondern auch in der Praxis eine hohe Bedeutung. Mithilfe dieser Systeme können die Schlaganfalldiagnostik und -behandlung standardisiert sowie die Therapie und die sekundäre Prophylaxe optimiert werden. Zudem ist aufgrund der unterschiedlichen Re-Ischämieraten eine bessere Prognose des Krankheitsverlaufs möglich [13, 17]. Hierzu ist es notwendig, die Pathophysiologie des Schlaganfalls zu verstehen, um aus diesen Erkenntnissen die geeigneten Diagnose-, Behandlungs- und Therapiemaßnahmen abzuleiten.

2.1.4 Pathophysiologie

Da beim ischämischen Schlaganfall das klinische Ausscheidungsbild in Abhängigkeit von dem betroffenen Gefäß und dem betroffenen Hirnbereich variiert, gilt es nachfolgend die arterielle Blutversorgung des Gehirnes zu beschreiben, um anschließend die Auswirkungen der Ischämie zu diskutieren. Das Gehirn wird aus der beidseitigen Arteria (A.) carotis interna sowie der beidseitigen A. vertebralis mit Blut versorgt. Die beidseitig angelegte A. carotis interna gibt die Äste A. ophtalmica und A. communicans posterior ab und teilt sich anschließend in die zwei großen Hirnarterien A. cerebri anterior und A. cerebri media auf. Diese Gefäße bilden den vorderen Hirnkreislauf. Dabei versorgt die A. cerebri anterior den präfrontalen und prämotorischen Kortex, den Gyrus pre- und postcentralis sowie Teile der Capsula interna und den vorderen Teil des Striatums. Die linke und rechte A. cerebri anterior wird durch die A. communicans anterior miteinander verbunden. Daneben versorgt die A. cerebri media das basale Vorderhirn, das Striatum, Teile des Pallidums, die Capsula interna, die Inselrinde sowie wesentliche Teile der Frontal-, Parietal- und Temporallappen. Die rechte und linke A. vertebralis vereinen sich auf Höhe des Pons zur A. basilaris, aus der an der Basis des Gehirns die A. superior cerebelli ihren

Theoretischer Hintergrund

Ursprung nimmt. Anschließend gabelt sich die A. basilaris in die rechte und linke A. cerebri posterior. Die Anastomose zwischen der A. cerebri posterior und der zuvor genannten A. carotis interna wird durch die A. communicans posterior geformt. Die aus A. vertebralis, A. basilaris und A. cerebri posterior entstammenden Arterien bilden den hinteren Hirnkreislauf und versorgen die hintere Hirnrinde, das Mittelhirn und den Hirnstamm. Die vorderen und hinteren Hirnkreisläufe werden über die Anastomosenerterien A. communicans anterior und posterior verbunden und bilden den Circulus arteriosus cerebri, der auch Circulus arteriosus Willisii (Willis) genannt wird. Der Willis-Kreislauf weist klinisch eine hohe Bedeutung auf, da dieser als Verbindung der hirnversorgenden Gefäße bei einem Ausfall einer der großen Arterien die Chance auf ein Aufrechterhalten der Blutversorgung erhöht [20, 21].

Pathophysiologisch stellt der Schlaganfall kein situatives Ereignis, sondern einen Prozess dar. Nach einem akuten arteriellen Verschluss kommt es zu einer Kaskade von pathophysiologischen, biochemischen Prozessen, die eine transiente oder persistierende Hirnschädigung verursachen. Zu diesen Prozessen zählen beispielsweise Exzitotoxizität, Peri-Infarkt-Depolarisation, Inflammation und Apoptose. Das Überleben des Hirngewebes ist bei einem Durchblutungsmangel oder einer Durchblutungsstörung von der Intensität und Dauer der Ischämie, der Verfügbarkeit des kompensatorischen Kollateralblutflusses, der Gewebetemperatur, dem Blutzuckerspiegel sowie anderen physiologischen Faktoren abhängig [22]. Als Folge der abnehmenden Durchblutung wird die Proteinsynthese in den Neuronen gestört. Zudem finden eine anaerobe Glykolyse statt und Neurotransmitter werden freigesetzt. Der Energiestoffwechsel und die damit einhergehende Membrandepolarisation werden beeinträchtigt [23]. Der Beginn der Ischämie und der Verlust der Sauerstoffversorgung resultieren in einem gestörten Energiestoffwechsel und der Verminderung von Adenosintriphosphat (ATP) und Phosphokreatinin. Die anaerobe Glykolyse und die Verminderung von ATP verursachen eine Senkung des intrazellulären pH-Wertes [22]. Bei Energiemangel werden die Neuronen und Glia-Zellen depolarisiert [24]. Als Folge kommt es zu einem Ca^{2+} -Ionen-Zufluss, der die Depolarisation der Zelle verstärkt. Die exzitatorischen Aminosäuren werden in den extrazellulären Raum freigesetzt und die energieabhängige Glutamat-Wiederaufnahme wird gestört. Das führt zu einer verlängerten Aktivierung der Membran-Glutamatrezeptoren und einer weiteren Ca^{2+} -Zunahme [25]. Die Calcium-Ionen spielen eine Rolle für die Neurotoxizität von Glutamat [26]. Durch Ionenkanäle strömen Natrium- und Chlorid-Ionen ins Neuron [27]. Diesen Ionen folgt Wasser passiv in das Neuron und verursacht Ödeme, die die Durchblutung weiter beeinträchtigen und den intrakraniellen Druck erhöhen [22]. Die undicht gewordene Mitochondrienmembran und die Calcium-Überlast in den Mitochondrien führen zur Störung des Energiestoffwechsels in der Zelle und zum Membranversagen [28]. In

der Folge wird Cytochrom C aus den Mitochondrien freigesetzt und löst eine Apoptose aus [29, 30]. Die durch die Ischämie aktivierten Astrozyten, Mikroglia, Leukozyten und Endothelzellen produzieren Zytokine [22, 31], die Leukozyten anziehen und die Produktion von Adhäsionsrezeptoren auf Leukozyten und Endothelzellen stimulieren. Die Leukozyten fördern durch ihre toxischen Nebenprodukte, ihre phagozytische Wirkung und die ausgelöste Immunreaktion die Infarktgröße [22]. Der durch die Produktion von freien Radikalen auftretende, oxidative und nitrative Stress wirkt beim Zelltod mit [26]. Zudem führen zytotoxische und vasogene Ödeme sowie metabolische Azidose zu einer Nekrose [26].

2.1.5 Risikofaktoren

Das Auftreten des ischämischen Schlaganfalls, der zu den oben beschriebenen Prozessen auf zellulärer Ebene führt, ist allgemein auf verschiedene Risikofaktoren zurückzuführen.

In Bezug auf die Primär- und Sekundärprophylaxe des Schlaganfalls spielt die Identifikation der Risikofaktoren eine bedeutsame Rolle [32]. Die Risikofaktoren lassen sich in nicht beeinflussbare Risikofaktoren, wie das Alter, das Geschlecht, die ethnische Zugehörigkeit oder die Genetik, und beeinflussbare Risikofaktoren, wie arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Herzrhythmusstörung, Hyperlipidämie, Nikotinabusus, Lebensstil, psychosoziale Faktoren, Alkoholabusus sowie Inflammation und Infektion einteilen [32]. Circa 90% der globalen Schlaganfälle sind auf modifizierbare Risikofaktoren zurückzuführen, sodass durch eine Optimierung dieser Risikofaktoren mehr als drei Viertel der darauf zurückzuführenden, globalen Schlaganfallbelastung vermieden werden könnte [33]. Nachfolgend werden die Risikofaktoren erläutert.

Nicht beeinflussbare Risikofaktoren:

- **Alter:** Mit zunehmendem Alter steigt die Prävalenz des Schlaganfalls an. Beispielsweise betrug die durchschnittliche Prävalenz des Schlaganfalls zwischen 2013 und 2016 in den Vereinigten Staaten in der Altersgruppe 20-39 Jahre ca. 0,9%, während sie in der Altersgruppe 40-59 Jahre bei ca. 3,9% und in der Altersgruppe 60-79 Jahre bei ca. 11,9% lag. Bei über 80-Jährigen lag die Prävalenz bei ca. 24,9% [34].
- **Geschlecht:** Der Einfluss des Geschlechts als Risikofaktor für Schlaganfall ist altersabhängig. Frauen im prämenopausalen Alter haben im Vergleich zu gleichaltrigen Männern weniger Schlaganfälle. Nach der Menopause nimmt die Prävalenz und Inzidenz unter Frauen zu [35]. Eine in 18 Ländern durchgeführte Studie hat ergeben, dass sich das Schlaganfallrisiko bei Männern mit jedem Lebensjahr um 10% und bei Frauen um 9% erhöht [36]. Trotz der höheren altersspezifischen Inzidenz unter Männern erleiden mehr Frauen einen

Schlaganfall. Dies liegt an der höheren Lebenserwartung und der höheren Inzidenz bei Frauen im weit fortgeschrittenen Lebensalter [37].

- **Ethnische Zugehörigkeit:** Epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass die ethnische Abstammung die Schlaganfallinzidenz beeinflusst. In der *The Northern Manhattan Stroke Study* zur Analyse der Schlaganfälle in Nordmanhattan wird unter afroamerikanischen Amerikanern eine 2,4-fach höhere Schlaganfall-Inzidenz nachgewiesen als unter kaukasischen Amerikanern. Die Inzidenz unter hispanischen Amerikanern ist doppelt so hoch wie unter kaukasischen Amerikanern [38]. In der asiatischen Bevölkerung ist die Inzidenz höher als in der kaukasischen Population [39]. Außerdem zeigt die Prävalenz anderer Risikofaktoren eine Variabilität unter afroamerikanischen, kaukasischen und hispanischen Amerikanern [40].
- **Genetik:** Erbliche Faktoren beeinflussen das Schlaganfallrisiko [32]. Eine positive Familienanamnese für Schlaganfall erhöht das Schlaganfallrisiko des Nachwuchses [41]. In der Ätiologie vieler als Schlaganfallrisikofaktoren anerkannter Erkrankungen, wie Bluthochdruck, Diabetes Mellitus und Hyperlipidämie, spielen neben den umwelt- und verhaltensbedingten Faktoren auch genetische Aspekte eine große Rolle [42]. Außerdem werden einige erbliche Erkrankungen, wie die zerebrale autosomal dominante Arteriopathie mit subkortikalen Infarkten und Leukoenzephalopathie (CADASIL), das Marfan-Syndrom, die Neurofibromatose Typ 1 und 2 sowie das Morbus Fabry, mit einem erhöhten Schlaganfallrisiko in Verbindung gebracht [42].

Beeinflussbare Risikofaktoren:

- **Arterielle Hypertension:** Ein erhöhter Blutdruck ist sowohl für den ischämischen Schlaganfall als auch für die intrazerebrale Blutung ein wichtiger Risikofaktor [43]. Den Ergebnissen der MORGAM Studie folgend ist der Anstieg des Blutdrucks um 10 mmHg mit einer Zunahme des Schlaganfallrisikos um 28% bei Männern und 25% bei Frauen assoziiert [36]. Eine effiziente Therapie der arteriellen Hypertension verringert das Schlaganfallrisiko. Entsprechend profitieren auch die Patienten mit prähypertensiven Werten von einer antihypertensiven Therapie und weisen ein niedrigeres Schlaganfallrisiko auf [32, 44].
- **Diabetes mellitus:** Ein weiterer beeinflussbarer Risikofaktor für Schlaganfall ist Diabetes mellitus. Eine Meta-Analyse der wissenschaftlichen Beiträge deutet darauf hin, dass sich beim Vorhandensein des Diabetes mellitus das Schlaganfallrisiko um das 2-fache erhöht. Bezüglich des Auftretens von Schlaganfällen ist ein positiver Zusammenhang mit erhöhten Nüchtern glukosewerten festgestellt worden [45]. Die Therapie von Diabetes

mellitus reduziert nicht nur das Risiko eines initialen Schlaganfalls, sondern beugt auch dem Auftreten erneuter Schlaganfälle vor [46].

- **Herzrhythmusstörung:** Im Vorhandensein von Vorhofflimmern erhöht sich das Risiko für einen Schlaganfall um das 5-fache. Die Patienten mit Herzversagen weisen ein 4-fach erhöhtes Risiko für Schlaganfall auf [47].
- **Hyperlipidämie:** Der Zusammenhang zwischen dem Schlaganfallrisiko und Dyslipidämie ist von dem Schlaganfalltyp und von der Lipidsubfraktion abhängig. Erhöhte LDL-Cholesterinspiegel sind ein Risikofaktor für das Auftreten des ischämischen Schlaganfalls. Erhöhte HDL-Cholesterinwerte wirken dagegen protektiv. Erhöhte HDL-Spiegel und niedrige LDL-Spiegel sind mit einem erhöhten Risiko für den hämorrhagischen Schlaganfall verbunden [32, 48, 49]. Das Verhältnis von ApoB zu ApoA1 korreliert positiv mit dem Schlaganfallrisiko [49].
- **Nikotinabusus:** Nikotinabusus führt zu einem ca. 2- bis 4-fachen Anstieg des Schlaganfallsrisikos [50]. Das Risiko für den Schlaganfall korreliert mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag [49]. Nicht nur ein aktiver Nikotinabusus, sondern auch das Passivrauchen ist mit einem erhöhten Schlaganfallrisiko verbunden [51].
- **Physische Inaktivität, Ernährung, Adipositas und Lebensstil:** Es existiert eine negative Korrelation zwischen der physischen Aktivität und dem Schlaganfallrisiko [76, 1, 14, 15, 122]. Zum Beispiel wird in der *The Northern Manhattan Stroke Study* ein Mangel an körperlicher Aktivität als ein modifizierbarer Risikofaktor für Schlaganfall bei über 80-Jährigen identifiziert [52]. Entsprechend ist auch Übergewicht mit einem Anstieg der Schlaganfallinzidenz verbunden [53–55]. In der Studie INTERSTROKE wurde eine positive Korrelation zwischen dem Taillen-Hüft-Verhältnis und dem ischämischen Schlaganfall festgestellt [49]. Ergänzend spielt die Ernährungsweise als zerebrovaskulärer Risikofaktor eine zunehmende Rolle. Eine mediterrane Diät mit extra nativem Olivenöl oder Nüssen reduziert bei Personen mit hohem kardiovaskulärem Risiko die Inzidenz der kardiovaskulären Ereignisse [56]. Ein hoher Salzkonsum steht mit einer erhöhten Schlaganfallinzidenz in Verbindung [57]. Eine schwedische Studie weist zudem eine negative Korrelation zwischen dem Obst- und Gemüsekonsum und dem Schlaganfall nach [58].
- **Psychosoziale Faktoren:** Es besteht ein positiver Zusammenhang zwischen dem Schlaganfall und Depressionen sowie psychosozialem Stress, beispielsweise am Arbeitsplatz, bei belastenden Lebensereignissen oder unter besonderen Lebensumständen [59, 60].

- **Alkoholkonsum und Drogenabusus:** Die bereits genannte INTERSTROKE-Studie zeigt auch einen Zusammenhang zwischen dem Alkoholkonsum und dem ischämischen Schlaganfall in Abhängigkeit von der Konsummenge. Während der Konsum von 1-30 Getränken pro Monat mit einem niedrigen Risiko für den ischämischen Schlaganfall verbunden ist, weisen insbesondere die Probanden mit einem Konsum von über 30 Getränken pro Monat oder sogenannte Rauschtrinker im Vergleich zu Probanden, die niemals Alkohol zu sich genommen haben oder den Konsum abgesetzt haben, ein höheres Risiko für den ischämischen Schlaganfall auf [49]. Ebenso ist der Abusus von Drogen, wie Kokain oder Amphetaminen, mit einem erhöhten Risiko für den ischämischen Schlaganfall verbunden [61].
- **Inflammation und Infektion:** Entzündungen und Infektionen werden mit einem erhöhten Schlaganfallrisiko in Verbindung gebracht [32]. In einer Meta-Analyse zeigte sich eine positive Korrelation des C-reaktiven Proteins (CRP) mit dem Schlaganfallrisiko [62].

Basierend auf den nachgewiesenen Korrelationen zwischen den Faktoren und dem Risiko eines Schlaganfalls kommt den Methoden zur standardisierten Messung und Bewertung der Risikofaktoren eine hohe Bedeutung zu. Ein Beispiel hierzu ist der Framingham Risk Score. Die zugrundeliegende *Framingham-Heart-Study* ist eine longitudinale Kohortenstudie, die unter Leitung des US-amerikanischen National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), auch bekannt unter dem früheren Namen National Heart Institute, im Jahr 1948 mit dem Ziel Risikofaktoren zu kardiovaskulären Krankheiten zu identifizieren gestartet worden ist. Die Studie ist bis heute nicht abgeschlossen und läuft aktuell mit der Rekrutierung der dritten Generation weiter [63]. Im Rahmen der Studie sind das Alter, der Bluthochdruck, die Adiposität, der Nikotinabusus, ein erhöhter Cholesterinspiegel, die Hypertrophie des linken Ventrikels sowie Diabetes mellitus als kardiovaskuläre Risikofaktoren identifiziert worden [64]. Außerdem hat die Studie gezeigt, dass das gleichzeitige Auftreten mehrerer Risikofaktoren das Risiko erhöht [65]. Das gewonnene Wissen hat zu multifaktoriellen Risikoformulierungen für eine Berechnung des Risikos, dass in einem bestimmten Zeitraum allgemeine koronare Herzkrankheiten auftreten werden, geführt. Damit können die Individuen mit erhöhten kardiovaskulären Risikofaktoren identifiziert und die Krankheitsprävention gesteuert werden [65]. Unter Anwendung des *Framingham Stroke Risk Profile* lässt sich durch die Kombination der Risikofaktoren Alter, Geschlecht, systolischer Blutdruck, Einnahme von Anti-Hypertensiva, Vorhandensein oder Fehlen einer linksventrikulären Hypertrophie sowie Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Raucherstatus, Vorhofflimmern und Diabetes mellitus das Risiko für Schlaganfall in den nächsten 10 Jahren berechnen [66].

2.1.6 Symptome eines Schlaganfalls

Die klinische Manifestation eines Schlaganfalls ist ein Krankheitsbild, das aus akut auftretenden fokale-neurologischen Defiziten besteht. Abhängig von den betroffenen, hirnversorgenden Arterien und der davon versorgten Hirnregion variiert die Symptomatik [67]. Die unzureichende Durchblutung der A. carotis interna kann kontralaterale Paresen, Sensibilitäts-, Seh- sowie Sprachstörungen verursachen. Sehstörungen sind eine direkte Folge der Minderversorgung der Retina über die A. ophthalmica, während Sprachstörungen auftreten können, wenn die linke Hemisphäre betroffen ist. Im Falle einer Durchblutungsstörung der A. cerebri anterior kann es insbesondere in den unteren Extremitäten zu einer kontralateralen schlaffen Parese sowie zu Sensibilitätsstörungen kommen. Auch können Harninkontinenz, Antriebsminderung und Persönlichkeitsveränderungen auftreten. Eine Mangel-durchblutung der A. cerebri media kann sich mit einer kontralateralen, oft kopf- und armbetonten Parese, einer Sensibilitätsstörung im Sinne einer Hypästhesie, einer Blickdeviation sowie, wenn die linke Hemisphäre betroffen ist, einer globalen Aphasie, Alexie und Agraphie manifestieren. Wenn die A. cerebri posterior nicht genügend durchgeblutet wird, können visuelle Ausfälle, wie Skotome, Hemi- oder Quadrantenanopsie, oder Thalamussyndrome, wie Bewusstseinsverlust oder Schmerzsyndrome, auftreten. Eine Durchblutungsstörung im vertebrobasilären Bereich kann Schwindel, Ohrgeräusche, Gleichgewichts- und Sehstörungen oder Vigilanzminderung verursachen. Beim vollständigen Verschluss der A. basilaris wird der Hirnstamm nicht ausreichend versorgt. Dies kann zum Tod führen [20]. Um den oben beschriebenen Defiziten entgegenzuwirken, haben in der Akutphase die schnelle Diagnostik und Behandlung des Schlaganfalls eine große Bedeutung.

2.1.7 Patientenversorgung, Diagnostik und Therapie in der Akutphase

Bei Schlaganfall handelt es sich um einen medizinischen Notfall. Wie das Motto „time is brain“ betont, tritt die Nervenschädigung bzw. der Nervenverlust nach einem Schlaganfall rasch auf. Aus diesem Grund sind eine schnelle Diagnostik und Therapie erforderlich. Außerdem sind die Therapiemöglichkeiten mit Thrombolyse und mechanischer Thrombektomie nur innerhalb eines begrenzten Zeitraums anwendbar [68, 69].

Wenn der Verdacht auf einen Schlaganfall besteht, sollen die Symptome schnell erkannt und unmittelbar darauf reagiert werden. Eine Erhebung der notwendigen Informationen durch die Rettungsdienste, der Transport mit Vorankündigung ins Zielkrankenhaus, die Sicherung und Feststellung der Vitalparameter sowie die umgehende Weitergabe dieser Informationen an den weiterbehandelnden Arzt in der Klinik sind in der Prähospitalphase besonders wichtig [70]. Im Krankenhaus sollen in erster Linie eine zeiteffiziente und gezielte Anamneseerhebung, eine körperliche

Theoretischer Hintergrund

Untersuchung sowie die Feststellung und Sicherung der Vitalwerte erfolgen. Eine präzise Medikamentenanamnese spielt insbesondere bei der Einnahme von Nicht-Vitamin-K-abhängigen oralen Antikoagulanzen eine wichtige Rolle, weil die Routinelaborverfahren diese Medikamentenspiegel nicht sicher bestimmen können. Für die körperliche Untersuchung kann eine formale Schlaganfall-Skala, wie der Schlaganfall-Score nach dem National Institutes of Health (NIHSS) verwendet werden, um eine standardisierte und vereinfachte neurologische Untersuchung hinsichtlich der therapie relevanten Aspekte zu gewährleisten [70].

Eine sichere klinische Abgrenzung eines ischämischen von einem hämorrhagischen Schlaganfall ist nicht möglich. Die bildgebenden Verfahren dienen in erster Linie dem Ausschluss eines hämorrhagischen Schlaganfalls. Zudem kann die Bildgebung zur Lokalisierung des Infarktes und Identifikation des Gefäßverschlusses eingesetzt werden sowie zusätzliche Informationen über die Ätiologie sowie das Vorhandensein und die Größe des rettenden Gewebes liefern [70, 71]. Dies dient auch dazu, Stroke Mimics, wie Tumore oder Subduralhämatome auszuschließen [72], sodass eine Indikation zur Thrombolyse oder mechanischen Thrombektomie gestellt werden kann [70, 71].

Im Jahr 1981 haben Astrup et al. die Penumbra als das Gewebe mit abfallender elektrischer Aktivität im Ischämiegebiet, welches gleichzeitig einen anhaltenden Energiestoffwechsel und transmembrane Potenziale sowie gute Chancen zur Heilung hat, definiert [73]. Dieses Gewebe ist infarktgefährdet, wenn die Durchblutung nicht rechtzeitig wiedergewährleistet wird. Als Infarktkern bezeichnet man das Gewebe, das als Folge der Durchblutungsstörung irreversibel geschädigt worden ist. Die Darstellung eines Mismatches zwischen dem Perfusionsdefizit und der Diffusionsstörung ermöglicht die Identifizierung der Penumbra, deren Rettung das Ziel der rekanalisierenden Therapien ist. Basierend auf der Darstellung des Mismatches können die Patienten, die potentiell von einer Thrombolyse oder mechanischen Thrombektomie profitieren können, identifiziert werden und die Therapien im erweiterten Zeitfenster für einen individuellen Heilversuch genutzt werden [71].

Im Vergleich der bildgebenden Verfahren kommt am häufigsten die Computertomographie zum Einsatz, da die Methode einen schnellen und zuverlässigen Ausschluss eines hämorrhagischen Schlaganfalls ermöglicht sowie die notwendige Technologie den höchsten Verbreitungs- und Verfügbarkeitsgrad aufweist. In der Bildgebung mittels Computertomographie können frühestens zwei Stunden nach Symptombeginn die Infarktfrühzeichen erkannt werden. Potenzielle Infarktfrühzeichen sind eine Hyperdensität der A. cerebri media, ein fokaler

Theoretischer Hintergrund

Dichteaussgleich zwischen grauer und weißer Substanz sowie ein fokales Verstärken der Rindenfurchen.

Unter Einsatz des Alberta Stroke Program Early Computed Tomographic Score (ASPECTS) kann die Ausdehnung der Infarktfrühzeichen bewertet werden, um das Risiko für einen größeren Infarkt und eine ungünstige Prognose zu beurteilen [74, 75]. Eine erweiterte Diagnostik mittels CT-Angiographie ermöglicht die visuelle Darstellung des Gefäßverschlusses und liefert zusätzliche Informationen über den Gefäßstatus, wie Dissektionen, die die Therapiestrategie beeinflussen. Mit der CT-Perfusion kann die Penumbra dargestellt werden. Die CT mit Angiographie und Perfusion weist gegenüber der MRT mehrere Nachteile, wie die Strahlenbelastung, eine geringe Aussagekraft bezüglich der Ischämien im hinteren Stromgebiet und der lakunären Infarkte sowie kontrastmittelgebundene Risiken, wie beispielsweise eine nephrotoxische Wirkung oder allergische Reaktionen, auf [71].

Eine weitere Methode zur bildgebenden Schlaganfalldiagnostik ist die Magnetresonanztomographie (MRT). MRT mit *diffusion weighted imaging* (DWI)-Sequenzen ermöglicht innerhalb von Minuten nach dem Beginn der Ischämie die Darstellung der von der Ischämie betroffenen Areale mit Diffusionsstörung. Außerdem können im Gegensatz zum CT das hintere Stromgebiet und die lakunären Infarkte besser dargestellt werden. Mit der Magnetresonanztomographie (MR-A) erfolgt die Gefäßdarstellung und die gemessenen Perfusionssequenzen dienen zur Mismatch-Identifizierung. Außerdem liefert das Infarktverteilungsmuster im MRT zusätzliche Informationen über die Schlaganfallätiologie. Zum Beispiel deutet der Nachweis von in mehreren Stromgebieten lokalisierten Infarkten auf eine kardio-embolische Genese oder die Darstellung einer isolierten Läsion im Nucleus lentiformis auf eine mikroangiopathische Genese hin. Im Vergleich zur CT weist die MRT einige Einschränkungen und Nachteile, wie eine begrenzte Verfügbarkeit der Technologien in den Krankenhäusern, eine längere Untersuchungsdauer, Patientenkontraindikationen gegen Metalle im Körper oder bei Platzangst sowie den Einsatz von Gadolinium auf [71].

Die Behandlung der Schlaganfallpatienten in der Akutphase und im weiteren Verlauf besteht aus der Basistherapie, der rekanalisierenden Therapie, der Sekundärprophylaxe, der Vorbeugung und Behandlung der Komplikationen sowie der früh eingesetzten Rehabilitationsmaßnahmen. Es wird empfohlen, dass Schlaganfallpatienten in sogenannten Stroke Units behandelt werden. Die Stroke Unit ist eine spezialisierte und standardisierte *Intermediate Care Station*, in welcher die Behandlung der Schlaganfallpatienten durch ein interdisziplinäres Team aus Ärzten, Pflegekräften, Physio- und Ergotherapeuten, Logopäden sowie Sozialarbeitern sichergestellt wird [75]. Die Basistherapie umfasst die Überwachung des

Theoretischer Hintergrund

neurologischen Status und der Vitalparameter, wie Blutdruck, respiratorische Funktion, Blutzucker, Körpertemperatur, Herzrhythmus sowie Flüssigkeit- und Elektrolythaushalt, und die Behandlung möglicher Abweichungen [75–77]. Zu den rekanalisierenden Therapien zählen die thrombolytische Therapie und die mechanische Thrombektomie. Die thrombolytische Therapie wird durch eine intravenöse Zugabe des rekombinanten Gewebe-Plasminogenaktivators, dem sogenannten recombinant tissue plasminogen activator (rtPA) durchgeführt. Mehrere klinische Studien zeigen ein verbessertes klinisches Outcome von Schlaganfallpatienten nach Anwendung der thrombolytischen Therapie [78–81]. Der Wirkeffekt dieser Therapie ist zeitabhängig, sodass der möglichst schnelle Einsatz der Therapie notwendig ist [79]. In Deutschland ist diese Therapie für die Behandlung des ischämischen Schlaganfalles innerhalb eines 4,5-stündigen Zeitfensters zugelassen und mögliche Kontraindikationen müssen abgewogen werden [76]. Dabei wird zwischen absoluten und relativen Kontraindikationen zur systemischen Lysetherapie unterschieden. Zu den absoluten Kontraindikationen zählen intrakranielle Blutungen, die Einnahme von oralen Antikoagulanzen (z.B. INR > 1,7) oder niedermolekularem Heparin in therapeutischer Dosierung, eine nicht kontrollierbare arterielle Hypertonie, schwere Blutzuckerentgleisungen (Hypoglykämie < 50 mg/dl oder Hyperglykämie > 400 mg/dl), Thrombozytopenie (< 100.000/mm³), innerhalb der letzten 3 Monaten stattgefundenene schwere Schädel-Hirn-Traumata oder Schlaganfälle, Gerinnungsstörungen sowie ein bereits ausgedehnter demarkierter Infarkt. Zu den relativen Kontraindikationen gehören eine milde Symptomatik (NIHSS ≤ 4) oder eine schwere Symptomatik (NIHSS ≥ 20), innerhalb der letzten 21 Tagen stattgefundenene gastrointestinale oder urogenitale Blutungen, eine große Operation oder ein Myokardinfarkt innerhalb der letzten 3 Monaten, die Punktion eines nicht komprimierbaren Gefäßes innerhalb der letzten 7 Tage oder ein epileptischer Anfall bei Onset [82, 83]. Bei ausgewählten Patienten mit radiologischem Nachweis der Penumbra, beispielweise über die Mismatch-Bildgebung, kann die rtPA-Therapie ab bekanntem Symptombeginn oder ab Mitte der Schlafdauer bei Wake-Up Stroke in einem 4,5- bis 9-stündigen, erweiterten Zeitfenster angewendet werden [84–87]. Die mechanische Thrombektomie kommt für die Schlaganfallpatienten mit klinisch relevantem, neurologischem Defizit in Kombination mit dem bildgebenden Nachweis des Verschlusses einer großen hirnversorgenden Arterie zum Einsatz. Das Verfahren kann bei Verschlüssen der vorderen Zirkulationsgebiete in einem Zeitfenster von 6 Stunden zwischen Symptombeginn und Leistenpunktion angewendet werden. Obwohl für die Verschlüsse der Arteria basilaris keine eindeutige Zeitgrenze besteht, ist von einer höheren Zeitobergrenze auszugehen [76]. Nach einem Nachweis über den Umfang des rettbarer Gewebes kann dieses Verfahren zudem innerhalb eines erweiterten

Zeitfensters von bis zu 24 Stunden nach Symptombeginn angewendet werden [85, 88, 89]. Durch den Einsatz der oben genannten Therapien und Maßnahmen der standardisierten Patientenversorgung gilt es nicht nur die Todesrate, sondern auch die übrigen Schlaganfallfolgeerscheinungen und -belastungen zu reduzieren.

2.1.8 Folgen, Prognose und Kosten

Trotz der Durchführung von Rehabilitationsmaßnahmen direkt nach einem Schlaganfall können bei den Patienten langfristige neurologische Defizite, die vom Schweregrad des Schlaganfalls und von der betroffenen Hirnregion abhängig sind, bleiben. Häufige Defizite sind Schwäche der Extremitäten, Urininkontinenz, Dysphagie, Bewusstseinsstörung und kognitive Defizite [90]. Die Residuen nach dem Insult können die Mobilität des Patienten beeinträchtigen, zur Hilfsbedürftigkeit führen sowie die Teilhabe am alltäglichen und sozialen Leben einschränken. Alle Effekte beeinflussen die Lebensqualität der Patienten nachhaltig [91].

Ob die Patienten nach einem Schlaganfall ins Arbeitsleben zurückkehren können, spielt eine große Rolle für deren eigenes Wohlbefinden und ihre Lebenszufriedenheit [92]. Nicht alle Patienten sind in der Lage nach einem Schlaganfall ihre berufliche Arbeit wieder aufzunehmen. In einer schwedischen Kohortenstudie betrug diese Rate 74,7% [93]. Auch emotionale Störungen, wie Fatigue, Wut und Aggression, emotionale Labilität, Angstzustände oder Depression können nach einem Schlaganfall auftreten [94]. In einer Literaturanalyse nach Paolucci variiert die Häufigkeit der Depression nach Schlaganfall zwischen 12% und 72% [95]. Ebenso treten häufig kognitive Defizite und Demenz nach einem Schlaganfall auf [96, 97]. Auch zählt der Schlaganfall zu den häufigsten Ursachen für Epilepsie [98].

Nach einem Schlaganfall oder TIA besteht das Risiko von erneuten zerebralen ischämischen Insulten. Die Wahrscheinlichkeit ist innerhalb des ersten Monats sowie allgemein innerhalb des ersten Jahres besonders hoch [99, 100]. Eine Metaanalyse von 16 Studien ergab ein kumulatives Schlaganfall-Rezidivrisiko von ca. 3,1% innerhalb von 30 Tagen, 11,1% innerhalb von einem Jahr, 26,4% innerhalb von 5 Jahren und 39,2% innerhalb von 10 Jahren [101].

Hinsichtlich der Kosten der Schlaganfallbelastung ist basierend auf einer Datenanalyse des Erlangen Stroke Projekts bekannt, dass im Jahr 2004 die Kosten des ersten Schlaganfalls innerhalb des ersten Jahres pro Patienten durchschnittlich 18.517 Euro betragen haben und mit 37% größtenteils für Rehabilitationsmaßnahmen ausgegeben worden sind. Des Weiteren hat die Berechnung der durchschnittlichen Lebenszeitkosten pro Schlaganfallpatient eine Gesamtsumme von 43.129 Euro ergeben. Wenn diese Daten über die Jahre 2006 bis 2025 projiziert werden, lassen sich bei einer Prognose von 3,4 Millionen neuer ischämischer Schlaganfälle erwartbare Gesamtkosten für eine lebenslange Therapie

von insgesamt 108,6 Mrd. Euro berechnen. Es ist möglich, dass die Kostenprognose angesichts der Überlebensrate nach einem Schlaganfall in der Zukunft übertroffen wird [102].

Angesichts dieser Prognose der steigenden Fallzahl der Schlaganfälle sind weitere Studien nötig, um die Schlaganfallversorgung und die Prognoseeinschätzung zu verbessern. Entsprechend ist der Einsatz neuer Methoden, die beispielsweise auf der Anwendung von Biomarkern beruhen, von hoher Bedeutung.

2.2 NfL als Biomarker in der Neurologie

Nachfolgend wird ein Überblick über die begrifflichen Grundlagen und den allgemeinen Einsatz von Biomarkern in der Medizin gegeben, NfL als Untersuchungsgegenstand dieser Arbeit vorgestellt und der aktuelle Forschungsstand über dessen Einsatzmöglichkeiten als potenzieller Biomarker bei Schlaganfall erläutert.

