

Aus der Neurochirurgischen Klinik und Poliklinik  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Systemische Analyse von verschiedenen Fibrinolytika in einem in vitro Modell der  
intrazerebralen Blutung zur Evaluation der optimalen Dosis und Wirkdauer

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

Vorgelegt von

Melanie Döbel  
aus Issoire (Frankreich)

Mainz, 2021

Tag der Promotion:

07. Dezember 2021

Ein besonderer Dank gilt den Blutspendern

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>I</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>III</b>
<b>Bildverzeichnis .....</b>	<b>V</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Literaturdiskussion .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Intrazerebrale Blutung.....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Epidemiologie .....	3
2.1.2 Ätiologie .....	3
2.1.3 Risikofaktoren .....	5
2.1.4 Pathophysiologie.....	6
2.1.4.1 Blutungsentstehung und -stillstand .....	6
2.1.4.2 Gewebeschädigung und Ödementwicklung.....	6
2.1.5 Klinik .....	7
2.1.6 Diagnostik .....	8
2.1.7 Prognose.....	9
2.1.8 Therapieoptionen.....	10
2.1.8.1 Konservative Therapie .....	10
2.1.8.2 Operative Therapie .....	11
<b>2.2 Plasminogenaktivatoren .....</b>	<b>17</b>
2.2.1 rtPA .....	17
2.2.1.1 Eigenschaften .....	17
2.2.1.2 Neurotoxizität .....	18
2.2.2 Urokinase .....	18
2.2.3 Tenecteplase .....	19
<b>2.3 Vorliegendes Modell .....</b>	<b>20</b>
<b>2.4 Vorveröffentlichung.....</b>	<b>20</b>
<b>2.5 Ziel dieser Arbeit.....</b>	<b>21</b>
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Material .....</b>	<b>22</b>
3.1.1 Arzneimittel .....	22
3.1.2 Verbrauchsmaterial.....	22
3.1.3 Hilfsmaterial .....	23
3.1.4 Geräte .....	23
3.1.5 Software.....	24
<b>3.2 Methoden .....</b>	<b>24</b>

3.2.1	Versuchsabfolge .....	24
3.2.1.1	Blutentnahme .....	24
3.2.1.2	Clotherstellung .....	25
3.2.1.3	Wiegen des Clots .....	26
3.2.1.4	Vorbereitung für das In Vitro Modell .....	26
3.2.1.5	Therapie .....	28
3.2.1.6	Drainage .....	29
3.2.1.7	Entnahme und Wiegen des Clots .....	30
3.2.2	Versuchsreihen .....	31
3.2.2.1	Ermittlung der Wirkdauer .....	32
3.2.2.2	Dosisfindung .....	32
3.2.2.3	Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase .....	33
3.2.2.4	Repetitive Behandlungen .....	34
3.2.2.5	24 und 48 Stunden Inkubation .....	34
3.2.2.6	50ml Clots .....	35
3.2.3	Statistische Analyse .....	35
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>37</b>
4.1	<b>Ergebnisse der Versuchsreihen .....</b>	<b>37</b>
4.1.1	Ergebnisse der Versuchsreihe „Ermittlung der Wirkdauer“ .....	37
4.1.2	Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“ .....	38
4.1.3	Ergebnisse der Versuchsreihe „Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase“ .....	40
4.1.4	Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“ .....	41
4.1.5	Ergebnisse der Versuchsreihe „24 und 48 Stunden Inkubation“ .....	42
4.1.6	Ergebnisse der Versuchsreihe „50 ml Clots“ .....	43
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>45</b>
5.1	<b>Zusammenfassung der Hauptergebnisse .....</b>	<b>45</b>
5.2	<b>Diskussion des In vitro Modells der ICB .....</b>	<b>45</b>
5.3	<b>Diskussion der Ergebnisse .....</b>	<b>46</b>
5.3.1	rtPA .....	46
5.3.2	Urokinase .....	47
5.3.3	Tenecteplase .....	49
5.4	<b>Ausblick .....</b>	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>1</b>
8.1	<b>NIHSS .....</b>	<b>1</b>

<b>8.2</b>	<b>GCS</b> .....	<b>3</b>
<b>8.3</b>	<b>mRS</b> .....	<b>3</b>
<b>8.4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>4</b>
8.4.1	Ergebnisse der Versuchsreihe „Ermittlung der Wirkdauer“ .....	4
8.4.2	Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“ .....	5
8.4.3	Ergebnisse der Versuchsreihe „Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase“ .....	7
8.4.4	Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“ .....	7
8.4.5	Ergebnisse der Versuchsreihe „24 und 48 Stunden Inkubation“ .....	9
8.4.6	Ergebnisse der Versuchsreihe „50 ml Clots“ .....	9

## Abkürzungsverzeichnis

ATACH	Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage
C	Celsius
cDNA	complementary DeoxyriboNucleic Acid
CLEAR	Clot Lysis Evaluation of Accelerated Resolution of Intraventricular Hemorrhage
CLOT	Clots in Legs Or sTockings after Stroke
CT	ComputerTomographie
cm	Zentimeter
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation
DNA	DeoxyriboNucleic Acid
DPBS	Dulbecco's Phosphate Buffered Saline
ENRICH	Early MiNimally-invasive Removal of IntraCerebral Hemorrhage
ESC	European Society of Cardiology
EVD	Externe VentrikelDrainage
GCS	Glasgow Coma Score/ Glasgow Coma Scale
HWZ	HalbWertsZeit
ICB	Intrazerebrale Blutung
ICH-Score	IntraCerebral Hemorrhage-Score
ICP	IntraCranial Pressure
I.E.	Internationale Einheiten
INTERACT	INTensive blood pressure Reduction in Acute Cerebral haemorrhage Trial
INVEST	Minimally INVasive Endoscopic Surgical Treatment With Apollo/Artemis in Patients With Brain Hemorrhage
i.v.	intravenös
IVH	IntraVentricular Hemorrhage
m	Meter
mg	Milligramm
Min.	Minuten
MIND	Artemis in the Removal of Intracerebral Hemorrhage

MISTIE	Minimally Invasive Surgery with Thrombolysis in Intracerebral hemorrhage Evacuation
ml	Milliliter
MMP	Matrix-MetalloProteinase
MR-Angiographie	MagnetResonanz-Angiographie
mRS	modified Rankin Scale
MRT	MagnetResonanz Tomographie
NaCl	Natrium-Chlorid
NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren
NOR-TEST	
µl	Mikroliter
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1
PPSB	Prothrombinkomplex-Konzentrat/ Prothrombin, Proconvertin, Stuart-Prower-Faktor, Antihämophiles Globulin B
rFVIIa	recombinant Factor VIIa
rtPA	rekombinanter gewebeständiger Plasminogenaktivator
St.	Stunden
STICH	Surgical Trial in Intracerebral Hemorrhage
SWITCH	SWISS Trial of decompressive Craniectomy versus best medical treatment of spontaneous intracerebral Hemorrhage
t-PA	tissue-type PlasminogenAactivator
u-PA	urokinase-type Plasminogen Activator



## Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Klassifikation der intrazerebralen Blutung	5
Tab. 2: Risikofaktoren ICB	5
Tab. 3: ICH-Score	9
Tab. 4: Parameter	31
Tab. 5: Dosis und Wirkdauer von Tenecteplase und Urokinase-Ermittlung der Wirkdauer	32
Tab. 6: Dosis und Wirkdauer von Tenecteplase und Urokinase-Dosisfindung	33
Tab. 7: Parameter der repetitiven Versuche	34
Tab. 8: Inkubation von 24 oder 48 Stunden	35
Tab. 9: Übersicht der 50 ml Clots	35
Tab. 10: Ergebnisse der Ermittlung der Wirkdauer – Tenecteplase	37
Tab. 11: Ergebnisse der Ermittlung der Wirkdauer – Urokinase	37
Tab. 12: Ergebnisse Dosisfindung – Tenecteplase	39
Tab. 13: Ergebnisse Dosisfindung – Urokinase	39
Tab. 14: Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase	40
Tab. 15: Ergebnisse von Tenecteplase und Urokinase nach 1-3 Behandlungszyklen	42
Tab. 16: Ergebnisse der 90 Minuten, der 24 und 48 Stunden inkubierten Clots	43
Tab. 17: Ergebnisse der 50 ml Clots	43
Tab. 18: NIHSS	59
Tab. 19: GCS	60
Tab. 20: mRS	61
Tab. 21 Ergebnisse der Versuchsreihe „Ermittlung der Wirkdauer“	62
Tab. 22: Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“-Tenecteplase	63
Tab. 23: Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“-Urokinase	64
Tab. 24: Ergebnisse der Versuchsreihe „Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase	64
Tab. 25: Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“-Tenecteplase	65
Tab. 26: Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“-Urokinase	65

Tab. 27: Ergebnisse der Versuchsreihe „24 und 28 Stunden Inkubation“	9
Tab. 28: Ergebnisse der Versuchsreihe „50ml Clots“	10

## **Bildverzeichnis**

Abb. 1: Clotherstellung; eigene Darstellung	26
Abb. 2: Wiegen und Einbringen des Katheters; eigene Darstellung	27
Abb. 3: Applikation des Medikaments oder der 0.9% NaCl-Lösung; eigene Darstellung	28
Abb. 4: Drainage; eigene Darstellung	30
Abb. 5: Wiegen des Clots nach der Therapie; eigene Darstellung	31
Abb. 6: Ergebnisse der Ermittlung der Wirkdauer - Tenecteplase und Urokinase	38
Abb. 7: Dosis-Wirkbeziehung von Tenecteplase	39
Abb. 8: Dosis-Wirkbeziehung von Urokinase	40
Abb. 9: Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase	41
Abb. 10: Ergebnisse der repetitiven Behandlungen	42
Abb. 11: Ergebnisse der 90 Minuten, der 24 und 48 Stunden inkubierten	43
Abb. 12: Ergebnisse 50 ml Clots	44

## 1 Einleitung

Intrazerebrale Blutungen (ICB) machen 10-15 % der Schlaganfälle aus (1-3). Die Mortalität und Morbidität der ICB ist besonders hoch (4). Die Sterblichkeitsrate nach einem Monat beträgt ca. 40% und steigt nach einem Jahr auf ca. 54% an (5).

Aufgrund dieser sehr schlechten Prognose hat die Optimierung der Behandlung von Patienten mit intrazerebraler Blutung Priorität (5).

Trotz der Verbesserung der allgemeinen medizinischen Versorgung, sind Morbidität und Mortalität nach einer ICB besonders hoch. In den letzten Jahren wurde viel Forschung unternommen, die die Sicherheit zahlreicher therapeutischer Ansätze belegt (6). Allerdings konnten die aktuellsten randomisiert kontrollierten Studien zur Therapie der ICB wie die MISTIE III Studie (Minimally Invasive Surgery with Thrombolysis in Intracerebral hemorrhage Evacuation) keine eindeutige Verbesserung der funktionellen Ergebnisse und der Mortalität zeigen (7).

Zur Behandlung der ICB werden konservative und operative Verfahren angewendet. Bei den Therapien hat sich die minimalinvasive Chirurgie mit Katheterplatzierung und Thrombolyse mittels rtPA weit verbreitet. Diesbezüglich konnte die Sicherheit und die Verringerung des Hämatomvolumens nachgewiesen werden (7-9). Einige Studien haben jedoch eine Neurotoxizität von rtPA beschrieben (10-13). So erscheint es sinnvoll eine Optimierung der thrombolytischen Behandlung durch andere Fibrinolytika anzustreben.

Urokinase wurde vor allem in den achtziger und neunziger Jahren bei der Thrombolyse der intrazerebralen Blutung angewendet (14, 15). Urokinase wirkt jedoch weniger spezifisch bei gebundenem Fibrin und ist durch die immer größere Anwendung von rtPA in der Therapie der ICB in den Hintergrund getreten (14, 15). Aktuelle Publikationen haben Urokinase aufgrund der potenziell geringeren Toxizität im Vergleich zu rtPA wieder für die Anwendung bei der thrombolytischen Therapie der intrazerebralen Blutung vorgeschlagen (14, 15).

Tenecteplase ist 15-fach fibrinspezifischer als rtPA, hat ungefähr eine 6-fach längere Plasma-Halbwertszeit (Plasma-HWZ) sowie eine 80-fach höhere Resistenz gegenüber der Hemmung durch den Plasminogenaktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) (16). Durch die längere Plasma-HWZ kann Tenecteplase als Bolus angewendet werden (17). Tenecteplase wird vor allem bei der thrombolytischen Therapie des akuten ST-Streckenhebungs-Herzinfarkt verwendet (17).

Mit dem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten *in vitro* Modell der intrazerebralen Blutung sollten die fibrinolytischen Eigenschaften von Urokinase und Tenecteplase untersucht werden (18). Ziel dieser Arbeit war es die optimale Dosis und Wirkdauer von Urokinase und Tenecteplase herauszufinden sowie die Fibrinolyse von Urokinase, Tenecteplase und rtPA zu vergleichen. Außerdem wurde die Fibrinolyse bei repetitiver Anwendung, bei steigendem Alter und Volumen der Clots untersucht.

## **2 Literaturdiskussion**

### **2.1 Intrazerebrale Blutung**

Eine intrazerebrale Blutung ist eine nicht traumatisch bedingte Einblutung in das Gehirnparenchym und gehört zu den Schlaganfällen (19, 20). Nicht-traumatische ICBs resultieren meist aus einer Ruptur kleiner Blutgefäße im Gehirn (21).

#### **2.1.1 Epidemiologie**

Weltweit nimmt die absolute Zahl an hämorrhagischen Schlaganfällen zu (22). Dies liegt wahrscheinlich am demographischen Wandel mit der steigenden Zahl an älteren Menschen (21). Die ICB tritt in Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen wesentlich häufiger auf als in einkommensstarken Ländern (22). Die Inzidenzen unterscheiden sich weltweit und zwischen den Ethnien erheblich. Die Zahlen sind besonders in Subsahara-Afrika, Südostasien und China erhöht (22). Die Inzidenz bei der europäischen Bevölkerung beträgt ungefähr 20 pro 100000 Einwohner pro Jahr. Männer sind häufiger betroffen als Frauen (1-3). Im Vergleich zum ischämischen Schlaganfall ist die Prognose der intrazerebralen Blutung deutlich schlechter. Die Sterblichkeitsrate nach einem Monat beträgt in etwa 40% und steigt nach einem Jahr auf ca. 54% (5). Die intrazerebrale Blutung tritt in jedem Lebensalter auf, ist jedoch mit steigendem Alter zunehmend. Zwischen den Altersgruppen gibt es ätiologisch einen deutlichen Unterschied: Im höheren Alter ist vor allem ein nicht ausreichend behandelter Bluthochdruck oder eine Amyloidangiopathie für die Großzahl der Blutungen verantwortlich. Bei jungen Patienten sind häufig Gefäßfehlbildungen oder Tumoren schuldtragend (19).

#### **2.1.2 Ätiologie**

Es erfolgt eine Einteilung in spontane und sekundäre intrazerebrale Blutungen (Tab.1). Sekundäre ICBs treten aufgrund einer nachweisbaren Grunderkrankung auf. Bei den spontanen intrazerebralen Blutungen finden sich keine Ursachen. Dabei werden zwei Formen unterschieden: Bei der idiopathischen spontanen ICB gibt es

bis jetzt kein pathophysiologisches Konzept zur Erklärung der Ätiologie. Bei der kryptogenen spontanen intrazerebralen Blutung finden sich nach dem heutigen Kenntnisstand keine Ursachen. Man nimmt aber an, dass ein bestimmter Auslöser vorliegt (19, 23).

## **Sekundäre intrazerebrale Blutungen:**

### ***Arterielle Hypertonie***

#### ***Koagulopathien***

Vitamin-K-Antagonisten

Thrombolytika

hämatologische Erkrankungen (z.B. Hämophilie, Leukämie, DIC)

Leberversagen

#### ***Tumoren***

primär

Metastasen

#### ***Arterielle Erkrankungen***

Erkrankungen der kleinen Gefäße

*Amyloidangiopathie*

*genetisch*

*erworben (z.B. Small Vessel Disease)*

Erkrankungen der großen Gefäße

*zerebrales Aneurysma*

*Moya-Moya*

*Vaskulitis*

*reversibles Vasokonstriktionssyndrom*

*sekundäre hämorrhagische Transformation*

#### ***Venöse Erkrankungen***

Venen-/Sinusthrombose

#### ***Vaskuläre Malformationen***

arteriovenöse Malformation

durale arteriovenöse Fistel

zerebrale kavernöse Malformation

***Intoxikationen*** (z.B. Kokain, Amphetamine, Sympathomimetika)

<b>Spontane intrazerebrale Blutungen:</b>
<i>Idiopathisch</i> <i>Kryptogen</i>

**Tab. 1: Klassifikation der intrazerebralen Blutung (19, 23)**

Die häufigsten Gründe für eine intrazerebrale Blutung sind Bluthochdruck, Amyloidangiopathie, Gefäßfehlbildungen und die Therapie mit Antikoagulantien (19). Die Lage der Blutung kann einen Hinweis auf die Ursache geben. Bei der hypertensiven ICB tritt die Blutung in 42% in der Capsula interna im Bereich der Basalganglien, in 16% im Pons, in 15% im Thalamus und in 12% im Kleinhirn auf (8). Im subkortikalen Marklager treten typischerweise Blutungen auf, die durch zerebrale Amyloidangiopathien hervorgerufen werden (24).

### 2.1.3 Risikofaktoren

Wie bereits erwähnt stellt die Hypertonie einen der größten beeinflussbaren Risikofaktoren dar (25). Weitere Risikofaktoren sind unter anderem übermäßiger Alkoholkonsum, Antikoagulation, hohes Lebensalter, asiatische Herkunft und männliches Geschlecht (Tab.2) (4, 26).

<b>Beeinflussbare Risikofaktoren</b>	<b>Nicht beeinflussbare Risikofaktoren</b>
Hypertonie	Hohes Alter
Übermäßiger Alkoholkonsum	Männliches Geschlecht
Hypocholesterinämie	Ethnische Herkunft (z.B. asiatisch)
Hypotriglyceridämie	Zerebrale Amyloidangiopathie
Antikoagulation	Zerebrale Mikroblutungen
Thrombozytenaggregationshemmung	Chronisches Nierenleiden
Fibrinolytika	
Sympathomimetika (Kokain, Amphetamin und Ephedrin)	

**Tab. 2: Risikofaktoren ICB (4, 25, 26)**



## **2.1.4 Pathophysiologie**

### **2.1.4.1 Blutungsentstehung und -stillstand**

Eine ICB kann durch Krankheiten ausgelöst werden, die zu einer strukturellen Veränderung der Hirngefäße führen. Chronische arterielle Hypertonie führt beispielsweise zu hyaliner Arteriosklerose und zu fibrinoiden Nekrosen in den Gefäßwänden der kleinen Arterien. Diese degenerierten histopathologisch fragilen Gefäßwandstrukturen prädisponieren zu Rupturen, den sogenannten Rhexisblutungen (27).

Durch das Einströmen des arteriellen Blutes werden in der Frühphase umliegende Neuronen und Gliazellen direkt mechanisch geschädigt (2).

Bei mehr als einem Drittel der Patienten kommt es meistens innerhalb der ersten 24 Stunden zur Hämatomexpansion (28). Eine Hypothese für die Hämatomausbreitung ist, dass der verdrängende Effekt der Blutung Scherkräfte hervorruft, die ihrerseits zu einer Ruptur umliegender fragiler Gefäße führt (27).

Vor allem die primäre und sekundäre Hämostase, aber auch der mit der Blutungsgröße ansteigende Gegendruck vom angrenzenden Gewebe sowie teilweise der intrakranielle Druckanstieg sind für den Stillstand der Blutung verantwortlich (20, 21).

### **2.1.4.2 Gewebeschädigung und Ödementwicklung**

Im weiteren Verlauf kommt es zu einer fortschreitenden Schädigung des die Blutung umgebenden Gehirnparenchyms, welche mit einem Begleitödem assoziiert ist (27).

Das Hirnödem vergrößert sich bis ungefähr etwa 14 Tage nach der Blutung und beginnt erst dann langsam an Größe zu verlieren (28). Ein stark zunehmendes Hirnödem und ein großes Hämatom gehen mit einem schlechteren Outcome der Patienten einher (28).

In der Frühphase führt das Ausströmen von Plasmabestandteilen und die Hämostase mit der Entstehung von Fibrin zur osmotischen Ödembildung (27). Außerdem entwickelt sich zusätzlich durch den Zelluntergang und die inflammatorischen Prozesse ein vasogenes und zytotoxisches Hirnödem (27).

