

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

Untersuchung der adaptiven Sonothrombolyse in einem in vitro Model der
intrazerebralen Blutung

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

Vorgelegt von

Philipp Winter
aus Völklingen

Mainz, 2020

Tag der Promotion:

06. Juli 2021

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturdiskussion	2
2.1 Intrazerebrale Blutungen: Nomenklatur und Definition	2
2.2 Epidemiologie	2
2.3 Ätiologie und Pathophysiologie.....	4
2.3.1 Pathophysiologie.....	4
2.3.2 Arterielle Hypertonie als Ursache der intrazerebralen Blutung	6
2.3.3 Zerebrale Amyloidangiopathie	7
2.3.4 Gefäßmalformationen	9
2.3.5 Antikoagulantien, Thrombozytenaggregationshemmer und Gerinnungsstörungen.....	9
2.4 Klinik	10
2.5 Komplikationen	10
2.6 Diagnostik	12
2.7 Therapie.....	13
2.7.1 Konservative Therapie	13
2.7.1.1 Blutdrucksenkung und Senkung des intrakraniellen Drucks	13
2.7.1.2 Therapie epileptischer Anfälle.....	14
2.7.1.3 Therapie der Hirnblutung nach oraler Antikoagulation	15
2.7.2 Neurochirurgische Therapie.....	17
2.7.2.1 Supratentorielle spontane Hirnblutungen.....	17
2.7.2.2 Infratentorielle nichtaneurysmatische Hirnblutungen	20
2.8 Prognose	21
2.9 Ultraschall und seine Verwendung in der Medizin.....	21
2.10 Fibrinolyse	24
2.10.1 Fibrinolytisches System	24
2.10.2 Rekombinanter gewebebeständiger Plasminogenaktivator (rtPA)	25
2.11 Vorveröffentlichung.....	26
3. Material und Methoden	28
3.1 Material.....	28
3.2 Vorbereitung der Blutclots	29
3.3 Clotmodel	30
3.4. Ultraschallthrombolyse mittels Endosonographiesonde.....	31
3.5 APRP-Messungen	33
3.6 Morphologische Analyse der Blutclots.....	34
3.7 Statistik	34

4. Ergebnisse	35
4.1 Ergebnisse der in-vitro Sonothrombolyse	35
4.1.1 Spontane Lyse, rtPA bedingte Lyse, Sonothrombolyse und die kombinierte Therapie	35
4.1.2 Lyseradius der verschiedenen Ultraschallfrequenzen	37
4.1.3 Acoustic Peak Rarefactional Pressure Messungen bei Ultraschall-Anwendung	38
4.1.4 Temperaturmessung bei der Ultraschallanwendung	41
4.1.5 Morphologische Analyse.....	42
5. Diskussion	47
5.1 In-vitro Sonothrombolyse.....	48
5.2 Sicherheit der Anwendung von Ultraschall zur Thrombolyse	52
6. Zusammenfassung und Ausblick	55
7. Literaturverzeichnis	57

Verzeichnis der Abkürzungen

Abb.	Abbildung
APRP	Acoustic Peak Rarefaction Pressure
AVM	Arteriovenöse Malformation
(Blut-) Clot	Koagel, Blutgerinnsel
bzw.	Beziehungsweise
CAA	Zerebrale amyloide Angiopathie
CBF	Zerebraler Blutfluss
cCT	Craniale Computertomographie
cm	Zentimeter = 0,01 Meter
CT	Computertomographie
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
ESO	European Stroke Organisation
EVD	Externe Ventrikel Drainage
FFP	Fresh frozen plasma
g	Gramm
GCS	Glasgow Coma Scale
h	Stunde(n)
H&E	Hämatoxylin-Eosin Färbung
ICB, ICH	Intrazerebrale Blutung
ICH-Score	Intrazerebral Hemorrhage Score
ICH-FOS	Intrazerebrale Hemorrhage functional outcome score
ICP	Intracranial pressure
IE	Internationale Einheit(en)
IVH	Intraventrikuläre Blutung
i.d.R.	in der Regel
kPa	Kilopascal = 1000 Pascal
l	Liter
Lyse	Thrombolyse, Auflösen eines Blutgerinnsels
m	Meter
MAP	Mean arterial pressure
MHz	Megahertz = 1 Millionen Hertz
MI	Mechanischer Index

min	Minute(n)
MIS	minmal-invasive surgery
MISTIE	Minimally Invasive Surgery and rtPA for Intracerebral Hemorrhage Evacuation
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
MPa	Megapascal = 1 Millionen Pascal
MRT	Magnetresonanztomographie
NaCl	Natriumchlorid
NIHSS/ NIH Stroke Scale/-Score	National Institutes of Health Stroke Scale
NOAK	Neue orale Antikoagulantien
OAT	orale Antikoagulationstherapie
OP	Operation
PPSB	Prothombinkonzentrat
PVDF	Piezoelektrisches Polyvinylidenfluorid
rtPA	recombinant tissue Plasminogen Activator, rekombinanter gewebespezifischer Plasminogenaktivator
Tab.	Tabelle
TIA	Transitorisch ischämische Attacke
tPA	gewebespezifischer Plasminogenaktivator
U	Einheit(en)
VHF	Vorhofflimmern
VKA	Vitamin K- Antagonist
VKA-assoziierte ICB	Vitamin-K Antagonisten assoziierte intrazerebrale Blutung
μ	Mikro, 10 ⁻⁶
°C	Grad Celsius

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1: Altersstandardisierte Inzidenz pro 100.000 Personenjahre der intracerebralen Blutung für 1990 (A), für 2005 (B) und für 2010 (C).....	3
Abbildung 2: Lokalisationen der intrazerebralen Blutung	5
Abbildung 3: Darstellung der modifizierten Boston-Kriterien zur Diagnostik der zerebralen Amyloidangiopathie nach Linn et al., Block et al. und Schaumberg et al.....	8
Abbildung 4: Ansicht Blutclot bei der Verwendung von 10 MHz (eigene Darstellung)	31
Abbildung 5: Schematische Darstellung des Sichtfensters der Endosonographiesonde	31
Abbildung 6: Darstellung der Positionierung des Ultraschallkatheters	32
Abbildung 7: Darstellung des verwendeten PVDF-Transducer M60-3L.....	33
Abbildung 8: Vergleich der spontanen Thrombolyse, rtPa induzierten Thrombolyse, Sonothrombolyse und kombinierten Thrombolyse	36
Abbildung 9: Lyseradius der verschiedenen Ultraschallfrequenzen.....	37
Abbildung 10: Acoustic peak rarefactional pressure Messungen der verschiedenen Ultraschallfrequenzen	41
Abbildung 11: Temperaturmessungen der verschiedenen Ultraschallfrequenzen	42
Abbildung 12: Untersuchung der Wirkung der alleinigen Anwendung von Ultraschall und der kombinierten Anwendung von Ultraschall und rtPA in Clots unterschiedlichen Alters mit dem Konfokalmikroskop	44
Abbildung 13: Morphologische Analyse der verschiedenen Therapiegruppen unter Verwendung einer H&E Färbung und eines konfokalen Mikroskops bei Alexa Fluor 488-Färbung	46

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Relatives Endgewicht der Blutclots nach verschiedenen Ultraschallbehandlungen und der Kontrollgruppe	38
Tabelle 2: APRP-Messungen im Wasserbad in verschiedenen Abständen zur Ultraschallsonde. n=3, Mittelwert + Standardabweichung	39
Tabelle 3: APRP-Messungen in Agar verschiedenen Abständen zur Ultraschallsonde. n=3, Mittelwert + Standardabweichung	39
Tabelle 4: Temperaturerhöhungen der verschiedenen Ultraschallfrequenzen	41

1. Einleitung

Als intrazerebrale Blutung (ICB) bzw. hämorrhagischen Schlaganfall bezeichnet man eine primär im Hirnparenchym lokalisierte Blutung (1). Ursächlich für die primären intrazerebralen Blutungen ist in der Regel eine langjährige Hypertonie (1). Die spontane intrazerebrale Blutung geht mit der höchsten Rate an Morbidität und Mortalität aller Schlaganfälle einher (2)(3). Während die Hospitalisierungsrate in den letzten Jahren anstieg, konnte keine Verringerung der Sterblichkeit erreicht werden (4)(5). Die Mortalität beträgt zwischen 20-30% in den ersten drei Monaten nach dem Ereignis und bis zu 60% innerhalb des ersten Jahres (15). Die Hälfte der Todesfälle tritt innerhalb der ersten 24-48 Stunden auf (6)(8). Lediglich 25% der Betroffenen erreichen wieder einen funktionell unabhängigen Zustand (3). Vor allem das Volumen des Hämatoms und die Expansion sind die wichtigsten prognostischen Marker für das funktionelle Outcome und die 30-Tage Mortalität der Patienten (1)(6)(7)(8).

Die Inzidenz der ICB steigt mit zunehmendem Lebensalter und wird sich durch den demographischen Wandel bis 2050 verdoppeln (9). Zurzeit erleiden jährlich etwa 90.000 Menschen in der europäischen Union eine intrazerebrale Blutung (10)(11).

Es existiert momentan kein optimaler Behandlungsstandard und die Therapiekonzepte werden kontrovers diskutiert (1). In den letzten Jahren entwickelten sich Therapieansätze bei tief-gelegenen intrazerebralen Blutungen mittels minimal-invasiver Therapie. Im Rahmen der MISTIE-Studie stellte sich die minimal-invasive Kathetereinlage und nachfolgender medikamentöse Lysetherapie als sichere und effektive Methode zur Volumenreduktion der Blutung heraus, jedoch ohne Verbesserung des funktionellen Outcomes (12)(109). Seit 1970 ist die Wirksamkeit von Ultraschall bei der Thrombolyse bekannt (13). Der therapeutische Einsatz von Ultraschall beim akuten ischämischen Schlaganfall begann aber erst im Jahre 2000. Alexandrov et al. beobachteten, dass während einer tPA- Therapie, mit Monitoring durch transkraniellen Doppler, eine schnellere Rekanalisation des verschlossenen Gefäßes erfolgte (14). Zur Anwendung von Ultraschall beim ischämischen Schlaganfall gibt es bereits zahlreiche Studien, die die Wirksamkeit und Sicherheit untermauern (112)(113)(114). Bisher gibt es jedoch nur wenige Studien zur Anwendung von Ultraschall bei der intrazerebralen Blutung. Daher sind weitere Erkenntnisse zur Optimierung der minimal-invasiven Therapieverfahren mittels Sonothrombolyse bei der intrazerebralen Blutung notwendig.

2. Literaturdiskussion

2.1 Intrazerebrale Blutungen: Nomenklatur und Definition

Die intrakraniellen Blutungen werden anatomisch in parenchymatöse, subdurale, epidurale und subarachnoidale Blutungen unterschieden (1). Die intrazerebrale Blutung ist eine Blutung in das Hirnparenchym (1). Ätiologisch werden spontane und sekundäre intrazerebrale Blutungen unterschieden. Als spontane intrazerebrale Blutung bezeichnet man die Blutung ins Hirnparenchym, bei welcher keine direkte Ursache festzustellen ist und keine traumatische Ursache zugrunde liegt. Hiervon abzugrenzen ist die sekundäre intrazerebrale Blutung, welche Folge einer nachweisbaren Grunderkrankung ist, z.B. tumorassoziiert, traumatisch oder pharmakologisch (1). Als synonyme Begriffe verwendet man „hämorrhagischer Infarkt“ und „blutiger Schlaganfall“, der aus pathophysiologischer Sicht aber keine Relevanz mehr besitzt, da der Begriff Infarkt bzw. Schlaganfall einen Gewebsuntergang aufgrund der Verlegung eines Gefäßes bezeichnet, was bei der intrazerebralen Blutung in der Regel nicht der Fall ist. Bei der intrazerebralen Blutung unterscheidet man des Weiteren, je nach Lokalisation der Blutung ober- bzw. unterhalb des Tentorium cerebelli, zwischen supra- und infratentoriellen Blutungen (1).

2.2 Epidemiologie

Die jährliche Inzidenz der intrazerebralen Blutung beträgt in Europa und Nordamerika bei Kaukasiern 7-15 pro 100.000 Einwohner (28). Die intrazerebrale Blutung ist in Deutschland für ca. 15% der Schlaganfälle verantwortlich (1)(28). Bei Patienten im höheren Lebensalter, zwischen der 6. und 8. Lebensdekade, steigt die Inzidenz dieser Erkrankung stark an (8)(15)(16). Weltweit sind jährlich 2 Millionen Patienten betroffen (4)(16). In den nächsten 50 Jahren wird sich voraussichtlich die Inzidenz der ICB verdoppeln. Einerseits aufgrund der stetigen Alterung unserer Gesellschaft, andererseits infolge des weltweiten ethnologischen Wandels (2). Die Inzidenz wird von ethnischen Faktoren beeinflusst (1)(28). Bei Afroamerikanern, Hispaniern und Asiaten ist die Inzidenz 1,5 bis 2-mal höher als bei Kaukasiern, bei welchen hingegen der ischämische Schlaganfall häufiger auftritt (17)(18)(63)(174). Dies macht sich vor allem bei Menschen im jungen und mittleren Alter bemerkbar (4). In Abbildung 1 ist die

weltweite alterstandardisierte Inzidenz pro 100.000 Personenjahre veranschaulicht. Es zeigt sich, dass in Ländern mit hohem Einkommen die Inzidenz der intrazerebralen Blutung in den letzten Jahren zurückging, wohingegen die Inzidenz in Ländern mit mittlerem bis niedrigem Einkommen weiterhin anstieg (174). Des Weiteren ist die Inzidenz einer intrazerebralen Blutung bei Männern höher als bei Frauen (16). Pathophysiologisch gibt es zurzeit (2020) hierfür noch keine Erklärung (19).

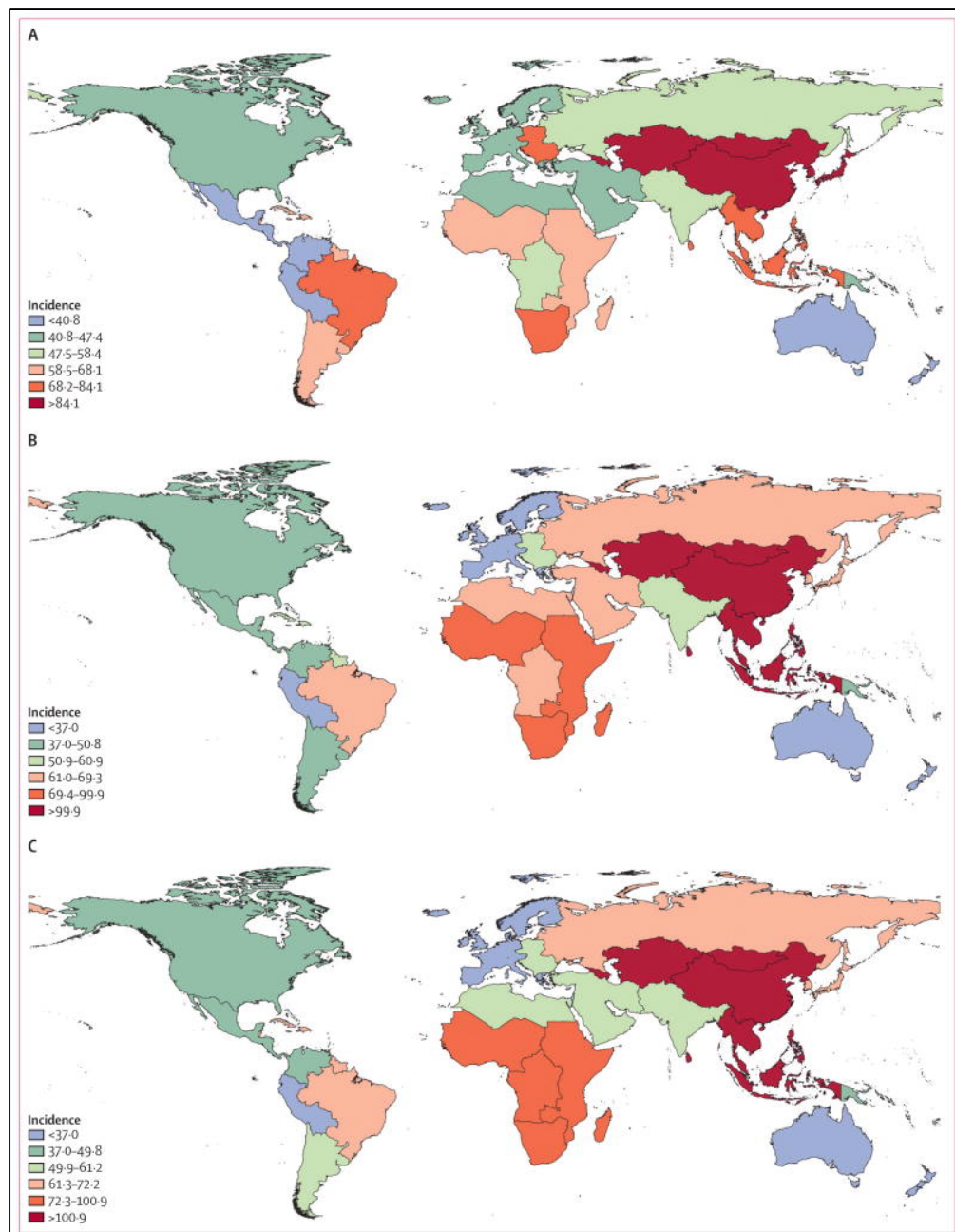


Abbildung 1: Altersstandardisierte Inzidenz pro 100.000 Personenjahre der intracerebralen Blutung für 1990 (A), für 2005 (B) und für 2010 (C) (174)

2.3 Ätiologie und Pathophysiologie

2.3.1 Pathophysiologie

Die Pathogenese der intrazerebralen Blutung hängt wesentlich von den zugrundeliegenden Ursachen ab. Meist kommt es im Rahmen eines akuten Blutdruckanstiegs zu spontanen Gefäßrupturen kleiner Arterien und Arteriolen (20)(21). Weitere Ursachen für intrazerebrale Blutungen sind vaskuläre Malformationen, Hirntumore, Gerinnungsstörungen, zerebrale Vaskulitiden, Moya-Moya Syndrom und Sympathomimetika (2)(4). Prädilektionsorte der typischen Blutungen sind Stammganglien (mit Zentrum im Nucleus lentiformis), Thalamus, Pons und Kleinhirn (Nucleus dentatus und Kleinhirnmarklager). Die häufigste Lokalisation, „loco typico“ stellen die Stammganglien und der Thalamus dar (22). Die Mechanismen der Hirnschädigung durch die intrazerebrale Blutung sind vielseitig. Eine Ursache der ICB-bedingten Hirnschädigung beruht auf dem Masseneffekt der Blutung, der mechanischen Kraft und dem intrakraniellen Druck. Durch diese primäre Hirnschädigung kommt es folglich zu einer Oligämie, Neurotransmitter-Freisetzung und mitochondrialen Dysfunktion und damit zu Gewebsuntergang (4)(26).

Die folgenden Unterkapitel geben eine Übersicht über die häufigsten pathophysiologischen Ursachen der intrazerebralen Blutung. In Abbildung 2 werden die häufigsten Lokalisationen der Intrazerebralen Blutung dargestellt.

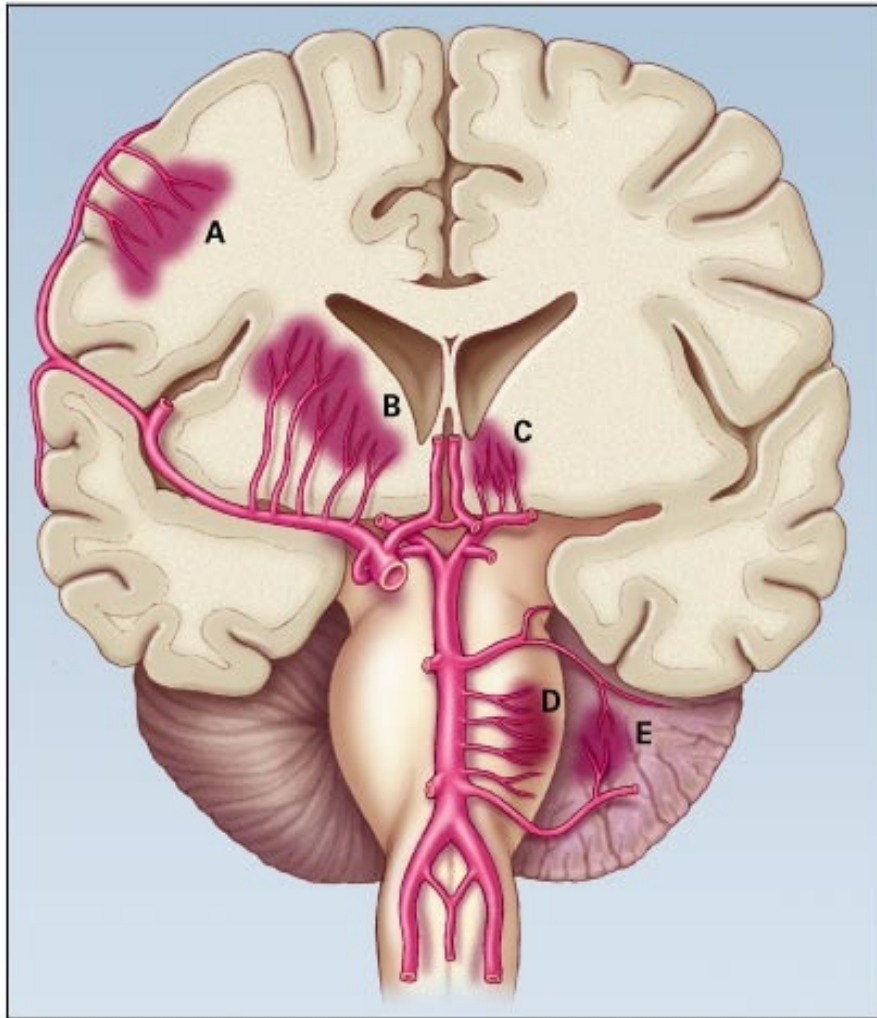


Abbildung 2: Lokalisationen der intrazerebralen Blutung (2)

- A:** penetrierende kortikale Äste der A. cerebri anterior, media et posterior (16%)
- B:** aufsteigende lenticulostriale Äste der A. cerebri media, die zu den Basalganglien ziehen (28%)
- C:** aufsteigende A. thalamogeniculata des P2-Segments der A. cerebri posterior, welche den Thalamus versorgen (38%)
- D:** paramediane Äste der A. basilaris, die in den Pons ziehen (6%)
- E:** penetrierende Äste der A. cerebelli posterior inferior, anterior inferior bzw. der A. cerebelli superior, welche ins Kleinhirn ziehen (4%)

2.3.2 Arterielle Hypertonie als Ursache der intrazerebralen Blutung

Die arterielle Hypertonie stellt in 50% der Fälle die Ursache der intrazerebralen Blutung dar (27)(28). Pathophysiologisch kommt es zu einer Schädigung der kleinen und mittelgroßen Gefäße. Der chronische Bluthochdruck führt zu arteriosklerotischen Veränderungen der Gefäßwände, der zerebralen Mikroangiopathie. Diese zeichnet sich durch eine Gefäßwandschwäche und fehlende Compliance aus (28). In der Folge entstehen lokale Nekrosen und Mikroaneurysmen, wodurch Rupturen begünstigt werden. Betroffen von diesem Mechanismus sind vor allem die kleinen perforierenden Gefäße im Marklager (28). Ein plötzlicher Anstieg des zerebralen Blutflusses führt bei den pathologisch veränderten Gefäßen zur Ruptur (28). Klassischerweise finden sich hypertensiv bedingte Blutungen aufgrund der erhöhten hämodynamischen Belastung im Bereich der Stammganglien (28). Insbesondere die lenticulostriatalen und pontinen Äste sind hiervon betroffen. Diese entspringen aus großen Gefäßen, weisen jedoch nur einen relativ geringen Durchmesser auf. Folglich entsteht ein starkes Druckgefälle, was zur Perforation der Gefäße prädisponiert (28). Zudem ist die Wand der lenticulostriatalen und pontinen Arterien dünner als die Wand kortikaler Arterien bei gleichem Durchmesser (28). Die Prävalenz der arteriellen Hypertonie von 60-70% bei Patienten mit ICB zeigt die Bedeutsamkeit dieses modifizierbaren Risikofaktors auf (1)(8). Auch durch den Konsum von sympathomimetisch wirkenden Drogen, wie beispielsweise Amphetaminen, Kokain, Phencyclidin oder auch Pseudoephedrine kann es durch eine Blutdruckkrise, aber auch durch Arteriitis-ähnlichen Gefäßumbau vor allem der perforierenden Arterien bzw. aber auch beidem, bei im Durchschnitt wesentlich jüngeren Patienten zu einer typischerweise lobär lokalisierten Blutung kommen (24). Chronisch ausgeprägter Alkoholkonsum, wie aber auch moderater Alkoholkonsum in den letzten 24 Stunden stellt einen unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung einer intrazerebralen Blutung dar (23)(24). Auch chronischer Zigarettenkonsum führt zu einem 2,5-fach erhöhtem Risiko, was zu einem ähnlichem Gewicht des Risikofaktors Rauchen bei der intrazerebralen Blutung wie bei der Ischämie führt (24)(25).