2.2.1 Begriffliche Grundlagen und Einsatz von Biomarkern in der Medizin

Die Arbeitsgruppe *Biomarkers Definitions Working Group* der US-amerikanischen *National Institutes of Health* definiert biologische Marker beziehungsweise Biomarker als ein Merkmal, welches als Indikator zur objektiven Messung und Bewertung normaler biologischer oder pathogener Prozesse oder pharmakologischer Reaktionen auf eine therapeutische Intervention verwendet wird [103]. Es existieren unterschiedliche Arten von Biomarkern, wie molekulare, histologische, radiographische oder physiologische Merkmale. Daraus folgt, dass nicht nur *in vitro* gemessene molekulare Stoffe, sondern auch Parameter, wie der Blutdruck oder die Sauerstoffsättigung, oder Ergebnisse von bildgebenden Verfahren, beispielweise ein radiologischer Nachweis der Tumorschrumpfung, als Biomarker eingesetzt werden können [104].

Heutzutage weisen Biomarker einen breiten Einsatzbereich auf, der die nachfolgende Einteilung ermöglicht [104]:

- **Diagnostische Biomarker:** Diese dienen zur Feststellung einer Krankheit bzw. eines Zustandes oder zur Unterteilung in bestimmte Subtypen einer Krankheit. Zum Beispiel hat im Jahre 2015 die europäische Gesellschaft für Kardiologie in der Leitlinie zur Behandlung von akuten Koronarsyndromen bei Patienten ohne persistierende ST-Strecken-Hebung einen Algorithmus, der auf der Anwendung von hochsensitivem kardialen Troponin zur Diagnosestellung oder zum Ausschluss eines Nicht-ST-Hebungsinfarkts basiert, publiziert [104, 105].
- **Monitoring-Biomarker:** Ein Biomarker kann mit wiederholten Messungen zur Überwachung einer Krankheit oder eines medizinischen Zustandes sowie zur Prüfung des Ansprechens auf eine therapeutische Intervention oder einen

Umweltfaktor verwendet werden. Beispielsweise wird unter Bestimmung des *International Normalized Ratio* (INR) die antikoagulatorische Therapie mit Marcumar überwacht und die Dosis eingestellt [104, 106].

- **Pharmakodynamische Biomarker:** Diese deuten auf die biologische Reaktion einer Person auf ein medizinisches Produkt oder einen Umweltstoff hin. Exemplarisch weist die Reduktion des Serum-LDH-Spiegels den Erfolg der Medikation mit Statinen nach [104, 107].
- **Prädiktive Biomarker:** Die prädiktiven Biomarker ermöglichen die Identifikation von Personen, bei denen das Auftreten einer positiven oder negativen Wirkung eines medizinischen Produkts oder Umweltstoffs wahrscheinlicher ist als bei Personen, bei denen dieser Biomarker nicht auftritt. Als Beispiel kann das Philadelphia-Chromosom bei ALL-Patienten genannt werden, da diese Patienten bei positivem Nachweis des Philadelphia-Chromosoms eine längere Remission unter der Therapie mit Tyrosinkinase-Inhibitoren haben [104, 108].
- **Prognostische Biomarker:** Um den Verlauf einer Krankheit oder eines klinischen Zustands, wie das Wiederauftreten, Fortschreiten oder Auftreten eines bestimmten klinischen Ereignisses, vorherzusagen, können prognostische Biomarker eingesetzt werden. Die Amplifikation von HER2/neu Genen hat zum Beispiel eine prognostische Aussagekraft für das Überleben sowie Wiederauftreten der Krebserkrankung Mammakarzinom [104, 109].
- **Biomarker als klinischer Endpunkt:** In klinischen Studien werden klinische Endpunkte definiert. Anhand ihrer Bewertung wird die Krankheitscharakteristik beobachtet oder der Nutzen und das Risiko einer therapeutischen Intervention beurteilt. Die US-amerikanischen *National Institutes of Health* definieren den klinischen Endpunkt als eine Charakteristik oder Variable, welche ausweist, wie sich ein Patient fühlt, wie er funktioniert oder ob er überlebt [103]. Ein Biomarker kann auch als Surrogatmarker genutzt werden und lässt dadurch eine über das wissenschaftliche Wissen hinausgehende Aussage über den klinischen Nutzen oder das Risiko zu [104].
- **Sicherheitsbiomarker:** Der Biomarker kann die Toxizität sowie die Nebenwirkungen eines medizinischen Produkts oder der Exposition eines Umweltstoffs anzeigen und somit zur Risikokontrolle oder -minderung beitragen. Beispielsweise kann mit der QT-Zeit im EKG das Risiko einer tödlichen, ventrikulären Proarrhythmie abgeschätzt und damit als Kriterium in der Medikamentenentwicklung verwendet werden [104, 110].
- **Risikomarker:** Mit dem Biomarker kann eine erhöhte oder verminderte Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Krankheit oder eines medizinischen Zustands bei den Individuen, welche noch nicht an dieser Krankheit oder dem Zustand leiden, eingeschätzt werden. Zum Beispiel ermöglicht ein prädiktiver

DNA-Test bei asymptomatischen Patienten die Vorhersage des Auftretens von Morbus Huntington [104, 111].

Bevor ein Biomarker zum Einsatz kommt, gilt es den klinischen Nutzen zu ermitteln und eine Validierung durchzuführen. Nach der Arbeitsgruppe *Biomarkers Definitions Working Group* lässt sich der klinische Nutzen als nützliche Informationen über die Diagnose, die Behandlung, das Management und die Prävention einer Krankheit oder die Schlussfolgerung über eine Nettoverbesserung des gesundheitlichen Zustands, die durch Verwendung einer bestimmten Intervention zustande kommt, definieren [104]. Da ein Biomarker zu unterschiedlichen Zwecken eingesetzt werden kann, ist die Fähigkeit des Biomarkers, ein relevantes klinisches Konzept vorherzusagen oder zu messen, sowie die Zuverlässigkeit des Tests zur Bestimmung des Biomarkers entscheidend. Um festzustellen, ob ein Biomarker für den beabsichtigten Zweck geeignet ist, muss die Leistung des Biomarkers durch klinische und analytische Verfahren getestet werden. Dieser Prozess wird als Validierung bezeichnet. Im Rahmen dieses Validierungsprozesses wird der Biomarker als Validierungsobjekt ausgewählt. Hierbei muss eindeutig festgelegt werden, zu welchem Zweck der Biomarker dienen soll sowie welcher Nutzen und welche Risiken mit dieser Verwendung verbunden sind. Die Nutzen-Risiko-Abwägung spielt bei der Bestimmung der Entscheidungskriterien, ob ein Biomarker validiert wird, eine große Rolle. Ein Biomarker kann ohne adäquate Validierung falsche Entscheidungen oder Urteile verursachen [104].

2.2.2 Neurofilament light chain

Im Rahmen dieser Arbeit wird NfL als ein potenzieller Biomarker in der Neurologie und auch bei Schlaganfall untersucht. Nachfolgend wird das Vorkommen von NfL als Bestandteil von Cytoskeletten erläutert. Eukaryotische Zellen besitzen eine aus faserförmigen Polymeren und Regulatorproteinen bestehende Struktur, das sogenannte Cytoskelett. Das Cytoskelett erfüllt vielfältige Aufgaben in der Zelle, zu denen die räumliche Organisation der Zellinhalte, das Beibehalten ihrer Form, die chemische und physische Abgrenzung der Zelle von ihrer Umwelt, die Bewegung der Zelle sowie der Transport der Stoffe innerhalb der Zelle gehören. Die Hauptbestandteile von den Polymeren des Cytoskelettes sind Mikrotubuli, Aktinfilamente und Intermediärfilamente [112]. Diese Polymere lassen sich unter anderen nach ihrem Durchmesser klassifizieren: Mikrotubuli (15nm), Aktinfilamente (6nm) und Intermediärfilamente (10nm) [113]. Zudem lassen sich die Polymere des Cytoskelettes anhand ihrer mechanischen Steifigkeit, der Dynamik ihrer Anordnung, ihrer Polarität und der molekularen Motoren, mit denen sie verbunden sind, differenzieren. Die Unterschiede charakterisieren die Struktur und Funktion der aus den Polymeren bestehenden Netzwerke [112].

Theoretischer Hintergrund

Die steifen, rohrförmigen, polaren Mikrotubuli entstehen durch die Polymerisation der Heterodimere, die aus α - und β -Tubulinmonomeren gebildet werden. Die Motorproteine der Mikrotubuli sind Dynein und Kinesin [112, 114, 115]. Die Mikrotubuli spielen eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung und der Aufrechterhaltung der Zellform, dem Transport von Vesikeln, Mitochondrien und anderen Komponenten innerhalb der Zelle, der Zellsignalisierung sowie der Zellteilung [116]. Ein gleichzeitiges Wachsen und Schrumpfen der Mikrotubuli wird als dynamische Instabilität bezeichnet [117]. Diese Eigenschaft ermöglicht, die Form des Cytoskeletts schnell zu reorganisieren und einzelnen Mikrotubuli schnell ihr Zielobjekt zu erreichen [118].

Hinsichtlich der Aktinfilamente ist festzuhalten, dass durch die Polymerisation von globulärem Aktin (G-Aktin) unter Verbrauch von ATP polares, filamentöses Aktin (F-Aktin) entsteht [119]. Obwohl die Aktinfilamente im Vergleich zu Mikrotubuli weniger steif sind, können sie im Vorhandensein der vernetzenden Proteine hochorganisierte feste Netzwerke bilden. Die Aktinfilamente nehmen an der Filopodienbildung bei der Chemotaxis und Zell-Zell-Kommunikation teil, sodass Aktin eine wichtige Rolle für die Zellmotilität und das Beibehalten der Zellform spielt. Außerdem ermöglicht Aktin zusammen mit Myosin muskuläre Kontraktionen. Unter dem Vorhandensein von Proteinuntereinheiten polymerisiert Aktin stetig. Die stetige Elongation schafft die nötige Schubkraft für die Migration der Zelle. Myosine sind dabei die Motorproteine von Aktin [112, 120, 121].

Einen weiteren Bestandteil des Cytoskeletts bilden Intermediärfilamente. Diese zeichnen sich durch eine große Heterogenität aus. In manchen Fällen entsprechen sie nur einem Anteil von 20% der Sequenzidentität und weisen zelltypspezifische, offen komplexe Expressionsmuster auf. *In vitro* können sie sich selbst aus mehreren 10.000 einzelnen Intermediärfilament-Polypeptidketten zu 10 nm langen Filamenten zusammensetzen. Diese intrinsische Fähigkeit spielt eine große Rolle für die gemeinsame Funktion der Intermediärfilamente die Zelle vor mechanischem Stress zu schützen. Zudem trägt ihre Vielfalt hinsichtlich der Sequenz und Expression dazu bei zellspezifische Funktionen zu erfüllen [122, 123]. Zum Beispiel wirken Keratin-Intermediärfilamente in Atemwegepithelzellen gegen Schubspannung [124, 125], spielt Desmin in der Z-Disk von Muskelzellen eine Rolle bei der Kontraktion [124] und schützen Keratin K8 sowie K18 die Hepatozyten gegen eine durch TNF induzierte Apoptose [126].

NfL zählt zur Gruppe der Intermediärfilamente. Diese lassen sich allgemein in sechs Hauptklassen, die auf der Unterscheidung der Genstruktur, Sequenzhomologie und/oder der Verbindungseigenschaften basieren, typologisieren. Typ I bis Typ IV umfassen zytoplasmatische Intermediärfilamente. Typ V besteht aus Laminen,

welche sich im Zellkern befinden. Das in neuronalen Vorläuferzellen der Säugetiere entdeckte Nestin bildet Typ VI [122, 123, 127]. Neurofilamente zählen zum Typ IV der Intermediärfilamente und werden in Neuronen exprimiert. Neurofilamente sind heteropolymere Proteine, deren Komposition zwischen zentralen und peripheren Nervenzellen variiert. In der Nervenzelle des zentralen Nervensystems setzen sich die Neurofilamente aus Neurofilament light chain, Neurofilament medium chain, Neurofilament heavy chain und alpha-Internexin zusammen. Im Vergleich dazu bestehen die Neurofilamente der peripheren Nervenzelle aus Neurofilament light chain, Neurofilament medium chain, Neurofilament heavy chain und Peripherin [128]. Innerhalb der Neurone befinden sich Neurofilamente überwiegend in Axonen, aber auch im Perikaryon sowie in Dendriten. Sie dienen der Bewahrung der asymmetrischen Form der Neuronen, der Erhaltung des Axon-Kalibers sowie der Optimierung der Ausbreitungsgeschwindigkeit elektrischer Impulse entlang der Axonen [128–132].

2.2.3 Stand der Forschung

Ein zuverlässiger Biomarker in der Neurologie kann zur Verbesserung der Genauigkeit der Erkennung oder Ausschließung neurologischer Krankheiten dienen oder zur Therapieüberwachung und Bewertung des individuellen Ansprechens auf die Therapien sowie zur prognostischen Bewertung verwendet werden [1]. Die Forschung an potenziellen Biomarkern, wie zum Beispiel den Tau-Proteinen (T-tau und P-tau), β -Amyloid, α -Synuclein, Glia-fibrilläres Protein (GFAP) oder S100 hat in den letzten Jahren zugenommen [133–135].

Die Freisetzung von NfL in Liquor und indirekt in die Blutbahn spiegelt eine axonale Schädigung, beziehungsweise einen neuronalen Untergang wider [136]. Nach dieser Schädigung wird unabhängig von der Ätiologie, z.B. entzündlicher, neurodegenerativer, traumatischer oder vaskulärer Genese, NfL vermehrt freigesetzt [1]. In verschiedenen Studien der letzten 20 Jahre wird der NfL-Spiegel als Marker für die Diagnose, die Krankheitsaktivität und das Fortschreiten der Krankheit bei einer Reihe von verschiedenen neurologischen Erkrankungen untersucht [136].

Durch die Anwendung der Single Molecule Array Technologie (Simoa™) wird die Detektion niedriger Konzentrationen von NfL, unter anderem auch im Serum, möglich. Die Messungen im Serum und im Liquor mittels dieser Methode korrelieren stark [137], sodass Serum und Plasma als Untersuchungsmatrix gegenüber dem aufwendiger zu gewinnendem Liquor bevorzugt werden. Die durch die innovativen Methoden möglich gewordene Messung im Blut macht NfL zu einem vielversprechenden Kandidaten als Biomarker in der Neurologie [1].

Theoretischer Hintergrund

NfL ist bereits mit Bezug auf mehrere, unterschiedliche neurologische Erkrankungen untersucht worden. Beispielsweise weisen Multiple Sklerose-Patienten und Patienten mit klinisch isoliertem Syndrom erhöhte NfL-Werte auf, die mit dem Therapieeffekt und der Anzahl der T2-hyperintensiven MRI-Läsionen korrelieren sowie zur Therapieentscheidung verwendet werden können [138, 139]. Darüber hinaus gibt es verschiedene Berichte über den Konzentrationsanstieg von NfL im Blut und Liquor sowohl bei vorhandenem Morbus Alzheimer als auch bei frontotemporaler Demenz [140]. Auch hat der NfL-Spiegel eine prognostische Aussagekraft für die amyotrophe Lateralsklerose (ALS) [141]. In einer Studie weisen Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen höhere NfL-Werte als Patienten mit psychiatrischen Erkrankungen Schizophrenie, schizoaffektiver Störung, bipolarer Störung, Depression und dissoziativer Konversionsstörung auf. Aufgrund dieses Unterschieds kann der NfL-Spiegel zur Unterscheidung von psychiatrischen und neurologischen Störungen in klinisch schwierigen, nicht eindeutigen Situationen hilfreich sein [142]. Erhöhte NfL-Spiegel deuten außerdem auf die Nervensystembeteiligung bei einer Infektion mit SARS-CoV-2 hin [143]. Ergänzend ist die Rolle von NfL als Biomarker für weitere Krankheitsbilder wie unter anderem traumatische Schädelhirnverletzungen [144], Morbus Parkinson [145], Guillain-Barré-Syndrom [146], Creutzfeldt-Jakob-Krankheit [147], HIV-Enzephalitis [148] und Morbus Huntington [149] untersucht worden. Auch kann NfL als ein prädiktiver Marker zur Beurteilung des neurologischen Outcomes nach einem Herzstillstand angewendet werden [150]. Dem Forschungsschwerpunkt dieser Arbeit folgend, wird nachfolgend der Stand der Literatur über den Wert von NfL als Biomarker bei Schlaganfallpatienten sowie über die Relevanz der Komorbiditäten oder physikalischen Parametern auf die NfL-Level zusammengefasst.

Bei Schlaganfallpatienten werden erhöhte NfL-Level im Vergleich zu den Patienten mit TIA vorgefunden und die NfL-Level korrelieren mit den ätiologischen Subtypen des Schlaganfalls [151]. Eine andere Studie zeigte eine signifikante Korrelation zwischen den NfL-Werten am Tag 7 nach dem Schlaganfall und dem Infarktvolume[n] [152]. Uphaus et al. berichten zudem darüber, dass der innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Schlaganfall gemessene NfL-Spiegel nicht nur mit der Schwere der klinischen Symptomatik zum Zeitpunkt der Aufnahme sondern auch mit dem klinischen Outcome nach 90 Tagen sowie dem Auftreten erneuter Schlaganfällen oder des Todes korreliert [153]. Korrelationen wurden auch bei Patienten mit CADASIL identifiziert. Der bei Studienbeginn gemessene NfL-Spiegel korreliert mit dem nachfolgenden Auftreten von Schlaganfallereignissen innerhalb eines Beobachtungszeitraums von 1 bis 5,2 Jahren [154]. Bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie sind im Blut zirkulierende NfL-Level sowohl mit bildgebenden Parametern, z.B. totalem Gehirnvolumen, dem Auftreten von Mikroblutungen oder

lakunären Infarkten, als auch mit klinischen Merkmalen assoziiert [155, 156]. Korley et al. kommen zu dem Schluss, dass die NfL-Level zur genaueren Abschätzung des Schlaganfallrisikos verwendet werden können. Das Ergebnis beruht darauf, dass die Autoren in einer Studie mit Probanden, die mindestens zwei kardiovaskulären Risikofaktoren und zum Zeitpunkt der Registrierung bisher keinen Schlaganfall erlitten haben, signifikante Assoziationen zwischen dem NfL-Level und den kardiovaskulären Risikofaktoren hohes Lebensalter, hoher systolischer Blutdruck, nicht-kaukasische Bevölkerungszugehörigkeit, niedrige glomeruläre Infiltrationsrate, höherer HDL- und LDL-Cholesterinspiegel, Dauer des Diabetes mellitus sowie erhöhtes Hämoglobin A1c festgestellt haben, sodass vorgeschlagen wird, NfL in den Framingham Stroke Risk Score zur Verbesserung der Aussagekraft aufzunehmen [157].

Nur wenige Publikationen untersuchen und bestätigen den Einfluss von Komorbiditäten auf den NfL-Spiegel. Hinsichtlich des Anstieg des NfL-Spiegels mit zunehmenden Alter sowohl bei Patienten mit neurologischen Erkrankungen als auch bei gesunden Probanden existieren mehrere Studien [158–160]. Ergänzend stellt eine weitere Studie einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem NfL-Spiegel und Alter sowie arterieller Hypertonie fest [152]. Auch existieren Hinweise auf eine negative Korrelation zwischen dem NfL-Wert im Blutplasma und dem Body-Mass-Index (BMI) sowie dem Blutvolumen [161]. Die Auswirkungen des Geschlechts auf die NfL-Werte kann aus den Ergebnissen aktueller Studien nicht eindeutig abgeleitet werden. Neben mehreren Publikationen, die zu dem Schluss kommen, dass es keinen Effekt des Geschlechts auf die NfL-Level gibt, zeigt die Kohortenanalyse von Alcolea et al. erhöhte NfL-Spiegel bei männlichen Probanden. In einer anderen Untersuchung sind bei Folgeuntersuchungen unter Männern niedrigere NfL-Level als bei Frauen gemessen worden [162–165].

2.3 Zusammenfassung und weitere Fragestellung

Im Rahmen des Kapitels sind der literaturbasierte, theoretische Hintergrund über Schlaganfall, der eine häufig auftretende Volkskrankheit darstellt, sowie NfL als Biomarker vorgestellt worden. Die Quantifizierung von im Blut zirkulierenden NfL-Leveln gehört bisher nicht zu den Routinemethoden in der Neurologie. Obwohl zahlreiche Beiträge in der Literatur auf den potenziellen Nutzen hindeuten, existieren bisher keine etablierten Referenzbereiche oder Informationen über interferierende Krankheiten sowie pathologische Faktoren, die über die nachgewiesenen Korrelationen in wenigen Studien hinausgehen. Entsprechend weisen die eingesetzten Messmethoden noch keinen hohen Standardisierungsgrad auf.

Theoretischer Hintergrund

Die mögliche Verwendung von NfL als Biomarker für den Schlaganfall erfordert eine klinische Validierung. Die notwendigen Untersuchungen stehen noch am Anfang dieses Prozesses, sodass Schritte ergriffen werden müssen, um die Qualität und Quantität der vorhandenen Daten zu verbessern. Zum heutigen Zeitpunkt ist es notwendig, den bisher unerforschten Einfluss von Komorbiditäten und systemischer Erkrankungen nach dem Schlaganfall auf NfL-Level besser zu verstehen. An diesem Punkt setzen die Problemstellung und Zielsetzung dieser Arbeit an, da diese Informationen sowie die Interpretation der Ergebnisse unter anderem im späteren klinischen Alltag essenziell sein können, um anhand von NfL-Leveln Entscheidungen abzuleiten. Die Zielsetzung dieser Arbeit ist es, den Einfluss von Komorbiditäten auf die Höhe der NfL-Spiegel bei Schlaganfallpatienten zu untersuchen. Hierzu werden Vergleiche zwischen verschiedenen Probandengruppen durchgeführt. Als eine Besonderheit dieser Arbeit soll dabei auch durch longitudinale Messungen die zeitliche Abhängigkeit des Einflusses der Komorbiditäten nach einem Schlaganfall auf die NfL-Spiegel betrachtet werden. Die Ergebnisse sind anschließend in ein multivariates Modell zu integrieren.

Zur Strukturierung des wissenschaftlichen Ansatzes gilt es die vier nachfolgenden Forschungsfragen zu beantworten:

- Welche Komorbiditäten weisen einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit den NfL-Leveln nach einem Schlaganfall auf?
- Existieren Unterschiede der nachgewiesenen Zusammenhänge zwischen Patienten mit Schlaganfall und Stroke Mimics sowie einer Kontrollgruppe aus Probanden ohne bekannte neurologische Erkrankungen?
- Verändern sich die Assoziationen über die Zeit nach dem Schlaganfall?
- Wie gestaltet sich ein Modell, das die zirkulierenden Level von NfL bei Schlaganfallpatienten unter Berücksichtigung des Einflusses von Komorbiditäten erklärt?

Zur Beantwortung der aufgestellten Fragestellungen gilt es, im Rahmen eines geeigneten Studiendesigns empirische Daten zu erheben und auszuwerten sowie Erkenntnisse abzuleiten. Darauf aufbauend werden die Forschungsfragen in Kapitel 5 beantwortet.

3 Studiendesign und Methodik

Im Folgenden werden das Studiendesign und das methodische Vorgehen beschrieben, das sich in die Rekrutierung der Probandengruppen, die Datenerhebung sowie die statistische Auswertung gliedert. Das Studiendesign bildet die Grundlage für die empirische Analyse und die angewandten statistischen Tests.

3.1 Rekrutierung der Probandengruppen

Die Rekrutierung des Patientenkollektivs erfolgte im Zeitraum von 02.2014 bis 03.2017 im Rahmen der laufenden Circulating Biomarkers in Acute Stroke (CIRCULAS)-Studie, die mit der Projektnummer 121-09 von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt wurde. Die in dieser Arbeit berücksichtigten Probanden gliedern sich in die drei Subgruppen Schlaganfallpatienten, Stroke Mimics und Kontrollgruppe neurologisch normaler Probanden. Alle Patienten oder deren Angehörige sowie die Probanden der Kontrollgruppe wurden mündlich und schriftlich über die Blutentnahme und die wissenschaftliche Verwendung der Proben aufgeklärt.

Die Schlaganfallgruppe stellt die zentrale Kohorte dieser Arbeit dar. In diese Gruppe wurden Patienten eingeschlossen, die sich innerhalb von 24 Stunden nach akut aufgetretenen neurologischen Symptomen mit einem Verdacht auf Schlaganfall in der Zentralen Notaufnahme des Klinikums der LMU am Campus Großhadern vorstellten und bei denen in der Bildgebung ein Infarkt nachgewiesen wurde. Die Eingrenzung auf das enge, feste Zeitfenster ab Symptombeginn erfolgte, um den Einfluss zeitabhängiger Veränderungen auf die NfL-Werte gering zu halten.

Die Probanden mit Stroke Mimics stammen aus der Gruppe der Patienten, die sich mit Verdacht auf akuten Schlaganfall in der Notaufnahme vorstellten. Die Bestimmung des NfL-Wertes im Sinne der oben genannten Studie wurde durchgeführt. Im weiteren Verlauf konnte jedoch bei diesen Patienten durch apparative Diagnostik ein Infarkt ausgeschlossen oder die Symptome durch eine andere Ätiologie erklärt werden. Mit dem Begriff Stroke Mimics werden allgemein Krankheitsbilder beschrieben, bei denen die initiale Symptomatik einem ischämischen Schlaganfall ähnelt, im Verlauf jedoch ein akuter Schlaganfall ausgeschlossen und eine andere symptomerklärende Ursache gefunden werden kann [166]. Stroke Mimics können sich auf eine Vielzahl von Krankheitsbildern beziehen. Nach einer Metaanalyse sind die fünf häufigsten Stroke Mimics epileptische Anfälle, Synkopen, Sepsis, benigne Kopfschmerzen und intrakranielle Raumforderungen [167]. Zur Eingrenzung der Krankheitsbilder wurden in dieser

Arbeit nur Patienten mit Stroke Mimics berücksichtigt, die mit der Diagnose Migräne oder epileptischer Anfall entlassen wurden.

Zusammenfassend wurden in die Probandengruppen Schlaganfall und Stroke Mimics die Patienten aufgenommen,

- die innerhalb der letzten 24 Stunden neu aufgetretene neurologische Symptome aufwiesen oder
- deren Zeit zwischen „last well seen“ und klinischer Vorstellung beim Wake-Up Stroke weniger als 24 Stunden betrug sowie
- für die eine schriftliche Einverständniserklärung vorlag.

Die Kontrollgruppe der neurologisch unauffälligen Probanden umfasst Probanden ohne akute neurologische Symptome. Bei diesen Probanden handelt es sich überwiegend um Angehörige oder Begleitpersonen von Schlaganfallpatienten, die zur Verlaufskontrolle in das Institut für Schlaganfall- und Demenzforschung (ISD) kamen. Bei der Rekrutierung wurde darauf geachtet, eine der Schlaganfallgruppe vergleichbare Alters- und Geschlechtsverteilung zu erreichen.

Für die drei Probandengruppen wurden ergänzende Ausschlusskriterien definiert, um zum Beispiel den Einfluss einer möglichen NfL-Erhöhung als Folge eines vorangegangenen Schlaganfalls ausschließen zu können. Ausgeschlossen wurden Probanden,

- die minderjährig waren (jünger als 18 Jahre),
- die innerhalb der letzten 3 Monate bereits einen ischämischen Schlaganfall erlitten hatten,
- die einen unklaren Symptombeginn aufwiesen sowie
- die eine Teilnahme an der Studie ablehnten oder für die keine schriftliche Einverständniserklärung vorlag.

Als Ergebnis der Patientenrekrutierung standen für die Auswertung in dieser Arbeit Convenience-Stichproben der drei Probandengruppen zur Verfügung. Die Stichprobe der Gruppe Schlaganfall umfasste zunächst 202 Patienten. Davon wurden 11 Probanden aufgrund der Vielzahl fehlender klinischer Daten ausgeschlossen. Ebenfalls konnte ein weiterer Proband, dessen Infarkt bildgebend nachgewiesen worden war, wegen eines möglichen Messfehlers bei den NfL-Werten nicht berücksichtigt werden. Die Stichprobe der Gruppe Stroke Mimics umfasst 24 Probanden, die der Kontrollgruppe 30 Probanden. Damit ist die Stichprobengröße dieser beiden Gruppen deutlich kleiner als die der Schlaganfallgruppe. Dies ist ein limitierender Faktor für diese Arbeit. Ein Grund für die unterschiedliche Stichprobengröße liegt in der Priorisierung der Ressourcen auf die Schlaganfallgruppe. Darüber hinaus hatten die Patienten mit Stroke Mimics eine

kürzere Behandlungsdauer. Dies erschwerte die Aufklärungsmöglichkeiten und wirkte sich vermutlich negativ auf die Bereitschaft zur Studienteilnahme aus. Zudem treten schlaganfallähnliche Symptome nur bei einem geringen Anteil der Migräne- und Epilepsiepatienten auf [168–170]. Mit dem beschriebenen Vorgehen konnten daher nur wenige Fälle neurologisch erkrankter Patienten erfasst werden. In der Kontrollgruppe zeigte sich ein geringeres Interesse an der Teilnahme an der wissenschaftlichen Studie, insbesondere aufgrund des Zeitaufwandes für die Beantwortung des Fragebogens und der notwendigen Blutentnahme.

3.2 Datenerhebung

In diesem Kapitel wird die Vorgehensweise bei der Erhebung der relevanten Patientendaten und Anamneseinformationen sowie bei der Entnahme, Verarbeitung und Lagerung der Proben beschrieben. Besonderes Augenmerk wird auf das Verfahren zur Messung der NfL-Werte gelegt.

Die Datenerhebung der nominalskalierten, im engeren Sinne binären Parameter sowie des ordinalskalierten Parameters Alkoholkonsum erfolgte durch Befragung der Patienten oder der Angehörigen beziehungsweise der Kontrollprobanden mittels Fragebogen. Ebenfalls wurden die archivierten Krankenakten und Datensätze in der elektronischen Datenbank (LAMP) des Klinikums Großhadern, verfügbare Notarzteinsatzprotokolle, Anamnese- und Aufnahmebögen der Stationen, Verlegungsberichte der regionalen Krankenhäuser und interne Verlegungsberichte, Stationskurven, Konsilbefunde, OP-Berichte, Narkoseprotokolle, radiologische Befunde und Entlassungsbriefe berücksichtigt. Bei festgestellten Widersprüchen und Abweichungen zwischen den ausgefüllten Patientenfragebögen und der ärztlichen Dokumentation wurden die Angaben aus der ärztlichen Dokumentation übernommen. Bekannte Vorerkrankungen wurden in die Datensätze aufgenommen, wenn sie entweder aus den Fragebögen und der ärztlichen Dokumentation hervorgingen oder wenn die entsprechenden Medikamente Bestandteil der bestehenden Vormedikation waren. Beispielsweise wurde bei einer Medikation mit Statinen eine Hypercholesterinämie dokumentiert. Ebenso wurden Vorerkrankungen, die während des Krankenhausaufenthaltes durch die Erstdiagnose nachgewiesen wurden, in den Datensätzen ergänzt. So wurde zum Beispiel Diabetes mellitus durch einen erhöhten HbA1c-Wert erkannt und Vorhofflimmern durch Monitorüberwachung nachgewiesen.

Die Erhebung der stetigen Laborparameter auf metrischen Skalen und der glomerulären Filtrationsrate (GFR) auf einer Ordinalskala erfolgte im Rahmen der Routinelabordiagnostik im Krankenhaus. Die Auswahl der zu erhebenden Parameter erfolgte durch den behandelnden Arzt. Diese Vorgehensweise führte bei einigen

Parametern zu einer erhöhten Anzahl fehlender Werte in den Stichproben, insbesondere bei wiederholten Blutentnahmen. In dieser Arbeit wurden die Messwerte des Aufnahmetages (Tag 1) und des Folgetages (Tag 2) verwendet. Einzelne Parameter wurden teilweise nur an Tag 2 bestimmt. Bei der Kontrollgruppe wurde nur eine Blutentnahme durchgeführt. Hier wurden auch einige Parameter bestimmt, die bei den anderen Probandengruppen nur an Tag 2 erhoben wurden. Die bildgebende Messung des Infarkt Volumens erfolgte bei den Schlaganfallpatienten einmalig im Behandlungsverlauf. Der Zeitpunkt der Bildgebung war nicht standardisiert.

Zur Messung der stetigen NfL-Werte wurde bei der Vorstellung in der Notaufnahme an Tag 1 zusätzlich zur Routinediagnostik venöses Blut in Serum-Röhrchen abgenommen. Nach einer 30 bis 45-minütigen Ruhephase bei Raumtemperatur wurden die Blutproben mit 2000 g für 10 Minuten bei 15°C zentrifugiert. Anschließend wurde das Serum in Mikro-Röhrchen aliquotiert und bei -80°C aufbewahrt. Die Quantifizierung des NfL-Spiegels im Serum erfolgte unter Anwendung der *Single-molecule array* Technologie (Simoa™). Simoa™ beruht auf der Messung der Konzentration der Ziel-Moleküle mit Hilfe von Immunkomplexen, die aus dem Ziel-Molekül, paramagnetischen Kügelchen, im englischen „Bead“, und Detektionsantikörpern bestehen. Die paramagnetischen Kügelchen sind mit Empfängerantikörpern beschichtet, die an das Ziel-Molekül andocken können. Die Detektionsantikörper sind in der Lage ein fluoreszierendes Produkt zu erzeugen. Die Probe wird auf eine Simoa™-Scheibe mit Vertiefungen, die gerade so groß sind, um nur ein Kügelchen aufzunehmen, gegeben. Durch das digitale Auslesen der Scheibe wird festgestellt, ob die Kügelchen mit den Ziel-Molekülen verbunden sind [171]. Die Messung der NfL-Konzentrationen mit dieser Technologie erfolgte unter Verwendung des monoklonalen Empfängerantikörpers 47:3 und des biotinylierten monoklonalen Detektorantikörpers 2:1 der Firma UmanDiagnostics aus Umeå in Schweden.

Von 89 Schlaganfallpatienten liegen über den zeitlichen Behandlungsverlauf hinweg wiederholte Blutentnahmen mit Bestimmung der Routineparameter und der NfL-Werte vor. Zusätzlich zur ersten Probengewinnung bei der Aufnahme am ersten Behandlungstag (Probe 1) erfolgten die weiteren Blutabnahmen am zweiten (Probe 2), dritten (Probe 3) und spätestens siebten Behandlungstag (Probe 4). Bei vorzeitig entlassenen Patienten wurde Probe 4 früher als geplant durchgeführt. Die wiederholten NfL-Blutentnahmen erfolgten im Rahmen der vom behandelnden Arzt angeordneten Laborkontrollen und nicht als separate Blutentnahmen. Damit sollte die Teilnahmebereitschaft der Patienten erhöht werden. Dieses Vorgehen führte zu zeitlichen Schwankungen der Probenentnahmen nach Symptombeginn. Insbesondere Probe 2 wurde in der Regel in den frühen Morgenstunden des zweiten

Behandlungstages entnommen. Dies führte bei einigen Patienten, die erst später am Tag einen Schlaganfall erlitten, zu einem kurzen Abstand zwischen der ersten und der zweiten Blutabnahme. Die zeitliche Verteilung der Proben ist in Kapitel 4.2.4 dargestellt.

