

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Einfluss von Parametern der Blut-Hirn-Schrankenstörung und MR-Bildgebung
auf sNfL-Konzentrationen beim akut ischämischen Schlaganfall

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Anna Maria Regina Römer

Mainz, 2023

Wissenschaftlicher Vorstand:

Univ.-Prof. Dr. U. Förstermann

Tag der Promotion:

28.11.2023

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	V
1 Einleitung.....	1
1.1 Ziel der Dissertation.....	2
1.2 Begriffsdefinition AIS.....	3
1.3 Pathophysiologie des AIS.....	3
1.4 Gegenwärtige Quantifizierung der neuronalen Schädigung beim AIS.....	5
1.4.1 Quantifizierung der neuronalen Schädigung mittels Bildgebung.....	5
1.4.2 MR-Bildgebung des AIS.....	6
1.4.3 Quantifizierung der neuronalen Schädigung mittels Liquoranalytik bei AIS.....	10
1.5 Neurofilament-Leichtketten-Serumspiegel als Biomarker der neuronalen Schädigung beim AIS.....	11
1.5.1 Grundlagen der SiMoA-Technologie.....	11
2 Literaturübersicht.....	13
2.1 Assoziation zwischen in MR- und CT-Bildgebung gemessenem Schlaganfallvolumen und sNfL-Konzentrationen.....	13
2.2 Einfluss von Liquor-Parametern der BHS-Störung und der akuten und chronischen Inflammation auf NfL-Konzentrationen.....	14
2.2.1 Assoziation zwischen dem Albumin-Quotienten und Neurofilament-Leichtketten.....	14
2.2.2 Assoziation zwischen der Leukozytenzahl und Neurofilament-Leichtketten im Liquor.....	15
2.2.3 Assoziation zwischen intrathekaler Immunglobulinsynthese und Neurofilament-Leichtketten.....	16
2.3 Literaturübersicht zur Assoziation zwischen sNfL und Läsionsvolumen in der MRT.....	17
2.4 Literaturübersicht zur Assoziation zwischen NfL und Liquorparameter.....	18
3 Material.....	20
3.1 Laborgeräte.....	20

3.2	Laborzubehör	20
3.3	Reagenzien und Lösungen	20
4	Methoden	22
4.1	Studiendesign und Einschlusskriterien	22
4.2	Datenerhebung	22
4.3	Klassifizierung der Schwere des AIS mittels NIHSS.....	23
4.4	Bestimmung des Schlaganfallvolumens in der MRT und CT.....	24
4.5	Bestimmung der Liquorparameter	25
4.6	Bestimmung der sNfL-Konzentration mittels SiMoA.....	25
4.7	Statistische Auswertung.....	26
5	Ergebnisse	27
5.1	Charakterisierung der Kohorte.....	27
5.1.1	Demographische Daten	27
5.1.2	Klinische Daten	27
5.1.3	Bildgebungsbefunde	28
5.1.4	Liquorbefunde	29
5.2	Einfluss verschiedener Parameter auf die Konzentration von sNfL.....	31
5.2.1	Demographische Daten	31
5.2.2	Klinische Daten	31
5.2.3	Volumendaten aus MR- und CT-Bildgebung	32
5.2.4	Liquorparameter.....	34
5.3	Regressionsanalyse.....	37
6	Diskussion	39
7	Zusammenfassung	45
8	Literaturverzeichnis	47
9	Danksagung	53
10	Lebenslauf	54

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
ADC	apparent diffusion coefficient
AIS	akut ischämischer Schlaganfall
AMPA	alpha-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropioninsäure-Rezeptor
ATP	Adenosintriphosphat
BHS	Blut-Hirn-Schranke
CBF	zerebraler Blutfluss
CBV	zerebrales Blutvolumen
cCT	kraniale Computertomographie
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CSF	zerebrospinale Flüssigkeit, Liquor
CT	Computertomographie
CV	Variationskoeffizient
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
DSC	dynamic susceptibility contrast
DWI	diffusionsgewichtete Sequenz
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPI	2D-echo planar imaging
fL	Femtoliter
FLAIR	fluid attenuated inversion recovery Sequenz
g	Gramm
H ₂ O	Wasser
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IQR	Interquartilsabstand
KIS	Klinisch Isoliertes Syndrom
MAD	mittlerer arterieller Druck
min	Minute
mL	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MRA	Magnetresonanztomographie
mRS	modifizierte Rankin Skala
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
MTT	mean transit time
Na ⁺ /K ⁺ - ATPase	Natrium-Kalium-ATPase

<i>NfH</i>	<i>Neurofilament-Schwerkette</i>
<i>NfL</i>	<i>Neurofilament Leichtkette</i>
<i>NfM</i>	<i>Neurofilament-Mittelkette</i>
<i>NIHSS</i>	<i>National Insitute of Health Stroke Scale</i>
<i>nm</i>	<i>Nanometer</i>
<i>NMDA</i>	<i>N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor</i>
<i>O₂</i>	<i>Sauerstoff</i>
<i>p</i>	<i>Signifikanzwert</i>
<i>paCO₂</i>	<i>Kohlendioxidpartialdruck</i>
<i>PWI</i>	<i>perfusionsgewichtete Sequenz</i>
<i>QA/b</i>	<i>Albuminquotient</i>
<i>Qlg</i>	<i>Immunglobulinquotient</i>
<i>QlgA</i>	<i>Immunglobulinquotient Immunglobulin A</i>
<i>QlgG</i>	<i>Immunglobulinquotient Immunglobulin G</i>
<i>QlgM</i>	<i>Immunglobulinquotient Immunglobulin M, Immunglobulinquotient Immunglobulin M</i>
<i>ROI</i>	<i>region of interest</i>
<i>RRMS</i>	<i>relapsing remitting multiple sclerosis</i>
<i>RSSI</i>	<i>recent small subcortical infarcts</i>
<i>rtPA</i>	<i>rekombinanter Plasminogenaktivator</i>
<i>SiMoA</i>	<i>single-molecule-array</i>
<i>sNfL</i>	<i>Serum-Neurofilament-Leichtkette</i>
<i>β</i>	<i>standardisierter Regressionskoeffizient</i>
<i>TIA</i>	<i>transitorische ischämische Attacke</i>
<i>TOF-MRA</i>	<i>time-of-flight Magnetresonanzangiographie</i>
<i>TTP</i>	<i>time to peak</i>
<i>VEGF</i>	<i>Endothelwachstumsfaktor</i>
<i>VOI</i>	<i>volume of interest</i>
<i>ZNS</i>	<i>Zentrales Nervensystem</i>
<i>μL</i>	<i>Mikroliter</i>
<i>ρ</i>	<i>Spearman-Korrelationskoeffizient</i>

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ablauf des Nachweises einzelner Moleküle mittels SiMoA-Technologie	12
Abbildung 2: Korrelation zwischen NIHSS bei Entlassung und sNfL	32
Abbildung 3: Korrelation zwischen NIHSS bei Entlassung und CSF NfL	32
Abbildung 4: Korrelation zwischen Schlaganfallvolumen und sNfL	33
Abbildung 5: Korrelation zwischen Schlaganfallvolumen und CSF NfL	33
Abbildung 6: Korrelation zwischen CSF NfL und sNfL	34
Abbildung 7: Korrelation zwischen Leukozyten im Liquor und sNfL	35
Abbildung 8: Korrelation zwischen Leukozyten im Liquor und CSF NfL	35
Abbildung 9: Korrelation zwischen Zeitspanne vom Beginn des AIS bis zur Lumbalpunktion und sNfL	36
Abbildung 10: Korrelation zwischen Zeitspanne vom Beginn des AIS bis zur Lumbalpunktion und CSF NfL	36

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Literaturübersicht zur Assoziation zwischen sNfL und Läsionsvolumen in der Bildgebung	17
Tabelle 2: Literaturübersicht zur Assoziation zwischen NfL und Liquorparametern	18
Tabelle 3: Übersicht über die verwendeten Laborgeräte	20
Tabelle 4: Übersicht über das verwendete Laborzubehör	20
Tabelle 5: Übersicht über die verwendeten Reagenzien und Lösungen	20
Tabelle 6: Übersicht über die demographischen Daten	27
Tabelle 7: Übersicht über die klinischen Daten	28
Tabelle 8: Übersicht über die in bildgebenden Untersuchungen erhobenen Daten	29
Tabelle 9: Übersicht über die Ergebnisse der Liquordiagnostik	30
Tabelle 10: Ergebnisse der Regressionsanalyse, abhängige Variable Konzentration sNfL	37
Tabelle 11: Ergebnisse der Regressionsanalyse, abhängige Variable Konzentration CSF NfL	38

1 Einleitung

Als Schlaganfall bezeichnet man eine Gruppe heterogener Erkrankungen, die in Deutschland und weltweit zu den häufigsten Todesursachen beim Erwachsenen zählt. Aufgrund der irreversiblen neuronalen Schädigung nach einem Schlaganfall stellt dieser die häufigste Ursache für die Entstehung von Behinderung im Erwachsenenalter dar. Die Inzidenz der Schlaganfälle, von denen 85% ischämischen Ursprungs sind, wird in den kommenden Jahren unter anderem aufgrund des demographischen Wandels noch weiter ansteigen (1-3). Aus diesem Grund ist es wichtig, Verbesserungen in Diagnostik, Therapie und Prävention zu erreichen. Hierbei spielt, neben anderen Faktoren, die Quantifizierung des Ausmaßes der neuronalen Schädigung und damit die Beurteilung der Schwere des Schlaganfalls eine entscheidende Rolle.

Aktuell wird im klinischen Alltag vor allem mithilfe der MR- und CT-Bildgebung das Ausmaß an neuronaler Schädigung nach akut ischämischem Schlaganfall (AIS) beurteilt (4). Die Kernspin- und Computertomographie ermöglichen es, die Größe des ischämischen Areals im lebenden Patienten sichtbar zu machen. Die Beurteilung des so sichtbar gemachten Volumens der Schädigung ist dabei, in Kombination mit klinischen Skalen wie der National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS), eine gut etablierte Methode zur Einschätzung des klinischen Langzeit-Outcome der Patienten (5). Die radiologische Untersuchung mithilfe der Computertomographie (CT) ist mittlerweile flächendeckend vorhanden, ihre Aussagekraft ist allerdings abhängig von der Erfahrung des Untersuchenden und der anatomischen Lokalisation des Infarkts (6). Zusätzlich ist die CT-Untersuchung mit einer Strahlenbelastung für den Patienten verbunden. Im Falle der Magnetresonanztomographie (MRT) besteht keine Strahlenbelastung, die Untersuchung ist aber vergleichsweise kosten- und zeitintensiv, nicht flächendeckend vorhanden und bei einigen Patienten aufgrund von Herzschrittmachern oder Klaustrophobie nicht durchführbar. Trotz aller Fortschritte in der radiologischen Bildgebung liegt die Sensitivität der Erkennung von frühen ischämischen Schädigungen im Zeitfenster von 0-6 Stunden nach Symptombeginn nur bei 40-70 % (6, 7). Aus den genannten Gründen ist es wichtig, minimal-invasiv erhebbare und aussagekräftige Biomarker zur Quantifizierung des Ausmaßes an neuronaler Schädigung zu einem frühen Zeitpunkt nach AIS im klinischen Alltag zu etablieren.

Neben der Feststellung des Ausmaßes der vom Schlaganfall verursachten Schädigung, ist vor allem das Verständnis der Ätiologie des Infarkts von großer Bedeutung für den Patienten, da sich nur durch Behebung der zugrundeliegenden Erkrankung weitere Infarkte vermeiden lassen. Ergebnisse Routineuntersuchungen dabei keinen Hinweis auf die Pathogenese des Schlaganfalls, wird insbesondere bei jüngeren Patienten mit AIS auch eine Lumbalpunktion durchgeführt. Hierbei können mithilfe der Liquordiagnostik Parameter der akuten und

chronischen Entzündungen im Gehirn untersucht werden und seltene Ursachen eines ischämischen Insults wie beispielsweise Autoimmunerkrankungen oder erregerbedingte Vaskulitiden ausgeschlossen werden (4). Die Lumbalpunktion ist jedoch ein invasives Verfahren, das mit bestimmten Risiken verbunden ist und dessen Anwendung trainiert werden muss. Eine häufige Komplikation ist der postpunktionale Kopfschmerz. Dieser häufig diffuse Kopfschmerz ist für die betroffenen Patienten sehr unangenehm und kann mit Übelkeit, Tinnitus und anderen neurologischen Symptomen einhergehen (8).

Trotz möglicher Komplikationen und höherem Arbeitsaufwand hat die Lumbalpunktion durch Erforschung des axonalen Stützproteins Neurofilament-Leichtkette (NfL) an Bedeutung in der Diagnostik beim AIS gewonnen. NfL ist ein nervenzellspezifisches Intermediärfilament, welches bei neuronaler Schädigung in den Liquor (CSF) freigesetzt wird (9). Studien konnten zeigen, dass NfL nicht nur in den Liquor, sondern auch in geringen Mengen ins periphere Blut des Patienten freigesetzt wird. Die im Serum gemessene NfL-Konzentration ist dabei ein ebenso aussagekräftiger Marker für das Patienten-Outcome nach AIS, wie beispielsweise das in der MR-Bildgebung festgestellte Läsionsvolumen (9-12). Mit der Messung der Serum-NfL-Konzentration ist man dem Ziel eines kostengünstigen, mit minimal invasiven Verfahren erhebbaren Markers für das Ausmaß an neuronaler Schädigung nach AIS einen Schritt nähergekommen.

1.1 Ziel der Dissertation

Ziel der vorliegenden Studie ist es, die Zusammenhänge zwischen der NfL-Konzentration im Serum (sNfL, Serum-Neurofilament-Leichtkette) und der NfL-Konzentration im Liquor und unterschiedlichen klinischen und paraklinischen Markern zu analysieren. Die untersuchten Parameter werden im klinischen Alltag zur Bestimmung des langfristigen Behandlungserfolges nach Schlaganfall herangezogen und sind für die Prognose des Patienten von entscheidender Bedeutung. Die Studie soll somit zu einem besseren Verständnis der Aussagekraft der sNfL-Konzentration für die Prognose des Patienten sowie zu einem besseren Verständnis der Zusammenhänge zwischen verschiedenen, das Outcome des Patienten bestimmenden Parametern beitragen.

Zunächst wird anhand eines Patientenkollektivs mit AIS untersucht, ob die sNfL-Konzentration mit Parametern der Blut-Hirn-Schranken-Störung und dem Schlaganfallvolumen zusammenhängt. Das Volumen des Schlaganfalls wird dabei anhand von Datensätzen aus bildgebenden Untersuchungen berechnet. Dies soll klären, ob die sNfL-Konzentration ein nützlicher Biomarker für die Quantifizierung der akut auftretenden neuronalen Schädigung beim AIS sein kann und damit zusätzliche Informationen für die Therapieentscheidung liefern kann. Darüber hinaus wird, zur Untersuchung der Aussagekraft von sNfL als Marker für chronische Schädigungen des ZNS, sowie zur Erforschung von sNfL als prognostischer Marker für das

Langzeit-Outcome von Patienten mit AIS, die Korrelation zwischen Parametern der chronischen Entzündung des ZNS im Liquor und Werten klinischer Skalen wie der NIHSS mit der sNfL-Konzentration untersucht.

1.2 Begriffsdefinition AIS

Ein Schlaganfall ist definiert als eine akut auftretende neurologische Dysfunktion des Gehirns, der Retina oder des Rückenmarks, wobei die neurologischen Symptome länger als 24 Stunden andauern. Die Komponente der Zeit entfällt, wenn in der Bildgebung oder Obduktion objektive Hinweise auf eine ischämisch bedingte Verletzung von Gehirn, Retina oder Rückenmark festgestellt werden. In diese Definition eingeschlossen sind ischämische und hämorrhagische Schlaganfälle (13). Der in dieser Studie untersuchte AIS ist laut aktualisierter Definition der American Heart Association/American Stroke Association eine akut auftretende neurologische Dysfunktion aufgrund fokaler Ischämie, bedingt durch den Verschluss eines versorgenden Gefäßes mit Andauern der Symptome über 24 Stunden (13). Die genaue Definition ist wichtig, um den AIS von einer transitorisch ischämischen Attacke (TIA) abzugrenzen. Die TIA ist definiert als eine fokal neurologische Dysfunktion von weniger als 24 Stunden Dauer und ohne Hinweise auf ischämisch bedingte Verletzungen des Gewebes in der Bildgebung (13).

1.3 Pathophysiologie des AIS

Die Funktionsfähigkeit des Gehirns ist in einem hohen Maße abhängig von einem gleichmäßigen zerebralen Blutfluss (CBF). Dieser stellt sicher, dass neben einer ausreichenden Sauerstoffversorgung von circa 3,35 mL O₂/100 g Hirngewebe /min eine ausreichende Versorgung mit Glukose als einzigem Substrat des neuronalen Energiestoffwechsels stattfindet. Neurone verstoffwechseln Glukose aerob im Citratzyklus zu Kohlendioxid (CO₂) und Wasser (H₂O) und sind nur für kurze Zeit in der Lage, ihre Funktionsfähigkeit bei Sauerstoffmangel durch anaerobe Umwandlung von Glukose zu Pyruvat und Laktat aufrechtzuerhalten. Fällt der CBF auf Werte von unter 20 mL/100 g/min (Funktions- / Ischämie-Schwelle) kommt es zum Zusammenbruch des neuronalen Funktionsstoffwechsels. Bei fortbestehender Minderversorgung oder Abfall des CBF auf unter 8 mL/100 g/min (Infarkt-Schwelle) kommt es schließlich zum irreversiblen Zelluntergang.

Der gleichmäßige CBF wird im Gehirn durch das Vorhandensein von Kollateralkreisläufen, einer physiologischen Überversorgung mit Sauerstoff und Glukose, sowie der hirneigenen Autoregulation durch Entkopplung des CBF vom arteriellen Blutdruck, dem sogenannten Bayliss-Effekt, sichergestellt. Mithilfe des Bayliss-Effekts sind die hirnversorgenden Gefäße in der Lage, sich in einem Bereich des arteriellen Mitteldrucks (MAD) von 50–150 mmHg und einem Kohlendioxidpartialdruck (paCO₂) zwischen 5-60 mmHg an sich verändernde Bedingungen so anzupassen, dass der CBF trotz Änderungen in den genannten Parametern

stabil bleibt. Steigt der Blutdruck, ziehen die Gefäße sich zusammen, fällt er, dilatieren sie. Verlässt der MAD den oben genannten Bereich oder steigt die Konzentration von paCO_2 auf über 60 mmHg, kann der Bayliss-Effekt nicht mehr greifen und die Perfusion folgt passiv den Druckverhältnissen (14).