2.3.3 Zerebrale Amyloidangiopathie

Die zerebrale Amyloidangiopathie (CAA)- assoziierten Blutungen sind die zweithäufigste Ursache der ICB (29). Diese Blutungen treten meist lobär, im parietalen oder okzipitalen Lappen, auf und betreffen vor allem ältere Personen über 70 Jahre (29). Des Weiteren sind die CAA-assoziierten Blutungen für 30% aller intrazerebralen Blutungen verantwortlich (28)(29). Die Inzidenz steigt linear mit dem Alter an und ist auch mit der Alzheimer-Erkrankungen assoziiert (28)(30). Durch Ablagerungen des Peptids Beta-Amyloid in den Wänden von kleiner und mittelgroßer kortikaler arterieller Gefäße kommt es zur Deformierung dieser zu starren und fragilen Gefäßen. Im Verlauf bilden sich Wandnekrosen und Mikroaneurysmen aus. Das Perforationsrisiko der betroffenen Gefäße steigt (29)(30). Eine Assoziation der CAA mit den Apolipoprotein-E-Allelen $\epsilon 2$ und $\epsilon 4$ ist beschrieben und wird als unabhängiger Risikofaktor für Lobärblutungen angesehen. Dies spielt jedoch zurzeit in der Klinikroutine noch keine wesentliche Rolle (4)(31). Eine definitive Diagnose der CAA gelingt nur durch eine pathologische Untersuchung (136). Nach heutigem Stand stellt der Verdacht auf eine CAA keine Indikation zur Hirnbiopsie dar, sofern noch andere Differentialdiagnosen in Betracht kommen. Die Verdachtsdiagnose der CAA kann daher selten gesichert werden, ist jedoch bei typischer Lokalisation, höherem Lebensalter und dem Fehlen weiterer Risikofaktoren wahrscheinlich (28)(30)(31). Die verfeinerte MRT-Technik hat die Möglichkeit Blutungsresiduen zu detektieren. Klinisch kann somit eine wahrscheinliche CAA entsprechend der modifizierten Boston-Kriterien mittels Klinik und Bildgebung diagnostiziert werden (156). Mikroblutungen, welche klinisch häufig asymptomatisch sind, werden in den hämsensitiven MRT-Sequenzen ($T2^*$ -Wichtung) definiert als runde Foki mit einem Durchmesser von 5-10 mm und als Hypointensität in der Gradientenecho-Sequenz. Diese treten vor allem oberflächlich an der Mark-Rindengrenze (cortico-subcortical) auf (158). Obgleich die superfizielle Siderose verschiedene Ursachen haben kann, gilt sie als eines der MRT-Kriterien der CAA. Sie ist definiert als lineare Hämosiderinablagerungen im Subarachnoidalraum, den Leptomeningen oder in den oberflächlichen Kortexschichten (155)(159). Am besten nachweisbar ist die superfizielle Siderose mittels hämsensitiver MRT-Sequenzen ($T2^*w$ – Sequenzen) und stellt sich dort als mit den Gyri verlaufende („gyriforme“) Suszeptibilitätsstörung dar (155)(159). Die weitverbreiteten Boston-Kriterien zur Diagnose der CAA-assoziierten Blutungen werden nachfolgend in Abbildung 3 aufgeführt.

Modifizierte Boston-Kriterien zur Diagnose einer zerebralen Amyloidangiopathie nach Linn et al. und Block et al.

1) Sichere CAA (*postmortale pathologische Untersuchung*)

- lobäre, kortikale oder kortikosubkortikale Blutung
- schwere CAA mit Vaskulopathie
- keine anderen Pathologien

2) Wahrscheinliche CAA mit unterstützender Pathologie (*klinische Daten und Gewebeuntersuchung*)

- lobäre, kortikale oder kortikosubkortikale Blutung
- Nachweis von CAA im Gewebe
- keine anderen Pathologien

3) Wahrscheinliche CAA (*klinische Daten und Bildgebung mittels cCT und cMRT*)

- mehrere Blutungen in lobären, kortikalen oder kortikosubkortikalen Regionen (Kleinhirnblutungen sind erlaubt) oder
- einzelne Blutung in einer lobären, kortikalen oder kortikosubkortikalen Region und Nachweis einer fokalen (≤ 3 Sulci) oder disseminierten (≥ 4 Sulci) superfiziellen Hämosiderose
- Alter über 55 Jahre
- keine anderen Ursachen für die Blutung oder die superfizielle Hämosiderose

4) Mögliche CAA (*klinische Daten und Bildgebung mittels cCT oder cMRT*)

- einzelne Blutung in lobärer, kortikaler oder kortikosubkortikaler Region oder
- Nachweis einer fokalen (≤ 3 Sulci) oder disseminierten (≥ 4 Sulci) superfiziellen Hämosiderose
- Alter über 55 Jahre
- keine anderen Ursachen für die Blutung oder die superfizielle Hämosiderose

Abbildung 3: Darstellung der modifizierten Boston-Kriterien zur Diagnostik der zerebralen Amyloidangiopathie nach Linn et al. (155), Block et al. (156) und Schaumberg et al. (157)

2.3.4 Gefäßmalformationen

Arteriovenöse Angiome, kavernöse Angiome und Aneurysmen sind in der Regel ursächlich für 5% der Blutungen ins Hirnparenchym (28). Die arteriovenösen Angiome (=AVM, arterivenöser Malformation) bestehen aus einem Gefäßknäuel, „Nidus“ mit erweiterten arteriellen und venösen Gefäßen. Das zwischengeschaltete Kapillarbett zwischen Arterie und Vene fehlt. Man unterscheidet zwischen pialen und duralen arteriovenösen Malformationen. Die arteriovenösen Malformationen sind vor allem bei jüngeren Patienten ursächlich für subkortikale Blutungen. Der Verdacht erhärtet sich, wenn des Weiteren eine positive Familienanamnese bezüglich der AV-Malformationen oder kontrastmittelanreichernden Raumforderungen in CT- bzw. MRT-Befunden besteht. Blutungen im Kleinhirn durch Hämangioblastome kommen typischerweise bei der von Hippel-Lindau Erkrankung vor (28).

2.3.5 Antikoagulantien, Thrombozytenaggregationshemmer und Gerinnungsstörungen

Antikoagulantien verursachen 4-20% aller intrazerebralen Blutungen (32). Der Anteil dieser Subgruppe ist aufgrund der zunehmenden Indikationsstellung zur Antikoagulation in den letzten Jahren gestiegen. Durch eine orale Antikoagulation kommt es im Vergleich zu gleich alten, nicht antikoagulierten Patienten zu einer Risikoerhöhung um das 8- bis 11-fache (32). Die Blutungen infolge von Gerinnungsstörungen sind in der Regel lobäre Blutungen mit einer hohen Mortalität und erhöhten Rate an Nachblutungen (28). Aber auch schon bei der Applikation von Thrombozytenaggregationshemmern kommt es zu einem erhöhten Risiko für ICBs (1)(28). Die Häufigkeit einer ICB nach Lyse eines Myokardinfarktes liegt bei ungefähr 1%. Das Risiko, eine ICB nach Fibrinolyse beim Schlaganfall zu erleiden, liegt zwischen 6% und 35% und ist von der verwendeten Medikation und Dosierung abhängig (28). Vor allem führen initiale CT Frühzeichen eines großen Infarkts (>1/3 des Mediaterritoriums), sowie eine zerebrale Mikroangiopathie zu einem erhöhten Blutungsrisiko bei der Fibrinolyse eines ischämischen Hirninfarktes (28).

2.4 Klinik

Die Symptomatik in der Akutphase einer intrazerebralen Blutung ist von dem ischämischen Schlaganfall kaum zu differenzieren, obgleich sich die therapeutischen Konzepte grundlegend unterscheiden (4). Die intrazerebrale Blutung präsentiert sich in der Regel durch den plötzlichen Beginn eines fokal neurologischen Defizits, das über Minuten bis wenige Stunden mit begleitenden Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, vermindertem Bewusstsein und erhöhtem Blutdruck fortschreitet (4).

Die Symptomatik der ICB entspricht also im Wesentlichen der Symptomatik eines ischämischen Schlaganfalls, einer sensiblen und motorischen Halbseitensymptomatik in Kombination mit kortikal neuropsychologischen Defiziten (Orientierungsstörungen, Aphasie, Neglect, Apraxie) (4). Rathore et al. (2002) beobachteten bei Patienten, die eine ICB erlitten, dreimal häufiger Kopfschmerzen, Krämpfe und Erbrechen bei Beginn der Symptomatik als bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall (33). Anhand der neurologischen Symptomatik lassen sich auch Rückschlüsse auf die Lokalisation der parenchymatösen Blutung ziehen. Zusammenfassend zeigt die intrazerebrale Blutung eine heterogene Symptomatik und lässt sich ohne bildgebende Diagnostik nicht von der eines ischämischen Schlaganfalls sicher unterscheiden.

2.5 Komplikationen

Die intrazerebrale Blutung stellt die Hauptursache für schlaganfallbedingte Behinderung und Mortalität dar (8). Die 30-Tage Mortalität bei intrazerebralen Blutungen liegt bei 35-52% (8). Eine frühe und schwerwiegende Komplikation der intrazerebralen Blutung ist die Nachblutung, welche bei 38% der Patienten innerhalb von 24h nach Symptombeginn auftritt (8)(34). Definiert ist die Nachblutung bzw. Hämatomausweitung als Volumenvergrößerung von 33-50% oder als absolute Hämatomerweiterung von 12,5-20 ml (34)(35).

Der genaue Mechanismus der frühen Nachblutung ist nicht vollständig verstanden. Es wird angenommen, es sei ein heterogener Prozess aus Dysregulation der Hämostase durch Aktivierung der inflammatorischen Kaskaden, Überexpression der Matrix-Metalloproteinasen (MMP), Abbau der Blut-Hirn-Schranke und plötzlicher Erhöhung des ICP, woraufhin es zu lokaler Gewebeerstörung kommt und der venöse Abfluss behindert werden kann (35). CT-angiographische Studien konnten zeigen, dass das Spot Sign (kontrastreiche Extravasation) ein wichtiger Prädiktor für das

Hämatomwachstum und auch für die Mortalität ist (36)(37). Weitere wichtige Faktoren zur Vorhersage der Zunahme einer Blutung sind ein großes Hämatomvolumen bei Aufnahme, die Zeit bis zur ersten CT-Untersuchung, unterschiedliche Dichte der intrazerebralen Blutung und vorherige Einnahme von Warfarin (35)(37). Eine Metaanalyse konnte des Weiteren zeigen, dass bei einer 10% Erhöhung des ICB-Volumens es zu einer 5% erhöhten Mortalität kommt (38).

Eine Einblutung in das Ventrikelsystem (*intraventricular hemorrhage*; IVH) ist bei der ICB häufig und tritt bei 30-50% der Patienten auf. Bei der IVH unterscheidet man zwischen primärer und sekundärer IVH, wobei die primäre IVH auf die Ventrikel bzw. den Plexus choroideus begrenzt ist und die sekundäre IVH ihren Ursprung im Hirnparenchym hat (39). Die IVH stellt einen weiteren Prädiktor für eine schlechte Prognose dar (35)(40). Steiner et al. stellten fest, dass die Lokalisation der Blutung im Thalamus und ein mittlerer arterieller Blutdruck von >120 mmHg das Risiko eines Ventrikeleinbruchs und einer weiteren Volumenzunahme erhöht (40). Diese Beobachtung ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass der Thalamus anatomisch nahe am 3. Ventrikel liegt und das Blut hier eine Prädisposition hat sich nach medial zu verteilen. Die 30 Tages-Mortalität bei Patienten mit ICB steigt von 9% ohne IVH auf 43% bei Patienten mit IVH an (41). Die extreme Verschlechterung des Outcomes von Patienten mit ICB und IVH liegt vermutlich daran, dass es zu Schäden an periventrikulären Strukturen kommt, v.a. am Hirnstamm, aber auch die Komplikationen des akuten obstruktiven Hydrocephalus und IVH-induzierte Entzündungsreaktion scheinen hier eine Rolle zu spielen (42)(43).

Bei den meisten Patienten mit intrazerebraler Blutung kommt es zu einem perifokalen Ödem. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Prognose im Zusammenhang mit der Ausprägung des perifokalen Ödems steht (44)(45). Das perifokale Ödem entsteht früh, in der hyperakuten Phase und erreicht sein Maximum in der zweiten Woche nach Blutung (44)(46). Die Auswirkungen des Ödems können so stark sein, dass es zu einer Massenverschiebung mit Einklemmung, Entstehung eines stark erhöhten Hirndrucks bzw. obstruktiven Hydrozephalus und verringerter zerebraler Perfusion kommt (46). Die Mechanismen, die zur Bildung des perifokalen Ödems führen, sind im Einzelnen noch nicht ganz verstanden. Das frühe perifokale Ödem wird wahrscheinlich vor allem durch proosmotische Substanzen (Proteine, Elektrolyte) des Blutclots und dadurch entstehenden hydrostatischen Druck verursacht und erreicht seinen Peak um den 4.-5. Tag nach Blutungsereignis (44)(47). Die zweite Phase des perifokalen Ödems beruht vor allem auf der Kombination von vasogenen und zytotoxischen Effekten und

führt zur Aktivierung der Blutgerinnungskaskaden und Thrombinbildung. Diese Phase dauert ungefähr 2-4 Wochen an (44)(46)(47). In der dritten Phase, Tage bis Wochen nach Blutungsereignis, kommt es zur Lyse der Erythrozyten und dadurch zur Freisetzung von Hämoglobin, welches auf das Hirngewebe toxisch wirkt und zur Produktion von Sauerstoffradikalen führt (46)(47). Zusammenfassend führen alle diese drei Phasen zur Zerstörung der Blut-Hirn-Schranke und fördern dadurch die Bildung des perifokalen Ödems (46)(47).

2.6 Diagnostik

Ein hoher Stellenwert in der Diagnostik liegt in der Differenzierung zwischen hämorrhagischen und ischämischen Schlaganfall. Wie zuvor beschrieben, differiert die Symptomatik der ICB und des ischämischen Apoplex kaum. Grundlegend unterscheidet sich hingegen aber die Therapie der beiden Erkrankungen (48).

Die Diagnose einer ICB wird heutzutage i.d.R. mittels bildgebender Verfahren, der zerebralen Computertomographie und der zerebralen Magnetresonanztomographie gestellt. Hierbei hat sich die zerebrale Computertomographie aufgrund der Schnelle des Verfahrens und der besseren Verfügbarkeit durchgesetzt (48). Die Sensitivität der CT-Untersuchung liegt bei nahezu 100% und stellt hyperakute Blutungen (<12h) mit Hounsfield-Einheiten zwischen 60-80 hyperdens, abhängig von der Plasmamenge und des Hämatokrits dar (48)(49). Im Gegensatz hierzu ist die Darstellung der intrazerebralen Blutung in der zerebralen MRT Untersuchung von mehreren Faktoren abhängig, unter anderem von der Feldstärke, der Wichtung und biologischen Faktoren (49). Einen weiteren Vorteil bietet die bessere Überwachung der Patienten bei der CT Untersuchung, da jede ICB eine akute lebensbedrohliche Erkrankung darstellt (49). Bei der Beurteilung der Schnittbildgebung wird zwischen hypertensiver und nicht-hypertensiver ICB unterschieden (50). Bei Blutungen in den Basalganglien (Putamen, Globus pallidum und der Capsula interna), der periventrikulären weißen Substanz, Pons oder Kleinhirn und anamnestische bekannter langjähriger Hypertonie ist von einer hypertensiven Erkrankung der kleinen Hirngefäße auszugehen (50). Bei atypischen Lokalisationen der Blutung, lobären Blutungen oder bei Patienten ohne anamnestisch bekannter Hypertonie sollte weiterführende diagnostische Abklärung erfolgen. Im Falle von aneurysmatischen Blutungen oder der Detektion von arteriovenösen Malformationen ist die Digitale Subtraktionsangiographie das Mittel der Wahl (51). Die CT-Angiographie und MRT-Angiographie findet vor allem bei der

Verdachtsdiagnose der Sinusthrombose Anwendung. Bei Verdacht, dass als Ursache der Blutung ein kavernoöses Hämangiom oder eine zerebrale Amyloidangiopathie zugrunde liegt, ist die MRT-Untersuchung den anderen bildgebenden Verfahren überlegen (51).

2.7 Therapie

Im Gegensatz zum ischämischen Schlaganfall existieren für die intrazerebrale Blutung nur wenige evidenzbasierte Behandlungen (35). Die 10-Jahres-Überlebensrate nach einer ICB liegt bei nur 24% und hat sich innerhalb der letzten Jahre nicht verbessert (15). Die Behandlung aller Patienten mit einer ICB sollte auf einer Stroke-Unit, neurologischen oder neurochirurgischen Intensivstation stattfinden. Durch die Therapie in einer spezialisierten Einrichtung verbessert sich das funktionelle Outcome und die Mortalität (52)(53).

2.7.1 Konservative Therapie

Die Ziele der konservativen Therapie sind zunächst bei wachen, wie auch komatösen Patienten die ausreichende Oxygenierung, Kreislaufstabilisierung, Normovolämie und Normothermie (1)(54)(55). Mithilfe des ICH-Score kann eine Risikostratifizierung zum Zeitpunkt der Aufnahme erfolgen (56)(57). Die funktionelle Prognose nach Hirnblutung scheint besser zu sein, als die funktionelle Prognose nach ischämischen Infarkten, wenn die intrazerebrale Blutung überlebt wird (58). Im Folgenden werde ich auf die jeweiligen konservativen Therapiemechanismen genauer eingehen und diese erläutern.

2.7.1.1 Blutdrucksenkung und Senkung des intrakraniellen Drucks

Die Blutdruckeinstellung in der Akutphase stellt eine wichtige Maßnahme zur Verhinderung der Hämatomexpansion dar (59). Andererseits führt eine Verringerung des Perfusionsdrucks, durch eine Erhöhung des intrakraniellen Drucks, zu einer Senkung des zerebralen Blutflusses (CBF) (59). Der zerebrale Perfusionsdruck errechnet sich aus dem mittleren arteriellen Druck unter Subtraktion des intrakraniellen Drucks ($CPP = MAP - ICP$) (59). Dieses perihämorrhagische Ischämie-Konzept wurde lange kontrovers diskutiert. Im Rahmen einer randomisierten kontrollierten Studie stellt

sich heraus, dass es trotz Blutdrucksenkung nicht zu einer Hypoperfusion des perihämorrhagischen Gewebes kommt (59). Im Rahmen von MRT-Studien konnte zwar eine Zone mit verringerter Perfusion gezeigt werden, jedoch kam es im Rahmen dieser Studien nicht zu perihämorrhagischen Ischämien (1)(60). Auch im Zuge durchgeführter Positronenemissionstomographischer–Untersuchungen ergab sich nur einer Oligämie des perihämorrhagischen Gewebes, bei intakter Autoregulation (1)(61). Es konnte jedoch im Rahmen klinischer Studien (ATACH- und INTERACT-Studie) eine erhöhte Wahrscheinlichkeit der Nachblutung, bei erhöhtem Blutdruck, nachgewiesen werden (64)(65)(135). In der nachfolgenden INTERACT-II Studie wurde der Therapieeffekt der intensiven Blutdrucksenkung innerhalb von einer Stunde nach Therapiebeginn untersucht und stellt keinen Einfluss auf die Mortalität oder den Behinderungsgrad fest (66). Zur weiteren Untersuchung der intensiven Blutdrucksenkung und schnelleren Intervention wurde die ATACH 2- Studie durchgeführt. Die Ergebnisse der ATACH-2-Studie sind noch ausstehend. Hierbei werden die klinischen Effekte der strengen Blutdrucksenkung innerhalb von 3 Stunden nach Symptombeginn untersucht (67)(135). Bei invasiver Hirndrucküberwachung kann anhand des zerebralen Perfusionsdrucks eine Steuerung des Blutdrucks stattfinden (1)(62).

Zusammenfassend ist die Senkung des systolischen Blutdrucks unter 140 mmHg, innerhalb einer Stunde, nicht mit einer erhöhten Mortalität oder schlechterem funktionellem Outcome assoziiert (64)(65)(66). Die Leitlinien empfehlen daher zurzeit (2020) bei akuter ICB den Blutdruck auf unter 140/ 100 mmHg zu senken (1)(62)(64)(65). Die intensive Blutdrucksenkung stellt damit eine sichere und eventuell vorteilhafte konservative Therapiemöglichkeit dar (68). Sekundärprophylaktisch sollte eine antihypertensive Therapie unabhängig von der Ursache der ICB begonnen werden. Das Rezidivrisiko kann somit um 28% gesenkt und das klinische Ergebnis verbessert werden (69)(135). Die größte Risikoreduktion wird in der Gruppe der Amyloidangiopathien erreicht (77% Risikoreduktion), woraufhin diese am stärksten von der Senkung des Blutdrucks zur Sekundärprophylaxe profitierten (69)(70)(135).