3.3 Statistische Auswertung

Der Schwerpunkt der statistischen Auswertung liegt auf der Ermittlung signifikanter Zusammenhänge zwischen den erhobenen Parametern und den NfL-Werten mittels Korrelationsanalysen. Hierfür wird das Programm R verwendet, zuletzt in der Version 4.3.1 (2023-06-16). Aufbauend auf der Entscheidung über eine Transformation der metrisch skalierten Parameter gliedert sich die statistische Auswertung in die Abschnitte deskriptive Analyse, bivariate Korrelationsanalyse und multiple lineare Regressionsanalyse.

Die für die Anwendung und Auswahl der parametrischen Korrelationsanalyseverfahren und Tests entscheidende Normalverteilung der NfL-Werte wird mit dem Shapiro-Wilk-Test überprüft. Bei einem gewählten Signifikanzniveau von 0,05 sind die NfL-Werte in der Schlaganfallgruppe nach diesem Test mit $p=2,20e^{-16}$ nicht normalverteilt. Ebenfalls wird die Normalverteilung für den natürlichen Logarithmus der NfL-Werte mit $p=2,36e^{-4}$ abgelehnt. Da sich nach dieser Log-Transformation mit dem Shapiro-Wilk-Test ein höherer p-Wert errechnet und sich die Werte, wie in Abbildung 1 dargestellt, visuell einer Normalverteilung annähern, wird die weitere

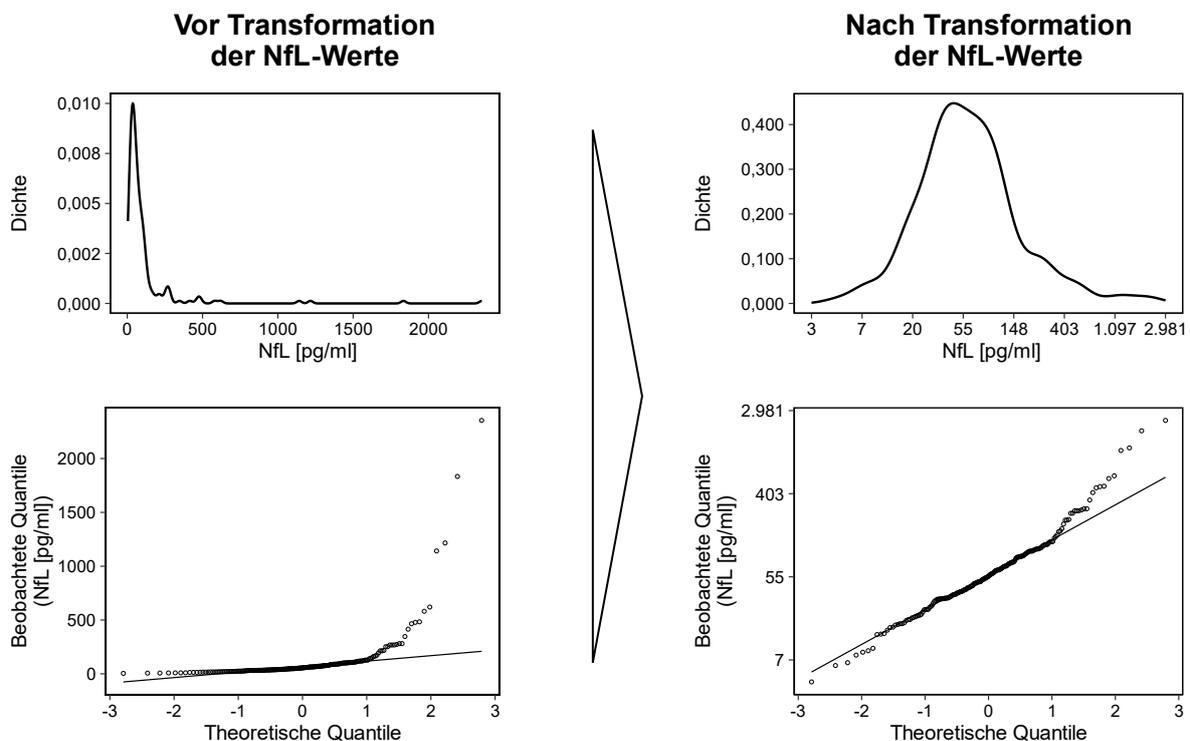


Abbildung 1: Überprüfung der Normalverteilung mit Dichtefunktion und QQ-Plot

statistische Auswertung mit dem natürlichen Logarithmus der NfL-Werte fortgeführt. Da keine Normalverteilung vorliegt, werden nichtparametrische Verfahren der Korrelationsanalyse verwendet. Analog zu den NfL-Werten werden die übrigen stetigen Parameter mit dem Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung geprüft. Bei fehlender Normalverteilung werden die Werte durch Log-Transformation an die Normalverteilung angenähert, wenn dadurch die Ergebnisse des Shapiro-Wilk-Tests verbessert werden können. Dies wird für alle Gruppen getrennt zwischen der deskriptiven Analyse und der bivariaten Korrelationsanalyse durchgeführt. Die NfL-Werte werden für alle Probandengruppen transformiert. Auf die Verwendung und Darstellung der transformierten Werte wird in der Zusammenfassung der jeweiligen Testergebnisse hingewiesen. Die Transformation hat keinen Einfluss auf das Ergebnis der bivariaten Korrelationsanalyse bei Verwendung von rangbasierten statistischen Tests. Dennoch ermöglicht sie auf Grundlage der Skalenanpassung die Modellierung und visuelle Überprüfung linearer Zusammenhänge, insbesondere bei hoher Streuung.

Die Verfahren und Methoden der statistischen Auswertung werden entsprechend ihrer Eignung für die Datenstruktur und die zu untersuchende Probandengruppe ausgewählt. Abbildung 2 fasst die Analysebereiche der statistischen Auswertung im Kontext des Studiendesigns zusammen. Das kritische Signifikanzniveau der statistischen Tests wird auf 0,05 festgelegt. Im Rahmen der bivariaten Korrelationsanalyse erfolgt eine Abstufung des Signifikanzniveaus in gering für Werte $<0,05$, mittel für $<0,01$ und hoch für $<0,001$.

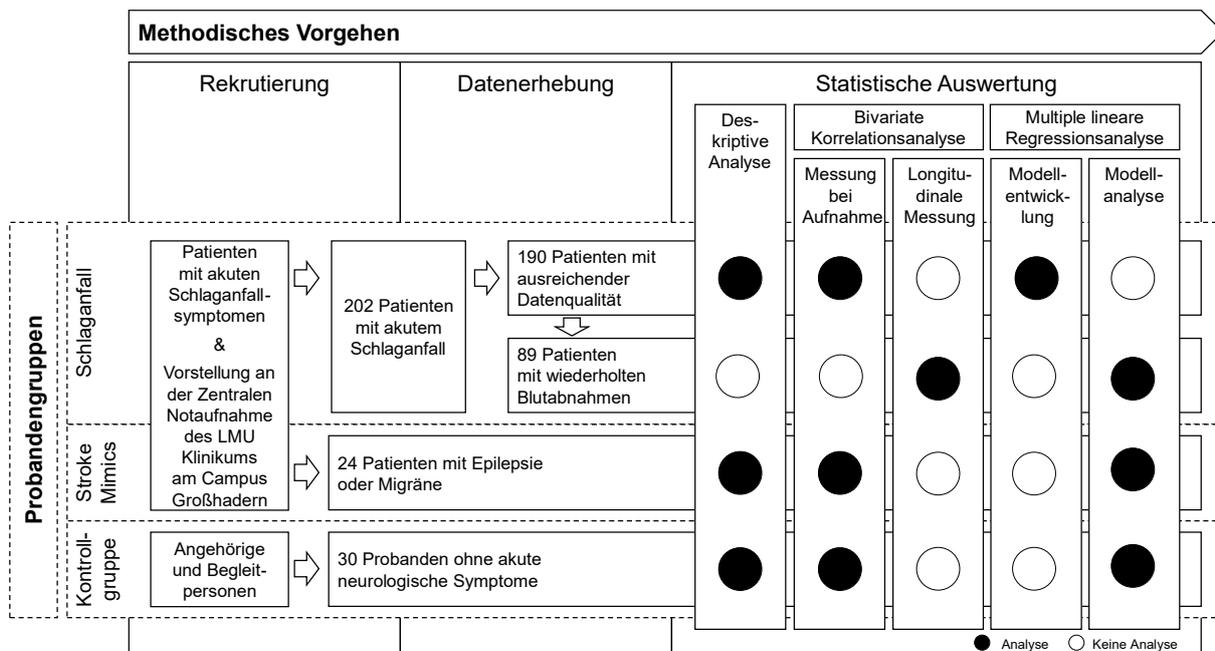


Abbildung 2: Übersicht des Studiendesigns und Analysefelder der statistischen Auswertung

Die deskriptive Analyse dient dazu, einen Überblick über die Ausprägungen der Parameter in den Probandengruppen mit einem Vergleich zwischen den Gruppen zu geben. Die Parameter liegen in nominaler, ordinaler oder metrischer Skala mit stetigen Werten vor. Die Verwendung der ordinalen Skala für die Parameter GFR und Alkoholkonsum ist in der Erhebungsmethodik begründet. Der GFR-Wert wurde vom Labor bei einem großen Teil der Patienten nicht mit den metrisch exakten Werten befundet. Die ordinale Skalierung des GFR-Werts in der Einheit ml/min/1,73 m² erfolgte entsprechend der Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz nach der glomerulären Filtrationsrate gemäß der *National Kidney Foundation*. Es werden die Ausprägungen <15, 15-29, 30-44, 45-59, 60-89 und ≥90 unterschieden [172]. Der Alkoholkonsum wurde nach der Anzahl der wöchentlich konsumierten Standardgläser in die Ausprägungen <7, 7-14, 15-21 und >21 eingeteilt. Die ordinale Skalierung dieses Parameters eignete sich für die Erhebung im Fragebogen durch Selbstauskunft. Faktoren wie der soziale Kontext oder die Grenzen des menschlichen Erinnerungsvermögens können die exakte Quantifizierung des Alkoholkonsums als stetigen Parameter erschweren [173]. Das Skalenniveau beeinflusst die Wahl der statistischen Tests für den Gruppenvergleich. Für den Vergleich der Lageparameter der metrischen Variablen zwischen drei Gruppen wird der Kruskal-Wallis-Test und zwischen zwei Gruppen der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Beide Tests werden auch für den Vergleich der Ausprägungen der ordinalskalierten Parameter unter Berücksichtigung der numerischen Ränge verwendet. Zusätzlich werden die kategorialen Ausprägungen der ordinalskalierten Parameter wie die der nominalskalierten Parameter zwischen drei Gruppen mit Kontingenztabelle größer als 2x2 mit dem exakten Fisher-Freeman-Halton-Test und zwischen zwei Gruppen mit dem exakten Fisher-Test verglichen. Der exakte Fisher-Test und seine Erweiterungen sind auch für Analysen geeignet, bei denen die erwartete Häufigkeit in mehreren Zellen der Kontingenztabelle kleiner als 5 ist [174].

Die bivariate Korrelationsanalyse für die drei Probandengruppen zielt zunächst auf die statistische Prüfung der Zusammenhänge zwischen den an Tag 1 oder Tag 2 gemessenen Parametern und den bei der Aufnahme an Tag 1 gemessenen NfL-Werten ab. Zur Behandlung fehlender Daten wird die paarweise Korrelation nur unter Einbeziehung der vollständig vorhandenen Datenpaare berechnet. Für die Analyse der stetigen Parameter wie BMI, Alter, Infarktgröße sowie aller Laborparameter mit Ausnahme der GFR erfolgt in der Gruppe Schlaganfall die Korrelationsanalyse nach Spearman. In der Stroke Mimics-Gruppe und in der Kontrollgruppe wird dagegen die Korrelationsanalyse nach Kendall verwendet, die bei geringer Fallzahl zu robusteren Ergebnissen führt [175]. Der Zusammenhang zwischen den ordinalskalierten Parametern und den NfL-Werten wird unter Berücksichtigung der numerischen Ränge ebenfalls mittels der Korrelationsanalyse nach Kendall untersucht. Zusätzlich

wird mit dem Kruskal-Wallis-Test geprüft, ob es signifikante Unterschiede in den NfL-Werten zwischen den verschiedenen Ausprägungen gibt. Um mögliche signifikante Unterschiede im paarweisen Vergleich der Ausprägungen zu ermitteln, wird ein Post-hoc-Neyman-Test durchgeführt. Dazu wird das Verfahren nach Tukey verwendet. Die p-Werte werden nach Bonferroni korrigiert [176]. Die signifikanten Unterschiede werden mit der Compact Letters Methode im Boxplot visuell dargestellt. Für Probanden, für die metrische GFR-Werte vorliegen, wird zusätzlich die Korrelationsanalyse nach Spearman bzw. nach Kendall durchgeführt. Die Prüfung des Zusammenhangs zwischen dem NfL-Level und den nominalskalierten Variablen erfolgt mit dem Mann-Whitney-U-Test. Dabei handelt es sich nicht um eine Korrelationsanalyse im engeren Sinne, sondern um ein nichtparametrisches Verfahren zur Ermittlung von Unterschieden in den Verteilungen der beiden Ausprägungsgruppen. Die Trendinterpretation erfolgt mittels Medianvergleich. Limitierend ist, dass die Streuung der Daten bei diesem Ansatz nicht direkt berücksichtigt wird. Nach der statistischen Untersuchung der bivariaten Zusammenhänge in den drei Probandengruppen anhand der bei der Aufnahme erhobenen Werte wird die Analyse für die Untergruppe der Schlaganfallpatienten mit wiederholten, longitudinalen Blutabnahmen fortgesetzt. Mit dem Friedman-Test für die Varianzanalyse mit Messwiederholung und dem Post-hoc-Test friedmanmc des R-Pakets {pgirmess} mit funktionsintegrierter p-Wert-Anpassung wird geprüft, ob sich die NfL-Werte der vier Proben signifikant voneinander unterscheiden. Für jede der vier Proben, die nur die metrisch skalierten Parameter enthalten, wird eine bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt. Anschließend werden die Ergebnisse der Korrelationsanalysen aller Probandengruppen und der longitudinalen Teilgruppe zusammengefasst und miteinander verglichen. Die Limitationen unterschiedlicher Stichprobengrößen werden bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt. Die Parameter, die in der bivariaten Korrelationsanalyse in der Schlaganfallgruppe oder Schlaganfallsuntergruppe mit wiederholten Blutabnahmen eine signifikante Korrelation mit dem NfL-Spiegel aufweisen und aus theoretischer Sicht relevant sein könnten, werden für die Modellentwicklung im Rahmen der multiplen linearen Regressionsanalyse berücksichtigt.

Die Vorgehensweise bei der multiplen linearen Regressionsanalyse ist in Kapitel 4.3.1 beschrieben. Aufgrund des explorativen Studiendesigns wird auf eine Korrektur des Signifikanzniveaus für das multiple Testen verzichtet. Ziel der Modellentwicklung ist es, den potenziellen Einfluss der Parameter als unabhängige Prädiktoren auf das NfL-Niveau bei Schlaganfallpatienten zu untersuchen. Die Modellentwicklung konzentriert sich auf diese Probandengruppe. Das entwickelte Modell wird anschließend im Rahmen seiner Analyse auf die anderen Probandengruppen und die longitudinale Schlaganfallsuntergruppe angewendet und interpretiert.

4 Empirische Analyse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung beschrieben, die sich in die deskriptive Analyse der Populationseigenschaften, die bivariate Korrelationsanalyse für die verschiedenen Probandengruppen und die multiple lineare Regressionsanalyse gliedert. Das Vorgehen folgt dem in Kapitel 3 skizzierten Studiendesign mit dem Ziel die statistisch signifikanten Zusammenhänge zu identifizieren und in ein auf die Gruppe der Schlaganfallpatienten übertragbares Modell zu überführen. Die Darstellung der Analyseergebnisse dient der Vorbereitung der inhaltlichen Diskussion in Kapitel 5, die unter anderem die Interpretation der Ergebnisse beinhaltet.

4.1 Deskriptive Analyse der Populationseigenschaften

Gegenstand der deskriptiven Analyse ist die Gegenüberstellung des gesamten Probandenkollektivs und die Beschreibung der Populationseigenschaften. Ein wichtiges Unterscheidungskriterium ist die demographische Probandenstruktur, da das Geschlecht und das Alter zu den relevanten Risikofaktoren des Schlaganfalls zählen. Die Schlaganfallgruppe besteht aus 190 Probanden, davon 79 Frauen und 111 Männer. 24 Patienten mit Migräne oder Epilepsie sind in die Gruppe Stroke Mimics eingeschlossen, die sich aus 14 Frauen und 10 Männern zusammensetzt. 12 Frauen und 18 Männer bilden die Kontrollgruppe. Der Unterschied in der Geschlechterverteilung ist nicht signifikant ($p=0,2881$). Das Alter wurde einmalig zum Zeitpunkt der ersten Blutabnahme bestimmt. Bei der Analyse der Altersstruktur fällt auf, dass in dieser Untersuchung die Probanden der Stroke Mimics-Gruppe im Durchschnitt ca. 17 Jahre jünger sind als die der Gruppe Schlaganfall und der Kontrollgruppe. Die Geschlechts- und Altersstruktur ist in Abbildung 3 zusammengefasst.

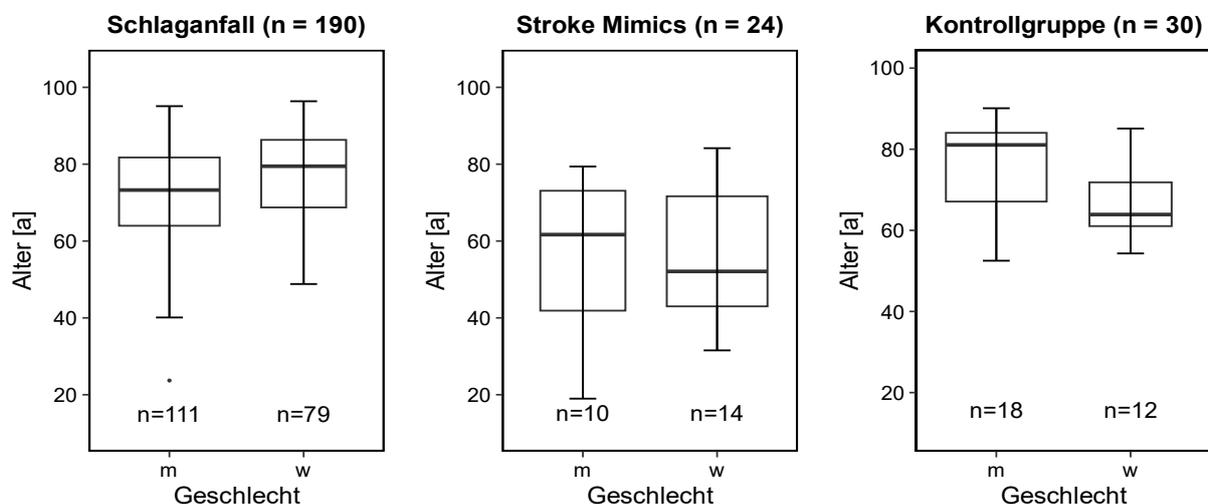


Abbildung 3: Demographische Struktur der Probandengruppen

Empirische Analyse

Die NfL-Konzentration im Serum wurde bei allen Probanden am ersten Tag bestimmt. Der Median, das arithmetische Mittel, Minimum und Maximum sowie die Streu- und Lagemaße dieser Werte sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Die Gruppen unterscheiden sich nach dem Kruskal-Wallis-Test hinsichtlich der Lagemaße signifikant ($p=8,15e^{-6}$). Der paarweise Gruppenvergleich mittels Mann-Whitney-U-Test zeigt, dass die Schlaganfallpatienten signifikant höhere NfL-Blutkonzentrationen aufweisen als die Patienten der Stroke Mimics-Gruppe ($p=3,80e^{-5}$) und der Kontrollgruppe ($p=0,0029$). Darüber hinaus sind die NfL-Werte bei Patienten mit Stroke Mimics niedriger als in der Kontrollgruppe, der Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist jedoch nicht signifikant ($p=0,1078$).

		Schlaganfall (n=190)	Stroke Mimics (n=24)	Kontrollgruppe (n=30)
NfL [pg/ml]	Median Mean (Min-Max)	55,335 118,944 (4,352-2354,379)	28,65 32,66 (6,8-118,3)	31,797 42,517 (1,707-107,71)
Streu- und Lagemaße von NfL*				
Streu- und Lagemaße von NfL* nach Geschlecht				

* Die Darstellung der transformierten NfL-Werte erfolgt auf einer logarithmischen Skala zur Basis e mit gerundeten Achsenwerten.

Tabelle 1: Messwerte von Neurofilament light chain in den Probandengruppen

Mit Bezug auf die Zusammensetzung der Probandengruppen zeigen die NfL-Levels in der Schlaganfallgruppe nach dem Mann-Whitney-U-Test eine signifikante Geschlechtsabhängigkeit ($p=0,0447$). Die weiblichen Probanden weisen höhere NfL-Werte auf. In der Gruppe Stroke Mimics ($p=0,9771$) und in der Kontrollgruppe ($p=0,1038$) weichen die Ausprägungen der NfL-Werte zwischen den Geschlechtern zwar voneinander ab und im Gegensatz zu den Beobachtungen in den Gruppen Schlaganfall und Stroke Mimics sind in der Kontrollgruppe die NfL-Werte der Frauen niedriger als die der Männer, die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Im Rahmen des Forschungsdesigns wurden neben den NfL-Konzentrationen weitere stetige Laborparameter erhoben. Diese sind in Tabelle 2 zusammengefasst sind. Im gruppenübergreifenden Vergleich mittels Kruskal-Wallis-Test ist auffällig, dass die Parameter CRP ($p=0,0002$), Leukozyten ($p=0,0081$), Kreatinin ($p=0,0008$), INR ($p=0,0125$), Thrombozyten ($p=0,0320$), Albumin ($p=0,0094$), Bilirubin ($p=0,0004$), Cholesterin ($p=0,0380$), LDL ($p=0,0015$), und HDL ($p=0,0011$) einen signifikanten Unterschied zwischen Gruppen aufweisen.

Empirische Analyse

		Schlaganfall (n=190)		Stroke Mimics (n=24)		Kontrollgruppe (n=30)		Signifikanz** des Gruppen- vergleichs	
		Median Mean (Min-Max)	na	Median Mean (Min-Max)	na	Median Mean (Min-Max)	na		
Alter [Jahre]		75,03 73,41 (23,70-96,37)	0	54,17 56,35 (18,98-84,16)	0	77,98 73,06 (52,51-90,10)	0	<0,0001	
BMI [kg/m ²]		26,12 26,87 (17,01-45,79)	33	23,51 25,46 (18,76-40,04)	6	24,94 25,52 (20,96-34,26)	0	0,0940	
Infarkt voluminen [ml]		3853,8 28842,4 (24,4-385194,0)	7	-	-	-	-	-	
Messwerte von Tag 1	Glukose [mg/dl]	119,0 129,6 (79,0-308,0)	1	110,00 124,42 (58,00-260,00)	0	-	-	0,4086	
	Kreatinin [mg/dl]	1,10 1,14 (0,70-3,40)	0	0,900 0,925 (0,700-1,200)	0	1,000 1,011 (0,800-1,600)	2	0,0008	
	CRP [mg/dl]	0,30 0,89 (0,00-17,50)	1	0,2000 0,2737 (0,0100-1,0000)	0	0,1000 0,2171 (0,0100-1,1000)	2	0,0002	
	Kreatinkinase [U/l]	103,0 175,6 (21,0-8838,0)	5	92,5 123,2 (53,0-385,0)	0	-	-	0,8268	
	INR	1,000 1,078 (0,800-3,700)	1	1,00 1,108 (0,900-2,800)	0	1,000 1,048 (0,900-2,300)	1	0,0125	
	PTT [sec]	24,00 24,26 (18,00-40,00)	1	24,00 24,71 (19,00-38,00)	0	24,00 25,38 (22,00-40,00)	1	0,2878	
	Leukozyten [G/l]	7,495 8,294 (2,970-23,300)	0	7,845 8,116 (5,060-12,400)	0	6,540 6,534 (3,200-11,900)	2	0,0081	
	Erythrozyten [T/l]	4,640 4,633 (2,830-6,070)	0	4,430 4,541 (3,920-5,400)	0	4,645 4,746 (4,070-5,980)	2	0,3452	
	Hämoglobin [g/dl]	14,10 14,07 (7,70-19,00)	0	13,65 13,63 (11,60-16,00)	0	14,15 14,45 (12,70-17,30)	2	0,1215	
	Hämatokrit [l/l]	0,4155 0,4125 (0,2400-0,5370)	0	0,3990 0,3973 (0,3540-0,4650)	0	0,4095 0,4190 (0,3790-0,4810)	2	0,0711	
	Thrombozyten [G/l]	214,0 226,0 (28,0-539,0)	0	241,5 254,5 (168,0-417,0)	0	234,0 246,3 (148,0-380,0)	2	0,0320	
	Messwerte von Tag 2 *	Albumin [g/dl]	3,700 3,688 (2,700-4,600)	68	3,800 3,822 (3,400-4,200)	15	4,300 4,286 (3,700-4,800)	2	0,0094
		Bilirubin [mg/dl]	0,900 0,948 (0,400-3,300)	65	0,7000 0,7364 (0,4000-1,1000)	13	0,7000 0,7429 (0,4000-1,4000)	2	0,0004
GOT [U/l]		23,00 26,19 (14,00-117,00)	20	23,00 23,00 (10,00-38,00)	10	25,00 26,14 (20,00-42,00)	2	0,2479	
GPT [U/l]		19,00 24,22 (5,00-109,00)	20	17,50 20,29 (7,00-45,00)	10	18,00 20,61 (12,00-54,00)	2	0,7643	
GGT [U/l]		30,00 45,27 (11,00-305,00)	21	21,50 60,36 (10,00-454,00)	10	25,50 29,68 (3,00-93,00)	2	0,1911	
Cholesterin [mg/dl]		192,5 189,3 (73,0-309,0)	38	181,0 187,5 (121,0-277,0)	11	238,0 234,7 (165,0-368,0)	2	<0,0001	
Triglyzeride [mg/dl]		101,5 121,6 (45,0-628,0)	38	111 156 (63-604)	11	138,5 143,4 (58,0-269,0)	2	0,0642	
LDL [mg/dl]		121,0 121,2 (41,0-216,0)	41	101,5 104,8 (66,0-171,0)	16	143,5 148,8 (88,0-259,0)	2	0,0015	
HDL [mg/dl]		49,00 50,97 (24,00-91,00)	41	43,00 48,88 (33,00-73,00)	16	61 64 (36-119)	2	0,0011	
HbA1c [%]		5,600 5,726 (4,500-9,400)	43	5,40 5,48 (5,20-5,90)	19	-	-	0,2927	
Glukose [mg/dl]		101,0 108,6 (52,0-268,0)	25	93,0 113,2 (73,0-297,0)	9	-	-	0,1422	
Kreatinin [mg/dl]		1,000 1,086 (0,200-3,500)	23	0,9000 0,9187 (0,7000-1,1000)	8	-	-	0,04621	
CRP [mg/dl]		0,600 1,433 (0,010-22,400)	24	0,2000 0,3087 (0,0100-1,4000)	9	-	-	0,0008	
Kreatinkinase [U/l]		95,0 155,2 (18,0-4438,0)	25	88,0 112,7 (42,0-208,0)	13	-	-	0,9951	
INR		1,100 1,125 (0,900-3,200)	25	1,000 1,153 (0,900-2,900)	9	-	-	0,0957	
PTT [sek.]		25,00 26,62 (19,00-111,00)	25	27,00 26,33 (18,00-40,00)	9	-	-	0,7702	
Leukozyten [G/l]		8,100 8,312 (2,390-17,700)	21	6,880 7,074 (5,130-9,970)	8	-	-	0,0493	
Erythrozyten [T/l]		4,38 4,37 (2,68-6,06)	21	4,410 4,412 (3,670-5,250)	8	-	-	0,7583	
Hämoglobin [g/dl]		13,40 13,23 (8,10-18,20)	21	13,25 13,16 (10,40-15,70)	8	-	-	0,8374	
Hämatokrit [l/l]		0,3940 0,3897 (0,254-0,5170)	21	0,3785 0,3789 (0,3150-0,4510)	8	-	-	0,2803	
Thrombozyten [G/l]	210,0 210,9 (25,0-427,0)	21	204,5 210,4 (139,0-314,0)	8	-	-	0,9708		

Fehlende Angaben zu dem jeweils betrachteten Merkmal in den Datensätzen werden zur Ausprägung non available (na) gezählt.

* Laborwerte, die in der Rubrik "Messwerte von Tag 2" zusammengefasst wurden, wurden für die Gruppen Schlaganfall und Stroke Mimics am Tag 2 und für Kontrollgruppe am Tag 1 gemessen.

** Für den Vergleich dreier Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test und zweier Gruppen der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Tabelle 2: Zusammenfassung der stetigen Variablen

Empirische Analyse

Wie im Forschungsdesign beschrieben sind die Variablen GFR und Alkoholkonsum ordinalskaliert. Die Ausprägungen der GFR unterscheiden sich an Tag 1 ($p=1,01e^{-5}$) und Tag 2 ($p=0,0031$) zwischen den Gruppen. Die Häufigkeitsverteilung der Probanden auf die Ausprägungen dieser Merkmale findet sich in Tabelle 3.

		Schlaganfall	Stroke Mimics	Kontrollgruppe	Signifikanz* des Gruppenvergleichs
GFR (Tag 1)	<15 mL/min	0	0	0	< 0,0001 (0.0002)
	15-29 mL/min	4	0	0	
	30-59 mL/min	50	0	3	
	60-89 mL/min	77	12	15	
	>90 mL/min	27	12	9	
	na	32	0	3	
GFR (Tag 2)	<15 mL/min	0	0	-	0.0031 (0,0276)
	15-29 mL/min	4	0		
	30-59 mL/min	36	0		
	60-89 mL/min	97	9		
	>90 mL/min	29	7		
	na	24	8		
Alkohol- konsum	<7	124	17	27	0,1063 (0.5793)
	7-14	22	1	1	
	15-21	8	0	1	
	>21	4	0	1	
	na	32	6	0	

Fehlende Angaben zu dem jeweils betrachteten Merkmal in den Datensätzen werden zur Ausprägung non available (na) gezählt.

* Für den Vergleich dreier Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test und zweier Gruppen der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

In Klammern wurde das Ergebnis des exakten Tests nach Fisher-Freeman-Halton beziehungsweise nach Fisher angegeben.

Tabelle 3: Zusammenfassung der ordinalskalierten Variablen

Ergänzend wurden Angaben zu bekannten Vorerkrankungen, zur Familienanamnese sowie zum Nikotinkonsum erhoben. Die Häufigkeitsverteilungen für die nominalskalierten Variablen sind in Tabelle 4 zusammengefasst. In der Gruppe Stroke Mimics und in der Kontrollgruppe sind weniger Vorerkrankungen zu

	Schlaganfall				Stroke Mimics				Kontrollgruppe				Signifikanz* d. Gruppen- vergleichs
	ja	nein	na	%	ja	nein	na	%	ja	nein	na	%	
Nikotinabusus	89	96	5	48,1	7	14	3	33,3	11	19	0	36,7	0,2849
Familienanamnese	152	30	8	83,5	5	15	4	25,0	2	28	0	6,7	0,1903
Arterielle Hypertonie	162	28	0	85,3	10	13	1	43,5	14	16	0	46,7	< 0,0001
Hypercholesterinämie	68	122	0	35,8	7	16	1	30,4	10	20	0	33,3	0,9157
DM Typ I	0	186	4	0,0	0	23	1	0,0	0	30	0	0,0	-
DM Typ II	32	155	3	17,1	3	20	1	13,0	1	29	0	3,3	0,1323
MI	12	173	5	6,5	0	23	1	0,0	1	29	0	3,3	0,6808
Z.n. TIA	7	180	3	3,7	2	21	1	8,7	0	30	0	0,0	0,2199
Z.n. Schlaganfall	42	146	2	22,3	4	19	1	17,4	0	30	0	0,0	0,0043
Z.n. SVT	0	187	3	0,0	1	22	1	4,3	0	30	0	0,0	0,0958
Z.n. SAB	0	187	3	0,0	1	22	1	4,3	0	30	0	0,0	0,0958
Z.n. ICB	2	185	3	1,1	1	22	1	4,3	0	30	0	0,0	0,2993
Z.n. SDH	0	187	3	0,0	1	22	1	4,3	0	30	0	0,0	0,0958
Z.n. SHT	16	170	4	8,6	0	23	1	0,0	0	30	0	0,0	0,1140
Malignität	26	161	3	13,9	3	20	1	13,0	5	25	0	16,7	0,9449
Hypertriglyceridämie	2	181	7	1,1	0	23	1	0,0	0	29	1	0,0	1,0000
Sonstige Dyslipidämie	2	181	7	1,1	1	22	1	4,3	0	29	1	0,0	0,3033
VHF	56	131	3	29,9	1	22	1	4,3	1	29	0	3,3	0,0001
KHK	33	154	3	17,6	4	19	1	17,4	2	28	0	6,7	0,3480
pAVK	12	175	3	6,4	0	23	1	0,0	0	30	0	0,0	0,2577
COPD	11	176	3	5,9	0	23	1	0,0	0	30	0	0,0	0,3805
Rheuma	10	175	5	5,4	0	23	1	0,0	0	30	0	0,0	0,4242
Allergien	41	145	4	22,0	5	18	1	21,7	1	29	0	3,3	0,0365
Z.n. TVT/LAE	15	171	4	8,1	2	21	1	8,7	0	30	0	0,0	0,2573
Asthma	11	175	4	5,9	1	22	1	4,3	1	28	1	3,4	1,0000
Lebererkrankungen	15	171	4	8,1	3	20	1	13,0	0	30	0	0,0	0,1415
Nierenerkrankungen	23	162	5	12,4	1	22	1	4,3	3	27	0	10,0	0,6675
GI-Erkrankungen	31	154	5	16,8	1	22	1	4,3	2	28	0	6,7	0,1531
SD-Erkrankungen	44	142	4	23,7	7	16	1	30,4	4	26	0	13,3	0,2918

Fehlende Angaben zu dem jeweils betrachteten Merkmal in den Datensätzen werden zur Ausprägung non available (na) gezählt.

* Für den Vergleich der Gruppen wurde der exakte Test nach Fisher-Freeman-Halton verwendet.

Tabelle 4: Zusammenfassung der nominalskalierten Vorerkrankungen

beobachten als in der Schlaganfallgruppe. Der Rückschluss auf die Gesamtpopulation ist jedoch aufgrund der geringen Probandenzahl in den beiden Vergleichsgruppen eingeschränkt.

16 der 29 untersuchten Vorerkrankungen treten nicht in allen Probandengruppen auf. Im gruppenübergreifenden Vergleich zeigt sich, dass in der Schlaganfallgruppe anteilig mehr Patienten mit positiver Familienanamnese, arterieller Hypertonie, Nikotinabusus, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus Typ II, Vorhofflimmern, Asthma, Nierenerkrankungen und Erkrankungen des gastrointestinalen Trakts (GIT) zu finden sind als in den anderen Gruppen. Der Unterschied in der Verteilung ist jedoch nach dem exakten Fisher-Freeman-Halton-Test nur für die Parameter arterielle Hypertonie ($p=3,18e^{-8}$), Schlaganfall in der Vorgeschichte ($p=0,0043$), Vorhofflimmern ($p=0,0001$) und Allergien ($p=0,0365$) signifikant.