Die Pathophysiologie des Schlaganfalls besteht aus komplexen, sich gegenseitig verstärkenden und ineinandergreifenden Mechanismen, die schließlich in Apoptose und Nekrose der betroffenen Zellen enden.

Mit Verschluss eines Gefäßes und damit Absinken des CBF unter die Ischämie-Schwelle im nachfolgenden Gefäßabschnitt, kommt es zur Unterversorgung der umliegenden Zellen mit Sauerstoff und Glucose. In den betroffenen Zellen kann daraufhin nicht mehr genug Adenosintriphosphat (ATP) zur Aufrechterhaltung der Funktionalität des aktiven Ionentransporters Natrium/Kalium-ATPase (Na^+/K^+ - ATPase) bereitgestellt werden (15). Dieser ist für die Erzeugung und Aufrechterhaltung eines elektrochemischen Gradienten über die Zellmembran, des sogenannten Ruhemembranpotenzials, zuständig (16, 17). Ohne dieses Ruhemembranpotenzial ist die Nervenzelle nicht in der Lage ihre zellulären Aktivitäten, insbesondere die Weiterleitung von elektrischen Potenzialen auszuführen (18-20). Bei mangelnder Versorgung mit ATP stellt der Transporter seine Funktion ein und Ionen des Extrazellularraum strömen entlang ihrer Konzentrations- und Ladungsgradienten in die Zelle. Dies führt zu einem Einstrom von Natrium- und Calciumionen in den Intrazellularraum, denen Wasser osmotisch folgt. Der Einstrom von Wasser in die Zelle führt zu einem Anschwellen der Zelle und einer Zunahme des intrazellulären Drucks. Parallel dazu führt die Umkehrung des Ionenflusses von positiven geladenen Ionen in die Zelle zur Depolarisation der Zelle, da das negative Membranpotential nicht aufrechterhalten werden kann. Die Umkehrung des Membranpotentials aktiviert dabei spannungsabhängige Calciumkanäle, deren Aktivierung einen weiteren Einstrom von Calcium in die Zelle bedingt (21). Die intrazelluläre Calciumkonzentration wird zudem durch eine unphysiologisch hohe Freisetzung des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat gefördert (22). Dieser akkumuliert bei Ischämie im Extrazellularraum und aktiviert seine Rezeptoren. Glutamat bindet an N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)- und α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropioninsäure-(AMPA)-Rezeptoren (23), die als Liganden-abhängige Calcium-Transporter wirken und deren Aktivierung zu einer Zunahme des Einstroms von Calcium und Natrium in das betroffene Neuron führt (15).

Die erhöhte intrazelluläre Konzentration von Calcium-Ionen führt zur Aktivierung von intrazellulären Proteasen, Kinasen, Lipasen und Endonukleasen, welche den intrinsischen Weg der Apoptose in Gang setzen. In Kombination mit dem erhöhten intrazellulären Druck führt dies zu einer Zerstörung der Zellintegrität durch Einreißen der Zellmembran und Abbau der Zellorganellen. Diese sowohl apoptotische als auch nekrotische Schädigung des

Hirngewebes infolge einer akuten Unterversorgung mit Sauerstoff und Glukose in der von der Minderdurchblutung am stärksten betroffenen Hirnregion, dem sogenannten Infarktkern, führt zur Ausbildung des initialen zytotoxischen Ödems, welches die Hauptursache für den neuronalen Zelluntergang in dieser Region darstellt (15). Den Anteil, den Glutamat zur Entstehung des zytotoxischen Ödems durch weitere Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration beiträgt, bezeichnet man als glutamaterge Exzitotoxizität (21, 23).

Neben der unmittelbar eintretenden Schädigung durch Exzitotoxizität und zytotoxisches Ödem kommt es auch durch das sekundär entstehende vasogene Ödem zur weiteren neuronalen Schädigung. Im von der Ischämie betroffenen Gebiet werden Mikrogliazellen und Astrozyten aktiviert. Diese sezernieren daraufhin unphysiologisch hohe Mengen an Zytokinen, Chemokinen, Matrix-Metalloprotease-Proteinen und Endothelwachstumsfaktoren (VEGF). Diese freigesetzten inflammatorischen Metabolite greifen die Integrität der Blut-Hirn-Schranke (BHS) an und erhöhen so deren Permeabilität. Gleichzeitig sorgt der Kontakt inflammatorischer Metabolite mit der BHS für eine Hochregulation von Adhäsionsmolekülen für Entzündungszellen aus dem Blut, vor allem für neutrophile Granulozyten. Diese wandern durch die permeable BHS ins Gehirnparenchym ein. Dort setzen sie weitere Zytokine frei, welche weitere Gliazellen aktivieren und vor allem die Integrität der Neurone schädigen (24). Durch die erhöhte Permeabilität der Barriere zwischen Gefäß und Hirnparenchym kann, wie beim zytotoxischen Ödem dem osmotischen Gradienten folgend, vermehrt Flüssigkeit aus den Gefäßen ins Gehirn eindringen und es entsteht das sekundär vasogene Ödem.

Auf diese initiale Phase der Infarktdemarkation mit ödematösem Erweichen des abgestorbenen Gewebes folgt eine Resorptionsphase mit Auflösung des nekrotischen Areal, die Kolliquation. Bereits nach 48 h beginnen Makrophagen einzuwandern und nach drei bis vier Tagen hat ein Abtransport eines Großteils des abgestorbenen Gewebes stattgefunden. Das Areal ist nun deutlich aufgelockert (25).

Anschließend folgt eine Phase der Reorganisation. Mittels Angiogenese sprießen Kapillaren in den Infarktkern ein, im umliegenden Gewebe proliferieren Astrozyten und bilden zahlreiche Gliafasern aus. Zusammen mit Kollagenfasern bilden diese eine gliös-mesenchymale Narbe, die den Defekt lückenhaft bedeckt. Das Areal hat seine ursprüngliche Funktion verloren (25).

1.4 Gegenwärtige Quantifizierung der neuronalen Schädigung beim AIS

1.4.1 Quantifizierung der neuronalen Schädigung mittels Bildgebung

Im Rahmen der Erstdiagnostik bei Verdacht auf Schlaganfall muss schnellstmöglich eine bildgebende Untersuchung erfolgen. Diese dient dem Ausschluss von intrakraniellen Blutungen, sowie der Beurteilung der Lokalisation und des Ausmaßes des ischämischen

Areals und somit der Beurteilung des Ausmaßes an neuronaler Schädigung (26). Auf Basis der so gewonnenen Informationen werden Entscheidungen über das weitere Vorgehen getroffen.

Abhängig vom zeitlichen Abstand zwischen Symptombeginn und Einlieferung ins Krankenhaus kommen dabei unterschiedliche Bildgebungsmodalitäten mit unterschiedlicher Zielsetzung zum Einsatz.

Liegt der zeitliche Rahmen zwischen Symptombeginn und Bildgebung zwischen null und drei Stunden, so wird mittels kranialer CT (cCT) ohne Kontrastmittel (Nativ-cCT) die Eignung des Patienten zur intravenösen Lyse mit rekombinanten Plasminogenaktivator (rtPA) untersucht. Um eine intravenöse Lysetherapie vornehmen zu können, muss eine intrakranielle Blutung als Ursache der Symptome ausgeschlossen sein. CCT und cMRT sind in der Detektion von intrakraniellen Blutungen gleichwertig (27), die Nativ-cCT ist jedoch gegebenenfalls schneller und wird in den gegenwärtig gültigen Leitlinien als einzige Voraussetzung vor der Indikationsstellung zur intravenösen Lyse gefordert (4).

Die Bildgebung im Zeitraum von drei bis sechs Stunden nach Symptombeginn ist Schwerpunkt zahlreicher Studien, da sie die Basis für die Entscheidung zur systemischen Lysetherapie über den Zeitraum von drei Stunden nach Symptombeginn hinaus darstellt. Die Therapie mit systemischer Lyse ist bis dato bis zu einem Zeitpunkt von viereinhalb Stunden nach Symptombeginn empfohlen; Therapie mittels mechanischer Thrombektomie ist noch bis zu sechs Stunden nach Symptombeginn möglich (4). Neuere Studien zeigen einen möglichen Nutzen der Lysetherapie bei bestimmten Patientengruppen über das Zeitfenster von viereinhalb Stunden hinaus (28). In diesem Zeitraum scheint die MR-Bildgebung der CT überlegen zu sein, da mithilfe des Perfusions-Diffusions-Mismatch-Konzepts potenziell durch erfolgreiche Therapie zu rettendes Gewebe von bereits untergegangenem Gewebe differenziert werden kann (26).

Bei dem in dieser Studie untersuchten Patientenkollektiv handelt es sich um Patienten mit einer milden Ausprägung der Ischämie und dementsprechend kleinen sichtbaren Korrelaten in der Bildgebung. Bei solchen Patienten ist die MR- der CT-Bildgebung überlegen (6). Zudem ist die MR-Bildgebung sensitiver als die CT-Bildgebung in der Detektion von Infarkten der hinteren Schädelgrube (6). Aus diesen Gründen wurde in dieser Studie beschlossen, retrospektiv vor allem jene Patienten einzuschließen, die eine diagnostische Bildgebung mittels MRT bekommen haben. Im Folgenden werden die verschiedenen Sequenzen der MRT erläutert und ihre Funktion in der Diagnostik des AIS dargestellt.

1.4.2 MR-Bildgebung des AIS

Die Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN) empfiehlt zusammen mit der Deutschen Schlaganfallgesellschaft in ihrer S1 Leitlinie zum Thema „Diagnostik akuter zerebrovaskulärer

Erkrankungen“ vom 31.12.2016 ein MRT-Protokoll bestehend aus einer T2*-gewichteten Gradienten-Echo-Sequenz, einer „fluid attenuated inversion recovery“-Sequenz (FLAIR), einer MR-Angiographie (MRA) sowie einer diffusionsgewichteten (DWI) und einer perfusionsgewichteten Sequenz (PWI) zur vollständigen Darstellung des Infarkts und des umliegenden Gewebes. Dieses Protokoll erlaubt eine Darstellung der anatomischen Strukturen, hat die höchste Sensitivität in der Darstellung hyperakuter Ischämien (0-6 Stunden alte Infarkte), erlaubt den differentialdiagnostisch wichtigen Ausschluss von akuten und chronischen Blutungen, die Darstellung okkludierter Gefäße und weist eine hohe Sensitivität für Pathologien der hinteren Schädelgrube auf (26, 29, 30).

1.4.2.1 T2*-GRE

T2*-gewichtete Gradienten-Echo-Sequenzen erlauben eine Differenzierung von Gewebearten, da Signale in diesen Sequenzen vor allem an Gewebsgrenzflächen, z.B. Liquor/Gehirnparenchym entstehen. In der Erstdiagnostik der AIS werden sie vor allem eingesetzt, da T2*-gewichtete GRE-Sequenzen lokale Magnetfelder, wie sie zum Beispiel vom Blutabbauprodukt Hämosiderin erzeugt werden, detektieren (31). T2*-gewichtete Sequenzen ermöglichen somit eine erste orientierende anatomische Übersichtsaufnahme des Schädels und sind die sensitivste Bildgebung zum Ausschluss von akuten intrazerebralen Blutungen (26, 32).

1.4.2.2 FLAIR

FLAIR- („fluid attenuated inversion recovery“) Sequenzen zählen zu den T2- gewichteten Inversion-Recovery-Sequenzen, mit denen sich das Signal bestimmter Gewebearten fast vollständig unterdrücken lässt. Sie eignen sich gut dafür, parenchymale Pathologien darzustellen. Die FLAIR-Sequenz unterdrückt das Signal von freien Flüssigkeiten wie dem zerebrospinalen Liquor fast vollständig und erlaubt eine Differenzierung zwischen freien und im Gewebe gebundenen Flüssigkeiten, wie sie bei Tumoren und Ödemen zu finden sind (31). In der radiologischen Schlaganfalldiagnostik wird sie dazu genutzt, das sekundär entstehende vasogene Ödem vom früher auftretenden zytotoxischen Ödem zu unterscheiden, da das vasogene Ödem mit einer Zunahme an Flüssigkeit im Parenchym einhergeht und sich damit in der FLAIR hell kontrastiert (33). Dementsprechend lässt sich das ischämische Areal in der FLAIR erst nach einigen Stunden darstellen. Der Großteil der Literatur beschreibt positive Befunde in Form von Hyperintensitäten in der FLAIR-Sequenz 6-12 Stunden nach Auftreten der ersten Symptome (34).

1.4.2.3 MRA

Zur direkten Darstellung der Gefäßanatomie eignet sich die Magnetresonanzangiographie (MRA). Die am häufigsten verwendeten Methoden sind die „contrast enhanced“ CE-MRT oder

die nicht-invasive flusssensitive „time-of-flight“-MRA (TOF-MRA) (26). Schnell und linear fließendes Blut in Gefäßen wird hell dargestellt. Solange kontinuierlich neue Moleküle durch die Abbildungsebene fließen, wird deren Magnetisierung nicht durch das Auftreffen neuer Anregungsimpulse auf die Spins abgesättigt. Fließt das Blut langsamer oder kommt es zur Stase durch Verengung oder Verschluss eines Gefäßes, wird das MR-Signal durch Absättigung der Magnetisierung immer kleiner und der Kontrast zwischen umliegenden Gewebe und Gefäß sinkt (31). Verengte, thrombosierte oder ausgesackte Gefäßabschnitte mit langsamem Blutfluss oder Stase stellen sich in der TOF-MRA deswegen dunkel dar.

1.4.2.4 DWI

Das initial entstehende zytotoxische Ödem sorgt für eine Verschiebung von Wassermolekülen vom Extra- in den Intrazellularraum. Die damit einhergehende Volumenzunahme des Intrazellularraums ist verbunden mit einer Abnahme der Diffusionsfähigkeit von Wasser im kleineren Kompartiment. Diese Diffusionseinschränkung ist in Diffusions-gewichteten MRT-Sequenzen messbar. DWI-Sequenzen messen die Diffusion von Wassermolekülen aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung. Die Kontraststärke ist hierbei abhängig von der mittleren Distanz, welche die Wassermoleküle in einer bestimmten Zeiteinheit überwinden. In großen Kompartimenten mit niedriger Viskosität können sich die Wassermoleküle frei bewegen und somit in kurzer Zeit eine relativ große Distanz überwinden. Areale mit großer Diffusion erscheinen dunkel. Kommt es zu einer Verlagerung von Wasser vom Extra- in den Intrazellularraum ist die durch Diffusion zurückgelegte mittlere Distanz durch die Zellmembran limitiert, die Diffusion damit gehindert. Areale mit geringerer Diffusion kontrastieren sich aufgrund verstärkter Signale hell. Dies ermöglicht die Darstellung von durch Ischämie betroffenen Zellen bereits wenige Minuten nach Gefäßverschluss mit der höchsten Sensitivität aller Bildgebungsmodalitäten (31, 33).

Ein Problem der DWI-Sequenzen ist der T2-shine through-Effekt, welcher zu falsch positiven Ergebnissen bei der Interpretation führt. Areale, die aufgrund ihres Aufbaus und ihrer Gewebszusammensetzung eine hohe Diffusionskonstante aufweisen, wie zum Beispiel Liquor, haben auch lange T2-Relaxationszeiten. Diese Kompartimente erscheinen also hell, obwohl die Diffusion nicht eingeschränkt ist. Dieses Problem wird durch die Verwendung von, mit in DWI-Sequenzen generierten Daten erstellten, ADC-Karten gelöst. Die ADC („apparent diffusion coefficient“) ist eine quantitative Diffusionskonstante, welche umso größer wird, je größer die mittlere zurückgelegte Distanz der Wassermoleküle ist. Areale mit geringer Diffusionskonstante erscheinen dunkel (31, 33). Eine ischämisch bedingte Diffusionseinschränkung erscheint in DWI-Sequenzen hell. Um nun sicher zu gehen, dass es sich nicht um eine Hyperintensität aufgrund der T2- Relaxationszeit handelt, wird der Vergleich mit der ADC-Karte der gleichen Aufnahme vorgenommen. Erscheint die Hyperintensität der

DWI in der ADC als Hypointensität, handelt es sich um eine pathologisch verringerte Diffusion, wie sie beispielsweise durch das zytotoxische Ödem des AIS verursacht wird (35).

1.4.2.5 PWI

Perfusion ist die Zirkulation von Blut im Gefäßbett eines lebendigen Gewebes. Sie stellt sowohl die Versorgung des Gewebes mit neuen, zur Aufrechterhaltung des Stoffwechsels benötigten, Metaboliten sicher, als auch den Abtransport von Stoffwechselprodukten. Perfusions-MRT (perfusionsgewichtete Sequenz, PWI) ermöglicht die Darstellung der Perfusion von Geweben auf mikroskopischer Ebene (36). Da die für die Perfusion des Gewebes interessanten Kapillaren so klein sind, dass sie vom MRT nicht direkt abgebildet werden können, wird auf eine indirekte Darstellungsform der Perfusion mittels Gadolinium-haltigen Kontrastmittel zurückgegriffen. Durch dynamic susceptibility contrast (DSC) und 2D-echo planar imaging (EPI) Bildgebung, werden die entstehenden Signalveränderungen des vom Kontrastmittel durchfluteten Gewebes dargestellt (36, 37). In T2*-gewichteten Bildern verursacht die Passage des paramagnetischen Gadoliniums einen Signalabfall, da es die T2-Relaxationszeit vorübergehend verkürzt, wodurch regionale Durchblutungsunterschiede direkt im entstehenden Bild beobachtet werden können (31). Eine Auswertung der gemessenen Signale über die Zeit ermöglicht die Erstellung von Signalintensitäts-Zeit-Kurven. Aus diesen können qualitative Parameter wie die Mean-Transit-Time (MTT), das Zerebrale Blutvolumen (CBV), der CBF und die Zeit bis zum Maximum der Signalintensitäts-Zeit-Kurve (time to peak, TTP) errechnet werden (26). Diese korrelieren mit in unabhängigen Messungen gemessenen Durchblutungswerten (31) und bilden verschiedene pathologische Aspekte der Durchblutungsstörung ab (26). In der Detektion eines AIS ist die PWI allerdings weniger sensitiv als die DWI. Die Zusammenschau der beiden Sequenzen ermöglicht es allerdings, definitiv untergegangenes Gewebe, den Infarktkern, von Gewebe, welches durch zeitnahe Reperfusion vor dem Zelltod bewahrt werden kann, der sogenannten Penumbra, abzugrenzen (36).