Die zytotoxischen Prozesse bestehen unter anderem aus der Exzitotoxizität von freigesetztem Glutamat (29). Dies führt zur Zellschwellung bis hin zur Apoptose von

Neuronen (30). Auch die Blutabbauprodukte wie Häm und Eisen lösen durch reaktive Sauerstoffmoleküle einen zytotoxischen Effekt und eine Schädigung der Blut-Hirn-Schranke aus (27, 28, 31).

Das in der Hämostase entstehende Thrombin aktiviert Metalloproteasen (MMP-9), was zur proteolytischen Aufspaltung der extrazellulären Matrix führt und somit die Blut-Hirn-Schranke schädigt (32). Die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke zieht ein vasogenes Ödem nach sich (27).

### **2.1.5 Klinik**

Die Symptomatik tritt meist plötzlich auf und ist abhängig von Lage und Größe der Blutung. Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Hemiparese, epileptische Anfälle, Bluthochdruck und Bewusstseinsstörung sind bei ausgedehnten Blutungen typisch (19, 25).

Bei den Stammganglienblutungen äußert sich die Symptomatik meist durch eine kontralaterale sensomotorische Hemiparese, Blickwendung zur betroffenen Seite, homonyme Gesichtsfeldausfälle und einer Aphasie beim Auftreten auf der dominanten Seite (33). Tiefliegende Blutungen können in die Ventrikel einbrechen und zum Hydrozephalus führen (25). Bei sehr großen Blutungen besonders im Bereich der Basalganglien kann es zu Koma, Herniation bis hin zum Hirntod kommen.

Die Klinik bei der Lobärblutung ist abhängig vom betroffenen Lappen. Häufig treten sensible und motorische Ausfälle, Aphasie, kontralaterale homonyme Hemianopsie sowie epileptische Anfälle auf (19).

Die Thalamusblutung zeichnet sich durch kontralaterale sensomotorische Störungen, eine vertikale Blickparese und Vigilanzminderung aus. Auch hier kann es bei größeren Blutungen zum Ventrikeleinbruch kommen (33).

Die Symptome einer Kleinhirnblutung sind Ataxie, Schwindel, Nystagmus und Dysarthrie. Ist das Hämatom stark ausgeprägt, kann es zur Kompression des Hirnstamms und vierten Ventrikels mit Liquoraufstau kommen.

Die Klinik der Hirnstammblutung reicht von Hirnnervenausfällen bis hin zur Tetraparese, Störungen des Atemzentrums und tiefem Koma (19).

## 2.1.6 Diagnostik

Eine ICB sollte immer als potenziell vitaler Notfall betrachtet werden, da eine Zunahme der Blutung in den ersten Stunden die Symptomatik zügig verschlechtern kann (20).

Klinisch lässt sich die ICB nicht sicher vom ischämischen Schlaganfall unterscheiden. Es gilt aufgrund der unterschiedlichen Therapiestrategien schnellstmöglich zwischen Blutung und Ischämie zu differenzieren (23). Für die Sicherung der ICB wurde das CT als Goldstandard festgelegt. Ein MRT in der hämsensitiven Sequenz (T2\*- und Gradientenecho) ist im Vergleich dem CT gleichwertig. Im Notfall liefert das CT in der Regel einfacher und schneller ein Ergebnis. So wird nach Sicherung der Vitalfunktionen sofort ein CT oder MRT durchgeführt (34).

Bei Vorliegen einer ICB wird durch die Bildgebung die Lage und Größe der Blutung erfasst. Im nativen CT zeigt sich dann eine hyperdense intrazerebrale Raumforderung. Ein perifokales Ödem stellt sich hypodens dar. Weitere mögliche Befunde können eine Mittellinienverlagerung, die Kompression der Ventrikel oder der Einbruch in das Ventrikelsystem mit Spiegelbildung sein (19).

Die Anamnese oder Fremdanamnese kann die ersten wichtigen Informationen für die Klärung der Ursache geben. Zu erfassen sind kardiovaskuläre Risikofaktoren, Medikamenteneinnahme, letzte Operationen, Demenz, Alkohol- und Drogenkonsum sowie Vorerkrankungen (34). Für die Ermittlung der Ätiologie steht im weiteren Verlauf Labordiagnostik und weiterführende Bildgebung zur Verfügung. Die Labordiagnostik beinhaltet Blutbild, Gerinnung, Elektrolyte, Leberparameter, Blutzucker, Nierenretentionswerte und eventuell ein Drogenscreening. Zum Ausschluss sekundärer Ursachen kann neben dem Nativ-CT und MRT als bildgebende Verfahren die CT- oder MR-Angiographie sowie die konventionelle Angiographie genutzt werden (25, 34).

Neue Veröffentlichungen legen die Bedeutung des „spot signs“ für die Ausbreitung der Blutung nahe. Dies erfordert die zusätzliche Gabe von Kontrastmittel mittels CT-Angiographie. Das „spot sign“ ist eine Kontrastmittelanreicherung im Zentrum der Blutung und ist mit einem Größenwachstum der Blutung assoziiert. Es kommt durch einen aktiven Blutaustritt zustande (35, 36).

Um die medizinische Kommunikation zwischen Kollegen und Abteilungen sowie die Beurteilung des Patienten zu optimieren, sollte die Diagnostik eine standardisierte Bewertung wie den NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) oder den ICH

Score enthalten (siehe 2.1.7) (34). Der NIHSS ist ein Scoresystem zur Beurteilung der Schwere neurologischer Defizite (siehe Anhang 8.1).

### 2.1.7 Prognose

Wie schon unter 2.1.1 erwähnt hat die intrazerebrale Blutung mit einer Sterblichkeitsrate nach einem Monat von ca. 40% und nach einem Jahr von ungefähr 54 % eine schlechte Prognose (5). 75 % der überlebenden Patienten sind nach 6 Monaten nicht in der Lage ihr Leben selbstständig zu führen (37).

Es gibt verschiedene prognostische Scores, um die Mortalität und das funktionelle Ergebnis vorherzusagen. Der ICH-Score (Tab. 3) ist mit einer der am Häufigsten verwendeten und validierten Scores bei Patienten mit intrazerebraler Blutung. Es handelt sich um eine einfache klinische 6-Punkte-Bewertungsskala, die auf 5 unabhängigen Variablen basiert. Diese Variablen sind die Glasgow Coma Scale (GCS), das ICB-Volumen, das Vorliegen einer intraventrikulären Blutung (IVH), die ICB-Lokalisierung und das Alter des Patienten (38). Je höher die Punktzahl des ICH-Scores, desto höher ist die 30-Tages-Mortalität (38). Die GCS wird in jeder Akutsituation zur Beurteilung des neurologischen Status verwendet (siehe Anhang 8.2).

Faktoren	Punkte	
Glasgow Coma Scale	3-4	2
	5-12	1
	13-15	0
Blutungsvolumen in ml	≥ 30	1
	< 30	0
Intraventrikuläre Blutung	ja	1
	nein	0
Infratentorielle Blutung	ja	1
	nein	0
Alter in Jahren	≥ 80	1
	< 80	0
Summe der Punkte	0-6	

Tab. 3: ICH-Score (38)

Weitere Faktoren gehen ebenfalls mit einer schlechten Prognose einher: Fortgeschrittene Läsionen der weißen Substanz, eine chronische Nierenerkrankung sowie Untergewicht oder Hyperglykämie bei der Aufnahme (26).

### **2.1.8 Therapieoptionen**

Die optimale Behandlung von Patienten mit spontaner intrazerebraler Blutung bleibt umstritten (39). Die möglichen medizinischen Vorgehensweisen reichen von der rein konservativen Therapie bis hin zu unterschiedlichen operativen Verfahren wie der Kraniotomie mit konventioneller Hämatomausräumung oder minimalinvasiven Verfahren. Die verschiedenen Therapieformen und -elemente werden kontrovers diskutiert. Klinische Entscheidungen werden jedoch zunehmend durch evidenzbasierte Verfahren unterstützt, die die Mortalität senken, den Schaden minimieren und die Wahrscheinlichkeit eines funktionellen Ergebnisses erhöhen. (6, 40)

#### **2.1.8.1 Konservative Therapie**

Grundsätzlich wird die Behandlung von intrazerebralen Blutungen in einer spezialisierten Einrichtung wie einer Stroke Unit oder einer neurologisch-neurochirurgischen Intensivstation empfohlen (5, 23, 34, 40).

Nach der Sicherung der Vitalparameter setzt sich die konservative Therapie aus Schmerztherapie, neuroprotektiven Maßnahmen wie Normoglykämie und Normothermie, Blutdruckeinstellung, Hirndrucktherapie, Normalisierung der Gerinnung sowie Thromboseprohylaxe zusammen.

Bei verschiedenen Studien wie der INTERACT 2 oder ATACH II stellte sich die intensive Blutdrucksenkung auf einen systolischen Blutdruck von 130-140mmHg innerhalb von 6 Stunden als sicher heraus (5, 34, 40).

Patienten mit einem schweren Gerinnungsfaktormangel oder einer schweren Thrombozytopenie sollten eine geeignete Faktorersatztherapie bzw. Thrombozyten erhalten.

Bei einer Dauermedikation mit Antikoagulantien sowie Thrombozytenaggregationshemmern, sollten diese bei einer ICB abgesetzt werden (34).

Bei einer ICB unter Dauertherapie mit Vitamin-K-Antagonisten sollten Gerinnungsfaktoren, vorzugsweise PPSB (Prothrombinkomplex-Konzentrat) und Vitamin-K verabreicht werden (34). Bei einer intrazerebralen Blutung unter Einnahme von direkten oralen Antikoagulantien gibt es spezifische Antidote: Für Dabigatran ist Idarucizumab zugelassen. Für Rivaroxaban und Apixaban ist seit April 2019 in Europa als Antidot Ondexxya (Andexanet) zugelassen (41, 42).

Ein erhöhter intrakranieller Druck (ICP) besteht bei über 20mmHg. Im individuellen Fall können bestimmte Maßnahmen gegen erhöhten Hirndruck vorgenommen werden: Oberkörperhochlagerung von 30°, suffiziente Analgosedierung, osmotische Hirndrucktherapie (z.B. mit Mannitol), vorübergehende Hyperventilation oder eine externe Ventrikeldrainage (EVD) bei drohendem Hydrozephalus, Zeichen einer Hirnstammkompression, einer GCS≤8 oder bei signifikanter intraventrikulärer Blutung (23, 34).

Zur Thrombembolieprophylaxe wird basierend auf der CLOT 3 Studie eine intermittierende pneumatische Kompression empfohlen. Patienten mit mangelnder Mobilität, die stabile Hämatome aufweisen, können unfraktioniertes oder niedermolekulares Heparin zur Thromboseprophylaxe erhalten.

Die Gabe von rFVIIa zur Verhinderung der Hämatomausdehnung wird nicht empfohlen (5, 6, 34).

### **2.1.8.2 Operative Therapie**

Untersuchungen aus dem letzten Jahrzehnt haben gezeigt, dass das Ausmaß der ICB-vermittelten Hirnschädigung in direktem Zusammenhang mit dem Clotvolumen und dem Kontakt der Blutabbauprodukte zum Hirngewebe steht (43).

Hinter den chirurgischen Verfahren steckt die Annahme eine Besserung durch die Beseitigung des Masseneffekts der Blutung sowie der Blutabbauprodukte und die daraufhin folgenden sekundären Schäden am Gehirnparenchym (siehe 2.1.4) zu erzielen (19, 20, 34, 44).

Eine operative Therapie ist immer eine Einzelfallentscheidung. Bei der Auswahl spielen bestimmte Faktoren eine Rolle: Die Lokalisation (v.a. supra- oder infratentoriell), die Größe der Blutung, das Vorliegen eines Ventrikeleinbruchs, die Glasgow Coma Scale, das Alter des Patienten und bestehende Begleiterkrankungen. Operiert werden beispielsweise Kleinhirnblutungen mit der Gefahr einer Kompression des vierten Ventrikels, die ein Volumen >20 ml betragen (19, 20, 34, 44). Nicht

operiert werden Blutungen mit infauster Prognose. Für die operative Therapie bei supratentoriellen Blutungen ist vor allem für oberflächennahe Lobärblutungen ein Vorteil nachgewiesen. (19, 20, 34, 44-46)

In der 2012 veröffentlichten Meta-Analyse von Gregson et al. wurden 8 von 14 randomisiert kontrollierte Studien über den Vergleich der operativen mit der konservativen Therapie ausgewertet. Die Daten deuteten darauf hin, dass eine frühe Operation innerhalb von 8 Stunden nach dem Ereignis bei Patienten mit einer  $GCS \geq 9$ , einem Alter zwischen 50 bis 69 Jahren und einer Blutung von 20-50ml bessere Ergebnisse erzielen würden (47).

### **2.1.8.2.1 Kraniotomie**

Die Kraniotomie ist eine offen-chirurgische konventionelle Hämatomausräumung. Eine Reihe von Studien haben die Kraniotomie mit der konservativen Behandlung verglichen (6). Die relevantesten randomisierten kontrollierten Studien zum Vergleich der Kraniotomie mit der konservativen Therapie der ICB sind STICH I und II (Surgical Trial in Intracerebral Hemorrhage).

STICH I wurde 2005 veröffentlicht und schloss 1033 Patienten aus 27 Ländern ein. Die Studie sollte beurteilen, ob die frühzeitige chirurgische Entfernung des Hämatoms bei Patienten mit supratentorieller intrazerebraler Blutung die Ergebnisse in Bezug auf Tod und Behinderung im Vergleich zur konservativen Behandlung verbessern würde. Darüber hinaus sollte die Definition der Indikationen für eine frühzeitige Operation verbessert werden. STICH wurde als internationale, multizentrische Parallelgruppenstudie konzipiert. Zwischen den Gruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Outcome. In der Subgruppenanalyse stellte sich jedoch heraus, dass Patienten mit Hämatomen  $< 1\text{cm}$  unter der Hirnoberfläche von einer Kraniotomie profitieren könnten (45). Schon vorherige Studiendaten deuteten auf diese Ergebnisse hin. Etwa einer von vier Patienten, die für die Gruppe der konservativen Therapie randomisiert wurden, wurde verzögert operiert. Dies forderte die Fähigkeit der Autoren heraus zu bestimmen, ob das Ergebnis auf die Operation selbst oder auf den Zeitpunkt der Operation zurückzuführen war (37).

In der STICH II wurde daher ein früher neurochirurgischer Eingriff bei Patienten mit einer oberflächlichen lobären supratentoriellen intrazerebralen Blutung von 10-100ml ohne intraventrikuläre Blutung und einer  $GCS > 8$  mit der konservativen Therapie verglichen ( $n=601$ ). Die 2013 veröffentlichten Ergebnisse von STICH II bestätigen,

dass eine frühe Operation das funktionelle Ergebnis nach 6 Monaten nicht verbessert und einen kleinen, aber klinisch relevanten Überlebensvorteil für Patienten mit spontanen oberflächlichen intrazerebralen Blutungen ohne intraventrikuläre Blutung haben könnte. Insgesamt war die operative Therapie in dieser Studie der konservativen Therapie nicht überlegen.

Die Werte von STICH II wurden den Daten der Meta-Analyse von Gregson et al. hinzugefügt. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass die Operation bei Patienten mit einer intrazerebralen Blutung eine Rolle spielt. Es besteht aber noch eine gewisse Unsicherheit darüber, welche Patienten am meisten profitieren. Der Überlebensvorteil für Patienten mit lobären Blutungen und Kraniotomie scheint dann am größten zu sein, wenn die Glasgow Coma Scale zwischen 9 und 12 beträgt und die Patienten innerhalb von 21 Stunden eine Operation erhalten (46).

#### **2.1.8.2.2 Dekompressive Kraniektomie**

Die Dekompressive Kraniektomie wird bei ausgewählten Fällen mit sekundärer intrakranieller Drucksteigerung angewandt. Es wird zur Druckentlastung ein Teil des Schädelknochens entfernt.

Das Potenzial dieses Verfahrens zur Verbesserung der Ergebnisse für Patienten mit intrazerebraler Blutung ist nicht gut untersucht. In die Studien eingeschlossen wurden Patienten, die eine  $GCS < 8$ , eine signifikante Mittellinienverlagerung, große Blutungen oder einen erhöhten intrakraniellen Druck (ICP) aufwiesen (8, 48). Eine systematische Übersicht über Studien, in denen die dekompressive Kraniektomie im Rahmen einer intrazerebralen Blutung durchgeführt wurde, deutete darauf hin, dass diese Methode mit Hämatomentfernung sicher ist und die Ergebnisse verbessern könnte (8, 48). Dekompressive Hemikraniektomie mit oder ohne Hämatomentfernung könnte die Mortalität bei Patienten mit supratentorieller ICB, einer  $GCS \leq 8$ , einer großen Blutung mit signifikanter Mittellinienverlagerung oder einem erhöhten nicht auf Therapie ansprechenden ICP senken (34).

Die gerade laufende randomisierte kontrollierte Studie SWITCH (Swiss trial of decompressive craniectomy versus best medical treatment of spontaneous intracerebral hemorrhage) soll zeigen, ob die dekompressive Kraniektomie bei der intrazerebralen Blutung in bestimmten Fällen von Vorteil ist (20).



### **2.1.8.2.3 Minimalinvasive Verfahren**

Es werden verschiedene minimalinvasive Techniken getestet. Das Ziel ist das Gehirngewebe beim Zugang zur Blutung so wenig wie möglich zu verletzen. Diese Methode erlaubt Eingriffe, die für das umliegende Gewebe schonend ausgeführt werden können (37).

Für die Behandlung der ICB werden zwei große Kategorien unterschieden: Stereotaktische Aspiration mit Thrombolyse und aktive Evakuierung. Die stereotaktische Aspiration mit Thrombolyse umfasst die stereotaktische Platzierung eines Drainagekatheters gefolgt von der Gabe eines Fibrinolytikums und einer Drainage des Hämatoms über mehrere Tage (37). Die aktive Evakuierung beschreibt eine minimalinvasive Operation, die mit dem Ziel durchgeführt wird, die Blutung ohne Belassen eines Drainagekatheters und ohne Verwendung eines Fibrinolytikums zu evakuieren (37, 49).

#### **2.1.8.2.3.1 Stereotaktische Aspiration mit Thrombolyse**

Die klinisch relevanten Erkenntnisse zur stereotaktischen Aspiration mit Fibrinolyse zeigen die MISTIE Studien (minimally invasive surgery with thrombolysis in intracerebral hemorrhage evacuation) (37).

Bei den MISTIE I und II Studien stellte sich heraus, dass intrakranielle Blutungen mit wiederholten rtPA-Injektionen über einen stereotaktisch eingebrachten Katheter gezielt und sicher drainiert werden können (50).

In der MISTIE I Studie (2008) wurde der Unterschied zwischen minimalinvasiver chirurgischer Intervention plus rtPA und dem konservativen Standardmanagement bei der intrazerebralen Blutung untersucht. Die für die Operation randomisierten Probanden wurden mit einem stereotaktisch platzierten Katheter ausgestattet. Anschließend wurden bis zu maximal 9 Mal oder bis zu einer Reduktion der Clotgröße um 80% oder auf kleiner gleich 15 ml Clotvolumen alle 8 Stunden rtPA über einen Katheter injiziert. Nach jeder Injektion wurde das System mit steriler Kochsalzlösung gespült und 60 Minuten lang verschlossen bevor es zur Spontandrainage geöffnet wurde. Die minimalinvasive Chirurgie mit rtPA führte zu

einer größeren Auflösung des Clots als das konventionelle medizinische Management (43).

In der offen randomisiert kontrollierten Phase-2-Studie MISTIE II (2016) wurde die Sicherheit und Wirksamkeit von rtPA untersucht. Eingeschlossen wurden 96 Patienten zwischen 18 und 80 Jahren mit einer nicht-traumatischen, supratentoriellen Blutung und einem Blutungsvolumen  $\geq 20$  ml. 42 Patienten erhielten die konservative Therapie. 54 Patienten wurden nach dem MISTIE-Verfahren bis zu neun Mal mit 0,3 oder 1,0 mg rtPA alle 8 Stunden behandelt (9).

Die Ergebnisse von MISTIE II lieferten den Nachweis der Sicherheit dieses Verfahrens und identifizierten die zur Clotreduktion beste rtPA-Dosis von 1mg.

In der MISTIE III Studie sollte nun an einer größeren Patientenzahl vor allem das funktionelle Ergebnis untersucht werden.