4.2 Bivariate Korrelationsanalyse der Probandengruppen

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den Parametern und dem NfL-Spiegel werden bivariate Korrelationsanalysen durchgeführt. Das Kapitel besteht aus der Analyse für die drei Probandengruppen sowie der Analyse für die Werte in wiederholten Blutproben im zeitlichen Verlauf bei einem Teil der Schlaganfallpatienten. Die Analyse der drei Probandengruppen ist nach den Auswertungen für die stetigen, ordinalskalierten und nominalskalierten Variablen gegliedert. Abschließend erfolgt eine Zusammenfassung der Ergebnisse auf der Basis eines gruppenübergreifenden Vergleichs.

4.2.1 Korrelationsanalyse der Gruppe Schlaganfall

Nachfolgend werden die Ergebnisse der Korrelationsanalyse für die Gruppe Schlaganfall, die aus 190 Probanden besteht und sich durch einen hohen durchschnittlichen NfL-Spiegel charakterisiert, beschrieben.

4.2.1.1 Stetige Variablen

Die Zusammenhänge zwischen den NfL-Werten und den stetigen Variablen werden mittels der Korrelationsanalyse nach Spearman untersucht. Die zugrundeliegenden Streudiagramme und Ergebnisse in Form des Rangkorrelationskoeffizienten und des Signifikanzwerts sind in der Abbildung 4 zusammengefasst. Das Alter korreliert mit hoher Signifikanz positiv mit dem NfL-Wert. Bei den Laborwerten des ersten Tages korrelieren die Variablen Kreatinin und CRP positiv sowie Kreatinkinase, Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit negativ mit dem NfL-Wert. Die beobachteten Korrelationen für Kreatinin, CRP, Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit bestätigen sich auch für die Laborwerte des zweiten Tages. Darüber hinaus besteht ein hochsignifikanter statistischer Zusammenhang zwischen den NfL-Werten und Albumin, das nur am zweiten Tag gemessen wurde.

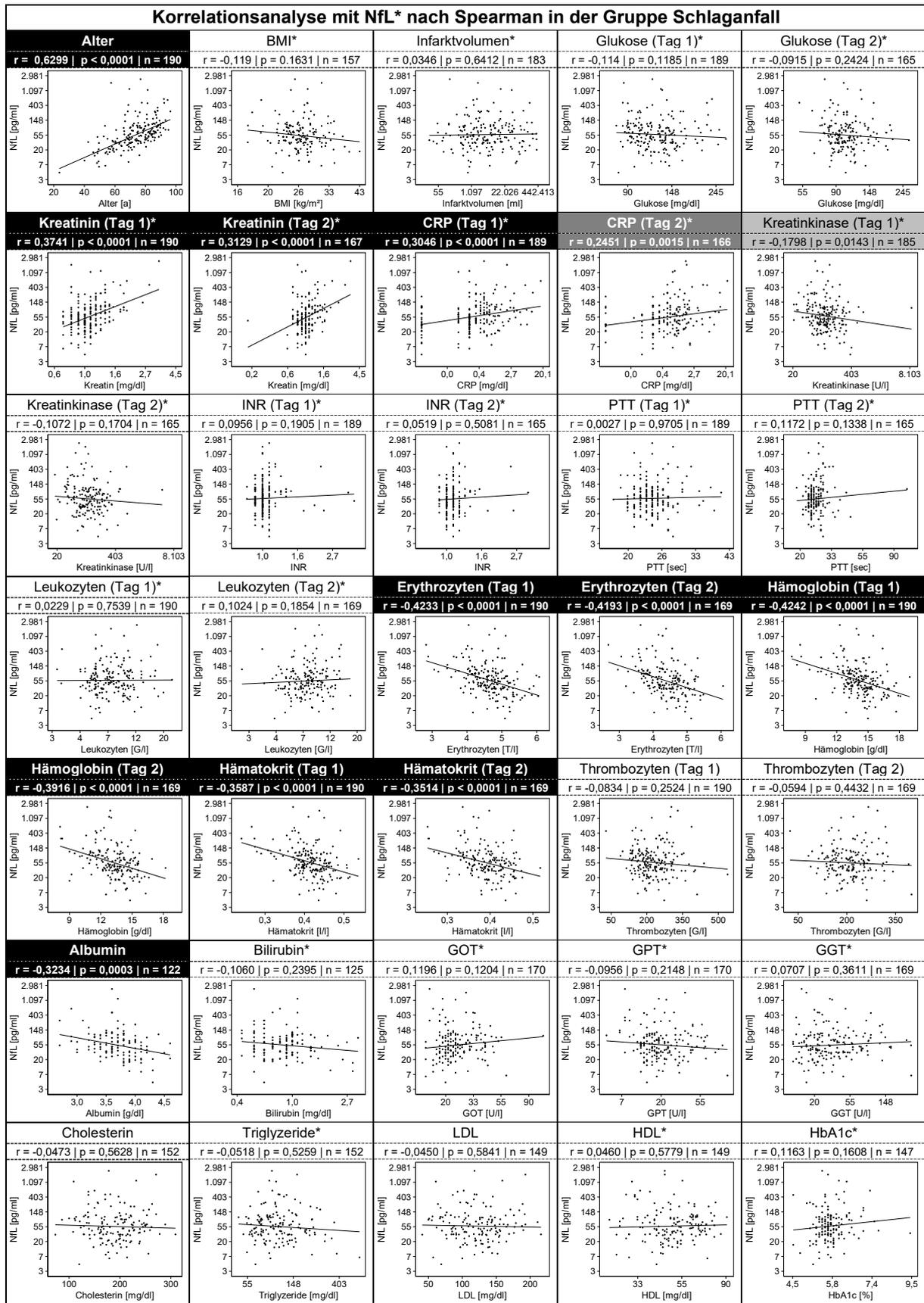
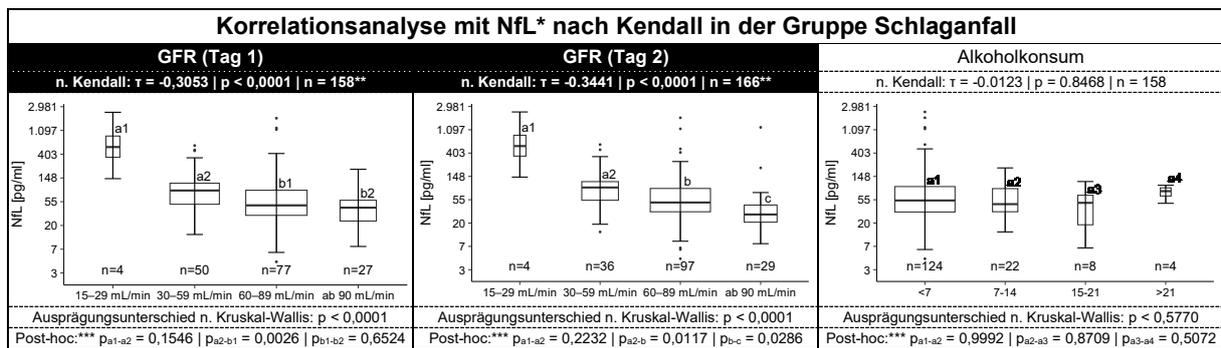


Abbildung 4: Korrelation von nFL-Werten mit stetigen klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Schlaganfall

4.2.1.2 Ordinalskalierte Variablen

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen den NfL-Spiegeln und den ordinalskalierten Variablen GFR und Alkoholkonsum sind in Abbildung 5 als Kastendiagramme dargestellt. Der GFR-Wert des ersten Tages weist einen statistisch signifikanten negativen Zusammenhang mit den NfL-Werten auf. Dieser Zusammenhang zeigt sich auch für die GFR-Werte des zweiten Tages. Die Signifikanz des Zusammenhangs ist als hoch einzustufen. Die Ergebnisse werden durch die Korrelationsanalyse mit den vorhandenen metrischen GFR-Werten beider Tage gestützt. Zwischen der wöchentlich konsumierten Alkoholmenge und dem NfL-Spiegel kann kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden.



Hohe Signifikanz mit $p < 0,001$

* Werte sind transformiert. Die Darstellung erfolgt auf einer logarithmischen Skala zur Basis e mit gerundeten Achsenwerten.

** Ergänzendes Ergebnis einer Korrelationsanalyse nach Spearman für die vorhandenen metrischen Werte:

NfL ~ GFR (Tag 1): $r = -0,4963$ | $p < 0,0001$ | $n = 116$ || NfL ~ GFR (Tag 2): $r = -0,5777$ | $p < 0,0001$ | $n = 100$

*** Post-hoc-Testung für Kruskal-Wallis-Test mit Nemenyi-Test (Meth. n. Tukey, Adj. n. Bonferroni). Darstellung der Ergebnisse mittels Compact Letter Display. P-Werte des Post-hoc-Tests zwischen den geordneten Ausprägungen angeben.

Abbildung 5: Korrelation von NfL-Werten mit ordinalskalierten klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Schlaganfall

4.2.1.3 Nominalskalierte Variablen

Die statistischen Zusammenhänge zwischen den nominalskalierten Parametern und den NfL-Leveln werden mittels Mann-Whitney-U-Test untersucht. Die Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests sowie die Kastendiagramme sind in Abbildung 6 zusammengefasst. Die Vorerkrankungen, Diabetes mellitus Typ 1, Sinusvenenthrombose, Subarachnoidalblutung und Subduralhämatom werden in dieser Analyse nicht berücksichtigt, da sie in der untersuchten Kohorte von Patienten mit Schlaganfall nicht auftreten.

Das Vorliegen von arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2, Nierenerkrankungen, peripherer arterieller Verschlusskrankheit, maligner Vorerkrankung, koronarer Herzkrankheit, Vorhofflimmern und Schlaganfall in der Vorgeschichte sowie die Zugehörigkeit zum weiblichen Geschlecht zeigen eine signifikante Assoziation mit NfL-Werten. Patienten mit diesen Merkmalen weisen auf Basis des Medianvergleichs höhere NfL-Spiegel auf. Eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Ereignisse ist dagegen statistisch negativ mit den NfL-Werten assoziiert.

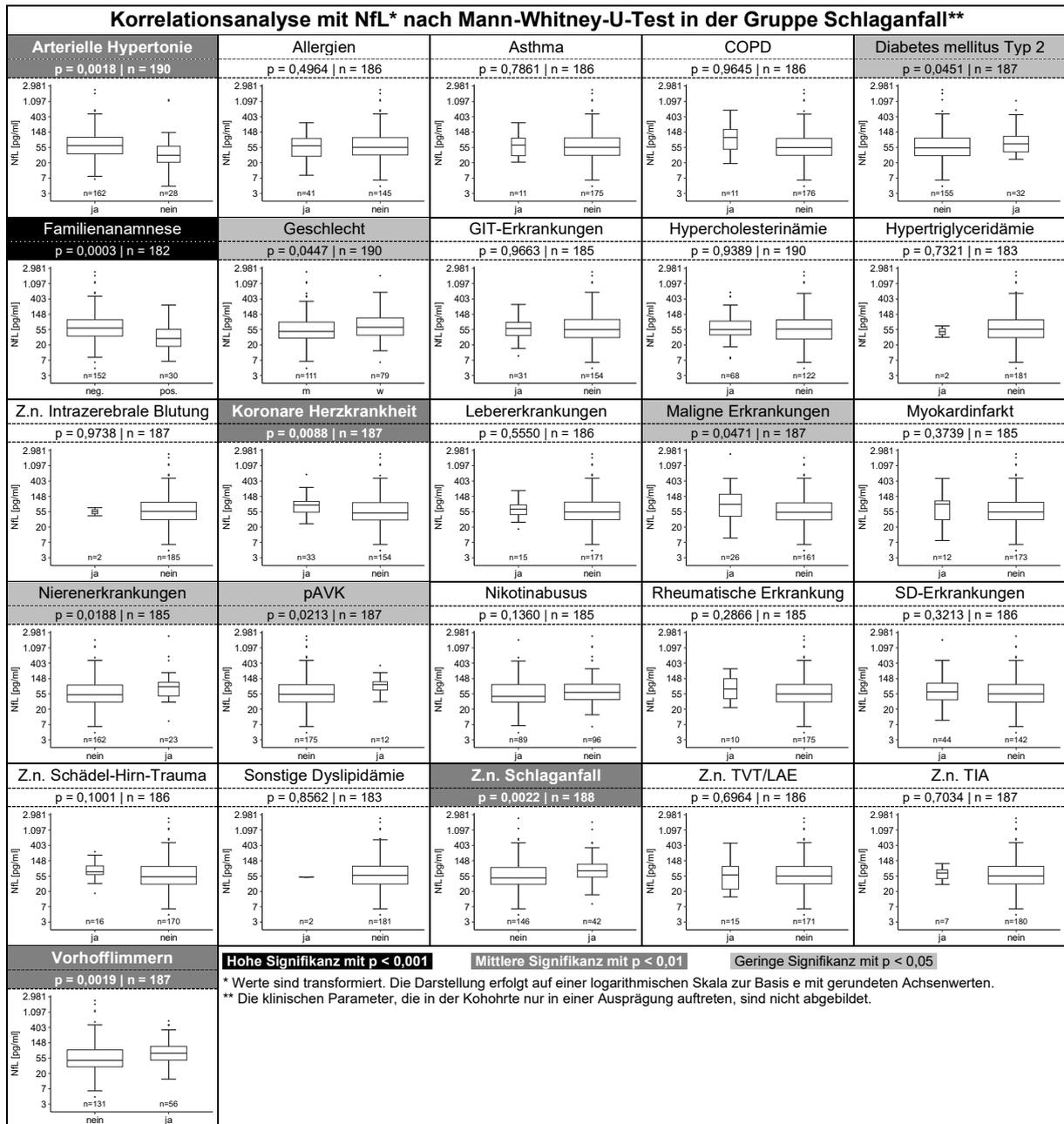


Abbildung 6: Korrelation von NfL-Werten mit nominalskalierten klinischen Parametern bei Patienten mit Schlaganfall

4.2.2 Korrelationsanalyse der Gruppe Stroke Mimics

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Korrelationsanalyse für die Stroke Mimics Gruppe, bestehend aus 24 Probanden, beschrieben. Die Probanden zeichnen sich im Vergleich zu den Schlaganfallpatienten durch ein durchschnittlich niedrigeres Alter und einen niedrigeren NfL-Wert aus. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt analog zur Analyse der Schlaganfallgruppe.

4.2.2.1 Stetige Variablen

Die Zusammenhänge zwischen den NfL-Leveln und den stetigen Variablen sind in Abbildung 7 zusammengefasst. Das Alter korreliert mit hoher Signifikanz positiv mit den NfL-Werten. Die übrigen Variablen weisen keine signifikanten Korrelationen auf.

Empirische Analyse

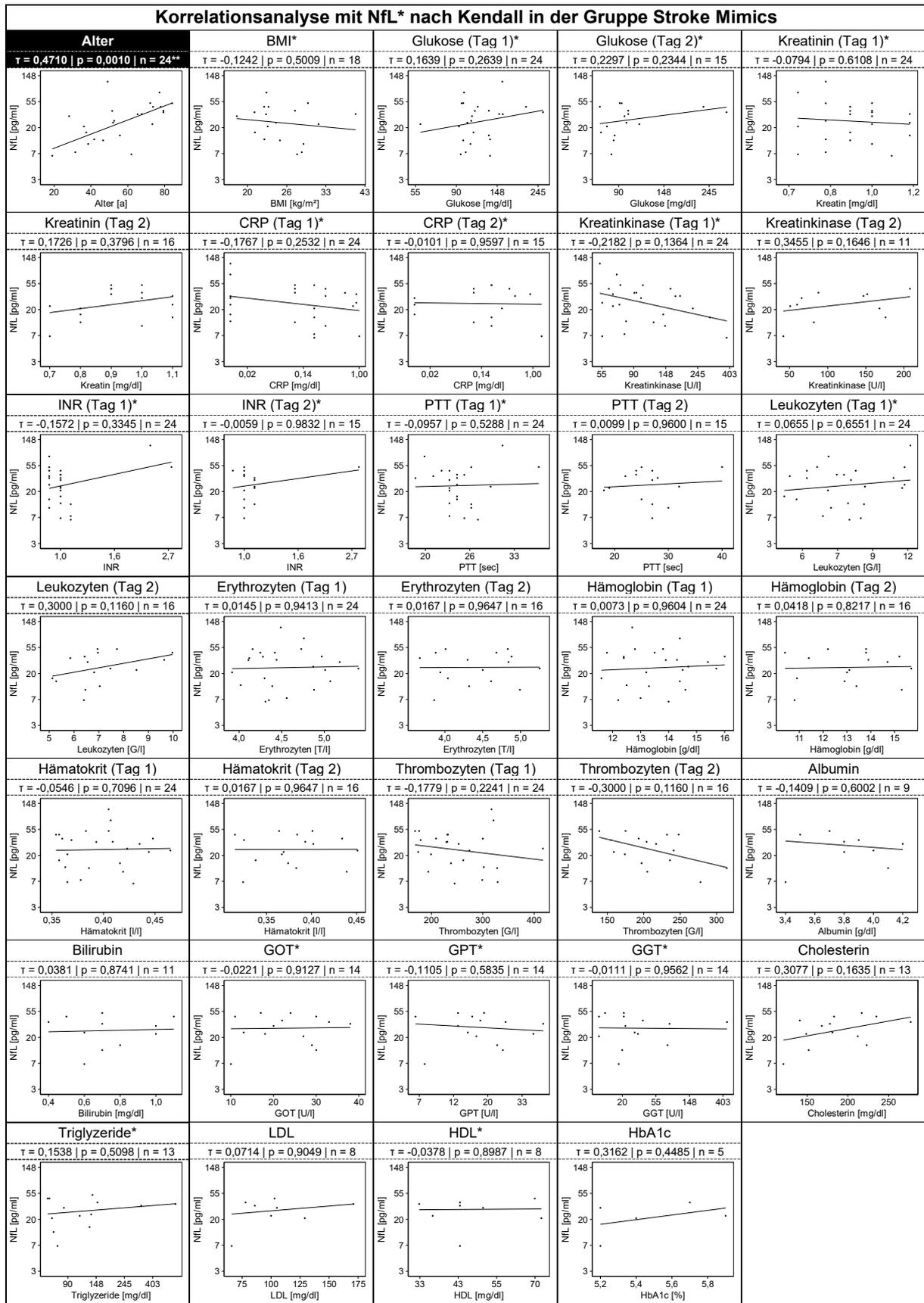
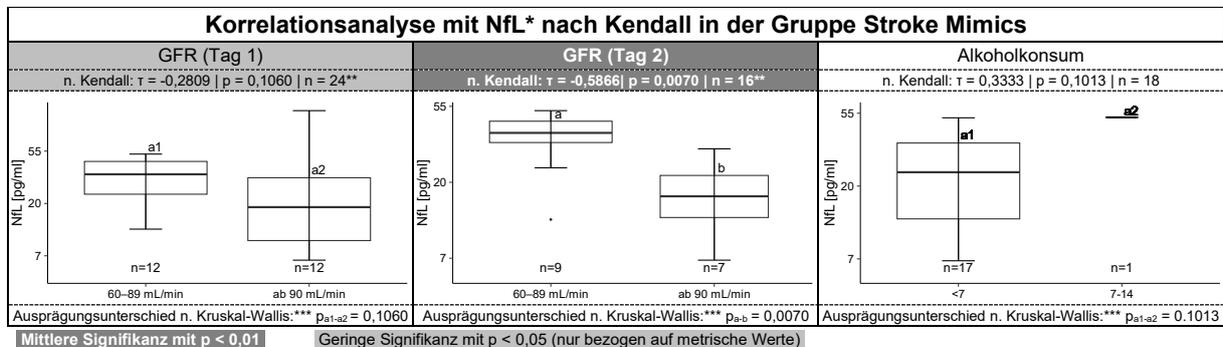


Abbildung 7: Korrelation von nFL-Werten mit stetigen klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Stroke Mimics

Empirische Analyse

4.2.2.2 Ordinalskalierte Variablen

Die Zusammenhänge zwischen den NfL-Werten und den ordinalskalierten Variablen sind in Abbildung 8 abgebildet. GFR weist an Tag 1 nur mit den metrischen Werten und an Tag 2 auch auf der Ordinalskala eine signifikante negative Korrelation auf. Die Analysemöglichkeiten für den Alkoholkonsum sind stark eingeschränkt.



* Werte sind transformiert. Die Darstellung erfolgt auf einer logarithmischen Skala zur Basis e mit gerundeten Achsenwerten.

** Ergänzendes Ergebnis einer Korrelationsanalyse nach Kendall für die vorhandenen metrischen Werte:

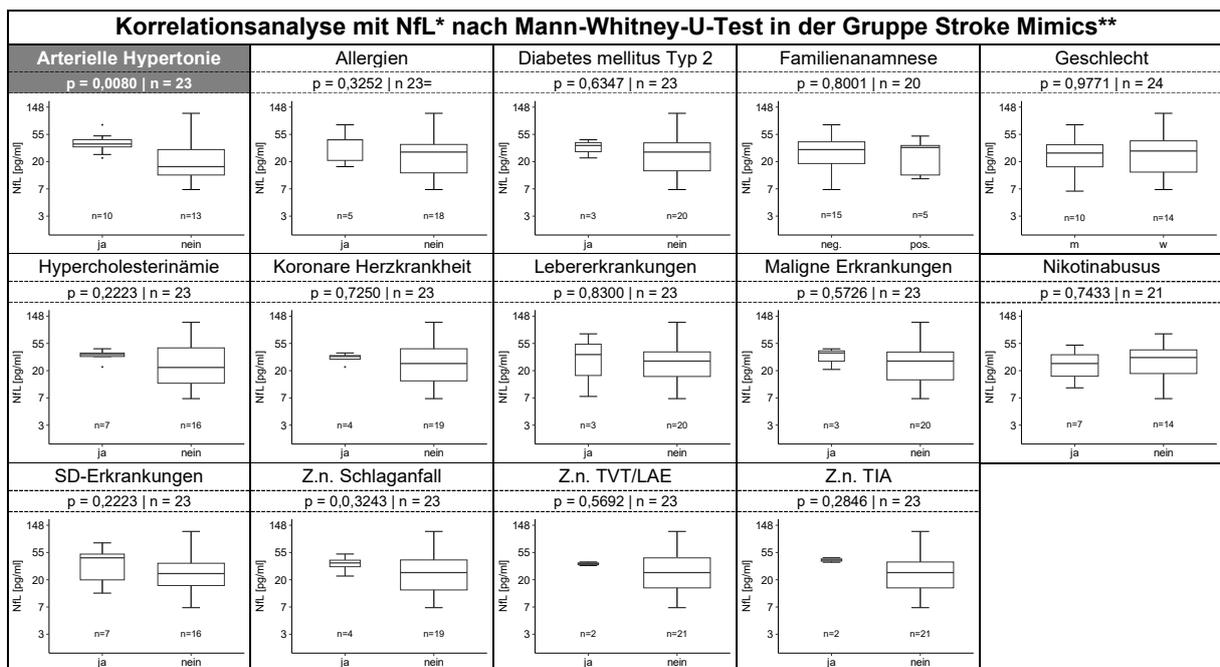
NfL ~ GFR (Tag 1): $\tau = -0,3421$ | $p = 0,0316$ | $n = 21$ || NfL ~ GFR (Tag 2): $\tau = -0,4516$ | $p = 0,0324$ | $n = 13$

*** Darstellung des Ergebnisses mittels Compact Letter Display. Keine Post-hoc-Testung, da nur 2 Ausprägungen.

Abbildung 8: Korrelation von NfL-Werten mit ordinalskalierten klinischen und laborchemischen Parametern bei Patienten mit Stroke Mimics

4.2.2.3 Nominalskalierte Variablen

Die Zusammenhänge zwischen den nominalskalierten Parametern und den NfL-Werten sind in Abbildung 9 dargestellt. Nur arterielle Hypertonie korreliert signifikant. Diabetes mellitus Typ I, Myokardinfarkt, Schädelhirntrauma, Hypertriglyzeridämie, periphere arterielle Verschlusskrankheit, chronisch obstruktive Lungenerkrankung und rheumatologische Erkrankungen treten in der Kohorte nicht auf.



* Werte sind transformiert. Die Darstellung erfolgt auf einer logarithmischen Skala zur Basis e mit gerundeten Achsenwerten.

** Die klinischen Parameter, die in der Kohorte nur in einer Ausprägung auftreten, sind nicht abgebildet.

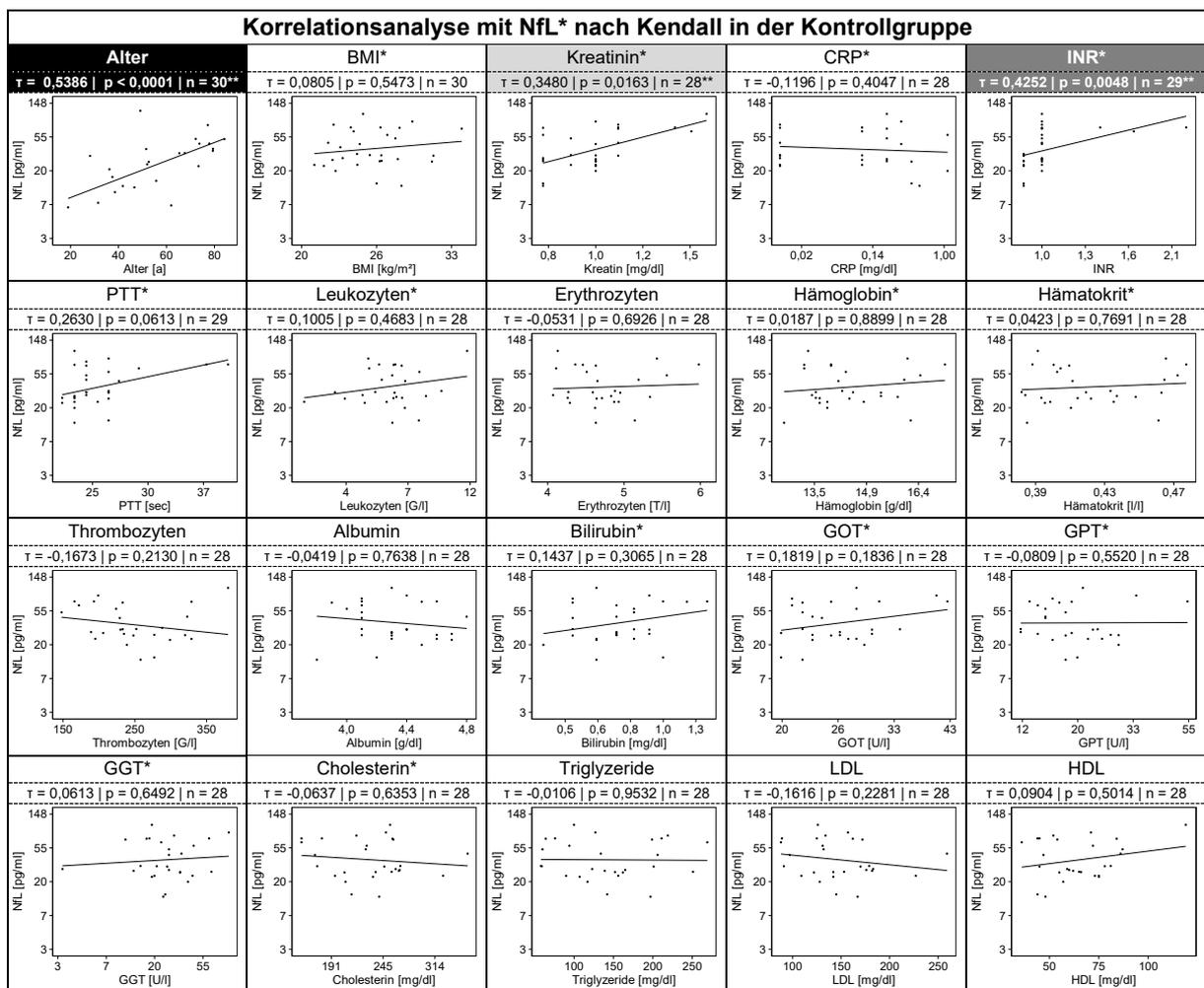
Abbildung 9: Korrelation von NfL-Werten mit nominalskalierten klinischen Parametern bei Patienten mit Stroke Mimics

4.2.3 Korrelationsanalyse der Kontrollgruppe

Im Folgenden sind die Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalysen für die Kontrollgruppe, bestehend aus 30 Probanden, aufgeführt. Diese Probanden zeichnen sich im Vergleich zur Schlaganfallgruppe durch einen durchschnittlich niedrigeren NfL-Spiegel aus. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt analog zur Analyse der Schlaganfallgruppe. Aufgrund des gruppenbedingten Fehlens einer zweiten Blutabnahme und des Nichtvorhandenseins bestimmter Vorerkrankungen werden jedoch deutlich mehr Variablen nicht aufgeführt und analysiert.

4.2.3.1 Stetige Variablen

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen den NfL-Werten und den stetigen Variablen in Form des Rangkorrelationskoeffizienten, des Signifikanzwerts sowie die zugrundeliegenden Streudiagramme sind in Abbildung 10 zusammengefasst. Das Alter sowie die Laborparameter INR und Kreatinin zeigen eine signifikante positive Korrelation mit den NfL-Leveln. Die Höhe des Signifikanzniveaus variiert.



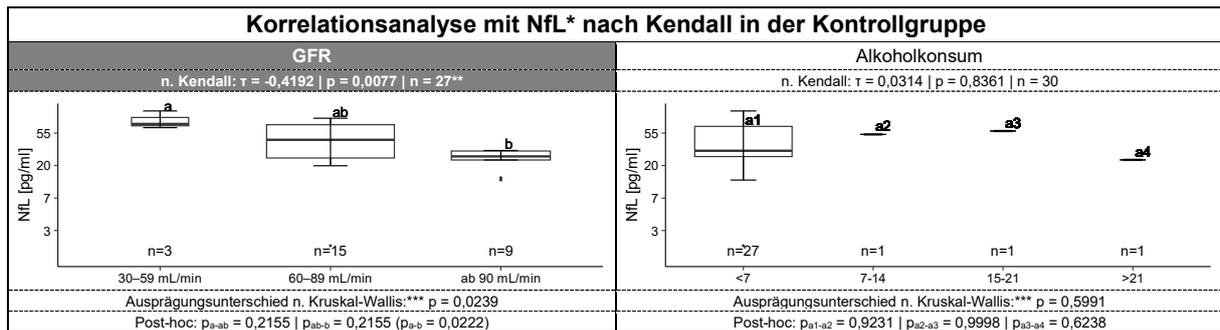
Hohe Signifikanz mit $p < 0,001$ | Mittlere Signifikanz mit $p < 0,01$ | Geringe Signifikanz mit $p < 0,05$
 * Werte sind transformiert. Die Darstellung erfolgt auf einer logarithmischen Skala zur Basis e mit gerundeten Achsenwerten.
 ** Ergänzendes Ergebnis einer Korrelationsanalyse nach Spearman: NfL ~ Alter: $r = 0,7198 \mid p < 0,0001 \mid n = 30$ || NfL ~ Kreatinin: $r = 0,4754 \mid p = 0,0106 \mid n = 28$ ||
 NfL ~ INR: $r = 0,5292 \mid p = 0,0032 \mid n = 29$

Abbildung 10: Korrelation von NfL-Werten mit stetigen klinischen und laborchemischen Parametern bei Probanden der Kontrollgruppe

Empirische Analyse

4.2.3.2 Ordinalskalierte Variablen

Die Zusammenhänge zwischen den NFL-Werten und den ordinalskalierten Variablen GFR und Alkoholkonsum sind in Abbildung 11 zusammengefasst. Die GFR weist einen signifikanten negativen Zusammenhang mit dem NfL-Spiegel auf. Unter Berücksichtigung der vorhandenen metrischen Werte kann der Zusammenhang auch als hoch signifikant bewertet werden. Zwischen den NfL-Werten und dem Alkoholkonsum kann vor dem Hintergrund des jeweils nur einmaligen Auftretens der höheren Ausprägungen kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden.



Mittlere Signifikanz mit $p < 0,01$

* Werte sind transformiert. Die Darstellung erfolgt auf einer logarithmischen Skala zur Basis e mit gerundeten Achsenwerten.

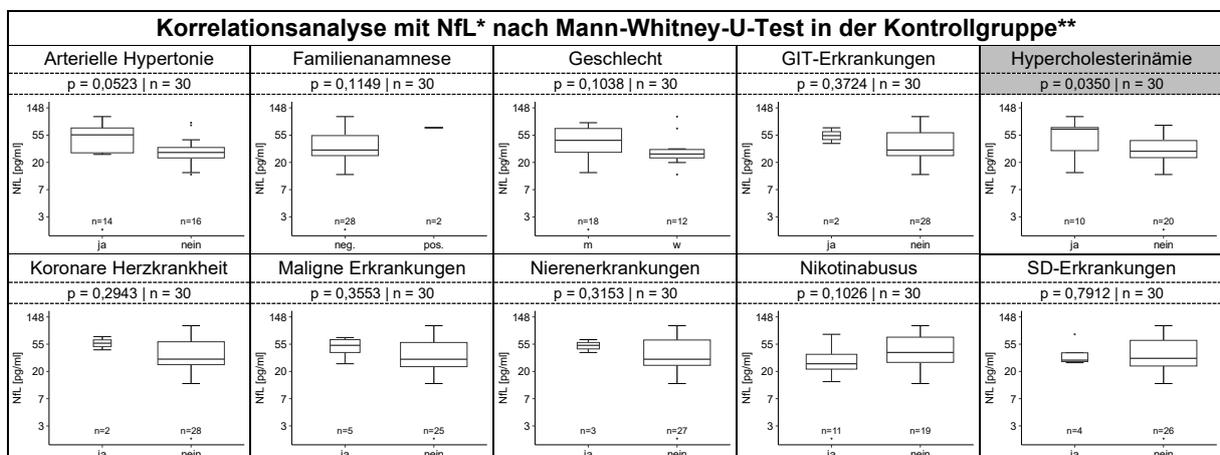
** Ergänzendes Ergebnis einer Korrelationsanalyse nach Kendall für die vorhandenen metrischen Werte: NfL ~ GFR: $\tau = -0,5240$ | $p = 0,0005$ | $n = 23$

*** Post-hoc-Testung für Kruskal-Wallis-Test mit Nemenyi-Test (Meth. n. Tukey, Adj. n. Bonferroni). Darstellung der Ergebnisse mittels Compact Letter Display. P-Werte des Post-hoc-Tests zwischen den geordneten Ausprägungen angegeben.

Abbildung 11: Korrelation von NfL-Werten mit ordinalskalierten klinischen und laborchemischen Parametern bei Probanden der Kontrollgruppe

4.2.3.3 Nominalskalierte Variablen

Die Ergebnisse und die entsprechenden Kastendiagramme der Korrelationsanalysen zwischen den nominalskalierten Parametern und den NfL-Werten sind in Abbildung 12 zusammengefasst. Vorerkrankungen, die in der Stichprobe nicht vorkommen, werden bei der Analyse nicht berücksichtigt. Probanden mit Hypercholesterinämie weisen bei signifikanter Assoziation höhere NfL-Werte auf als Probanden ohne diese Komorbidität.



Geringe Signifikanz mit $p < 0,05$

* Werte sind transformiert. Die Darstellung erfolgt auf einer logarithmischen Skala zur Basis e mit gerundeten Achsenwerten.