1.4.2.6 Charakterisierung der Penumbra mittels PWI-DWI-Mismatch

Läsionen mit Signalveränderungen in der DWI und der PWI, also Areale mit verminderter Diffusion und Perfusion bilden untergegangenes Gewebe, im Falle eines AIS, den Infarktkern ab. Areale mit Signalveränderungen in der DWI aber ohne Veränderungen in der PWI, bilden dem gegenüber Gewebe ab, dass zwar ischämisch, aber noch vital ist (36). Dieses Gewebe ist durch die Ischämie nicht funktionsfähig, kann aber durch rechtzeitige Reperfusion gerettet werden und seine Funktion wiedergewinnen. Diese Gewebe wird als die Penumbra (lat.: Halbschatten) des Infarkts bezeichnet (38). Ein Mismatch der beiden Sequenzen liegt dann vor, wenn das Volumen des ischämischen Areals in der DWI größer ist als das in der PWI. In diesem Falle wird vermutet, durch zeitnahe reperfundierende Maßnahmen Hirngewebe der

Penumbra retten zu können. Das DWI-PWI-Mismatch ist eine wichtige Entscheidungshilfe bei der Planung einer Thrombolysetherapie (36).

1.4.3 Quantifizierung der neuronalen Schädigung mittels Liquoranalytik bei AIS

Die Analyse des zerebrospinalen Liquors gehört nicht zur Standarddiagnostik bei akut ischämischem Schlaganfall. Die Analyse liefert allerdings wichtige differentialdiagnostische Hinweise, beispielsweise zum Ausschluss von Vaskulitiden als Ursache der Ischämie (14), und erlaubt durch Einschätzung des Ausmaßes der Blut-Hirn-Schrankenstörung eine Prognose bezüglich der bleibenden Beeinträchtigung.

1.4.3.1 Albuminquotient (QA_{lb})

Die Integrität der BHS wird anhand des Konzentrationsquotienten von Albumin in Liquor und im Serum abgeschätzt. Albumin wird exklusiv in der Leber gebildet und gelangt unter physiologischen Bedingungen aufgrund des hohen Molekulargewichts nur in sehr geringen Mengen mittels passiver Diffusion in den Liquor (39). Der ischämisch bedingte Untergang von Zellen, welche die BHS bilden, ermöglicht einen vermehrten Übertritt von Serumalbumin in den Liquor. Durch die Verhältnisbildung aus Liquor- und Serumkonzentration ist der Wert nicht beeinflusst von möglicher intrathekaler Proteinsynthese und korrigiert bezüglich der Konzentration von Albumin im Blutplasma (40). Ein erhöhter QA_{lb} ist dementsprechend auf eine pathologisch erhöhte Permeabilität der BHS zurückzuführen.

1.4.3.2 Leukozytenzahl

Die Leukozytenzahl im Liquor gilt als Maß für akut stattfindende Entzündungsprozesse. Beim gesunden Menschen ist der Liquor sehr zellarm (< 5 Zellen/ μ L) und eine Pleozytose immer pathologisch (41). Beim AIS kommt es im Zuge der sekundären Entzündungsreaktion der Gliazellen und Astrozyten zur Migration von neutrophilen Granulozyten über die BHS in den Interzellularraum und Liquor. Das Ausmaß der Pleozytose korreliert dabei mit dem Infarktvolume in der Bildgebung, dem Ausmaß an Schädigung im Gehirn (42) und dem langfristigen klinischen Outcome der betroffenen Patienten (43).

1.4.3.3 Intrathekale Immunglobuline

Die Bestimmung des Liquor-Serum-Quotienten der Immunglobuline (Q_{Ig}) bezogen auf den Liquor-Serum-Quotienten von Albumin erlaubt den differentialdiagnostischen Ausschluss von chronisch entzündlichen Krankheiten wie Multipler Sklerose, Borreliose oder chronischer Meningitis. Da die Konzentration der Immunglobuline auch abhängig von der Permeabilität der BHS ist, lassen sich Rückschlüsse auf ihre Integrität ziehen (41).

1.5 Neurofilament-Leichtketten-Serumspiegel als Biomarker der neuronalen Schädigung beim AIS

Neurofilamente sind axonale Stützproteine, die exklusiv von Neuronen exprimiert werden. Mit einem Durchmesser von zehn Nanometern (nm) gehören sie zu den Intermediärfilamenten. Ihre genaue Funktion ist bis heute noch nicht abschließend geklärt. Neben ihrer Eigenschaft als Struktur- und Stützproteine von Axonen scheinen sie eine wichtige Rolle in der Reizweiterleitung zu spielen, da sie mit anderen Proteinen und neuronalen Zellorganellen interagieren (9).

Es gibt fünf Subtypen von Neurofilamenten: Neurofilament-Schwerkette (NfH), Neurofilament-Mittelkette (NfM), Neurofilament-Leichtkette, Alpha-Internexin und Peripherin, wobei NfL der aussagekräftigste Marker für das Ausmaß an neuronaler Schädigung und das Langzeit-Therapieergebnis nach AIS zu sein scheint. Bei axonaler Schädigung werden Bestandteile des Zytoskeletts, also auch Neurofilamente, in den Extrazellularraum und somit in den Liquor freigesetzt. In geringer Konzentration gelangen diese auch ins Blut. Viertgenerations-Immunoblots machen es möglich, diese geringen Konzentrationsunterschiede von NfL-Proteinen im Blut zuverlässig zu messen (9).

Sowohl CSF NfL Level als auch sNfL Level sind bei Patienten mit AIS gegenüber gesunden Menschen erhöht, wobei eine starke Korrelation der Konzentrationen in Liquor und Serum besteht (44). Studien zeigen, dass die NfL-Konzentration im Blut 24 h nach Symptombeginn beginnt anzusteigen (45). In den nächsten 7 bis 21 Tagen erreicht sie das Maximum und sinkt erst nach Monaten langsam ab (46, 47). Bereits zu einem frühen Zeitpunkt gemessene sNfL-Werte korrelieren mit dem in der MR-Bildgebung gemessenen Läsionsvolumen (12). Zusätzlich konnte eine Korrelation zwischen sNfL Leveln und dem mittels klinischer Skalen (NIHSS, modifizierte Rankin Skala) gemessenen klinischen Outcome nach drei Monaten festgestellt werden (12, 44-47).

Lange Zeit war es nicht möglich, NfL-Konzentrationen im Blut zu bestimmen, da die Sensitivität der vorhandenen Messmethoden nicht ausreichend war. Die Entwicklung der „single-molecule-array“-Methode (SiMoA) hat die Detektion so geringer Konzentrationen von NfL möglich gemacht, dass nun krankheitsbedingte, minimale Konzentrationsänderungen im Blut festgestellt werden können (9).

1.5.1 Grundlagen der SiMoA-Technologie

Mithilfe der SiMoA-Technologie können einzelne Moleküle isoliert und detektiert werden. Hierfür werden kleinste Reaktionskammern mit einem Fassungsvermögen von einem Femtoliter (fL) ($1 \text{ fL} = 10^{-15} \text{ L}$), die sogenannten „single-molecule arrays“, verwendet (48).

Zuerst erfolgt die Bindung des Zielmoleküls an kleine, mit Antikörpern besetzte, magnetische Kugeln mit einem Durchmesser von 2,7 μm , nach dem Prinzip eines klassischen Sandwich-„enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA) (Abb. 1: Schritt A). Ein zweiter Detektionsantikörper wird zugegeben und bindet an die entstandenen Antikörper-Molekülkomplexe (Abb.1 1: Schritt B). In Proben mit sehr kleiner Konzentration des Zielmoleküls folgt das Bindeverhalten der mit Antikörpern besetzten Kugeln an das Zielmolekül der Poisson-Verteilung. Da das Verhältnis von Zielmolekül zu Kugeln typischerweise kleiner 1:1 ist, bindet die Mehrheit der Kugeln entweder ein oder kein Zielmolekül (49).

Im nächsten Schritt kommen die bereits erwähnten „single-molecule arrays“ zum Einsatz. Alle Kugeln, sowohl die Zielsubstrat tragenden als auch die freien Kugeln, werden in die kleinen Reaktionskammern übertragen, wobei jede Kammer nur genau eine Kugel fasst. Nun erfolgt die Inkubation mit einem fluoreszierenden Enzymsubstrat und die Abdichtung der Kammern mit Silikon (Abb. 1: Schritt C).

In Kammern mit Zielmolekül-Antikörper-Komplex tragenden Kugeln katalysiert das an den Antikörper gebundene Enzym nun eine Reaktion mit dem hinzugegebenen Zielsubstrat und es entstehen messbare Fluoreszenzsignale (50). Diese werden im letzten Schritt erfasst. Mithilfe des Verhältnisses aus Anzahl der fluoreszierenden, also Zielmolekül-beinhaltenden Kammern, zur Anzahl der nicht fluoreszierenden, also ungebundene Kugeln beinhaltenden Kammern, kann die Konzentration des Zielmoleküls in der Probe berechnet werden (51).

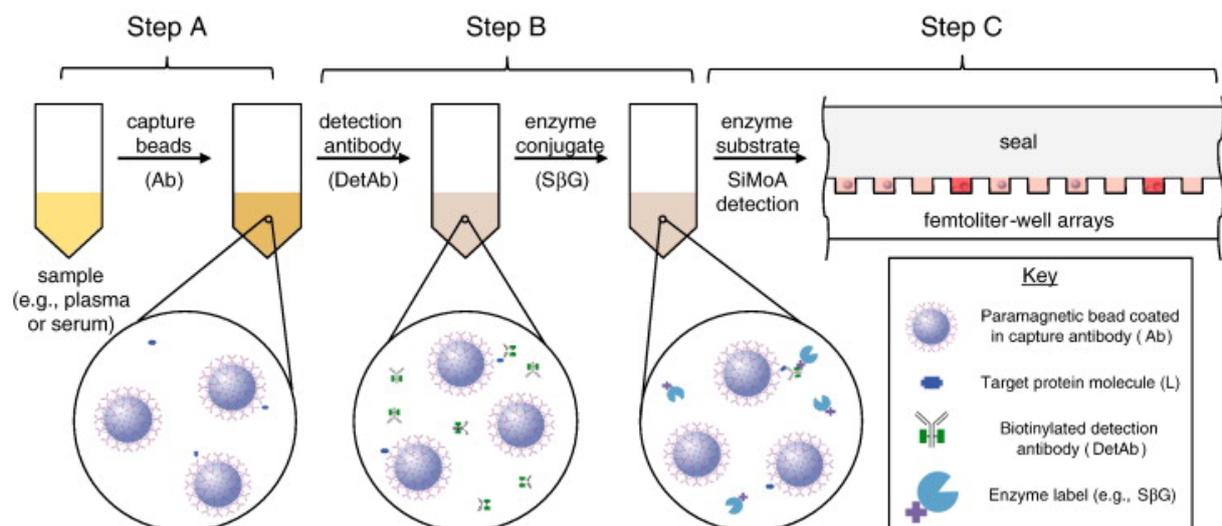


Abbildung 1: Ablauf des Nachweises einzelner Moleküle mittels SiMoA-Technologie
 Schritt A: Bindung der Zielmoleküle an paramagnetische mit Antikörpern beladene Kugeln; Schritt B: Hinzugabe von Detektionsantikörpern und Konjugation derselben mit einem Enzym Schritt C: Überführung der Kugeln in Kammern mit einem Fassungsvermögen von einem Femtoliter und Hinzugabe von fluoreszierendem Enzymsubstrat

Abbildung aus: Chang et al., Journal of Immunological Methods, 2012 (50)

2 Literaturübersicht

2.1 Assoziation zwischen in MR- und CT-Bildgebung gemessenem Schlaganfallvolumen und sNfL-Konzentrationen

In den letzten Jahren wurden einige Studien durchgeführt, die sich mit dem Zusammenhang zwischen dem in MR- oder CT-Bildgebung gemessenen Schlaganfallvolumen und der Konzentration von sNfL im peripheren Blut beschäftigt haben. Ziel dieser Studien war es, herauszufinden, ob sNfL ein ebenso zuverlässiger Marker für das klinische Outcome der betroffenen Patienten ist, wie das Läsionsvolumen in der Bildgebung. In den bereits durchgeführten Studien wurden die Konzentrationen von sNfL (und CSF NfL) auf Korrelation mit Größe und Volumen in der Bildgebung und klinischen Skalen zur Quantifizierung der bleibenden funktionellen und neurologischen Beeinträchtigung untersucht. Eine Übersicht früherer Studien bietet **Tabelle 1**. Im Folgenden werden die unterschiedlichen Ergebnisse kurz vorgestellt und diskutiert.

Eine Studie von De Marchis *et al.* aus dem Jahr 2018 hat in einer prospektiven Kohorten-Studie insgesamt 615 Patienten mit AIS oder transitorisch ischämischer Attacke (TIA) auf die Konzentrationen von sNfL im peripheren Blut hin untersucht. Dabei fand sich keine Korrelation zwischen der im 24 Stunden nach Symptombeginn gemessenen Konzentration von Neurofilament und Infarktgröße in der DWI-MRT bei Aufnahme ins Krankenhaus (52).

Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt auch die Studie von Uphaus *et al.* von 2019. Es wurden Blutproben von 211 Patienten mit AIS innerhalb von 24 h nach Symptombeginn auf sNfL-Konzentrationen hin untersucht und das Schlaganfallvolumen mittels DWI-MRT bestimmt. Auch hier ließ sich keine Korrelation zwischen sNfL und Infarktvolumen feststellen (45).

Dass dieser fehlende Zusammenhang der Konzentration an sNfL und dem Infarktvolumen bei Aufnahme an einem zu frühen Zeitpunkt der Blutuntersuchung liegen könnte, legen Studienergebnisse von Tiedt *et al.*, Pujol-Calderón *et al.* und Onatus *et al.* dar. Hier wurden die sNfL-Proben zu späteren Zeitpunkten als 24 h nach Symptombeginn abgenommen und analysiert.

Tiedt *et al.* fanden dabei einen Anstieg der Konzentration von sNfL bis zum siebten Tag nach Aufnahme ins Krankenhaus (12), während Pujol-Calderón *et al.* einen Anstieg von sNfL bis zur dritten Woche nach AIS beobachteten (44). Beide Studien haben serielle Blutproben abgenommen und zu unterschiedlichen Zeitpunkten analysiert (siehe Tabelle 1), um die Konzentration des Neurofilaments im peripheren Blut zu bestimmen. Es zeigt sich in beiden Studien ein stark positiver Zusammenhang zwischen der Konzentration von sNfL an Tag 7 nach Aufnahme und dem vor Therapiebeginn gemessenem Volumen in der MRT.

Gattringer *et al.* haben 2018 eine Kohorte von 79 Patienten mit kürzlich aufgetretenen lakunären, subkortikalen Infarkten (RSSI, recent small subcortical infarcts) mit einer gesunden Kontrollgruppe auf die Unterschiede der sNfL-Konzentration in einem Zeitraum von 15 Monaten hin verglichen. Patienten mit RSSI hatten dabei signifikant höhere sNfL-Level als die gesunde Kontrollgruppe und es bestand über den kompletten Beobachtungszeitraum eine Korrelation zwischen beobachteter Größe des ischämischen Areals in der MRT und der sNfL-Konzentration. Die sNfL-Konzentration korrelierte auch dann mit der Größe des ischämischen Areals in der MRT, wenn während des follow-ups neue, klinisch nicht auffällig gewordene Läsionen in der MRT hinzukamen (53).

Der in einigen Studien festgestellte fehlende Zusammenhang der Konzentration von sNfL und dem Infarktvolumen bei Aufnahme, liegt nach Zusammenschau der vorhandenen Studien vermutlich an einem zu frühen Zeitpunkt der Blutuntersuchung nach AIS. Studien, in denen die sNfL-Proben zu einem späteren Zeitpunkt als 48 Stunden abgenommen und analysiert wurden, zeigen einen positiven Zusammenhang der beiden Parameter.

2.2 Einfluss von Liquor-Parametern der BHS-Störung und der akuten und chronischen Inflammation auf NfL-Konzentrationen

Es gibt bis heute keine Studie, die sich mit den Zusammenhängen zwischen Parametern der Blut-Hirn-Schrankenstörung und der Inflammation im zentralen Nervensystem (ZNS) und der Konzentration von sNfL bei akut ischämischem Schlaganfall beschäftigt, was in ebendieser vorliegenden Studie untersucht werden soll. Erkenntnisse zu den Zusammenhängen zwischen erhöhtem QAlb, erhöhter Leukozytenzahl im Liquor, intrathekaler Immunglobulinsynthese und der Konzentration von NfL im CSF liefern vor allem Studien zu anderen neurologischen Erkrankungen, vornehmlich zu Multipler Sklerose (MS), Humanen-Immundefizienz-Virus (HIV) assoziierter Demenz und zu weiteren Demenzformen. Da in der vorliegenden Studie die Zusammenhänge der oben genannten Parameter und der Konzentration von sNfL untersucht werden und in bisherige Erkenntnisse eingeordnet werden sollen, wurden die Studien gesichtet und zusammengefasst. **Tabelle 2** gibt einen Überblick über deren Ergebnisse.

2.2.1 Assoziation zwischen dem Albumin-Quotienten und Neurofilament-Leichtketten

Die Zusammenschau der Studien zur Assoziation zwischen QAlb und der Konzentration von NfL in Liquor oder Serum weist darauf hin, dass die Korrelation vom Ausmaß der Erhöhung von QAlb abhängt.

In Studien mit MS-Patienten konnten Uher *et al.*, McComb *et al.* und Puthenparampil *et al.* eine Korrelation zwischen QAlb und NfL feststellen (54-56). Sie untersuchten dabei Liquor und Serum von Patienten während eines akuten Schubereignisses (54, 55) oder bei Patienten mit

unabhängig von der Aktivität der Krankheit abnormal erhöhtem QAlb. In allen Gruppen wurde eine positive Korrelation zwischen NfL und QAlb nachgewiesen.