2.7.1.2 Therapie epileptischer Anfälle

Die Inzidenz von epileptischen Anfällen nach ICB variiert zwischen 3-17%, wobei unter Hinzunahme klinisch inapparenter elektrophysiologisch nachweisbarer Anfälle die Inzidenz bis zu 42% beträgt (1)(68)(71)(135). Lobäre Blutungslokalisationen führen

häufiger zu epileptischen Anfällen als subkortikale Lokalisationen, insbesondere bei Lobärblutungen und Alkoholabusus in der Vorgeschichte (72). Epileptische Anfälle gehen mit einer Verschlechterung des neurologischen Status und Zunahme der Hirnschwellung einher und sollten daher bei klinischer Apperenz immer behandelt werden (1).

Eine prophylaktische Therapie kann daher laut Leitlinie bei Patienten mit lobärer Blutung in Erwägung gezogen werden. Eine Verbesserung des Langzeit-Outcomes wurde jedoch durch die prophylaktische Gabe von Antikonvulsiva in Studien noch nicht nachgewiesen. Zur Evaluierung der neueren Antikonvulsiva, Lamotrigin oder Levetiracetam, liegen noch keine Daten vor. Lediglich eine randomisiert kontrollierte Studie (N= 72), welche Valproinsäure und Placebo vergleicht, konnte eine Besserung des neurologischen Defizits, anhand des NIHSS-Scores, zeigen. Dies lässt sich vermutlich auf die neuroprotektive Wirkung von Valproinsäure zurückführen (75)(135). Findet eine prophylaktische Therapie statt, wird die Verwendung von Phenytoin und Benzodiazepine momentan nicht empfohlen (73)(74)(135). Zusammenfassend wird aktuell (2020) keine prophylaktische Gabe von Antikonvulsiva empfohlen.

2.7.1.3 Therapie der Hirnblutung nach oraler Antikoagulation

Das jährliche Risiko eine intrazerebrale Blutung unter Therapie mit oralen Antikoagulantien (OAK) zu erleiden, liegt zwischen 0,3 und 3,7%, bei Werten der International Normalized Ratio im therapeutischen Bereich (2,0-4,5) (68).

Da die Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen zunimmt und insbesondere auch die Prävalenz des Vorhofflimmerns, welches eine dauerhafte orale Antikoagulation mit sich zieht, kommt der Therapie der Hirnblutung nach oraler Antikoagulation eine immer größer werdende Bedeutung zu (76). Intrakranielle Blutungen treten bei der Therapie mit NOAK mit 0,2-0,8% /Jahr signifikant seltener auf als bei der Therapie mit Vitamin K- Antagonisten (VKA) (77)(78). Die Letalität einer Vitamin K assoziierten ICB beträgt bis zu 67% und liegt damit deutlich über der Letalität der spontanen ICB. Dies beruht wahrscheinlich auf den größeren Hämatomvolumina und der häufigeren Hämatomexpansion bei VKA-assoziierten ICBs (79). Insbesondere die Mehrheit der VKA-assoziierten Blutungen tritt unter therapeutischen INR-Werten auf und führt bei einem Großteil der Überlebenden zu einem schlechten neurologischen Outcome (79)(81). Daher wird bei einer VKA-assoziierten ICB eine möglichst schnelle Normalisierung der Gerinnung empfohlen (Ziel-*International Normalized Ratio* (INR):

< 1,3). Uneingeschränkt gilt die Empfehlung VKA bei erhöhter INR abzusetzen und Vitamin K zu applizieren (1). Zur akuten Normalisierung der Gerinnung wird die Gabe von Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren, Prothrombin-Komplex Konzentrat (PPSB) oder unkonzentriertes „gefrorenes Frischplasma“ (FFP) empfohlen (1)(81). Unter FFP zeigt sich in der randomisiert-kontrollierten Phase II Studie INCH jedoch einen signifikanten Anstieg des Hämatomvolumens verglichen mit PPSB. Die Anwendung von PPSB ist daher bei Patienten mit VKA-ICB zu bevorzugen (149). Die INR-Normalisierung soll innerhalb von < 4 Stunden erfolgen und zu INR-Werten < 1,3 führen. Zusätzlich soll eine Senkung des Blutdrucks auf unter 160 mmHg systolisch vorgenommen werden. Diese drei Parameter beeinflussen am deutlichsten das Risiko einer Nachblutung und führen damit zu einer reduzierten Krankenhaussterblichkeit (82). Bei NOAK-assoziierten Blutungen stehen teilweise Antidots zur Normalisierung der Gerinnung zur Verfügung. Bei einer ICB unter Dabigatran ist eine umgehende Antagonisierung mittels monoklonalem Antikörper Idarucizumab zu empfehlen (150). Bei intrazerebralen Blutungen und oraler Antikoagulation mittels Faktor Xa Inhibitoren (Rivaroxaban, Edoxaban, etc.) gibt es aktuell Veränderungen in der Therapie (2019). Der Anwendung der rekombinanten inaktiven Form des humanen Faktor Xa- Protein, Adexanet alpha, welches seit April 2019 in der EU zugelassen ist, kommt nun vermehrt Bedeutung zu. Adexanet Alpha bindet kompetitiv an die Faktor Xa-Inhibitoren und hemmt die Wirkung. In der multizentrischen, prospektiven, offenen einarmigen ANNEXA-4 Studie konnte die Wirksamkeit und Sicherheit von Adexanet Alpha mit 352 Patienten unter Therapie mit Faktor Xa Inhibitoren mit schwerer akuter Blutung (64% intrazerebraler Blutung) gezeigt werden (151)(152). Bei intrazerebraler Blutung und oraler Antikoagulation mittels Faktor Xa Inhibitoren (Rivaroxaban und Apixaban) ist die Anwendung von Andexanet alfa zu empfehlen. Bei Nichtvorhandensein von Andexanet alfa kann alternativ hochdosiert PPSB verabreicht werden (153). Zurzeit existieren jedoch noch keine Studien, die beweisen, dass Andexanet alfa der bisherigen Standardtherapie mit PPSB überlegen ist. Eine Vergleichsstudie von Andexanet alfa und der bisherigen Standardtherapie rekrutiert aktuell (2020) Patienten. (NCT03661528)

Zusätzlich zur hämostatischen Therapie besteht die Möglichkeit über einer Hämodialyse bzw. Plasmapherese die NOAKs aus dem Blut, in Abhängigkeit der Plasmaproteinbindung, zu entfernen (83).

2.7.2 Neurochirurgische Therapie

Die neurochirurgische Therapie der intrazerebralen Blutung erfordert eine differenzierte Betrachtung aufgrund der Vielzahl an potenziell zugrundeliegenden Ursachen der Blutung (32). Mithilfe der operativen Therapie kann das Hämatomvolumen schnell verringert werden (32). Bei der Indikationsstellung zur operativen Therapie wird zwischen supra- und infratentoriellen Blutungen unterschieden. Die Hämatomentfernung kann prinzipiell minimal-invasiv stereotaktisch/ endoskopisch über ein Bohrloch erfolgen oder durch eine Trepanation bzw. dekompressive Kraniektomie (32).

2.7.2.1 Supratentorielle spontane Hirnblutungen

Anhand der aktuellen Literatur (2020) zeigt sich momentan noch keine klare Evidenz bezüglich der Hämatomevakuierung der akuten ICB (1)(135).

Im Rahmen der STICH 1 Studie wurde die chirurgische Hamatomausräumung (Kraniotomie mit Hamatomausräumung) der akuten ICB (innerhalb von 24h nach Randomisierung bzw. 72h nach Symptombeginn) mit der konservativen Standardbehandlung bei 1033 Patienten mit supratentorieller spontaner ICB verglichen (84). Das Outcome der Patienten wurde nach sechs Monaten anhand der modifizierten Rankin-Skalen untersucht. Es konnte kein signifikanter Vorteil der Kraniotomie mit Hämatomevakuierung im Vergleich zur konservativen Therapie gezeigt werden. Dies beruht wahrscheinlich auf dem direkt chirurgisch induzierten Trauma bei der Evakuierung der intrazerebralen Blutung, besonders bei tiefen ICBs mit Ventrikeleinbruch (84). Eine Subgruppen Analyse konnte jedoch einen Unterschied bezüglich des Outcomes in beiden Therapiegruppen in Abhängigkeit der Tiefe der stattgehabten Blutung zeigen. Lediglich die Patienten mit Blutung < 1 cm unterhalb des Kortex, oberflächlich gelegene Blutung, scheinen von der Operation zu profitieren (43)(84)(85). Die chirurgische Therapie bei Patienten mit tiefen ICB's oder begleitender IVH führte zu einer postoperativen Verschlechterung (84)(85). Infolgedessen wurde die chirurgische Therapie einer oberflächlichen Blutung hinsichtlich des funktionellen Ergebnisses und der Gesamtprognose untersucht (STICH 2). Hierbei wurden 601 Patienten eingeschlossen, bei denen innerhalb von 48 Stunden nach Symptombeginn eine spontane lobäre ICB im CT mit einem Volumen zwischen 10 bis 100 ml und 1 cm subkortikal gelegen festgestellt wurde. Die verwendete OP-Methode war eine

Kraniotomie mit Hämatomevakuuation (86). Eine frühe OP bei oberflächlicher ICB ohne IVH führt nicht zu einer erhöhten Rate an Todesfällen oder Behinderung nach 6 Monaten (87). Es ist möglicherweise von einem geringen Überlebensvorteil bei der operativ therapierten Gruppe mit einer Mortalitätsrate von 18% im Vergleich zur konservativ therapierten Gruppe mit einer Mortalitätsrate von 24% (Odds Ratio 0,71, 95%-Konfidenzintervall 0,48-1,06, $p=0,095$) auszugehen (87)(135). Eine im Rahmen der STICH 2 Studie durchgeführte Metaanalyse konnte dieses Ergebnis jedoch nicht bestätigen und lässt momentan, wie auch durch die ESO (*European Stroke Organisation*) -Leitlinien empfohlen, nur den Schluss zu, dass eine routinemäßig durchgeführte OP bei supratentoriellen ICBs nicht zur Verbesserung des Outcomes führt (68)(87)(135). Lediglich bei Patienten mit spontaner oberflächlicher, supratentorieller ICB mit höherem Bewusstseinsgrad (GCS von 9 bis 12) konnte gezeigt werden, dass eine frühe Operation hinsichtlich des Outcomes der Patienten nutzbringend sein kann (135). Aktuell untersucht die SWITCH-Studie (*Decompressive Hemicraniectomy in Intracerebral Hemorrhage*) die dekompressive Hemikraniektomie bei Patienten mit spontaner ICB in Bezug auf das klinische Outcome und die Mortalität (NCT02258919) (173). Da kaum eine große randomisierte Studie, die Überlegenheit der neurochirurgischen Therapie tief gelegener ICBs oder begleitender IVH gegenüber einer konservativen Therapie belegen konnten, ist es eventuell nötig andere Therapieoptionen zu entwickeln.

Im Rahmen der MISTIE (*Minimally Invasive Surgery plus Recombinant Tissue Plasminogen Activator*) 2- Studie, eine randomisiert kontrollierte Studie, wurde die minimal-invasive Katheterapplikation und Hämatomlyse mit rtPA mit der konservativen, medikamentösen Therapie bei 118 Patienten verglichen. Es wurden in die Studie Patienten in über 26 Krankenhäusern in den USA, Kanada, England und Deutschland mit spontaner intrazerebraler Blutung und einem Hämatomvolumen von > 20 ml eingeschlossen. Nach Anlage des Katheters bei den Patienten in der minimalchirurgischen Therapiegruppe wurde rtPA in einer Dosierung von 0,3 mg oder 1 mg alle 8 Stunden, bis zu einer Höchstdosis von 9 Applikationen, über den Katheter appliziert. Als primäre Endpunkte wurden 30-Tage Sterblichkeit und das Auftreten symptomatischer Blutungen nach 72 Stunden definiert. Der sekundäre Endpunkt war das Outcome nach 180 bzw. 365 Tagen. Es zeigte sich eine signifikante Reduktion des perihämatomalen Ödems und der Hämatomgröße. Es konnte jedoch kein Unterschied bezüglich des klinischen Outcomes festgestellt werden (12). Die nachfolgende MISTIE III-Studie ist eine randomisiert kontrollierte Phase 3 Studie mit

506 Patienten in 78 Krankenhäuser der USA, Kanada, Europa, Australien und Asien. Auch hier wurden Patienten mit einer spontanen, supratentoriellen intrazerebralen Blutung mit einem Hämatomvolumen von über 30 ml eingeschlossen (89). Es wurde die minimal-invasive chirurgische Therapie mit der konservativen Therapie verglichen. Die minimal-chirurgische Therapie umfasst eine stereotaktische Katheteranlage und die Applikation von 1 mg rtPA alle 8 Stunden, bis zu einer Höchstdosis von 9 Applikationen. Primärer Endpunkt der Studie war das funktionelle Outcome nach 365 Tagen (109). Nach 30 Tagen kam es in der MISTIE-Gruppe zu signifikant weniger schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen im Vergleich zur konservativ-therapierten Gruppe ($p=0,012$). Das Hämatomvolumen konnte in der MISTIE-Gruppe um 69% reduziert werden. In der konservativ therapierten Gruppe kam es lediglich zu einer Verringerung des Hämatomvolumens von 4%. Auch die Mortalität nach 365-Tagen scheint in der MISTIE-Gruppe um 6-8% geringer als in der Standard-Behandlungsgruppe zu sein. In der MISTIE-Gruppe kam es jedoch signifikant häufiger (32%) zu asymptomatischen Blutungen, als in der Standard-behandelten Gruppe (8%). Zusammenfassend konnte in der MISTIE III-Studie keine Verbesserung des funktionellen Ergebnisses durch die Katheter-gestützte Fibrinolyse mittels rtPA des intrazerebralen Hämatoms mit rtPA im Vergleich zur Standardbehandlung bei Patienten mit intrazerebraler Blutung (>30 ml) erreicht werden (109).

Im Rahmen der CLEAR III-Studie wurde bei 500 Patienten mit Ventrikelblutung und akutem obstruktivem Hydrozephalus die Effektivität der intraventrikulären Fibrinolyse mit rtPA untersucht. Es erfolgte die Gabe von 1 mg rtPA alle 8 Stunden über die einliegende EVD. Hierbei konnte eine Reduktion der Mortalität der Patienten verzeichnet werden, jedoch kam es auch hier zu keiner Verbesserung des funktionellen Outcomes der Patienten (111). Staykov et al. konnten in einer randomisiert-kontrollierten Studie des Weiteren zeigen, dass durch die kombinierte Anwendung der intraventrikulären Fibrinolyse und der Anlage einer Lumbaldrainage, im Vergleich zur intraventrikulären Fibrinolyse ohne Lumbaldrainage bei Patienten mit schwerer intraventrikulären Blutung mit Tamponade des 3. und 4. Ventrikels, die permanente Shuntabhängigkeit signifikant reduziert werden konnte. Inwiefern die kombinierte Anwendung der intraventrikulären Fibrinolyse und der Anlage einer Lumbaldrainage das funktionelle Outcome beeinflussen, ist jedoch noch unklar (148). Die Therapie jedes einzelnen Patienten mit spontaner intrazerebraler Blutung bleibt zurzeit immer noch eine individuelle Entscheidung und es gilt die minimal-invasive Therapie weiter zu verbessern.

2.7.2.2 Infratentorielle nichtaneurysmatische Hirnblutungen

Infratentorielle Hirnblutungen führen aufgrund der engeren anatomischen Verhältnisse schneller zu klinischer Verschlechterung und letztendlich letalem Ausgang. Zur Hämatomausräumung bei Kleinhirnblutungen, gibt es bisher nur wenig Evidenz. Randomisiert kontrollierte Studien sowie Metaanalysen, die einen Vorteil der neurochirurgischen Therapie gegenüber der konservativen Therapie zeigen, fehlen. In nur wenigen Studien, erwies sich die neurochirurgische Behandlung gegenüber der konservativen Behandlung als vorteilhaft (1)(135). Kirollos et al. behandelten 50 Patienten prospektiv nach Protokoll, das von der Kompression des 4. Ventrikels abhing. Es stellte sich heraus, dass bei vollständiger Kompression des 4. Ventrikels eine Hämatomevakuierung auch bei bewusstseinsklaren Patienten durchgeführt werden soll. Bei Hämatomen, auch größer als 3 cm, ohne Ventrikelkompression sollte hingegen keine Hämatomevakuierung bei infratentoriellen Blutungen stattfinden (90)(135). Papacocea et al. untersuchten bei 34 Patienten mit zerebellärer spontaner ICB die neurochirurgische Therapie im Vergleich zur konservativen Therapie. Die neurochirurgische Therapie wurde bei Patienten mit einem GCS-Score kleiner bzw. gleich 13 oder Blutungsvolumen kleiner bzw. gleich 20 cm^3 angewendet. Die neurochirurgische Behandlung führte zu einer niedrigeren Letalität (91). Folglich bleibt die frühe neurochirurgische Intervention bei infratentoriellen Blutungen bei initial schwerer klinischer Ausprägung bzw. klinischer Verschlechterung zu empfehlen (1)(135). Hinsichtlich der anzuwendenden Operationstechnik bei infratentoriellen ICBs findet sich eine randomisiert kontrollierte Studie, die eine paramediane subokzipitale Mini-Kraniektomie mit einer großen subokzipitalen Kraniektomie vergleicht. Hierbei stellte sich raus, dass der minimal-invasive Zugang zu weniger Komplikationen (geringere OP-Zeit, weniger Bluttransfusionen und weniger postoperative Liquorrhö) führt, jedoch sich das klinische Outcome nicht verbessert (1)(92). Bei Einbruch einer ICB in das Ventrikelsystems verschlechtert sich die Prognose des Patienten drastisch. Die Anlage einer externen Ventrikeldrainage wird bei begleitendem obstruktivem Hydrozephalus empfohlen (110)(154).

2.8 Prognose

Die 30-Tage Mortalität einer intrazerebralen Blutung beträgt zwischen 35-52% und ist abhängig von der Größe und Lokalisation der initialen Blutung (7)(8). Lobäre Blutungen haben eine bessere Prognose als tief gelegene Blutungen (7). Bei einem Blutungsvolumen von mehr als 60 ml beträgt die Mortalität für tief lokalisierte Blutungen 93% und für lobäre Blutungen 71%. Im Gegensatz dazu beträgt die Mortalität bei einem initialen Blutungsvolumen von weniger als 30 ml für tief gelegene Blutungen 23%, für lobäre Blutungen 7% und für zerebelläre Blutungen 57% (7). Nur jeder fünfte Patient ist nach einer intrazerebralen Blutung nach 6 Monaten wieder funktionell unabhängig (7). Des Weiteren sind weitere negative Prädiktoren für ein schlechtes Outcome bzw. Mortalität ein geringer GCS bei Aufnahme, Alter über 80 Lebensjahre, intraventrikuläre Blutungsanteile und eine infratentorielle Blutungslokalisierung (39)(56)(93). Vor allem der NIHSS (*National Institut for Health Stroke Scale*) und der ICH-FOS (*Intracerebral Hemorrhage Functional Outcome Score*) eignen sich besonders gut zur Risikostratifizierung der intrazerebralen Blutung (94). Der NIHSS bewertet systematisch neurologische Defizite rein klinisch. Der ICH-FO Score enthält Blutzuckerwerte, die Auswertung der CT und den NIHSS. Es lassen sich aus ihm die funktionelle Prognose, wie auch die 1-Jahres Mortalität ableiten. Weiterführend kann aus ihm auch ein standardisiertes Therapieprotokoll abgeleitet werden (95).

2.9 Ultraschall und seine Verwendung in der Medizin

Ultraschall bezeichnet akustische Wellen in einem elastischen Medium mit einer Frequenz oberhalb von 20.000 Hertz (Hz) (96). Es ist ein bildgebendes medizinisch-diagnostisches Echtzeitverfahren mit hoher Bildfrequenz, welches keine ionisierenden Strahlen verwendet. In der medizinischen Anwendung werden Frequenzen zwischen 1 und 30 Megahertz (MHz) angewandt (96). Zu beachten ist hierbei, dass Ultraschallwellen mit steigender Frequenz das Auflösungsvermögen erhöhen, die Eindringtiefe hingegen sinkt. Ab 1 GHz spricht man definitionsgemäß von Hyperschall, Frequenzen unter 1600 Hz werden hingegen als Infraschall bezeichnet (96). Die Schallgeschwindigkeit ist abhängig von der Dichte und Kompressibilität der jeweiligen Medien. In Luft beträgt die Schallgeschwindigkeit, wie allgemein bekannt etwa 333 m/s und in Wasser 1490 m/s, ein Wert der näherungsweise auch für biologisches Gewebe

gilt (96). Mit der Entdeckung des piezoelektrischen Effekts legten die Gebrüder Curie 1880 den entscheidenden Grundstein zur technischen Echographie. Der sich hierbei zunutze gemachte reziproke piezoelektrische Effekt beruht auf der Wirkung eines elektrischen Feldes auf einen piezoelektrischen Körper. Hierbei handelt es sich bei Ultraschallanwendungen meist um piezoelektrische Kristalle, z.B. Quarze, mit einem nichtpolaren Kristallgitter, die sich folglich verformen bzw. mechanische Energie an die Umgebung abgeben. Heutzutage werden hierfür künstliche Kristalle verwendet, meist in Form von dünnen Keramikplättchen, wobei die Dicke des Plättchens die Frequenz bestimmt (96). Wird ein Molekül durch eine Schallwelle zur Schwingung um seine Ruhelage herum angeregt, so gibt dieses seine Bewegungsenergie an benachbarte Moleküle des Mediums weiter und zwar in der gleichen Richtung, in der sich der Schall ausbreitet (Longitudinalwelle). Da der menschliche Körper zum Großteil aus Wasser besteht und sich in Gasen und Flüssigkeiten nur Longitudinalwellen ausbreiten, kann aufgrund des Fehlens der zur Weiterleitung von Querbewegungen (Transversalwellen) notwendigen Scherkräfte, die Bedeutung von Transversalwellen vernachlässigt werden (97). Die hierbei übertragene Bewegungsenergie der Moleküle breitet sich als fortlaufende Welle, kontinuierlich sinusförmig an Medien gebunden aus und wird als Schallwelle bezeichnet. Die durch die Schallwelle in der Materie zur Schwingung angeregten Teilchen werden abwechselnd komprimiert (Druckphase) und dilatiert (Sogphase). Dieser Vorgang wird als Schalldruck bezeichnet (97).

Ultraschall wird in der Medizin vielfältig eingesetzt. Neben diagnostischer Anwendung findet auch eine Anwendung zur Zellyse und Zellregeneration statt (96).