Die Ergebnisse der MISTIE III Studie wurden im Februar 2019 publiziert. Es wurde untersucht, ob die MISTIE-Methode mit dem Ziel einer Clotreduktion auf 15 ml oder weniger das funktionelle Ergebnis der Patienten verbessern würde. MISTIE III war eine multizentrische randomisiert-kontrollierte Phase-3-Studie mit verblindeten Endpunkten. Es nahmen 506 Patienten mit einer nicht-traumatischen, supratentoriellen intrazerebralen Blutung  $\geq 30$  ml teil. 251 Patienten erhielten eine konventionelle Therapie. 255 Patienten wurden nach dem MISTIE-Verfahren bis zu neun Mal mit 1,0 mg rtPA alle 8 Stunden behandelt. Ein gutes funktionelles Ergebnis wurde gruppenadjustiert (Stabilität und Größe der Blutung sowie ggf. der intraventrikulären Blutung, Alter, GCS und Lokalisation der ICB) mit einem Punktwert von 0 bis 3 auf der modified Rankin Scale nach 365 Tagen festgelegt (7). Die mRS dient der groben Behinderungseinschätzung nach einem Schlaganfall (siehe Anhang 8.3). Die Auswertungen zeigten, dass für mittlere bis große intrazerebrale Blutungen die MISTIE-Methode zu keiner deutlichen Verbesserung des funktionellen Ergebnisses der Patienten nach 365 Tagen führte. Die Mortalität sank jedoch, ohne dass die Anzahl an Schwerbehinderten zunahm. In einer Subgruppenanalyse besserte sich das klinische Outcome bei einer Volumenreduktion auf unter 15 ml (7). Die CLEAR III Studie (Clot Lysis Evaluation of Accelerated Resolution of Intraventricular Hemorrhage), eine randomisierte, doppelt verblindete, plazebo kontrollierte, multiregionale Studie mit 500 Patienten wurde 2017 veröffentlicht. Die Patienten hatten eine ICB mit IVH und wurden mittels EVD entweder mit rtPA oder 0,9% NaCl-Lösung behandelt. Die Ergebnisse ergaben ein sicheres Verfahren und

keinen wesentlichen Unterschied im funktionellen Outcome (mittels mRS) zwischen den Gruppen. (51)

#### **2.1.8.2.3.2 Aktive Evakuierung**

Die Sicherheit der Operation einer ICB durch aktive Evakuierung wurde in randomisiert kontrollierten Studien mit einem geringen Umfang an Patienten gezeigt (49, 52, 53).

Es gibt mehrere laufende randomisierte klinische Studien mit einer hohen Anzahl an Patienten, die den Nutzen minimalinvasiver Strategien mit aktiver Evakuierung testen (37, 54):

Die ENRICH Studie (Early MiNimally-invasive Removal of IntraCerebral Hemorrhage) ist eine multizentrische randomisierte adaptive Studie, in der die frühe (<24 Stunden) minimalinvasive Kraniotomie mit einer endoportvermittelten Evakuierung mit einer konservativen Therapie verglichen wird. Die Studie begann im Dezember 2016 und soll bis Juli 2020 fertiggestellt werden. Es sollen 300 Patienten mit einer supratentoriellen ICB von 30-80 ml, zwischen 18 und 80 Jahren und einem GCS von  $\geq 5$  und  $\leq 14$  eingeschlossen werden. Die klinische Wirksamkeit wird anhand des funktionellen Ergebnisses nach 180 Tagen mit der mRS ermittelt (37, 55).

Bei den INVEST Studien (Minimally Invasive Endoscopic Surgical Treatment With Apollo/Artemis in Patients With Brain Hemorrhage) handelt es sich um prospektive multizentrische Studien, bei denen Patienten über 22 Jahre mit einer supratentoriellen intrazerebralen Blutung minimalinvasiv mit einem endoskopischen Verfahren behandelt werden. Die Fertigstellung ist für Januar 2021 geplant (56, 57).

Die MIND Studie (Artemis in the Removal of Intracerebral Hemorrhage) ist eine multizentrische randomisiert kontrollierte Studie deren primäres Ziel es ist die Sicherheit und Wirksamkeit der minimalinvasiven Hämatom-Evakuierung mit dem Artemis-Neuro-Evakuierungsgerät mit der besten konservativen Therapie für die Behandlung von intrazerebralen Blutungen zu vergleichen. Die Studie läuft seit Anfang 2018 und soll bis Juli 2024 500 Patienten zwischen 18 und 80 Jahren mit einer supratentoriellen ICB von 20-80 ml und einem GCS  $\geq 5$  und  $\leq 15$  einschließen. Die Ergebnisse werden nach 180 Tagen anhand der mRS evaluiert (58).

## **2.2 Plasminogenaktivatoren**

Normalerweise besteht im Körper ein Gleichgewicht zwischen gerinnungsfördernden und gerinnungshemmenden Prozessen.

Die Blutgerinnung setzt sich aus der primären und sekundären Hämostase zusammen. Am Ende der Gerinnungskaskade wird Fibrin gebildet.

Die Fibrinolyse besteht aus dem Fibrinabbau und der Gerinnungshemmung. So werden alte Thromben abgebaut oder eine unnötige Fibrinbildung verhindert.

Verantwortlich dafür ist Plasminogen. Gewebe- oder Blutfaktoren aktivieren Plasminogen zu Plasmin, welches eine hohe Affinität zu Fibrin hat. Die Serinprotease Plasmin spaltet Fibrin in lösliche Peptidfragmente (D-Dimere). Zudem senkt Plasmin ebenso die Blutgerinnungsfähigkeit durch Spalten von Fibrinogen, Prothrombin und den Faktoren V, VIII, IX, XI, XII. Des Weiteren wirkt Plasminogen bei der Wundheilung mit. Es aktiviert Proteasen, die für den Umbau der extrazellulären Matrix zuständig sind. Die wichtigsten Inhibitoren von Plasmin sind alpha-2-Antiplasmin und PAI-1 (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1). (59-62)

Körpereigene Plasminogenaktivatoren sind t-PA (tissue-type plasminogen activator) und Urokinase (u-PA/ urokinase-type plasminogen activator). Urokinase stammt aus den Epithelzellen der Nierentubuli und spielt besonders im extravasalen Raum eine Rolle. t-PA wird von Endothelzellen sezerniert und ist v.a. für die intravasale Fibrinolyse zuständig. t-PA wandelt Plasminogen direkt in Plasmin um. Urokinase ist nach der Bindung an den uPA-Rezeptor vollständig aktiv. Die im Blut zirkulierende Pro-Urokinase wird durch die Faktoren XIIa, Thrombin und Plasmin aktiviert. Ein körperfremdes Fibrinolytikum ist die Streptokinase. Streptokinase wird von beta-hämolisierenden Streptokokken produziert. Als körperfremdes Protein besitzt Streptokinase antigene Eigenschaften und ruft die Bildung von Antikörpern hervor. (59-61)

### **2.2.1 rtPA**

#### **2.2.1.1 Eigenschaften**

rt-PA (Alteplase/ Actilyse®) ist rekombinantes gentechnisch hergestelltes t-PA. Das Glykoprotein rtPA wird unter Verwendung der komplementären natürlichen cDNA-Sequenz von nativem tPA synthetisiert. Die Pharmakodynamik zwischen t-PA und rt-

PA weisen keinen Unterschied auf (61). Zugelassen ist rtPA zur fibrinolytischen Therapie vom akuten Herzinfarkt, der akuten massiven Lungenembolie mit hämodynamischer Instabilität und dem akuten ischämischen Schlaganfall. Die Anwendung erfolgt in einer 3-stündigen oder 90-minütigen Infusion. rtPA wird schnell aus dem Blut eliminiert. Der Abbau findet hauptsächlich in der Leber statt. Die dominante Plasmahalbwertszeit beträgt 4-5 Minuten. Nach 20 Minuten sind weniger als 10% der Anfangskonzentration im Plasma vorhanden. (63)

### **2.2.1.2 Neurotoxizität**

Die Neurotoxizität von rtPA wird kontrovers diskutiert.

Auf der einen Seite wird rtPA mit neurotoxischen Eigenschaften in Verbindung gebracht. rtPA aktiviert nachweislich Matrix-Metalloproteinasen (MMP), was zu einem Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke (BHS) mit einem erhöhten Risiko für Hirnblutungen und Ödemen führt (61). Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass rtPA mit N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA) interagiert und Kalzium-Exzitotoxizität und Zelltod auslöst (61).

In einigen Studien wurde die intensiviertere Entwicklung eines verzögerten perifokalen Ödems durch die fibrinolytische Therapie mit rtPA beschrieben (64-66).

Auf der anderen Seite wurde über eine Verringerung des Hirnödems unter der Lysetherapie mit rtPA berichtet (9, 15).

Der Grund für diese gegensätzlichen Aussagen könnte mit dem Zelltyp im Anwendungsgebiet, unterschiedlichen Dosierungen, dem Ursprung (endogen oder exogen) sowie der Isoform von rtPA zusammenhängen. Nicole et al. und Parcq et al. beschreiben beispielsweise eine neurotoxische Wirkung bei exogenem rtPA in höheren Konzentrationen (11, 12). Den Zelltyp betreffend wurde über eine Neurotoxizität in Kortexneuronen und Purkinje-Zellen berichtet (13, 67). In Neuronen des Hippocampus zeigte rtPA eine neuroprotektive Wirkung (68, 69).

Ungünstige Nebenwirkungen von rtPA wirken den fibrinolytischen Vorteilen entgegen, deshalb ist die Untersuchung weiterer Fibrinolytika notwendig (65).

### **2.2.2 Urokinase**

In präklinischen Studien wurde unter der Lysetherapie mit rtPA die Verschlimmerung des Hirnödems, proinflammatorische sowie neurotoxische Effekte beobachtet (15). In

den letzten Jahren wurde deshalb häufiger wieder Urokinase als mögliches Fibrinolytikum untersucht (15). Außerdem wurde beobachtet, dass Urokinase nicht nur die Rate der Clotauflösung, sondern auch das Outcome nach fibrinolytischer Therapie der ICB verbessert (15).

Urokinase ist eine Serinprotease, die in verschiedenen molekularen Formen vorkommt. Man unterscheidet eine hoch- und eine niedermolekulare Form (70, 71). Pro-Urokinase ist das Proenzym von Urokinase. Pro-Urokinase wird durch Serinproteasen vom Trypsin-Typ, wie Plasmin oder Thrombin in Urokinase umgewandelt (70, 71).

40% der Struktur gleicht dem t-PA-Molekül. Urokinase weist eine längere HWZ als t-PA auf (70, 71)

Für die Herstellung von Urokinase gibt es unterschiedliche Möglichkeiten. Urokinase kann aus menschlichem Urin und Kulturen menschlicher Nierenzellen isoliert werden sowie gentechnisch hergestellt werden (71, 72).

Die Umwandlung von Plasminogen in Plasmin durch Urokinase kann beispielsweise durch PAI-1, PAI-2 sowie Protease-Inhibitor gehemmt werden (62).

Urokinase aktiviert freies zirkulierendes Plasminogen zu Plasmin, baut aber neben Fibrin auch Fibrinogen und andere Faktoren wie  $\alpha$ 2-PI-Inhibitor ab.  $\alpha$ 2-PI-Inhibitor hemmt freies Plasmin. Die Zugabe von Urokinase kann folglich einen systemischen fibrinolytischen Zustand hervorrufen und somit zu Blutungskomplikationen führen (72).

Die Eliminationshalbwertszeit von Urokinase beträgt ungefähr 10 – 20 Minuten. Die Inaktivierung erfolgt hauptsächlich in der Leber. Die inaktiven Spaltprodukte werden über die Galle und vor allem über die Niere ausgeschieden (71).

Urokinase wurde bereits in vielen Studien für ICBs verwendet und ist für periphere arterielle Thrombose, akute und subakute Thrombose tiefer Venen, diagnostisch gesicherte Lungenembolie sowie für thrombosierte arteriovenöse Shunts zugelassen (39, 71, 73).

### **2.2.3 Tenecteplase**

Tenecteplase (Metalyse®) ist ein fibrinspezifischer Plasminogen-Aktivator. Das Fibrinolytikum wird durch Modifizierung von natürlichem t-PA an drei Stellen des Moleküls mittels rekombinanter DNA-Technologie hergestellt (17, 74). Tenecteplase

ist 15-fach fibrinspezifischer als rtPA, hat ungefähr eine 6-fach längere Plasma-HWZ sowie eine 80-fach höhere Resistenz gegenüber der Hemmung durch PAI-1 (16, 72). Die Plasma-HWZ beträgt zwischen 20 und 24 Minuten. Tenecteplase kann in einem einzigen i.v. Bolus über 5-10 Sekunden verabreicht werden. Dies hat nachweislich eine ähnliche Wirksamkeit wie eine 90-minütige Infusion mit rtPA (16, 61, 75). Die Elimination von Tenecteplase erfolgt in der Leber (61).

Eine klinisch relevante Antikörperbildung wurde bis 30 Tage nicht beobachtet (17). Es besteht eine Zulassung für die thrombolytische Therapie beim akuten ST-Streckenhebungs-Herzinfarkt (17). Momentan wird Tenecteplase für den ischämischen Schlaganfall in Phase-3-Studien getestet (74).

### **2.3 Vorliegendes Modell**

In unserer Arbeitsgruppe wurde das hier verwendete Modell bereits etabliert. In vorangegangenen und andauernden Arbeiten wurde das Modell, sowie die Optimierung der Lysierbarkeit von Clots durch Katheter-gestützte rtPA-Fibrinolyse und die kombinierte Therapie von rtPA mit Ultraschall oder Doppler-Sonographie untersucht (18, 76, 77).

Der inhaltliche Aufbau und die verwendete rtPA-Dosis der hier erfolgten Versuche ist unter Berücksichtigung bereits ermittelter Ergebnisse entworfen worden (18).

### **2.4 Vorveröffentlichung**

Die Daten dieser Dissertation wurden im September 2020 mit dem Titel „Comparative analysis of fibrinolytic properties of Alteplase, Tenecteplase and Urokinase in an in vitro clot model of intracerebral haemorrhage“ von Naureen Keric, Melanie Döbel, Harald Krenzlin, Elena Kurz, Yasemin Tanyildizi, Axel Heimann, Jochem König, Oliver Kempfski, Florian Ringel, Julia Masomi-Bornwasser im Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases veröffentlicht (78). Außerdem wurde diese Arbeit im November 2017 auf der Jahresversammlung der "Sektion intrakranieller Druck und Hydrozephalus" in Kassel präsentiert.

Die Anzeige für die Vorveröffentlichung der Ergebnisse aus dieser Arbeit wurde am 24. Juli 2019 von Frau Andjelic von der Stabstelle der Wissenschaftlichen Nachwuchsförderung der Universitätsmedizin Mainz bestätigt.

## 2.5 Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es die fibrinolytischen Eigenschaften von Tenecteplase und Urokinase mit dem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten in vitro Modell der intrazerebralen Blutung zu untersuchen.

Zu Beginn wurde die optimale Wirkdauer von Tenecteplase und Urokinase ermittelt. Mit dieser wurden die Folgeversuche durchgeführt. Anschließend wurde in mehreren Versuchsreihen die optimale Dosis von Tenecteplase und Urokinase bestimmt. Dann wurde die Fibrinolyse von Tenecteplase und Urokinase mit der Fibrinolyse von rtPA verglichen. Abschließend wurde die Fibrinolyse bei repetitiver Anwendung, bei steigendem Clotalter und Clotvolumen untersucht.

Die Fragestellungen dieser Arbeit lauteten:

- Was ist die optimale Wirkdauer von Tenecteplase und Urokinase?
- Mit welcher Dosis Tenecteplase und Urokinase erhält man eine optimale Fibrinolyse?
- Wie unterscheidet sich die Fibrinolyse von rtPA, Tenecteplase und Urokinase untereinander?
- Wie verändert sich die Fibrinolyse von Tenecteplase und Urokinase nach repetitiver Anwendung?
- Wie verändert sich die Fibrinolyse von Tenecteplase und Urokinase mit steigendem Alter des Clots?
- Wie verändert sich die Fibrinolyse von Tenecteplase und Urokinase bei einem größeren Clotvolumen?



### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Arzneimittel

Actilyse® (rtPA)	Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG (EC 3.4.21.68)
Aqua	B. Braun Melsungen AG
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München
Metalyse® (Tenecteplase)	Böhringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG
NaCl 0,9%-Lösung	B. Braun Melsungen AG
Thrombin from bovine plasma	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München (EC 3.4.21.5)
Urokinase	medac GmbH, Wedel, (EC 3.4.21.73)

##### 3.1.2 Verbrauchsmaterial

2 ml Luer Solo Spritzen	B. Braun Melsungen AG
5 ml Spritzen	Becton Dickinson S.A. Fraga, Spanien
10 ml Spritzen	Becton Dickinson S.A. Fraga, Spanien
20 ml Spritzen	Becton Dickinson S.A. Fraga, Spanien
25 cm Ø Luftballons	Amscan Europe GmbH, Kirchheim/Teck
40 cm Ø Luftballons	Amscan Europe GmbH, Kirchheim/Teck
Alkoholisches Hautdesinfektionsmittel (Octeniderm®)	Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt
Aufziehkanülen	Becton Dickinson S.A. Fraga, Spanien
Combi-Stopper	B. Braun Melsungen AG
Einmalhandschuhe	Semperit Technische Produkte GmbH, Wimpassing, Österreich
Leinenzwirn	Zweigart & Sawitzki GmbH & Co. KG, Sindelfingen
Leukosilk®S	BSN medical GmbH, Hamburg

Liquor-Drainage-Katheter Sets 10F	Smith Medical Deutschland GmbH, Grasbrunn
Pipettenspitzen	STARLAB GmbH, Hamburg
Reaktionsgefäße (Eppendorf Tubes® 2,0 ml)	Eppendorf AG, Hamburg
Sicherheitsvenenpunktionsbesteck (Venofix® Safety 21 G)	B. Braun Melsungen AG
Tesaband® 4651	Tesa SE, Norderstedt
Zellstofftupfer	Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, Rengsdorf

### 3.1.3 Hilfsmaterial

Einmal-Wägeschalen	neoLab Migge GmbH, Heidelberg
Infusionsständer	provita medical GmbH & Co. KG
Pipette	Eppendorf AG, Hamburg
Plastiksieb	selbstgebaut
Schere	Hersteller unbekannt
Schlauchklemmen	Fuhrmann GmbH, Much
Universal Reagenzglasgestell	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Urinbehälter	VWR International GmbH, Darmstadt
Venenstauband	Hersteller unbekannt

### 3.1.4 Geräte

Kühlschrank mit Gefrierfach, Modell Cooler	Robert Bosch GmbH, Stuttgart
Laborwaage, Typ PT 600	Sartorius AG, Göttingen
Wärmeschrank, Modell T 6120	Heraeus GmbH, Hanau
Wasserbad, Typ 1013	Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel

### 3.1.5 Software

Adobe Photoshop Elements 6 (Windows 7 Professional)	Adobe Systems Software Ireland Companies, Dublin
Excell 2011 (Mac OS)	Microsoft Deutschland GmbH, München
IBM SPSS Statistics	IBM Deutschland GmbH, Ehningen
Word 2011 (Mac OS)	Microsoft Deutschland GmbH, München
Microsoft Office 365 ProPlus	Microsoft Deutschland GmbH, München
GraphPad Prism 8.0	GraphPad Software, San Diego, CA, USA

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Versuchsabfolge

Die Versuchsabfolge war in den verschiedenen Versuchsreihen gleich.

Hier zunächst die gemeinsame Vorgehensweise bei allen Versuchen:

- 1) Blutentnahme
- 2) Clotterstellung mit Hilfe eines Luftballons, Thrombin und Inkubation bei 37°C
- 3) Wiegen des Clots
- 4) Einbringen eines Katheters in den Clot im Luftballon und festes Verschließen
- 5) Platzieren des Clots im Wasserbad (In Vitro Modell)
- 6) Therapie des Clots mit einem Medikament oder Kontrolle mit NaCl
- 7) Drainage
- 8) Wiegen des Clots nach der Behandlung und Drainage

Im Folgenden 3.2.1.1-3.2.1.7 werden die einzelnen Schritte genau erklärt.

#### 3.2.1.1 Blutentnahme

Für die Blutentnahmen an freiwilligen Spendern hat die Ethikkommission von Rheinland-Pfalz ihre Zustimmung gegeben.

Die Spender wurden über den Inhalt der Arbeit und die allgemeinen Risiken der Blutentnahme mündlich und schriftlich aufgeklärt. Ein Widerruf an der

Studienteilnahme war jederzeit möglich. Es wurde außerdem darüber informiert, dass

sich die entstehenden Daten nicht auf die Spender zurückverfolgen lassen, da keine Probandendaten gespeichert wurden.