Studien zum Zusammenhang zwischen NfL und QAlb bei HIV-assoziiertes Enzephalitis zeigen ebenso eine Korrelation der beiden Parameter (57, 58), wie die Studie von Skillbaeck *et al.* zum Zusammenhang der beiden Parameter bei Patienten, die an unterschiedlichen Demenzformen erkrankt sind (59). Bei ausgeprägter Erhöhung von QAlb wurde eine Korrelation festgestellt (58, 59).

Im Gegensatz dazu zeigen Studien von Novakova *et al.* und Kalm *et al.* keinen signifikanten Zusammenhang zwischen QAlb und NfL (60, 61). Novakova *et al.* untersuchte dabei eine heterogene Gruppe von bereits in Therapie befindlichen und nicht therapierten MS-Patienten auf die Konzentrationen von CSF NfL und sNfL hin, während Kalm *et al.* sich mit den Auswirkungen von BHS-Störungen unterschiedlicher Genese und Ausmaßes auf sNfL beschäftigte. Es konnte keine Korrelation der Parameter gefunden werden, obwohl Kalm *et al.* auch eine Subgruppenanalyse mit Einteilung der Patienten nach Höhe des QAlb vorgenommen hat.

2.2.2 Assoziation zwischen der Leukozytenzahl und Neurofilament-Leichtketten im Liquor

Studien zur Assoziation zwischen CSF Leukozytenzahl und NfL kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Der Zusammenhang zwischen den beiden Parameter scheint von der Krankheitsaktivität der zugrundeliegenden Erkrankung abzuhängen.

Bei Patienten mit AIS konnte bisher in keiner Studie ein Zusammenhang zwischen sNfL-Konzentration und Leukozytenzahl im Liquor festgestellt werden. De Marchis *et al.* haben bei 616 Patienten mit AIS oder TIA keinen Zusammenhang der beiden Parameter gefunden (52).

Gegensätzlich sieht es in Studien zum Zusammenhang der beiden Parameter bei anderen neurologischen Krankheiten aus. In einer Studie von Engel *et al.* von 2020 wurden Patienten mit der Diagnose Klinisch Isoliertes Syndrom (KIS) oder Schubförmig Remittierende Multiplen Sklerose (Relapsing Remitting Multiple Sclerosis, RRMS) im akuten Schub eingeschlossen. Es bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen Leukozyten im Liquor und NfL im Serum (62).

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zeigt sich in Studien von Pawlitzki *et al.* von 2018 und Kuhle *et al.* von 2013 kein Zusammenhang zwischen CSF NfL und Leukozyten im Liquor bei Patienten mit chronischen Verlaufsformen der Multiplen Sklerose (MS) (63, 64).

2.2.3 Assoziation zwischen intrathekaler Immunglobulinsynthese und Neurofilament-Leichtketten

Studien mit MS-Patienten haben die Zusammenhänge zwischen NfL in Liquor oder Serum und intrathekalen Synthese unterschiedlicher Immunglobulinklassen erforscht und kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen, die jedoch alle einen Zusammenhang zwischen den Konzentrationen intrathekalen Immunglobulinklassen und NfL vermuten lassen (54, 62, 65).

Die Studie von Sellebjerg *et al.* von 2017 zeigt einen signifikanten Zusammenhang zwischen CSF NfL und dem Quotient aus Liquor/Serum- Konzentration von Immunglobulin G (QIgG) (65). Engel *et al.* haben diesen Zusammenhang auch zwischen sNfL und QIgG festgestellt (62).

Eine Studie von 2021 von Uher *et al.* hat die Korrelation zwischen CSF NfL und QIgG bestätigt und zusätzlich einen positiven Zusammenhang mit QIgM (Quotient aus Liquor/Serum- Konzentration von Immunglobulin M) dargestellt. Im Serum korrelierte die NfL-Konzentration allerdings nur mit QIgM (54).

Die Betrachtung der Studienlage zeigt, dass NfL zwar ein bereits vielfach untersuchter und bestätigter zuverlässiger Marker für das Ausmaß an neuronaler Schädigung ist, die Zusammenhänge zwischen NfL und anderen Biomarkern für pathologische Prozesse im ZNS und deren Einflüsse auf die Freisetzung von NfL ins Serum aber noch nicht hinreichend untersucht worden sind. Es herrscht keine Einigkeit darüber, zu welchem Zeitpunkt die NfL-Konzentration am besten analysiert werden sollte und inwieweit die sNfL-Konzentration von anderen, gegebenenfalls parallel zum AIS stattfindenden entzündlichen Prozessen im Körper beeinflusst wird.

In der vorliegenden Studie soll zu einer Klärung dieser Fragen beigetragen werden. Es wird der Zusammenhang zwischen verschiedenen, oben bereits diskutierten Markern für pathologische Vorgänge im ZNS und der sNfL-Konzentration beim AIS untersucht. Ebenso wird der Zusammenhang zwischen sNfL-Konzentration und in der Bildgebung bestimmten Schlaganfallvolumen genauer betrachtet. Dabei wird in multiplen Regressionsanalyse-Modellen der Einfluss der verschiedenen Parameter auf die sNfL-Konzentration genauer untersucht. Somit soll geklärt werden, welche Parameter und Untersuchungsbedingungen bei der Bewertung der sNfL-Konzentration beachtet werden müssen, um in der Analyse der Ergebnisse die richtigen und für den Patienten entscheidenden Schlüssen ziehen zu können.

2.3 Literaturübersicht zur Assoziation zwischen sNfL und Läsionsvolumen in der MRT

Tabelle 1: Literaturübersicht zur Assoziation zwischen sNfL und Läsionsvolumen in der Bildgebung

Referenz (Nr.)	Erkrankung	Patienten- zahl	Zeitpunkt Probenentnahme	Bildgebungs- modalität	Ergebnis
Uphaus <i>et al.</i> , 2019 (8)	AIS	211	24h ,1 Jahr	DWI-MRT CT	Keine Korrelation zwischen Konzentration von sNfL und Läsionsvolumen im MRT
Pujol-Calderón <i>et al.</i> , 2019 (28)	AIS	30	24h, Tag 2-3, Tag 7-9, Woche 21, Monat 3-5	T2- gew. MRT CT	Korrelation mit sNfL Konzentration in Woche 3 und Monat 3-5 nach AIS Korrelation mit Größe im CT an Tag 7-9, in Woche 3 und Monat 3-5 nach AIS
Tiedt <i>et al.</i> , 2018 (32)	AIS	196	Tag 2, 3, 7, Monat 6	DWI-MRT	Korrelation zwischen Volumen und sNfL Konzentration an Tag 3 und 7
De Marchis <i>et al.</i> , 2018 (36)	AIS TIA	615	24h	DWI-MRT	Keine Korrelation der Parameter
Gattringer <i>et al.</i> , 2018 (53)	RSSI	79	Bei Aufnahme, Monat 3 und 15 nach AIS	MRT	Korrelation zwischen sNfL und Größe im MRT

2.4 Literaturübersicht zur Assoziation zwischen NfL und Liquorparameter

Tabelle 2: Literaturübersicht zur Assoziation zwischen NfL und Liquorparametern

Referenz (Nr.)	Erkrankung	Patientenzahl	Neurofilament-Typ	Ergebnis
Albumin-Quotient				
Uher <i>et al.</i> , 2021(54)	Patienten mit erstem demyelinisierenden Schub bei MS	142	NfL in Liquor und Serum	Korrelation mit QAlb
Puthenparampil <i>et al.</i> , 2021(56)	MS-Patienten mit abnormal hoher Konzentration von CSF-Albumin	30	Liquor NfL	Korrelation mit QAlb
McComb <i>et al.</i> , 2020(55)	Patienten mit erstem demyelinisierenden Schub bei MS	103	NfL in Liquor und Serum	Korrelation mit QAlb
Rahimy <i>et al.</i> , 2017(57)	HIV-Infizierte	106	Liquor NfL	Korrelation mit QAlb
Anesten <i>et al.</i> , 2016(58)	HIV-Infizierte	631	Liquor NfL	Korrelation mit QAlb
Skillbeack <i>et al.</i> , 2017(59)	Demenz-erkrankungen	1590	Liquor NfL	Korrelation mit QAlb bei Patienten mit spät einsetzender Alzheimer-Demenz und bei Patienten mit vaskulärer Demenz
Kalm <i>et al.</i> , 2017(61)	Patienten mit BHS-Störung unterschiedlichen Ausmaßes	43	Serum NfL	Keine Korrelation mit QAlb

Novakova <i>et al.</i> , 2017(60)	MS	158	NfL in Liquor und Serum	Keine Korrelation mit QAlb
Leukozytenzahl im Liquor				
Engel <i>et al.</i> , 2020(62)	KIS und MS (RRMS)	112	Serum NfL	Korrelation mit Leukozytenzahl im Liquor
De Marchis <i>et al.</i> , 2018(52)	AIS und TIA	615	Serum NfL	Keine Korrelation mit Leukozytenzahl
Pawlitzki <i>et al.</i> , 2018(63)	PPMS	50	Liquor NfL	Keine Korrelation mit Leukozytenzahl
Kuhle <i>et al.</i> , 2013(64)	KIS und MS (schubförmige MS, SPMS, PPMS)	148	Liquor NfL	Korrelation mit Leukozytenzahl bei KIS und schubförmiger MS, aber nicht bei SPMS und PPMS
Immunglobulinkonzentration im Liquor				
Uher <i>et al.</i> , 2021(54)	Patienten mit erstem demyelinisierendem Schub bei MS	142	NfL in Liquor und Serum	Korrelation zwischen QIgG, QIgM und CSF NfL, Korrelation zwischen QIgM und sNfL
Sellebjerg <i>et al.</i> 2017(65)	MS (SPMS, PPMS)	52	Liquor NfL	Korrelation mit QIgG
Engel <i>et al.</i> , 2020(62)	KIS und MS (RRMS)	112	Serum NfL	Korrelation mit QIgG

3 Material

3.1 Laborgeräte

Tabelle 3: Übersicht über die verwendeten Laborgeräte

Automatisiertes Messinstrument für Single Molecule Arrays	Quanterix® Simoa™ HD-1 Analyzer®, Produktnummer 100438-R
Zentrifugen	Thermo Scientific™ Heraeus™ Multifuge™ X1 Thermo Scientific™ Heraeus™ Multifuge™ 3 L-R Thermo Scientific™ Heraeus™ Fresco™ 21
Vortex-Schüttler	VWR® Analog
Biologische Sicherheitswerkbank	Thermo Scientific™ MSC-Advantage™
-80° Labor-Gefrierschrank	Panasonic® Ultra-low temperature Freezer DU700VH

3.2 Laborzubehör

Tabelle 4: Übersicht über das verwendete Laborzubehör

Probenplatten für Single Molecule Arrays	Quanterix® Simoa™ Discs
Microwell 96-Well Polypropylen-Platten mit V-Boden	Nunc®
Mundschutz	HALYARD Health The lite one* Procedure Mask
Eppendorfgefäße 2,0mL	Eppendorf Safe-Lock Tubes
Pipetten 10-1000 µL	Eppendorf Research®
Akku-betriebene Pipettierhilfe	Hirschmann® Pipetus®
Pipettenspitzen	STARLAB TipOne®
Serologische Einwegpipetten 5-25mL	Greiner Bio-One™
Falcon Röhrchen 15mL	Greiner Bio-One™
Falcon Röhrchen 50mL	Greiner Bio-One™

3.3 Reagenzien und Lösungen

Tabelle 5: Übersicht über die verwendeten Reagenzien und Lösungen

Bead Reagenz	enthalten in Quanterix® Simoa™ NF-light® Kit, Produktnummer 102246
Detektionsreagenz	enthalten in Quanterix® Simoa™ NF-light® Kit, Produktnummer 102248
Streptavidin-β-galactosidase Reagenz	enthalten in Quanterix® Simoa™ NF-light® Kit, Produktnummer 102250

Probenverdünnungspuffer	enthalten in Quanterix® Simoa™ NF-light® Kit, Produktnummer 102252
Kalibrierungsreagenz	enthalten in Quanterix® Simoa™ NF-light® Kit, Produktnummer 102255
Resorufin D-galactopyranoside Reagenz	enthalten in Quanterix® Simoa™ NF-light® Kit, Produktnummer 103159

4 Methoden

4.1 Studiendesign und Einschlusskriterien

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine retrospektive, monozentrische Beobachtungsstudie im Querschnittsdesign. Eingeschlossen wurden 131 Patienten der Klinik und Poliklinik für Neurologie der Universitätsmedizin Mainz, welche zwischen den Jahren 2010 und 2019 die Diagnose AIS oder TIA gestellt bekamen und bei denen eine Lumbalpunktion zur Liquordiagnostik durchgeführt wurde.

Einschlusskriterien waren:

- Klinische Diagnose eines AIS oder einer TIA
- Vorliegen von Liquor- und Serumproben des Patienten zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses
- Vorliegen einer Schädel-MRT oder alternativ einer cCT
- Mindestalter 18 Jahre

Ausschlusskriterien waren:

- Diagnose einer hämorrhagischen Blutung

4.2 Datenerhebung

Die in dieser Studie verwendeten Daten stammen aus Behandlungsprotokollen, Verlaufsdokumentationen und Arztbriefen, welche in der digitalen Datenbank der Universitätsmedizin Mainz gespeichert werden. Alle Daten wurden anonymisiert ausgewertet.

Neben demographischen Daten wie Alter und Geschlecht wurden die folgenden klinischen und paraklinischen Parameter erhoben:

- früherer Schlaganfall
- differentialdiagnostische Überlegungen, die zur Durchführung der Lumbalpunktion und Liquordiagnostik führten
- Einschätzung des Schweregrads des AIS anhand des NIHSS bei Aufnahme und bei Entlassung
- Zeitverläufe in Tagen
 - Zeit vom Symptombeginn bis zur bildgebenden Untersuchung
 - Zeit vom Symptombeginn bis zur Lumbalpunktion
 - Zeit von der bildgebenden Untersuchung bis zur Lumbalpunktion
- Parameter der Liquordiagnostik
 - CSF NfL-Konzentration (pg/mL)
 - Gesamteiweiß (mg/dL)
 - Albuminquotient

- Leukozytenzahl (/ μ L)
- Immunglobulinquotienten; QIgA, QIgG, QIgM
- Volumen (mL) des ischämischen Areals in der DWI-, T2-gewichteten, FLAIR-MRT oder in der cCT
- Bleibende Einschränkungen der Patienten nach AIS gemessen anhand der NIHSS bei Entlassung

Alle Patienten und Probanden wurden über Inhalt und Ablauf der Studie informiert und stimmten dem Studieneinschluss schriftlich zu. Die vorliegende Studie wurde in Übereinstimmung mit den Richtlinien der Deklaration von Helsinki (2004) durchgeführt. Der Ethikantrag (Antragsnummer 837.019.10) wurde nach Prüfung durch die lokale Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz bewilligt.

4.3 Klassifizierung der Schwere des AIS mittels NIHSS

Die NIHSS ist eine 1989 entwickelte Skala zur Beurteilung der Schwere eines Schlaganfalls. Sie besteht aus 15 Items, mit denen durch kurze Untersuchungen alle klinischen Syndrome eines Schlaganfalls erfasst werden können. Untersucht werden: Bewusstseinslage (Vigilanz), Orientierung, Befolgung von Aufforderungen, Blickfolgebewegung, Gesichtsfeld, Fazialisparese, Motorik der Arme (jeweils links und rechts), Motorik der Beine (jeweils links und rechts), Extremitätenataxie, Sensibilität, Sprache, Dysarthrie, Auslöschung & Nichtbeachtung. In jedem Item können zwischen 0 und 3-4 Punkten vergeben werden, wobei 0 vergebene Punkte den Normalzustand abbilden und maximal 42 Punkte vergeben werden können (66).

Die Aussagekraft der NIHSS wurde in zahlreichen Studien untersucht. Die Skala hat sich als sehr reliabel und valide herausgestellt (66). Zudem korreliert die in der NIHSS vergebene Punktzahl des Patienten vor Therapiebeginn mit dem Infarktvolume in der Bildgebung (66, 67). Mithilfe der anhand der NIHSS vergebenen Punktzahl kann eine zuverlässige, prädiktive Aussage über den klinischen Outcome des Patienten in 7 Tagen nach und 3 Monaten nach AIS getroffen werden. Patienten mit einer NIHSS-Punktzahl von über 15 Punkten haben dabei eine schlechte Prognose mit hoher Mortalität, während Patienten mit sechs oder weniger Punkten einen guten Krankheitsverlauf erwarten können (68). In der S1 Leitlinie der DGN von 2016 zum Thema „Diagnostik akuter zerebrovaskulärer Erkrankungen“ die Verwendung der NIHSS zur neurologischen Erstuntersuchung in der Notaufnahme empfohlen. In klinischen Studien zum Thema Schlaganfall gehört die NIHSS-Skala zu den meist-genutzten Skalen zur Ersteinschätzung des Infarkts (69). Eine Korrelation zwischen NIHSS bei Aufnahme und sNfL würde die Aussagekraft der sNfL-Konzentration bezüglich der Einschätzung des Ausmaßes der akuten Hirnschädigung untermauern. Eine Korrelation zwischen NIHSS bei Entlassung und sNfL-Konzentration könnte die Bedeutung der sNfL-Konzentration in der Prognose des

Langzeit-Outcome der Patienten verdeutlichen und dazu beitragen, diesen leicht zugänglichen Marker im klinischen Alltag zu etablieren.

Die Patienten wurden sowohl bei Aufnahme als auch bei Entlassung aus der Klinik anhand der NIHSS beurteilt. Zur Einteilung des Schweregrades des Schlaganfalls wurde die Graduierung nach der „National Institute for Health and Care Excellence Guideline“ gewählt. Sie teilt die Schweregrade nach NIHSS- Punkten in vier Stufen (leicht, moderat, moderat bis schwer und schwer) ein (70).

4.4 Bestimmung des Schlaganfallvolumens in der MRT und CT

Die MR- oder computertomographische Untersuchung erfolgte entweder im Rahmen der Routinediagnostik bei klinischem Verdacht auf Schlaganfall in der Stroke Unit oder zum differentialdiagnostischen Ausschluss anderer Krankheiten bei unklarer Ätiologie des AIS.