Bei der Verwendung von Ultraschall kann es zu thermischen Effekten kommen. Trifft Ultraschall auf Gewebe kommt es teilweise zur Reflexion, teilweise zur Streuung und zum Teil zur Absorption (96)(98). Thermische Effekte entstehen vor allem durch die Absorption von Ultraschall, im Falle der Anwendung am Schädel, v.a. durch Absorption durch den Schädelknochen und durch das Hirngewebe. Das Ausmaß der Wärmeentwicklung hängt einerseits von Gerätefaktoren ab, andererseits von Gewebefaktoren. Gerätefaktoren, die im Rahmen der Wärmeentwicklung eine wichtige Rolle spielen sind die Leistung des Geräts (= Energie/Zeit, Watt), die Intensität (Leistung/Fläche, Watt/m^2), die Bewegung des Schallfeldes und die Frequenz. Je höher die Ultraschallfrequenz ist, desto höher ist die Absorption durch Gewebe und damit die Wärmeentwicklung (96)(99). Von Seiten der Gewebefaktoren spielen vor allem die Stärke der Absorption, die Wärmekapazität, die Wärmeleitung und die Perfusion mit Blut eine bedeutende Rolle für die ultraschallbedingten thermischen

Effekte. Die Absorption von Schallwellen hängt in biologischem Gewebe vor allem von dem Proteingehalt ab. Daraus lässt sich schließen, dass der Absorptionskoeffizient für Weichteile wie Fett, Gehirn und Leber ($\alpha = 0,4$ bis $0,6$ dB/cm MHz) über dem von Urin und Fruchtwasser liegt (absorbiert praktisch nicht), aber der Absorptionskoeffizient von Knochen etwa zehnfach stärker ist ($\alpha = 5$ bis 10 dB/cm MHz). Aufgrund der anatomischen Nähe der oberflächlichen Hirnwindungen zum Schädelknochen spielt die sekundäre Erwärmung hier eine besondere Rolle (96)(99). Zur Bestätigung der Sicherheit der Ultraschallanwendung am Menschen wurden Versuche zur Untersuchung des thermischen Effektes in einem Hirngewebemodell durchgeführt. Die Sicherheit der Ultraschallanwendung am Menschen wurde auch schon in zahlreichen Publikationen beschrieben (100). Der wichtigste biologische Parameter, der negative Schallspitzendruck, *Acoustic Peak Rarefaction Pressure* (APRP) stellt die entscheidende Feldgröße zur Auslösung von Kavitationen dar. Der negative Schallspitzendruck wird als positiver Wert in $\text{Newton/m}^2 = \text{Pascal}$ angegeben. Durch die Ausbreitung der Ultraschallwelle als Longitudinalwelle in Weichteilgewebe kommt es zu sog. Kompressions- und Sogphasen. In den Kompressionsphasen steigt der Druck über den Ruhedruck des Gewebes an und fällt in der Sogphase unter diesen ab. Der negative Schallspitzendruck wird definiert als die Differenz zwischen dem Maximum des Schalldrucks in der Sogphase und dem Schalldruck in der Ruhephase (98)(96). Akustische Kavitationen entstehen vor allem bei Anwesenheit von Kavitationskeimen, kleine präexistente Gasblasen. Diese vergrößern sich in der Sogphase der Ultraschallwelle explosionsartig und kollabieren in der nachfolgenden Kompressionsphase wieder. Es kommt folglich lokal zur Bildung von Hohlräumen und Gasblasen die das betroffene Gewebe vielwiegend schädigen. Druckwerte von über 100 MPa und Temperaturen von über 1000°C können erreicht werden. Zur Bildung von Kavitationskeimen kommt es in der Regel nur nach invasiven Maßnahmen (chirurgische Eingriffe, Infusionen und Injektionen) oder der Caisson-Krankheit. Es gibt keinen absoluten Schwellenwert, ab wann es zur Bildung von Kavitationen kommt. Daher wurden die aktuellen Empfehlungen zur sicheren Anwendung von Ultraschall am Menschen beachtet (99). Die derzeitigen diagnostischen Sonographiegeräte arbeiten mit Schallfeldern, die einen negativen Schallspitzendruck von 5 MPa nicht überschreiten. Unterhalb dieses Wertes wurden bislang noch keine Kavitationen beobachtet und man kann von biologischer Sicherheit ausgehen (96)(98)(99).

Im Jahre 1976 entdeckte Trübestein et al. die thrombolytische Wirkung von Ultraschall (13). Nachfolgend wurden Kathetersysteme zur intraarteriellen Thrombolyse entwickelt (139)(140). Ein weiterer Ansatz, der sich im Jahre 2000 durch eine Beobachtungsstudie etablierte, war die Anwendung nicht-invasiven transkraniellen diagnostischen Ultraschall (Doppler- und Duplexgeräte). Durch das kontinuierliche Dopplermonitoring (2 MHz) konnte eine verbesserte Thrombolyse im Vergleich zur alleinigen rtPA-Gabe erreicht werden (14). Die weiterführende Untersuchung, CLOTBUST konnte das Ergebnis bestätigen und führten zu verbesserten Rekanalisationsraten unter kontinuierlichem Dopplermonitoring (2 MHz) und rtPA Anwendung im Vergleich zur alleinigen rtPA Anwendung. Allerdings konnte keine signifikante Verbesserung des klinischen Zustandes erreicht werden (112).

Weitere klinische Studien zeigten hingegen eine erhöhte Rate an Nachblutungen bei der kontinuierlichen Anwendung von transkraniellen 2 MHz Doppler Ultraschall (118)(138). Im Rahmen der weiterführenden randomisiert kontrollierten, multizentrischen, doppelblinden Phase 3- Studie, CLOTBUST-ER konnte bei 335 Patienten keine Verbesserung des klinischen Outcomes durch die kombinierte Anwendung von transkraniellen Ultraschall und Alteplase im Vergleich zur alleinigen Therapie mit Alteplase erreicht werden. Jedoch konnte die Sicherheit der transkraniellen pulsed-wave Ultraschall Anwendung bestätigt werden (143). Die Sicherheit der intrakraniellen Anwendung von Ultraschall bei der ICB und IVB konnte auch in einer klinischen Studie mit 33 Patienten aufgezeigt werden (115). Hierbei wurde bei 9 Patienten stereotaktisch über ein Bohrloch eine Ventrikeldrainage und ein Ultraschallkatheter in die Blutung eingebracht. Es wurde der Mikrokatheter, MicroSonic SV, EKOS Corp mit einer Frequenz von 2 MHz verwendet. Im Rahmen der Studie konnte eine Reduktion des Hämatomvolumens erreicht werden und die Sicherheit der Ultraschallanwendung bestätigt werden. Des Weiteren kam es zu keiner intrakraniellen Infektion oder intrakraniellen Nachblutung (115).

2.10 Fibrinolyse

2.10.1 Das fibrinolytische System

Das fibrinolytische System steht der Hämostase gegenüber und sorgt zur Auflösung des entstandenen Fibrins. Im intakten Organismus besteht ein Gleichgewicht zwischen der kontinuierlich ablaufenden Fibrinolyse und dem Gerinnungssystem

(160). Das fibrinolytisch wirksame Enzym ist Plasmin, eine Serinprotease, die Fibrin wie auch Fibrinogen spaltet. Plasmin entsteht aus dem inaktiven Zymogen Plasminogen, welches in der Leber gebildet wird und von dort aus in den Blutkreislauf freigesetzt wird (161). Durch hydrolytische Spaltung einer Peptidbindung des Plasminogens durch Plasminogenaktivatoren entsteht aus dem inaktiven Proenzym Plasminogen das aktive Plasmin (162)(163). Hierbei unterscheidet man exogene (Streptokinase und Staphylokinase) und endogene Plasminogenaktivatoren (Kallikrein und Gewebeaktivator, tissue plasminogen activator (tPA)) (162). Der Gewebeaktivator tPA wurde erstmals im Jahre 1980 in Melanomzellen identifiziert. Einige Jahre später konnte bewiesen werden, dass tPA von Endothelzellen synthetisiert wird (164). Die Sekretion von tPA aus Endothelzellen, unterliegt komplexer physikalischer und hormoneller Faktoren. Beispielsweise kommt es durch körperliche Betätigung, Gefäßdehnung und Katecholaminen zur Freisetzung von tPA (160)(162). Die Sekretion von tPA findet vor allem im Endothel präkapillärer Arteriolen und postkapillärer Venolen (< 30 µm Durchmesser) statt (165). Den Plasminogenaktivatoren stehen mehrere Inhibitoren der Fibrinolyse gegenüber. Der wichtigste Inhibitor der Plasminogenaktivator-Inhibitoren (PAI) ist der *plasminogen activator inhibitor 1* (PAI-1). Dieser dient als Pseudosubstrat und bindet an das aktive Zentrum von tPA und bildet dabei stabile stöchiometrisch äquimolare Komplexe (166). PAI-1 wird vor allem in den Alpha-Granula der Thrombozyten gespeichert (167). Freies Plasmin wird hingegen hauptsächlich durch das antifibrinolytisch wirksame Protein α 2-Antiplasmin, welches in der Leber synthetisiert wird, inaktiviert (168).

2.10.2 Rekombinanter gewebeständiger Plasminogenaktivator (rtPA)

Rekombinante gewebeständige Plasminogenaktivatoren (rtPA) werden unter Verwendung gentechnischer Verfahren durch Mutationen in der DNA-Sequenz von nativem tPA in Ovarialzellen des chinesischen Hamsters produziert (169). Diese „neuen“ Fibrinolytika weisen eine erhöhte Halbwertszeit, eine erhöhte Fibrinspezifität und eine höhere Resistenz gegen den Inaktivator PAI-1 auf (170). Von der deutschen Gesellschaft für Neurologie wird aktuell (04/2020) Alteplase als Thrombolytikum zur Thrombolyse des ischämischen Schlaganfalls empfohlen (171). Alteplase ist ein rekombinant hergestelltes tPA Analogon, welches Plasminogen zu Plasmin aktiviert. Alteplase hat eine Halbwertszeit von 4-8 Minuten und wird in der Leber metabolisiert (170). Alteplase wird auch zur thrombolytischen Therapie des aktuellen Myokardinfarkts,

der akuten massiven Lungenarterienembolie und des akuten ischämischen Apoplex verwendet (172).

2.11 Vorveröffentlichung

Gemäß §10 Abs. 4 der Promotionsordnung wurde die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten in dem Artikel „Combination of ultrasound and rtPA enhances fibrinolysis in an In Vitro clot system“ von Julia Masomi-Bornwasser, Philipp Winter, Hendrik Müller-Werkmeister, Susanne Strand, Jochem König, Oliver Kempfski, Florian Ringel, Sven Rainer Kantelhardt und Naureen Keric in Plos One am 16. November 2017 vorveröffentlicht.

Des Weiteren wurde über Teile dieser Arbeit auf der 67. Jahrestagung 2016 der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie in Frankfurt am Main in dem Vortrag „Individualisiert adaptierbare Ultraschallsonothrombolyse in einem in-vitro Modell für intrazerebrale Blutungen“/ „Adaptive sonothrombolysis-therapy in an in vitro model of intracerebral hemorrhage“ von Julia Masomi-Bornwasser, Philipp Winter, Hendrik Müller-Werkmeister, Susanne Strand, Jochem König, Oliver Kempfski, Florian Ringel, Sven Rainer Kantelhardt und Naureen Keric und auf der 68. Jahrestagung 2017 der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie in Magdeburg in dem Vortrag „Transcranial Doppler sonography enhances fibrinolysis of rtPA in an in vitro model of intracerebral hemorrhage“ von Julia Masomi-Bornwasser, Philipp Winter, Axel Neulen, Jochem König, Oliver Kempfski und Naureen Keric referiert.

Im Übrigen wurden Teile dieser Arbeit im Rahmen des Kolloquiums aus der Klinik für Anästhesiologie, der Abteilung für Neuropathologie und dem Institut für Neurochirurgische Pathophysiologie in dem Vortrag "Untersuchungen zur Sonothrombolyse anhand eines in vitro Modells der ICB" vorgestellt.

Weiterführend wurden Untersuchungen zur transkraniellen Sonothrombolyse durchgeführt und in dem Artikel " Doppler sonography enhances rtPA-induced fibrinolysis in an in vitro clot model of spontaneous intracerebral hemorrhages“ von Julia Masomi-Bornwasser, Philipp Winter, Axel Neulen, Sven Rainer Kantelhardt, Jochem König, Oliver Kempfski, Florian Ringel und Naureen Keric in Plos One am 17. Januar 2019 veröffentlicht.

Die Anzeige zur Vorveröffentlichung der Ergebnisse dieser Dissertation wurde am 03.12.2015 von Frau M. D'Alessio-Büchner, der Stabstelle Wissenschaftlicher Nachwuchsförderung der Universitätsmedizin Mainz, bestätigt.

2.12 Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war die Optimierung der minimal-invasiven, katheter-gestützten Therapie der intrazerebralen Blutung. Zunächst fand die Untersuchung der potentiellen Fibrinolyse durch Ultraschall statt. Mithilfe der lokalen Ultraschallanwendung über einen Ultraschallkatheter könnte somit die Fibrinolyse gesteigert werden. Im weiteren Verlauf stellte sich heraus, dass vor allem die Kombination der lokalen Anwendung von rtPA und Ultraschall zu einer Optimierung des minimal-invasiven Verfahrens führen könnte. Infolgedessen wurde eine geeignete Ultraschallfrequenz zur intrakraniellen Anwendung ermittelt. Zur Bestätigung der aus dem in-vitro Modell gewonnenen Ergebnisse fanden nachfolgende APRP Messungen statt. Im Rahmen dieser konnte eine Lysegrenze ermittelt werden und der Lyseradius der Ultraschallfrequenzen nochmals bestätigt werden. Da die Anwendung von Ultraschall potentiell zu Nebenwirkungen wie Kavitation und Temperaturerhöhungen der umgebenen Gewebe führen kann, fanden weiterhin Untersuchungen zur Sicherheit dieser Methode statt. Bei der kombinierten Anwendung von Ultraschall und rtPA kam es zu signifikant besseren Ergebnissen. Folglich stellt sich die Frage des hierzu führenden Wirkmechanismus. Um diese Frage zu beantworten wurden morphologische Analysen, der behandelten Blutclots, durchgeführt und es konnte eine Theorie zum Wirkmechanismus entwickelt werden.

Fortführend wird die Zielsetzung dieser Arbeit nochmals als Aufzählung dargestellt.

1. Führt Ultraschall alleine zu einer Fibrinolyse?
2. Vergleich der spontanen Lyse, rtPA-induzierten Lyse, Sonothrombolyse und kombinierten Anwendung
3. Kann Ultraschall die rtPA gestützte Fibrinolyse steigern?
4. Acoustic Peak Rarefaction Pressure (APRP) Messungen bei der Ultraschallanwendung zur Quantifizierung des Lysepotentials
5. Ermittlung des Radius, indem Lyse mittels Ultraschall möglich ist („Lyseradius“)

3. Material und Methoden

3.1 Material

Die Neurochirurgische Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz und das Institut für neurochirurgische Pathophysiologie der Universitätsmedizin Mainz stellte die Materialien und die benötigte Technik bzw. Medikamente zur Verfügung. Die Versuche wurden in den Laboren des Instituts für neurochirurgische Pathophysiologie an der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt.

Bioreagenzien und Medikamente

Ableitsystem	Ventrikelkatheter 9F, 30cm, Neuromedex®, Hombrechtikon, Schweiz
Actilyse® (rtPA)	Böhringer Ingelheim, (EC 3.4.21.68)
Blutgasanalysator,	Radiometer Medical A/S, Brønshøj, Denmark Modell ABL800 Basic
Combi-Stopper	B. Braun, Melsungen
Einmalhandschuhe	Paul Hartmann AG, Heidenheim
Eppendorf Tube 2.0ml	Eppendorf AG, Hamburg
Kühlschrank mit Gefrierfach,	Robert Bosch GmbH, Stuttgart Modell Cooler
Laborwaage, Type PT 600	Sartorius, Göttingen
Luftballons	Riethmüller, Rewe
Luftballons Maxi 120 - 130 cm	Everts Ballon, Datteln
NaCl 0,9% - Lösung	B. Braun, Melsungen
Nadelsonde	Müller-Platte-Nadel-Sonde, Dr. Müller-Instruments
Oszilloskop	DSO-1062D Digital-Oszilloskop, Voltcraft Schweiz
Pipette	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen	Eppendorf AG, Hamburg
Plastikwanne	Innenmaße: Länge 36 cm, Breite 27 cm, Höhe 17 cm

Piezoelektrischer Polyvinylidenfluorid (PVDF) Transducer	M60-3L, M60-1 Dr. Müller Instruments
safePICO Aspirator	Radiometer Medical A/S, Brønshøj, Denmark
Schalen zum Wiegen	neoLab Migge GmbH, Heidelberg
Sicherheitsvenenpunktionsbesteck	B. Braun, Melsungen Venofix® Safety 21 G
Thermometer, PH Meter	WTW GmbH, Weilheim
Thrombin	Sigma-Aldrich (Merck), Darmstadt, (EC 3.4.21.5)
Ultraschallgerät	Acusons Sequoia 512 Ultrasound System Siemens
Wärmeschrank, Modell T 6120	Heraeus Instruments, Hanau
3 ml Spritzen	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
20 ml Spritzen	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
10F Endosonographiesonde	AcuNav, Biosense Webster

Computersoftware

Microsoft Word für Mac 15.31	Microsoft Corporation, München-Schwabing
Microsoft Excel für Mac 15.32	Microsoft Corporation, München-Schwabing
SigmaXL Version 7	SigmaXL, Inc., Kitchener, Kanada
SigmaPlot 12.0.	Systat Software, San Jose, U.S.A.
GraphPad Prism 6.0	GraphPadSoftware, Inc., La Jolla, U.S.A.

3.2 Vorbereitung der Blutclots

Zur Herstellung der Blutclots wurde Blut aus der V. mediana cubiti (Cubitalvene) von gesunden, freiwilligen Probanden gesammelt. Zur Blutabnahme wurden „Butterflys“ und 20ml bzw. 10ml Spritzen (BD Discardit, Deutschland) verwendet. Danach wurden das Blut nach Zugabe von 10 IE Thrombin (Rinderplasma-Thrombin, Sigma Deutschland, Endkonzentration: 10 IE/ 500µl) in einem Ballon gefüllt, der Ballon mittels Faden fest verschlossen und in einem Inkubator (Heraeus Instruments, Deutschland) bei 37°C für 1,5 Stunden inkubiert. Durch dieses Prozedere können solide Clots mit geringem Serumanteil erzeugt werden.

Zur Beurteilung der Wirkung der Therapie wurde der Blutclot jeweils vor und nach der Therapie gewogen. Zur Separierung des Serumanteils wurde ein Mesh-Netz

verwendet. Anschließend wurde der Serumanteil, wie auch der feste Anteil des Clots jeweils gewogen und in den Ballon zurückgeführt. Die mit dem Clot und Serumanteil befüllten Ballons wurden in verschiedene Therapiegruppen randomisiert.

Zusätzlich zur Blutclotterstellung, wurden 1,7ml venöses Vollblut zur Blutgasanalyse mit BGA-Spritzen (safePICO Aspirator, Arterial Blood Sampler 1x1,7ml, 80 IU electrolyte-balanced heparin, Radiometer Medical A/S, Brønshøj Dänemark) dem jeweiligen freiwilligen Spender entnommen. Die Blutgasanalyse wurde mit dem Modell ABL 800 Basic, Radiometer Medical A/S, Brønshøj Dänemark durchgeführt. Die daraus resultierenden Hämatokritwerte wurden dokumentiert und bei Hämatokrit-Werten < 35,0% wurde der vorgesehene Versuch abgebrochen und nicht verwertet.

3.3 Clotmodel

Nach Herstellung der Clots wurden diese jeweils in einem Wasserbad therapiert. Die Temperatur des Wasserbades beträgt 37°C zur Imitation der Körpertemperatur und wurde kontinuierlich mittels Thermometer überwacht (PH Meter, WTW GmbH, Germany). Eine externe Ventrikeldrainage (EVD) (Neuromedex® GmbH, Switzerland, 9 F, 30cm Länge, 20 Löcher mit 1mm Durchmesser) wurde in allen Clots eingebracht und mit einem Schwerkraft-basierten EVD Drainage System, welches 10cm unterhalb der Blutclots angebracht wurde, verbunden (Neuromedex® GmbH, Switzerland)

Die Fixierung des Ballons fand in einer Tiefe von 10cm statt. Dies diente der Simulation des Hirndrucks von 0-20cm H₂O. Bei Verwendung des Endosonographie-Katheters wurde ein gekürzter Blasenkatheter (Unomedical, ConvaTec, UK, CH. 16) mit 6 Löchern, jeweils 5mm Durchmesser, verwendet. Durch diesen Blasenkatheter wurde der Endosonographiekatheter eingeführt. Der gekürzte Blasenkatheter wurde dann, wie auch die EVD, an ein Schwerkraft-basiertes Drainage-System (Neuromedex® GmbH, Switzerland) angeschlossen und dieses 10cm unterhalb des Blutclots fixiert. Nach der Behandlung der Blutclots wurde das Drainagesystem geöffnet und der flüssige Blutanteil drainiert.

3.4 Ultraschallthrombolyse mittels Endosonographiesonde

Zur Sonothrombolyse wurde das „Acuson Sequoia 512 Ultrasound System von Siemens“ mit einer 10 F Endosonographiesonde (AcuNav, Biosense Webster) verwendet.

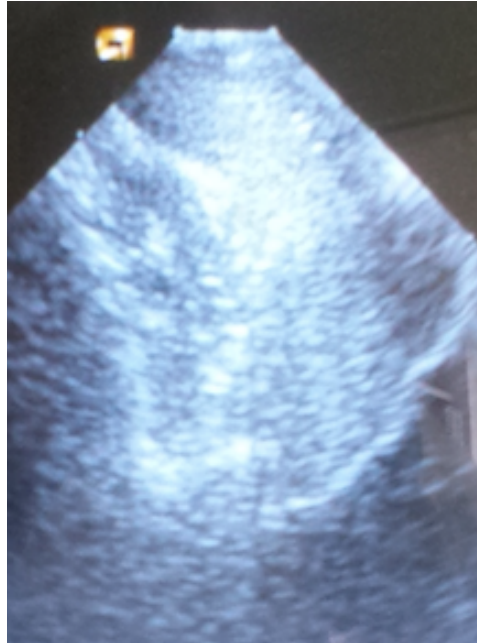


Abbildung 4: Ansicht Blutclot bei der Verwendung von 10 MHz (eigene Darstellung)

In Abbildung 4 wird ein Blutclot sonographisch bei der Verwendung der 10 MHz Ultraschallsonde dargestellt.