Voraussetzung für die Blutspende waren gesunde Probanden. Es sollten keine Vorerkrankungen bestehen, keine Drogen oder Medikamente, besonders Nicht-steroidale Antiphlogistika und Blutverdünner, eingenommen worden sein.

Zuerst wurde der Arm mit einem Venenstauband gestaut, um die Venen besser tastbar zu machen. Es wurden Einmalhandschuhe (Semperit Technische Produkte GmbH) getragen. Die Einstichstelle war meist über der Vena cephalica oder basilica in der Ellenbeuge. Sie wurde vor der Punktion zwei Mal mit einem Alkoholtupfer (Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG) desinfiziert. Mit Hilfe von Sicherheitsvenenpunctionsbesteck (Venofix® Safety 21 G, B. Braun Melsungen AG) und 10-20 ml Spritzen (Becton Dickinson S.A. Fraga) wurden je nach Versuchsreihe 50-150 ml Blut entnommen und direkt weiterverarbeitet. Nach den Versuchen wurde das Material sachgerecht entsorgt.

### **3.2.1.2 Clotherstellung**

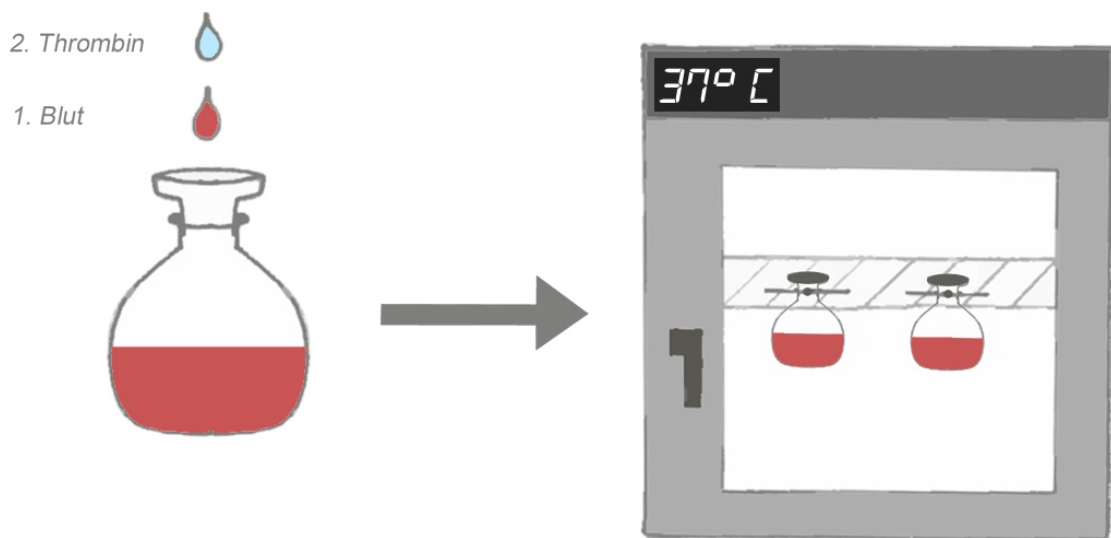
Das frisch entnommene Blut wurde je nach Blutmenge in kleine (für die 25 ml Clots) oder große (für die 50 ml Clots) Luftballons (AmScan Europe GmbH) gefüllt. Zum sicheren Befüllen wurde der Luftballonhals auf den abgeschnittenen zylindrischen Teil einer Spritze gesetzt (Abb. 1).

Um diesen Hilfsgegenstand herzustellen, wurde der Kolben einer 20 ml Spritze entnommen und der Zylinder auf 2 cm gekürzt.

Nach der Befüllung der Ballons mit dem venösen Vollbut wurden mit Hilfe einer Pipette (Eppendorf AG) und einer Pipettenspitze (STARLAB GmbH) Thrombin (Thrombin from bovine plasma, Sigma-Aldrich Chemie GmbH) für den Gerinnungsprozess hinzugegeben (Abb. 1). 25 ml Clots erhielten die Zugabe von 10 I.E. Thrombin (500 µl) und 50 ml Clots die Zugabe von 20 I.E. Thrombin (1000 µl). Um eine homogene Verteilung des Thrombins zu gewährleisten, wurde mit einer Pipettenspitze das Thrombin mit dem Blut vermischt.

Nun wurden die Ballons mit Leinenzwirn (Zweigart & Sawitzki GmbH & Co. KG) fest zugeknotet. Oberhalb des Knotens wurde eine Aufziehkanüle (Becton Dickinson S.A. Fraga) durchgestochen. Diese diente als Aufhänghilfe im Wärmeschrank (Modell T

6120, Heraeus GmbH). Je nach Versuchsreihe wurden die Ballons 90 Minuten, 24 Stunden oder 48 Stunden im Wärmeschrank bei 37°C inkubiert (Abb. 1).



**Abb. 1: Clotterstellung; eigene Darstellung**

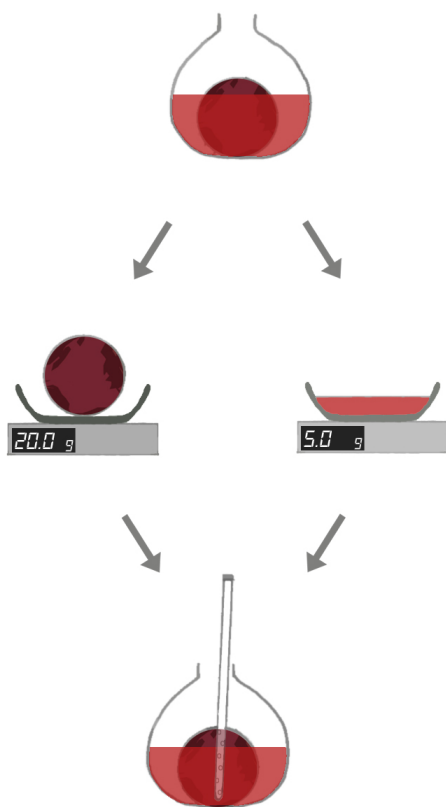
### **3.2.1.3 Wiegen des Clots**

Nach der Inkubation der Ballons im Wärmeschrank folgte die Randomisierung in die verschiedenen Gruppen der Versuchsreihen.

Daraufhin wurden die Ballons unterhalb der Knoten aufgeschnitten und mit Hilfe eines feinen Siebs und einem Urinbecher (VWR International GmbH) der Clot und das Serum präzise voneinander getrennt und separat in Einmal-Wägeschalen (neoLab Migge GmbH) mit einer Laborwage (Typ PT 600, Sartorius AG) gewogen (Abb. 2). Die Messwerte wurden in Gramm auf eine Nachkommastelle festgelegt und als „Gewicht Versuch vorher“ und „Gewicht Kontrolle vorher“ dokumentiert.

### **3.2.1.4 Vorbereitung für das In Vitro Modell**

Nun wurden Clot und Serum wieder in den Ballon gegeben und ein Ventrikelkatheter (Liquor-Drainage-Katheter Sets 10F, Smith Medical Deutschland GmbH) inmitten des Clots platziert (Abb. 2).

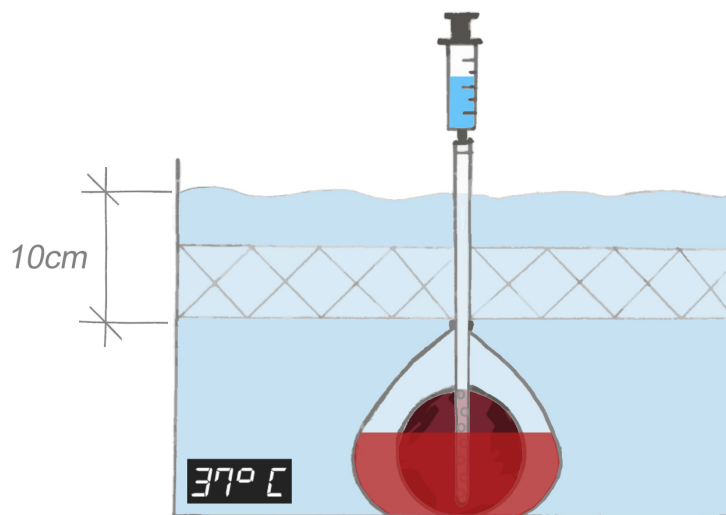


**Abb. 2: Wiegen und Einbringen des Katheters; eigene Darstellung**

Am freien Ende des Katheters wurde eine Schlauchklemme (Fuhrmann GmbH) befestigt. Zum Verschließen des Luftballonhalses um den Katheter wurden mit Leinenzwirn mehrere Knoten geknüpft. Außerdem wurde Tesaband® (Tesaband® 4651, Tesa SE) mit besonders starker Klebkraft um Ballon, Knoten und Katheter gewickelt. So wurde eine sichere Abdichtung vor Luft und Wasser gewährleistet. Ballon und Katheter wurden in einem Wasserbad (Typ 1013, Gesellschaft für Labortechnik mbH) positioniert. Das freie Ende des Katheters befand sich außerhalb der Wasseroberfläche, um Arzneimittel zugeben zu können und ein Drainagesystem anzuschließen. Das Wasser betrug immer 37°C gemäß der Körperkerntemperatur. Als Simulation der Druckverhältnisse im Gehirn betrug die Wassersäule über den Ballons 10 cmH<sub>2</sub>O. Um die Ballons 10 cm unterhalb der Wasseroberfläche zu halten, wurden ein Plastiknetz in das Wasserbad geklemmt (nicht zusammengefaltetes Universal Reagenzglasgestell, Carl Roth GmbH & Co. KG).

### 3.2.1.5 Therapie

Je nach Versuchsreihe wurde als Nächstes über den Katheter mit Hilfe von 2 ml (2 ml Luer Solo Spritzen, B. Braun Melsungen) und 5 ml (Becton Dickinson S.A. Fraga) Spritzen rtPA (Actilyse®, Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG), Tenecteplase (Metalyse®, Böhringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG), Urokinase (medac GmbH) oder 0,9% NaCl-Lösung (B. Braun Melsungen AG) zum jeweiligen Ballon hinzugegeben (Abb. 3).



**Abb. 3: Applikation des Medikaments oder der 0.9% NaCl-Lösung; eigene Darstellung**

Es wurden insgesamt immer 5 ml appliziert, so dass die Volumenbeeinflussung bei allen Versuchen gleich war. Nach der Applikation des Medikaments wurde so viel 0,9% NaCl-Lösung beigefügt, dass sich immer 5 ml Volumen ergaben. Zusätzlich zu den 5 ml wurden 1,2 ml 0,9% NaCl-Lösung für das Totraumvolumen des Ventrikelkatheters hinzugefügt.

Die Kontrollen haben insgesamt 6,2 ml 0,9% NaCl-Lösung ohne Medikament erhalten.

Die Medikamente wurden vor den Versuchsabfolgen mit Aqua (B. Braun Melsungen AG) vorbereitet und bis zur Anwendung im Kühlschrank (Modell Cooler, Robert

Bosch GmbH) aufbewahrt. Sie wurden nach Suspension entsprechend der Herstellerangaben maximal 24 Stunden bei 2 °C bis 8 °C gelagert.

Die Wirkdauer des Medikaments variierte in den verschiedenen Versuchsreihen zwischen 15 und 60 Minuten. Die Katheter wurden für diese Zeit wieder mit Schlauchklemmen verschlossen.

#### **3.2.1.6 Drainage**

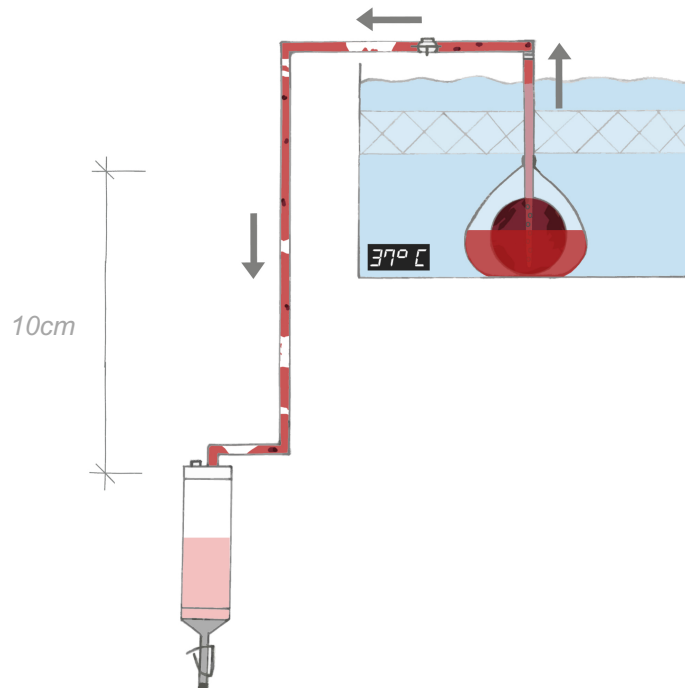
Nach Ablauf der Wirkdauer wurde die Schlauchklemme abgenommen und das Drainagesystem (Liquor-Drainage-Katheter Sets 10F, Smith Medical Deutschland GmbH) an den Katheter angeschlossen (Abb. 4).

Der konische 100 ml Drainagezylinder wurde ungefähr 10 cm unterhalb des Ballons an einem Infusionsständer (provita medical GmbH & Co. KG) befestigt.

Der Sog des Drainagesystems beruhte auf der Schwerkraft. Der verflüssigte Anteil des Clots konnte so in den Drainagezylinder ablaufen. Alle 15 Minuten wurde das Schlauchsystem der Drainage zur Gewährleistung der Durchgängigkeit über einen Dreiwegehahn in Richtung Drainagezylinder gespült.

Die Drainagezeit betrug bei allen Versuchen 60 Minuten.





**Abb. 4: Drainage; eigene Darstellung**

### 3.2.1.7 Entnahme und Wiegen des Clots

Nach der Drainagezeit wurde das Drainageschlauchsystem vom Katheter abgeschraubt und wieder eine Schlauchklemme am Katheter angebracht. Nun konnten die Ballons mitsamt Katheter aus dem Wasserbad genommen werden. Es folgte das Entfernen des Klebebands und des Fadens mit einer Schere. Der Katheter wurde vorsichtig herausgezogen und der Luftballonhals vollständig mit der Schere abgeschnitten.

Nun wurden Clot und Serum wieder sorgfältig voneinander getrennt und der Clot gewogen (Abb. 5). Der Ballon wurde komplett umgestülpt, so dass keine Reste im Ballon verblieben.

Anschließend wurden die Messwerte wurden dokumentiert.

Bei den repetitiven Versuchen wurden die Schritte von der Therapie über die Drainage bis zum Wiegen insgesamt drei Mal durchgeführt.



**Abb. 5: Wiegen des Clots nach der Therapie; eigene Darstellung**

### 3.2.2 Versuchsreihen

Es wurden 6 Versuchsreihen (3.2.2.1 – 3.2.2.6) durchgeführt bei denen einzelne Parameter variiert wurden (Tab. 4).

In den Versuchsreihen 3.2.2.1 – 3.2.2.5 wurden Kontroll-und Therapieclot parallel hergestellt. In der Versuchsreihe 3.2.2.6 wurden 3 Clots gleichzeitig hergestellt. Die Randomisierung in die verschiedenen Gruppen (unterschiedliche Behandlung der Clots) erfolgte immer nach Entnahme der Ballons aus dem Wärmeschrank (3.2.1.3). Insgesamt wurden 117 Clots hergestellt.

<b>Clot-Volumen/ ICB-Volumen</b>	25 ml, 50 ml
<b>Inkubationszeit</b>	90 Minuten, 24 Stunden, 48 Stunden
<b>Medikament</b>	rtPA, Tenecteplase, Urokinase
<b>Dosierung</b>	rtPA: 1 mg Tenecteplase: 10-500 I.E. Urokinase: 3000-1000000 I.E.
<b>Wirkdauer</b>	15-60 Minuten
<b>Anzahl an Behandlungszyklen</b>	1-3
<b>Drainage</b>	Immer 60 Minuten

**Tab. 4: Parameter**

### 3.2.2.1 Ermittlung der Wirkdauer

In der ersten Versuchsreihe wurde die optimale Wirkdauer herausgearbeitet. In der klinischen Behandlung wird nach der Gabe von rtPA in eine ICB das Drainagesystem 60 Minuten lang geschlossen, um anschließend für die schwerkraftbasierte Drainage geöffnet zu werden (7). Daher wählten wir 60 Minuten Wirkdauer und entsprechend ihrer Halbwertszeiten 20 Minuten Wirkdauer für Urokinase und 30 Minuten für Tenecteplase. Die Dosis betrug 50000 I.E. für Urokinase und 100 I.E. für Tenecteplase (39, 79-81). Pro Gruppe wurden drei Clots mit den entsprechenden Kontrollen untersucht. Insgesamt wurden in dieser Versuchsreihe 24 25ml-Clots mit einer Inkubationszeit von 90 Minuten hergestellt (Tab. 5).

<b>Medikament</b>	<b>Clotanzahl</b>	<b>Anzahl Kontrollen</b>	<b>Dosis (I.E.)</b>	<b>Wirkdauer (Minuten)</b>
Tenecteplase	3	3	100	30
Tenecteplase	3	3	100	60
Urokinase	3	3	50000	20
Urokinase	3	3	50000	60

**Tab. 5: Dosis und Wirkdauer von Tenecteplase und Urokinase-Ermittlung der Wirkdauer**

### 3.2.2.2 Dosisfindung

In dieser Versuchsreihe wurde die optimale Dosis von Tenecteplase und Urokinase untersucht.

In unserer Arbeitsgruppe wurde für rtPA bereits herausgearbeitet, dass bei der optimalen Dosis und Wirkdauer (1mg, 15 Min.) die maximale Lyserate unabhängig von der Clotgröße ist (25 ml oder 50 ml) (18). So führten wir dementsprechend die Versuche mit 25 ml Clots und einer Inkubation von 90 Minuten durch.

Nacheinander wurden 3 Versuchsclots mit 10 I.E. Tenecteplase und einer Wirkdauer von 30 Minuten behandelt. Parallel dazu erfolgten die jeweiligen Kontrollen.

Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich wurden weitere Versuche mit 25 I.E., 50 I.E., 300 I.E. und 500 I.E. Tenecteplase durchgeführt. Gleichmaßen wurde auch mit

Urokinase verfahren (500 I.E., 3000 I.E., 10000 I.E., 500000 I.E., 1000000 I.E.). Die Wirkdauer bei Urokinase betrug 20 Minuten. (Tab. 6).

<b>Medikament</b>	<b>Clotanzahl</b>	<b>Anzahl Kontrollen</b>	<b>Dosis (I.E.)</b>	<b>Wirkdauer (Minuten)</b>
Tenecteplase	3	3	10	30
Tenecteplase	3	3	25	30
Tenecteplase	3	3	50	30
Tenecteplase	3	3	100	30
Tenecteplase	3	3	300	30
Tenecteplase	3	3	500	30
Urokinase	3	3	3000	20
Urokinase	3	3	10000	20
Urokinase	3	3	50000	20
Urokinase	3	3	500000	20
Urokinase	3	3	1000000	20

**Tab. 6: Dosis und Wirkdauer von Tenecteplase und Urokinase-Dosisfindung**

In dieser Versuchsreihe wurden insgesamt 54 Clots hergestellt. Es wurden die Werte der 12 Clots aus 3.2.2.1 mit der optimalen Wirkdauer für die Auswertung der Ergebnisse (4.1.2) mit hinzugezogen und zur Übersichtlichkeit ebenfalls in Tabelle 6 aufgelistet.

### **3.2.2.3 Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase**

Die Versuchsreihe diente als Vergleich von rtPA mit den in dieser Arbeit untersuchten superoptimalen Behandlungsreihen (Tenecteplase 100 I.E, 30 Min.; Urokinase 50000 I.E., 20 Min.).

Zuvor wurde in unserer Arbeitsgruppe die optimale Dosis und Wirkdauer von rtPA bereits herausgearbeitet und lediglich als Standard hier nochmals wiederholt (18). Aus einer 50 ml Blutspende wurde ein 25 ml Versuchsclot und ein 25 ml Kontrollclot bei einer Inkubation von 90 Minuten hergestellt. Der Versuchsclot wurde mit 1mg rtPA behandelt. Die Wirkdauer betrug 15 Minuten. Der Versuchsaufbau mit Kontrolle

wurde 3 Mal wiederholt, so dass insgesamt 6 Clots produziert wurden, um mit den aus 3.2.2.1 ermittelten Werten verglichen zu werden (4.1.3).