Das Läsionsvolumen wurden semiquantitativ, ähnlich der Methodik von Kim *et al.* und Picelli *et al.* (71, 72), mithilfe des Programms MRlcron (<https://www.nitrc.org/projects/mricron>, University of South Carolina, Columbia, SC, USA) bestimmt. Hierfür wurden die im MRT oder CT generierten Bilddaten in NIFTI-Format umgewandelt. So konnten sie in MRlcron geöffnet und bearbeitet werden.

Analysiert wurden je nach Zeit zwischen AIS und MR-Diagnostik sowohl DWI-gewichtete, T2-gewichtete oder FLAIR-Sequenzen. So wurde sichergestellt, dass die zum Zeitpunkt der radiologischen Untersuchung sensitivste Sequenz zur Detektion des Schlaganfalls in der kernspintomographischen Bildgebung, analysiert wurde (34).

In vier Fällen wurde aufgrund nicht stattgefundener MR-Untersuchungen das Läsionsvolumen anhand von Bilddaten aus der kranialen Computertomographie bestimmt. Auch hier wurden die generierten Daten mittels MRlcron ausgewertet.

Trainierte Mitarbeiter der Klinik identifizierten auf axialen, koronaren oder sagittalen Schnittbildern die ischämischen Läsionen, wobei eine Läsion als Hyperintensität auf einer Hemisphäre des Gehirns gegenüber der gleichen Region auf der anderen Hemisphäre definiert wurde. Durch Einbeziehung der klinischen Daten und individuellen Krankheitsgeschichte wurden Läsionen oder Hyperintensitäten aufgrund früherer Schlaganfälle oder anderer Erkrankungen identifiziert und vor Markierung ausgeschlossen. Der Umfang der beim untersuchten Infarkt aufgetretenen Läsionen wurden daraufhin in MRlcron manuell markiert und somit für jede Schicht eine einzelne region-of-interest (ROI) generiert. Dabei wurden die Läsionen in mehreren Sequenzen verglichen, um Falschmarkierungen zu vermeiden. Die ROI wurden von einem erfahrenen Neurologen der Klinik kontrolliert.

MRIcon erchnet aus der markierten ROI das volume-of-interest (VOI). Durch Summation der VOI der einzelnen Schichten wurde das Volumen der kompletten Läsion bestimmt.

4.5 Bestimmung der Liquorparameter

Die Lumbalpunktion und Analyse der Liquorparameter erfolgte im Rahmen von differentialdiagnostischen Überlegungen zur Ätiologie des AIS, zum Ausschluss von Vaskulitiden oder malignen Prozessen.

Die Bestimmung der Liquorkonzentrationen von Albumin, Immunglobulin A (IgA), Immunglobulin G (IgG) und Immunglobulin M (IgM) erfolgten dabei mittels Immunnephelometrie.

Die Liquor/Serum-Quotienten von Albumin (QAlb), IgA (QIgA), IgG (QIgG) und IgM (QIgM) wurden definiert als das Verhältnis von Liquor- zur jeweils korrespondierenden Serumkonzentration.

Alle Referenzwerte beziehen sich auf die Definitionen gemäß Berlit (73).

4.6 Bestimmung der sNfL-Konzentration mittels SiMoA

Parallel zur Lumbalpunktion erfolgte eine Blutabnahme zur Gewinnung von Serumproben. Genau wie in einer Publikation von Engel *et al.* beschrieben (62), wurden die Blutproben innerhalb von maximal zwei Stunden nach Abnahme durch Zentrifugation bei 2000 g über 10 min bei Raumtemperatur aufgearbeitet. Im direkten Anschluss an die Zentrifugation wurde das Serum gleichmäßig in Polypropylen-Röhrchen überführt (300–600 µL / Röhrchen) und bei -80 °C gelagert.

Wie bereits in früheren Veröffentlichungen beschrieben (45, 53), wurde die sNfL-Konzentration automatisiert mithilfe des Geräts SiMoA HD-1 (Quanterix, MA, USA) unter Verwendung des NF-Light Advantage Kits (Quanterix, MA, USA) aus der gleichen Charge bestimmt. Den Angaben des Herstellers folgend wurde die Konzentration jeweils doppelt bestimmt.

Zur Berechnung des Variationskoeffizienten der bestimmten Konzentration (CV, als Prozentsatz) jeder Probe, wurde, wie ebenfalls in anderen Publikationen bereits beschrieben (45, 62), die Standardabweichung der beiden Messungen durch den Mittelwert beider Wiederholungen geteilt und anschließend mit 100 multipliziert. Hierbei wurden Proben mit einem CV größer 20 Prozent (%) erneut doppelt gemessen. Der mittlere Intra-Assay-CV betrug 7,3. Die sNfL-Konzentrationsbestimmung erfolgte dabei verblindet gegenüber den klinischen Angaben.

4.7 Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit Hilfe von SPSS 23.0 (IBM Corp., NY, USA) und Graph Pad Prism 7.0 (GraphPad Software, CA, USA) statistisch ausgewertet. Kontinuierliche Variablen werden folgend durch ihren Median und den Interquartilsabstand (IQR) beschrieben, kategoriale Variablen als ganze Zahlen und Prozentwerte.

Die Analyse der Beziehung zwischen zwei kontinuierlichen Variablen wurden mittels nicht-parametrischer Testung in Korrelationsanalysen nach Spearman bestimmt. Korrelationen mit einem Spearman Korrelationskoeffizient (ρ) $< 0,3$ werden nach der Interpretation nach Cohen als schwache Korrelationen angesehen. Korrelationen von $\rho > 0,3$ bis $< 0,5$ werden als moderate und Korrelationen mit $\rho > 0,5$ als starke Korrelationen angesehen (74).

Bei Variablen, die in der Spearman-Korrelationsanalyse eine Assoziation zur sNFL-Konzentration aufwiesen, wurde zur Bestimmung des Einflusses auf die Höhe der sNFL-Konzentration eine multiple Regressionsanalyse durchgeführt.

In allen Auswertungen wurden P -Werte < 0.05 wurden als statistisch signifikant angesehen.

Aufgrund des explorativen Charakters dieser Studie wurde auf eine Korrektur für multiples Testen verzichtet.

5 Ergebnisse

5.1 Charakterisierung der Kohorte

5.1.1 Demographische Daten

Tabelle 6: Übersicht über die demographischen Daten

Parameter	Anzahl (%)	Median (IQR)
Alter (Jahre)		52 (20,5)
Geschlecht		
Männlich	81 (61,8%)	
Weiblich	50 (38,2%)	

Von 131 in die Studie eingeschlossenen Patienten waren 61,8% Prozent männlich. Das Alter lag im Median bei 52 Jahren.

5.1.2 Klinische Daten

Von 131 Probanden erhielten 121 die Diagnose eines AIS und 10 die Diagnose TIA. Bei Aufnahme lag die erzielte Punktzahl in der NIHSS im Median bei 2, was einem leichten ischämischen Schlaganfall entspricht (70). Die NIHSS-Punktzahl hatte sich bei Entlassung im Median um einen Punkt verringert und lag im Median bei 1 Punkt.

Die Lumbalpunktion zur Liquorgewinnung erfolgte aus unterschiedlichen differentialdiagnostischen Überlegungen heraus. Bei 71,8% der Patienten wurde eine diagnostische Lumbalpunktion zum Ausschluss einer Vaskulitis vorgenommen. Gefolgt vom Ausschluss einer Entzündung (13%), dem Vorliegen von Verwirrung (7,6%), dem Ausschluss eines malignen Prozesses (3,8%) und unklaren Gründen (3,8%) als Grund für die Entscheidung zur diagnostischen LP.

Tabelle 7: Übersicht über die klinischen Daten

Parameter	Anzahl (%)	Median (IQR)
Diagnose		
AIS	121 (92,4%)	
TIA	10 (7,6%)	
NIHSS		
bei Aufnahme		2 (3)
bei Entlassung		1 (1,5)
Gründe für LP		
DD Vaskulitis	94 (71,8%)	
DD Entzündung	17 (13,0%)	
DD maligner Prozess	5 (3,8%)	
Verwirrung	10 (7,6%)	
unbekannt	5 (3,8%)	

5.1.3 Bildgebungsbefunde

Bei allen Patienten fand im Median 4 Tage nach Auftreten der Symptome eines AIS und Einlieferung in die Klinik eine radiologische Untersuchung statt. Dabei wurde bei 4 Patienten keine MR- sondern eine computertomographische Bildgebung vorgenommen.

Bei 25,2% der Patienten zeigte sich in der Bildgebung keine Infarktdemarkierung. Die Volumenmessung der demarkierten Infarkte wurde zu 50,4% in T2- und FLAIR-Sequenzen der MRT vorgenommen. Bei 28 Patienten (21,4%) erfolgte die Bestimmung des Infarktvolumens anhand von DWI-gewichteten Aufnahmen der MRT. 3,1% der Patienten erhielten wie oben bereits erwähnt eine cCT, anhand der Aufnahmen das Infarktvolumen bestimmt wurde.

Wie bereits bei Betrachtung des niedrigen Medians der NIHSS anzunehmen, zeigte sich nach Quantifizierung des Volumens in der Bildgebung, dass die Patienten in unserem Studienkollektiv nur leichte Schlaganfälle mit einem geringen Volumen des betroffenen

Gehirngewebes erlitten. Im Median lag das Volumen des Schlaganfalls bei einem Milliliter. Nimmt man die Schlaganfälle ohne Demarkierung in der Bildgebung aus der Analyse, liegt der Median des betroffenen Gewebevolumens bei zwei Millilitern.

Tabelle 8: Übersicht über die in bildgebenden Untersuchungen erhobenen Daten

Parameter	Anzahl (%)	Median (IQR)
Zeit zwischen AIS und Bildgebung (Tage)		4 (5)
Sequenzen zur Volumenmessung	131 (100%)	
MRT-T2 oder FLAIR	66 (50,4%)	
MRT-DWI	28 (21,4%)	
cCT	4 (3,1%)	
keine Infarktdemarkierung	33 (25,2 %)	
Schlaganfallvolumen (nur demarkierte Infarkte) (mL)		2 (11,4)
Schlaganfallvolumen (alle Infarkte) (mL)		1 (5,9)

5.1.4 Liquorbefunde

Im Median lagen zwischen der Einweisung in die Klinik aufgrund eines Verdachts auf AIS und der diagnostischen Lumbalpunktion 4 Tage. Zwischen Lumbalpunktion und Bildgebung lagen im Mittel 2 Tage.

In der vorliegenden Kohorte findet sich keine Zellvermehrung des Liquors, da im Median nur 2 Leukozyten/ μ L im Liquor zu finden waren.

Das Gesamteiweiß als ein Zeichen der Blut-Hirn-Schranken-Integrität ist mit im Median 43 mg/dl leicht erhöht und weist auf eine Störung hin. Der QAlb ist mit 7 bei einer Kohorte mit einem mittleren Alter von 52 Jahren jedoch im altersabhängigen Normbereich. Da beide Werte

zudem eine große Streuung aufweisen, kann in Zusammenschau der Werte von einer lediglich geringfügig ausgeprägten BHS-Störung ausgegangen werden.

Die Liquor/Serum-Quotienten der einzelnen Immunglobulinklassen sind im Median alle leicht erhöht und zeigen eine intrathekale Synthese von Immunglobulinen in der vorliegenden Kohorte an.

Die CSF NfL-Konzentration lag im Median bei 6615 pg/mL.

Tabelle 9: Übersicht über die Ergebnisse der Liquordiagnostik

Parameter	Anzahl (%)	Median (IQR)	Referenzwerte
Zeit zwischen AIS und LP (Tage)		4 (5)	
Zeit zwischen NfL-LP und Bildgebung (Tage)		2 (3)	
NfL (pg/mL)		2089 (6281,3)	
Leukozyten (/μL)		2 (2)	≤ 4
Gesamteiweiß (mg/dl)		43 (18,8)	$\leq 15-40$
Albumin-Quotient		7(3,8)	$\leq 6,5 (<40J)$ $\leq 8 (>40J)$
Immunglobuline			
QIgG		3 (1,75)	$\leq 2,3$
QIgA		2 (1,2)	$\leq 1,3$
QIgM		0 (0,4)	$\leq 0,3$

5.2 Einfluss verschiedener Parameter auf die Konzentration von sNfL

5.2.1 Demographische Daten

Die Konzentration von sNfL ist altersabhängig und scheint bei Gesunden im Alter zwischen 18 und 70 Jahren um wenige Prozentpunkte pro Jahr anzusteigen, wobei eine deutliche Zunahme des Anstiegs ab dem 60. Lebensjahr beobachtet wird (9, 10). In Studien mit jüngeren Patientenkohorten zeigten sich oftmals stabilere CSF NfL und sNfL-Werte, oder es konnte keine Korrelation mit dem Alter der Patienten nachgewiesen werden (62, 75).

In der in dieser Studie untersuchten Kohorte mit einem mittleren Alter von 52 Lebensjahren zeigte sich ein schwacher Zusammenhang, sowohl der CSF-NfL-Konzentration als auch der sNfL-Konzentration mit dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme. Der Spearman-Korrelationskoeffizient als Maß für die Stärke des Zusammenhangs zweier Parameter lag bei der Analyse des Zusammenhangs zwischen der Konzentration von CSF NfL und dem Alter des Patienten bei 0,208. Mit einem Signifikanzwert (p) von 0,018 liegt dieser Wert unter dem festgelegten Signifikanzniveau von 0,05 und ist damit statistisch signifikant. (CSF NfL und Alter: $\rho = 0.208$, $p = 0.018$). Bei der Betrachtung der Korrelation zwischen sNfL-Konzentration und Alter der in der Kohorte untersuchten Patienten ergaben sich Werte von $\rho = 0,181$ und $p = 0.038$. Dementsprechend besteht sowohl zwischen der Konzentration von CSF NfL als auch von sNfL ein signifikanter linearer Zusammenhang zum Alter der Patienten.

Da es sich um eine Kohorte mittleren Alters handelt und ein starker Anstieg der NfL-Konzentrationen rund um das 60. Lebensjahr diskutiert wird (9, 75, 76), stimmen die Ergebnisse dieser Studie gut mit denen früherer Studien überein. Um eine falsche Interpretation von Zusammenhängen zu vermeiden, wurde das Alter als möglicher Störfaktor in die Modelle der multiplen Regressionsanalyse aufgenommen. Es zeigte sich aber, dass das Alter der Patienten in der vorliegenden Studie keinen signifikanten Einfluss auf die NfL-Konzentrationen weder in Liquor noch im Serum der Patienten hatte.

5.2.2 Klinische Daten

Bei Analyse der Beziehung zwischen erhobenem NIHSS-Wert bei Aufnahme des Patienten und NfL-Konzentration in Serum und Liquor zeigt die statistische Korrelationsanalyse nach Spearman keinen Zusammenhang der beiden Parameter.

Jedoch besteht ein Zusammenhang der beiden Parameter zu einem späteren Zeitpunkt. So zeigen die in dieser Studie erhobenen Daten eine schwache Korrelation zwischen dem bei Entlassung des Patienten erhobenen NIHSS-Wert und der NfL-Konzentration im Serum ($\rho = 0,208$, $p = 0,017$). Ebenso bestand ein schwacher Zusammenhang zwischen NIHSS-Wert bei Entlassung und NfL Konzentration im Liquor ($\rho = 0,279$, $p = 0,001$).

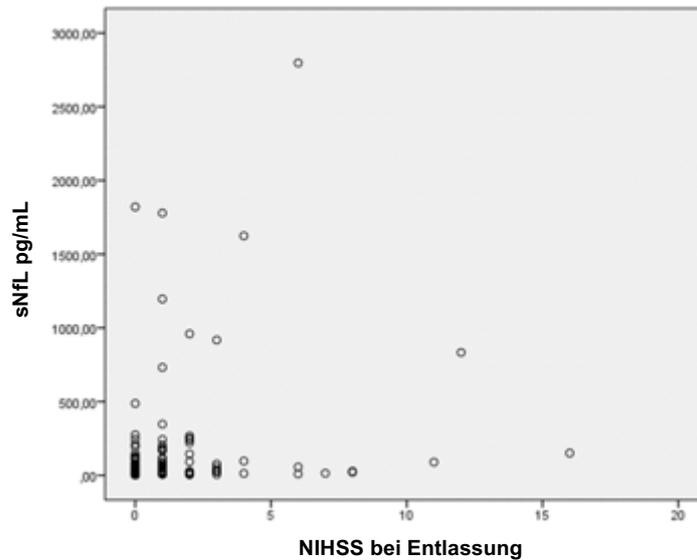


Abbildung 2: Korrelation zwischen NIHSS bei Entlassung und sNfL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse in Form eines Streudiagramms zeigt eine schwache Korrelation zwischen dem erfassten Wert in der NIHS-Skala bei Entlassung des Patienten und der sNfL-Konzentration in pg/mL

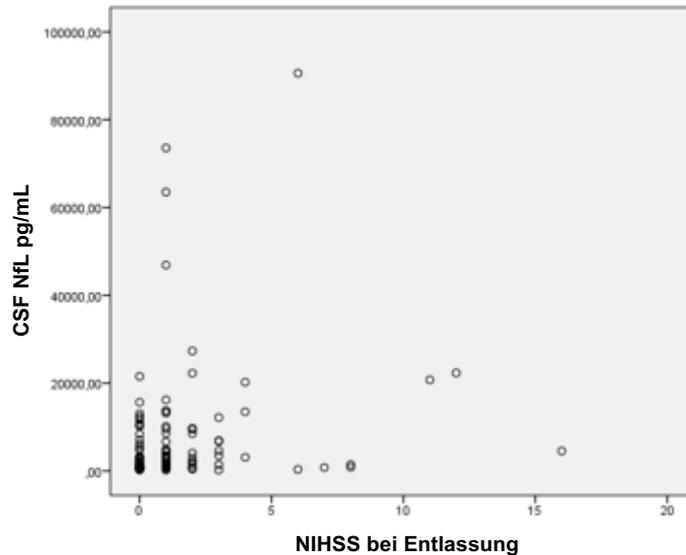


Abbildung 3: Korrelation zwischen NIHSS bei Entlassung und CSF NfL

Das Streudiagramm zeigt eine schwache Korrelation nach Spearman zwischen dem erfassten NIHSS-Wert bei Entlassung des Patienten und der CSF NfL-Konzentration in pg/mL

5.2.3 Volumendaten aus MR- und CT-Bildgebung

Zwischen dem in der MR- und CT-Bildgebung berechneten Volumen und NfL fanden sich sowohl zur Konzentration im Liquor als auch zur Konzentration im Serum eine schwach bis moderate, signifikante Korrelation der Parameter. Der Spearman-Korrelationskoeffizient der Korrelation zwischen sNfL (Korrelation sNfL /Volumen: $\rho = 0,433$, $p < 0,001$; Korrelation CSF NfL/Volumen: $\rho = 0,316$, $p < 0,001$).