** Die klinischen Parameter, die in der Kohorte nur in einer Ausprägung auftreten, sind nicht abgebildet.

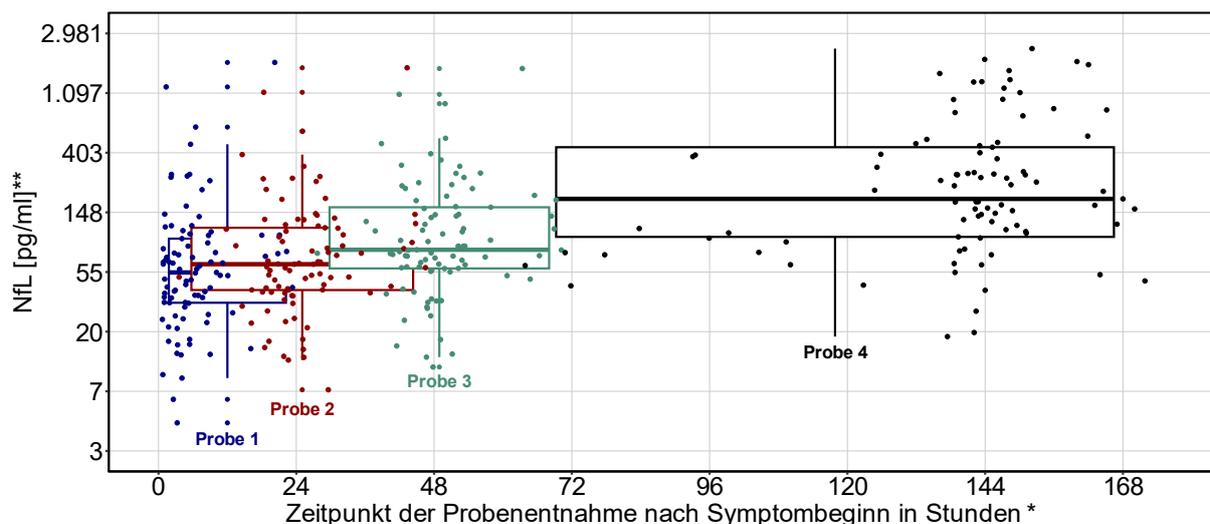
Abbildung 12: Korrelation von NfL-Werten mit nominalskalierten klinischen Parametern bei Probanden der Kontrollgruppe

4.2.4 Korrelationsanalyse mit wiederholten Blutproben im zeitlichen Verlauf

Bei 89 Patienten aus der Schlaganfallgruppe liegen wiederholte Blutabnahmen zur longitudinalen NfL-Messung und Labordiagnostik vor. Der Zeitpunkte der vier Blutabnahmen variieren aus den in Kapitel 3.2 genannten, ablaufbezogenen Gründen. Im Überblick sind die Zeitpunkte der Probenabnahme nach Symptombeginn in Stunden [h] wie folgt

- für Probe 1: Median= 4,83; Mittelwert = 6,15; Min = 0,67; Max = 23,33;
- für Probe 2: Median= 24,27; Mittelwert = 25,33; Min = 6,42; Max = 46,50;
- für Probe 3: Median= 48,17; Mittelwert = 49,36; Min = 27,67; Max = 70,17;
- für Probe 4: Median= 143,15; Mittelwert = 138,37; Min = 63,87; Max = 171,83.

Die Lage der NfL-Werte der vier aufeinanderfolgenden Proben ist in Abbildung 13 dargestellt. Es ist visuell zu erkennen, dass die NfL-Werte bei den wiederholten Messungen mit der Zeit anzusteigen scheinen. Nach dem Friedman-Test unterscheiden sich die NfL-Werte der Proben signifikant ($p < 2,2e^{-16}$). Die Unterschiede sind zwischen Probe 2 und Probe 3 ($p = 4,83e^{-7}$) sowie zwischen Probe 3 und Probe 4 ($p = 3,23e^{-6}$) signifikant.



* Die vier Proben liegen für jeden der 89 Probanden vor. Die Position der Boxplots auf der x-Achse entspricht dem Mittelwert der Extremen.
** Varianzanalyse der NfL-Werte mit Messwiederholung nach Friedman-Test: $p < 0,0001$, $n = 89$; Post-hoc Testung mit friedmanmc {pgirmess}: Multiple Comparisons after Friedman Test $p_{\text{Probe 1-Probe 2}} = 0,0816$; $p_{\text{Probe 2-Probe 3}} < 0,0001$ ($p_{\text{Probe 1-Probe 3}} < 0,0001$); $p_{\text{Probe 3-Probe 4}} < 0,0001$.

Abbildung 13: NfL-Werte der untersuchten Proben in der longitudinalen Kohorte

Die Auswahl der im Rahmen der vier Proben bestimmten, stetigen Laborparameter ist durch die Routinelabordiagnostik im Krankenhaus und die Entscheidung des behandelnden Arztes bedingt. Einige Parameter sind nur in bestimmten Proben enthalten. Auch bei den Laborparametern lassen die Ergebnisse des Friedman-Tests beziehungsweise Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummentest auf eine Variabilität der Werte zwischen den Proben schließen. Alter und BMI werden aufgrund des kurzen Überwachungszeitraums konstant gehalten. Die Infarktgröße wurde nur einmalig bestimmt. Sie wird über die vier Proben als konstant gehaltener Parameter

Empirische Analyse

berücksichtigt. Um zu untersuchen, ob Unterschiede der Zusammenhänge bei den schwankenden, laborchemisch gemessenen Variablen sowie dem Alter, BMI und der Infarktgröße mit den NfL-Werten existieren, werden innerhalb der einzelnen Proben Korrelationsanalysen durchgeführt. Die Ergebnisse werden verglichen und sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Parameter	Varianz* p-Wert n	Korrelations- analyse**	Werte von ...				Ergeb- nis***
			... Probe 1	... Probe 2	... Probe 3	... Probe 4	
Alter	konstant	r-Wert:	0,6695	0,5175	0,4730	0,3180	●
		p-Wert n:	< 0,0001 89	< 0,0001 89	< 0,0029 89	< 0,0024 89	
BMI	konstant	r-Wert:	0,0487	0,0235	0,0166	0,2215	○
		p-Wert n:	0,6723 78	0,8379 78	0,8854 78	0,0514 78	
Infarkt volumina	konstant	r-Wert:	0,0756	0,1416	0,3101	0,6555	◐
		p-Wert n:	0,4884 86	0,1931 86	0,0037 86	< 0,0001 86	
Glukose	< 0,0001 83	r-Wert:	-0,0619	0,0511	-	-	○
		p-Wert n:	0,5667 88	0,6443 84	-	-	
Kreatinin	< 0,0001 79	r-Wert:	0,3955	0,2646	0,1699	0,1451	◐
		p-Wert n:	0,0001 89	0,0144 85	0,1201 85	0,1799 87	
CRP	< 0,0001 79	r-Wert:	0,4187	0,3802	0,4761	0,5456	●
		p-Wert n:	0,0491 88	0,0004 84	0,0041 85	0,0001 87	
Kreatinkinase	0,398 32	r-Wert:	-0,2684	-0,0342	-0,2663	-	◐
		p-Wert n:	0,0130 85	0,7563 85	0,1221 35	-	
INR	< 0,0001 77	r-Wert:	0,1123	-0,0268	0,0283	0,1457	○
		p-Wert n:	0,2974 88	0,8102 83	0,7958 86	0,1808 86	
PTT	< 0,0001 77	r-Wert:	0,0038	0,1198	0,0096	0,0150	○
		p-Wert n:	0,9720 88	0,2805 83	0,9300 86	0,8906 86	
Leukozyten	0,0175 81	r-Wert:	0,0521	0,1062	0,1802	0,1932	○
		p-Wert n:	0,6280 89	0,3334 85	0,0949 87	0,0730 87	
Erythrozyten	< 0,0001 81	r-Wert:	-0,4363	-0,4330	-0,4017	-0,5017	●
		p-Wert n:	0,0192 89	0,0348 85	0,0001 87	0,0007 87	
Hämoglobin	< 0,0001 81	r-Wert:	-0,4659	-0,4278	-0,4031	-0,5001	●
		p-Wert n:	< 0,0001 89	0,0444 85	0,0001 87	0,0008 87	
Hämatokrit	< 0,0001 81	r-Wert:	-0,3936	-0,3932	-0,3734	-0,4347	●
		p-Wert n:	0,0001 89	0,0002 85	0,0004 87	0,0258 87	
Thrombozyten	< 0,0001 81	r-Wert:	0,0049	0,0307	0,0104	-0,0302	○
		p-Wert n:	0,9639 89	0,7802 85	0,9240 87	0,7810 87	
Albumin	0,8628 58	r-Wert:	-	-0,3577	-0,3472	-0,5812	◐
		p-Wert n:	-	0,0025 69	0,0014 82	< 0,0001 82	
Bilirubin	-	r-Wert:	-	-0,3177	-	-	◐
		p-Wert n:	-	0,0093 66	-	-	
GOT	-	r-Wert:	-	0,1667	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,1228 87	-	-	
GPT	-	r-Wert:	-	-0,0559	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,6071 87	-	-	
GGT	-	r-Wert:	-	0,1721	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,1132 86	-	-	
Cholesterin	-	r-Wert:	-	0,0719	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,5343 77	-	-	
Triglyzeride	-	r-Wert:	-	0,0480	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,6787 77	-	-	
LDL	-	r-Wert:	-	0,0153	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,8926 80	-	-	
HDL	-	r-Wert:	-	0,0577	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,6113 80	-	-	
HbA1c	-	r-Wert:	-	0,1753	-	-	○
		p-Wert n:	-	0,1274 77	-	-	

Hohe Signifikanz mit $p < 0,001$

Mittlere Signifikanz mit $p < 0,01$

Geringe Signifikanz mit $p < 0,05$

* Varianzvergleich von 3 oder 4 abhängigen Proben mit dem Friedman-Test. Varianzvergleich von 2 gepaarten Proben mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummentest. Die Parameter Alter, BMI und Infarkt volumina wurden über alle vier Proben als konstant behandelt. Bestimmte Werte wurden nicht in allen Blutproben erhoben.

** Korrelationsanalyse mit den transformierten NfL-Werten nach Spearman.

Tabelle 5: Korrelationsanalyse mit wiederholten Blutproben im zeitlichen Verlauf

Das Alter korreliert mit dem NfL-Spiegel bei hoher Signifikanz in allen untersuchten Proben. Die Höhe der Signifikanz ist in den Proben 1 und 2 am höchsten. Das Infarktvolume zeigt eine signifikante Korrelation mit den NfL-Werten in Probe 3 und 4, wobei der p-Wert in Probe 4 am niedrigsten ist und auf eine hohe Signifikanz anzeigt. Obwohl Kreatinin in Probe 1 eine starke positive Korrelation aufweist, nimmt die Signifikanz in den folgenden Proben ab. Nur in Probe 1 und 2 ist der Zusammenhang signifikant. CRP weist nur in Probe 1 und 2 eine signifikante positive Korrelation mit den NfL-Leveln auf. Kreatinkinase zeigt nur in Probe 1 eine schwache Assoziation mit den NfL-Werten, die in den nachfolgenden Proben nicht bestätigt wird. Albumin, das in Probe 1 nicht enthalten ist, korreliert mit zunehmender Signifikanz mit den NfL-Spiegeln in den Proben 2, 3 und 4. Die Erythrozytenzahl, Hämoglobin und Hämatokrit zeigen in allen vier Proben eine negative Korrelation mit den NfL-Leveln. Die Signifikanz fällt unterschiedlich hoch aus. Bilirubin wurde nur in Probe 2 bestimmt und korreliert mit mittlerer Signifikanz negativ mit den NfL-Werten. Die anderen Leberenzyme GOT, GPT und GGT sowie verschiedene Werte von Blutlipiden und HbA1c wurden ebenfalls nur in Probe 2 bestimmt. Sie zeigen keine statistisch signifikante Korrelation mit den NfL-Werten.

4.2.5 Zusammenfassung der bivariaten Korrelationsanalyse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalysen gruppenübergreifend zusammengefasst. Dies dient auch der Beurteilung der Relevanz der Parameter als Ausgangspunkt für die Modellentwicklung der multiplen linearen Regressionsanalyse.

In der Schlaganfallgruppe zeigt das Alter eine positive Korrelation mit den NfL-Werten. Ebenso zeigen die statistischen Analysen eine positive Korrelation zwischen den am ersten Tag gemessenen NfL-Werten und den sowohl am ersten als auch am zweiten Tag gemessenen CRP- und Kreatininwerten. Kreatinkinase korreliert nur am ersten Tag schwach mit den NfL-Werten und zeigt am zweiten Tag keine signifikante Korrelation. Hämoglobin, Hämatokrit, die Erythrozytenzahl und Albumin weisen eine negative Korrelation mit den NfL-Spiegeln auf. Die Probanden mit niedrigerem GFR-Wert, weiblichem Geschlecht, arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2, Nierenerkrankungen, malignen Erkrankungen, peripherer arterieller Verschlusskrankheit, koronarer Herzkrankheit, überstandenen Schlaganfall und Vorhofflimmern haben auf Basis des Medianvergleichs höhere NfL-Werte. Die Patienten mit einer positiven Familienanamnese für kardiovaskuläre Ereignisse haben niedrigere NfL-Werte. Dies ist ein unerwartetes Ergebnis, da die familiäre Belastung mit kardiovaskulären Ereignissen ein Risikofaktor für Schlaganfall ist. Auch wenn der Einfluss dieses Risikofaktors je nach Schlaganfallsgruppe variieren kann und beispielsweise einen geringeren Einfluss auf den Schlaganfall der kardioembolischen

Genese hat [41], werden aufgrund von theoretischen Überlegungen höhere NfL-Werte bei Patienten mit positiver Familienanamnese erwartet. Das statistische Ergebnis widerspricht diesen theoretischen Überlegungen. Die Familienanamnese wird als Parameter daher nicht im Rahmen der weiteren Modellentwicklung berücksichtigt.

In der Stroke Mimics Gruppe ist der Zusammenhang zwischen dem Alter und den NfL-Spiegeln ebenfalls signifikant. Ebenfalls werden signifikante Zusammenhänge der GFR-Werte von Tag 1 und Tag 2 mit den NfL-Spiegeln beobachtet. Diese sind für die an Tag 1 gemessenen GFR-Werte jedoch nur auf der metrischen Skala mit einer niedrigeren Stichprobengröße signifikant. Arterielle Hypertonie korreliert signifikant mit den NfL-Leveln.

In der Kontrollgruppe korrelieren das Alter, INR sowie Kreatinin signifikant mit den NfL-Spiegeln. Auch zwischen GFR und den NfL-Werten kann ein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Probanden mit Hypercholesterinämie haben höhere NfL-Durchschnittswerte als Probanden ohne diese Komorbiditäten.

Bei der Schlaganfallsgruppe mit wiederholten Blutabnahmen korrelieren das Alter und CRP positiv sowie die Erythrozytenanzahl, Hämoglobin und Hämatokrit bei Probe 1, 2, 3 und 4 negativ mit den NfL-Spiegeln mit variierender Signifikanz. Albumin wurde in der ersten Probe nicht bestimmt, zeigt jedoch in den anderen Proben einen negativen Zusammenhang mit den NfL-Leveln. Kreatinin zeigt nur in Probe 1 und 2 eine positive, signifikante Korrelation mit den NfL-Konzentrationen. Die schwache Korrelation von Kreatinkinase mit den NfL-Spiegeln in Probe 1 kann in den folgenden Proben nicht erneut festgestellt werden. Bilirubin korreliert im Gegensatz zu den Ergebnissen der Schlaganfallgruppe in Probe 2 signifikant mit den NfL-Werten. Der Parameter Bilirubin wurde in keiner anderen Probe erneut bestimmt. Bei der Korrelationsanalyse der Schlaganfallgruppe in Kapitel 4.2.1.1 wurde der Zusammenhang zuvor zwischen dem NfL-Wert des ersten Tages und dem Bilirubinwert des zweiten Tages untersucht. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang. Als weiteres Ergebnis der Schlaganfallsgruppe fällt die Korrelation zwischen dem einmalig erhobenen Infarkt volumen und den NfL-Spiegeln der Proben 3 und 4 signifikant aus.

Die Gegenüberstellung der beschriebenen Zusammenhänge ist in Tabelle 6 zusammengefasst. Es handelt sich um eine Auflistung der durchgeführten bivariaten Korrelationsanalysen und der dabei beobachteten, signifikanten Ergebnisse der statistischen Tests. Es ist möglich, dass bestimmte Faktoren die Aussagekraft dieser Tests limitieren. Eine Hauptlimitation ergibt sich aus der unterschiedlichen Stichprobengröße der Probandengruppen. Dies kann einen wesentlichen Einfluss auf

Empirische Analyse

Untersuchte Parameter (OV = Ordinalskalierte Variable)		Untersuchungsumfang*				Ergebnis Modell-relevanz
		Gruppe Schlaganfall	Gruppe Stroke Mimics	Kontrollgruppe	Longitudinaler Vergleich	
Stetige Variablen	Alter	●	●	●	●	relevant
	BMI	○	○	○	○	-
	Infarkt volumina	○	-	-	○	relevant
	Glukose	○	○	-	{ ○ }	-
	Kreatinin**	●	○	●	{ ● }	relevant
	CRP**	●	○	○	●	relevant
	Kreatinkinase	○	○	-	○	relevant
	INR	○	○	●	○	-
	PTT	○	○	○	○	-
	Leukozyten	○	○	○	○	-
	Erythrozyten**	○	○	○	○	relevant
	Hämoglobin**	○	○	○	○	relevant
	Hämatokrit**	○	○	○	○	relevant
	Thrombozyten	○	○	○	○	-
	Albumin	○	○	○	○	relevant
	Bilirubin	○	○	○	○	relevant
	GOT	○	○	○	{ ○ }	-
	GPT	○	○	○	{ ○ }	-
	GGT	○	○	○	{ ○ }	-
	Cholesterin	○	○	○	{ ○ }	-
Triglyzeride	○	○	○	{ ○ }	-	
LDL	○	○	○	{ ○ }	-	
HDL	○	○	○	{ ○ }	-	
HbA1c	○	○	-	{ ○ }	-	
OV	GFR**	○	○	○	-	relevant
	Alkoholkonsum	○	○	○	-	-
Nominalskalierte Variablen***	Arterielle Hypertonie	●	●	○	-	relevant
	Allergien	○	○	k.A.	-	-
	Asthma	○	k.A.	k.A.	-	-
	COPD	○	k.A.	k.A.	-	-
	Diabetes mellitus Typ 1	k.A.	k.A.	k.A.	-	-
	Diabetes mellitus Typ 2	●	○	k.A.	-	relevant
	Familienanamnese	●	○	○	-	****
	Geschlecht	●	○	○	-	relevant
	Erkrankungen d. gastrointest. Trakts	○	k.A.	○	-	-
	Hypercholesterinämie	○	○	●	-	-
	Hypertriglyceridämie	○	k.A.	k.A.	-	-
	Interzerebrale Blutung	○	k.A.	k.A.	-	-
	Koronare Herzkrankheit	●	○	○	-	relevant
	Lebererkrankungen	○	○	k.A.	-	-
	Maligne Erkrankungen	●	○	○	-	relevant
	Myokardinfarkt	○	k.A.	k.A.	-	-
	Nierenerkrankungen	●	k.A.	○	-	relevant
	Perifere arterielle Verschlusskrankh.	●	k.A.	k.A.	-	relevant
	Nikotinabusus	○	○	○	-	-
	Rheumatische Erkrankung	○	k.A.	k.A.	-	-
	Subarachnoidalblutung	k.A.	k.A.	k.A.	-	-
	Erkrankungen der Schilddrüse	○	○	○	-	-
	Subduralhämatom	k.A.	k.A.	k.A.	-	-
	Schädel-Hirn-Trauma	○	k.A.	k.A.	-	-
	Sinus-Hirnvenenthrombose	k.A.	k.A.	k.A.	-	-
	Sonstige Dyslipidämie	○	k.A.	k.A.	-	-
	Schlaganfall	●	○	k.A.	-	relevant
	Lungenarterienembolie / Tiefb.	○	○	k.A.	-	-
Transiente ischämische Attacke	○	○	k.A.	-	-	
Vorhofflimmern	●	k.A.	k.A.	-	relevant	

* Halbkreis: Korrelation nur an einzelnen Verlaufstagen; { } : Parameter nur in einzelnen Proben enthalten.
k.A.: kein Auftreten in der Kohorte; - : Keine Datenerhebung / Analyse durchgeführt.

** Korrelation in der Gruppe Schlaganfall auch bei Messwiederholungen am zweiten Tag signifikant.

*** Signifikante Korrelationen bei nominalskalierten Variablen mit vollem Harvey-Ball dargestellt ohne Aussage zur Wirkrichtung.

**** Starker Widerspruch zur Theorie. Verworfen zur Vermeidung einer modellbezogenen Falschinterpretation und Ergebnisverzerrung.

Tabelle 6: Zusammenfassung der bivariaten Korrelationsanalyse

die Teststärke und damit auf die Wahrscheinlichkeit haben, dass ein tatsächlicher Effekt zwischen den Parametern und den NfL-Werten erkannt wird. Es ist möglich, dass der Zusammenhang durch die Effekte anderer Parameter und Störvariablen überlagert wird. So wird in der vorliegenden Arbeit beispielsweise die Ätiologie des Schlaganfalls bei der Prüfung der Zusammenhänge zwischen den NfL-Spiegeln und den Vorerkrankungen nicht berücksichtigt. Diese kann jedoch einen wesentlichen Einfluss auf das Ergebnis haben. Die Teststärke findet anteilig Berücksichtigung in der Wahl der Verfahrenstypen für die Korrelationsanalysen zwischen zwei metrisch skalierten Variablen. Diese werden bei Probandengruppen mit geringer Fallzahlen nach Kendall anstatt nach Spearman durchgeführt. Die Verwendung unterschiedlicher statistischer Verfahren kann jedoch die Vergleichbarkeit der Testergebnisse einschränken. Beide Verfahren sind zudem nichtparametrisch und basieren auf Rangordnungen. Dies kann zu Verzerrungen führen, insbesondere wenn die Varianz der Daten hoch ist. In kleineren Gruppen können Ausreißer eine größere Auswirkung auf die Testergebnisse haben. Die Aussagekraft der Tests kann auch durch fehlende Werte oder selten auftretende Ausprägungen in der vorliegenden Convenience-Stichprobe eingeschränkt sein. Bei nominal- und ordinalskalierten Variablen können geringe Zellenhäufigkeiten auftreten. Eine weitere Einschränkung ist die ordinale Skalierung zweier Parameter, die im Vergleich zur Verwendung eines metrischen Skalenniveaus zu Informationsverlusten führen kann. Die Wahl dieses Skalenniveaus war ein Kompromiss bei der Datenerhebung und zur Berücksichtigung der dokumentierten Laborergebnisse. Zusammenfassend wird darauf hingewiesen, dass die Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalyse der Vergleichsgruppen aufgrund der Fallzahlen nur eine eingeschränkte Aussagekraft haben. Die Fallzahlen werden bei der Darstellung der Ergebnisse der statistischen Analysen angegeben. Weitere Hauptlimitationen beziehen sich auf die eingeschränkte Repräsentativität der Convenience-Stichprobe für die Gesamtbevölkerung und die Betrachtung ungerichteter Zusammenhänge. Die Einschränkungen sind bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen.

Im Hinblick auf die Zielsetzung der Arbeit liegt der Fokus auf signifikanten Korrelationen bei Probanden mit Schlaganfall. Für die multiple lineare Regressionsanalyse werden die Variablen als relevant erachtet, die in der Schlaganfallgruppe oder in einzelnen Proben der longitudinalen Schlaganfallsgruppe einen signifikanten Zusammenhang mit den NfL-Werten aufweisen und nicht gegen wichtige theoretische Überlegungen stehen. Dies betrifft 20 Parameter. Für 4 dieser Parameter zeigte sich auch ein signifikanter Zusammenhang mit den NfL-Werten in mindestens einer der beiden Vergleichsgruppen. In der Regressionsanalyse werden die gerichteten Effekte der Parameter auf die NfL-Werte modelliert und untersucht.

4.3 Multiple lineare Regressionsanalyse

Ziel des Kapitels ist die Untersuchung des gleichzeitigen Einflusses der relevanten Parameter aus der bivariaten Korrelationsanalyse auf die NfL-Spiegel bei den Patienten mit Schlaganfall. Hierfür eignen sich multiple lineare Regressionsanalysen. Es wird angenommen, dass NfL die abhängige Variable mehrerer unabhängiger Prädiktoren ist. Das Ergebnis ist ein Prädiktionsmodell, das unter Berücksichtigung statistischer Limitationen einen Erklärungsbeitrag für einen Teil der Varianz des NfL-Spiegels in der Schlaganfallkohorte liefert. Die inhaltliche Analyse dieses Modells dient als Basis für die Ergebnisinterpretation. Die Linearitätsannahme erlaubt auch die Berücksichtigung von nichtlinearen Zusammenhängen und Interaktionen, indem diese als Prädiktoren im Modell berücksichtigt werden. Für die Modellierung existieren unterschiedliche Ansätze, die spezifische Anforderungen an die Erfüllung der Modellannahmen stellen. Die Wahl des Modellierungsansatzes und das Vorgehen der Modellentwicklung sind in Kapitel 4.3.1 beschrieben. Gemäß dem beschriebenen Vorgehen wird in Kapitel 4.3.2 ein multiples lineares Regressionsmodell für die Schlaganfallgruppe entwickelt und geschätzt. Das Modell wird in Kapitel 4.3.3 auf die Vergleichsgruppen und in Kapitel 4.3.4 auf die Schlaganfallsubgruppe mit wiederholten Blutabnahmen angewendet. Unterschiede, die sich bei der Modellanalyse mit den Kohorten zeigen, werden deskriptiv beschrieben. Die Ergebnisse und Limitationen der Analyse sind in Kapitel 4.3.5 zusammengefasst.

4.3.1 Modellierungsansatz und Vorgehen der Modellentwicklung

Die Wahl des Modellierungsansatzes fällt zwischen den Formen der klassischen linearen Regression, der robusten linearen Regression und der verallgemeinerten linearen Regression. Damit das klassische lineare Regressionsmodell mit gültigen Ergebnissen angewendet werden kann, müssen bestimmte Modellannahmen erfüllt sein. Wichtige Annahmen beziehen sich auf das Skalenniveau der abhängigen Variablen, die Linearität und Additivität der Zusammenhänge, die Normalverteilung der Residuen, die Homoskedastizität, die Vermeidung von Multikollinearität, den Ausschluss einflussreicher Ausreißer und die Unabhängigkeit der Beobachtungen beziehungsweise Residuen [177]. Die Annahmen der Normalverteilung der Residuen und der Homoskedastizität konnten in mehreren Testläufen mit klassischen linearen Regressionsmodellen nicht aufrechterhalten werden. Da auch die robuste Regression die Normalverteilung der Residuen voraussetzt, wird der Ansatz der verallgemeinerten linearen Regression gewählt. Unter Berücksichtigung der in Kapitel 3.3 dargestellten rechtsschiefen Verteilung der stetig positiven abhängigen Variable NfL erfolgt die Modellierung unter Annahme einer Gammaverteilung mit Log-Link. Der Link dient der Sicherstellung eines positiven Erwartungswerts.

Im Vorfeld der Modellentwicklung sind allgemeine modelltheoretische Überlegungen zu tätigen. An der Variablentransformation der abhängigen Variable und der unabhängigen Prädiktoren zur Annäherung an die Normalverteilung wird als Ergebnis mehrerer Testläufe mit verschiedenen Modellierungsansätzen festgehalten. Die Transformation führt hier auch zur Annäherung der abhängigen Variable an die Gammaverteilung und dient der Vermeidung von Ausreißern, der Reduzierung der Hebelwirkung von Ausreißern, der Reduzierung von Heteroskedastizität und der Modellierung linearer Zusammenhänge in Analogie zu den durchgeführten bivariaten Korrelationsanalysen. Die Variablentransformation ist eine gängige Praxis bei der statistischen Auswertung in medizinischen Studien. Alternative Modellierungsansätze sind Gegenstand der modernen Statistikforschung. Mögliche Verzerrungen bei der Rücktransformation der Variablen sind eine Limitation des Ansatzes [178]. In dieser Arbeit wird daher auf die Rücktransformation verzichtet. Die logarithmierten Werte werden als solche dargestellt. Darauf aufbauend wird auf die Modellierung nichtlinearer Zusammenhänge im Sinne der quadratischen Regression verzichtet. Dies dient der Begrenzung der Anzahl der Prädiktoren als Maßnahme gegen eine Überanpassung des Modells. Die visuelle Prüfung der Streudiagramme aus Kapitel 4.2 stützt die Überlegungen für diesen möglichen Verzicht. Prädiktoren, bei denen die Modellierung einer quadratischen Regression zu einer höheren Modellgüte führt als die Modellierung einer bivariaten linearen Regression, werden dokumentiert. Die Einhaltung der Modellannahmen wird für diese Modelle nicht gesondert geprüft.

Das Vorgehen der Modellentwicklung zur Prädiktion des transformierten NfL-Werts bei Schlaganfallpatienten gliedert sich in Anlehnung an Steyerberg und Vergouwe in sieben Teilschritte [179, 180]. Die Inhalte der Teilschritte wurden an die Besonderheiten der vorliegenden Arbeit angepasst. Sie gliedern sich in die Abschnitte Prädiktorenselktion, Modellbildung und Modellergebnis. Der erste Abschnitt umfasst die Prüfung und Auswahl der zu berücksichtigenden Prädiktoren. Die Auswahl folgt einem Selektionsprozess, der darauf abzielt, eine ausreichend große Stichprobe zu erhalten und Multikollinearität zu vermeiden. Einflussreiche Ausreißer und multikollineare Interaktionen, die das Ergebnis der Modelle verzerren können, werden nach kritischer Abwägung angepasst oder ausgeschlossen. Im zweiten Abschnitt erfolgt zunächst die Spezifikation der Modelle. Es wird ein Nullmodell definiert, in dem keine Prädiktoren enthalten sind und der Erwartungswert der abhängigen Variable auf einen konstanten Wert von 1 gesetzt wird. Darüber hinaus werden ein komplexes Ausgangsmodell, das alle Prädiktoren enthält, sowie ein „gutes“ Modell für Schlaganfallpatienten (MfSP) definiert, das nach Prüfung aller möglichen Teilmengen mit hinreichender Komplexität einen Erklärungsbeitrag für einen Teil der Varianz der transformierten NfL-Werte liefert. Die Prüfung aller Teilmengen mit der Funktion `glmulti` des R-Pakets `{glmulti}` ist eine Erweiterung der

schrittweisen Modellselektion und eignet sich für verallgemeinerte lineare Regressionsmodelle [180]. Die Modellschätzung beinhaltet die Berechnung des Modells. Wichtige Ergebnisse sind Koeffizienten, Konfidenzintervalle, Signifikanzen und Modellgütekriterien, die für Modellvergleiche benötigt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wird das AIC-Kriterium als entscheidendes Kriterium für den Vergleich der Modellgüte herangezogen. Neben dem AIC-Wert liefert in der Regel der R^2 -Wert eine Aussage über den Erklärungsbeitrag des Modells zur Varianz der abhängigen Variable. Aufgrund des Berechnungsverfahrens ist dies kein Standardergebnis der verallgemeinerten linearen Regression. Es wird daher auf den Pseudo- R^2 -Wert nach Nagelkerke zurückgegriffen. Die Schätzung ermöglicht den Leistungsvergleich der definierten Modelle mittels ANOVA. Abschnitt 2 schließt mit der Überprüfung der Modellannahmen, die in den vorangegangenen Iterationsschritten zum Ausschluss einflussreicher Ausreißer und multikollinearer Wechselwirkungen in Abschnitt 1 geführt haben. Abschnitt 3 fasst die Modellergebnisse zusammen. Im Teilschritt Modellvalidierung wird ein Bootstrapping durchgeführt. Durch Resampling und Neuberechnung der Koeffizienten und Konfidenzintervalle wird der verzerrende Einfluss von Ausreißern auf die Ergebnisinterpretation reduziert. Um eine im Verhältnis zur Anzahl der Prädiktoren ausreichend große Stichprobe zu erhalten, wurde auf eine interne Validierung durch Stichprobenteilung verzichtet. Eine externe Validierung war aufgrund des Ressourcenaufwandes nicht vorgesehen. Diese Faktoren sind als wesentliche Limitationen in Kapitel 4.3.5 zusammengefasst. Die Darstellung und inhaltliche Beschreibung des Modellergebnisses erfolgt im Rahmen der Modellpräsentation. Das beschriebene Vorgehen ist in Abbildung 14 dargestellt.

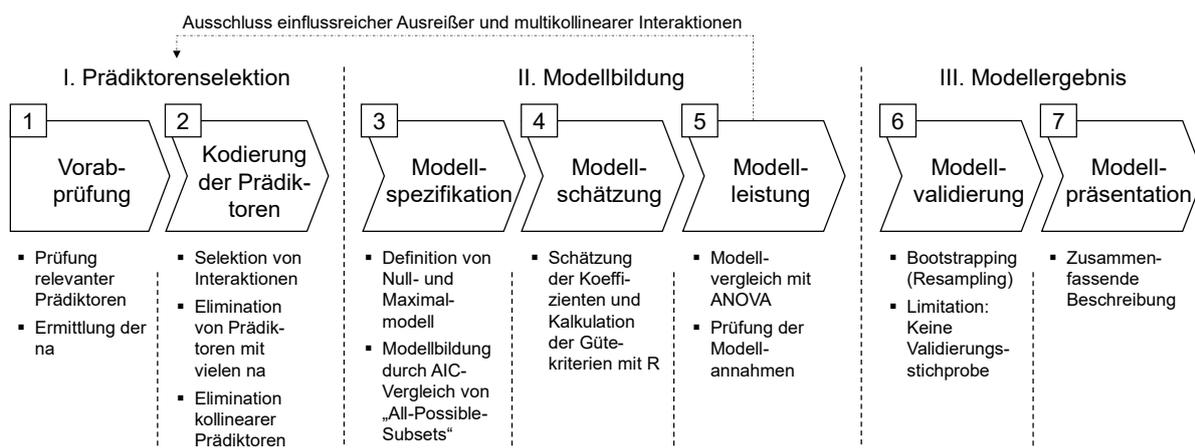


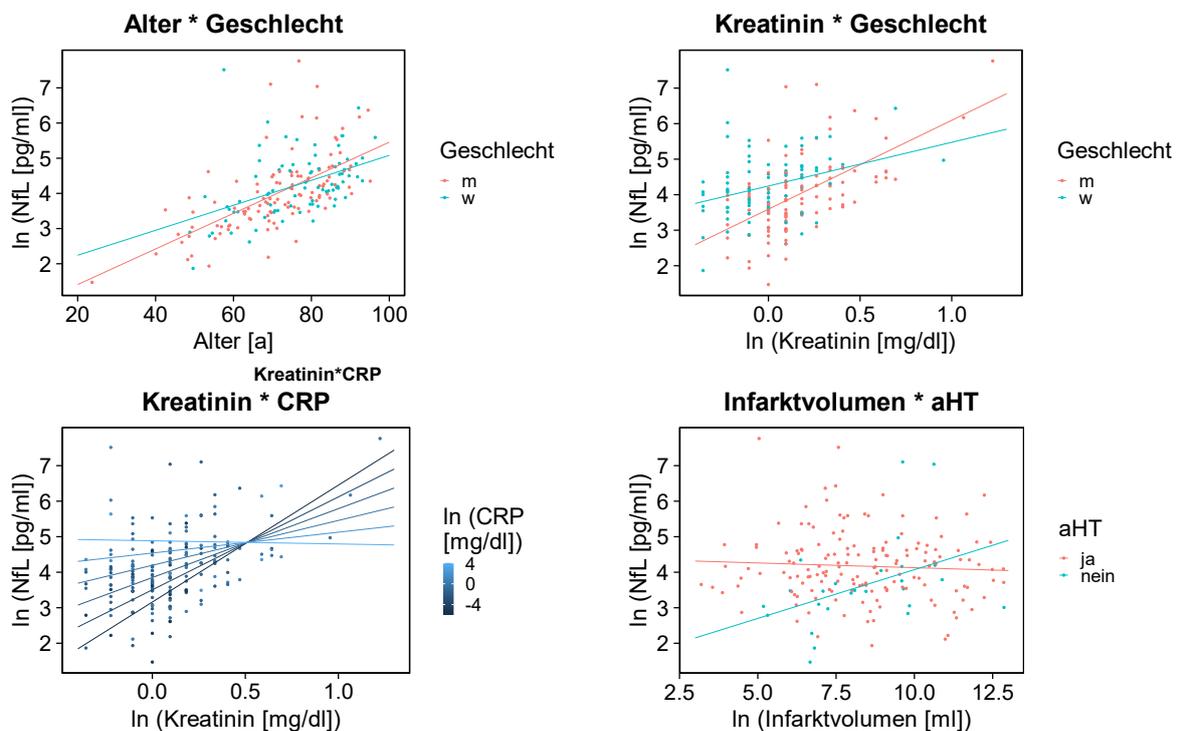
Abbildung 14: Vorgehen der Modellentwicklung der multiplen linearen Regressionsanalyse

Das für die Schlaganfallgruppe entwickelte und geschätzte multiple lineare Regressionsmodell MfSP bildet die Basis für die Modellanalyse mit den Datensätzen anderer Kohorten und aus den im zeitlichen Verlauf entnommenen Blutproben. Es wird ein deskriptiver Vergleich der Vorhersagegenauigkeit und, abhängig vom Stichprobenumfang, der Unterschiede nach Neuschätzung der Modelle durchgeführt.