### 3.2.2.4 Repetitive Behandlungen

Hier wurde die repetitive Behandlung der Clots mit Tenecteplase und Urokinase untersucht. Die aus den vorherigen Versuchsreihen erhaltenen Ergebnisse dienten als Grundlage für die repetitiven Behandlungen. Es wurde die superoptimale Dosis (100 I.E. Tenecteplase, 50000 I.E. Urokinase) und Wirkdauer (30 Minuten Tenecteplase und 20 Minuten Urokinase) aus Punkt 3.2.2.1 und 3.2.2.2 verwendet. Aus einer 50 ml Blutspende wurden zwei 25 ml Clots bei einer Inkubation von 90 Minuten hergestellt. Diese wurden entweder mit Tenecteplase oder Urokinase drei Mal hintereinander behandelt. (Tab. 7)

Jeder Behandlungszyklus bestand aus der Wirkdauer, 60 Minuten Drainage und 5 Minuten zum Wiegen des Clots (Tenecteplase 95 Min., Urokinase 85 Min.).

Insgesamt wurden 6 Clots hergestellt.

Medikament	Clotanzahl	Behandlungsanzahl pro Clot	Dosis (I.E.)	Wirkdauer (Minuten)
Tenecteplase	3	3	100	30
Urokinase	3	3	50000	20

Tab. 7: Parameter der repetitiven Versuche

### 3.2.2.5 24 und 48 Stunden Inkubation

In dieser Versuchsreihe wurde die bisherige Inkubationszeit der Clots im Wärmeschrank von 90 Minuten auf 24 oder 48 Stunden verlängert.

Dem Blutspender wurden 50 ml Blut entnommen. Es wurden zwei 25 ml Clots hergestellt und wieder mit der superoptimalen Dosis (100 I.E. Tenecteplase / 50000 I.E. Urokinase) und Wirkdauer (30 Minuten Tenecteplase / 20 Minuten Urokinase) behandelt.

Es wurden insgesamt 12 Clots hergestellt (Tab. 8). Zur Auswertung (4.1.4) flossen die optimalen Werte bei 90-minütiger Inkubation mit ein (6 Clots).

<b>Medikament</b>	<b>Clotanzahl</b>	<b>Inkubationszeit (Stunden)</b>	<b>Dosis (I.E.)</b>	<b>Wirkdauer (Minuten)</b>
Tenecteplase	3	24	100	30
Urokinase	3	24	50000	20
Tenecteplase	3	48	100	30
Urokinase	3	48	50000	20

**Tab. 8: Inkubation von 24 oder 48 Stunden**

### **3.2.2.6 50ml Clots**

Nun wurden dem Blutspender 150 ml Blut entnommen. Daraus wurden drei 50 ml Clots hergestellt. Nach der 90-minütigen Inkubation wurden die Ballons randomisiert. Ein Clot wurde mit Tenecteplase (100 I.E., 30 Minuten) behandelt, ein Clot mit Urokinase (50000 I.E., 20 Minuten) und ein Clot diente zur Kontrolle.

In dieser Versuchsreihe wurden 15 Clots hergestellt (Tab. 9).

<b>Clotanzahl Tenecteplase</b>	5
<b>Clotanzahl Urokinase</b>	5
<b>Anzahl Kontrollen</b>	5
<b>Clot-Volumen (ml)</b>	50
<b>Dosis Tenecteplase (I.E.)</b>	100
<b>Dosis Urokinase (I.E.)</b>	50000
<b>Wirkdauer Tenecteplase (Minuten)</b>	30
<b>Wirkdauer Urokinase (Minuten)</b>	20

**Tab. 9: Übersicht der 50 ml Clots**

### **3.2.3 Statistische Analyse**

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

Die statistische Analyse wurde mit einer Standardsoftware (GraphPad Prism v6.0; GraphPad Software, San Diego, CA, USA) durchgeführt. Es wurde eine einfaktorielle

Varianzanalyse (ANOVA) für den Vergleich der Mittelwerte angewendet. Zum paarweisen Vergleich der Mittelwerte wurden p-Werte gemäß dem Post-Hoc-Test nach Tukey-Kramer erstellt. Die Daten wurden als relative Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen dargestellt. Es wurden ebenfalls 95%-Konfidenzintervalle ermittelt. Zweiseitige p-Werte  $< 0.05$  wurden als statistisch signifikant angesehen. Für die statistische Analyse der Dosis-Wirkungs-Kurve von Tenecteplase und Urokinase wurde ein logistisches Modell mit drei Parametern verwendet:

$$f(x, (b, d, e)) = \frac{d}{1 + \exp\{b(\log(x) - \log(e))\}} \quad (78).$$

Die 95%-wirksame Dosis wurde mit einem 95%-Konfidenzintervall abgeschätzt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Versuchsreihen

Die einzelnen Ergebnisse der Versuche mit den 117 Clots finden sich im Anhang unter 8.4 als absolute und relative Werte. Die Ergebnisse der Versuchsreihen werden im Folgenden (4.1.1 – 4.1.6) in relativen Endgewichten als Mittelwerte mit Standardabweichungen angegeben.

#### 4.1.1 Ergebnisse der Versuchsreihe „Ermittlung der Wirkdauer“

Das durchschnittliche relative Endgewicht bei 30-minütiger Tenecteplase-Anwendung betrug  $31,3 \pm 11,85\%$  (Kontrolle:  $62,29 \pm 8,49\%$ , p-Wert: 0,0052) und bei 60-minütiger Anwendung  $42,46 \pm 6,64\%$  (Kontrolle:  $65,09 \pm 7,22\%$ , p-Wert: 0,0582) (Tab. 10, Abb. 6).

Bei Urokinase ergab sich bei einer Wirkdauer von 20 Minuten ein durchschnittliches relatives Endgewicht von  $34,83 \pm 7,71\%$  (Kontrolle:  $64,33 \pm 6,91\%$ , p-Wert: 0,0081) und bei 60 Minuten Wirkdauer von  $28,94 \pm 8,86\%$  (Kontrolle:  $63,45 \pm 6,57\%$ , p-Wert: 0,0019) (Tab. 11, Abb. 6).

Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den kürzeren und längeren Wirkdauerzeiten festgestellt. Daher verwendeten wir in den darauffolgenden Experimenten die kürzeren Wirkdauerzeiten.

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche finden sich im Anhang unter 8.4.1.

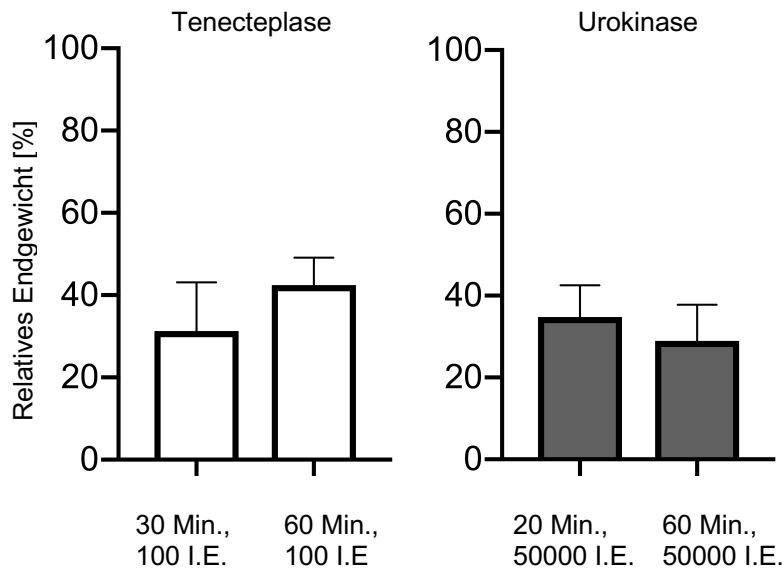
Wirkdauer	Tenecteplase 100 I.E.	Kontrolle	p-Wert
30 Minuten	$31,3 \pm 11,85\%$	$62,29 \pm 8,49\%$	0,0052
60 Minuten	$42,46 \pm 6,64\%$	$65,09 \pm 7,22\%$	0,0582

Tab. 10: Ergebnisse der Ermittlung der Wirkdauer - Tenecteplase (12 Clots)

Wirkdauer	Urokinase 50000 I.E.	Kontrolle	p-Wert
20 Minuten	$34,83 \pm 7,71\%$	$64,33 \pm 6,91\%$	0,0081
60 Minuten	$28,94 \pm 8,86\%$	$63,45 \pm 6,57\%$	0,0019

Tab. 11: Ergebnisse der Ermittlung der Wirkdauer - Urokinase (12 Clots)





**Abb. 6: Ergebnisse der Ermittlung der Wirkdauer - Tenecteplase und Urokinase (78)**

#### 4.1.2 Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“

Die optimale Dosis für Tenecteplase wurde anhand von sechs unterschiedlichen Dosen ermittelt. Das durchschnittliche relative Endgewicht bei 10 I.E. Tenecteplase betrug  $45,87 \pm 4,69\%$ , bei 25 I.E.  $46,56 \pm 7,75\%$ , bei 50 I.E.  $40,67 \pm 13,82\%$ , bei 100 I.E.  $31,3 \pm 11,85\%$ , bei 300 I.E.  $38,22 \pm 0,43\%$ , bei 500 I.E.  $36,98 \pm 4\%$ . Die Ergebnisse mit entsprechender Kontrolle sind der Tabelle 12 zu entnehmen. Somit ergab sich für Tenecteplase eine 90%-Effektivdosis von 58,37 I.E. (95%-Konfidenzintervall 16,32-208,78 I.E.).

Die Dosisfindung für Urokinase erfolgte mit fünf verschiedenen Dosen. Diese Clots zeigten folgende durchschnittliche relative Endgewichte: für 3000 I.E.  $54,3 \pm 6,33\%$ , für 10000 I.E.  $46,85 \pm 6,59\%$ , für 50000 I.E.  $34,83 \pm 7,71\%$ , für 500000 I.E.  $34,36 \pm 6,69\%$ , für 1000000 I.E.  $28,86 \pm 2,61\%$  (Ergebnisse + Kontrollen siehe Tab. 13). Für Urokinase ergab sich eine 90%-Effektivdosis von 26680 I.E. (95% Konfidenzintervall 4939-144135 I.E.).

Die Dosis-Wirkbeziehungen sind in der Abbildung 7 und 8 dargestellt.

Für die folgenden Versuche verwendeten wir eine superoptimale Dosis von 100 I.E. für Tenecteplase und von 50000 I.E. für Urokinase.

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche finden sich im Anhang unter 8.4.2.

Dosis	Tenecteplase	Kontrolle
10 I.E.	45,87±4,69%	53,79±2,91%
25 I.E.	46,56±7,75%	56,86±5,37%
50 I.E.	40,67±13,82%	68,9±4,09%
100 I.E.	31,3±11,85%	62,29±8,49%
300 I.E.	38,22±0,43%	67,95±13,75%
500 I.E.	36,98±4%	53,81±5,52%

Tab. 12: Ergebnisse Dosisfindung - Tenecteplase (36 Clots)

Dosis	Urokinase	Kontrolle
3000 I.E.	54,3±6,33%	58,81±2,43%
10000 I.E.	46,85±6,59%	61,63±9,44%
50000 I.E.	34,83±7,71%	64,33±6,91%
500000 I.E.	34,36±6,69%	57,15±7,86%
1000000 I.E.	28,86±2,61%	55,61±8,88%

Tab. 13: Ergebnisse Dosisfindung - Urokinase (30 Clots)

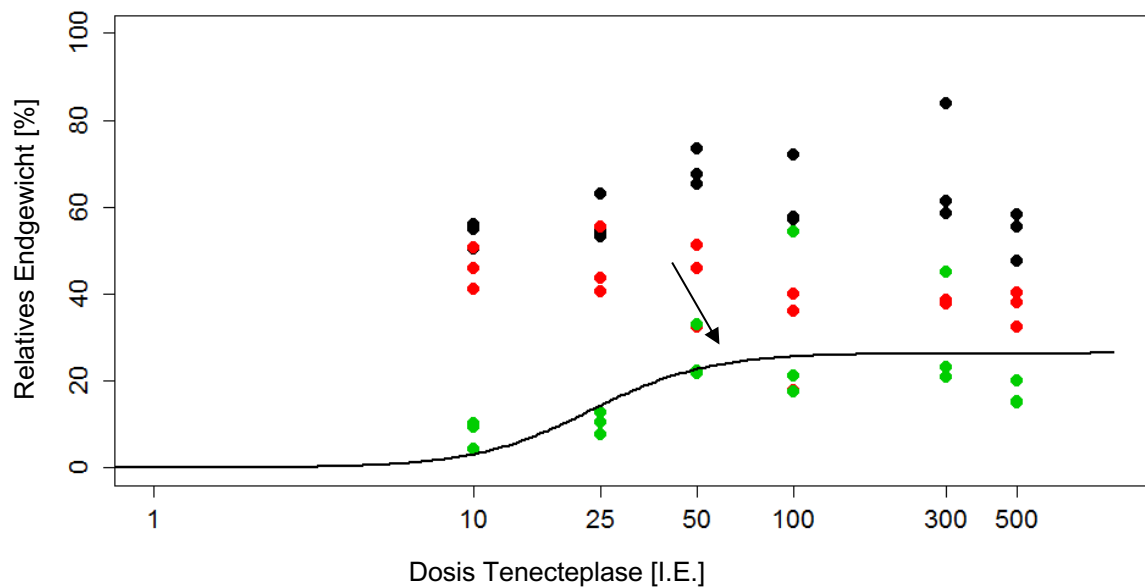


Abb. 7: Dosis-Wirkbeziehung von Tenecteplase (Schwarze Punkte: relative Endgewichte der Kontrollclots, rote Punkte: relative Endgewichte der Versuchsclots, grüne Punkte: Differenz der relativen Endgewichte, schwarze Kurve: Dosis-Wirkungskurve. Der Pfeil zeigt die 90%-Effektivdosis von 58,37 I.E. Tenecteplase an) (78)

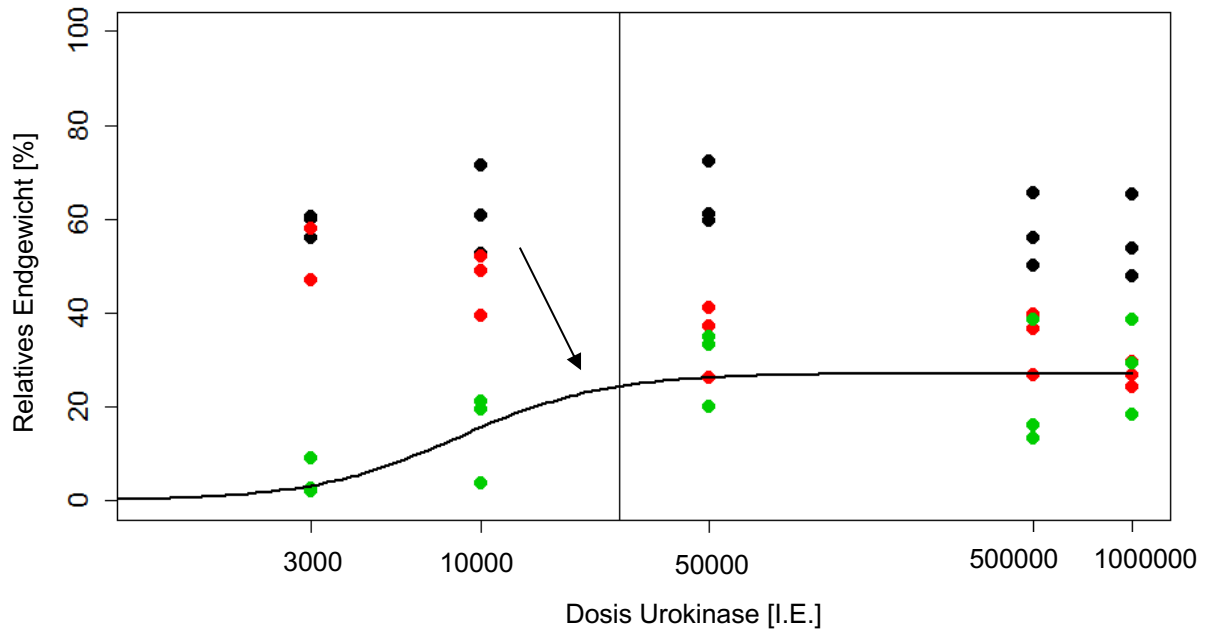


Abb. 8: Dosis-Wirkbeziehung von Urokinase (Schwarze Punkte: relative Endgewichte der Kontrollclots, rote Punkte: relative Endgewichte der Versuchsclots, grüne Punkte: Differenz der relativen Endgewichte, schwarze Kurve: Dosis-Wirkungskurve. Der Pfeil zeigt die 90%-Effektivdosis von 26680 I.E. Urokinase an) (78)

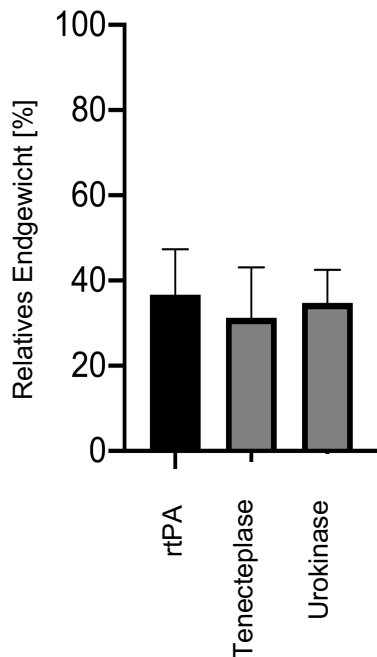
#### 4.1.3 Ergebnisse der Versuchsreihe „Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase“

Das mittlere relative Endgewicht der mit rtPA behandelten Clots betrug  $36,67 \pm 10,68\%$  (Kontrolle  $71,14 \pm 15,18\%$ ), der mit Tenecteplase behandelten Clots  $31,3 \pm 11,85\%$  und der mit Urokinase behandelten Clots  $34,83 \pm 7,71\%$  (Tab. 14, Abb.9). Das Ergebnis von rtPA war vergleichbar mit den Ergebnissen von Tenecteplase und Urokinase.

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche finden sich im Anhang unter 8.4.3.

rtPA 1 mg	Tenecteplase 100 I.E.	Urokinase 50000 I.E.
$36,67 \pm 10,68\%$	$31,3 \pm 11,85\%$	$34,83 \pm 7,71\%$

Tab. 14: Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase (9 Clots)



**Abb. 9: Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase (100 I.E., 30 Min.) und Urokinase (50000 I.E., 20 Min.) (78)**

#### **4.1.4 Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“**

Nach dem ersten Behandlungszyklus lag das durchschnittliche relative Endgewicht von Tenecteplase bei  $41,95 \pm 8,48\%$  ( $p < 0,0001$ ), nach dem zweiten Zyklus bei  $27,78 \pm 6,86\%$  ( $p = 0,0147$ ) und nach der dritten Abfolge bei  $21,76 \pm 4,84\%$  ( $p = 0,4354$ ) (Tab. 15, Abb. 10). Bei der Behandlung mit Tenecteplase zeigte sich nach der ersten und zweiten Behandlung eine signifikante Gewichtsabnahme.

Urokinase zeigte nach dem ersten Behandlungszyklus ein durchschnittliches relatives Endgewicht von  $57,42 \pm 13,45\%$  ( $p < 0,0001$ ), nach dem zweiten  $39,86 \pm 7,32\%$  ( $p = 0,0032$ ) und nach dem dritten Zyklus  $28 \pm 5,96\%$  ( $p = 0,0421$ ) (Tab. 15, Abb. 10).

Bei Urokinase war eine signifikante Gewichtsabnahme über alle drei Behandlungszyklen zu beobachten.

Tenecteplase war nach der ersten und zweiten Behandlung genauso effektiv wie Urokinase nach der zweiten und dritten Behandlung.

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche finden sich im Anhang unter 8.4.4.