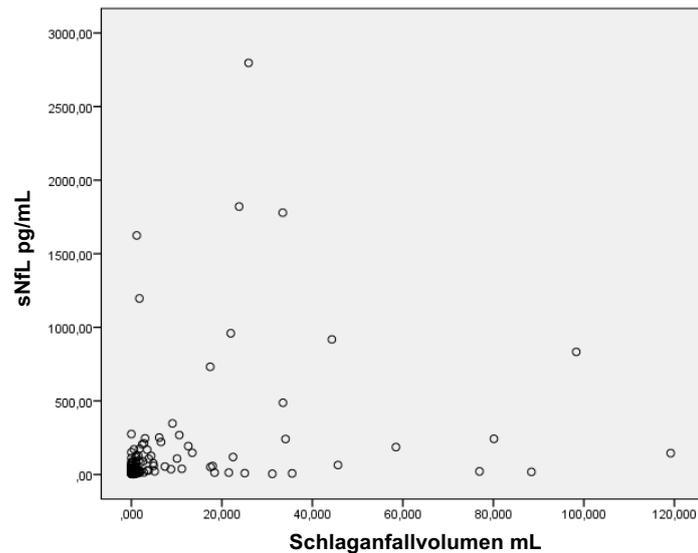


Abbildung 4: Korrelation zwischen Schlaganfallvolumen und sNfL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse zeigt eine mäßige positive Korrelation zwischen der sNfL-Konzentration in pg/mL und dem Schlaganfallvolumen im mL.

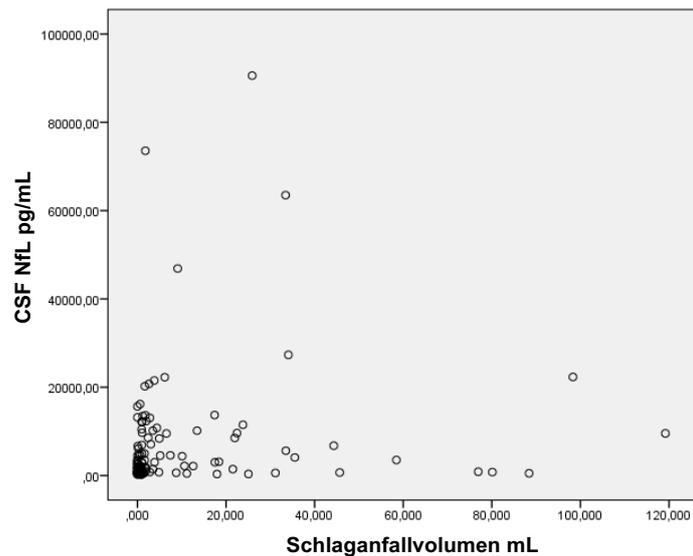


Abbildung 5: Korrelation zwischen Schlaganfallvolumen und CSF NfL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse zeigt eine schwach positive Korrelation zwischen der CSF NfL-Konzentration in pg/mL und dem Schlaganfallvolumen im mL.

Weiterhin wurde die Korrelation zwischen dem aus Datensätzen der bildgebenden Untersuchungen berechneten Schlaganfallvolumen und klinischen Parametern untersucht. Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem berechneten Schlaganfallvolumen und der Punktzahl in der NIHSS bei Aufnahme festgestellt.

Zwischen berechnetem Schlaganfallvolumen und NIHSS bei Entlassung bestand in der untersuchten Kohorte eine schwache, signifikante Korrelation ($\rho = 0,217$, $p = 0,031$).

Es zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen dem in der Bildgebung gemessenen Volumen und der Leukozytenzahl im Liquor.

Zwischen der Zeitspanne vom Auftreten der ersten Symptome des AIS bis zur Bildgebung und dem aus den in den Untersuchungen generierten Daten berechneten Volumen des Schlaganfalls bestand kein signifikanter linearer Zusammenhang.

5.2.4 Liquorparameter

Im Einklang mit den Ergebnissen früherer Studien (44, 54) zeigen auch die in der vorliegenden Studie erhobenen Daten eine signifikante, starke Korrelation zwischen Konzentrationen von NfL im Serum und im Liquor ($\rho = 0,801$, $p < 0,001$).

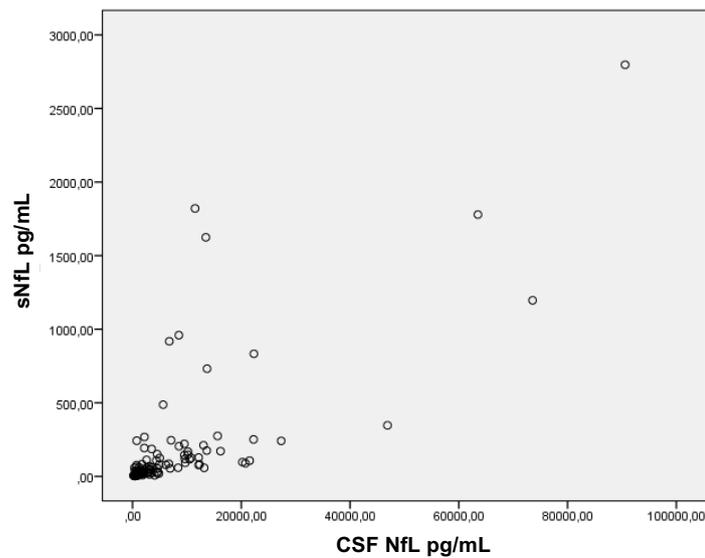


Abbildung 6: Korrelation zwischen CSF NfL und sNfL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse in Form eines Streudiagramms zeigt eine starke Korrelation zwischen CSF NfL-Konzentration in pg/mL und sNfL-Konzentration in pg/mL.

Zwischen der Konzentration von sNfL und Parametern der akuten Entzündung bestand ein schwacher Zusammenhang. Patienten mit höheren Leukozytenzahlen im Liquor hatten auch eine höhere Konzentration von sNfL ($\rho = 0,214$, $p = 0,015$) und CSF NfL ($\rho = 0,179$ mit $p = 0,041$)

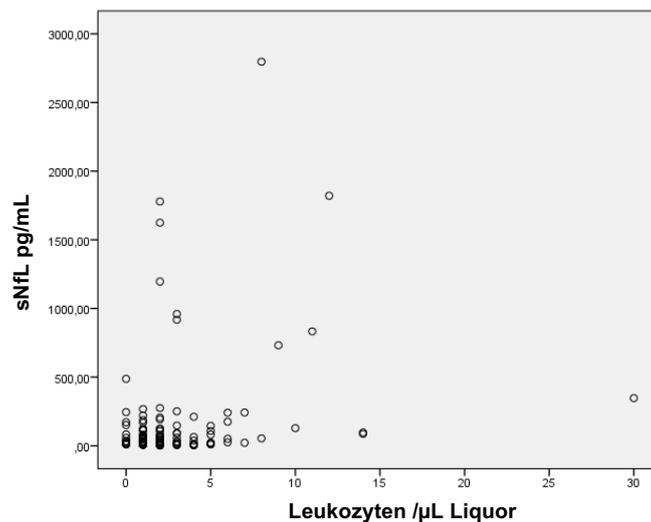


Abbildung 7: Korrelation zwischen Leukozyten im Liquor und sNfL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse zeigt eine schwache Korrelation zwischen Leukozytenzahl / μL Liquor und sNfL-Konzentration in pg/mL.

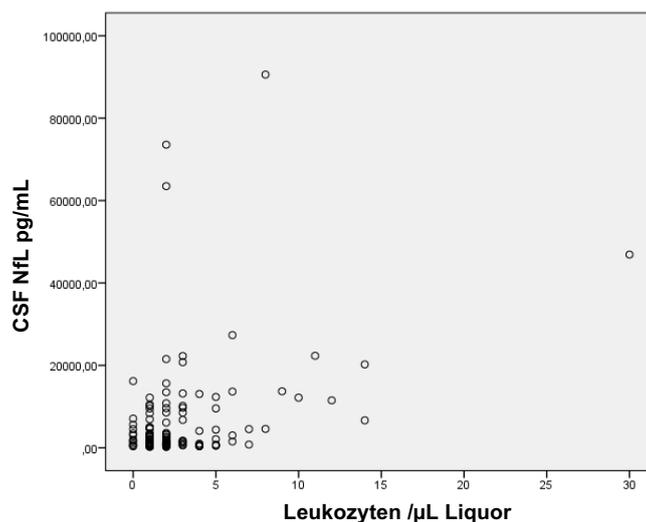


Abbildung 8: Korrelation zwischen Leukozyten im Liquor und CSF NfL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse zeigt eine schwache Korrelation zwischen Leukozytenzahl / μL Liquor und der CSF NfL-Konzentration in pg/mL.

Auch zwischen anderen Liquorparametern wie den QIg und QAlb bestand nur eine schwache Korrelation mit der sNfL-Konzentration.

Eine stärkere, moderate Korrelation bestand zwischen sNfL-Konzentration und Länge des Zeitraums zwischen AIS und diagnostischer Lumbalpunktion zur CSF-Konzentrationsbestimmung, in deren Rahmen auch die Blutentnahme zur sNfL-Konzentrationsbestimmung stattfand. Umso später die Lumbalpunktion durchgeführt wurde, umso höher war die NfL-Konzentration sowohl im Serum ($\rho = 0,506$, $p < 0,001$), als auch im parallel dazu untersuchten Liquor ($\rho = 0,416$, $p < 0,001$).

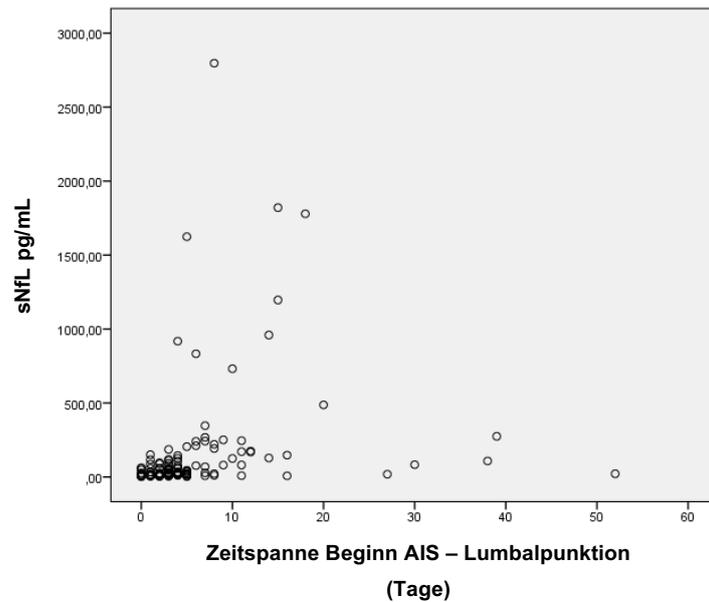


Abbildung 9: Korrelation zwischen Zeitspanne vom Beginn des AIS bis zur Lumbalpunktion und sNFL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse in Form eines Streudiagramms zeigt eine moderate Korrelation zwischen der Zeitspanne von Beginn des AIS bis zur Lumbalpunktion und Blutentnahme zur Bestimmung der sNFL-Konzentration in Tagen und der sNFL-Konzentration in pg/mL.

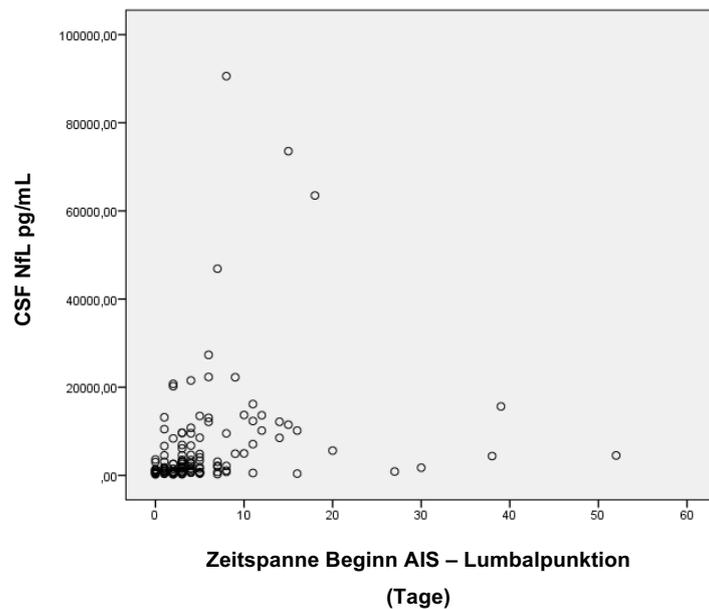


Abbildung 10: Korrelation zwischen Zeitspanne vom Beginn des AIS bis zur Lumbalpunktion und CSF NFL

Die graphische Darstellung der Spearman-Korrelationsanalyse in Form eines Streudiagramms zeigt eine moderate Korrelation zwischen der Zeitspanne von Beginn des AIS bis zur Lumbalpunktion zur Bestimmung des CSF-NfL in Tagen und der CSF NFL-Konzentration in pg/mL.

5.3 Regressionsanalyse

In der statistischen Auswertung mittels multipler Regressionsanalyse zeigte sich, dass das Schlaganfallvolumen in der Bildgebung und die Zeit zwischen AIS und diagnostischer Blutabnahme die besten Prädiktoren für die sNfL-Konzentration sind, da die Ergebnisse mit einem Signifikanzniveau $< 0,05$ statistisch aussagekräftig sind. Genauer bedeutet eine Zunahme des Läsionsvolumens in der Bildgebung um einen mL eine absolute Konzentrationszunahme von sNfL um 5,692 pg/mL. Mit jedem weiteren Tag zwischen AIS und Blutentnahme steigt die Konzentration von sNfL um 9,547 pg/mL.

Um die Konzentration von CSF NfL vorhersagen zu können, eignet sich am besten die Betrachtung der Leukozyten im Liquor und der zeitliche Abstand zwischen AIS und diagnostischer Lumbalpunktion. Jede Zunahme der Anzahl von Leukozyten im Liquor um eine Zelle führt zu einer absoluten Erhöhung der CSF NfL-Konzentration um 1103,631 pg/mL. Die Verlängerung des zeitlichen Abstands zwischen AIS und Lumbalpunktion um einen Tag führt zu einer absoluten Konzentrationserhöhung von CSF NfL um 290,351 pg/mL.

Betrachtet man den standardisierten Regressionskoeffizienten, β fällt auf, dass die unabhängige Variable Zeit zwischen AIS und Blutentnahme bzw. Lumbalpunktion eine ähnlich starke Auswirkung auf die Konzentration von sNfL als auch CSF NfL ausübt ($\beta = 0,190$ sNfL, $\beta = 0,176$ CSF NfL). Insgesamt beeinflussen die statistisch signifikanten Prädiktoren die Konzentrationen von NfL in Serum oder Liquor alle in einem ähnlichen Maße mit standardisierten Koeffizienten β zwischen 0,176 und 0,309.

Tabelle 10: Ergebnisse der Regressionsanalyse, abhängige Variable Konzentration sNfL

Parameter	Regressionskoeffizient	Standardisierter	p -Wert
		Regressionskoeffizient β	
(Konstante)	-89,878	-	0,529
Zeitspanne AIS und Blutentnahme	9,547	0,190	0,030
Schlaganfallvolumen	5,692	0,261	0,003

Tabelle 11: Ergebnisse der Regressionsanalyse, abhängige Variable Konzentration CSF NFL

Parameter	Regressionskoeffizient	Standardisierter	<i>p</i> -Wert
		Regressionskoeffizient <i>β</i>	
(Konstante)	895,475	-	0,848
Zeitspanne AIS und Lumbalpunktion	290,351	0,176	0,043
Leukozytenzahl	1103,631	0,309	0,003

6 Diskussion

Zu den Herausforderungen in der Diagnostik, Therapie und Prävention von Schlaganfällen gehört es unter anderem, das Ausmaß der neuronalen Schädigung nach AIS zu quantifizieren, potenziell zu rettendes Gewebe frühzeitig zu erkennen und einen Re-Infarkt durch Erkennen und Behandeln der zugrundeliegenden Risikofaktoren zu verhindern. Bis dato werden die hierfür benötigten Informationen vor allem durch die Erhebung von Daten mithilfe der in den vorherigen Kapiteln aufgezeigten Parametern wie der Punktzahl in klinischen Skalen, durch die Durchführung bildgebender Untersuchungen und mithilfe der Liquordiagnostik gewonnen. Seit einigen Jahren verspricht man sich zudem weitere Informationen über das Ausmaß der vom AIS verursachten Schädigung und über die Prognose des Patienten durch die Konzentrationsbestimmung leicht zugänglicher Biomarker wie sNfL.

Die vorliegende Studie hatte das Ziel, Korrelationen zwischen den einzelnen erhobenen Parametern zu untersuchen und gegenseitige Einflüsse aufzudecken, um somit die Aussagekraft von sNfL als Marker für neuronalen Zelluntergang beim AIS zu analysieren.

Zur Beurteilung der akut aufgetretenen Schädigung während und unmittelbar nach AIS wurde in der vorliegenden Studie eine Volumenmessung der in der Bildgebung sichtbaren Läsion, als annäherndes Äquivalent für die akute Schädigung des Hirnparenchyms durch den neuronalen Zelluntergang, vorgenommen. Mittels Spearman-Korrelationsanalyse wurde nach einem Zusammenhang zwischen gemessenem Volumen und sNfL-Konzentration gesucht.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie fügen sich dabei sehr gut in die Ergebnisse früherer Studien ein. Wie bei Pujol-Calderón *et al.*, Tiedt *et al.* und Gattringer *et al.* bestand auch in der Kohorte dieser Studie ein signifikanter Zusammenhang zwischen im MRT-Bild gemessenem Schlaganfallvolumen und der sNfL-Konzentration (12, 44, 53). Mittels multipler Regressionsanalyse konnte gezeigt werden, dass das Volumen des Schlaganfalls ein Prädiktor für die sNfL-Konzentration ist. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass die sNfL-Konzentration das Ausmaß der akut nach AIS auftretenden neuronalen Schädigung abbildet, welches bisher nur in der Bildgebung quantifiziert werden konnte.