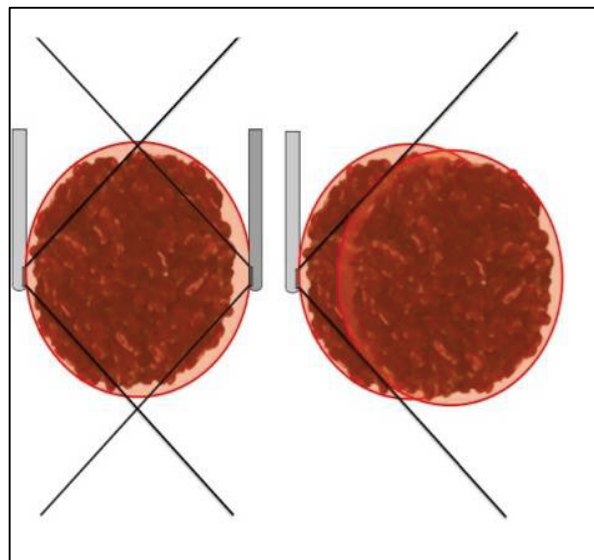


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Sichtfensters der Endosonographiesonde (137)

In Abbildung 5 wird die Positionierung der Endosonographiesonde schematisch dargestellt. Die Positionierung der Sonde direkt vor dem Clot führt durch das kegelförmige Sichtfeld von $22^\circ \times 90^\circ$ zur fehlenden Insonation der Clotränder.

Die Endosonographiesonde hat ein kegelförmiges Sichtfeld von $22^\circ \times 90^\circ$, welches seitlich Ultraschall absorbiert. Die Ballons wurden zur Endosonographiesonde in verschiedenen Abständen positioniert, 0-8cm Abstand, in einem Zentimeter Schritten. Im Falle von 0cm wurde die Endosonographiesonde direkt im Clotkern positioniert und dieser mit der Endographiesonde wasserdicht verschlossen. Nach einer halben Stunde, 50% der Insonationszeit, wurde die Sonde um 180° gedreht. Dieses Manöver diente der Sicherstellung, dass es auch zur Beschallung des ganzen Clots kommt, da das Sichtfeld des Ultraschalls beschränkt ist.

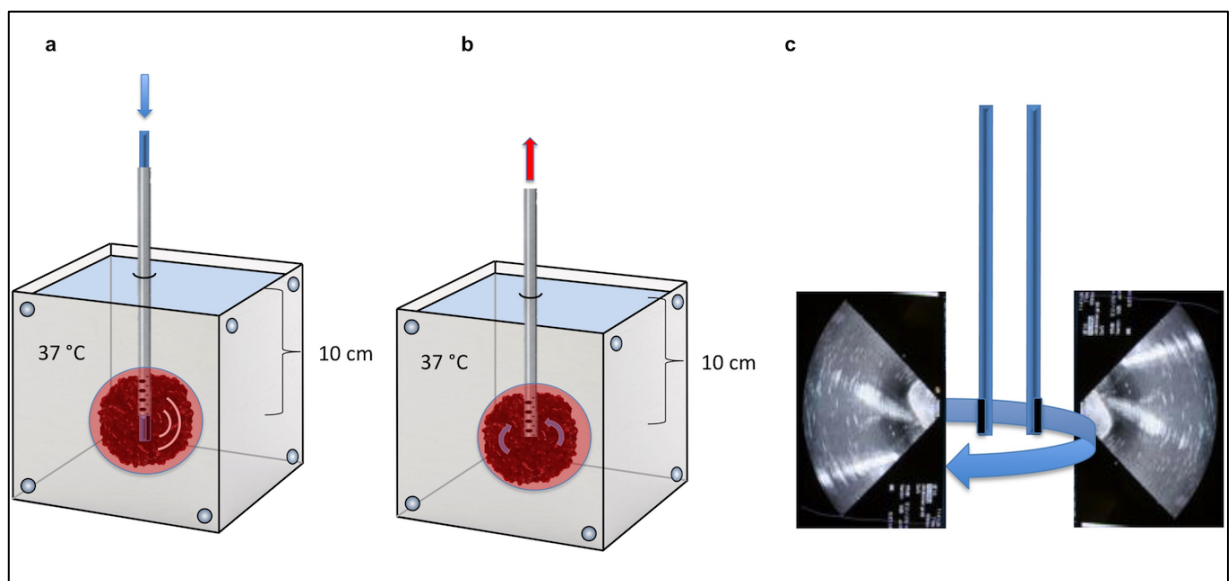


Abbildung 6: Darstellung der Positionierung des Ultraschallkatheters (137)

Bei den übrigen Abständen (1-8cm) wurde davon ausgegangen, dass das Blutgerinnsel vollständig insoniert wird. Es wurden verschiedene Ultraschallfrequenzen untersucht (10MHz, 8,5 MHz, 7,5 MHz, 5,5 MHz). Die Insonation des Blutclots erfolgte über eine Stunde. Diese Zeitspanne wurde aufgrund von wissenschaftlichen Reports gewählt (118, 138, 144, 145, 146, 147).

Im Übrigen wurde der kleinste mechanische Index auf dem verwendeten Gerät gewählt. (10MHz: MI 0,55; 8,5MHz: MI 1; 7,5MHz: MI 1,1; 5,5MHz: MI 1)

Der mechanische Index dient als Maß der mechanischen Einwirkung von Schallwellen auf Gewebe. (98)

3.5 APRP-Messungen

Zur Untersuchung der Ausbreitung der Ultraschallwellen wurden APRP Messungen in einem Gehirnphantom-Modell durchgeführt. Der APRP ist der Haupteinflussfaktor auf Ultraschall-bedingte Thrombolysen (101). Das Gehirnphantom-Modell bestand aus 3,5l Agarosegel (Sigma Aldrich, Deutschland) (141,142). Die Endosonographiesonde wurde in dem Agarosegel-Modell an einem fixen Punkt angebracht und dann nachfolgend Messungen in 1cm Abständen bis maximal 8cm Abstand durchgeführt. Hierzu wurde ein piezoelektrischer Druckwandler für Hochfrequenzmessungen (PVDF Transducer M60-3L, Dr. Müller Instruments) und ein Oszilloskop (DSO-1062D Digital-Oszilloskop, Voltcraft Schweiz) verwendet. Die piezoelektrische Drucksonde wird vor allem zur Messung von Druckwellen und hochfrequenten Druckänderungen in Gasen und Flüssigkeiten verwendet (102).

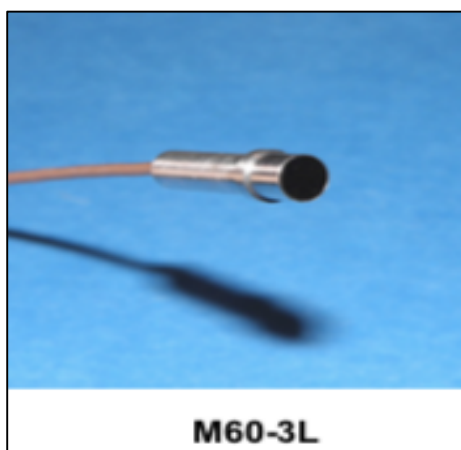


Abbildung 7: Darstellung des verwendeten PVDF-Transducer M60-3L (102)

Diese Messungen wurden mit verschiedenen Ultraschallfrequenzen im B-Mode durchgeführt: 10MHz, 8,5MHz, 7,5MHz, 5,5MHz. Diese wurden dreimal wiederholt um die Aussagekraft der Werte zu erhöhen.

Im Folgenden wurden die gleichen Messungen nochmals in einem 37°C Wasserbad durchgeführt und nochmals dreimal wiederholt. Die ermittelten Werte wurden in Beziehung mit einer Basismessung durch ein Hydrophon (Müller-Platte-Nadel-Sonde, M60-1, M60-3, Dr. Müller-Instruments) gesetzt. Der Vorteil des Hydrophons ist seine höhere Genauigkeit gegenüber absoluten Werten, jedoch besteht auch eine höhere Fehleranfälligkeit gegenüber Drücken und Messwiederholungen (102).

3.6 Morphologische Analyse der Blutclots

Zur morphologischen Analyse wurden 5 ml Blutclots angefertigt. Diese Blutclots wurden nach der jeweiligen Therapie (Kontrolle, rtPA, Ultraschall und Ultraschall + rtPA) in einer 4% Paraformaldehyd Lösung bei 4°C fixiert. Anschließend wurden diese in Paraffin eingebettet, Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin und Eosin (H&E) gefärbt. Zur fluoreszierenden Darstellung des Fibrinnetzes wurden 0.5 mg Fibrinogen aus menschlichem Blutplasma, Alexa Fluor® 488 Konjugat (Thermo Fisher Scientific, Germany) (0.5 mg/0.33 ml) verwendet. Alexa Fluor 488 wurde den Blutclots von 5 ml vor der Inkubation zugegeben. Auch hier wurde der flüssige Anteil des Blutclots separiert und der Blutclot in 4% Paraformaldehyd Lösung bei 4°C fixiert. Bei der Verwendung von Alexa Fluor 488 wurde auf die Drainage verzichtet.

3.7 Statistik

Die statistische Datenerhebung fand in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik der Universitätsmedizin Mainz statt. Die Ergebnisse sind angegeben durch den Mittelwert und die Standardabweichung. Zur Beurteilung der Ergebnisse wurde eine einfaktorielle Varianz-Analyse (ANOVA) durchgeführt und das 95%-Konfidenzintervall beschrieben. Als statistisch signifikant wurden P-Werte unter 0,05 angesehen. Die statistische Analyse wurde mittels GraphPad Prism (Version 6.0) durchgeführt. Zur Untersuchung der Ergebnisse des Lyseradius bei verschiedener Ultraschallfrequenzen wurde eine nichtlineare Regression durch ein logistisches Dreiparametermodell verwendet und mittels 95% -Konfidenzintervallen, basierend auf dem angepassten Modell, angegeben. Die oberen Werte wurde als Lyse-Schwelle definiert und angegeben als Mittelwert und Standardfehler. (GraphPad Curve Fitting Guide. http://www.graphpad.com/guides/prism/6/curve-fitting/index.htm?reg_dr_stim.htm (accessed 11 Dec2016))

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der in-vitro Sonothrombolyse

In den Versuchsreihen wurde der Lyseradius, die Lysegrenze und das Lysepotential der verschiedenen Ultraschallfrequenzen ermittelt. Dabei wurden die Blutclots in verschiedenen Abständen zur Ultraschallsonde positioniert und für eine Stunde mit Ultraschall behandelt. Die Kontrollclots, welche keine Behandlung erfahren haben erreichten ein relatives Endgewicht von 70%. Folglich entspricht eine Lyse von 30% der Autolyse und stellt damit keinen therapeutischen Erfolg dar. Ab einem gewissen Abstand, in Abhängigkeit der gewählten Ultraschallfrequenz, wird für alle Frequenzen ein relatives Endgewicht von 70% erreicht. Ab diesem Punkt ist keine therapeutische Wirkung der Insonation mehr zu verzeichnen. Dieser Abstand der Ultraschallsonde zu dem sich im Ballon befindlichen Blutclots, bei dem keine therapeutische Wirkung des Ultraschalls mehr nachgewiesen werden kann, wird als Lyseradius der jeweiligen Frequenz definiert.

4.1.1 Spontane Lyse, rtPA bedingte Lyse, Sonothrombolyse und die kombinierte Therapie

In Abbildung 9 sind die verschiedenen Behandlungen der Blutclots und das hiermit erzielte relative Endgewicht aufgeführt. (n=10). Auf der y-Achse ist das relative Gewicht der Blutclots in Prozent in Bezug auf das Ausgangsgewicht aufgetragen. Die verschiedenen Versuchsgruppen sind auf der x-Achse dargestellt, Gruppe 1: Kontrollgruppe, Gruppe 2: mit rtPA behandelte Blutclots, Gruppe 3: mit einer Stunde Ultraschall therapierte Blutclots und Gruppe 4: kombinierte Therapie von Ultraschall für eine Stunde und rtPA.

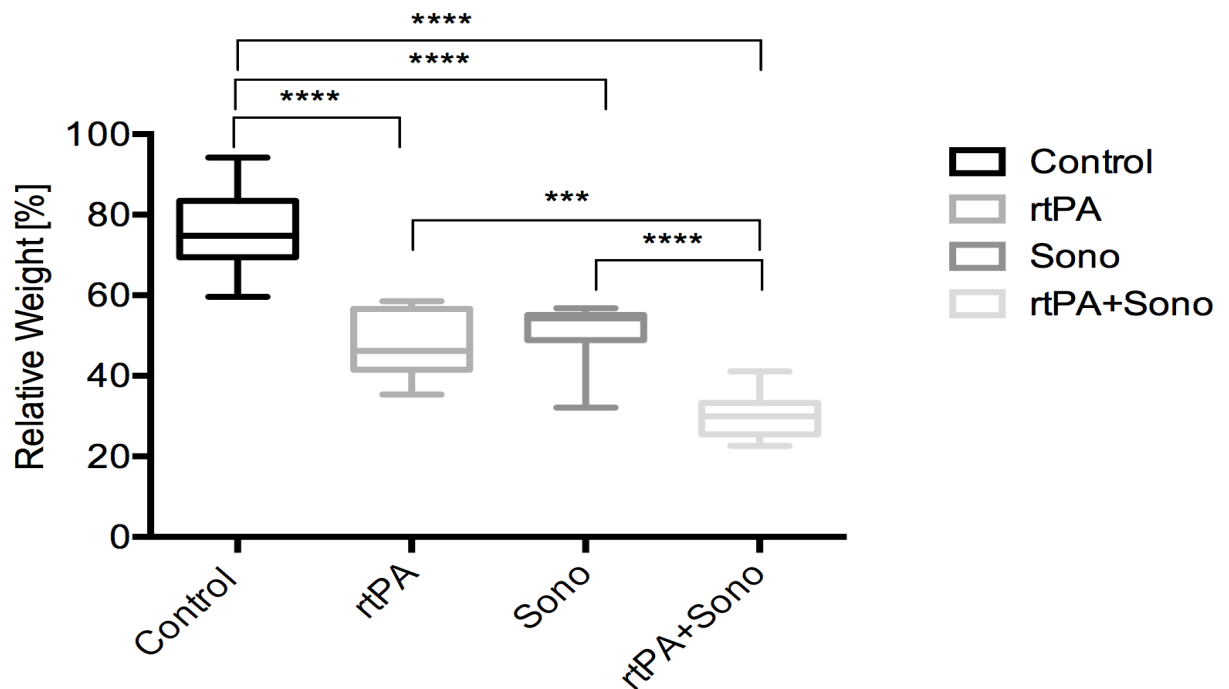


Abbildung 8: Vergleich der spontanen Thrombolyse, rtPa induzierten Thrombolyse, Sonothrombolyse und kombinierten Thrombolyse (137)

Das relative Clotgewicht der verschiedenen Therapiegruppen ist mittels Boxplot-Diagramm dargestellt.

**** zeigt die signifikante Differenz des relativen Endgewichts der Therapiegruppen mit $p < 0,0001$

*** zeigt die signifikante Differenz des relativen Endgewichtes der Therapiegruppen von $p = 0,0001$

Die P-Werte wurden mittels Turkey's-Range Test ermittelt.

Die Kontrollgruppe der Versuchsreihe, welche nur mittels Drainage therapiert wurde, erreicht ein relatives Endgewicht von $75,7\% \pm 10,6\%$ (Mittelwert + Standardabweichung). Eine signifikante Differenz des relativen Endgewichts von $p < 0,0001$ fällt in allen therapierten Gruppen auf. Sowohl bei der Behandlung mit rtPA, als auch mit Ultraschall, wie auch die kombinierte Anwendung von Ultraschall und rtPA führt zu einem signifikant niedrigerem relativen Endgewicht des Blutclots und ist daher mit einem Therapieerfolg gleichzusetzen. Das relative Endgewicht der Blutclots bei Verwendung des Ultraschalls für eine Stunde von $51,1 \pm 7,3\%$, war ähnlich gering dem bei 1 mg rtPA Anwendung von $47,6 \pm 7,9\%$. Ein signifikant niedrigeres Endgewicht, als die alleinige Anwendung von rtPA oder Ultraschall, erreichte die Gruppe der kombinierten Anwendung von Ultraschall für eine Stunde und der Applikation von 1 mg rtPA ($p = 0,0001$). Blutclots, bei denen Ultraschall, wie auch rtPA verwendet wurde

erzielten ein relatives Endgewicht von $30,3\pm 5,5\%$, das niedrigste in dieser Versuchsreihe.

4.1.2 Lyseradius der verschiedenen Ultraschallfrequenzen

In dieser Versuchsreihe wurde die Reichweite der Sonothrombolyse der jeweiligen Frequenzen ermittelt. Diese Reichweite der jeweiligen Ultraschallfrequenz wird als Lyseradius bezeichnet. Auf der y-Achse der Abbildung 10 ist das relative Endgewichts der Blutclots nach der Behandlung mit der jeweiligen Ultraschallfrequenz aufgetragen (n=3-6).

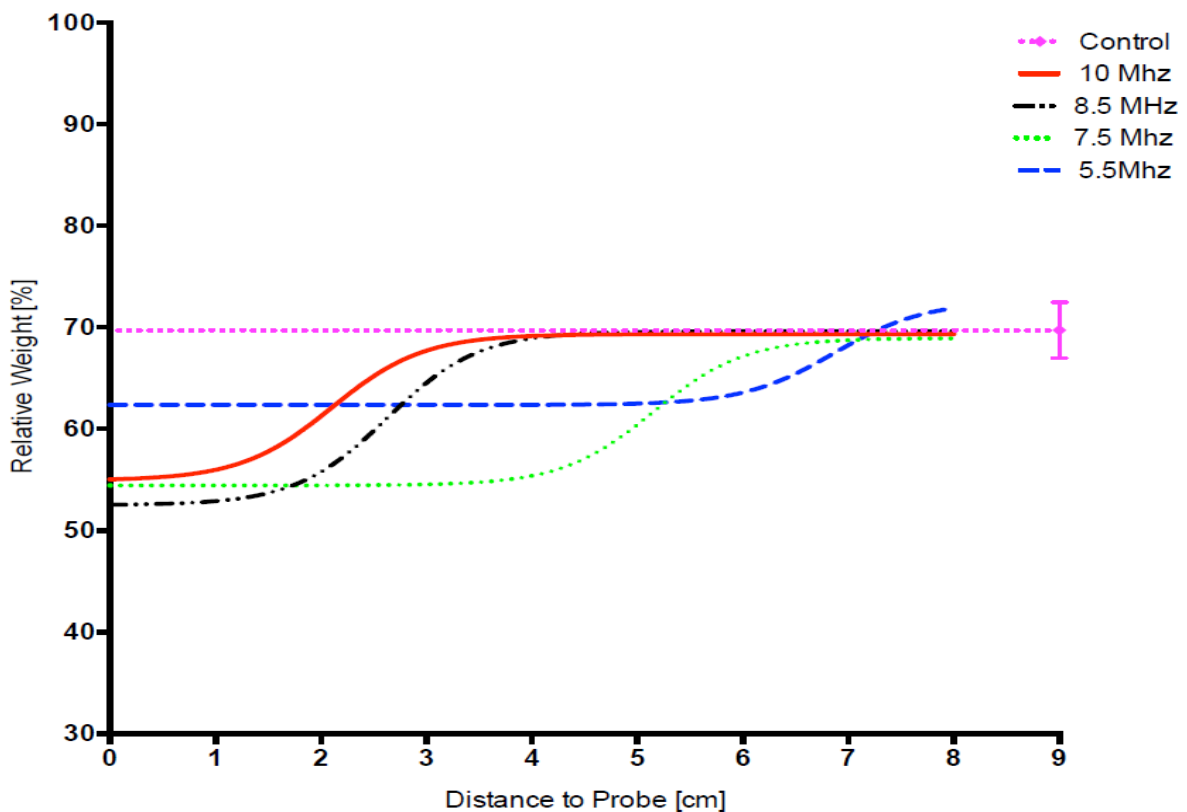


Abbildung 9: Lyseradius der verschiedenen Ultraschallfrequenzen (137)

Die Frequenz von 10 MHz ist in Rot dargestellt, 8,5 MHz sind in Schwarz dargestellt, 7,5 MHz in Grün und 5,5 MHz in Blau. Die Kontrollgruppe ist als pinke, gestrichelte Linie dargestellt. Auf der X-Achse ist der Abstand der Blutclots von der Ultraschallsonde, von 0 bis 8 cm mit Messungen in 1 cm Abständen, dargestellt. Bei der Verwendung von 10 MHz liegt die obere Grenze bei $69,3\pm 2,3\%$; bei 8,5 MHz bei $69,6\pm 4,2\%$; bei 7,5 MHz bei $68,9\pm 4,4\%$ und bei 5,5 MHz bei $72,6\pm 10,7\%$. (Abbildung 2) Diese Ergebnisse stimmen gut mit der Kontrollgruppe dieser Versuchsreihe überein,

welche für eine Stunde mit einer Drainage therapiert wurde und ein relatives Endgewicht von $69,7 \pm 2,8\%$ (Mittelwert + Standardabweichung) hat. Der Mittelwert des relativen Endgewichts der Kontrollgruppe wurde als Grenze der stattgehabten Lyse definiert. Ab diesem Wert findet keine Lyse mittels verschiedener Therapiemaßnahmen mehr statt, sondern nur noch die Autolyse des Blutclots. Da ab dieser Grenze von ungefähr 70% des relativen Endgewichts kein Therapieeffekt mehr nachweisbar ist, wird dies als Lysegrenze definiert. Die Lysegrenze ist in der Abbildung 2 zur Veranschaulichung als pinke Linie dargestellt. Folglich ergibt sich als Lyseradius der jeweiligen Ultraschallfrequenz der auf der x-Achse aufgetragene Abstand in Zentimeter am Schnittpunkt mit der Lysegrenze. Die Ultraschallfrequenz mit der höchsten Frequenz in der Versuchsreihe, 10 MHz, erreicht eine gemittelte Reichweite von 5 cm. Ab dieser Reichweite liegt das Endgewicht der Blutclots bei $69,3 \pm 2,3\%$ und der Lyseradius der Ultraschallfrequenz von 10 MHz ist vermutlich erreicht. Die ermittelte Reichweite bei 8,5 MHz liegt bei 6 cm. Für die Ultraschallfrequenzen von 7,5 MHz ergibt sich eine Reichweite von 8 cm und bei 5,5 MHz von über 8cm.

Tabelle 1: Relatives Endgewicht der Blutclots nach verschiedenen Ultraschallbehandlungen und der Kontrollgruppe (137)

Distance to Probe [cm]	10 MHz	8.5 MHz	7.5 MHz	5.5 Mhz	Control group without insonation
0	$53.9 \pm 2.3\%$	$45.1 \pm 6.8\%$	$49.5 \pm 3\%$	$60 \pm 1.6\%$	$69.7 \pm 2.8\%$
1	$58.4 \pm 2.7\%$	$61.1 \pm 14.8\%$	$62 \pm 6.1\%$	$62.7 \pm 3.1\%$	
2	$61.8 \pm 2.1\%$	$55 \pm 7.7\%$	$47.4 \pm 9.5\%$	$56.7 \pm 7.2\%$	
3	$66 \pm 2.3\%$	$65.6 \pm 2.3\%$	$55 \pm 6.6\%$	$67.7 \pm 3.9\%$	
4	$64 \pm 2.1\%$	$65.5 \pm 10.2\%$	$60.5 \pm 3.7\%$	$61.3 \pm 6.8\%$	
5	$69.1 \pm 5.6\%$	$67.3 \pm 2.5\%$	$58.9 \pm 3.8\%$	$64.7 \pm 3.7\%$	
6	$70.8 \pm 7.9\%$	$70.3 \pm 4.8\%$	$67.9 \pm 2.8\%$	$64.7 \pm 7.7\%$	
7	$70.3 \pm 4.3\%$	$74.6 \pm 5.8\%$	$68.1 \pm 7.1\%$	$67.8 \pm 11.6\%$	
8	$73.8 \pm 8.3\%$	$71.4 \pm 6.9\%$	$69.8 \pm 3.9\%$	$72.2 \pm 6.1\%$	

4.1.3 Acoustic Peak Rarefactional Pressure Messungen bei Ultraschall-Anwendung

Es wurden Messungen im Wasserbad, wie auch im Agar-Model durchgeführt. Das Agar-Model simuliert hierbei die Hirnsubstanz. Es konnte kein Unterschied zwischen den APRP-Messungen im Agar und den APRP-Messungen im Wasserbad festgestellt werden (Tabelle 2 und 3).