Anzahl an Behandlungszyklen	Tenecteplase 100 I.E.	p-Wert Tenecteplase	Urokinase 5000 I.E.	p-Wert Urokinase
0	100%		100%	
1	41,95±8,48%	0,0001	57,42±13,45%	0,0001
2	27,78±6,86%	0,0147	39,86±7,32%	0,0032
3	21,76±4,84%	0,4354	28±5,96%	0,0421

Tab. 15: Ergebnisse von Tenecteplase und Urokinase nach 1-3 Behandlungszyklen (18 Clots)

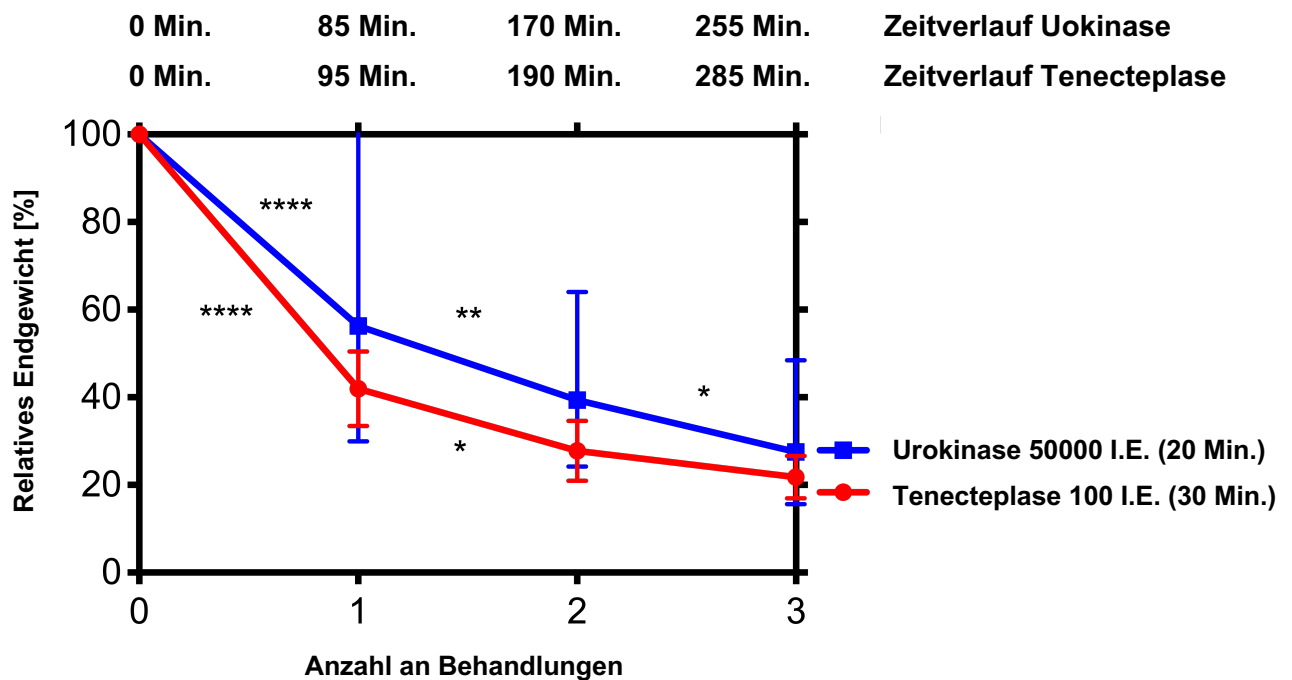


Abb. 10: Ergebnisse der repetitiven Behandlungen (Blaue Verbindungspunkte mit Fehlerbalken: relative Endgewichte nach repetitiver Gabe von Urokinase, es zeigte sich eine signifikante Gewichtsabnahme über alle drei Behandlungszyklen ( $p < 0.0001^{****}$ ,  $p = 0.0032^{**}$  und  $p = 0.0421^*$ ). Rote Verbindungspunkte mit Fehlerbalken: relative Endgewichte nach repetitiver Gabe von Tenecteplase, es zeigte sich nach dem ersten und zweiten Behandlungszyklus eine signifikante Gewichtsabnahme ( $p < 0.0001^{****}$  und  $p = 0,0147^*$ .) (78)

#### 4.1.5 Ergebnisse der Versuchsreihe „24 und 48 Stunden Inkubation“

Bei unterschiedlich alten gleich behandelten Clots ergaben sich folgende durchschnittliche relative Endgewichte: für Tenecteplase 90 Minuten  $31,3 \pm 11,85\%$ , 24 Stunden  $53,08 \pm 3\%$  und 48 Stunden  $56,12 \pm 11,83\%$ ; für Urokinase 90 Minuten  $34,83 \pm 7,71\%$ , 24 Stunden  $61,52 \pm 7,59\%$  und 48 Stunden  $55,7 \pm 11,48\%$  (Tab. 16).

In 90 Minuten alten Clots erzielte Tenecteplase eine signifikant höhere Lyse-Rate im Vergleich zu 24 Stunden alten Urokinase-Clots ( $p=0,046$ ). In den 24 Stunden und 48 Stunden alten Clots gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede (Abb. 11). Die Ergebnisse der einzelnen Versuche finden sich im Anhang unter 8.4.5.

	90 Minuten	24 Stunden	48 Stunden
Tenecteplase	31,3±11,85%	53,08±3%	56,12±11,83%
Urokinase	34,83±7,71%	61,52±7,59%	55,7±11,48%

Tab. 16: Ergebnisse der 90 Minuten, der 24 und 48 Stunden inkubierten Clots (18 Clots)

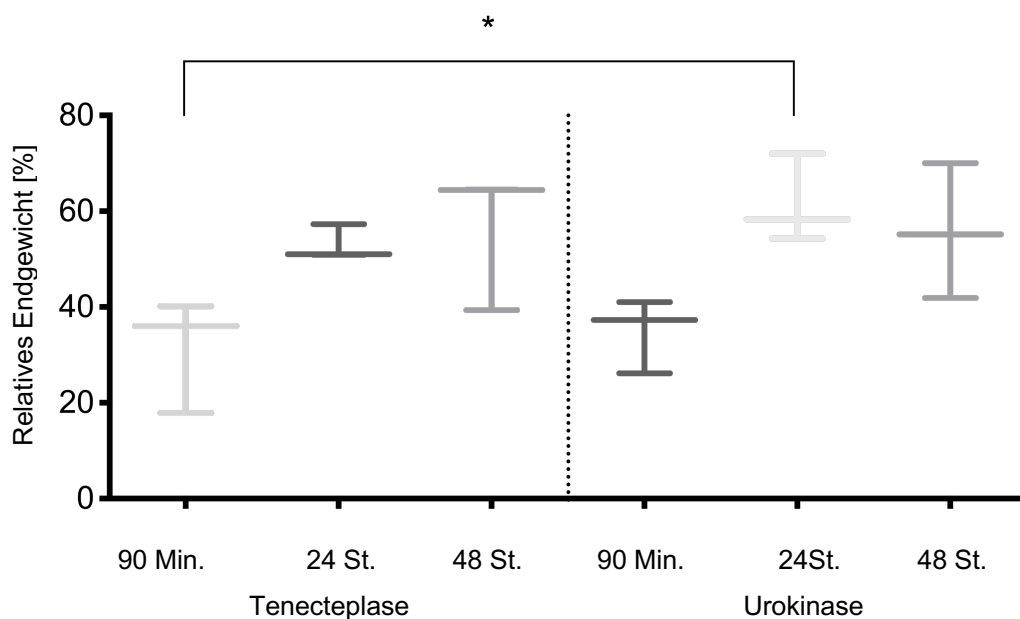


Abb. 11: Ergebnisse der 90 Minuten, der 24 und 48 Stunden inkubierten Clots (In 90 Minuten alten Clots erzielte Tenecteplase eine signifikant höhere Lyse-Rate im Vergleich zu 24 Stunden alten Urokinase Clots ( $p=0,046^*$ ).) (78)

#### 4.1.6 Ergebnisse der Versuchsreihe „50 ml Clots“

Das durchschnittliche relative Endgewicht von Tenecteplase lag bei  $37,83\pm 11,45\%$ , von Urokinase bei  $54,79\pm 7,45\%$  und von den Kontrollen bei  $69,37\pm 8,93\%$  (Tab. 17, Abb. 12). Im Vergleich zu den Kontrollen war die Lyse mit Tenecteplase signifikant stärker ( $p=0,0013$ ).

Die Ergebnisse der einzelnen Versuche finden sich im Anhang unter 8.4.6.

Tenecteplase 50 ml	p-Wert Tenecteplase	Urokinase 50 ml	p-Wert Urokinase	Kontrolle
37,83±11,45%	0,0013	54,79±7,45%	0,1137	69,37±8,93%

Tab. 17: Ergebnisse der 50 ml Clots (15 Clots)

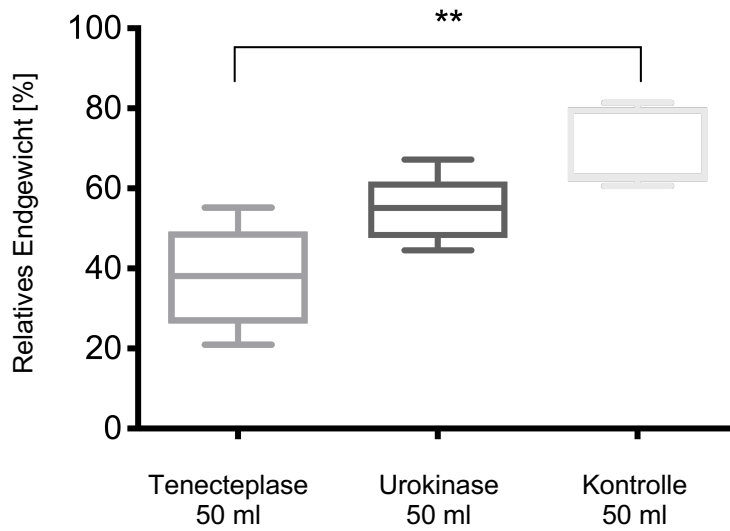


Abb. 12: Ergebnisse 50 ml Clots (Im Vergleich zu den Kontrollen war die Lyse mit Tenecteplase signifikant stärker (p=0,0013\*\*).) (78)

## **5 Diskussion**

### **5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse**

Bei der systemischen Analyse von verschiedenen Fibrinolytika in einem in vitro Modell der intrazerebralen Blutung zur Evaluation der optimalen Dosis und Wirkdauer wurden Urokinase und Tenecteplase genauer untersucht. Insgesamt wurden 117 Clots von unterschiedlichen gesunden Blutspendern zur Analyse hergestellt. Für Tenecteplase ergab sich eine Wirkdauer von 30 Minuten und eine superoptimale Dosis von 100 I.E.. Bei Urokinase ergab sich eine Wirkdauer von 20 Minuten und eine superoptimale Dosis von 50000 I.E..

Beim Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Urokinase und Tenecteplase konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Bei repetitiver Gabe der Fibrinolytika war Tenecteplase nach der ersten und zweiten Behandlung genauso effektiv wie Urokinase nach der zweiten und dritten, was auf eine höhere Lyseeffizienz pro gegebenen Bolus von Tenecteplase hinweist. Bei 24 Stunden und 48 Stunden alten Clots gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Tenecteplase und Urokinase. Bei größeren 50 ml Clots war die Fibrinolyse von Tenecteplase im Vergleich zu den Kontrollen signifikant stärker als die Fibrinolyse von Urokinase.

### **5.2 Diskussion des In vitro Modells der ICB**

Das hier verwendete in vitro Modell der intrazerebralen Blutung wurde in unserer Arbeitsgruppe entwickelt (18).

Ein Vorteil des Modells ist der geringe Materialaufwand, was eine kostengünstige Wiederholung von vielen Versuchen erlaubt. Darüber hinaus entspricht es dem Vorgehen nach dem 3R-Prinzip (*Replace, Reduce, Refine*), um Tierversuche auf das Äußerste zu minimieren. Auch die Vorgehensweise lässt sich zügig erlernen. So ist es möglich unterschiedliche Fragestellungen schnell zu bearbeiten.

Die Schwächen des in vitro Modells der ICB werden deutlich, wenn man an das Fehlen der pathophysiologischen Vorgänge eines lebenden Organismus denkt. Diese Vorgänge sind vielfältig und reichen bei der ICB von humoralen Entzündungsreaktion mit lokaler Inflammationsreaktion bis hin zum vasogenen und zytotoxischen Hirnödem (27). In den Versuchen gab es keinerlei solcher Einflüsse



auf den Clot und die Fibrinolyse. Ebenso schwanken die physikalischen Werte von Körpertemperatur und Hirndruck bei einer intrazerebralen Blutung individuell. In den Versuchen wurden Temperatur und Druck konstant gleich gehalten.

Ein weiterer Kritikpunkt sind die verwendeten Blutspenden. Es wurde ausschließlich nicht analysiertes Blut von gesunden Spendern für die Versuche verwendet. Diese Eigenschaft trifft wahrscheinlich nur auf einen kleineren Teil, der an einer intrazerebralen Blutung leidenden Patienten, zu.

Die mit dem in vitro Modell erzielten Ergebnisse bieten jedoch eine gute Grundlage für die Übertragung in ein Tiermodell. Somit konnten wir entsprechend dem 3-R-Prinzip eine Datengrundlage bilden, um das Ausmaß an Tierversuchen reduzieren zu können.

## **5.3 Diskussion der Ergebnisse**

### **5.3.1 rtPA**

Um die fibrinolytischen Eigenschaften von Urokinase und Tenecteplase besser einzuordnen, haben wir den Vergleich zu rtPA aufgestellt. Bislang ist rtPA das am Häufigsten verwendete Fibrinolytikum für die minimalinvasive Behandlung der intrazerebralen Blutung (15). Die Fibrinolyse von rtPA war in unserem in vitro Modell vergleichbar mit der Fibrinolyse von Urokinase und Tenecteplase. Urokinase und Tenecteplase zeigten eine Tendenz zu einer höheren Lyse im Vergleich zu rtPA, die statistisch nicht signifikant war.

Die Notwendigkeit zu alternativen thrombolytischen Behandlungen erschließt sich aus den aktuellen Veröffentlichungen. In der MISTIE II Studie wurde gezeigt, dass die Katheter-basierte rtPA-Behandlung die ICB schneller auflösen konnte und sich das Begleitödem reduzierte (9). Allerdings hatte dies in der MISTIE III Studie keinen signifikanten Einfluss auf das klinische Ergebnis im Vergleich zur konservativen Therapie (7). Diskutierte Gründe hierfür sind die vergangene Zeit bis zum Eingriff und die Neurotoxizität von rtPA (10, 12, 82). In der MISTIE III Studie betrug die mediane Zeit vom Beginn der ICB bis zur Randomisierung 47 Stunden (82). Die Meta-Analyse von Gregson et al. über den Vergleich der operativen mit der konservativen Therapie deutete darauf hin, dass eine frühe Operation innerhalb von 8 Stunden bessere

Ergebnisse erzielen würde (47). So könnte das Anstreben einer kürzeren Zeitspanne bis zum Eingriff das Outcome verbessern.

Die mögliche neurotoxische Wirkung von rtPA wird in vielen Veröffentlichungen erwähnt (10-12, 61, 65, 82). Im Gegensatz dazu thematisieren andere Studien eine neuroprotektive Wirkung von tPA (68, 69, 83).

Chevilley et al. haben 39 Studien über neurotoxische oder neuroprotektive Wirkungen von tPA zusammengefasst. Die Autoren schlussfolgerten, dass es bislang keine eindeutigen klinischen Daten gibt, ob und unter welchen Bedingungen tPA beim Menschen neuroprotektiv oder neurotoxisch wirkt (10).

Die physiologische Rolle von tPA ist vielfältig (11). Im intravasalen Raum agiert die Serinprotease tPA hauptsächlich als thrombolytisches Enzym (84). Im zentralen Nervensystem beeinflusst tPA u.a. die Regulierung der Blut-Hirn-Schranke, die synaptische Plastizität, die Neurotransmission, die sympathische Nervenaktivität sowie die neuronale Entwicklung (11, 84, 85).

Unter den berichteten Funktionen im zentralen Nervensystem zeigt tPA sowohl neuroprotektive als auch neurotoxische Wirkungen. Wie tPA solche gegensätzlichen Funktionen vermitteln kann, bleibt unklar, aber es wurden mehrere Hypothesen vorgeschlagen. Diese beinhalten den Reifegrad oder die Art der Neuronen, die tPA-Konzentration, den endogenen oder exogenen Ursprung sowie die Isoform (10). Beispielsweise erwies sich endogenes tPA mit niedrigen Gewebekonzentrationen und niedrig dosiertes exogenes rtPA als neuroprotektiv (84, 85). Nicole et al. und Parcq et al. berichten in ihren Abhandlungen über eine neurotoxische Wirkung bei exogenem rtPA in höheren Konzentrationen (11, 12).

Ein anderes Beispiel bezieht sich auf den neuronalen Zelltyp. In Purkinje-Zellen und kortikalen Neuronen führt rtPA zu einer Neurotoxizität (13, 67). In Neuronen des Hippocampus zeigte rtPA neuroprotektive Effekte (68, 69).

In Anbetracht dieses Problems haben wir Tenecteplase und Urokinase zum Vergleich zu rtPA als Alternative für eine intrazerebrale Verabreichung unter optimierten Bedingungen ausgewählt.

### **5.3.2 Urokinase**

Aufgrund der Diskussion um die Wirkungen von rtPA wurde in den letzten Jahren häufiger wieder Urokinase als mögliches Fibrinolytikum untersucht. Immer mehr klinische Studien haben darüber berichtet, dass Urokinase nicht nur die Rate der

Clotauflösung, sondern auch das Outcome nach fibrinolytischer Therapie der ICB verbessert. (15) Diese Arbeit bezieht sich lediglich auf die Optimierung der Clotauflösung, um das Ausmaß von Tierversuchen zu verringern. Zukünftige Arbeiten könnten sich an der hier erarbeiteten superoptimalen Dosis von 50000 I.E. mit einer Wirkdauer von 20 Minuten orientieren.

In den achtziger und neunziger Jahren wurde Urokinase nach anfänglicher stereotaktischer Clotaspiration zur Fibrinolyse der ICB eingesetzt. 1985 veröffentlichten Niizuma et al. die Ergebnisse von 97 Patienten (73). Außerdem wurden zwei multizentrische Studien zur minimalinvasiven Therapie mit anschließender Urokinasebehandlung durchgeführt: Niizuma und Suzuki haben 1987 145 Patienten behandelt und Hondo et al. 1990 437 Patienten (8). Die Ergebnisse waren vielversprechend, obwohl in den verschiedenen Institutionen unterschiedliche Dosen angewandt wurden. Chang et al. behandelten 62 Patienten mit intrazerebraler Blutung 4-6 Mal täglich 2-8 Tage lang mit 3000 I.E., bis sich das Volumen des Clots um mehr als 80% verringert hatte (39). Li et al. verabreichten bei 36 Patienten alle 8 Stunden für 1-3 Tage 10000 I.E., bis der Clot kleiner als 10 ml war (79). Shen et al. verwendeten täglich zwischen 12000 und 96000 I.E. bis zu 3,3 Tage lang. Bei Teernstra et al. waren es bei 36 Patienten 5000 I.E. alle 6 Stunden bis zu acht Mal und bei Wang et al. bei 195 Patienten je nach Clotgröße zwischen 10000 und 50000 I.E. einmalig (80, 81). Für die Dosisentscheidung wurde kein eindeutiger Hinweis genannt.

Urokinase wurde in den USA 1999 aufgrund von Herstellungsproblemen vom Markt genommen und später wieder eingeführt (15, 86, 87). Dies war unter anderem ein Grund dafür, dass sich rtPA und Fibrinolytika der zweiten Generation wie Teneceplase im klinischen Umfeld am weitesten verbreitet haben (61). Ein anderer Grund war die Möglichkeit einer gezielteren Fibrinolyse bei rtPA und Zweitgeneration-Fibrinolytika (72).

In den letzten Jahren ist Urokinase nach und nach wieder als mögliche fibrinolytische Behandlung für die ICB in Erscheinung getreten (14). Außerdem haben experimentelle Studien eine geringe Toxizität von Urokinase festgestellt, woraufhin die Autoren als klinische Anwendung statt rtPA für die minimalinvasive Behandlung der ICB Urokinase vorschlugen (14, 15).

### 5.3.3 Tenecteplase

Für Tenecteplase ergab sich aus den Versuchen eine superoptimale Dosis von 100 I.E. mit einer Wirkdauer von 30 Minuten. Tenecteplase war bei den größeren 50 ml Clots wirksamer als Urokinase. Bei den älteren Clots war die Wirksamkeit zwischen Urokinase und Tenecteplase vergleichbar. Bei älteren Clots, die mit rtPA behandelt wurden, gab es im Gegensatz dazu einen Wirkverlust (18).

Die Halbwertszeit von Tenecteplase ist mit 20-24 Minuten im Vergleich zu Urokinase und rtPA mit 10-20 Minuten länger (17, 71). Urokinase wird so schneller verbraucht. Außerdem weist Tenecteplase eine hohe Resistenz gegen seinen Inhibitor PAI-1 auf (16). Die längere Halbwertszeit von Tenecteplase und die hohe Resistenz gegen PAI-1 könnte die bessere Wirksamkeit von Tenecteplase bei den größeren Clots erklären. Tenecteplase als Bolus könnte durch die längere Halbwertszeit und den besseren Schutz gegenüber seinem Inhibitor mehr Zeit haben in die äußeren Bereiche der Clots zu diffundieren und so ebenfalls in diesen Bereichen die Fibrinolyse zu starten.