Nicht alle bisher durchgeführten Studien konnten einen Zusammenhang zwischen akuter neuronaler Schädigung, quantifiziert anhand der Läsionsgröße und dem Läsionsvolumen in der Bildgebung, und der sNfL-Konzentration feststellen. Uphaus *et al.* und De Marchis *et al.* fanden keinen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern (45, 52). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie liefern eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz.

Wie von Uphaus *et al.* vermutet (45) und in den Studien von Gattringer *et al.* (53) und Tiedt *et al.* bestätigt (12), spielt der Faktor Zeit zwischen Auftreten der ersten Symptome und Analyse des Patientenserums eine wichtige Rolle. Uphaus *et al.*, die in ihrer Studie keinen

Zusammenhang feststellen konnten, stellten die Hypothese auf, dass eine Blutentnahme 24 h nach ersten Symptomen eines AIS noch zu früh sei, da Tiedt *et al.* nach longitudinaler sNfL-Konzentrationsmessung einen Gipfel der sNfL-Konzentration am siebten Tag post-AIS feststellten, an dem ihre Daten auch eine starke Korrelation zwischen sNfL-Konzentration und Infarktvolume zeigten (12). In der hier vorliegenden Studie konnte bei einem medianen Zeitraum von 4 Tagen, und somit zu einem späteren Zeitpunkt als bei Uphaus *et al.*, zwischen Auftreten der ersten Symptome und Blutentnahme zur sNfL-Konzentrationsbestimmung, zunächst eine moderate Korrelation zwischen sNfL-Konzentration und Dauer der Zeitspanne vom Auftreten der ersten Symptome des AIS und Analyse der Blutproben festgestellt werden.

Mithilfe multipler Regressionsanalyse zeigte sich, dass die Dauer eben jener Zeitspanne einen ähnlich großen Effekt auf die sNfL-Konzentration hat, wie das sich in der Bildgebung abzeichnende Volumen der geschädigten Hirnsubstanz. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie bestätigen die aufgestellte Hypothese, dass nicht der absolute Wert der sNfL-Konzentration ein aussagekräftiger Marker der neuronalen Schädigung nach AIS ist, sondern dessen Aussagekraft wesentlich vom Zeitpunkt der Konzentrationsbestimmung im Patientenserum abhängt. Es lässt sich die Hypothese aufstellen, dass eine wiederholte Messung der sNfL-Konzentration zu mehreren, späteren Zeitpunkten zu einer stärkeren Korrelation der beiden Parameter geführt hätte. Der Zeitpunkt der Blutentnahme ist demnach spät zu wählen, wobei weitere Studien mit großen Kohorten und sequentiellen Blutentnahmen zur Konzentrationsbestimmung durchzuführen sind, um den optimalen Analysezeitpunkt festzustellen. Der Faktor Zeit zwischen Erstsymptomen und Konzentrationsbestimmung ist demnach besonders zu beachten, sollte in den nächsten Jahren die sNfL-Konzentration zur Quantifizierung der neuronalen Schädigung nach AIS herangezogen werden.

Neben den beschriebenen radiologischen Parametern zur Einschätzung der akuten Schädigung des ZNS des Patienten werden auch gut etablierte und mittels Anamnese und körperlicher Untersuchung erhebbare klinische Scores verwendet, um erste Informationen über den Zustand des Patienten zu gewinnen. Zu ihnen zählt der NIHSS zur Ersteinschätzung des Ausmaßes des AIS.

Die vorliegende Studie konnte im Einklang mit anderen Studien einen Zusammenhang zwischen NfL-Konzentration in Serum und NIHSS bei Entlassung, jedoch nicht bei Aufnahme des Patienten feststellen. Die Hypothese, dass die bei Aufnahme des Patienten ins Krankenhaus gemessene sNfL-Konzentration mit der erhobenen Punktzahl in der NIHSS korreliert und damit eine zuverlässige, frühe Einschätzung der Schwere des Schlaganfalls anhand von Laborparametern ermöglicht, bestätigte sich nicht.

Die Erklärung hierzu ergibt sich aus der bereits zur Korrelation zwischen sNfL-Konzentration und Volumen in der Bildgebung diskutierten Beeinflussung der sNfL-Konzentration durch den

Abnahmezeitpunkt und durch die Pathophysiologie des Schlaganfalls. Wie bereits erläutert, dauert es einige Tage, bis die Konzentration von NfL im peripheren Blut ansteigt und das Ausmaß an neuronaler Schädigung nach AIS widerspiegeln kann. Dementsprechend ist der NIHSS der sNfL-Konzentration bei der Einschätzung des akuten klinischen Zustands des Patienten überlegen. Es wäre jedoch denkbar, den sNfL-Spiegel bei Entlassung des Patienten zu messen, um einerseits vorher erhobene Parameter zu validieren und zusätzlich eine Tendenz feststellen zu können, da die Ergebnisse dieser Studie eine signifikante Korrelation zwischen der sNfL-Konzentration und dem NIHSS bei Entlassung zeigen konnten. Dies verdeutlicht, dass hohe sNfL-Konzentrationen ein schlechteres Langzeit-Outcome für den Patienten erwarten lassen. Dies ist insoweit von Bedeutung, als das sich bereits zu einem frühen Zeitpunkt von wenigen Tagen nach dem ischämischen Insult das klinische Outcome des Patienten zu einem viel späteren Zeitpunkt vermuten lässt. Es ist jedoch nicht klar, wie lang und wie steil die NfL-Konzentration nach einem AIS ansteigt und inwieweit der Anstieg zusätzlich von sekundär ablaufenden Entzündungsreaktionen beeinflusst wird. Longitudinale Studien mit präzisiertem Follow-up zu diesem Thema wären nötig. Dann wäre es vielleicht möglich, mithilfe eines am Entlassungstag des Patienten erhobenen sNfL-Spiegel Prognosen zum noch andauernden Fortschreiten der neuronalen Schädigung zu stellen. Dies könnte stark betroffene Patienten mit dem Risiko eines Reinfarkts, auch nach TIA, von stabil therapierten Patienten unterscheidbar machen.

Da beim AIS die Therapie schnellstmöglich begonnen werden muss, ist die sNfL-Konzentration zum Zeitpunkt der Erstsymptome aufgrund der zeitabhängigen Korrelation kein Marker, der zur akuten Therapieentscheidung herangezogen werden kann. Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass sie eher eingesetzt werden könnte, um langfristig von einem Reinfarkt gefährdete Patienten besser zu erkennen und deren Rehabilitation oder Langzeittherapie zu überwachen. Dies ist darin begründet, dass die sNfL-Konzentration das Ausmaß an neuronaler Schädigung nach AIS und deren Veränderung im Verlauf auch noch Tage und vermutlich Wochen nach dem Ereignis zuverlässig abbildet.

Für die Prognose des Patienten spielen neben dem Ausmaß der akuten Schädigung, die parallel stattfindenden und über die akute Ischämie hinaus andauernden Entzündungsprozesse eine wichtige Rolle. Diese können weitere Neurone im betroffenen Areal schädigen oder neuroprotektiv wirken (24). Um sich Entzündungsprozesse im Gehirn anzuschauen, eignet sich im Besonderen die Analyse des Liquors, der durch seine enge Lagebeziehung zum Gehirngewebe dort stattfindende Krankheitsprozesse am besten abbildet. In der vorliegenden Studie wurde die Korrelation zwischen sNfL und Liquormarkern der akuten und chronischen Entzündung des ZNS untersucht, um eine mögliche gegenseitige Beeinflussung aufzudecken.

Zwischen der Leukozytenzahl im Liquor und der Konzentration von sNfL und CSF NfL bestand dabei eine schwache Korrelation. Damit stimmen unsere Ergebnisse mit denen der Studie von Engel *et al.* von 2020 überein. Auch dort bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen sNfL-Konzentration und Leukozytenzahl im Liquor (62). De Marchis *et al.* haben in ihrer Studie jedoch keinen Zusammenhang zwischen sNfL-Konzentration und Leukozytenzahl bei Patienten mit AIS oder TIA festgestellt (52), ebenso wie Pawlitzki *et al.* und Kuhle *et al.* keinen Zusammenhang der Parameter bei chronischen Verlaufsformen der MS feststellen konnten (63, 64).

Es lassen sich zwei Hypothesen als Erklärung für die Ergebnisse der Korrelationsanalyse der vorliegenden Studie aufstellen. Einerseits ist einer der Pathomechanismen des ischämischen Schlaganfalls die durch ins geschädigte Areal einwandernde Leukozyten getriggerte Entzündungsreaktion. Die von den Immunzellen freigesetzten Entzündungsmediatoren können Neurone schädigen (24), was die gesteigerte Freisetzung von NfL in Liquor und Serum als Reaktion auf die Entzündung erklären könnte. Alternativ könnte es sich um eine Scheinkorrelation bedingt durch andere Grunderkrankungen im untersuchten Patientenkollektiv handeln. Die Lumbalpunktion wurde ursprünglich nicht zum Zwecke der NfL-Konzentrationsbestimmung vorgenommen, sondern um wichtige Differentialdiagnosen des AIS auszuschließen. Viele dieser Differentialdiagnosen gehen mit aktiven Entzündungsprozessen im ZNS einher. So bekamen vier der in die Kohorte dieser Studie eingeschlossenen Patienten die Diagnose Vaskulitis gestellt. Der Zusammenhang zwischen NfL und Leukozytenzahl könnte demnach eher durch entzündliche Begleiterkrankungen bedingt sein als durch die Ischämie selbst.

Nach multipler Regressionsanalyse zeigte sich, dass die Leukozytenzahl im Liquor ein unabhängiger Prädiktor für die CSF NfL-Konzentration ist. Dies steht im Einklang mit dem Ergebnis vieler Studien, dass bei akut entzündlichen Prozessen im Gehirn Neurone geschädigt werden und demnach vermehrt NfL freigesetzt wird (9, 56, 62, 64).

Der Wert des QAlb ist ein Marker für das Ausmaß der BHS-Störung (39). In der vorliegenden Studie zeigt sich ein schwacher Zusammenhang zwischen sNfL-Konzentration und QAlb. Die Ergebnisse sind demnach im Einklang mit früheren Publikationen, die gezeigt haben, dass ein erhöhter QAlb-Wert mit einer Erhöhung der sNfL-Konzentration zusammenhängt (54-58, 77). Die stärkere Korrelation in Studien, die sich mit dem Zusammenhang der Parameter bei HIV-Patienten oder Patienten im akuten MS-Schub beschäftigt haben, könnte mit dem erhöhten QAlb-Wert in deren Patientenkollektiv zusammenhängen. HIV-assoziierte Demenzen gehen mit einem massiven Zelluntergang der BHS einher (58) und Puthenparampil *et al.* haben in ihrer Studie mit MS-Patienten ausschließlich diejenigen mit außergewöhnlich hohem QAlb-Wert untersucht (56). In der hier untersuchten Kohorte war der mittlere QAlb-Wert im

Normbereich und lediglich einige Ausreißer deutlich erhöht. Es scheint ein positiver Zusammenhang zu bestehen, die Stärke des Zusammenhangs aber wesentlich vom Ausmaß der BHS-Störung bestimmt zu sein. Es ist fraglich, inwieweit die aus der Korrelationsanalyse nach Spearman gewonnenen Informationen zu werten sind, da sie keine Kausalitäten anzeigt und lediglich die Beziehung von zwei Parametern ohne Beachtung von möglichen Störfaktoren untersuchen. Der in diese Studie gefundene Zusammenhang müsste im Gesamtkollektiv der Schlaganfallpatienten weiter untersucht werden.

Während erhöhte Leukozytenzahlen im Liquor und erhöhte QAlb-Werte auf eine akute Entzündung und Schädigung im Gehirn hinweisen, dient die Bestimmung von Immunglobulinquotienten der Quantifizierung chronischer Entzündungsprozesse (41).

Zwischen den Immunglobulinquotienten der Immunglobuline A und G und der Serumkonzentration von sNfL fand sich in der untersuchten Kohorte eine schwache Korrelation. Damit fügen sich die Ergebnisse gut in die Datenlage von Studien zur Korrelation zwischen intrathekalen Immunglobulinsynthese und sNfL-Konzentration bei MS-Patienten ein. Auch in diesen Studien bestand ein linearer Zusammenhang der Parameter (54, 62). Es ist daher anzunehmen, dass sNfL nicht nur ein Marker der akuten neuronalen Schädigung ist, sondern auch chronisch neuronale Schädigung durch entzündliche Prozesse im ZNS anzeigt.

Um eine mögliche Scheinkorrelation der Werte auszuschließen, wurde in der vorliegenden Studie die Korrelation zwischen sNfL und CSF NfL und dem Alter der Patienten untersucht und als Parameter in die multiple Regressionsanalyse eingeschlossen.

Wie bereits in der Ergebnisvorstellung beschrieben, zeigte sich zwischen dem Alter der Patienten und der sNfL und CSF NfL Konzentration eine schwache Korrelation. Studien zur Assoziation zwischen Alter und sNfL-Konzentration sind sich uneins über die Gründe für diesen Zusammenhang. Die sNfL-Konzentration scheint mit jedem Lebensjahr um wenige Prozentpunkte anzusteigen (9, 10), wobei der Anstieg ab einem Alter von 60 Jahren deutlich steiler wird (75). Nach multipler Regressionsanalyse stellte sich heraus, dass die sNfL-Konzentration, in der vorliegenden Studie untersuchten Kohorte nicht signifikant über das Alter des Patienten vorhergesagt werden kann. Es besteht zwar ein Zusammenhang, der Einfluss des Alters auf die sNfL-Konzentration war allerdings in der untersuchten Kohorte nicht signifikant.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die sNfL-Konzentration ein aussagekräftiger Marker für die neuronale Schädigung beim Schlaganfall ist. Sowohl zwischen Parametern der akuten als auch der chronischen Schädigung bestehen Korrelationen. Die unterschiedlichen Parameter lassen sich teils über die sNfL-Konzentration vorhersagen. Aufgrund des zeitlich versetzten Anstiegs der sNfL-Konzentration hat sie jedoch eine geringere

Bedeutung in der Akuttherapie des AIS. Dass die NfL-Konzentration nach AIS eine prognostisch bedeutsame Aussagekraft hat, lässt sich jedoch nicht bestreiten. Die sNfL-Konzentration zeigt nicht nur einen deutlichen Zusammenhang mit bisher die Prognose von Patienten nach AIS bestimmenden Parametern, sondern auch der festgestellte Zusammenhang mit etablierten klinischen Skalen untermauert die Bedeutung einer hohen sNfL-Konzentration für das weitere Überleben des Patienten. Weitere Studien mit einer größeren Kohorte und einer häufigeren Erhebung der untersuchten Parameter, gegebenenfalls im longitudinalem Studiendesign könnten, auf den Ergebnissen dieser Studie aufbauen und die Bedeutung der sNfL-Konzentration in der Langzeittherapie und Rehabilitation von Patienten mit AIS weitergehend erforschen.

7 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, Zusammenhänge zwischen verschiedenen, in der Diagnostik des AIS verwendeten Markern zu erforschen, die das Ausmaß an neuronaler Schädigung nach AIS abbilden und eine Rolle für die Prognose der betroffenen Patienten spielen. Es wurden deren Auswirkungen auf die sNfL-Konzentration und gegenseitige Wechselwirkungen untersucht. In zahlreichen Studien wurden bereits die Zusammenhänge zwischen sNfL-Konzentration und einzelnen dieser Marker, beispielsweise dem Läsionsvolumen der ischämischen Schädigung im MRT betrachtet. Die vorliegende Studie versuchte jedoch, mögliche Zusammenhänge zwischen allen, das Outcome des Patienten nach Schlaganfall bestimmenden Parametern darzustellen und zu bewerten.

Hierfür wurde anhand von retrospektiv analysierten Liquor- und Serumproben von Patienten mit der Diagnose AIS oder TIA die CSF- und sNfL-Konzentration bestimmt. Zusätzlich wurden die etablierten Marker zur Diagnostik einer akuten und chronischen Entzündung im ZNS, QAlb, Gesamteiweiß, Leukozytenzahl, QIgG, QIgA und QIgM im Liquor erfasst und deren Ausprägung und Konzentration gemessen. Parallel wurde anhand von zerebralen MRT- und CT-Bildern der Patienten mithilfe des Programms MRIcron das Volumen des durch die Ischämie geschädigten Areal quantifiziert. Weiterhin wurde anhand von Daten des Klinikarchivs die bei Aufnahme und Entlassung des Patienten in der Klinik erhobenen Punktzahlen aus klinischen Skalen wie dem NIHSS erfasst.

Mithilfe statistischer Korrelationsanalysen nach Spearman fand eine Untersuchung der gegenseitigen Beziehung der erhobenen Daten statt. Bei statistisch signifikanter Korrelation wurden die korrelierenden Parameter in eine multiple Regressionsanalyse eingeschlossen, um aufzudecken, inwieweit sich die betrachteten Parameter gegenseitig beeinflussen und wie stark die gegenseitige Beeinflussung dabei ist.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Studie, dass sNfL ein guter Marker für das Ausmaß an neuronaler Schädigung infolge eines ischämischen Schlaganfalls sein kann, da es mit etablierten Markern der neuronalen Schädigung bei AIS, wie dem Schlaganfallvolumen in der MRT-Bildgebung, dem NIHSS bei Entlassung und dem QAlb korreliert.

Zusätzlich korreliert die sNfL-Konzentration mit der Leukozytenzahl im Liquor und bildet somit akut entzündliche Geschehen im Liquor ab. Mithilfe der Leukozytenzahl kann die sNfL-Konzentration vorhergesagt werden.

Schließlich ist sNfL ein möglicher Marker, um die durch chronische Entzündung im ZNS bedingte neuroaxonale Schädigung zu quantifizieren, da die Konzentration mit dem Ausmaß der intrathekalen Immunglobulinsynthese zusammenhängt. Durch die starke Korrelation zwischen CSF NfL und sNfL können die gleichen Informationen durch die Analyse einfach

erhebbarer Serumproben gewonnen werden und den Patienten so die tendenziell unangenehme und invasivere Lumbalpunktion erspart werden.