4.3.2 Modellentwicklung für die Gruppe Schlaganfall

Im ersten Teilschritt der Modellentwicklung werden die 20 modellrelevanten Parameter aus Kapitel 4.2.5 übernommen. Die stetigen Parameter Kreatinin, CRP, Kreatinkinase, Bilirubin und Infarktvolumen sind wie die abhängige Variable NfL zur Annäherung an die Normalverteilung mit dem natürlichen Logarithmus transformiert. Anhand des AIC-Vergleichs zwischen einem linearen und einem quadratischen Regressionsmodell wird bei den Parametern Alter ($AIC_{\text{linear}}=454,95$; $AIC_{\text{quadr.}}=452,03$; $n=190$), Kreatinin ($AIC_{\text{linear}}=508,53$; $AIC_{\text{quadr.}}=507,79$; $n=190$) und Kreatinkinase ($AIC_{\text{linear}}=521,76$; $AIC_{\text{quadr.}}=520,15$; $n=185$) die Modellierung eines nichtlinearen Zusammenhangs in Erwägung gezogen. Nach visueller Prüfung der Streudiagramme wird jedoch die Einschränkung, quadratische Terme nicht zu berücksichtigen, beibehalten.

Um statistisch signifikante Interaktionen zu identifizieren, werden alle paarweisen Wechselwirkungen zwischen den Parametern explorativ mit einer verallgemeinerten multiplen linearen Regression geschätzt. Die Selektion der Interaktionen basiert auf drei theoretischen Überlegungen. Erstens zeigen die Nierenfunktionsindikatoren Kreatinin wie auch GFR eine hochsignifikante Korrelation mit den NfL-Werten und unterstützen durch ihre spezifische Wirkrichtung die Hypothese, dass NfL möglicherweise renal eliminiert wird. Es ist möglich, dass die Nierenfunktion den Zusammenhang der Variablen mit den NfL- Spiegeln beeinflusst. Zweitens lässt sich aus der Überlegung, dass die zerebrale Schädigung zur Freisetzung von NfL als



Die transformierten Variablen NfL, Kreatinin und CRP sind auf den Achsen mit den transformierten Werten abgebildet. Die Regressionsgeraden zur schematischen Darstellung des Interaktionseffekts wurden mit der R-Funktion lm erstellt und können im glm mit log-Link anders verlaufen
Abbildung 15: Interaktionen ausgewählter Parameter mit den NfL-Leveln

Bestandteil der Neuronen führt, schließen, dass das Infarktvolumen als zugrundeliegender Indikator der Schädigung die Korrelation der anderen Variablen mit den NfL-Konzentrationen beeinflusst. Das Infarktvolumen wies nur in der longitudinalen Betrachtung in Probe 3 und 4 eine signifikante Korrelation mit den NfL-Werten auf. Ein möglicher Grund für diese Beobachtung liegt in der Dynamik der ischämischen Schädigung und der NfL-Freisetzung. Ein anderer möglicher Grund sind Interaktionseffekte. Drittens ist der Einfluss des Alters auf den NfL-Wert bereits bekannt. Die Alterung des Körpers kann zudem die anderen Parameter beeinflussen. Ausgehend von diesen Überlegungen werden signifikant mit den NfL-Spiegeln assoziierte Interaktionen mit den Parametern Kreatinin, Infarktvolumen und Alter im Modell berücksichtigt. Mit dem Vorgehen werden 4 Interaktionen ausgewählt. Die Streudiagramme der Interaktionen sind in Abbildung 15 dargestellt.

Aufbauend auf der Vorabprüfung der Prädiktoren und Kodierung der Interaktionen erfolgt die Selektion der Prädiktoren, die bei der Modellbildung berücksichtigt werden können. Aufgrund der Menge an fehlenden Werten wird im ersten Selektionsschritt die Entscheidung zum Ausschluss von Albumin und Bilirubin getroffen. Mögliche Auswirkungen auf die Ergebnisse werden im Rahmen der Limitationen diskutiert.

Der zweite Auswahlsschritt zielt darauf ab, die Anzahl der miteinander korrelierenden Prädiktoren auf der Grundlage statistischer Analysen und theoretischer Überlegungen zu reduzieren. Dadurch wird das Auftreten von Multikollinearität und Überanpassung aufgrund einer zu großen Anzahl von Prädiktoren begrenzt. Zur Überprüfung der Zusammenhänge zwischen den metrischen Parametern wird eine Korrelationsmatrix erstellt (paarweise vollständige Korrelationsanalyse nach Spearman). Der Parameter GFR wird mit den metrischen Werten berücksichtigt. Zusätzlich wird die ordinalskalierte Variable GFR mit den numerischen Rängen mit der Korrelationsanalyse nach Kendall auf Zusammenhänge mit den metrischen Parametern geprüft. Anhand der Korrelationsmatrix können zwei Gruppen hoch korrelierter Parameter identifiziert werden. Für beide Gruppen werden vollständige Datensätze mit gleicher Fallzahl gebildet, um nach Bildung verallgemeinerter linearer Regressionsmodelle eine Vergleichbarkeit der AIC-Werte zu erreichen.

Gruppe A besteht aus dem Variablenpaar Kreatinin und GFR. Der Korrelationskoeffizient beträgt -0,6 für die ordinalskalierte GFR und -0,8 für die metrisch skalierte GFR. Beide Parameter hängen von der Nierenfunktion ab. Kreatinin ist ein harnpflichtiges Stoffwechselprodukt, während die GFR das Plasmavolumen beschreibt, das pro Minute durch die Glomeruli beider Nieren gefiltert wird. Aufgrund dieser Überlegung kann ein Zusammenhang mit dem nominalskalierten Parameter Nierenerkrankung vermutet werden. Die Assoziationen zwischen dem Vorliegen einer Nierenerkrankung und den Kreatininwerten sind nach dem Mann-Whitney-U-

Empirische Analyse

Test ($p=2,01e^{-06}$) und nach dem exakten Fisher-Freeman-Halton-Test mit den ordinalskalierten GFR-Werten ($p=4,3e^{-07}$) signifikant. Die Auswertung des vollständigen Datensatzes mit 153 Fällen führt zur Auswahl von Kreatinin ($AIC_{\text{Kreatinin}}=424,34$; $AIC_{\text{GFR}}=426,03$; $AIC_{\text{Nierenerkr.}}=446,18$) als bevorzugtem Prädiktor.

Gruppe B umfasst die Parameter Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit. Die Zusammenhänge zwischen den Parametern mit Korrelationskoeffizienten von $>0,8$ beruhen darauf, dass Hämatokrit als Maßeinheit den Volumenanteil der Erythrozyten und zu geringem Anteil anderer Zellelemente im Blut beschreibt und Hämoglobin ein Bestandteil der Erythrozyten ist. Aufgrund vollständiger Datensätze können alle 190 Fälle der Schlaganfallgruppe berücksichtigt werden. Der AIC-Vergleich führt zur Auswahl von Erythrozyten ($AIC_{\text{Erythrozyten}}=510,35$; $AIC_{\text{Hämoglobin}}=510,85$; $AIC_{\text{Hämatokrit}}=518,53$) als bevorzugtem Parameter.

Ergänzend führen vorangegangene Modellentwicklungen zum Ausschluss von drei Interaktionen, da die Varianzinflationsfaktor (VIF)-Werte mit Beträgen >20 auf eine zu starke, ergebnisverzerrende Multikollinearität zwischen den Prädiktoren und ihren Interaktionen hindeuten. Aufgrund fehlender theoretischer Relevanz werden die Interaktionen in Selektionsschritt 2 ausgeschlossen.

Variablenpool			Selektionsschritt 1**		Selektionsschritt 2***	
Unabh. Prädiktoren	Log-Transf.	Quadr. Z.*	Anzahl na	Ergebnis	Gruppe	Ergebnis
Stetige Parameter						
Alter		(X)	0	X		X
Kreatinin	X	(X)	0	X	A	X
Erythrozyten			0	X	B	X
Hämoglobin			0	X	B	
Hämatokrit			0	X	B	
Albumin			68			
CRP	X		1	X		X
Kreatinkinase	X	(X)	5	X		X
Bilirubin	X		65			
Infarkt volumen	X		7	X		X
Ordinalskalierte Parameter:						
GFR			32	X	A	
Nominalskalierte Parameter:						
Stroke			2	X		X
aHT			0	X		X
Vorhofflimmern			3	X		X
Nierenerkrankungen			5	X	A	
Maligne Erkrankungen			3	X		X
Diabetes Melitus Typ II			3	X		X
Koronare Herzkrankheit			3	X		X
pAVK			3	X		X
Geschlecht			0	X		X
Interaktionen****:						
Alter•Geschlecht			0	X	*****	
Kreatinin•Geschlecht	vgl. Parameter		0	X	(A) *****	
Kreatinin•CRP	vgl. Parameter		1	X	(A)	X
Infarkt volumen•aHT	vgl. Parameter		7	X	*****	

X: Anwendung / Selektion (X): Mögliche Anwendung / Selektion, zur Reduzierung der Komplexität nicht angewendet

* Möglicher quadratischer Zusammenhang auf Basis des AIC-Vergleichs verallgemeinerter lineare und quadratischer Regressionsmodelle mit Gammaverteilung und Log-Link ($n = 190 - \text{Anzahl na}$)

** Erster Selektionsschritt der Variablen zur Erzielung eines ausreichend großen Datensatzes durch Vermeidung von Variablen mit vielen na-Werten

*** Zweiter Selektionsschritt der Variablen zur Vermeidung von Kollinearität als Ausgangspunkt für die Modellspezifikation.

**** Die Transformation der metrischen Variablen in den Interaktionen entspricht der Transformation der Haupteffekte.

***** Elimination aufgrund hoher Multikollinearität (VIF-Werte >20) mit den nominalskalierten Parametern in früheren Modellvarianten

Abbildung 16: Ergebnis der Parameterselektion

Die Selektionsprozesse resultieren in der Auswahl von 14 Einzelparametern und 4 Interaktionen für das Modell. Das Ergebnis der Parameterselektion ist in Abbildung 16 zusammengefasst. Der um alle Zeilen mit „na“ bereinigte Datensatz umfasst 175 Probanden. Ein Ausreißer mit einer hohen Hebelwirkung und einem sehr hohen NfL-Wert wird nach Analyse der Cooks-Distanz aus früheren Modellentwicklungen und nach sorgfältiger Abwägung ebenfalls aus dem Datensatz entfernt. Die Elimination dieses Falles ist eine Limitation der Analyse. Die Elimination hat nur geringen Einfluss auf die Ausprägung der Koeffizienten. Allerdings nimmt die Signifikanz vieler Effekte nach der Elimination des Ausreißers ab. Für die Modellbildung steht ein Datensatz mit 174 Probanden zur Verfügung.

Die Modellspezifikation beginnt mit der Bildung des Nullmodells und des Ausgangsmodells mit allen Prädiktoren. Die Fallzahl für das Ausgangsmodell liegt knapp unter dem empfohlenen Verhältnis von mindestens 10 Fällen pro Prädiktor [180]. Die Bildung des MfSP ist das Ergebnis des AIC-Vergleichs aller Teilmengen des Ausgangsmodells. Es werden 32.768 Modelle berechnet. Die Zusammensetzung des Modells mit dem niedrigsten AIC-Wert, dem MfSP, wird mit der durchschnittlichen Parameterrelevanz der 10 besten Modelle verglichen. Die durchschnittlich wichtigsten Parameter mit dem kritischen Wert von 0,8 sind auch im MfSP enthalten. Diese sind Alter, Kreatinin, CRP, die Interaktion zwischen CRP und Kreatinin und koronare Herzkrankheit. Weitere Prädiktoren im MfSP sind Erythrozyten und Diabetes mellitus Typ 2.

Nach der Modellschätzung lässt die Interpretation der Modelleleistung anhand des R^2 -Wertes nach Nagelkerke den Schluss zu, dass sowohl das Ausgangsmodell ($R^2_{\text{Nagelkerke}}=0,547$) als auch das MfSP ($R^2_{\text{Nagelkerke}}=0,524$) einen Erklärungsbeitrag zur Varianz der abhängigen Variable zu leisten scheinen. Der Modellvergleich mittels ANOVA zeigt eine signifikante Verbesserung ($p<0,0001$) vom Nullmodell (Residuenabweichung=10,40) zum MfSP mit einer Reduktion der Residuenabweichung um 5,38 bei 7 zusätzlichen Freiheitsgraden. Die Anwendung des Maximalmodells mit einer weiteren Reduktion der Residuenabweichung um 0,24 bei Hinzunahme von 8 Freiheitsgraden gegenüber dem MfSP bringt keine zusätzliche signifikante Verbesserung, die anhand dieses Vergleichs die Beibehaltung der höheren Komplexität des Ausgangsmodells rechtfertigen würde.

Das MfSP scheint die relevanten Modellannahmen der verallgemeinerten linearen Regression zu erfüllen. Die gewählte Gammaverteilung ist dem Skalenniveau angemessen und die Linearität der Beziehungen wird aufgrund der Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalyse mit anschließender visueller Überprüfung als ausreichend angesehen. Die Unabhängigkeit der Residuen voneinander wird mit Verweis auf das Studiendesign im Grundsatz angenommen. Die Normalverteilung

Empirische Analyse

der Residuen ist nicht erforderlich. Neben dem Shapiro-Wilk-Tests ($p=0,0019$) zeigen auch der Schiefe-Test nach D'Augustino ($p=1,27e^{-6}$) und der Kurtosis-Test nach Ancombe-Glynn ($p=0,25e^{-5}$) signifikante Abweichungen von der Normalverteilung. Der positive Wert der Schiefe ist ein Indikator für die Rechtsschiefe der Verteilung. Aufgrund der fehlenden Normalverteilung wird die Homoskedastizität nicht mit dem Breusch-Pagan-Test, sondern visuell geprüft. Mit Einschränkungen kann eine gleichmäßige Streuung der Residuen über den Bereich der prognostizierten Werte beobachtet werden. Diese Einschränkung betrifft allem voran einen einzelnen Datenpunkt mit einem sehr niedrigen Vorhersagewert und drei hohe Ausreißer im mittleren Vorhersagewertbereich. Die Extremwerte und Streuungen können ein limitierender Faktor dieser Analyse sein. Zur Überprüfung der Multikollinearität wird der VIF-Wert analysiert. Dieser liegt nach der Eliminierung der kritischen Interaktionen für jeden Prädiktor des MfSP bei einem Wert <2 . Zusätzlich werden Ausreißer anhand der Cooks-Distanzanalyse identifiziert und hinsichtlich ihrer Hebelwirkung betrachtet. Im Rahmen dieses Prozesses wird ein kritischer Ausreißer identifiziert und nach Abwägung eliminiert. Es verbleiben jedoch Ausreißer im Datensatz. Die Diagramme zur visuellen Prüfung der Modellannahmen des MfSP mit 174 Datensätzen sind in Abbildung 17 dargestellt.

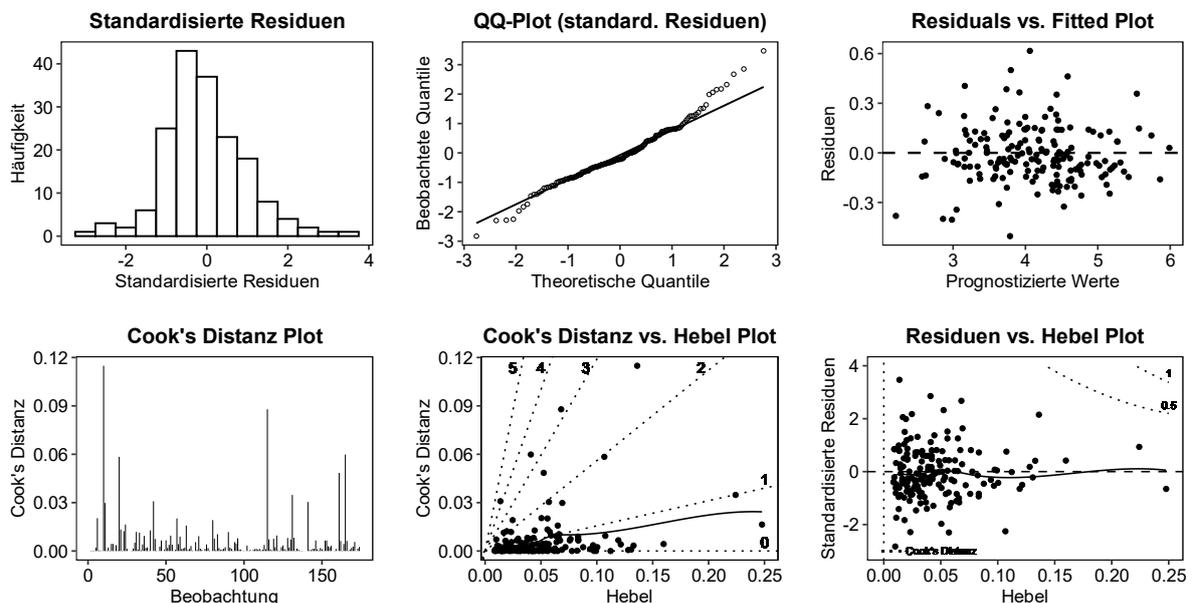


Abbildung 17: Plots zur visuellen Prüfung der Regressionsvoraussetzungen für das MfSP (n=174)

Um den Unsicherheiten bezüglich des Einflusses von Ausreißern zu begegnen, wird in einem ersten Validierungsschritt ein internes Bootstrapping durchgeführt. Hierbei werden 15.000 Stichproben unter Verwendung der Funktion `boot` aus dem R-Paket `{boot}` gezogen. Dies dient dazu, die Robustheit der Koeffizienten und Konfidenzintervalle gegenüber Ausreißern bei Stichprobenveränderungen zu überprüfen. Aufgrund funktionaler Einschränkungen des Statistikprogramms werden die Koeffizienten und Konfidenzintervalle des MfSP nicht mit den Ergebnissen des

Empirische Analyse

Bootstrappings aktualisiert. Da sich die signifikanten Effekte auch im Bootstrap zeigen, werden die Ergebnisse der Regressionsanalyse beibehalten. Diese sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Da das MfSP potenziell relevante Prädiktoren für die longitudinale Analyse nicht umfasst, wird es in einer weiteren Version MfSP_L angepasst. Der Prädiktor Infarkt volumen wird aufgenommen. Bei der Überprüfung der Modellannahmen ergeben sich keine auffälligen Unterschiede zum MfSP.

Unabh. Prädiktoren von NfL*	Ausgangsmodell			MfSP			MfSP _L		
	Koeff.	K.-Intervall	p	Koeff.	K.-Intervall	p	Koeff.	K.-Intervall	p
(Intercept)	2,81	1,76 – 4,49	<0,001**	2,42	1,64 – 3,57	<0,001**	2,55	1,71 – 3,82	<0,001**
Alter	1,01	1,01 – 1,01	<0,001**	1,01	1,01 – 1,01	<0,001**	1,01	1,01 – 1,01	<0,001**
Kreatinin*	1,21	1,06 – 1,39	0,004**	1,19	1,06 – 1,34	0,005**	1,19	1,05 – 1,34	0,006**
CRP*	1,02	1,00 – 1,05	0,096	1,01	1,00 – 1,03	0,132	1,02	1,00 – 1,04	0,085
Kreatinin*CRP	0,94	0,88 – 1,00	0,048**	0,94	0,88 – 1,00	0,054**	0,94	0,88 – 1,00	0,050**
Erythrozyten	0,96	0,91 – 1,02	0,198	0,95	0,90 – 1,00	0,061	0,95	0,90 – 1,00	0,060
KHK [nein]	1,08	0,99 – 1,17	0,071**	1,07	0,99 – 1,15	0,092**	1,07	0,99 – 1,16	0,077**
DM2TOT [nein]	0,94	0,86 – 1,10	0,123	0,93	0,86 – 1,01	0,076**	0,93	0,86 – 1,01	0,092
Infarktvolumen*	0,99	0,98 – 1,01	0,435				0,99	0,98 – 1,01	0,308
Kreatinkinase*	0,98	0,94 – 1,02	0,314						
Z.n. Schlaganfall [nein]	0,96	0,89 – 1,02	0,212						
Vorhofflimmern [nein]	1,03	0,96 – 1,10	0,413						
aHT [nein]	1,00	0,92 – 1,08	0,949						
Maligne Erkrank. [nein]	0,94	0,86 – 1,02	0,127						
pAVK [nein]	0,99	0,87 – 1,12	0,858						
Geschlecht [w]	1,05	0,98 – 1,12	0,166						
Modell-Fit:									
n	174			174			174		
AIC (AIC ₀ = 489,95)	383,93			376,49			377,35		
R2 Nagelkerke	0,547			0,524			0,527		

Die Auswertung des Modells erfolgt mit der Funktion `tab_model` des R-Pakets `{sjplot}`. Die Koeffizienten (Koeff.) und Konfidenzintervalle (K.-Intervall) der Prädiktoren zur Prognose der transformierten NfL-Werte sind mit den exponentiellen Werten e^x dargestellt. Koeff.<0 ~ negative Assoziation; Koeff.>0 ~ positive Assoziation. Das aus dem MfSP ableitbare Prädiktionsmodell gestaltet sich unter Berücksichtigung der Log-transformierten Variablen (\ln_0) in der folgenden Syntax: $\ln(\ln_0(\text{NfL})) = \ln(1,01) \cdot \text{Alter} + \ln(1,19) \cdot \ln_0(\text{Kreatinin}) + \dots + \ln(2,42)$. Der Vergleichswert AIC₀ ist dem Nullmodell $\ln(\ln_0(\text{NfL}))=1$ zugewiesen.

* Log-transformierte Variable

** Konfidenzintervalle im Bootstrapping-Ergebnis inkludieren nicht den Wert 0 und deuten auf signifikante Effekte hin.

Tabelle 7: Ergebnisse der Modellentwicklung für die Gruppe Schlaganfall

Der Intercept des Ausgangsmodells unterscheidet sich vom Intercept des MfSP nicht nur im geschätzten Koeffizienten, sondern vor allem in seiner Charakterisierung anhand der nominalen Prädiktoren. Im Ausgangsmodell bezieht sich der Intercept auf männliche Schlaganfallpatienten mit koronarer Herzkrankheit, Diabetes mellitus Typ 2, Schlaganfall in der Vorgeschichte, Vorhofflimmern, arterieller Hypertonie, malignen Erkrankungen sowie peripherer arterieller Verschlusskrankheit. Der Intercept des MfSP hingegen bezieht sich auf Schlaganfallpatienten mit koronarer Herzkrankheit und Diabetes mellitus Typ 2. Hinsichtlich der zentralen Wirkungsrichtung und Höhe der geschätzten Koeffizienten zeigen sich keine deutlich auffälligen Unterschiede zwischen den Modellen. Allerdings gibt es Unterschiede zum Ergebnis der bivariaten Korrelationsanalyse. Das Vorliegen einer koronaren Herzkrankheit ist im Modell negativ mit den NfL-Werten assoziiert, im Gegensatz zu ersten Einschätzungen auf Basis des Medianvergleichs. Das Infarktvolumen ist statistisch leicht negativ mit den NfL-Werten assoziiert. In den ersten beiden Stichproben korrelierte der Parameter bivariat nicht mit den NfL-Werten. Aufgrund der Ausprägung und der Lage der Konfidenzintervalle ist der Zusammenhang im

MfSP_L eher als neutral zu interpretieren. Signifikante Effekte sind zudem nur für die Parameter Alter und Kreatinin zu beobachten. Darüber hinaus ist die Interaktion zwischen Kreatinin und CRP im Ausgangsmodell signifikant. Die Interpretation des Interaktionseffekts gestaltet sich in Verbindung mit den Haupteffekten als anspruchsvoll. Die Ergebnisse des Bootstrappings geben Hinweise darauf, dass weitere Prädiktoren signifikante Effekte haben könnten.

Auf der Grundlage der Ergebnisse kann ein Prädiktionsmodell für die transformierten NfL-Werte erstellt werden. Dieses kann verwendet werden, um die Modellgüte des MfSP durch Vergleich der vorhergesagten und tatsächlichen NfL-Werte zu bewerten. Es kann auch als Ausgangspunkt für eine Validierung mit externen Stichproben dienen. Die Validierung mit internen und externen Proben ist eine der Limitationen dieser Arbeit. Aufbauend auf den Ergebnissen der bivariaten Korrelationsanalyse wird das entwickelte Modell genutzt, um Unterschiede bei der Betrachtung verschiedener Probandengruppen sowie bei der Auswertung verschiedener Blutproben im zeitlichen Verlauf aufzuzeigen. Daraus lassen sich explorative Erkenntnisse und Hypothesen ableiten, deren Untersuchung Gegenstand weiterer Forschungsarbeiten sein kann.

4.3.3 Modellanalyse mit den Vergleichsgruppen

Die Modellanalyse des MfSP mit den Vergleichsgruppen basiert methodisch auf der Untersuchung der Prognoseabweichung unter Verwendung der Daten aus der Gruppe Stroke Mimics und der Kontrollgruppe. Die Abweichung wird durch ein Kalibrierungsdiagramm mit Fehlerbalken der Standardabweichung dargestellt. Als Ausgangspunkt für den Vergleich ist in Abbildung 18 ebenfalls das Kalibrierungsdiagramm der Schlaganfallgruppe dargestellt. Die Fallzahl von 185 ist höher als bei der Modellentwicklung. Ausreißer und Fälle, die aufgrund fehlender Werte von nur im Maximalmodell enthaltenen Prädiktoren ausgeschlossen wurden, können hier berücksichtigt werden. Bei den Vergleichsgruppen können insgesamt 4 Fälle aufgrund der Notwendigkeit vollständiger Datensätze nicht berücksichtigt werden.

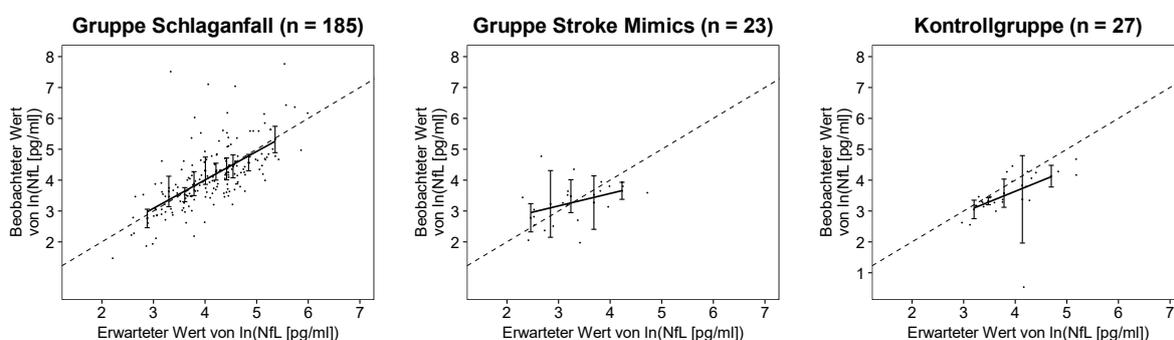


Abbildung 18: Kalibrierungsdiagramme der Probandengruppen auf Basis des MfSP

Anhand des Kalibrierungsdiagramms der Gruppe Schlaganfall lässt sich zunächst feststellen, dass die Prognose zwar einen Trend zu treffen scheint, die Punkte um die

Ideallinie jedoch stark streuen. Außerdem scheint die lineare Trendgerade nicht exakt parallel zur theoretischen Linie zu verlaufen. Anhand eines Vorher-Nachher-Vergleichs zeigt sich hier der Effekt des in Kapitel 4.3.2 identifizierten statistischen Ausreißers. Bei den kleineren Vergleichsgruppen ist die Interpretation der Vorhersagegenauigkeit anhand einer Trendgeraden aufgrund der geringeren Anzahl an Datenpunkten eingeschränkt. Die Trendgeraden weisen mit unterschiedlicher Steigung in eine ähnliche Richtung. Die Streuung um die Ideallinie ist bei allgemein niedrigeren NfL-Werten in den Gruppen geringer. Es scheint jedoch, dass verhältnismäßig weniger Datenpunkte in der Nähe der Ideallinie liegen. Es zeigt sich auch, dass in der Kontrollgruppe mit neurologisch gesunden Probanden mit dem MfSP die Werte tendenziell höher vorhergesagt werden, als die Beobachtungen in den Datensätzen liegen.

Die Neuschätzung des Modells für die Vergleichsgruppen ist aufgrund der geringen Fallzahlen mit Überanpassungen und Verletzungen der Modellannahmen verbunden. Die Schätzung der Koeffizienten und Intervalle ist ineffizient und es gibt starke Ausreißer. Eine Zusammenlegung der Vergleichsgruppen wurde erwogen. Diese Überlegung wird jedoch aufgrund der deutlichen Unterschiede in den Trendgeraden der Kalibrierungsdiagramme verworfen. Die Ähnlichkeiten in der Richtung der Trendgeraden deuten darauf hin, dass es Parameter geben könnte, die unabhängig vom Schlaganfallereignis einen Einfluss auf die NfL-Werte haben. So korrelierten in der bivariaten Analyse zum Beispiel Alter oder Kreatinin in mindestens einer der beiden Vergleichsgruppen signifikant mit den NfL-Werten. Die Ergebnisse deuten jedoch darauf hin, dass das für die Schlaganfallgruppe entwickelte Modell nur eingeschränkt auf die beiden Vergleichsgruppen anwendbar ist. Die Unterschiede sind zwar statistisch nicht nachweisbar, können aber auf Basis der durchgeführten Tests auch nicht ausgeschlossen werden.

4.3.4 Modellanalyse mit wiederholten Blutproben im zeitlichen Verlauf

Die in Kapitel 4.2.4 durchgeführten bivariaten Korrelationsanalysen haben gezeigt, dass sich die Assoziationen der Prädiktoren mit den NfL-Werten im zeitlichen Verlauf der wiederholten Blutprobenabnahmen verändern können. Das Alter korreliert bei der bivariaten Korrelationsanalyse in allen Proben signifikant mit den NfL-Werten, während die Korrelation zwischen Kreatinin und den NfL-Werten nur in Probe 1 und 2 signifikant ist. Im Gegensatz zu Kreatinin nimmt die Korrelation zwischen dem Infarktvolume und den NfL-Werten mit der Zeit zu und ist mit den Daten der Proben 3 und 4 signifikant. Um diesen Effekt zu analysieren, wird das adaptierte Modell MfSP_L mit den Datensätzen der vier im zeitlichen Verlauf erhobenen Blutproben ausgewertet. Die resultierenden Kalibrierungsdiagramme sind in Abbildung 19 dargestellt.

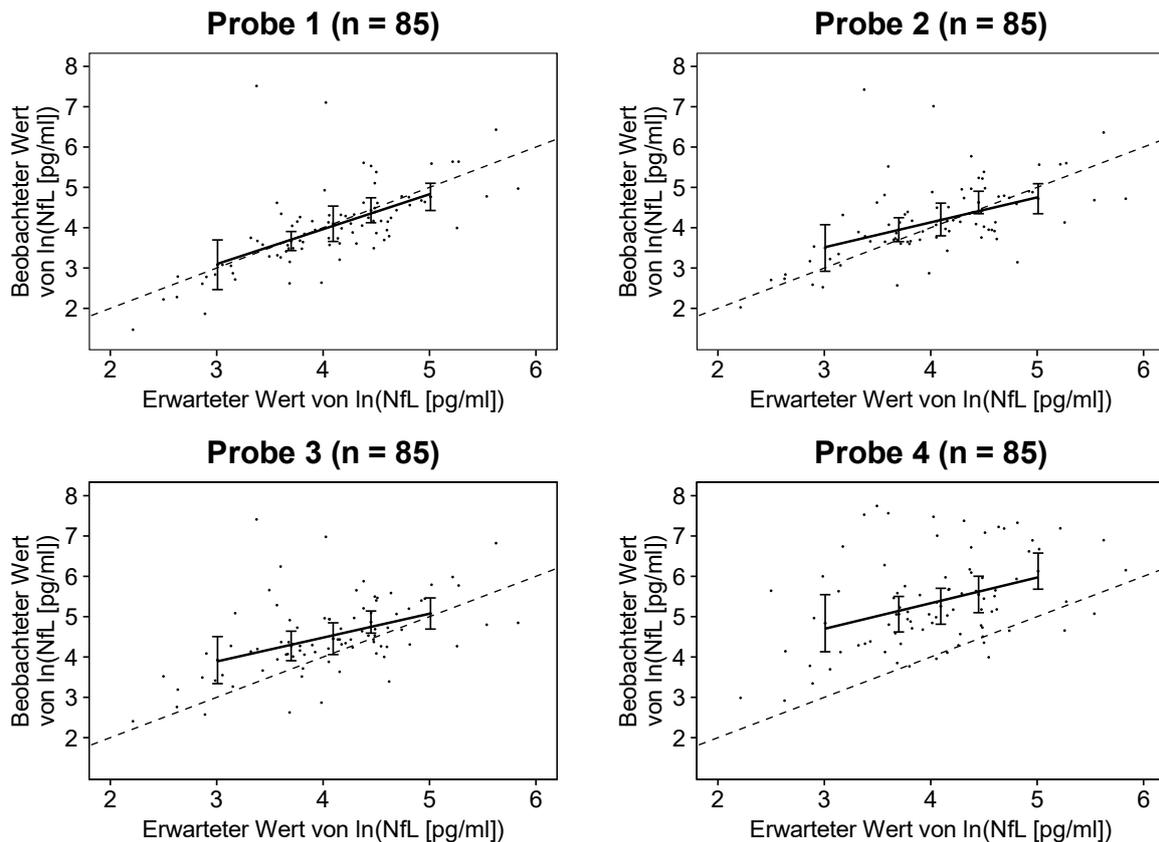


Abbildung 19: Kalibrierungsdiagramme wiederholter Blutproben bei Schlagfall auf Basis des MfSP_L

Die Trendgeraden der vier Stichproben verlaufen nicht parallel. Dies kann entweder auf die verzerrende Wirkung statistischer Ausreißer oder auf den wechselnden Einfluss eines Prädiktors hindeuten. Die Trendgeraden weisen jedoch noch deutliche Ähnlichkeiten in der Richtung auf. In der ersten Probe, die Teil des Entwicklungsdatensatzes für das MfSP_L ist, liegt die Trendgerade mit leichten Verzerrungen durch einen Ausreißer auf der Ideallinie. Wie bereits in Kapitel 4.3.3 genannt, ist die Streuung um die Ideallinie hoch, mit für den Datensatz charakteristischen Ausreißern sehr hoher beobachteter NfL-Werte. Außerdem ist zu erkennen, dass sich die Regressionsgerade mit zunehmender Probennummer nach oben verschiebt. Dies bedeutet, dass die beobachteten Werte höher sind als die prognostizierten. Wie in Kapitel 2.3.4 beschrieben, steigen die NfL-Werte im Untersuchungszeitraum mit der Zeit an. Die Abweichungen deuten darauf hin, dass bei konstant gehaltenen Koeffizienten die Prognose nicht mehr zutreffend zu sein scheint. Entweder ist eine Anpassung der Koeffizienten oder die Berücksichtigung weiterer Prädiktoren erforderlich. Ein Prädiktor, der im Vergleich zwischen MfSP und MfSP_L aufgrund seiner Veränderung in der bivariaten Assoziation neu berücksichtigt wird, ist das Infarktvolume. Aufgrund der ausreichend großen Fallzahl können die Modelle neu geschätzt und die Assoziationen verglichen werden. Generell ist bei der Interpretation der Ergebnisse zu beachten, dass die Modellannahmen nicht mehr so gut erfüllt sind wie bei der Erstellung des MfSP in Kapitel 4.3.2. Ein möglicher Grund

Empirische Analyse

dafür ist die geringere Fallzahl, so dass sich der Effekt der starken Streuung der NfL-Werte auf die Schätzergebnisse des MfSP_L auswirkt.