Tabelle 2: APRP-Messungen im Wasserbad in verschiedenen Abständen zur Ultraschallsonde. n=3, Mittelwert + Standardabweichung (137)

Distance to Probe [cm]	10 MHz [kPa]	8.5 MHz [kPa]	7.5 MHz [kPa]	5.5 Mhz [kPa]	Lysis threshold [kPa]
10	12.78±22.13	134.44±36.77	181.86±44.81	206.37±43.95	515.5±113.4
9	98.2±18.66	217.15±63.46	418.33±69.29	332.19±67.78	
8	145.54±10.29	350.62±107.44	584.62±43.94	477.33±124.93	
7	239.58±19.06	486.18±155.56	746.37±39.82	585.12±223.5	
6	368.52±22.62	571.92±163.52	870.75±120.35	792.13±310.45	
5	428.32±29.44	693.59±136.58	1116.17±168.86	924.42±460.63	
4	621.27±40.31	976.36±116.43	1304.27±304.37	1134.16±610.9	
3	754.27±95.64	1339.29±58.89	1836.99±142.83	1623.05±519.63	
2	849.11±71.83	1688.48±70.06	2090.06±130.73	2017.02±247.66	
1	1011.9±13.49	1936.76±162.93	2348.72±39.13	2595.41±208.92	
0	1218.27±31.92	2251.15±66.24	2689.61±16.68	2905.96±118.03	

Tabelle 3: APRP-Messungen in Agar verschiedenen Abständen zur Ultraschallsonde. n=3, Mittelwert + Standardabweichung (137)

Distance to Probe [cm]	10 MHz [kPa]	8.5 MHz [kPa]	7.5 MHz [kPa]	5.5 Mhz [kPa]	Lysis threshold [kPa]
10	0±0	0±0	148.84±14.56	149.87±23.11	515.5±113.4
9	110.86±5.33	152.94±3.56	242.25±24.89	230.96±8.15	
8	153.97±18.74	282.28±34.61	371.59±21.63	329.5±57.69	
7	204.27±39.59	523.5±26.85	669.27±33.92	407.51±85.13	
6	352.09±71.12	623.07±32.93	790.4±64.11	647.71±18.56	
5	412.65±80.78	762.68±90.12	950.53±86.3	919.73±46.22	
4	613.83±22.27	1006.98±88.02	1278.99±162.52	1151.71±131.66	
3	719.56±43.7	1412.44±90.17	1703.96±108.15	1847.66±53.33	
2	845.82±24.89	1734.75±17.77	2114.55±77.49	2330.11±261.91	
1	955.65±29.26	1868.2±47.04	2576.47±151.9	2730.45±116.59	
0	1173.27±35.51	2073.49±17.78	2992.2±228.55	2853.62±108.14	

Die höheren Frequenzen erreichten in unserer Versuchsreihe einen niedrigeren APRP. Die Ultraschallfrequenz von 10 MHz zeigt im Abstand von 5 cm einen APRP-Wert von $412,65 \pm 80,78$ kPa. Sie hat damit eine geringere Lyserreichweite als die übrigen Ultraschallfrequenzen. Bei den Messungen wurde festgestellt, dass alle Frequenzen einen linearen Abfall in Abhängigkeit der Distanz zur Ultraschallsonde zeigen. Das Ziel dieser Versuchsreihe ist die Ermittlung einer Lysechwelle. Im Abstand von 0 bis 8 cm zur Ultraschallsonde wurden APRP-Messungen in 1 cm Abständen durchgeführt. Im Bereich des zuvor festgelegten Lyseradius, siehe Abb. 10, wurden die Werte der verschiedenen Frequenzen gemittelt, davon ausgehend, dass es eine Lysechwelle für alle Frequenzen gibt. Durch die zuvor festgelegte Lysegrenze, führten wir APRP Messungen in diesem Bereich durch. Die Lysegrenze stellt den Bereich dar, ab dem das relative Endgewicht der Blutclots 70% beträgt und somit der spontanen Lyse entspricht. Bei Erreichen der Lysegrenze kam es in unserer Versuchsreihe zu keiner Sonothrombolysse mehr.

Hierbei ergibt sich der folgende Wert von 516 ± 113 kPa, der aus 12 Messungen der jeweiligen Frequenzen im Bereich des Lyseradius erfasst wurde (10 MHz bei 5 cm: 428 ± 29 kPa; 8,5 MHz bei 6 cm: 572 ± 164 kPa; 7,5 MHz bei 8 cm: 585 ± 44 kPa und 5,5 MHz bei 8 cm: 477 ± 125 kPa). Bei der Annahme, dass es nur eine Lysechwelle gibt, welche sich bei ungefähr 516 ± 113 kPa befindet, liegt bei den APRP-Messungen der Lyseradius für 10 MHz bei $4,5 \pm 0,5$ cm, für 8,5 MHz bei $6,5 \pm 0,5$ cm, für 7,5 MHz bei $8,5 \pm 0,5$ cm und für 5,5 MHz bei $7,5 \pm 0,5$ cm. Dies entspricht weitgehend dem Lyseradius, der durch Insonation der Blutgerinnsel in verschiedenen Abständen erforscht wurde. Die Lysechwelle stellt in unserer Versuchsreihe den APRP-Wert dar, der mindestens erreicht werden muss um zu einer Thrombolysse zu führen.

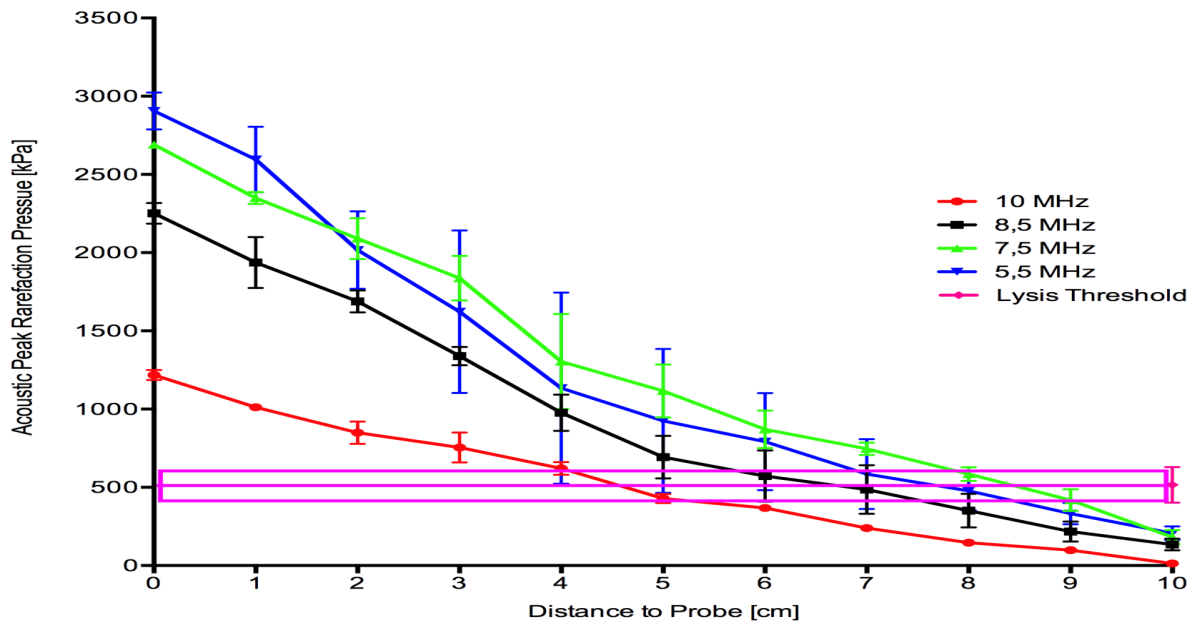


Abbildung 10: Acoustic peak rarefactional pressure Messungen der verschiedenen Ultraschallfrequenzen (137)

4.1.4 Temperaturmessung bei der Ultraschallanwendung

Bei Anwendung des Ultraschalls mit den zuvor beschriebenen Einstellungen kann eine maximale Temperaturerhöhung von $0,53 \pm 0,75^\circ\text{C}$ mit 7,5 MHz direkt vor der Ultraschallsonde festgestellt werden, Abbildung 4. Bei der Ultraschallfrequenz von 10 MHz ist lediglich eine Temperaturerhöhung in unmittelbarer Nähe von $0,2 \pm 0,26^\circ\text{C}$ zu ermitteln.

Tabelle 4: Temperaturerhöhungen der verschiedenen Ultraschallfrequenzen (137)

Distance to Probe [cm]	10 MHz [$^\circ\text{C}$]	8.5 MHz [$^\circ\text{C}$]	7.5 MHz [$^\circ\text{C}$]	5.5 Mhz [$^\circ\text{C}$]
0	-0.03 ± 0.12	-0.03 ± 0.29	0.53 ± 0.75	0.23 ± 0.15
1	0.03 ± 0.32	-0.03 ± 0.21	0.5 ± 0.69	0.13 ± 0.12
2	-0.2 ± 0.26	-0.03 ± 0.12	0.33 ± 0.4	0.1 ± 0.1
3	-0.07 ± 0.15	-0.03 ± 0.21	0.2 ± 0.26	0.13 ± 0.15
4	-0.03 ± 0.29	-0.1 ± 0.17	0.07 ± 0.21	0.2 ± 0.17
5	-0.03 ± 0.29	-0.13 ± 0.21	0.07 ± 0.21	0.1 ± 0
6	-0.07 ± 0.32	-0.1 ± 0.17	0.07 ± 0.21	0.07 ± 0.06
7	-0.1 ± 0.26	-0.13 ± 0.21	0.07 ± 0.21	0.03 ± 0.06
8	-0.07 ± 0.25	-0.2 ± 0.26	0.03 ± 0.23	-0.03 ± 0.06

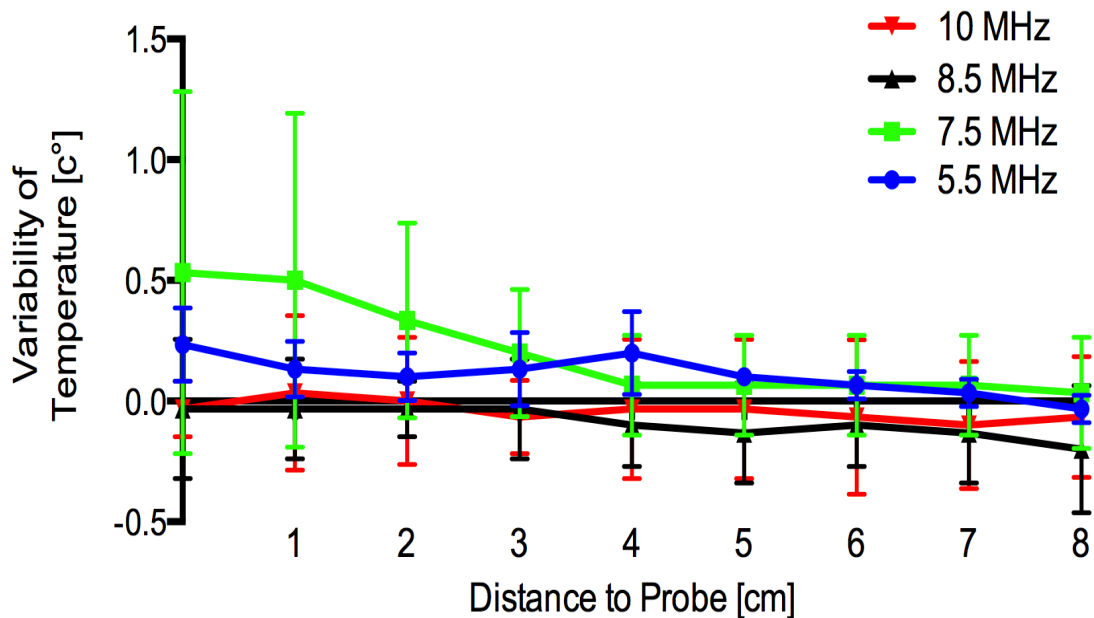


Abbildung 11: Temperaturmessungen der verschiedenen Ultraschallfrequenzen (137)

4.1.5 Morphologische Analyse

Bei der histomorphologischen Untersuchung der H&E gefärbten Blutclots konnten keine strukturellen Veränderungen in den verschiedenen Behandlungsgruppen festgestellt werden. Daraufhin wurden die Blutclots mit einem konfokalen Laser-Scanning Mikroskop untersucht. Hierbei wurden die Blutclots zuvor mittels Alexa Fluor 488 (Fibrinogen aus menschlichem Plasma) gefärbt. Auch hier konnte bei dem Kontrollclot, dem mit rtPA behandelten Clot und dem mit Ultraschall beschallten Clot kein Unterschied beobachtet werden. Nur bei der kombinierten Anwendung von Ultraschall und rtPA kam es zu einer Rarefizierung des feinen Fibrinfasernetzes. In Abbildung 12 ist die Wirksamkeit der alleinigen Therapie mit Ultraschall und die kombinierte Therapie von Ultraschall und rtPA anhand von Blutclots mit unterschiedlicher Inkubationszeit dargestellt. In der Abbildung (12a) stellt die Y-Achse das absolute Gewicht der Blutclots in Gramm (n=18) nach verschiedenen Inkubationszeiten ohne Therapie dar. Die Blutclots mit 90 Minuten Inkubationszeit haben ein absolutes Gewicht von $16,8 \pm 1,15$ g, die Blutclots mit 24 Stunden Inkubationszeit haben ein absolutes Gewicht von $17,48 \pm 1,45$ g und die Blutclots mit 48 Stunden Inkubationszeit ein absolutes Endgewicht von $17,14 \pm 1,7$ g. Die Darstellung des absoluten Gewichts der Blutclots erfolgt anhand von Boxplots.

Die konfokalen mikroskopischen Fluoreszenzbilder (n= 3-10) zeigen (Abb. 12b) die Blutclots mit 90 Minuten Inkubationszeit, (Abb. 12c) 24 Stunden Inkubationszeit und

(Abb. 12d) 48 Stunden Inkubationszeit. Die Markierung am unteren Bildrand rechts repräsentiert 20 μm . Das in der oberen Bildreihe eingefügte weiße Quadrat stellt den Ausschnitt des vergrößerten Bildbereichs der unteren Bildreihe dar. In der unteren Bildreihe repräsentiert die Markierung am unteren Bildrand 5 μm . Die Fluoreszenzbilder der Blutclots mit 48 Stunden Inkubationszeit zeigen ein kompakteres Fibrinfasernetz als die Blutclots mit 90 Minuten bzw. 24 Stunden Inkubationszeit. (Abbildung 12, b,c,d).

In Abbildung 12 (e) aufgetragen auf der Y-Achse ist das relative Endgewicht der Blutclots in Prozent. Auf der X-Achse aufgetragen ist die Anzahl an Behandlungszyklen. Dargestellt sind die Blutclots mit verschiedenen Inkubationszeiten. 90 Minuten Inkubationszeit (n=3) sind rot dargestellt, 24 Stunden Inkubationszeit (n=3) sind blau dargestellt und 48 Stunden Inkubationszeit (n=3) sind grün dargestellt. Ein Therapiezyklus entspricht in dieser Versuchsreihe einer Stunde Insonation mit dem Ultraschall und 10 Minuten Drainagezeit. Das relative Endgewicht der Blutclots mit 90 Minuten Inkubationszeit ist nach dem ersten Therapiezyklus im Vergleich zu den Blutclots mit 24 Stunden Inkubationszeit niedriger ($p=0,0188$ *). Auch das relative Endgewicht der Blutclots mit 90 Minuten Inkubationszeit nach dem ersten Therapiezyklus zeigt im Vergleich zu den Blutclots mit 48 Stunden Inkubationszeit ein signifikant niedrigeres Endgewicht ($p<0,0001$ ****). Die alleinige Therapie mittels Ultraschall bei alten Blutclots ist weniger wirksam. Auch die wiederholten Therapiezyklen zeigen eine abnehmende Thrombolyse. Der erste Therapiezyklus zeigt die stärkste Auswirkung auf die Thrombolyse.

In Abbildung 12(f) ist die Wirkung der kombinierten Anwendung von 1 Stunde Ultraschall und 1mg rtPA abgebildet. Auf der Y-Achse ist das relative Endgewicht der Blutclots in Prozent aufgetragen. Auf der X-Achse ist die Anzahl der Therapiezyklen aufgetragen. Die Blutclots mit verschiedenen Inkubationszeiten sind farblich markiert, 90 Minuten Inkubationszeit (n=3) ist rot dargestellt, 24 Stunden Inkubationszeit (n=3) ist blau dargestellt und 48 Stunden Inkubationszeit (n=3) ist grün dargestellt. Ein Zyklus von 70 Minuten beinhaltet 1 Stunde Ultraschall und rtPA Einwirkung, sowie 10 Minuten Drainage. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Blutclots mit verschiedener Inkubationszeit.

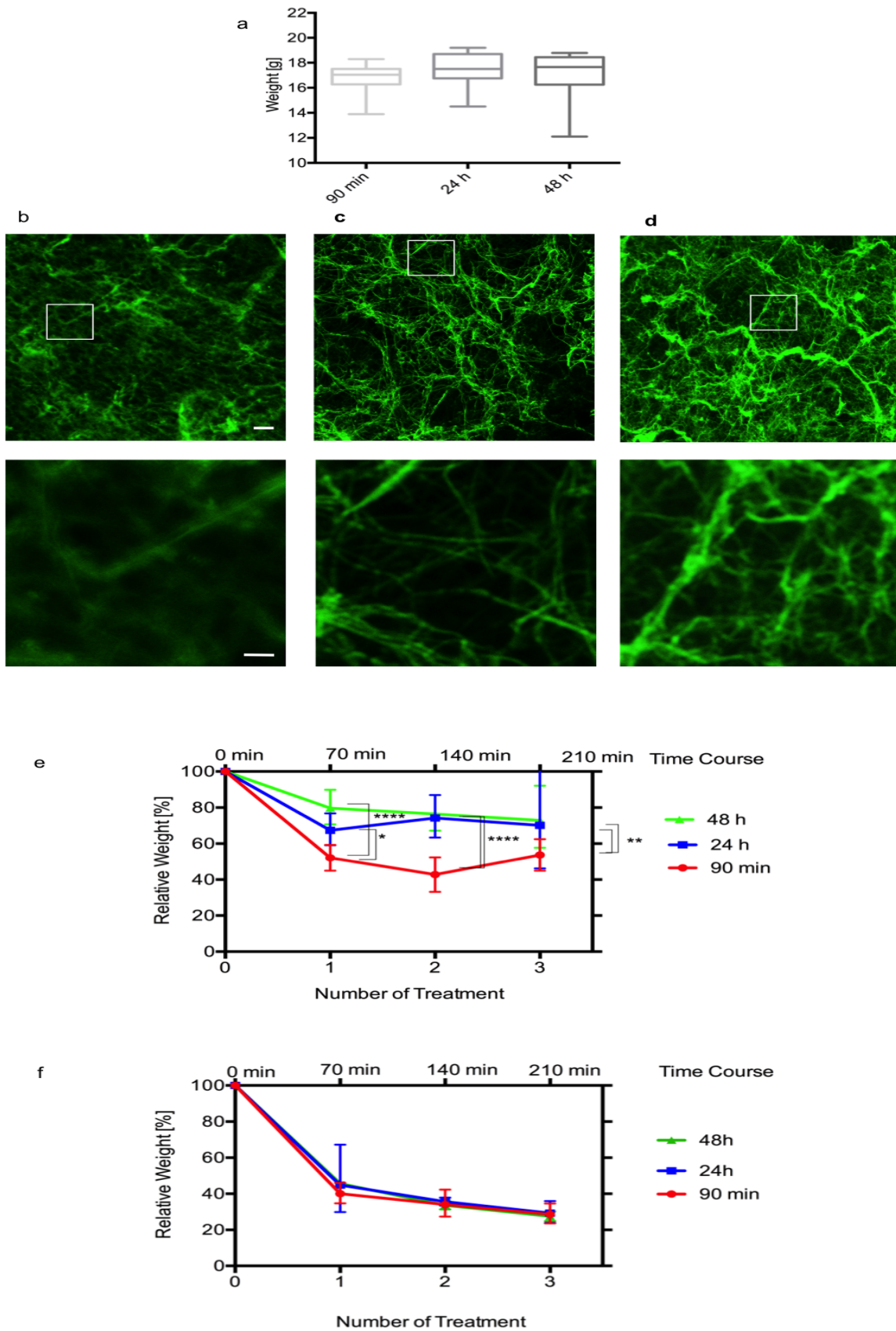


Abbildung 12: Untersuchung der Wirkung der alleinigen Anwendung von Ultraschall und der kombinierten Anwendung von Ultraschall und rtPA in Clots unterschiedlichen Alters mit dem Konfokalmikroskop (137)

**** zeigt die signifikante Differenz des relativen Endgewichts der Therapiegruppen mit $p < 0,0001$

*** zeigt die signifikante Differenz des relativen Endgewichts der Therapiegruppen mit $p = 0,0001$

** zeigt die signifikante Differenz des relativen Endgewichtes der Therapiegruppen von $p < 0,001$

* zeigt die signifikante Differenz des relativen Endgewichtes der Therapiegruppen von $p < 0,05$

Die p-Werte wurden mittels Tukey's-Range Test ermittelt.