Für sich allein betrachtet liefert die sNfL-Konzentration allerdings wenig spezifische Informationen. Die Konzentration im Serum wird wesentlich von dem Zeitpunkt der Probengewinnung nach Auftreten der ersten Symptome beeinflusst. Die sNfL-Konzentrationsbestimmung eignet sich nicht dazu, Informationen für die Therapie in der Akutsituation zu gewinnen, da die Konzentration im Blut im Verlauf anzusteigen beginnt und erst nach wenigen Tagen mit dem Infarkt volumen im MRT korreliert (44, 45, 53).

Betrachtet man die sNfL-Konzentration als Marker für neuronale Schädigung nicht nur beim AIS, sondern im gesamten Spektrum der neurologischen Krankheiten, ist fraglich, inwieweit die Betrachtung der sNfL-Konzentration allein für die Therapie des einzelnen Patienten im akuten Krankheitsfall neue Erkenntnisse bringen kann. Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass die sNfL-Konzentration von vielen Faktoren beeinflusst wird. Sowohl die Abnahmezeit der Probe nach Symptombeginn als auch andere Biomarker als Repräsentanten für pathologische Vorgänge im ZNS beeinflussen die Freisetzung von NfL.

Es gibt eine stetig wachsende Anzahl von neurologischen Erkrankungen, bei denen die Bestimmung der NfL-Konzentration zur diagnostischen Routine werden könnte. In Zusammenschau mit anderen klinischen und paraklinischen Parametern kann die sNfL-Konzentration dann ergänzende Informationen liefern und somit eine genauere Quantifizierung der bestehenden neuronalen Schädigung, nicht nur nach AIS ermöglichen.

8 Literaturverzeichnis

1. Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, et al. Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2014;383(9913):245-54.
2. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2095-128.
3. Katan M, Luft A. Global Burden of Stroke. *Semin Neurol*. 2018;38(2):208-11.
4. Hennerici M. G. KRea. S1-Leitlinie Diagnostik akuter zerebrovaskulärer Erkrankungen, In: Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Hrsg. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie., 2017 [Available from: www.dgn.org/leitlinien (abgerufen am 22.05.2021)].
5. Heiss WD, Kidwell CS. Imaging for prediction of functional outcome and assessment of recovery in ischemic stroke. *Stroke*. 2014;45(4):1195-201.
6. Muir KW, Buchan A, von Kummer R, Rother J, Baron JC. Imaging of acute stroke. *Lancet Neurol*. 2006;5(9):755-68.
7. Mullins ME, Schaefer PW, Sorensen AG, Halpern EF, Ay H, He J, et al. CT and conventional and diffusion-weighted MR imaging in acute stroke: study in 691 patients at presentation to the emergency department. *Radiology*. 2002;224(2):353-60.
8. Doherty CM, Forbes RB. Diagnostic Lumbar Puncture. *Ulster Med J*. 2014;83(2):93-102.
9. Khalil M, Teunissen CE, Otto M, Piehl F, Sormani MP, Gatteringer T, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(10):577-89.
10. Disanto G, Barro C, Benkert P, Naegelin Y, Schädelin S, Giardiello A, et al. Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2017;81(6):857-70.
11. Duering M, Konieczny MJ, Tiedt S, Baykara E, Tuladhar AM, Leijssen EV, et al. Serum Neurofilament Light Chain Levels Are Related to Small Vessel Disease Burden. *J Stroke*. 2018;20(2):228-38.
12. Tiedt S, Duering M, Barro C, Kaya AG, Boeck J, Bode FJ, et al. Serum neurofilament light: A biomarker of neuroaxonal injury after ischemic stroke. *Neurology*. 2018;91(14):e1338-e47.
13. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors JJ, Culebras A, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2013;44(7):2064-89.
14. Ringleb P, Veltkamp R, Schwab S, Bendszus M, Hacke W. Zerebrale Durchblutungsstörungen: Ischämische Infarkte. In: Hacke W, editor. *Neurologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. p. 179-240.
15. Woodruff TM, Thundyil J, Tang SC, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Mol Neurodegener*. 2011;6(1):11.

16. Jorgensen PL, Hakansson KO, Karlsh SJ. Structure and mechanism of Na,K-ATPase: functional sites and their interactions. *Annu Rev Physiol.* 2003;65:817-49.
17. Clausen MV, Hilbers F, Poulsen H. The Structure and Function of the Na,K-ATPase Isoforms in Health and Disease. *Front Physiol.* 2017;8:371.
18. Futamachi KJ, Mutani R, Prince DA. Potassium activity in rabbit cortex. *Brain Res.* 1974;75(1):5-25.
19. Krnjević K, Morris ME. Extracellular K⁺ activity and slow potential changes in spinal cord and medulla. *Can J Physiol Pharmacol.* 1972;50(12):1214-7.
20. Larsen BR, Stoica A, MacAulay N. Managing Brain Extracellular K⁽⁺⁾ during Neuronal Activity: The Physiological Role of the Na⁽⁺⁾/K⁽⁺⁾-ATPase Subunit Isoforms. *Front Physiol.* 2016;7:141.
21. Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke.* 2009;40(5):e331-9.
22. Mergenthaler P, Dirnagl U, Meisel A. Pathophysiology of stroke: lessons from animal models. *Metab Brain Dis.* 2004;19(3-4):151-67.
23. Xing C, Arai K, Lo EH, Hommel M. Pathophysiologic cascades in ischemic stroke. *Int J Stroke.* 2012;7(5):378-85.
24. Yang C, Hawkins KE, Doré S, Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2019;316(2):C135-c53.
25. Roggendorf W. Kreislaufstörungen des ZNS. In: Klöppel G, Kreipe HH, Remmele W, Paulus W, Schröder JM, editors. *Pathologie: Neuropathologie.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 251-301.
26. Thomalla G, Audebert H, Berger K, Fiebach J, Fiehler J, Kaps M, et al. Bildgebung beim Schlaganfall—eine Übersicht und Empfehlungen des Kompetenznetzes Schlaganfall. *Aktuelle Neurologie.* 2009;36(07):354-67.
27. Kidwell CS, Chalela JA, Saver JL, Starkman S, Hill MD, Demchuk AM, et al. Comparison of MRI and CT for detection of acute intracerebral hemorrhage. *Jama.* 2004;292(15):1823-30.
28. Thomalla G, Schwark C, Sobesky J, Bluhmki E, Fiebach JB, Fiehler J, et al. Outcome and symptomatic bleeding complications of intravenous thrombolysis within 6 hours in MRI-selected stroke patients: comparison of a German multicenter study with the pooled data of ATLANTIS, ECASS, and NINDS tPA trials. *Stroke.* 2006;37(3):852-8.
29. Trenkler J. [Acute ischemic stroke. Diagnostic imaging and interventional options]. *Radiologe.* 2008;48(5):457-73.
30. Chalela JA, Kidwell CS, Nentwich LM, Luby M, Butman JA, Demchuk AM, et al. Magnetic resonance imaging and computed tomography in emergency assessment of patients with suspected acute stroke: a prospective comparison. *Lancet.* 2007;369(9558):293-8.
31. Weishaupt D, Köchli VD, Marincek B. *Wie funktioniert MRI?: eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanzbildgebung:* Springer; 2009.

32. Stüber C, Morawski M, Schäfer A, Labadie C, Wähnert M, Leuze C, et al. Myelin and iron concentration in the human brain: a quantitative study of MRI contrast. *Neuroimage*. 2014;93 Pt 1:95-106.
33. Vu D, González RG, Schaefer PW. Conventional MRI and MR Angiography of Stroke. In: González RG, Hirsch JA, Koroshetz WJ, Lev MH, Schaefer PW, editors. *Acute Ischemic Stroke: Imaging and Intervention*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006. p. 115-37.
34. Allen LM, Hasso AN, Handwerker J, Farid H. Sequence-specific MR imaging findings that are useful in dating ischemic stroke. *Radiographics*. 2012;32(5):1285-97; discussion 97-9.
35. Schaefer PW, Kiruluta A, González RG. Diffusion MR of Acute Stroke. In: González RG, Hirsch JA, Koroshetz WJ, Lev MH, Schaefer PW, editors. *Acute Ischemic Stroke: Imaging and Intervention*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006. p. 139-71.
36. Schaefer PW, Copen WA, González RG. Perfusion MRI of Acute Stroke. In: González RG, Hirsch JA, Koroshetz WJ, Lev MH, Schaefer PW, editors. *Acute Ischemic Stroke: Imaging and Intervention*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006. p. 173-97.
37. Østergaard L. Principles of cerebral perfusion imaging by bolus tracking. *J Magn Reson Imaging*. 2005;22(6):710-7.
38. Astrup J, Siesjö BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke*. 1981;12(6):723-5.
39. Andersson M, Alvarez-Cermeño J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1994;57(8):897-902.
40. Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, Gilhus NE, Giovannoni G, Rauer S, et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *Eur J Neurol*. 2006;13(9):913-22.
41. Bendszus M, Gutschalk A, Lenhard T, Nagel S, Storch-Hagenlocher B, Weiler M, et al. Apparative und laborchemische Diagnostik. In: Hacke W, editor. *Neurologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. p. 119-64.
42. Suzuki S, Kelley RE, Reyes-Iglesias Y, Alfonso VM, Dietrich WD. Cerebrospinal fluid and peripheral white blood cell response to acute cerebral ischemia. *South Med J*. 1995;88(8):819-24.
43. Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *J Leukoc Biol*. 2010;87(5):779-89.
44. Pujol-Calderón F, Portelius E, Zetterberg H, Blennow K, Rosengren LE, Höglund K. Neurofilament changes in serum and cerebrospinal fluid after acute ischemic stroke. *Neurosci Lett*. 2019;698:58-63.
45. Uphaus T, Bittner S, Gröschel S, Steffen F, Muthuraman M, Wasser K, et al. NfL (Neurofilament Light Chain) Levels as a Predictive Marker for Long-Term Outcome After Ischemic Stroke. *Stroke*. 2019;50(11):3077-84.
46. Gendron TF, Badi MK, Heckman MG, Jansen-West KR, Vilanilam GK, Johnson PW, et al. Plasma neurofilament light predicts mortality in patients with stroke. *Sci Transl Med*. 2020;12(569).

47. Pedersen A, Stanne TM, Nilsson S, Klasson S, Rosengren L, Holmegaard L, et al. Circulating neurofilament light in ischemic stroke: temporal profile and outcome prediction. *J Neurol*. 2019;266(11):2796-806.
48. Rissin DM, Walt DR. Digital readout of target binding with attomole detection limits via enzyme amplification in femtoliter arrays. *J Am Chem Soc*. 2006;128(19):6286-7.
49. Rissin DM, Walt DR. Digital concentration readout of single enzyme molecules using femtoliter arrays and Poisson statistics. *Nano Lett*. 2006;6(3):520-3.
50. Chang L, Rissin DM, Fournier DR, Piech T, Patel PP, Wilson DH, et al. Single molecule enzyme-linked immunosorbent assays: theoretical considerations. *J Immunol Methods*. 2012;378(1-2):102-15.
51. Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, Howes SC, Fournier DR, Song L, et al. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol*. 2010;28(6):595-9.
52. De Marchis GM, Katan M, Barro C, Fladt J, Traenka C, Seiffge DJ, et al. Serum neurofilament light chain in patients with acute cerebrovascular events. *Eur J Neurol*. 2018;25(3):562-8.
53. Gattringer T, Pinter D, Enzinger C, Seifert-Held T, Kneihsl M, Fandler S, et al. Serum neurofilament light is sensitive to active cerebral small vessel disease. *Neurology*. 2017;89(20):2108-14.
54. Uher T, McComb M, Galkin S, Srpova B, Oechtering J, Barro C, et al. Neurofilament levels are associated with blood-brain barrier integrity, lymphocyte extravasation, and risk factors following the first demyelinating event in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2021;27(2):220-31.
55. McComb M, Krikheli M, Uher T, Browne RW, Srpova B, Oechtering J, et al. Neuroprotective associations of apolipoproteins A-I and A-II with neurofilament levels in early multiple sclerosis. *J Clin Lipidol*. 2020;14(5):675-84.e2.
56. Puthenparampil M, Tomas-Ojer P, Hornemann T, Lutterotti A, Jelcic I, Ziegler M, et al. Altered CSF Albumin Quotient Links Peripheral Inflammation and Brain Damage in MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2021;8(2).
57. Rahimy E, Li FY, Hagberg L, Fuchs D, Robertson K, Meyerhoff DJ, et al. Blood-Brain Barrier Disruption Is Initiated During Primary HIV Infection and Not Rapidly Altered by Antiretroviral Therapy. *J Infect Dis*. 2017;215(7):1132-40.
58. Anesten B, Yilmaz A, Hagberg L, Zetterberg H, Nilsson S, Brew BJ, et al. Blood-brain barrier integrity, intrathecal immunoactivation, and neuronal injury in HIV. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2016;3(6):e300.
59. Skillbäck T, Delsing L, Synnergren J, Mattsson N, Janelidze S, Nägga K, et al. CSF/serum albumin ratio in dementias: a cross-sectional study on 1861 patients. *Neurobiol Aging*. 2017;59:1-9.
60. Novakova L, Zetterberg H, Sundström P, Axelsson M, Khademi M, Gunnarsson M, et al. Monitoring disease activity in multiple sclerosis using serum neurofilament light protein. *Neurology*. 2017;89(22):2230-7.

61. Kalm M, Boström M, Sandelius Å, Eriksson Y, Ek CJ, Blennow K, et al. Serum concentrations of the axonal injury marker neurofilament light protein are not influenced by blood-brain barrier permeability. *Brain Res.* 2017;1668:12-9.
62. Engel S, Steffen F, Uphaus T, Scholz-Kreisel P, Zipp F, Bittner S, et al. Association of intrathecal pleocytosis and IgG synthesis with axonal damage in early MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020;7(3).
63. Pawlitzki M, Schreiber S, Bittner D, Kreipe J, Leypoldt F, Rupprecht K, et al. CSF Neurofilament Light Chain Levels in Primary Progressive MS: Signs of Axonal Neurodegeneration. *Front Neurol.* 2018;9:1037.
64. Kuhle J, Plattner K, Bestwick JP, Lindberg RL, Ramagopalan SV, Norgren N, et al. A comparative study of CSF neurofilament light and heavy chain protein in MS. *Mult Scler.* 2013;19(12):1597-603.
65. Sellebjerg F, Börnsen L, Ammitzbøll C, Nielsen JE, Vinther-Jensen T, Hjermand LE, et al. Defining active progressive multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2017;23(13):1727-35.
66. Brott T, Adams HP, Jr., Olinger CP, Marler JR, Barsan WG, Biller J, et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke.* 1989;20(7):864-70.
67. Derex L, Nighoghossian N, Hermier M, Adeleine P, Berthezène Y, Philippeau F, et al. Influence of pretreatment MRI parameters on clinical outcome, recanalization and infarct size in 49 stroke patients treated by intravenous tissue plasminogen activator. *J Neurol Sci.* 2004;225(1-2):3-9.
68. Adams HP, Jr., Davis PH, Leira EC, Chang KC, Bendixen BH, Clarke WR, et al. Baseline NIH Stroke Scale score strongly predicts outcome after stroke: A report of the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST). *Neurology.* 1999;53(1):126-31.
69. Ghandehari K. Challenging comparison of stroke scales. *J Res Med Sci.* 2013;18(10):906-10.
70. Excellence NifHa. NICE (2015): Mechanical clot retrieval for treating acute ischaemic stroke. 1-86 [21.05.2021].
71. Kim NY, Lee SC, Shin JC, Park JE, Kim YW. Voxel-based lesion symptom mapping analysis of depressive mood in patients with isolated cerebellar stroke: A pilot study. *Neuroimage Clin.* 2017;13:39-45.
72. Picelli A, Tamburin S, Gajofatto F, Zanette G, Praitano M, Saltuari L, et al. Association between severe upper limb spasticity and brain lesion location in stroke patients. *Biomed Res Int.* 2014;2014:162754.
73. Berlit P. *Klinische Neurologie.* 2011.
74. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences:* Academic press; 2013.
75. Khalil M, Pirpamer L, Hofer E, Voortman MM, Barro C, Leppert D, et al. Serum neurofilament light levels in normal aging and their association with morphologic brain changes. *Nat Commun.* 2020;11(1):812.
76. Benkert P, Meier S, Schaedelin S, Manouchehrinia A, Yaldizli Ö, Maceski A, et al. Serum neurofilament light chain for individual prognostication of disease activity in people with

multiple sclerosis: a retrospective modelling and validation study. *Lancet Neurol.* 2022;21(3):246-57.

77. Skillbäck T, Blennow K, Zetterberg H, Shams S, Machado A, Pereira J, et al. Sex differences in CSF biomarkers for neurodegeneration and blood-brain barrier integrity. *Alzheimers Dement (Amst).* 2021;13(1):e12141.

9 Danksagung

Diese Arbeit hätte nicht ohne die Vorbereitung und Mithilfe der Mitarbeiter der Klinik und Poliklinik für Neurologie an der Universitätsmedizin Mainz fertiggestellt werden können. Ohne Ihre Hilfe, insbesondere durch die Konzentrationsbestimmung der Liquor- und Serumproben wäre dieses Forschungsprojekt nicht umsetzbar gewesen.

Mein herzlicher Dank gilt meinem Betreuer, ohne dessen Ermunterung und Geduld diese Dissertation nicht zustande gekommen und sicherlich nicht fertig geworden wäre. Vielen Dank, dass Sie mich bis zum Ende motiviert und begleitet haben.

Abschließend gilt mein Dank meiner Familie, meinem Partner und meinen Freunden. Danke, dass Ihr mich so unterstützt, unzählige Male korrekturgelesen und meine Launen ausgehalten habt.

10 Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name Anna Maria Regina Römer

Geburtsdatum 01.07.1997

Geburtsort Neustadt an der Weinstraße

Hochschulausbildung

04/17- 05/2023 Studium der Humanmedizin an Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung

03/19, Note: 3,0

Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

04/2022, Note: 3,0

Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

05/2023, Note: 1,0

02/2020 – 04/2020 Auslandssemester an der Poznan University of Medical Sciences in Posen, Polen

10/2015 – 02/2017 Studium der Rechtswissenschaften an der Alexander von Humboldt Universität zu Berlin

Schulbildung

09/2007 – 04/2015 Maria Ward Schule Mainz

Allgemeine Hochschulreife, Note: 1,2

Engagement

04/2019 – heute „Mit Sicherheit Verliebt“
Aktives Mitglied im studentischen Sexualaufklärungsprojekt

2011 - heute Kammermusik und Mitwirken an Projekten des Mainzer Kammerorchesters mit der Querflöte