Unabh. Prädiktoren von NfL*	Probe 1			Probe 2			Probe 3			Probe 4		
	Koeff.	K.-Int.	p									
(Intercept)	2,99	1,41 – 6,37	<0,004	4,12	2,05 – 8,31	<0,001	3,93	2,01 – 7,68	<0,001	2,29	1,27 – 4,16	0,006
Alter	1,01	1,01 – 1,01	<0,001	1,01	1,01 – 1,01	<0,004	1,00	1,00 – 1,01	<0,011	1,01	1,00 – 1,01	<0,003
Kreatinin*	1,06	0,85 – 1,31	0,623	1,01	0,83 – 1,23	0,914	0,99	0,82 – 1,20	0,924	1,03	0,87 – 1,22	0,747
CRP*	1,04	1,01 – 1,07	0,008	1,03	1,00 – 1,06	0,050	1,02	0,99 – 1,05	0,133	1,02	0,99 – 1,04	0,184
Kreatinin*CRP	0,89	0,79 – 0,99	0,041	0,87	0,79 – 0,97	0,013	0,91	0,82 – 1,00	0,064	0,99	0,91 – 1,09	0,897
Erythrozyten	0,95	0,86 – 1,04	0,234	0,94	0,86 – 1,02	0,132	0,94	0,87 – 1,02	0,128	0,99	0,92 – 1,06	0,774
KHK [nein]	1,04	0,89 – 1,21	0,641	0,98	0,84 – 1,12	0,730	0,97	0,85 – 1,12	0,714	1,04	0,92 – 1,18	0,523
DM2TOT [nein]	0,92	0,81 – 1,06	0,251	0,92	0,81 – 1,04	0,189	0,94	0,84 – 1,06	0,341	1,00	0,90 – 1,11	0,956
Infarkt volumen*	0,99	0,97 – 1,02	0,444	1,00	0,98 – 1,02	0,893	1,02	1,00 – 1,04	0,077	1,06	1,04 – 1,08	<0,001
Modell-Fit:												
n	85			85			85			85		
R2 Nagelkerke	0,533			0,425			0,385			0,532		

Die Auswertung des Modells erfolgt mit der Funktion `tab_model` des R-Pakets `{sjplot}`. Die Koeffizienten (Koeff.) und Konfidenzintervalle (K.-Intervall) der Prädiktoren zur Prognose der transformierten NfL-Werte sind mit den exponentiellen Werten e^x dargestellt. Koeff.<0 ~ negative Assoziation; Koeff.>0 ~ positive Assoziation.

* Log-transformierte Variable

Tabelle 8: Ergebnisse der Modellschätzung des MfSP_L für den longitudinalen Blutprobenvergleich

Der Vergleich der für die einzelnen Proben geschätzten Modelle, siehe Tabelle 8, gibt Hinweise auf die Dynamik der Assoziationen. Obwohl für Probe 1 bereits auf Basis des Kalibrierungsdiagramms mit dem MfSP_L ein gutes Modell gefunden wurde, haben sich die signifikanten Assoziationen verändert. Statt Kreatin korreliert nun CRP und die Interaktion zwischen CRP und Kreatinin signifikant mit den transformierten NfL-Werten. Die Interpretation ist schwierig und das Ergebnis kann auf den Anpassungsprozess zurückzuführen sein. Der Trend der Koeffizienten ist vergleichbar. Die Assoziationen in Probe 2 sind denen in Probe 1 sehr ähnlich, was auf den im Durchschnitt kurzen zeitlichen Abstand zwischen den Proben zurückzuführen sein kann. Stärkere Veränderungen sind in Probe 3 und Probe 4 zu beobachten. Auffällig ist der niedrige Pseudo-R²-Wert in Probe 3. Dies deutet auf eine hohe Varianz in den Daten hin, deren Erklärung gegebenenfalls die Einbeziehung weiterer Prädiktoren erfordern könnte. Aber auch patientenindividuelle Faktoren könnten einen Einfluss auf die Varianzen haben. In Probe 4 ist der Effekt des Infarkt volumens signifikant positiv. Dessen Koeffizient steigt über die Probennummer kontinuierlich an. Der niedrigere Intercept kann darauf hindeuten, dass ein größerer Varianzanteil durch das Infarkt volumen erklärt wird. Das Alter ist der einzige Prädiktor, der in allen Modellen einen signifikanten Effekt aufweist.

4.3.5 Zusammenfassung der multiplen linearen Regressionsanalyse

Zur Analyse der Effekte der relevanten Parameter auf die NfL-Werte können diese in einem generalisierten multiplen linearen Regressionsmodell mit Interaktionseffekten

zusammengefasst werden. Das für die Patienten der Schlaganfallgruppe entwickelte Modell MfSP zur Vorhersage der transformierten NfL-Werte setzt sich aus den Parametern Alter, Kreatinin, CRP, dem Produkt aus Kreatinin und CRP, Erythrozyten, KHK und Diabetes mellitus Typ 2 zusammen. Neben den NFL-Werten werden auch die Kreatinin- und CRP-Werte mit dem natürlichen Logarithmus transformiert. Die abhängige Variable wird über einen Log-Link mit der Summe ihrer Prädiktoren verknüpft. Das Infarktvolumen ist ein wichtiger transformierter Parameter für den longitudinalen Vergleich mehrerer Blutproben und wird zusätzlich in ein angepasstes Modell MfSP_L aufgenommen. Nach der Modellschätzung hat das Infarktvolumen einen neutralen Effekt auf die transformierten NfL-Werte der ersten Probe bis maximal 24h nach Symptombeginn. In beiden genannten Modellen haben die Parameter Alter und Kreatinin einen signifikanten Effekt auf die abhängige Variable. Die entwickelten Modelle erfüllen unter Berücksichtigung von 174 Fällen und der Verwendung der Daten der Schlaganfallgruppe wichtige Modellannahmen der multiplen linearen Regressionsanalyse. Es sind jedoch auch Limitationen zu berücksichtigen.

Die Limitationen bei der Auswahl der Prädiktoren beziehen sich auf den Ausschluss von Parametern mit fehlenden Werten oder von Parametern, bei denen Multikollinearität vermutet wird oder nach ersten Modellschätzungen aufgetreten ist. Diese Parameter mussten vor der Modellselektion entfernt werden. Ihre Verwendung in Kombination mit den anderen Prädiktoren könnte zu anderen Ergebnissen in den Modellen führen. Da die Parameter systematisch nach dem AIC-Kriterium selektiert sind und eine erneute Berücksichtigung der ausgeschlossenen Parameter die Anzahl der zu testenden Modelle stark erhöhen würde, wurde auf eine erneute Prüfung verzichtet. Des Weiteren wurde eine Transformation der Parameter durchgeführt und polynomiale Zusammenhänge nicht berücksichtigt. Der Stichprobenumfang ist in Relation zur Anzahl der Vorhersagen zwar ausreichend, wird aber als gering eingeschätzt. Eine statistische Überanpassung bei der Modellschätzung ist wahrscheinlich. Die Erfüllung der Annahme der Additivität kann nicht abschließend nachgewiesen werden und Varianzen sowie statistische Ausreißer können die Validität der Analyseergebnisse beeinträchtigen. Sie können ihre Ursache in der Nichtberücksichtigung relevanter Prädiktoren oder patientenindividueller Faktoren haben. Ein Ausreißer wird nicht berücksichtigt. Die beobachteten Werte und Residuen werden zwar als unabhängig betrachtet. Es existiert jedoch im erweiterten Sinne Zusammengehörigkeit in Bezug auf die regionale Herkunft, das behandelnde Krankenhaus oder die genutzten Laboreinrichtungen. Die interne Validierung mit mehreren Teilmengen wurde verworfen, um eine hohe Stichprobengröße beizubehalten. Eine Validierung der Modelle mit einer unabhängigen, vergleichbaren Kohorte wurde nicht durchgeführt. Eine externe Validierung ist notwendig, um die

Ergebnisse zu bestätigen oder zu verwerfen. Größere Stichproben könnten dabei zu engeren Konfidenzintervallen und weiteren signifikanten Ergebnissen führen.

Auf Basis der Analyse der Modelle mit den Daten der Vergleichsgruppen kann trotz eingeschränkter statistischer Evidenz an der Hypothese festgehalten werden, dass der Einfluss bestimmter Komorbiditäten auf die transformierten NfL-Werte bei Schlaganfallpatienten anders ausgeprägt ist als in den Vergleichsgruppen. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass sich die Gruppen darin unterscheiden, ob tatsächlich ein Schlaganfall aufgetreten ist oder nicht. Allerdings scheint es auch einen ähnlichen Trend zu geben, der darauf hindeuten könnte, dass bestimmte Prädiktoren trotz unterschiedlicher Gruppen ähnliche Effekte auf die transformierten NfL-Werte haben können. Bezüglich der Ergebnisse der bivariaten Analyse ist es möglich, dass dies auf die Prädiktoren Alter und Kreatinin zurückzuführen ist. Vergleicht man die Ergebnisse der wiederholten Blutentnahmen über die Zeit, so zeigt sich eine Veränderung der Assoziationen und eine zunehmende Bedeutung des Infarktolumens als Prädiktor für die transformierten NfL-Werte. Das Alter bleibt unabhängig von der Anzahl der Proben signifikant positiv korreliert.

Limitationen der Modellanalyse mit Vergleichsgruppen und wiederholten Blutentnahmen sind auf die Einschränkungen bei der Modellentwicklung sowie auf den geringen Stichprobenumfang der neu analysierten Datensätze zurückzuführen. Es gibt viele statistische Ausreißer, die die Signifikanz der Effekte beeinflussen. Eine Neuschätzung zur Kalibrierung der Modelle zum Vergleich der Assoziationen ist nicht oder nur mit Einschränkungen möglich. Spezifische Parameter, die nur in den Vergleichsgruppen signifikant mit den NfL-Werten korrelierten, wurden mit Verweis auf die Zielsetzung der Arbeit nicht berücksichtigt. Im longitudinalen Vergleich wurden Veränderungen der Assoziationen von Vorerkrankungen nicht analysiert, da hier der Fokus auf zirkulierenden Laborparametern liegt.

Trotz der Einschränkungen scheinen die Modelle einen Erklärungsbeitrag für einen Teil der Varianz der transformierten NfL-Werte in den vorliegenden Daten zu liefern. Es lassen sich daraus Hypothesen ableiten. Das Alter und wichtige Nierenfunktionsindikatoren scheinen unabhängig von der Probandengruppe mit den NfL-Spiegeln zu korrelieren. Unter Berücksichtigung des untersuchten Zeitraums scheint das Alter unabhängig von der Probennummer im zeitlichen Verlauf nach Symptombeginn einen signifikanten Effekt auf die abhängige Variable zu haben. Der Einfluss des Infarktolumens scheint dagegen von der Probennummer im zeitlichen Verlauf nach Symptombeginn abhängig zu sein. Die statistische Prüfung dieser Erkenntnisse mit verallgemeinerten linearen gemischten Modellen mit größeren Fallzahlen und die externe Validierung können Gegenstand weiterer Forschungsarbeiten sein.

5 Diskussion

Basierend auf den Ergebnissen der empirischen Analyse werden die gewonnenen Erkenntnisse nachfolgend interpretiert, um die Forschungsfragen zu beantworten, die Limitationen der vorliegenden Arbeit zusammengefasst sowie weitere Forschungsfelder vorgeschlagen.

5.1 Interpretation der Ergebnisse

Im Rahmen der Arbeit wurden drei Probandengruppen bezüglich des Vorhandenseins statistisch signifikanter Zusammenhänge zwischen den NfL-Leveln und den Komorbiditäten untersucht und ein verallgemeinertes multiples lineares Regressionsmodell entwickelt. Aus den Ergebnissen der empirischen Analyse leiten sich sechs zentrale Kernaussagen ab, die nachfolgend genannt und interpretiert werden.

Erstens weist in allen Gruppen das Alter übereinstimmend mit der existierenden Literatur auch in der vorliegenden Arbeit bei hoher Signifikanz eine positive Korrelation mit den NfL-Werten auf [152, 158–160]. Wenn dieser Zusammenhang bei Schlaganfallpatienten mit wiederholten Messungen an den Folgetagen erneut geprüft wird, zeigt sich, dass die Signifikanz der Korrelation zwischen dem Alter und den NfL-Spiegeln von Probe 1 bis Probe 4 zurückgeht. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass die Berücksichtigung des Alters bei der Interpretation der NfL-Werte und der Festlegung altersbedingter Referenzgrenzen notwendig sein kann.

Zweitens gibt es einen negativen Zusammenhang zwischen der Nierenfunktion und den NfL-Werten. So weisen Kreatinin und GFR, welche bekannte Indikatoren der Nierenfunktion sind, sowohl in der Schlaganfallgruppe als auch in der Kontrollgruppe eine signifikante Korrelation mit den NfL-Leveln auf. In der Stroke Mimics Gruppe fällt der Zusammenhang zwischen den NfL-Leveln und GFR ebenfalls signifikant aus. Kreatinin korreliert in dieser Gruppe nicht signifikant mit den NfL-Spiegeln. Zudem zeigt das Vorhandensein von Nierenerkrankungen einen signifikanten Zusammenhang mit den NfL-Werten in der Schlaganfallgruppe. Zum aktuellen Stand der Forschung sind die Mechanismen, die zu der genannten Korrelation zwischen der Nierenfunktion und den NfL-Spiegeln führen, nicht eindeutig bekannt. Eine mögliche Erklärung ist, dass NfL renal eliminiert wird. Falls diese Annahme zutrifft, wird es im klinischen Alltag notwendig sein, die Nierenfunktionsparameter bei der Interpretation der NfL-Werte zu berücksichtigen, um zu vermeiden, dass die höheren NfL-Werte bei existierender Niereninsuffizienz überschätzt werden. Die identifizierte negative Korrelation zwischen den NfL-Leveln und der Nierenfunktion stimmen mit den Ergebnissen von zwei Publikationen überein. Korley et al. beschreiben diesen

Zusammenhang bei Probanden mit Diabetes mellitus [157] und Akamine et al. stellen die Korrelation zwischen den NfL-Spiegeln und der Nierenfunktion anhand von zwei Gruppen, deren Probanden älter als 60 sind und die entweder gesund sind oder Diabetes mellitus haben, fest. Zur Erörterung dieser Korrelation werden zwei mögliche Mechanismen diskutiert. Eine davon ist die mögliche renale Elimination von NfL. Die andere basiert auf der verminderten Synthese der neuroprotektiven Stoffe Erythropoetin und Vitamin D bei Niereninsuffizienz [181]. Ein weiteres Indiz für die renale Elimination von NfL ist die negative Korrelation mit Albumin. Auch wenn der Zusammenhang zwischen den NfL-Spiegeln und Albumin nicht durch die Schlaganfallpathophysiologie begründbar ist, lässt sich bei einer Niereninsuffizienz gleichzeitig ein niedriger Albuminspiegel und erhöhte NfL-Werte beobachten. Statistisch prägt sich dieser Zusammenhang dadurch aus, dass die Signifikanz der Korrelation zwischen den Albumin- und den NfL-Spiegeln innerhalb der Modelle verloren geht, wenn die Albumin-Spiegel nach dem Kreatinin-Spiegel statistisch angepasst werden ($p=0,0003$ vs. $p=0,1761$).

Drittens hat die bivariate Korrelationsanalyse eine negative Korrelation zwischen den NfL-Werten und Hämoglobin, Hämatokrit sowie der Erythrozytenanzahl in der Schlaganfallgruppe aufgezeigt. Eine mögliche Erklärung kann sein, dass NfL an die durch Hämolyse freigesetzten Membranproteine von Erythrozyten gebunden wird. Es ist bereits bekannt, dass die Hämolyse, d.h. die Verletzung der Erythrozyten, die Messung der laborchemischen Routineparameter Kalium, LDH und Gesamtbilirubin beeinflusst [182]. In einer Publikation über das Potenzial von NfL-Analyseverfahren mit getrocknetem Blut, dem sogenannten dry bloodspot (DBS), weisen die durch Elution aus DBS gewonnenen Proben niedrigere NfL-Level auf. Die niedrigen NfL-Level werden durch die Interferenzen von höheren Hämoglobin- und Zellmembranproteinkonzentrationen nach der Elution von DBS mit NfL bei der antikörperbasierten NfL-Messung erklärt. In derselben Studie werden im Vergleich verschiedener Blutfraktionen in der Erythrozytenfraktion höhere NfL-Werte gemessen und dieses Ergebnis wird als Hinweis für die Auswirkung der Erythrozytenlyse bei der Messung von NfL im Blut bewertet [183]. Diese Annahme wird dadurch bestärkt, dass NfL an das menschliche Erythrozytenspektrin gebunden wird [184]. Durch Hämolyse werden die Zellinhalte und Membranteile der Erythrozyten in das Serum bzw. Plasma freigesetzt. Mehrere präanalytische Faktoren, wie der Blutentnahmeort, die Dauer der Stauung, die Größe der Punktionsnadel, die Art des Blutentnahmesystems oder der Probentransport, können die Hämolyse verursachen [185]. Ebenso verursacht die Zentrifugation mechanischen Stress für die Erythrozyten und verstärkt die Hämolyse [186]. Zusammenfassend kann die Annahme festgehalten werden, dass eine mögliche Interaktion zwischen Hämoglobin oder den Membranteilen der Erythrozyten mit den NfL-Werten existiert und die Messung beeinflussen kann. Falls

Diskussion

diese Interaktion durch weitere Forschungen bestätigt wird, gilt es, die präanalytischen Faktoren oder die individuellen Variablen Hämatokrit, Hämoglobin und die Erythrozytenanzahl bei der Interpretation der NfL-Werte zu berücksichtigen.

Viertens korrelieren verschiedene Vorerkrankungen, die bereits zu den Schlaganfallrisikofaktoren gezählt werden, mit den NfL-Spiegeln, sodass diese Vorerkrankungen bei der Interpretation der NfL-Spiegel bei Schlaganfallpatienten zu berücksichtigen sind und die Bedeutung der primären Prophylaxe betonen. In der Schlaganfallgruppe korrelieren die Vorerkrankungen arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Vorhofflimmern sowie frühere Schlaganfälle mit den NfL-Spiegeln. Die arterielle Hypertonie zeigt auch in der Gruppe Stroke Mimics eine signifikante Korrelation. Zudem ist der Zusammenhang zwischen Hypercholesterinämie und den NfL-Leveln in der Kontrollgruppe signifikant. Es wird vorgeschlagen, diese Vorerkrankungen bei der Interpretation der NfL-Level zu berücksichtigen. Zudem sind arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2 und Vorhofflimmern bereits anerkannte Risikofaktoren für Schlaganfall. Arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus verursachen Atherosklerose, welche zu einer zerebralen Mikroangiopathie führt. Nach Duering et al. sind die NfL-Werte bei Vorhandensein einer zerebralen Mikroangiopathie erhöht [155]. Die periphere arterielle Verschlusskrankheit stellt eine weitere klinische Manifestation der Atherosklerose dar und korreliert analog zur zerebralen Mikroangiopathie mit den NfL-Spiegeln. Die höheren NfL-Werte als Indikator der neuronalen Schädigung bei arterieller Hypertonie und Diabetes mellitus betonen die Bedeutung der primären Prophylaxe des Schlaganfalls, um die mikroangiopathischen Schädigungen zu reduzieren. Ein unerwartetes Ergebnis dieser Arbeit ist, dass die Probanden mit positiver Familienanamnese für kardiovaskulären Erkrankungen in der bivariaten Korrelationsanalyse niedrigere NfL-Level aufweisen. Basierend auf dem bisherigen Wissen werden bei Probanden mit positiver Familienanamnese für kardiovaskulären Erkrankungen höhere NfL-Level erwartet. Im Gegensatz zu diesen Überlegungen weisen die Patienten mit positiver Familienanamnese für kardiovaskuläre Ereignisse in der Schlaganfallgruppe niedrigere NfL-Werte auf. In der vorliegenden Arbeit wird die Ätiologie des Schlaganfalls bei der Prüfung der Zusammenhänge zwischen den NfL-Spiegeln und den Vorerkrankungen nicht berücksichtigt. Es kann in Erwägung gezogen werden, diese Zusammenhänge zukünftig in nach Ätiologie unterteilten Schlaganfallsubgruppen zu prüfen. Ein weiteres unerwartetes Ergebnis ist, dass die Probanden mit koronarer Herzkrankheit bei einigen Modellschätzungen der multiplen linearen Regressionsanalyse einen negativen Effekt auf die NfL-Werte zeigen, entgegen den Ergebnissen der bivariaten Korrelationsanalyse, wonach die Probanden mit koronarer Herzkrankheit höhere NfL-Werte aufweisen. Eine mögliche Begründung der beobachteten Effekturnkehrung

könnte die Überanpassung des Regressionsmodells sein. Die koronare Herzkrankheit wird durch ähnliche Risikofaktoren begünstigt wie ein Schlaganfall mit makro- oder mikroangiopathischer Genese, sodass die positive Assoziation wie bei den Ergebnissen der bivariaten Analyse zu erwarten ist.

Fünftens korreliert die Infarktgröße nur im zeitlichen Verlauf nach Symptombeginn mit den NfL-Werten. Da NfL durch den ischämiebedingten Zellabbau freigesetzt wird, ist eine positive Korrelation zwischen der Infarktgröße und den NfL-Leveln zu erwarten. Diese Korrelation ist in der Schlaganfallgruppe unter der Berücksichtigung der NfL-Werte des Aufnahme- und Folgetages nicht nachweisbar. Nur für die Werte der Blutproben 3 und 4 zeigt die Infarktgröße eine positive Korrelation. Dies kann durch die zeitliche Dynamik der Zellschädigung erklärt werden. Vergleichbare Beobachtungen finden sich in der Literatur. Onatsu et. al. stellen ebenfalls eine positive Korrelation zwischen den NfL-Werten und der ischämischen Infarktgröße fest, wobei in ihrer Arbeit die Blutabnahmezeit nach der Krankenhausvorstellung im Zeitabstand von 13,7 bis 113,9 Stunden variiert [151].

Sechstens unterstützen die Ergebnisse der multiplen linearen Regressionsanalyse die Kernaussagen eins, zwei und fünf, indem sie die Relevanz der Variablen Alter, Kreatinin und Infarkt volumina zur Erklärung der NfL-Werte bei den Schlaganfallpatienten in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf aufzeigen. Daneben ist die Erklärung eines Teils der Varianz der NfL-Werte auch mit den Effekten anderer Parameter verbunden, insbesondere CRP und einer Interaktion zwischen CRP und Kreatinin. Die Signifikanz dieser Effekte hängt stark von der Zusammensetzung der Stichprobe ab und sollte daher mit größeren Stichproben erneut geschätzt und validiert werden.

Auf Basis der beschriebenen, zentralen Erkenntnisse der Arbeit lassen sich die eingangs aufgestellten Forschungsfragen beantworten. Die Beantwortung dient der Zusammenfassung und Verallgemeinerung der Erkenntnisse:

Welche Komorbiditäten weisen einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit den NfL-Leveln nach einem Schlaganfall auf?

Bei Patienten mit Schlaganfall weisen die Komorbiditäten Diabetes mellitus Typ 2, arterielle Hypertonie, koronare Herzkrankheit, maligne Erkrankungen, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Nierenerkrankung, ein überstandener Schlaganfall und Vorhofflimmern einen statistisch signifikanten positiven Zusammenhang mit den NfL-Werten auf. Eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Ereignisse ist statistisch negativ mit den NfL-Spiegeln assoziiert. Ebenso zeigen die Laborparameter Kreatinin und CRP einen positiven Zusammenhang mit den NfL-Werten. Die Erythrozytenanzahl, Hämoglobin, Hämatokrit, Albumin, Kreatinkinase

Diskussion

und GFR sind durch einen negativen Zusammenhang mit den NfL-Werten geprägt. Neben den Komorbiditäten zeigen auch das Geschlecht und das Alter eine statistisch signifikante Assoziation mit den NfL-Werten.

Existieren Unterschiede der nachgewiesenen Zusammenhänge zwischen Patienten mit Schlaganfall und Stroke Mimics sowie einer Kontrollgruppe aus Probanden ohne bekannte neurologische Erkrankungen?

Die mit Bezug zur Schlaganfallgruppe identifizierten, signifikanten Zusammenhänge zwischen den Variablen und den NfL-Spiegeln werden mit den nachweisbaren Korrelationen in der Stroke Mimics-Gruppe und der Kontrollgruppe verglichen. Nur das Alter korreliert bei hoher Signifikanz auch in allen drei Gruppen mit den NfL-Spiegeln. Kreatinin korreliert signifikant in der Schlaganfall- und Kontrollgruppe mit den NfL-Werten, währenddessen GFR in allen Gruppen eine negative Korrelation von unterschiedlicher Signifikanz mit den NfL-Leveln aufweist. Zudem zeigen die Parameter INR sowie Hypercholesterinämie in der Kontrollgruppe und arterielle Hypertonie in der Stroke Mimics-Gruppe eine signifikante Korrelation mit den NfL-Spiegeln. Diese Korrelationen zwischen den NfL-Leveln und INR sowie Hypercholesterinämie werden weder in der Schlaganfallgruppe noch in der Stroke Mimics-Gruppe festgestellt. Es ist möglich, dass die niedrige Probandenanzahl in den Vergleichsgruppen einen Einfluss auf die Teststärke und somit Nachweisbarkeit signifikanter Korrelationen hat.

Verändern sich die Assoziationen über die Zeit nach dem Schlaganfall?

Die Zusammenhänge bei den laborchemisch gemessenen Variablen sowie dem Alter und der Infarktgröße mit den NfL-Werten variieren, wenn die Zusammenhänge wiederholt zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Schlaganfall geprüft werden. Das zuvor definierte Signifikanzniveau zum Nachweis der Korrelation wird bei den Variablen Infarktvolumen, Kreatinin und Kreatinkinase nicht in allen erhobenen Blutproben erreicht. Eine mögliche Erklärung für diese Unterschiede liegt in der zeitlichen Dynamik der ischämiebedingten Zellschädigung.

Wie gestaltet sich ein Modell, das die zirkulierenden Level von NfL bei Schlaganfallpatienten unter Berücksichtigung des Einflusses von Komorbiditäten erklärt?

Ein verallgemeinertes multiples lineares Regressionsmodell MfSP zur Erklärung der NfL-Level bei Schlaganfallpatienten am Aufnahmetag gestaltet sich als Ergebnis der Modellselektion unter Berücksichtigung und Vergleich aller Teilmengen vorselektierter Prädiktoren anhand des AIC-Werts. Die NfL-Werte und die Prädiktoren Kreatin und CRP sind mit dem natürlichen Logarithmus transformiert und die Prädiktoren mit der abhängigen Variable über den Log-Link verbunden. Das

Modell setzt sich aus den Prädiktoren Alter, Kreatinin, CRP, der Interaktion zwischen CRP und Kreatinin, koronarer Herzkrankheit und Diabetes mellitus Typ II. Die positiv gerichteten Effekte von Alter und Kreatinin auf die transformierten NfL-Spiegel sind im MfSP signifikant. Das Hinzufügen des Infarktolumens als zusätzliche Variable im MfSP_L für den longitudinalen Vergleich verdeutlicht die zeitlichen Veränderungen der Assoziationen zwischen den Prädiktoren und den NfL-Werten. In der vierten Probe mit dem Entnahmezeitpunkt 63,87 bis 171,83 Stunden nach Symptombeginn weisen das Alter und das Infarktvolumen signifikante statistische Effekte auf die transformierten NfL-Werte auf.

5.2 Limitationen und weitere Forschungsfelder

Die vorliegende Arbeit weist verschiedene Limitationen auf, die zum Teil in den Zusammenfassungen der empirischen Analyse genannt wurden und Raum für weitere Forschungsfelder eröffnen.

Eine der Limitationen nimmt Bezug zur Erhebung der Daten. Der Zeitpunkt der Blutabnahme und die erhobenen Parameter variierten je nach Routinediagnostik im Krankenhaus und Entscheidung des behandelnden Arztes. Insbesondere war auch der Zeitpunkt der einmaligen Bildgebung zur Messung der Infarktgröße nicht standardisiert. Die Ätiologie des Schlaganfalls wurde bei der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den Komorbiditäten und den NfL-Werten nicht differenziert. Die Erfassung der Komorbiditäten und Vorerkrankungen basierte auf anamnestischen Angaben. Die Überprüfung und Ergänzung der Angaben erfolgte, wie in Kapitel 3.2 beschrieben, unter Einbeziehung weiterer Quellen, wie zum Beispiel Arztbriefen. Aufgrund dieser Vorgehensweise können Mängel in der Datenqualität sowie fehlende Werte nicht ausgeschlossen werden. Weitergehende Ausprägungen der Vorerkrankungen in Form von Schweregraden wurden nicht erfasst. Beispielsweise konnte deshalb der Einfluss eines langjährigen Verlaufs des Diabetes mellitus im Vergleich zu einem neu diagnostizierten Diabetes mellitus in dieser Arbeit nicht verglichen werden. Die Erhebung ordinalskalierten Parameter war ein notwendiger Kompromiss und kann zu Informationsverlusten führen. Aufgrund der signifikanten Korrelationsergebnisse der GFR wird empfohlen, diese in weiteren Studien mit metrischen Werten weiter zu berücksichtigen. Weiterhin ist zu beachten, dass bei den Probanden der Kontrollgruppe keine kraniale Bildgebung durchgeführt wurde. Es ist daher möglich, dass bestimmte Pathologien nicht erkannt und in der Analyse nicht berücksichtigt wurden. So könnte z.B. eine vorhandene, aber aus der Anamnese nicht bekannte mikroangiopathische Leukoenzephalopathie mit höheren NfL-Werten assoziiert sein.

Eine bedeutende Limitation ist die unterschiedliche Größe der Stichproben in den verschiedenen Kohorten. Die Gruppe Stroke Mimics und die Kontrollgruppe umfassen eine deutlich kleinere Anzahl von Probanden. Diese Einschränkung wurde in Kapitel 4.2.5 ausführlich diskutiert. Die Stichprobengröße beeinflusst die Teststärke und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalysen zwischen den Gruppen. Sie führt auch dazu, dass die Gruppen nicht repräsentativ für die Gesamtpopulation sind. Bestimmte Vorerkrankungen treten in den kleineren Probandengruppen nicht auf. Die Größe der Probandengruppen hat Auswirkungen auf die Analysemöglichkeiten der multiplen linearen Regression, da eine Überanpassung bei der Schätzung der Vergleichsgruppenmodelle wahrscheinlich ist.

Eine wesentliche Limitation stellt zudem die Notwendigkeit zur externen Validierung des Prädiktionsmodells und der Ergebnisse dar. Obwohl die Unabhängigkeit der Beobachtungen in der multiplen linearen Regressionsanalyse angenommen wurde, muss darauf hingewiesen werden, dass nur eine kleine Stichprobe untersucht wurde, die spezifische abhängige Merkmale aufweist. Dazu gehört beispielsweise die Rekrutierung in einem einzigen Zentrum. Darüber hinaus besteht trotz statistischer Verbesserungen die Möglichkeit, dass das multiple lineare Regressionsmodell nach der Schätzung zu stark an die spezifischen Eigenschaften dieses Datensatzes angepasst wurde. Der Datensatz weist eine hohe Varianz der abhängigen Variablen auf. Einzelne Ausreißer können die Lage der Konfidenzintervalle und die Signifikanz der Effekte stark beeinflussen. Die externe Validierung bietet die Möglichkeit, Überanpassung zu reduzieren, das Modell zu verbessern und die Generalisierbarkeit und Anwendbarkeit dieses Modells auf andere Populationen zu überprüfen.

Die beschriebenen Limitationen verdeutlichen die Breite und Komplexität des Untersuchungsfelds und den damit einhergehenden Bedarf für die weitere Forschung in der Zukunft.

6 Kurzzusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit Neurofilament light chain (NfL), einem potenziellen Biomarker bei Schlaganfall. NfL spiegelt die Schädigung von Nervenzellen wider und tritt bei Schlaganfall und weiteren neurologischen Erkrankungen in erhöhten Konzentrationen auf.

Der Einfluss von Komorbiditäten und Risikofaktoren auf die NfL-Werte bei Schlaganfall ist bisher wenig untersucht. Diese Arbeit fokussiert auf die Analyse dieser Zusammenhänge bei einer Probandengruppe von Schlaganfallpatienten (n=196). Zudem wird untersucht, ob es gegenüber einer Vergleichsgruppe mit Stroke Mimics (n=24) und einer Vergleichsgruppe ohne akute neurologische Krankheitssymptome (n=30) Unterschiede in den statistischen Assoziationen gibt.