In Abbildung 13 stellt die erste Spalte (a, e, i und m) die Kontrollgruppe dar. In der zweiten Spalte (b, f, j und n) ist die rtPA therapierte Gruppe dargestellt. Die alleine mit Ultraschall behandelte Gruppe ist in der dritten Spalte (c, g, k und o) zu sehen. In der vierten Spalte (d, h, l und p) zeigt sich die kombinierte Anwendung von Ultraschall und rtPA. Die oberste Reihe (Abb. 13a-d) stellt die Blutclots der verschiedenen Therapiegruppen, gefärbt mit H&E dar, (a) H&E Färbung ohne Therapie, Kontrollgruppe, (b) H&E Färbung, Therapie mit rtPA, (c) H&E Färbung, Therapie mit Ultraschall (10 MHz), (d) H&E Färbung, kombinierte Therapie von Ultraschall und rtPA. Alle Abbildungen a-d zeigen ein homogenes Muster, unabhängig von der Therapiegruppe. Der mitabgebildete Balken dieser Reihe repräsentiert 50 μm . Die Abbildungen 13e-h zeigen konfokal mikroskopische Fluoreszenzbilder ($n = 2-6$), (e) ohne Therapie, Kontrollgruppe, (f) Therapiegruppe mit rtPA, (g) Therapiegruppe mit Ultraschall (10 MHz) und (h) kombinierte Therapiegruppe mit rtPA und Ultraschall. Der mitabgebildete Balken dieser Reihe repräsentiert 20 μm . Das in dieser Reihe abgebildete weiße Quadrat stellt den Bereich, der unteren gezoomten Bildreihe dar. Der mitabgebildete Balken dieser Reihe repräsentiert 5 μm . Die illustrierte Abbildung 13(i) stellt die Blutclots ohne Therapie dar, was der Kontrollgruppe entspricht. In der Abbildung ist Fibrin grün markiert. Auf der linken Seite ist das relative Endgewicht in Prozent aufgetragen. Abbildung 13(j) zeigt die Therapiegruppe mit rtPA. Die roten Dreiecke stehen in diesem Fall für das Medikament rtPA. Abbildung 13(k) stellt die Therapiegruppe mit Ultraschallbehandlung dar. Die blauen Bögen sollen die Ultraschallwellen illustrieren. Abbildung 13(l) zeigt die kombinierte Therapiegruppe mit rtPA und Ultraschall. Die unterste Reihe stellt die Blutclots illustriert nach der Behandlung dar.

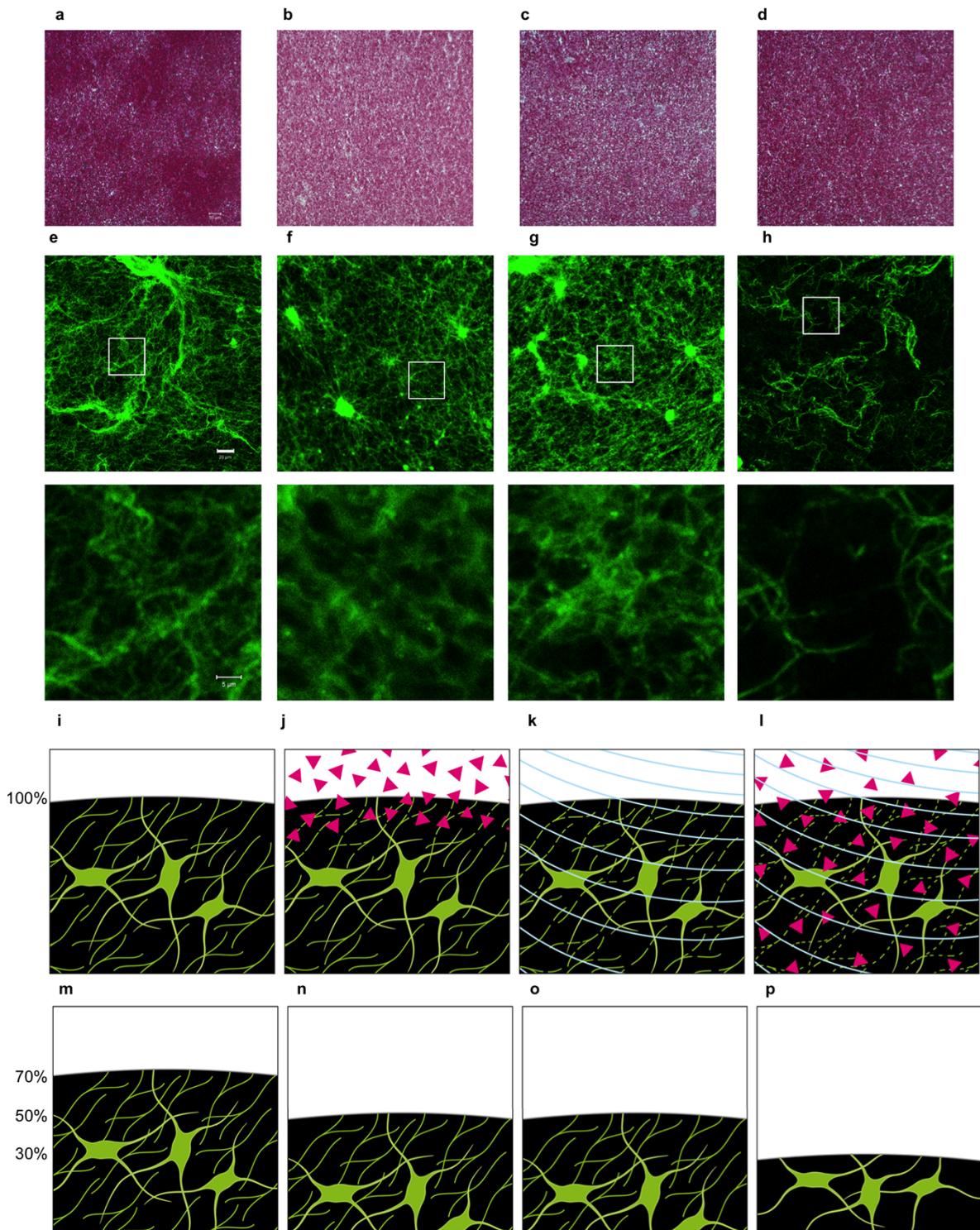


Abbildung 13: Morphologische Analyse der verschiedenen Therapiegruppen unter Verwendung einer H&E Färbung und eines konfokalen Mikroskops bei Alexa Fluor 488-Färbung (137)

5. Diskussion

Die vorliegende Arbeit repräsentiert eine systematische Untersuchung zur Optimierung der minimal-invasiven Therapie der intrazerebralen Blutung mittels Sonothrombolyse.

Bei der intrazerebralen Blutung scheint die frühe chirurgische Evakuierung bzw. die minimal-invasive Thrombolyse der Blutung eine protektive Wirkung auf das umgebene Hirngewebe zu haben und den sekundären Schaden in ausgewählten Fällen zu verringern (88)(103)(104). Pathophysiologisch gesehen, bietet der chirurgische Eingriff hinsichtlich mehrerer Aspekte einen Vorteil. Einerseits kommt es durch den chirurgischen Eingriff direkt zu einer Reduktion der komprimierenden Wirkung der Blutung auf das umgebene Hirngewebe. Andererseits wird der sekundäre Schaden und das damit entstehende perifokale Ödem durch die Reduktion der Freisetzung gewebstoxischen Blutabbauprodukten reduziert (105). Vereinfacht gilt das Prinzip, je oberflächlicher eine Blutung lokalisiert ist, desto besser gestaltet sich die Durchführung der minimalisierten Kraniotomie. Bei tiefer lokalisierten Blutungen sind die stereotaktisch/ navigierten Katheterverfahren bzw. endoskopische Hämatomausräumung zu bevorzugen, falls eine neurochirurgische Therapie notwendig ist (12)(43)(84)(86)(87)(106)(107)(108)(109)(121). Die aktuellen Literatur zeigt momentan noch keine klare Evidenz bezüglich der Operationsmethode zur Hämatomevakuierung der akuten ICB und lässt daher nur eine individuelle Entscheidung von Patient zu Patient zu (1)(135). Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Prognose im Zusammenhang mit der Ausprägung des perifokalen Ödems steht (44)(45)(88). Das perifokale Ödem entsteht in der hyperakuten Phase und wird vermutlich vor allem durch proosmotische Substanzen (Proteine, Elektrolyte) des Blutclots verursacht (44)(45). Diese sekundären Effekte (das perifokale Ödem und die toxischen Blutabbauprodukte) sind nach aktueller Studienlage (2020) noch nicht direkt zu beeinflussen. Der Schwerpunkt der Versuchsreihe lag daher auf der möglichst zeitnahen Reduktion des Blutungsvolumens durch minimal-invasive Methoden. Um das direkt chirurgisch induzierte Trauma zu verringern und eine effektivere Therapiemöglichkeit für tief-gelegene ICBs zu entwickeln, wurden bereits neue minimalinvasive Techniken erprobt. Durch den minimal-invasiven Eingriff kommt es zu einer Schonung des umgebenen Gewebes. Das minimal-invasive Verfahren umfasst eine Bohrlochtrepantation mit nachfolgender stereotaktischer Aspiration des Hämatoms (12). Um das Hämatom besser absaugen zu können wird das Hämatom

entweder mechanisch fragmentiert oder durch Fibrinolytika therapiert. Im Vergleich zur offen-chirurgischen Therapie ergibt sich bei der minimal-invasiven Therapie der Vorteil der einfacheren Durchführbarkeit des Eingriffs und des geringeren Operationstraumas.

Im Rahmen dieser Versuchsreihe wurde sich an der minimal-invasiven Bohrlochtrepantation mit stereotaktischer Kathetereinlage und nachfolgenden Clotaspiration mit lokaler Lysetherapie orientiert. Diese Methode hat sich bereits im Rahmen der MISTIE II-Studie als sicher bewiesen (12). Im Zuge der nachfolgenden MISTIE III wurde das funktionelle Outcome der Patienten nach einem Jahr untersucht. Es konnte keine Verbesserung des funktionellen Outcomes bei Patienten mit intrazerebraler Blutung > 30 ml festgestellt werden (109). In den letzten Jahren gab es kaum Fortschritte zur Verbesserung des Outcomes bei tief-gelegenen intrazerebralen Blutungen. Daher gilt es die minimal-invasive Therapie der tief-gelegenen ICB weiter zu optimieren.

5.1 In-vitro Sonothrombolyse

Um Untersuchungen zur Optimierung der minimal-invasiven Therapie bei der intrazerebralen Blutung durchzuführen, wurde ein standardisiertes, gut reproduzierbares Clot-Modell etabliert (116). Es stellte sich die Frage, wie man die Fibrinolyse von rtPA steigern könnte, ohne schwerwiegende Nebenwirkungen hervorzurufen (145)(146)(147). Zur Verwendung von Ultraschall beim ischämischen Schlaganfall gibt es bereits zahlreiche Untersuchungen, die die Wirksamkeit und Sicherheit der alleinigen und kombinierten Anwendung mit rtPA untermauern (112)(113)(114)(144).

Zurzeit gibt es jedoch nur eine systematische Studie, die die thrombolytische Wirkung von Ultraschall, bzw. der unterschiedlichen Ultraschall-Einstellungen (Frequenz und Abstand der Ultraschallsonde) bei der intrazerebralen Blutung untersucht (115). Mithilfe des Clot-Modells wurden Untersuchungen zur Thrombolyse mittels Ultraschall in alleiniger Anwendung und in Kombination mit rtPA bei der intrazerebralen Blutung durchgeführt (116). Eine Vielzahl an Studien zur Rekanalisation der verschlossenen Arterie bei Schlaganfallpatienten wählt eine Beschallungszeit von einer Stunde aus (14)(117)(118). Daher wurde eine Stunde Ultraschallapplikation des Blutclots als geeignete Behandlungszeit in unserem in-vitro Modell etabliert (116). Im Rahmen dieser Arbeit wurde erstmalig systematisch die fibrinolytische Wirkung verschiedener

Ultraschallfrequenzen untersucht. Es wurde des Weiteren zum ersten Mal der Lyseradius verschiedener Ultraschallfrequenzen und der zur Thrombolyse erforderliche APRP-Wert der jeweiligen Frequenz ermittelt. Mizushige et al. untersuchte die Effektivität der kombinierten Anwendung von Ultraschall und Ultraschallkontrastmittel zur Thrombolyse mit rtPA. Es wurden aus 7 ml Vollblut von freiwilligen Spendern 28 weiße Thromben hergestellt (119). Die Thromben wurden folglich in vier Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe ohne Ultraschallkontrastmittel (Kontrolle) und drei Gruppen mit verschiedenen Ultraschallkontrastmittel ("sonicated albumin" (A), SH-U508A (SH) und dodecafluoropentane Emulsion (DDFP)). Es zeigte sich nur eine Erhöhung der Thrombolyse bei Kombination von 10 MHz Ultraschall und rtPA mit einem Ultraschallkontrastmittel. Ein Grund für die Steigerung der Sonothrombolyse nur unter Anwendung von Ultraschallkontrastmittel, könnte die zu geringe Insonationszeit von zehn Minuten sein (119). Des Weiteren birgt die Anwendung von Ultraschallkontrastmittel durch die Entstehung von Kavitation das Risiko der perihämatomaler Gewebeschädigung (119).

Obgleich es viele Studien zur Lyse mittels rtPA bei der intrazerebralen Blutung gibt, fehlen Untersuchungen zur Ultraschallthrombolyse (120)(121).

Die einzige klinische Studie zur kombinierten Anwendung von rtPA und intraläsionalem Ultraschall bei der intrazerebralen Blutung nutzte eine Ultraschallfrequenz von 2 MHz. Im Rahmen der Studie wurden neun Patienten mit spontaner ICB größer gleich 25 ml und/ oder IVH mit Ventrikelobstruktion eingeschlossen. Es wurde ein Ventrikelkatheter und Ultraschallmikrokatheter stereotaktisch in die ICB bzw. IVH eingebracht. Drei Dosen rtPA über 24 Stunden wurden über den eingebrachten Katheter in die Blutung appliziert. Bei der ICB wurden jeweils 0,9 mg appliziert, bei der IVH jeweils 3 mg. Über 24 Stunden fand die kontinuierliche Anwendung von intraläsionalem Ultraschall statt. Eine Volumenreduktion durch Lyse und Drainage der ICB bzw. IVH konnte sicher und schnell mittels intraläsionaler Sonothrombolyse und stereotaktisch eingebrachtem Katheter erreicht werden. Bei der intrazerebralen Blutung ohne Ventrikeleinbruch konnte eine Volumenreduktion von 59 +/- 5% (Mittelwert +/- Standardabweichung) der Blutung erzielt werden (115). Im Vergleich zur MISTIE und CLEAR-Studie konnten Newell et al. eine schnellere Lyse bei Patienten mit ICB bzw. IVH bei kombinierter Anwendung von intraläsionalem Ultraschall und rtPA zeigen. Die Ultraschallfrequenz

von 2 MHz wird in aller Regel zur transkraniellen Anwendung verwendet und bietet keine Möglichkeit zur intrakraniellen Bildgebung (116)(122). Für die Experimente dieser Arbeit wurde eine Ultraschallfrequenz gesucht, die sich zur Anwendung als therapeutischer und diagnostischer Ultraschall, also zur kombinierten Anwendung mit rtPA und zur intrakraniellen Bildgebung eignet (116). Des Weiteren galt es eine Ultraschallfrequenz zu finden, deren Reichweite bei der Thrombolyse das durchschnittliche Volumen der intrazerebralen Blutung nicht wesentlich überschreitet um das umliegende Gewebe zu schonen.

In der Versuchsreihe wurden die Ultraschallfrequenzen 5,5 MHz, 7,5 MHz, 8,5 MHz und 10 MHz untersucht. Bei der Verwendung von 10 MHz als Ultraschallfrequenz, ergab sich ein Lyseradius von $4,5 \pm 0,5$ cm. Bei Betrachtung des durchschnittlichen Volumens einer intrazerebralen Blutung von 30-45 ml, lässt sich daraus schließen, dass mit einer Frequenz von 10 MHz und einem Lyseradius von $4,5 \pm 0,5$ cm diese gut zu behandeln ist. Ein noch größerer Lyseradius, wie der von 5,5 MHz ($7 \pm 0,5$ cm) oder von 7,5 MHz ($7,5 \pm 0,5$ cm), ist in der Regel bei der intrakraniellen Sonothrombolyse und intrakraniellen Bildgebung daher nicht notwendig. Die Ultraschallfrequenz von 5,5 MHz zeigte im Übrigen bei den Versuchen die höchste Standardabweichung bezüglich der APRP-Werte. Auch der Lyseradius dieser Frequenz stellt sich als geringer heraus, als erwartet. Eine mögliche Erklärung dafür ist die erhöhte Ungenauigkeit mit Zunahme des Messabstandes.

Zur Ermittlung eines Grenzwertes der jeweiligen Frequenzen, unterhalb dessen keine Lyse mehr möglich ist, die „Lysegrenze“, wurden APRP-Messungen durchgeführt. Es stellt sich die Frage, ob es einen Grenzwert des negativen Schallspitzendrucks bei der Ultraschallanwendung gibt, ab dem keine Thrombolyse mittels Ultraschall mehr möglich ist?

Der APRP ist einer der Hauptfaktoren, der die Ultraschall-vermittelte Thrombolyse beeinflusst (101). Die angegebenen APRP-Werte schwanken in der Literatur stark von 30 kPa bis 2,1 MPa (101). Um diesen Grenzwert zu ermitteln wurden APRP-Messungen für jede Ultraschallfrequenz durchgeführt. Die Messungen wurden in verschiedenen Abständen und jeweils an der Grenze des zuvor in unserem in-vitro Modell ermittelten Lyseradius der jeweiligen Ultraschallfrequenz durchgeführt. Der Lyseradius wurde festgelegt als der Radius der jeweiligen Ultraschallfrequenz, in dem Sonothrombolyse möglich ist. Bei den APRP-Messungen zeigte sich für alle

Frequenzen ein durchschnittlicher APRP-Wert von 515,5+/- 113,4 kPa. Folglich wird der APRP-Wert von 515 +/- 113,4 kPa als „Lysegrenze“ festgelegt und soll den Wert darstellen, der zur Ultraschall-vermittelten Thrombolysen mindestens erreicht werden muss. Unter diesem Wert ist wahrscheinlich keine Lyse mehr möglich. Inwiefern dieser APRP-Wert auch für weitere Ultraschallfrequenzen gültig ist, bleibt offen und muss in weiterführenden Untersuchungen herausgefunden werden.

Bei Kindern mit noch offener Fontanelle wird zur transkraniellen Dopplersonographie eine Frequenz von 5–10 MHz zur intrakraniellen Bildgebung bevorzugt angewendet (123). Diese Frequenzen dringen weniger tief in das Gewebe ein, bieten aber daher eine höhere Bildauflösung (97). Keric et al. konnten auch in den von ihnen durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass 10 MHz eine gute intrakranielle Bildqualität bietet (122). Durch die intrakranielle Bildgebung könnte, durch die Reduktion der notwendigen CT-Verlaufsuntersuchungen, Strahlendosis bei Patienten mit ICB eingespart werden. Folglich bietet sich durch den Einsatz von Ultraschall der Vorteil der Echtzeit-Bildgebung und der hochauflösenden Darstellung intrakranieller Strukturen. Die Entwicklung der Therapie der intrazerebralen Blutung kann unter Echtzeit-Bildgebung beobachtet werden und Volumenzunahmen/ -abnahme ohne CT-Untersuchung detektiert werden. Auch das perifokale Ödem und der zerebrale Blutfluss kann am Bett des Patienten beurteilt und verlaufskontrolliert werden.

Die kombinierte Anwendung von Ultraschall und rtPA führt zu einer erhöhten enzymatischen Fibrinolyse, was vermutlich auf den Mechanismus des *acoustic streaming* zurückzuführen ist (124). *Acoustic streaming* entsteht durch die von den Ultraschallwellen erzeugte Strömung in der Gewebeflüssigkeit. Ultraschall führt über mechanische, chemische und thermische Effekte zu gewünschten, aber auch unerwünschten Wirkungen. Der Effekt des *acoustic streaming* scheint bei der Anwendung mit und ohne Fibrinolytikum eine wichtige Rolle zu spielen. In mehreren Arbeiten konnte bereits die verbesserte Aufnahme des Fibrinolytikums durch eine reversible Gefügelockerung des Fibrinnetzes in den Thrombus und die damit verbundene Vergrößerung der Wirkoberfläche gezeigt werden (124). In Kombination mit rtPA könnte es zu einer irreversiblen Gefügelockerung kommen. Obwohl es klar ist, dass in vivo das umgebene Gewebe eine wichtige Rolle spielt, können die in-vitro Versuche helfen die Lysetherapie zu optimieren. Gerade bei großen intrazerebralen

Blutungen ist das Zentrum der Blutung weniger von dem umgebenen Gewebe beeinflusst und kommt damit unserem in-vitro Modell recht nahe (101).

5.2 Sicherheit der Anwendung von Ultraschall zur Thrombolyse

Wie schon bereits bekannt, kann die Anwendung von Ultraschall zur Gewebeschädigung durch Temperaturerhöhung oder direkte mechanische Einwirkung führen (117)(144). Zur Bestätigung der biologischen Sicherheit hinsichtlich der Temperaturerhöhung bei der Anwendung von hochfrequentem Ultraschall wurden Temperaturmessungen in der Umgebung der Ultraschallsonde durchgeführt. Dabei wurden verschiedenen Ultraschallfrequenzen in einem Gehirnphantom-Modell verwendet und die Temperaturveränderungen bestimmt. Die höchste gemessene Temperaturerhöhung beträgt 0.53 ± 0.75 °C bei 7,5 MHz und ist in direkter Umgebung der Ultraschallsonde und nach einer Stunde Beschallungszeit gemessen worden. Die Temperaturerhöhung bei den Ultraschallfrequenzen von 10 MHz und 8,5 MHz war wesentlich niedriger, was wiederum den Vorteil der Anwendung dieser beiden Frequenzen bestätigt. Zur weiteren Bestätigung der biologischen Sicherheit, werden weiterführende Tierexperimente durchgeführt. Nebenwirkungen der Anwendung von intrakraniell Ultraschall können die Entwicklung eines Hirnödems, Gewebnekrosen und Störungen der Blut-Hirn-Schranke sein und sind daher in dem in-vitro Modell letztendlich nicht zu beurteilen (126)(127). In einer klinischen Studie mit 26 Patienten und einem Verschluss der A. cerebri media wurde eine Gruppe mit rtPA alleine und die andere Gruppe mit rtPA und transkranialen, Niedrigfrequenz-Ultraschall von 300 kHz therapiert. Die Studie musste vorzeitig abgebrochen werden, da 13 von 14 Patienten im MRT Zeichen einer Hirnblutung zeigten und fünf von davon sogar symptomatisch waren (128). Dies zeigt, wie wichtig es ist solche Ereignisse zu verhindern und Nebenwirkungen bei der intrakraniellen Ultraschallanwendung vorzubeugen. Aus diesem Grund wählten wir bei unseren Versuchen die Einstellung der jeweiligen Ultraschallfrequenz mit dem niedrigsten Mechanischen Index (MI). Bei 10 MHz beträgt der MI: 0,5. Bei 8,5 MHz beträgt der MI: 1.