Im Gegensatz zu Urokinase und rtPA wurde Tenecteplase noch nicht zu fibrinolytischen Therapie der intrazerebralen Blutung angewendet.

Für Tenecteplase besteht eine Zulassung für die thrombolytische Therapie beim akuten ST-Streckenhebungs-Herzinfarkt (17). Gegenwärtig wird Tenecteplase für den ischämischen Schlaganfall in Phase-3-Studien getestet (74).

In der randomisierten kontrollierten Phase-3-Studie NOR-TEST (Tenecteplase versus Alteplase zur Behandlung des akuten ischämischen Schlaganfalls (Norwegische Tenecteplase Studie)) wiesen Tenecteplase und rtPA ein ähnliches Sicherheits- und Wirksamkeitsprofil auf. Eine Analyse der bisher publizierten randomisierten Phase-2-Studien zeigte, dass bei der Behandlung mit Tenecteplase im Vergleich zu rtPA ein nicht signifikanter Trend zu einem besseren klinischen Ergebnis bestand. In einer Subgruppenanalyse von Patienten mit positiven Perfusionsmismatch waren die klinischen Ergebnisse in der Tenecteplase-Gruppe signifikant besser (88).

Ein weiterer Anwendungsbereich ist die Behandlung der Lungenarterienembolie. In der Metaanalyse zur Thrombolysetherapie bei akuter Lungenarterienembolie von Marti et al. von 2015 wurden randomisierte kontrollierte Studien mit der Anwendung verschiedener Fibrinolytika beurteilt. Darunter wurden drei Studien mit Tenecteplase ausgewertet (89).

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen eine gute Wirksamkeit von Tenecteplase als Bolus bei großen Clots. Die Anwendung von Tenecteplase bei der minimal invasiven Behandlung von großen intrazerebralen Blutungen könnte mit einer oder zwei Applikationen eine wiederholte Behandlung, wie sie bei rtPA und Urokinase angewendet wird, vermeiden.

#### **5.4 Ausblick**

Eine Übertragung der Ergebnisse dieser Arbeit in ein Tiermodell der intrazerebralen Blutung ist erforderlich, um Tenecteplase, Urokinase und rtPA hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Sicherheit zu vergleichen. Tierversuche sind unabdingbar, da ein in vitro Modell nicht die pathophysiologische Umgebung der intrazerebralen Blutung darstellt. Wir haben das 3-R-Prinzip angewendet. Die hier vorliegenden Daten sind eine gute Grundlage für ein Tiermodell mit großen Tieren.

## 6 Zusammenfassung

Die ICB macht 10-15 % der Schlaganfälle aus (1-3). Die intrazerebrale Blutung ist ein lebensbedrohliches Krankheitsbild mit einer 30-Tagesmortalität von etwa 40% und einer 12-Monatsmortalität von ca. 54% (5).

In der zuletzt veröffentlichten randomisiert kontrollierten Phase-3-Studie zur minimalinvasiven Chirurgie der ICB mit rtPA MISTIE III konnten die funktionellen Ergebnisse im Vergleich zur konservativen Therapie nicht verbessert werden (7). Außerdem haben einige Studien eine Neurotoxizität von rtPA beschrieben (10-12). Tenecteplase und Urokinase stellen eine Alternative zur Thrombolyse mit rtPA dar. Das Ziel war es experimentelle Daten für eine alternative Behandlung der intrazerebralen Blutung zu erarbeiten. In dem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten in vitro Modell der intrazerebralen Blutung wurden die Eigenschaften von Tenecteplase und Urokinase untersucht (18).

Es ergab sich eine superoptimale Dosis und Wirkdauer für Tenecteplase von 100 I.E. bei 30 Minuten und für Urokinase von 50000 I.E. bei 20 Minuten. Beim Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Urokinase und Tenecteplase konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Bei größeren 50 ml Clots war die Fibrinolyse von Tenecteplase im Vergleich zu den Kontrollen signifikant stärker als die Fibrinolyse von Urokinase. Bei den repetitiven Behandlungen wurde eine höhere Lyseeffizienz von Tenecteplase festgestellt. Bei 24 Stunden und 48 Stunden alten Clots gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Tenecteplase und Urokinase, allerdings wirken diese besser als rtPA bei alten Clots (18).

Die in vitro Ergebnisse dieser Arbeit müssen aufgrund der nicht vorhandenen biologischen Umgebung in ein in vivo Modell auf ein Tiermodell übertragen werden. Ebenso ist eine Dosisreduktion auf 60 I.E. Tenecteplase und 30000 I.E. Urokinase denkbar, da bei den Versuchen dieser Arbeit superoptimale Dosen verwendet wurden.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Labovitz DL, Halim A, Boden-Albala B, Hauser WA, Sacco RL. The incidence of deep and lobar intracerebral hemorrhage in whites, blacks, and Hispanics. *Neurology*. 2005;65(4):518-22.
2. Qureshi AI, Tuhim S, Broderick JP, Batjer HH, Hondo H, Hanley DF. Spontaneous intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med*. 2001;344(19):1450-60.
3. Sudlow CL, Warlow CP. Comparable studies of the incidence of stroke and its pathological types: results from an international collaboration. *International Stroke Incidence Collaboration*. *Stroke*. 1997;28(3):491-9.
4. Ariesen MJ, Claus SP, Rinkel GJ, Algra A. Risk factors for intracerebral hemorrhage in the general population: a systematic review. *Stroke*. 2003;34(8):2060-5.
5. Steiner T, Al-Shahi Salman R, Beer R, Christensen H, Cordonnier C, Csiba L, et al. European Stroke Organisation (ESO) guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage. *Int J Stroke*. 2014;9(7):840-55.
6. Cusack TJ, Carhuapoma JR, Ziai WC. Update on the Treatment of Spontaneous Intraparenchymal Hemorrhage: Medical and Interventional Management. *Curr Treat Options Neurol*. 2018;20(1):1.
7. Hanley DF, Thompson RE, Rosenblum M, Yenokyan G, Lane K, McBee N, et al. Efficacy and safety of minimally invasive surgery with thrombolysis in intracerebral haemorrhage evacuation (MISTIE III): a randomised, controlled, open-label, blinded endpoint phase 3 trial. *Lancet*. 2019;393(10175):1021-32.
8. Abdu E, Hanley DF, Newell DW. Minimally invasive treatment for intracerebral hemorrhage. *Neurosurg Focus*. 2012;32(4):E3.
9. Hanley DF, Thompson RE, Muschelli J, Rosenblum M, McBee N, Lane K, et al. Safety and efficacy of minimally invasive surgery plus alteplase in intracerebral haemorrhage evacuation (MISTIE): a randomised, controlled, open-label, phase 2 trial. *Lancet Neurol*. 2016;15(12):1228-37.
10. Chevilly A, Lesept F, Lenoir S, Ali C, Parcq J, Vivien D. Impacts of tissue-type plasminogen activator (tPA) on neuronal survival. *Front Cell Neurosci*. 2015;9:415.
11. Nicole O, Docagne F, Ali C, Margail I, Carmeliet P, MacKenzie ET, et al. The proteolytic activity of tissue-plasminogen activator enhances NMDA receptor-mediated signaling. *Nat Med*. 2001;7(1):59-64.
12. Parcq J, Bertrand T, Montagne A, Baron AF, Macrez R, Billard JM, et al. Unveiling an exceptional zymogen: the single-chain form of tPA is a selective activator of NMDA receptor-dependent signaling and neurotoxicity. *Cell Death Differ*. 2012;19(12):1983-91.
13. Cops EJ, Sashindranath M, Daglas M, Short KM, da Fonseca Pereira C, Pang TY, et al. Tissue-type plasminogen activator is an extracellular mediator of Purkinje cell damage and altered gait. *Exp Neurol*. 2013;249:8-19.
14. Gaberel T, Montagne A, Lesept F, Gauberti M, Lemarchand E, Orset C, et al. Urokinase versus Alteplase for intraventricular hemorrhage fibrinolysis. *Neuropharmacology*. 2014;85:158-65.
15. Tan Q, Chen Q, Niu Y, Feng Z, Li L, Tao Y, et al. Urokinase, a promising candidate for fibrinolytic therapy for intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg*. 2017;126(2):548-57.
16. Tanswell P, Modi N, Combs D, Danays T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tenecteplase in fibrinolytic therapy of acute myocardial infarction. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41(15):1229-45.

17. Rote-Liste-Service-GmbH. Fachinformation für Metalyse® 10000 U [internet] 2017 [zitiert am 24.02.2020] [Available from: <https://www.fachinfo.de/suche/fi/006029>].
18. Keric N, Masomi-Bornwasser J, Muller-Werkmeister H, Kantelhardt SR, König J, Kempfski O, et al. Optimization of Catheter Based rtPA Thrombolysis in a Novel In Vitro Clot Model for Intracerebral Hemorrhage. *Biomed Res Int*. 2017;2017:5472936.
19. Hacke W. Neurologie [E-book]. Heidelberg, Deutschland: Springer; 2016.
20. Schwab S, Schellinger P, Unterberg A, Werner C, Hacke W. *NeuroIntensiv* [E-book]. Heidelberg: Springer; 2015.
21. Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF. Intracerebral haemorrhage. *Lancet*. 2009;373(9675):1632-44.
22. Krishnamurthi RV, Feigin VL, Forouzanfar MH, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, et al. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Glob Health*. 2013;1(5):e259-81.
23. Steiner T. S2e-Leitlinie intrazerebrale Blutungen. Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN) [Internet] 2012 [zitiert am 29.01.2020] [Available from: <https://www.dgn.org/leitlinien/2370-II-28-2012-intrazerebrale-blutungen>].
24. Klingelhöfer, Berthele. *Klinikleitfaden Neurologie* [E-book]. München: Elsevier; 2017.
25. Fewel ME, Thompson BG, Jr., Hoff JT. Spontaneous intracerebral hemorrhage: a review. *Neurosurg Focus*. 2003;15(4):E1.
26. An SJ, Kim TJ, Yoon BW. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Features of Intracerebral Hemorrhage: An Update. *Journal of stroke*. 2017;19(1):3-10.
27. Sturm, Biesalski, Höffken. *Neurologische Pathophysiologie* [E-book]: Springer; 2019.
28. Xi G, Keep RF, Hoff JT. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol*. 2006;5(1):53-63.
29. Qureshi AI, Ali Z, Suri MF, Shuaib A, Baker G, Todd K, et al. Extracellular glutamate and other amino acids in experimental intracerebral hemorrhage: an in vivo microdialysis study. *Crit Care Med*. 2003;31(5):1482-9.
30. Lusardi TA, Wolf JA, Putt ME, Smith DH, Meaney DF. Effect of acute calcium influx after mechanical stretch injury in vitro on the viability of hippocampal neurons. *J Neurotrauma*. 2004;21(1):61-72.
31. Nakamura T, Keep RF, Hua Y, Nagao S, Hoff JT, Xi G. Iron-induced oxidative brain injury after experimental intracerebral hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2006;96:194-8.
32. Nakamura T, Xi G, Park JW, Hua Y, Hoff JT, Keep RF. Holo-transferrin and thrombin can interact to cause brain damage. *Stroke*. 2005;36(2):348-52.
33. Schwab S, Krieger D, Müllges W, Hamann G, Hacke W. *Neurologische Intensivmedizin* [E-book]. Berlin Heidelberg: Springer; 1999.
34. Hemphill JC, 3rd, Greenberg SM, Anderson CS, Becker K, Bendok BR, Cushman M, et al. Guidelines for the Management of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2015;46(7):2032-60.
35. Demchuk AM, Dowlatshahi D, Rodriguez-Luna D, Molina CA, Blas YS, Dzialowski I, et al. Prediction of haematoma growth and outcome in patients with intracerebral haemorrhage using the CT-angiography spot sign (PREDICT): a prospective observational study. *Lancet Neurol*. 2012;11(4):307-14.



36. Rizos T, Dorner N, Jenetzky E, Sykora M, Mundiyanapurath S, Horstmann S, et al. Spot signs in intracerebral hemorrhage: useful for identifying patients at risk for hematoma enlargement? *Cerebrovasc Dis.* 2013;35(6):582-9.
37. Hersh EH, Gologorsky Y, Chartrain AG, Mocco J, Kellner CP. Minimally Invasive Surgery for Intracerebral Hemorrhage. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2018;18(6):34.
38. Gregorio T, Pipa S, Cavaleiro P, Atanasio G, Albuquerque I, Chaves PC, et al. Assessment and Comparison of the Four Most Extensively Validated Prognostic Scales for Intracerebral Hemorrhage: Systematic Review with Meta-analysis. *Neurocrit Care.* 2019;30(2):449-66.
39. Chang YH, Hwang SK. Frameless stereotactic aspiration for spontaneous intracerebral hemorrhage and subsequent fibrinolysis using urokinase. *J Cerebrovasc Endovasc Neurosurg.* 2014;16(1):5-10.
40. Cordonnier C, Demchuk A, Ziai W, Anderson CS. Intracerebral haemorrhage: current approaches to acute management. *Lancet.* 2018;392(10154):1257-68.
41. Garcia D, Crowther M. Management of bleeding in patients receiving direct oral anticoagulants [Internet]: uptodate; 2020 [zitiert am 07.02.2020] [Available from: [https://www.uptodate.com/contents/management-of-bleeding-in-patients-receiving-direct-oral-anticoagulants?search=andexanet&topicRef=1325&source=see\\_link#references](https://www.uptodate.com/contents/management-of-bleeding-in-patients-receiving-direct-oral-anticoagulants?search=andexanet&topicRef=1325&source=see_link#references)].
42. EMA. Ondexxya [Internet] 2020 [zitiert am 07.02.2020] [Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/ondexxya>].
43. Morgan T, Zuccarello M, Narayan R, Keyl P, Lane K, Hanley D. Preliminary findings of the minimally-invasive surgery plus rTPA for intracerebral hemorrhage evacuation (MISTIE) clinical trial. *Acta Neurochir Suppl.* 2008;105:147-51.
44. Kreitzer N, Adeoye O. An update on surgical and medical management strategies for intracerebral hemorrhage. *Semin Neurol.* 2013;33(5):462-7.
45. Mendelow AD, Gregson BA, Fernandes HM, Murray GD, Teasdale GM, Hope DT, et al. Early surgery versus initial conservative treatment in patients with spontaneous supratentorial intracerebral haematomas in the International Surgical Trial in Intracerebral Haemorrhage (STICH): a randomised trial. *Lancet.* 2005;365(9457):387-97.
46. Mendelow AD, Gregson BA, Rowan EN, Murray GD, Gholkar A, Mitchell PM, et al. Early surgery versus initial conservative treatment in patients with spontaneous supratentorial lobar intracerebral haematomas (STICH II): a randomised trial. *Lancet.* 2013;382(9890):397-408.
47. Gregson BA, Broderick JP, Auer LM, Batjer H, Chen XC, Juvela S, et al. Individual patient data subgroup meta-analysis of surgery for spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 2012;43(6):1496-504.
48. Takeuchi S, Wada K, Nagatani K, Otani N, Mori K. Decompressive hemicraniectomy for spontaneous intracerebral hemorrhage. *Neurosurg Focus.* 2013;34(5):E5.
49. Scaggiante J, Zhang X, Mocco J, Kellner CP. Minimally Invasive Surgery for Intracerebral Hemorrhage. *Stroke.* 2018;49(11):2612-20.
50. Mould WA, Carhuapoma JR, Muschelli J, Lane K, Morgan TC, McBee NA, et al. Minimally invasive surgery plus recombinant tissue-type plasminogen activator for intracerebral hemorrhage evacuation decreases perihematomal edema. *Stroke.* 2013;44(3):627-34.
51. Hanley DF, Lane K, McBee N, Ziai W, Tuhim S, Lees KR, et al. Thrombolytic removal of intraventricular haemorrhage in treatment of severe stroke: results of the randomised, multicentre, multiregion, placebo-controlled CLEAR III trial. *Lancet.* 2017;389(10069):603-11.

52. Vespa P, Hanley D, Betz J, Hoffer A, Engh J, Carter R, et al. ICES (Intraoperative Stereotactic Computed Tomography-Guided Endoscopic Surgery) for Brain Hemorrhage: A Multicenter Randomized Controlled Trial. *Stroke*. 2016;47(11):2749-55.
53. Fiorella D, Gutman F, Woo H, Arthur A, Aranguren R, Davis R. Minimally invasive evacuation of parenchymal and ventricular hemorrhage using the Apollo system with simultaneous neuronavigation, neuroendoscopy and active monitoring with cone beam CT. *Journal of neurointerventional surgery*. 2015;7(10):752-7.
54. de Oliveira Manoel AL. Surgery for spontaneous intracerebral hemorrhage. *Critical care (London, England)*. 2020;24(1):45.
55. Corporation N. ENRICH: Early MiNimally-invasive Removal of IntraCerebral Hemorrhage (ICH) (ENRICH) [Internet] 2016 [zitiert am 17.02.2020] [Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02880878>].
56. J. Mocco ISoMaMS. INVEST Feasibility - Minimally Invasive Endoscopic Surgery With Apollo in Patients With Brain Hemorrhage [Internet] 2016 [zitiert am 17.02.2020] [Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02654015?term=INVEST&recrs=a&draw=2&rank=1>].
57. J. Mocco ISoMaMS. INVEST-REGISTRY: Minimally Invasive Endoscopic Surgical Treatment With Apollo/Artemis in Patients With Brain Hemorrhage [Internet] 2016 [zitiert am 17.02.2020] [Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02661672>].
58. Inc. P. MIND: Artemis in the Removal of Intracerebral Hemorrhage [Internet] 2017 [zitiert am 17.02.2020] [Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03342664>].
59. Heinrich, Müller, Graeve. Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie [E-book]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2014.
60. Schmidt, Lang, Heckmann. Physiologie des Menschen [E-book]. Heidelberg: Springer; 2011.
61. Gurman P, Miranda OR, Nathan A, Washington C, Rosen Y, Elman NM. Recombinant tissue plasminogen activators (rtPA): a review. *Clin Pharmacol Ther*. 2015;97(3):274-85.
62. Stassen JM, Arnout J, Deckmyn H. The hemostatic system. *Curr Med Chem*. 2004;11(17):2245-60.
63. Rote-Liste-Service-GmbH. Fachinformation für Actilyse® [internet] 2019 [zitiert am 24.02.2020] [Available from: <https://www.fachinfo.de/suche/fi/000011>].
64. Keric N, Maier GS, Samadani U, Kallenberg K, Dechent P, Brueck W, et al. Tissue plasminogen activator induced delayed edema in experimental porcine intracranial hemorrhage: reduction with plasminogen activator inhibitor-1 administration. *Transl Stroke Res*. 2012;3(Suppl 1):88-93.
65. Rohde V, Rohde I, Thiex R, Ince A, Jung A, Duckers G, et al. Fibrinolysis therapy achieved with tissue plasminogen activator and aspiration of the liquefied clot after experimental intracerebral hemorrhage: rapid reduction in hematoma volume but intensification of delayed edema formation. *J Neurosurg*. 2002;97(4):954-62.
66. Thiex R, Tsirka SE. Brain edema after intracerebral hemorrhage: mechanisms, treatment options, management strategies, and operative indications. *Neurosurg Focus*. 2007;22(5):E6.
67. Li J, Yu L, Gu X, Ma Y, Pasqualini R, Arap W, et al. Tissue plasminogen activator regulates Purkinje neuron development and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(26):E2410-9.
68. Flavin MP, Zhao G. Tissue plasminogen activator protects hippocampal neurons from oxygen-glucose deprivation injury. *J Neurosci Res*. 2001;63(5):388-94.