Bei Schlaganfallpatienten zeigen die Komorbiditäten Diabetes mellitus Typ 2, arterielle Hypertonie, maligne Erkrankungen, koronare Herzkrankheit, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Nierenerkrankung, Schlaganfall in der Vorgeschichte und Vorhofflimmern sowie eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Ereignisse und das Geschlecht eine statistisch signifikante Assoziation mit den NfL-Werten. Auch die Laborparameter Kreatinin, GFR, CRP, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Albumin und Kreatinkinase sowie das Alter korrelieren signifikant mit den NfL-Werten. Die Assoziationen der stetigen Laborparameter, Alter und Infarkt volumen ändern sich in der longitudinalen Betrachtung von vier aufeinanderfolgenden Blutproben nach dem Schlaganfall. Gruppenübergreifend korrelieren die Parameter Alter und GFR in allen sowie Kreatinin und arterielle Hypertonie in zwei Gruppen mit den NfL-Werten. Die Interpretation und Aussagekraft der Analyse in den Vergleichsgruppen ist durch die kleineren Fallzahlen limitiert.

Auf Basis eines verallgemeinerten multiple linearen Regressionsmodells für Schlaganfallpatienten lässt sich ein Teil der Varianz der transformierten NfL-Werte durch die Variablen Alter, Kreatinin, CRP, den Interaktionsterm aus CRP und Kreatinin, koronare Herzkrankheit, Erythrozyten und Diabetes melitus Typ II sowie longitudinal mit dem Infarkt volumen erklären. Aufgrund verschiedener Limitationen besteht die Notwendigkeit das daraus abgeleitete Prädiktionsmodell mit externen Daten zu validieren.

Neben diesem Anknüpfungspunkt für Validierungsstudien bieten die gewonnenen Erkenntnisse über die Zusammenhänge zwischen den Komorbiditäten und der NfL-Werte, trotz des explorativen Charakters und der Limitationen, aufgrund der Vielfalt der berücksichtigten Parameter und der Größe der Schlaganfallgruppe mit 190 Patienten eine Grundlage für weitere Forschungsfelder.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Gaetani L, Blennow K, Calabresi P et al (2019): Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 90(8):870–881
- 2 WHO MONICA Project Principal Investigators (1988): The world health organization monica project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): A major international collaboration. *Journal of Clinical Epidemiology* 41(2):105–114
- 3 Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP et al (2013): An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 44(7):2064–2089
- 4 Easton JD, Saver JL, Albers GW et al (2009): Definition and evaluation of transient ischemic attack: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; and the Interdisciplinary Council on Peripheral Vascular Disease. *Stroke* 40(6):2276–2293
- 5 WHO (2020): the-top-10-causes-of-death. [Online im Internet]: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. (Stand: 07.02.2021)
- 6 WHO (2021): Indicator Metadata Registry. List Disability-adjusted life years (DALYs). [Online im Internet]: <https://www.who.int/data/gho/indicator-metadata-registry/imr-details/158> (Stand: 07.02.2021)
- 7 Johnson CO, Nguyen M, Roth GA et al (2019): Global, regional, and national burden of stroke, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology* 18(5):439–458
- 8 Feigin VL, Abajobir AA, Abate KH et al (2017): Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet Neurology* 16(11):877–897
- 9 Feigin VL, Norrving B, Mensah GA (2017): Global Burden of Stroke. *Circulation research* 120(3):439–448
- 10 Statistisches Bundesamt (Destatis) (2017): Diagnosedaten der Patienten und Patientinnen in Krankenhäusern (einschl. Sterbe- und Stundenfälle). [Online im Internet]: https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Krankenhaeuser/Publikationen/Downloads-Krankenhaeuser/diagnosedaten-krankenhaus-2120621167004.pdf?__blob=publicationFile. (Stand: 05.01.2021)

- 11 Statistisches Bundesamt (Destatis) (2018): Korrektur der Ausgabe vom 18.12.2018, Gesundheit / Ergebnisse der Todesursachenstatistik für Deutschland. [Online im Internet]: https://www.statistischebibliothek.de/mir/receive/DEHeft_mods_00096650. (Stand: 05.01.2021)
- 12 Kolominsky-Rabas PL, Sarti C, Heuschmann PU et al (1998): A prospective community-based study of stroke in Germany--the Erlangen Stroke Project (ESPro): incidence and case fatality at 1, 3, and 12 months. *Stroke* 29(12):2501–2506
- 13 Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR et al (2009): Classification of stroke subtypes. *Cerebrovascular diseases* 27(5):493–501
- 14 Mehndiratta P, Chapman Smith S, Worrall BB (2015): Etiologic stroke subtypes: updated definition and efficient workup strategies. *Current treatment options in cardiovascular medicine* 17(1):357
- 15 Eschenfelder CC, Zeller JA, Stिंगele R (2006): Stroke: causes and classification. *Hamostaseologie* 26(04):298–308
- 16 Sudlow CL, Warlow CP (1997): Comparable studies of the incidence of stroke and its pathological types: results from an international collaboration. International Stroke Incidence Collaboration. *Stroke* 28(3): 491-9
- 17 Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C (1991): Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *The Lancet* 337(8756):1521–1526
- 18 Mead G, Lewis S, Wardlaw J et al (2000): How well does the Oxfordshire Community Stroke Project classification predict the site and size of the infarct on brain imaging? *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 68(5):558–562
- 19 Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ et al (1993): Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 24(1):35–41
- 20 Martin Trepel (2017): Neuroanatomie. Seite: 271-281. Urban & Fischer in Elsevier (ISBN: 978-3-437-41288-2)
- 21 Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al., editors. Sunderland (MA): Sinauer Associates (2001) Neuroscience. 2nd edition. [Online im Internet]: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11042/>. (Stand 06.01.2021)
- 22 Barber PA, Auer RN, Buchan AM, Sutherland GR (2001): Understanding and managing ischemic stroke. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 79(3):283–296
- 23 Hossmann K-A (1993): Chapter 11 Disturbances of cerebral protein synthesis and ischemic cell death. In: Kogure K, Hossmann K-A, Siesjö BK (Hrsg) *Neurobiology of ischemic brain damage*, Bd. 96. Elsevier, Amsterdam, London, S 161–177

- 24 Katsura K, Kristián T, Siesjö BK (1994): Energy metabolism, ion homeostasis, and cell damage in the brain. *Biochemical Society transactions* 22(4):991–996
- 25 Siesjö BK, Bengtsson F, Grampp W, Theander S (1989): Calcium, excitotoxins, and neuronal death in the brain. *Annals of the New York Academy of Sciences* 568:234–251
- 26 Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M et al (2017): Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurological sciences*. 38(7):1167–1186
- 27 Tyson RL, Sutherland GR, Peeling J (1996): ²³Na nuclear magnetic resonance spectral changes during and after forebrain ischemia in hypoglycemic, normoglycemic, and hyperglycemic rats. *Stroke* 27(5):957–964
- 28 Budd SL (1998): Mechanisms of neuronal damage in brain hypoxia/ischemia: focus on the role of mitochondrial calcium accumulation. *Pharmacology & therapeutics* 80(2):203-29
- 29 Culmsee C, Zhu C, Landshamer S et al (2005): Apoptosis-inducing factor triggered by poly(ADP-ribose) polymerase and Bid mediates neuronal cell death after oxygen-glucose deprivation and focal cerebral ischemia. *The Journal of neuroscience* 25(44):10262–10272
- 30 Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Noshita N et al (2000): The Cytosolic Antioxidant Copper/Zinc-Superoxide Dismutase Prevents the Early Release of Mitochondrial Cytochrome c in Ischemic Brain after Transient Focal Cerebral Ischemia in Mice. *J. Neurosci.* 20(8):2817–2824
- 31 Rothwell NJ, Loddick SA, Stroemer P (1997): Interleukins and cerebral ischaemia. *Int Rev Neurobiol.*40:281-98.
- 32 Boehme AK, Esenwa C, Elkind MSV (2017): Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circulation research* 120(3):472–495
- 33 Feigin VL, Roth GA, Naghavi M et al (2016): Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet Neurology* 15(9):913–924
- 34 Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A et al (2019): Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 139(10): e56-e528
- 35 Haast RAM, Gustafson DR, Kiliaan AJ (2012): Sex differences in stroke. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 32(12):2100–2107
- 36 Asplund K, Karvanen J, Giampaoli S et al (2009): Relative risks for stroke by age, sex, and population based on follow-up of 18 European populations in the MORGAM Project. *Stroke* 40(7):2319–2326

- 37 Reeves MJ, Bushnell CD, Howard G et al (2008): Sex differences in stroke: epidemiology, clinical presentation, medical care, and outcomes. *The Lancet Neurology* 7(10):915–926
- 38 Sacco RL, Boden-Albala B, Gan R et al (1998): Stroke incidence among white, black, and Hispanic residents of an urban community: the Northern Manhattan Stroke Study. *American journal of epidemiology* 147(3):259–268
- 39 Gunarathne A, Patel JV, Gammon B et al (2009): Ischemic stroke in South Asians: a review of the epidemiology, pathophysiology, and ethnicity-related clinical features. *Stroke* 40(6): e415-23
- 40 Sacco RL, Boden-Albala B, Abel G et al (2001): Race-ethnic disparities in the impact of stroke risk factors: the northern Manhattan stroke study. *Stroke* 32(8):1725–1731
- 41 Seshadri S, Beiser A, Pikula A et al (2010): Parental occurrence of stroke and risk of stroke in their children: the Framingham study. *Circulation* 121(11):1304–1312
- 42 Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ et al (2011): Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 42(2):517–584
- 43 Meschia JF, Bushnell C, Boden-Albala B et al (2014): Guidelines for the primary prevention of stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 45(12):3754–3832
- 44 Sipahi I, Swaminathan A, Natesan V et al (2012): Effect of antihypertensive therapy on incident stroke in cohorts with prehypertensive blood pressure levels: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Stroke* 43(2):432–440
- 45 The Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Gao P, Seshasai SR et al (2010): Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *The Lancet* 375(9733):2215–2222
- 46 Chen R, Ovbiagele B, Feng W (2016): Diabetes and Stroke: Epidemiology, Pathophysiology, Pharmaceuticals and Outcomes. *The American journal of the medical sciences* 351(4):380–386
- 47 Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB (1991): Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke* 22(8):983–988
- 48 Law MR, Wald NJ, Rudnicka AR (2003): Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *BMJ: British Medical Journal* 326(7404):1423

- 49 O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L et al (2010): Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *The Lancet* 376(9735):112–123
- 50 Shah RS, Cole JW (2010): Smoking and stroke: the more you smoke the more you stroke. *Expert review of cardiovascular therapy* 8(7):917–932
- 51 Bonita R, Duncan J, Truelsen T et al (1999): Passive smoking as well as active smoking increases the risk of acute stroke. *Tobacco control* 8(2):156–160
- 52 Willey JZ, Moon YP, Sacco RL et al (2017): Physical inactivity is a strong risk factor for stroke in the oldest old: Findings from a multi-ethnic population (the Northern Manhattan Study). *International journal of stroke*. 12(2):197–200
- 53 Chen Z, Iona A, Parish S et al (2018): Adiposity and risk of ischaemic and haemorrhagic stroke in 0.5 million Chinese men and women: a prospective cohort study. *The Lancet Global Health* 6(6):e630-e640
- 54 Kroll ME, Green J, Beral V et al (2016): Adiposity and ischemic and hemorrhagic stroke: Prospective study in women and meta-analysis. *Neurology* 87(14):1473–1481
- 55 Kurth T, Gaziano JM, Berger K et al (2002): Body mass index and the risk of stroke in men. *Archives of internal medicine* 162(22):2557–2562
- 56 Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J et al (2013): Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *The New England journal of medicine* 368(14):1279–1290
- 57 Li XY, Cai XL, Bian PD, Hu LR (2012): High salt intake and stroke: meta-analysis of the epidemiologic evidence. *CNS neuroscience & therapeutics* 18(8):691–701
- 58 Larsson SC, Virtamo J, Wolk A (2013): Total and specific fruit and vegetable consumption and risk of stroke: a prospective study. *Atherosclerosis* 227(1):147–152
- 59 Booth J, Connelly L, Lawrence M et al (2015): Evidence of perceived psychosocial stress as a risk factor for stroke in adults: a meta-analysis. *BMC neurology* 15:233
- 60 Pan A, Sun Q, Okereke OI et al (2011): Depression and risk of stroke morbidity and mortality: a meta-analysis and systematic review. *JAMA* 306(11):1241–1249
- 61 Esse K, Fossati-Bellani M, Traylor A, Martin-Schild S (2011): Epidemic of illicit drug use, mechanisms of action/addiction and stroke as a health hazard. *Brain and behavior* 1(1):44–54
- 62 The Emerging Risk Factors Collaboration (2010): C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *The Lancet* 375(9709):132–140

- 63 Framingham Heart Study: About the Framingham Heart Study. [Online im Internet]: <https://www.framinghamheartstudy.org/fhs-about/>. (Stand: 08.01.2021)
- 64 Levy D, Kannel WB (1988): Cardiovascular risks: New insights from Framingham. *American Heart Journal* 116(1):266–272
- 65 D'Agostino RB, Pencina MJ, Massaro JM, Coady S (2013): Cardiovascular Disease Risk Assessment: Insights from Framingham. *Global Heart* 8(1):11–23
- 66 Flueckiger P, Longstreth W, Herrington D, Yeboah J (2018): Revised Framingham Stroke Risk Score, Nontraditional Risk Markers, and Incident Stroke in a Multiethnic Cohort. *Stroke* 49(2):363–369
- 67 Musuka TD, Wilton SB, Traboulsi M, Hill MD (2015): Diagnosis and management of acute ischemic stroke: speed is critical. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal* 187(12):887–893
- 68 Gomez CR (2018): Time Is Brain: The Stroke Theory of Relativity. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 27(8):2214–2227
- 69 Mccarthy M (1993): Time is brain. *The Lancet* 341(8856):1339–1340
- 70 Hennerici M. G., Kern R. et al. (2017): S1-Leitlinie Diagnostik akuter zerebrovaskulärer Erkrankungen. 2017. In: Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Hrsg. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. [Online im Internet]: <https://dgn.org/leitlinien/030-117-diagnostik-akuter-zerebrovaskulaerer-erkrankungen-2017/>. (Stand am 06.01.2021)
- 71 Lin MP, Liebeskind DS (2016): Imaging of Ischemic Stroke. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology* 22(5):1399–1423
- 72 Latchaw RE, Alberts MJ, Lev MH et al (2009): Recommendations for imaging of acute ischemic stroke: a scientific statement from the American Heart Association. *Stroke* 40(11):3646–3678
- 73 Astrup J, Siesjö BK, Symon L (1981): Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke* 12(6):723–725
- 74 Wiesmann M, Brückmann H (2002): Schlaganfall Klinik, Diagnostik, Therapie Interdisziplinäres Handbuch, Kapitel 5.1: Bildgebende Diagnostik beim Schlaganfall Seite: 281-308, ecomed (ISBN: 3-609-16100-0)
- 75 Veltkamp R, Fiehler, J, Grond M et al (2012): Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie (2012), in: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.), Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. [Online im Internet]: https://dgn.org/wp-content/uploads/2012/12/II_22_2012_akuttherapie_des_ischmischen_schlaganfalls_archiviert.pdf. (Stand: 06.01.2021)

- 76 Ringleb PA, Hamann GF, Röther J et al (2015): Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls – Ergänzung 2015 – Rekanalisierende Therapie in: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.), Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie .[Online im Internet]: https://www.dsg-info.de/images/stories/DSG/PDF/Leitlinien/030140_LL_akuter-ischaemischer-schlaganfall_final.pdf. (Stand: 06.01.2021)
- 77 Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T et al (2019): Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: 2019 Update to the 2018 Guidelines for the Early Management of Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 50(12): e344-e418
- 78 Emberson J, Lees KR, Lyden P et al (2014): Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *The Lancet* 384(9958):1929–1935
- 79 Lees KR, Bluhmki E, von Kummer R et al (2010): Time to treatment with intravenous alteplase and outcome in stroke: an updated pooled analysis of ECASS, ATLANTIS, NINDS, and EPITHET trials. *The Lancet* 375(9727):1695–1703
- 80 Schellinger PD, Kaste M, Hacke W (2004): An update on thrombolytic therapy for acute stroke. *Current opinion in neurology* 17(1):69–77
- 81 The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group (1995): Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *The New England journal of medicine* 333(24):1581–1587
- 82 Fugate JE, Rabinstein AA (2015): Absolute and Relative Contraindications to IV rt-PA for Acute Ischemic Stroke. *The Neurohospitalist* 5(3):110–121
- 83 Haußmann A (2019): Intravenöse Lysetherapie zur akuten Schlaganfalltherapie – neuester Stand (Intravenous lysis treatment in acute stroke treatment-latest situation). *Der Radiologe* 59(7):632–636
- 84 Campbell BCV, Ma H, Ringleb PA et al (2019): Extending thrombolysis to 4·5–9 h and wake-up stroke using perfusion imaging: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *The Lancet* 394(10193):139–147
- 85 Ringleb P., Köhrmann M., Jansen O., et al.: Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls, S2e-Leitlinie, 2021, in: Deutsche Gesellschaft für Neurologie (Hrsg.), Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. [Online im Internet]: <https://www.dgn.org/leitlinien/II-030-046-akuttherapie-des-ischaemischen-schlaganfalls-2021/> (Stand: 21.06.2021)

- 86 Schellinger PD, Thomalla G, Fiehler J et al (2007): MRI-based and CT-based thrombolytic therapy in acute stroke within and beyond established time windows: an analysis of 1210 patients. *Stroke* 38(10):2640–2645
- 87 Thomalla G, Simonsen CZ, Boutitie F et al (2018): MRI-Guided Thrombolysis for Stroke with Unknown Time of Onset. *The New England journal of medicine* 379(7):611–62288 Albers GW, Marks MP, Kemp S et al (2018): Thrombectomy for Stroke at 6 to 16 Hours with Selection by Perfusion Imaging. *The New England journal of medicine* 378(8):708–718
- 89 Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC et al (2018): Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. *The New England journal of medicine* 378(1):11–21
- 90 Lawrence ES, Coshall C, Dundas R et al (2001): Estimates of the prevalence of acute stroke impairments and disability in a multiethnic population. *Stroke* 32(6):1279–1284
- 91 Hatem SM, Saussez G, Della Faille M et al (2016): Rehabilitation of Motor Function after Stroke: A Multiple Systematic Review Focused on Techniques to Stimulate Upper Extremity Recovery. *Frontiers in human neuroscience* 10:442
- 92 Vestling M, Tufvesson B, Iwarsson S (2003): Indicators for return to work after stroke and the importance of work for subjective well-being and life satisfaction. *Journal of rehabilitation medicine* 35(3):127–131
- 93 Westerlind E, Persson HC, Sunnerhagen KS (2017): Return to Work after a Stroke in Working Age Persons; A Six-Year Follow Up. *PloS one* 12(1): e0169759
- 94 Kim JS (2016): Post-stroke Mood and Emotional Disturbances: Pharmacological Therapy Based on Mechanisms. *Journal of stroke* 18(3):244–255
- 95 Paolucci S (2008): Epidemiology and treatment of post-stroke depression. *Neuropsychiatric disease and treatment* 4(1):145–154
- 96 Al-Qazzaz NK, Ali SH, Ahmad SA et al (2014): Cognitive impairment and memory dysfunction after a stroke diagnosis: a post-stroke memory assessment. *Neuropsychiatric disease and treatment* 10:1677–1691
- 97 Cullen B, O'Neill B, Evans JJ et al (2007): A review of screening tests for cognitive impairment. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 78(8):790–799
- 98 Forsgren L, Beghi E, Oun A, Sillanpää M (2005): The epidemiology of epilepsy in Europe - a systematic review. *European journal of neurology* 12(4):245–253
- 99 Hankey GJ (2003): Long-term outcome after ischaemic stroke/transient ischaemic attack. *Cerebrovascular diseases* 16 Suppl 1:14–19

- 100 Stahmeyer JT, Stubenrauch S, Geyer S et al (2019): The Frequency and Timing of Recurrent Stroke: An Analysis of Routine Health Insurance Data. *Deutsches Arzteblatt international* 116(42):711–717
- 101 Mohan KM, Wolfe CDA, Rudd AG et al (2011): Risk and cumulative risk of stroke recurrence: a systematic review and meta-analysis. *Stroke* 42(5):1489–1494
- 102 Kolominsky-Rabas PL, Heuschmann PU, Marschall D et al (2006): Lifetime cost of ischemic stroke in Germany: results and national projections from a population-based stroke registry: the Erlangen Stroke Project. *Stroke* 37(5):1179–1183
- 103 Clinical pharmacology and therapeutics (2001): Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical pharmacology and therapeutics* 69(3):89–95
- 104 FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); 2016-. Co-published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD), (Last Updated: 2020), [Online im Internet]: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/pdf/Bookshelf_NBK326791.pdf (Stand: 05.01.2021)
- 105 Roffi M, Patrono C, Collet JP et al (2016): 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal* 37(3):267–315
- 106 Holbrook A, Schulman S, Witt DM et al (2012): Evidence-based management of anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 141(2 Suppl): e152S-e184S
- 107 Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL et al (2019): 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology* 73(24):3168–3209
- 108 Couban S, Savoie L, Mourad YA et al (2014): Evidence-based guidelines for the use of tyrosine kinase inhibitors in adults with Philadelphia chromosome–positive or BCR-ABL–positive acute lymphoblastic leukemia: a Canadian consensus. *Current Oncology* 21(2):e265-309

- 109 Slamon DJ, Clark GM, Wong SG et al (1987): Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 235(4785):177–182
- 110 Whellan DJ, Green CL, Piccini JP, Krucoff W (2009): QT as a safety biomarker in drug development. *Clinical pharmacology and therapeutics* 86(1):101–104
- 111 Evers-Kiebooms G, Nys K, Harper P et al (2002): Predictive DNA-testing for Huntington's disease and reproductive decision making: a European collaborative study. *Eur J Hum Genet* 10(3):167–176
- 112 Fletcher DA, Mullins RD (2010): Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature* 463(7280):485–492
- 113 Ishikawa H, Bischoff R, Holtzer H (1968): Mitosis and intermediate-sized filaments in developing skeletal muscle. *The Journal of cell biology* 38(3):538–555
- 114 Desai A, Mitchison TJ (1997): Microtubule polymerization dynamics. *Annual review of cell and developmental biology* 13:83–117
- 115 Huber F, Schnauß J, Rönicke S et al (2013): Emergent complexity of the cytoskeleton: from single filaments to tissue. *Advances in Physics* 62(1):1–112
- 116 Jordan MA, Wilson L (2004): Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nature reviews. Cancer* 4(4):253–265
- 117 Mitchison T, Kirschner M (1984): Dynamic instability of microtubule growth. *Nature* 312(5991):237–242
- 118 Holy TE, Leibler S (1994): Dynamic instability of microtubules as an efficient way to search in space. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(12):5682–5685
- 119 Welch MD, Mullins RD (2002): Cellular control of actin nucleation. *Annual review of cell and developmental biology* 18:247–288
- 120 Dominguez R, Holmes KC (2011): Actin structure and function. *Annual review of biophysics* 40:169–186
- 121 Pollard TD, Borisy GG (2003): Cellular Motility Driven by Assembly and Disassembly of Actin Filaments. *Cell* 112(4):453–465
- 122 Coulombe PA, Bousquet O, Ma L et al (2000): The 'ins' and 'outs' of intermediate filament organization. *Trends in Cell Biology* 10(10):420–428
- 123 Fuchs E, Weber K (1994): Intermediate filaments: structure, dynamics, function, and disease. *Annual review of biochemistry* 63:345–382
- 124 Lazarides E (1982): Intermediate filaments: a chemically heterogeneous, developmentally regulated class of proteins. *Annual review of biochemistry* 51:219–250
- 125 Flitney EW, Kuczumski ER, Adam SA, Goldman RD (2009): Insights into the mechanical properties of epithelial cells: the effects of shear stress on the

- assembly and remodeling of keratin intermediate filaments. *FASEB J.* 23(7):2110-9.
- 126 Caulin C, Ware CF, Magin TM, Oshima RG (2000): Keratin-dependent, epithelial resistance to tumor necrosis factor-induced apoptosis. *The Journal of cell biology* 149(1):17–22
- 127 Herrmann H, Aebi U (2000): Intermediate filaments and their associates: multi-talented structural elements specifying cytoarchitecture and cytodynamics. *Current Opinion in Cell Biology* 12(1):79–90
- 128 Yuan A, Rao MV, Veeranna, Nixon RA (2012): Neurofilaments at a glance. *Journal of cell science* 125 (Pt 14):3257–3263
- 129 Eyer J, Peterson A (1994): Neurofilament-deficient axons and perikaryal aggregates in viable transgenic mice expressing a neurofilament- β -galactosidase fusion protein. *Neuron* 12(2):389–405
- 130 Seidl AH (2014): Regulation of conduction time along axons. *Neuroscience* 276:126–134
- 131 Wagner OI, Rammensee S, Korde N et al (2007): Softness, strength and self-repair in intermediate filament networks. *Experimental cell research* 313(10):2228–2235
- 132 Yuan A, Rao MV, Veeranna, Nixon RA (2017): Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 9(4):a018309.
- 133 Axelsson M, Malmeström C, Nilsson S et al (2011): Glial fibrillary acidic protein: a potential biomarker for progression in multiple sclerosis. *Journal of Neurology* 258(5) :882-8
- 134 Polivka J, Krakorova K, Peterka M et al (2016): Current status of biomarker research in neurology. *EPMA journal* 7(1):14
- 135 Sedaghat F, Notopoulos A (2008): S100 protein family and its application in clinical practice. *Hippokratia* 12(4):198–204
- 136 Varhaug KN, Torkildsen Ø, Myhr KM, Vedeler CA (2019): Neurofilament Light Chain as a Biomarker in Multiple Sclerosis. *Front. Neurol.* 10:338
- 137 Kuhle J, Barro C, Andreasson U et al (2016): Comparison of three analytical platforms for quantification of the neurofilament light chain in blood samples: ELISA, electrochemiluminescence immunoassay and Simoa. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 54(10):1655–1661
- 138 Disanto G, Adiutori R, Dobson R et al (2016): Serum neurofilament light chain levels are increased in patients with a clinically isolated syndrome. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 87(2):126–129

- 139 Disanto G, Barro C, Benkert P et al (2017): Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Annals of neurology* 81(6):857–870
- 140 Forgrave LM, Ma M, Best JR, DeMarco ML (2019): The diagnostic performance of neurofilament light chain in CSF and blood for Alzheimer's disease, frontotemporal dementia, and amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's & dementia (Amst)* 11:730–743
- 141 Lu C-H, Macdonald-Wallis C, Gray E et al (2015): Neurofilament light chain: A prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 84(22):2247–2257
- 142 Eratne D, Loi SM, Walia N et al (2020): A pilot study of the utility of cerebrospinal fluid neurofilament light chain in differentiating neurodegenerative from psychiatric disorders: A 'C-reactive protein' for psychiatrists and neurologists? *The Australian and New Zealand journal of psychiatry* 54(1):57–67
- 143 Ameres M, Brandstetter S, Toncheva AA et al (2020): Association of neuronal injury blood marker neurofilament light chain with mild-to-moderate COVID-19. *Journal of Neurology* 267(12): 3476–3478.
- 144 Gao W, Zhang Z, Lv X et al (2020): Neurofilament light chain level in traumatic brain injury: A system review and meta-analysis. *Medicine* 99(38): e22363
- 145 Parnetti L, Gaetani L, Eusebi P et al (2019): CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *The Lancet Neurology* 18(6):573–586
- 146 Altmann P, Simoni D de, Kaider A et al (2020): Increased serum neurofilament light chain concentration indicates poor outcome in Guillain-Barré syndrome. *Journal of neuroinflammation* 17(1):86
- 147 Kanata E, Golanska E, Villar-Piqué A et al (2019): Cerebrospinal fluid neurofilament light in suspected sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Journal of clinical neuroscience* 60:124–127
- 148 Yilmaz A, Blennow K, Hagberg L et al (2017): Neurofilament light chain protein as a marker of neuronal injury: review of its use in HIV-1 infection and reference values for HIV-negative controls. *Expert review of molecular diagnostics* 17(8):761–770
- 149 Byrne LM, Rodrigues FB, Blennow K et al (2017): Neurofilament light protein in blood as a potential biomarker of neurodegeneration in Huntington's disease: a retrospective cohort analysis. *The Lancet Neurology* 16(8):601–609
- 150 Moseby-Knappe M, Mattsson N, Nielsen N et al (2019): Serum Neurofilament Light Chain for Prognosis of Outcome After Cardiac Arrest. *JAMA neurology* 76(1):64–71

- 151 Onatsu J, Vanninen R, Jäkälä P, Mustonen P et al (2019): Serum Neurofilament Light Chain Concentration Correlates with Infarct Volume but Not Prognosis in Acute Ischemic Stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 28(8):2242–2249
- 152 Tiedt S, Duering M, Barro C et al (2018): Serum neurofilament light: A biomarker of neuroaxonal injury after ischemic stroke. *Neurology* 91(14): e1338-e1347
- 153 Uphaus T, Bittner S, Gröschel S et al (2019): NfL (Neurofilament Light Chain) Levels as a Predictive Marker for Long-Term Outcome After Ischemic Stroke. *Stroke* 50(11):3077–3084
- 154 Chen C-H, Cheng Y-W, Chen Y-F et al (2020): Plasma neurofilament light chain and glial fibrillary acidic protein predict stroke in CADASIL. *Journal of neuroinflammation* 17(1):124
- 155 Duering M, Konieczny MJ, Tiedt S et al (2018): Serum Neurofilament Light Chain Levels Are Related to Small Vessel Disease Burden. *Journal of stroke* 20(2):228–238
- 156 Peters N, van Leijssen E, Tuladhar AM et al (2020): Serum Neurofilament Light Chain Is Associated with Incident Lacunes in Progressive Cerebral Small Vessel Disease. *Journal of stroke* 22(3):369–376
- 157 Korley FK, Goldstick J, Mastali M et al (2019): Serum NfL (Neurofilament Light Chain) Levels and Incident Stroke in Adults With Diabetes Mellitus. *Stroke* 50(7):1669–1675
- 158 Hviid CVB, Knudsen CS, Parkner T (2020): Reference interval and preanalytical properties of serum neurofilament light chain in Scandinavian adults. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 80(4):291–295
- 159 Khalil M, Pirpamer L, Hofer E et al (2020): Serum neurofilament light levels in normal aging and their association with morphologic brain changes. *Nature communications* 11(1):812
- 160 Vågberg M, Norgren N, Dring A et al (2015): Levels and Age Dependency of Neurofilament Light and Glial Fibrillary Acidic Protein in Healthy Individuals and Their Relation to the Brain Parenchymal Fraction. *PloS one* 10(8): e0135886
- 161 Manouchehrinia A, Piehl F, Hillert J et al (2020): Confounding effect of blood volume and body mass index on blood neurofilament light chain levels. *Annals of clinical and translational neurology* 7(1):139–143
- 162 Alcolea D, Vilaplana E, Muñoz-Llahuna L et al (2019): P4-218: Sex differences in cerebrospinal fluid neurofilament light chain levels are consistent across cohorts. *Alzheimer's & Dementia* 15: P1359-P1360
- 163 Hu H, Chen KL, Ou YN et al; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2019): Neurofilament light chain plasma concentration predicts

- neurodegeneration and clinical progression in nondemented elderly adults. *Aging* (Albany NY). 11(17):6904
- 164 Piehl F, Kockum I, Khademi M et al (2018): Plasma neurofilament light chain levels in patients with MS switching from injectable therapies to fingolimod. *Multiple sclerosis*. 24(8):1046–1054
- 165 Thompson AGB, Luk C, Heslegrave AJ et al (2018): Neurofilament light chain and tau concentrations are markedly increased in the serum of patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, and tau correlates with rate of disease progression. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 89(9):955–961
- 166 Anathhanam S, Hassan A (2017): Mimics and chameleons in stroke. *Clinical medicine* (London, England) 17(2):156–160
- 167 Gibson LM, Whiteley W (2013): The differential diagnosis of suspected stroke: a systematic review. *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh* 43(2):114–118
- 168 Hufschmidt A, Rauer S, Glocker FX (2022): *Neurologie compact*. Seite: 661 (ISBN: 978-3-13-243035-8)
- 169 Diener HC; Nägel S; Gaul C; Kropp P (2018): Migräne: Prophylaxe und Therapie, *Dtsch Arztebl* 2018; 115(37)
- 170 Xu SY, Li ZX, Wu XW et al. (2020): Frequency and Pathophysiology of Post-Seizure Todd's Paralysis. *Med Sci Monit*. 2020 Mar 5;26:e920751
- 171 Quanterix Corporation (2021): Quanterix Simoa Bead Technology- How it works? [Online im Internet]: <https://www.quanterix.com/simoa-bead-technology>. (Stand: 06.01.2021)
- 172 National Kidney Foundation Inc. (2021): How to Classify CKD. [Online im Internet]: <https://www.kidney.org/professionals/explore-your-knowledge/how-to-classify-ckd> (Stand: 06.01.2021)
- 173 Del Boca FK, Darkes J (2003): The validity of self-reports of alcohol consumption: state of the science and challenges for research. *Addiction*. 2003 Dec;98 Suppl 2:1-12
- 174 Ruxton GD, Neuhäuser M (2010): Good Practice in Testing for an Association in Contingency Tables. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64 (9): 1505–13
- 175 Bonett, DG; Wright TA (2000): Sample size requirements for estimating Pearson, Kendall and Spearman correlations. *Psychometrika*. 65. 23-28
- 176 Elliott AC, Hynan LS (2011): A SAS® macro implementation of a multiple comparison post hoc test for a Kruskal-Wallis analysis. *Comput Methods Programs Biomed*. 2011 Apr;102(1):75-80
- 177 Dunn PK, Smyth GK (2018): *Generalized Linear Models With Examples in R*. Seite 94 (ISBN 978-1-4419-0117-0)

- 178 Lo S, Andrews S (2015): To transform or not to transform: using generalized linear mixed models to analyse reaction time data. *Front Psychol.* 2015 Aug 7;6:1171
- 179 Steyerberg EW, Vergouwe Y (2014): Towards better clinical prediction models: seven steps for development and an ABCD for validation. *Eur Heart J.* 2014 Aug 1;35(29):1925-31
- 180 Steyerberg, EW (2019): *Clinical Prediction Models: A Practical Approach to Development, Validation, and Updating.* Second edition Seite: 211-215, 451 (ISBN 978-3-030-16399-0)
- 181 Akamine S, Marutani N, Kanayama D et al (2020): Renal function is associated with blood neurofilament light chain level in older adults. *Sci Rep*10(1):20350
- 182 Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S (2011): Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. *Biochemia medica* 21(1):79–85
- 183 Lombardi V, Carassiti D, Giovannoni G et al (2020): The potential of neurofilaments analysis using dry-blood and plasma spots. *Scientific reports* 10(1):97
- 184 Frappier T, Stetzkowski-Marden F, Pradel LA (1991): Interaction domains of neurofilament light chain and brain spectrin. *Biochemical Journal* 275 (Pt 2):521–527
- 185 Heireman L, Van GP, Musger L et al (2017): Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. *Clinical biochemistry* 50(18)
- 186 Mancuso JE, Jayaraman A, Ristenpart WD (2018): Centrifugation-induced release of ATP from red blood cells. *PloS one* 13(9): e0203270

Eidesstattliche Versicherung

Kaya Wenig, Asli Gizem

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Einfluss von Komorbiditäten auf zirkulierende Level von Neurofilament light chain bei Schlaganfallpatienten“

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 15.11.2023

Asli Gizem Kaya Wenig