69. Echeverry R, Wu J, Haile WB, Guzman J, Yepes M. Tissue-type plasminogen activator is a neuroprotectant in the mouse hippocampus. *J Clin Invest*. 2010;120(6):2194-205.
70. Mican J, Toul M, Bednar D, Damborsky J. Structural Biology and Protein Engineering of Thrombolytics. *Comput Struct Biotechnol J*. 2019;17:917-38.
71. Rote-Liste-Service-GmbH. Fachinformation für Urokinase 100000 HS medac [Internet] 2018 [zitiert am 24.02.2020] [Available from: <https://www.fachinfo.de/suche/fi/014717>].
72. Adivitiya, Khasa YP. The evolution of recombinant thrombolytics: Current status and future directions. *Bioengineered*. 2017;8(4):331-58.
73. Niizuma H, Otsuki T, Johkura H, Nakazato N, Suzuki J. CT-guided stereotactic aspiration of intracerebral hematoma--result of a hematoma-lysis method using urokinase. *Appl Neurophysiol*. 1985;48(1-6):427-30.
74. Logallo N, Kvistad CE, Thomassen L. Therapeutic Potential of Tenecteplase in the Management of Acute Ischemic Stroke. *CNS Drugs*. 2015;29(10):811-8.
75. Davydov L, Cheng JW. Tenecteplase: a review. *Clin Ther*. 2001;23(7):982-97; discussion 1.
76. Masomi-Bornwasser J, Winter P, Muller-Werkmeister H, Strand S, König J, Kempfski O, et al. Combination of ultrasound and rtPA enhances fibrinolysis in an In Vitro clot system. *PLoS One*. 2017;12(11):e0188131.
77. Masomi-Bornwasser J, Winter P, Neulen A, Kantelhardt SR, König J, Kempfski O, et al. Doppler sonography enhances rtPA-induced fibrinolysis in an in vitro clot model of spontaneous intracerebral hemorrhages. *PLoS One*. 2019;14(1):e0210810.
78. Keric N, Dobel M, Krenzlin H, Kurz E, Tanyildizi Y, Heimann A, et al. Comparative analysis of fibrinolytic properties of Alteplase, Tenecteplase and Urokinase in an in vitro clot model of intracerebral haemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc*. 2020;29(9).
79. Li Y, Yang R, Li Z, Yang Y, Tian B, Zhang X, et al. Surgical Evacuation of Spontaneous Supratentorial Lobar Intracerebral Hemorrhage: Comparison of Safety and Efficacy of Stereotactic Aspiration, Endoscopic Surgery, and Craniotomy. *World Neurosurg*. 2017;105:332-40.
80. Teernstra OP, Evers SM, Lodder J, Leffers P, Franke CL, Blaauw G, et al. Stereotactic treatment of intracerebral hematoma by means of a plasminogen activator: a multicenter randomized controlled trial (SICHPA). *Stroke*. 2003;34(4):968-74.
81. Wang WZ, Jiang B, Liu HM, Li D, Lu CZ, Zhao YD, et al. Minimally invasive craniopuncture therapy vs. conservative treatment for spontaneous intracerebral hemorrhage: results from a randomized clinical trial in China. *Int J Stroke*. 2009;4(1):11-6.
82. Cordonnier C, Tymianski M. Mistie Iii. *Stroke*. 2019;50(6):1634-5.
83. Lemarchand E, Maubert E, Haelewyn B, Ali C, Rubio M, Vivien D. Stressed neurons protect themselves by a tissue-type plasminogen activator-mediated EGFR-dependent mechanism. *Cell Death Differ*. 2016;23(1):123-31.
84. Wu F, Nicholson AD, Haile WB, Torre E, An J, Chen C, et al. Tissue-type plasminogen activator mediates neuronal detection and adaptation to metabolic stress. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33(11):1761-9.
85. Baron A, Hommet Y, Casse F, Vivien D. Tissue-type plasminogen activator induces plasmin-dependent proteolysis of intracellular neuronal nitric oxide synthase. *Biol Cell*. 2010;102(10):539-47.
86. Hartnell GG, Gates J. The case of Abbokinase and the FDA: the events leading to the suspension of Abbokinase supplies in the United States. *J Vasc Interv Radiol*. 2000;11(7):841-7.

87. Gates J, Hartnell GG. When urokinase was gone: Commentary on another year of thrombolysis without urokinase. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*. 2004;15(1):1-5.
88. Logallo N, Novotny V, Assmus J, Kvistad CE, Alteheld L, Ronning OM, et al. Tenecteplase versus alteplase for management of acute ischaemic stroke (NOR-TEST): a phase 3, randomised, open-label, blinded endpoint trial. *Lancet Neurol*. 2017;16(10):781-8.
89. Marti C, John G, Konstantinides S, Combescure C, Sanchez O, Lankeit M, et al. Systemic thrombolytic therapy for acute pulmonary embolism: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*. 2015;36(10):605-14.

## 8 Anhang

### 8.1 NIHSS

<b>Funktionsbereiche</b>	<b>Abstufung</b>
1a: Vigilanz	Vigilanz testen: 0: Wach 1: Benommen 2: Stuporös 3: Komatös
1b: Orientierung	Frage nach Monat und Alter 0: Beide Fragen richtig beantwortet 1: Eine Frage richtig beantwortet 2: Keine Frage richtig beantwortet
1c: Befolgung von Aufforderungen	Aufforderung, die Augen und die Faust zu schließen 0: Führt beide Aufforderungen richtig aus 1: Führt nur eine der Aufforderungen richtig aus 2: Führt keine der Aufforderungen richtig aus
2: Blickparese	Aufforderung, dem Finger des Untersuchers zu folgen (Finger wird horizontal durch das Blickfeld geführt) 0: Normal 1: Partielle Blickparese 2: Komplette Blickparese oder forcierte Blickdeviation
3: Gesichtsfeld	Grobe Gesichtsfeld-Perimetrie 0: Keine Einschränkung 1: Partielle einseitige Hemianopsie 2: Komplette einseitige Hemianopsie 3: Blindheit oder komplette beidseitige Hemianopsie
4: Fasziale Parese	Mimik prüfen 0: Normal und symmetrische Motorik 1: Geringe Parese 2: Partielle Parese 3: Vollständige Parese
5: a+b Armparese	Aufforderung, den Arm anzuheben (rechts und links getrennt testen, Punktwerte addieren!) 0: Kein Absinken 1: Leichtes Absinken des Arms

	<p>2: Absinken auf Bett</p> <p>3: Kein Anheben gegen Schwerkraft möglich</p> <p>4: Vollständige Armparese</p>
6: a+b Beinparese	<p>Aufforderung, das Bein anzuheben (rechts und links getrennt testen, Punktwerte addieren!)</p> <p>0: Kein Absinken</p> <p>1: Absinken</p> <p>2: Absinken auf Bett</p> <p>3: Kein Anheben gegen Schwerkraft möglich</p> <p>4: Vollständige Beinparese</p>
7: Extremitätenataxie	<p>Aufforderung zum Finger-Nase-Versuch und Knie-Hacke-Versuch</p> <p>0: Keine Ataxie</p> <p>1: Ataxie einer Extremität</p> <p>2: Ataxie beider Extremitäten</p>
8: Hemihypästhesie	<p>Testen von Berührungsempfinden und Schmerz an beiden Körperhälften</p> <p>0: Keine Hypästhesie</p> <p>1: Leichte Hypästhesie</p> <p>2: Schwere Hypästhesie</p>
9: Aphasie	<p>Sprache beobachten, ggf. Gegenstände benennen lassen</p> <p>0: Keine Aphasie</p> <p>1: Leichte Aphasie</p> <p>2: Schwere Aphasie</p> <p>3: Global/stumm</p>
10: Dysarthrie	<p>Sprache beobachten, ggf. Wortliste lesen lassen</p> <p>0: Keine Dysarthrie</p> <p>1: Leichte Dysarthrie</p> <p>2: Schwer Dysarthrie/stumm</p>
11: Neglect	<p>Auslöschungs- und Vernachlässigungsphänomene prüfen</p> <p>0: Kein Neglect</p> <p>1: Neglect einer Modalität</p> <p>2: Neglect mehrerer Modalitäten oder schwerer halbseitiger Neglect</p>

Tab. 18: NIHSS (33)

## 8.2 GCS

Punkte	Augenöffnen	Verbale Reaktion	Motorische Reaktion
6			befolgt Aufforderungen
5		orientiert und konversationsfähig	reagiert gezielt auf Schmerzreize
4	spontan	desorientiert, aber konversationsfähig	reagiert ungezielt auf Schmerzreize
3	bei Aufforderung	unzusammenhängende Wörter	reagiert mit Beugesynergismen auf Schmerzreiz
2	bei Schmerzreiz	unverständliche Laute	reagiert mit Streckesynergismen auf Schmerzreiz
1	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion

Tab. 19: GCS (33)

## 8.3 mRS

Punktwert	Behinderungsgrad	Klinik
0	Keine Behinderung, keine Symptomatik	Überhaupt keine Symptome
1	Keine signifikante Behinderung trotz Symptomatik	Kann sich eigenständig versorgen
2	Leichte Behinderung	Braucht in einzelnen Bereichen wenig Hilfe Fast selbstständige Versorgung
3	Mäßige Behinderung	Braucht Hilfe in mehreren Bereichen Weitgehend selbstständige Versorgung Gehen noch ohne Hilfe
4	Schwere Behinderung	Braucht Hilfe bei Aktivitäten des tägl. Lebens Keine selbstständige Versorgung möglich Gehen nur mit Hilfe

5	Sehr schwere Behinderung	Ständige Hilfe und Überwachung notwendig Bettlägerigkeit Inkontinenz
6	Tod	

Tab. 20: mRS (33)

## 8.4 Ergebnisse

### 8.4.1 Ergebnisse der Versuchsreihe „Ermittlung der Wirkdauer“

		Gewicht vorher [g]	Gewicht nachher [g]	Gewichts- reduktion in %	Endgewicht in %
<b>Tenecteplase (30 Min., 100 I.E.)</b>	Versuch1	15,7	2,8	82,17	17,83
	Kontrolle1	17,2	12,4	27,91	72,09
	Versuch2	18,9	6,8	64,02	35,98
	Kontrolle2	19,6	11,2	42,86	57,14
	Versuch3	20,2	8,1	59,90	40,10
	Kontrolle3	17,7	10,2	42,37	57,63
<b>Tenecteplase (60 Min., 100 I.E.)</b>	Versuch1	16,4	5,8	64,63	35,37
	Kontrolle1	19,2	10,9	43,23	56,77
	Versuch2	19,1	8,3	56,54	43,46
	Kontrolle2	15,2	10,6	30,26	69,74
	Versuch3	20,6	10	51,46	48,54
	Kontrolle3	16	11	31,25	68,75
<b>Urokinase (20 Min., 50000 I.E.)</b>	Versuch1	17,7	6,6	62,71	37,29
	Kontrolle1	19,1	13,8	27,75	72,25
	Versuch2	21,7	8,9	58,99	41,01
	Kontrolle2	20,1	12,3	38,81	61,19
	Versuch3	16,8	4,4	73,81	26,19
	Kontrolle3	17,3	10,3	40,46	59,54



<b>Urokinase (60 Min., 50000 I.E.)</b>	Versuch1	17,9	3,7	79,33	20,67
	Kontrolle1	17,3	12,1	30,06	69,94
	Versuch2	18,3	5,1	72,13	27,87
	Kontrolle2	21,3	12,1	43,19	56,81
	Versuch3	17,5	6,7	61,71	38,29
	Kontrolle3	20,6	13,1	36,41	63,59

Tab. 21 Ergebnisse der Versuchsreihe „Ermittlung der Wirkdauer“

#### 8.4.2 Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“

		<b>Gewicht vorher [g]</b>	<b>Gewicht nachher [g]</b>	<b>Gewichts- reduktion in %</b>	<b>Endgewicht in %</b>
<b>Tenecteplase (30 Min., 10 I.E.)</b>	Versuch1	21,8	10	54,13	45,87
	Kontrolle1	19,1	10,7	43,98	56,02
	Versuch2	18,2	9,2	49,45	50,55
	Kontrolle2	17,5	9,6	45,14	54,86
	Versuch3	20,4	8,4	58,82	41,18
	Kontrolle3	20	10,1	49,50	50,50
<b>Tenecteplase (30 Min., 25 I.E.)</b>	Versuch1	18,5	8,1	56,22	43,78
	Kontrolle1	17,7	9,6	45,76	54,24
	Versuch2	19	10,51	44,68	55,32
	Kontrolle2	21,1	13,3	36,97	63,03
	Versuch3	20,2	8,2	59,41	40,59
	Kontrolle3	18,2	9,7	46,70	53,30
<b>Tenecteplase (30 Min., 50 I.E.)</b>	Versuch1	24	6	75,00	25,00
	Kontrolle1	16	10,5	34,36	65,63
	Versuch2	17,6	9	48,86	51,14
	Kontrolle2	16,6	12,2	26,51	73,49
	Versuch3	21,8	10	54,13	45,87
	Kontrolle3	18,5	12,5	32,43	67,57

<b>Tenecteplase</b> (30 Min., 300 I.E.)	Versuch1	19,9	7,6	61,81	38,19
	Kontrolle1	18,4	11,3	38,59	61,41
	Versuch2	19,4	7,5	61,34	38,66
	Kontrolle2	16	13,4	16,25	83,75
	Versuch3	20,1	7,6	62,19	37,81
	Kontrolle3	16,7	9,8	41,32	58,68
<b>Tenecteplase</b> (30 Min., 500 I.E.)	Versuch1	20,9	6,8	67,46	32,54
	Kontrolle1	16,8	8	52,38	47,62
	Versuch2	18,6	7,5	59,68	40,32
	Kontrolle2	19,8	11	44,44	55,56
	Versuch3	19,7	7,5	61,93	38,07
	Kontrolle3	18,2	10,6	41,76	58,24

Tab. 22: Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“-Tenecteplase (100 I.E. siehe 8.4.1)

		<b>Gewicht vorher [g]</b>	<b>Gewicht nachher [g]</b>	<b>Gewichts- reduktion in %</b>	<b>Endgewicht in %</b>
<b>Urokinase</b> (20 Min., 3000 I.E.)	Versuch1	20,2	11,7	42,08	57,92
	Kontrolle1	19,2	11,6	39,58	60,42
	Versuch2	21,7	10,2	53,00	47,00
	Kontrolle2	19,1	10,7	43,98	56,02
	Versuch3	18,8	10,9	42,02	57,98
	Kontrolle3	17,6	10,6	39,77	60,23
<b>Urokinase</b> (20 Min., 10000 I.E.)	Versuch1	16,3	8,5	47,85	52,15
	Kontrolle1	15,1	10,8	28,48	71,52
	Versuch2	18,6	9,1	51,08	48,92
	Kontrolle2	18,4	9,7	47,28	52,72
	Versuch3	19	7,5	60,53	39,47
	Kontrolle3	18,3	11,1	39,34	60,66
<b>Urokinase</b> (20 Min., 50000 I.E.)	Versuch1	17,4	6,9	60,34	39,66
	Kontrolle1	17	9,5	44,12	55,88
	Versuch2	19	5,1	73,16	26,84
	Kontrolle2	21,2	13,9	34,43	65,57

	Versuch3	17,5	6,4	63,43	36,57
	Kontrolle3	18	9	50,00	50,00
<b>Urokinase (20 Min., 100000 I.E.)</b>	Versuch1	15	4	73,33	26,67
	Kontrolle1	19,6	12,8	34,69	65,31
	Versuch2	20,3	6	70,44	29,56
	Kontrolle2	16,5	7,9	52,12	47,88
	Versuch3	15,2	3,7	75,66	24,34
	Kontrolle3	17,9	9,6	46,37	53,63

Tab. 23: Ergebnisse der Versuchsreihe „Dosisfindung“-Urokinase (50000 I.E. siehe 8.4.1)

#### 8.4.3 Ergebnisse der Versuchsreihe „Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase“

		<b>Gewicht vorher [g]</b>	<b>Gewicht nachher [g]</b>	<b>Gewichts- reduktion in %</b>	<b>Endgewicht in %</b>
<b>rtPA (1mg, 15 Min.)</b>	Versuch1	16,3	4,6	71,78	28,22
	Kontrolle1	11,7	7,8	33,33	66,67
	Versuch2	15	7,3	51,33	48,67
	Kontrolle2	15,9	14	11,95	88,05
	Versuch3	16,6	5,5	66,87	33,13
	Kontrolle3	18,4	10,8	41,30	58,70

Tab. 24: Ergebnisse der Versuchsreihe „Vergleich der Fibrinolyse von rtPA mit Tenecteplase und Urokinase (Tenecteplase 100 I.E., 30 Min. und Urokinase 50000 I.E., 20 Min. siehe 8.4.1)

#### 8.4.4 Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“

<b>Tenecteplase</b>	<b>Versuch 1</b>	<b>Versuch 2</b>	<b>Versuch 3</b>
<b>Gewicht vorher [g]</b>	18,8	17,9	20,7
<b>Gewicht nach der 1. Applikatin [g]</b>	6,8	6,8	10,7

<b>1. Gewichtsreduktion in %</b>	63,83	62,01	48,31
<b>Gewicht nach der 2. Applikatin [g]</b>	4,1	4,7	7,3
<b>2. Gewichtsreduktion in %</b>	39,71	30,88	31,78
<b>Gewicht nach der 3. Applikatin [g]</b>	3,3	3,7	5,6
<b>3 Gewichtsreduktion in %</b>	19,51	21,28	23,29
<b>Endgewicht in %</b>	17,55	20,67	27,05

Tab. 25: Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“-Tenecteplase

<b>Urokinase</b>	<b>Versuch 1</b>	<b>Versuch 2</b>	<b>Versuch 3</b>
<b>Gewicht vorher [g]</b>	17,2	16,6	20,7
<b>Gewicht nach der 1. Applikatin [g]</b>	10,9	11,1	8,7
<b>1. Gewichtsreduktion in %</b>	36,63	33,13	57,97
<b>Gewicht nach der 2. Applikatin [g]</b>	7,6	7,3	6,5
<b>2. Gewichtsreduktion in %</b>	30,28	34,23	25,29
<b>Gewicht nach der 3. Applikatin [g]</b>	5,2	5,4	4,4
<b>3 Gewichtsreduktion in %</b>	31,58	26,03	32,31
<b>Endgewicht in %</b>	30,23	32,53	21,26

Tab. 26: Ergebnisse der Versuchsreihe „Repetitive Behandlungen“-Urokinase

#### 8.4.5 Ergebnisse der Versuchsreihe „24 und 48 Stunden Inkubation“

		<b>Gewicht vorher [g]</b>	<b>Gewicht nachher [g]</b>	<b>Gewichts- reduktion in %</b>	<b>Endgewicht in %</b>
<b>Tenecteplase, 24 Stunden Inkubation</b>	Versuch1	19,4	9,9	48,97	51,03
	Versuch2	22,6	11,5	49,12	50,88
	Versuch3	16,4	9,4	42,68	57,32
<b>Urokinase 24 Stunden Inkubation</b>	Versuch1	17,5	12,6	28,00	72,00
	Versuch2	19,9	10,8	45,73	54,27
	Versuch3	17,5	10,2	41,71	58,29
<b>Tenecteplase 48 Stunden Inkubation</b>	Versuch1	16,5	6,5	60,61	39,39
	Versuch2	15,5	10	35,48	64,52
	Versuch3	12,1	7,8	35,54	64,46
<b>Urokinase 48 Stunden Inkubation</b>	Versuch1	17,9	7,5	58,10	41,90
	Versuch2	15,4	8,5	44,81	55,19
	Versuch3	14	9,8	30,00	70,00

Tab. 27: Ergebnisse der Versuchsreihe „24 und 28 Stunden Inkubation“

#### 8.4.6 Ergebnisse der Versuchsreihe „50 ml Clots“

	<b>Gewicht vorher [g]</b>	<b>Gewicht nachher [g]</b>	<b>Gewichts- reduktion in %</b>	<b>Endgewicht in %</b>
<b>Versuch1 Tenecteplase</b>	37	14,1	61,89	38,11
<b>Versuch1 Urokinase</b>	40	17,8	55,50	44,50
<b>Kontrolle1</b>	33,5	26,5	20,90	79,10
<b>Versuch2 Tenecteplase</b>	41,4	13,1	68,36	31,64

<b>Versuch2</b>	30,5	15,5	49,18	50,82
<b>Urokinase</b>				
<b>Kontrolle2</b>	29,8	18,7	37,25	62,75
<b>Versuch3</b>	44,9	9,4	79,06	20,94
<b>Tenecteplase</b>				
<b>Versuch3</b>	31	17,1	44,84	55,16
<b>Urokinase</b>				
<b>Kontrolle3</b>	32	19,4	39,38	60,63
<b>Versuch4</b>	42,8	18,5	56,78	43,22
<b>Tenecteplase</b>				
<b>Versuch4</b>	41,4	23,3	43,72	56,28
<b>Urokinase</b>				
<b>Kontrolle4</b>	41,1	25,9	36,98	63,02
<b>Versuch5</b>	26,8	14,8	44,78	55,22
<b>Tenecteplase</b>				
<b>Versuch5</b>	25,3	17	32,81	67,19
<b>Urokinase</b>				
<b>Kontrolle5</b>	23,6	19,2	18,64	81,36

Tab. 28: Ergebnisse der Versuchsreihe „50ml Clot



## Lebenslauf - Melanie Döbel