Der Mechanische Index ist ein Maß der mechanischen Einwirkung von Schallwellen auf Gewebe und gibt die Wahrscheinlichkeit für Kavitationen im Gewebe an (129). Zur Berechnung des Mechanischen Index wird der negative Schallspitzendruck im Wasser

gemessen und wird, in Abhängigkeit des Dämpfungsfaktors des betroffenen Gewebes und der Ultraschallfrequenz, hieraus berechnet (99). Ein mechanischer Index von 0,7 wird als Grenzwert für Kavitationen im Gewebe angesehen (130). Apfel et al. empfehlen daher auch bei der transkraniellen Dopplersonographie die Verwendung eines MI unter 0,7 (129). In unseren Messungen liegen die Werte des mechanischen Index bei den Ultraschallfrequenzen von 10 MHz und 8,5 MHz unterhalb des festgelegten Grenzwertes von MI: 0,7. Die Wahrscheinlichkeit von Kavitationen wird dadurch stark verringert. Jedoch werden Kavitationen auch als mögliche Mechanismen der Sonothrombolyse diskutiert (131). Zum Ausschluss von Kavitationen wurde eine H&E-Färbung der mit 10 MHz beschallten Blutclots durchgeführt und morphologisch untersucht. Es konnten keine strukturellen Veränderungen bei der morphologischen Untersuchung festgestellt werden. Die Entstehung von Kavitation bei der Verwendung von 10 MHz ist damit unwahrscheinlich. Auch eine Sicherheitsstudie an Tieren untersuchte die biologische Sicherheit der längeren Anwendung (8 Stunden) von intravasalen hochfrequenten Ultraschall. Im Rahmen dieser Studie wurden die iliofemorale Arterien beidseits mit Ultraschall mit einer Frequenz von 2,2 MHz über 8 Stunden beschallt und histopathologisch untersucht. Es konnten keine biologischen Schäden nach der achtstündigen intravaskulären Anwendung festgestellt werden (132). In der durchgeführten in-vitro Studie wurden die Blutclots des Weiteren nach der jeweiligen Behandlung mit einem Fluoreszenz-Mikroskop untersucht. Es konnten, unabhängig von der Behandlungsgruppe, keine strukturellen Unterschiede festgestellt werden. Lediglich in der kombinierten Behandlungsgruppe von Ultraschall und rtPA zeigte sich eine Gefügelockerung des Fibrinnetzes. Dieses Ergebnis stützt die Hypothese, dass Ultraschall vermutlich zu einer reversiblen, kurz andauernden Unterbrechung des feinen Fibringefüges führt. Durch diese temporäre Diskonnektion der Fibrin-Fasern des Fibrin-Netzes könnte es zu einer temporären Verringerung der Clotdichte kommen (125)(133). In dieser Zeit können fibrinolytische Substanzen in den Clot strömen und zur einer Fibrinolyse des feinen Fibrinnetzes führen. Die rtPA Aufnahme in das Fibrinnetz wird erhöht und die Wirkoberfläche vergrößert (125)(133). Auch bei der Anwendung von Ultraschall ohne Gabe eines Fibrinolytikums führt dieser Mechanismus vermutlich zu einer verbesserten endogenen enzymatischen Fibrinolyse. Dies beruht am ehesten auch auf der Erhöhung der Wirkoberfläche der endogenen fibrinolytischen Substanzen (125).

Im Rahmen der morphologischen Analyse nach 90 Minuten, 24 Stunden und 48 Stunden zeigt sich ein kompakteres Fibrinnetz bei den Clots nach 48 Stunden. Das kompakte Fibrinnetz führt zu einer verringerten Clotoberfläche und damit zu einer geringeren Lyse durch rtPA. Daher könnte die kombinierte Anwendung von Ultraschall und rtPA, vor allem in älteren Clots, der alleinigen Anwendung von rtPA überlegen sein. Insbesondere bei Patienten mit älterer intracerebralen Blutung könnte somit die kombinierte Anwendung von Ultraschall und rtPA eine effektive Behandlungsmethode darstellen. Im Gegensatz zur alleinigen Injektion von rtPA in die Blutung, könnte es durch die kombinierte Anwendung mit Ultraschall zu einer kürzeren Behandlungszeit und einer Verringerung der Gesamtdosis von rtPA kommen. Folglich könnte dies zu einer Reduktion der mit der rtPA verbundenen Nebenwirkungen, wie dem Risiko einer Nachblutung und der neurotoxischen Wirkung von rtPA führen. Auch die Drainagezeit und das damit verbundene Infektionsrisiko könnte somit reduziert werden. Ein prognostischer Vorteil von Patienten bei der kombinierten Anwendung von rtPA und Ultraschall lässt sich jedoch nur anhand von klinischen Studien zeigen.

Bei der Bewertung der Ergebnisse der in-vitro Studie muss berücksichtigt werden, dass nur das Hämatom simuliert wurde, ohne das perifokale Gewebe. Bei allen Versuchen wurde der Hirndruck durch eine Wassersäule von 10 cm H₂O imitiert. Jedoch gab es keine ICP Veränderungen in den Versuchsreihen, obgleich diese in vivo zu erwarten sind. Die Clots wurden aus Blut von freiwilligen Spendern hergestellt, welche keine Antikoagulantien und mindestens 5 Tage keine Plättchenaggregationshemmer zu sich genommen hatten. Des Weiteren simuliert die runde bis ovale Form der in dem Clot-Model produzierten Blutungen nicht alle Konfigurationen der intrazerebralen Blutung.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Die spontane intrazerebrale Blutung betrifft zurzeit ungefähr 2 Millionen Menschen weltweit pro Jahr und wird in Zukunft durch den demographischen Wandel der Bevölkerung eine zunehmende Bedeutung einnehmen (4)(16). Die Therapie der intrazerebralen Blutung bleibt eine individuelle Entscheidung von Patient zu Patient. Keine der chirurgischen Therapieoptionen konnte bisher das Outcome der Patienten signifikant verbessern. Lediglich bei oberflächlich lokalisierten, lobären Blutungen ist ein Vorteil der chirurgischen Evakuierung anzunehmen. Bei tiefen intrazerebralen Blutungen ist jedoch noch keine klare Therapieempfehlung vorhanden (1). Bei den in den Versuchsreihen verwendeten Ultraschallfrequenzen von 5,5 MHz, 7,5 MHz, 8,5 MHz und 10 MHz, stellte sich die Frequenz von 10 MHz als optimale Frequenz zur intrakraniellen Sonothrombolysen bei der minimal-invasiven Therapie der intrazerebralen Blutung heraus. 10 MHz hat eine Reichweite von 4,5 cm und führt zur geringsten Temperaturerhöhung. Die Reichweite von 4,5 cm ist bei fast allen intrazerebralen Blutungen ausreichend. Zur Bestätigung der ermittelten Reichweite der Ultraschallthrombolysen fanden nachfolgend Druckmessungen mittels piezoelektrischem polyvinylidenfluorid (PVDF)-Transducer statt. Hierbei wurde eine Lysegrenze von ungefähr 500 kPa ermittelt. Zurzeit existiert in der Literatur noch keine Angabe bis zu welchem negativen Schallspitzendruck eine Lyse von Blutclots möglich ist. Die kombinierte Anwendung von Ultraschall und rtPA führt zu einer Volumenreduktion des Blutclots um 70%. Bei alleiniger Anwendung von rtPA oder Ultraschall zeigt sich jeweils nur eine Volumenreduktion von ungefähr 50%. Die kombinierte Anwendung ist damit der jeweiligen alleinigen Anwendung in unserem Clot-Modell überlegen. Die biologischen Effekte des perifokalen Gewebes konnten anhand dieses Modells nicht erfasst werden. Jedoch konnte durch diese Versuchsreihen die Anzahl der benötigten Tierversuche stark reduziert werden. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen müssen in weiteren, größeren Tiermodellen, wie der nachfolgenden Studie „Untersuchungen zur Katheter-gestützten rtPA- und Sonothrombolysen am Schweinmodell der intrazerebralen Blutung“ von Dr. Masomi-Bornwasser und Dr. Keric, aus der Klinik und Poliklinik für Neurochirurgie der Universitätsmedizin Mainz, bestätigt werden. Die Ergebnisse können weiteren klinischer Studien zur Optimierung der minimal-invasiven Therapie der intrazerebralen Blutung verhelfen. Nicht nur die intrakranielle Anwendung von Ultraschall kann zur Verbesserung der Thrombolysen führen. Wie in der Versuchsreihe von Masomi-

Bornwasser, Winter und Neulen et al. gezeigt werden konnte, ist auch mittels transkraniellen Doppler vermutlich Sonothrombolyse möglich. Die Verwendung von transkraniellen Doppler bei der intrazerebralen Blutung fand zuvor noch nicht statt und stellt eine weitere Möglichkeit zur Optimierung der minimal-invasiven Therapie der intrazerebralen Blutung dar. Zur weiteren Beurteilung der Effektivität des transkraniellen Dopplers müssen noch weitere Tiermodelle und klinische Studien folgen (134).

7. Literaturverzeichnis

1. Deutsche Gesellschaft für Neurologie. Leitlinie für Diagnostik und Therapie in der Neurologie: Intrazerebrale Blutung [Internet]. 09/2012. [zitiert am 16.03.2019]. URL:https://www.dsg-info.de/images/stories/DSG/PDF/Leitlinien/LL_28_2012_intrazerebrale_blutungen.pdf [Internet].
2. Qureshi AI, Tuhim S, Broderick JP, Batjer HH, Hondo H, Hanley DF. Spontaneous intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med*. 10. Mai 2001;344(19):1450–60.
3. Hersh EH, Gologorsky Y, Chartrain AG, Mocco J, Kellner CP. Minimally Invasive Surgery for Intracerebral Hemorrhage. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 9. Mai 2018;18(6):34.
4. Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF. Intracerebral haemorrhage. *Lancet Lond Engl*. 9. Mai 2009;373(9675):1632–44.
5. An SJ, Kim TJ, Yoon B-W. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Features of Intracerebral Hemorrhage: An Update. *J Stroke*. Januar 2017;19(1):3–10.
6. Kreitzer N, Adeoye O. An update on surgical and medical management strategies for intracerebral hemorrhage. *Semin Neurol*. November 2013;33(5):462–7.
7. Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T, Huster G. Volume of intracerebral hemorrhage. A powerful and easy-to-use predictor of 30-day mortality. *Stroke*. Juli 1993;24(7):987–93.
8. Brott T, Broderick J, Kothari R, Barsan W, Tomsick T, Sauerbeck L, u. a. Early hemorrhage growth in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Januar 1997;28(1):1–5.
9. Stein M, Misselwitz B, Hamann GF, Scharbrodt W, Schummer DI, Oertel MF. Intracerebral hemorrhage in the very old: future demographic trends of an aging population. *Stroke*. April 2012;43(4):1126–8.
10. 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*. März 1997;28(3):491–9.
11. Weimar C, Weber C, Wagner M, Busse O, Haberl RL, Lauterbach KW, u. a. Management patterns and health care use after intracerebral hemorrhage. a cost-of-illness study from a societal perspective in Germany. *Cerebrovasc Dis Basel Switz*. 2003;15(1–2):29–36.
12. Hanley DF, Thompson RE, Muschelli J, Rosenblum M, McBee N, Lane K, u. a. Safety and efficacy of minimally invasive surgery plus alteplase in intracerebral haemorrhage evacuation (MISTIE): a randomised, controlled, open-label, phase 2 trial. *Lancet Neurol*. November 2016;15(12):1228–37.

13. Trübestein G, Engel C, Etzel F, Sobbe A, Cremer H, Stumpff U. Thrombolysis by ultrasound. *Clin Sci Mol Med Suppl.* Dezember 1976;3:697s–698s.
14. Alexandrov AV, Demchuk AM, Felberg RA, Christou I, Barber PA, Burgin WS, u. a. High rate of complete recanalization and dramatic clinical recovery during tPA infusion when continuously monitored with 2-MHz transcranial doppler monitoring. *Stroke.* März 2000;31(3):610–4.
15. Sacco S, Marini C, Toni D, Olivieri L, Carolei A. Incidence and 10-year survival of intracerebral hemorrhage in a population-based registry. *Stroke.* Februar 2009;40(2):394–9.
16. van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, van der Tweel I, Algra A, Klijn CJ. Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* Februar 2010;9(2):167–76.
17. Ayala C, Greenlund KJ, Croft JB, Keenan NL, Donehoo RS, Giles WH, u. a. Racial/ethnic disparities in mortality by stroke subtype in the United States, 1995-1998. *Am J Epidemiol.* 1. Dezember 2001;154(11):1057–63.
18. Flaherty ML, Woo D, Haverbusch M, Sekar P, Khoury J, Sauerbeck L, u. a. Racial variations in location and risk of intracerebral hemorrhage. *Stroke.* Mai 2005;36(5):934–7.
19. Khan NA, McAlister FA, Pilote L, Palepu A, Quan H, Hill MD, u. a. Temporal trends in stroke incidence in South Asian, Chinese and white patients: A population based analysis. *PLoS ONE [Internet].* 18. Mai 2017;12(5). Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5436629/>
20. Mendelow AD. Spontaneous intracerebral haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* März 1991;54(3):193–5.
21. Qureshi AI, Hanel RA, Kirmani JF, Yahia AM, Hopkins LN. Cerebral blood flow changes associated with intracerebral hemorrhage. *Neurosurg Clin N Am.* Juli 2002;13(3):355–70.
22. Böcker, Werner, Herausgeber. *Pathologie [Internet].* 5. Auflage. München; Jena: Elsevier, Urban und Fischer; 2012 [zitiert 16. März 2019]. Verfügbar unter: http://deposit.d-nb.de/cgi-bin/dokserv?id=2849043&prov=M&dok_var=1&dok_ext=htm
23. Juvela S. Risk factors for impaired outcome after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Arch Neurol.* Dezember 1995;52(12):1193–200.
24. Litmathe J. *Neurologische Notfälle: Präklinische und innerklinische Akutversorgung.* 1. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2016.
25. Abbott RD, Yin Y, Reed DM, Yano K. Risk of stroke in male cigarette smokers. *N Engl J Med.* 18. September 1986;315(12):717–20.
26. Kim-Han JS, Kopp SJ, Dugan LL, Diringner MN. Perihematomal mitochondrial dysfunction after intracerebral hemorrhage. *Stroke.* Oktober 2006;37(10):2457–62.

27. Kumral E, Ozkaya B, Sagduyu A, Sirin H, Vardarli E, Pehlivan M. The Ege Stroke Registry: a hospital-based study in the Aegean region, Izmir, Turkey. Analysis of 2,000 stroke patients. *Cerebrovasc Dis Basel Switz*. Oktober 1998;8(5):278–88.
28. Schwab S, Herausgeber. *NeuroIntensiv*. 2. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2012.
29. Greenberg SM, Briggs ME, Hyman BT, Kokoris GJ, Takis C, Kanter DS, u. a. Apolipoprotein E epsilon 4 is associated with the presence and earlier onset of hemorrhage in cerebral amyloid angiopathy. *Stroke*. August 1996;27(8):1333–7.
30. Rost NS, Greenberg SM, Rosand J. The genetic architecture of intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Juli 2008;39(7):2166–73.
31. Rosand J, Hylek EM, O'Donnell HC, Greenberg SM. Warfarin-associated hemorrhage and cerebral amyloid angiopathy: a genetic and pathologic study. *Neurology*. 10. Oktober 2000;55(7):947–51.
32. Steiner T, Diener H-C, Unterberg A, Hacke W. Intrazerebrale Blutung - Was gibt es Neues? *Aktuelle Neurol*. Juni 2006;33(5):251–6.
33. Rathore SS, Hinn AR, Cooper LS, Tyroler HA, Rosamond WD. Characterization of incident stroke signs and symptoms: findings from the atherosclerosis risk in communities study. *Stroke*. November 2002;33(11):2718–21.
34. Mayer SA, Brun NC, Begtrup K, Broderick J, Davis S, Diringer MN, u. a. Recombinant activated factor VII for acute intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med*. 24. Februar 2005;352(8):777–85.
35. Balami JS, Buchan AM. Complications of intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol*. Januar 2012;11(1):101–18.
36. Delgado Almandoz JE, Yoo AJ, Stone MJ, Schaefer PW, Oleinik A, Brouwers HB, u. a. The spot sign score in primary intracerebral hemorrhage identifies patients at highest risk of in-hospital mortality and poor outcome among survivors. *Stroke*. Januar 2010;41(1):54–60.
37. Goldstein JN, Fazen LE, Snider R, Schwab K, Greenberg SM, Smith EE, u. a. Contrast extravasation on CT angiography predicts hematoma expansion in intracerebral hemorrhage. *Neurology*. 20. März 2007;68(12):889–94.
38. Davis SM, Broderick J, Hennerici M, Brun NC, Diringer MN, Mayer SA, u. a. Hematoma growth is a determinant of mortality and poor outcome after intracerebral hemorrhage. *Neurology*. 25. April 2006;66(8):1175–81.
39. Hanley DF. Intraventricular hemorrhage and ICH outcomes: Severity factor and treatment target. *Stroke J Cereb Circ*. April 2009;40(4):1533–8.
40. Steiner T, Diringer MN, Schneider D, Mayer SA, Begtrup K, Broderick J, u. a. Dynamics of intraventricular hemorrhage in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage: risk factors, clinical impact, and effect of hemostatic

- therapy with recombinant activated factor VII. *Neurosurgery*. Oktober 2006;59(4):767-773-774.
41. Tuhim S, Horowitz DR, Sacher M, Godbold JH. Volume of ventricular blood is an important determinant of outcome in supratentorial intracerebral hemorrhage. *Crit Care Med*. März 1999;27(3):617–21.
 42. Wasserman JK, Zhu X, Schlichter LC. Evolution of the inflammatory response in the brain following intracerebral hemorrhage and effects of delayed minocycline treatment. *Brain Res*. 14. November 2007;1180:140–54.
 43. Bhattathiri PS, Gregson B, Prasad KSM, Mendelow AD, STICH Investigators. Intraventricular hemorrhage and hydrocephalus after spontaneous intracerebral hemorrhage: results from the STICH trial. *Acta Neurochir Suppl*. 2006;96:65–8.
 44. Zazulia AR, Diringner MN, Derdeyn CP, Powers WJ. Progression of mass effect after intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Juni 1999;30(6):1167–73.
 45. Mayer SA, Sacco RL, Shi T, Mohr JP. Neurologic deterioration in noncomatose patients with supratentorial intracerebral hemorrhage. *Neurology*. August 1994;44(8):1379–84.
 46. Xi G, Keep RF, Hoff JT. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol*. Januar 2006;5(1):53–63.
 47. Ziai WC. Hematology and inflammatory signaling of intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Juni 2013;44(6 Suppl 1):S74-78.
 48. Fiebach JB, Steiner T, Neumann-Haefelin T. Bildgebende Diagnostik bei intrazerebralen Blutungen. *Nervenarzt*. 6. Februar 2009;80(2):205.
 49. Smith EE, Rosand J, Greenberg SM. Hemorrhagic stroke. *Neuroimaging Clin N Am*. Mai 2005;15(2):259–272, ix.
 50. Laissy JP, Normand G, Monroc M, Duchateau C, Alibert F, Thiebot J. Spontaneous intracerebral hematomas from vascular causes. Predictive value of CT compared with angiography. *Neuroradiology*. 1991;33(4):291–5.
 51. Stam J. Thrombosis of the cerebral veins and sinuses. *N Engl J Med*. 28. April 2005;352(17):1791–8.
 52. Diringner MN, Edwards DF. Admission to a neurologic/neurosurgical intensive care unit is associated with reduced mortality rate after intracerebral hemorrhage. *Crit Care Med*. März 2001;29(3):635–40.
 53. Mirski MA, Chang CW, Cowan R. Impact of a neuroscience intensive care unit on neurosurgical patient outcomes and cost of care: evidence-based support for an intensivist-directed specialty ICU model of care. *J Neurosurg Anesthesiol*. April 2001;13(2):83–92.
 54. Hemphill JC, Greenberg SM, Anderson CS, Becker K, Bendok BR, Cushman M, u. a. Guidelines for the Management of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. Juli 2015;46(7):2032–60.

55. Govan L, Langhorne P, Weir CJ, Stroke Unit Trialists Collaboration. Does the prevention of complications explain the survival benefit of organized inpatient (stroke unit) care?: further analysis of a systematic review. *Stroke*. September 2007;38(9):2536–40.
56. Hemphill JC, Bonovich DC, Besmertis L, Manley GT, Johnston SC. The ICH score: a simple, reliable grading scale for intracerebral hemorrhage. *Stroke*. April 2001;32(4):891–7.
57. Weimar C, Benemann J, Diener H-C, German Stroke Study Collaboration. Development and validation of the Essen Intracerebral Haemorrhage Score. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Mai 2006;77(5):601–5.
58. Paolucci S, Antonucci G, Grasso MG, Bragoni M, Coiro P, De Angelis D, u. a. Functional outcome of ischemic and hemorrhagic stroke patients after inpatient rehabilitation: a matched comparison. *Stroke*. Dezember 2003;34(12):2861–5.
59. Gould B, McCourt R, Asdaghi N, Dowlatsahi D, Jeerakathil T, Kate M, u. a. Autoregulation of cerebral blood flow is preserved in primary intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Juni 2013;44(6):1726–8.
60. Schellinger PD, Fiebich JB. Intracranial hemorrhage: the role of magnetic resonance imaging. *Neurocrit Care*. 2004;1(1):31–45.
61. Powers WJ, Zazulia AR, Videen TO, Adams RE, Yundt KD, Aiyagari V, u. a. Autoregulation of cerebral blood flow surrounding acute (6 to 22 hours) intracerebral hemorrhage. *Neurology*. 10. Juli 2001;57(1):18–24.
62. Rose JC, Mayer SA. Optimizing blood pressure in neurological emergencies. *Neurocrit Care*. 2004;1(3):287–99.
63. Morgenstern LB, Smith MA, Lisabeth LD, Risser JMH, Uchino K, Garcia N, u. a. Excess stroke in Mexican Americans compared with non-Hispanic Whites: the Brain Attack Surveillance in Corpus Christi Project. *Am J Epidemiol*. 15. August 2004;160(4):376–83.
64. Anderson CS, Huang Y, Wang JG, Arima H, Neal B, Peng B, u. a. Intensive blood pressure reduction in acute cerebral haemorrhage trial (INTERACT): a randomised pilot trial. *Lancet Neurol*. Mai 2008;7(5):391–9.
65. Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage (ATACH) investigators. Antihypertensive treatment of acute cerebral hemorrhage. *Crit Care Med*. Februar 2010;38(2):637–48.
66. Anderson CS, Heeley E, Huang Y, Wang J, Stapf C, Delcourt C, u. a. Rapid blood-pressure lowering in patients with acute intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med*. 20. Juni 2013;368(25):2355–65.
67. Qureshi AI, Palesch YY. Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage (ATACH) II: design, methods, and rationale. *Neurocrit Care*. Dezember 2011;15(3):559–76.
68. Steiner T, Al-Shahi Salman R, Beer R, Christensen H, Cordonnier C, Csiba L, u. a. European Stroke Organisation (ESO) guidelines for the management of

- spontaneous intracerebral hemorrhage. *Int J Stroke Off J Int Stroke Soc.* Oktober 2014;9(7):840–55.
69. PROGRESS Collaborative Group. Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. *Lancet Lond Engl.* 29. September 2001;358(9287):1033–41.
70. Arima H, Tzourio C, Anderson C, Woodward M, Bousser M-G, MacMahon S, u. a. Effects of perindopril-based lowering of blood pressure on intracerebral hemorrhage related to amyloid angiopathy: the PROGRESS trial. *Stroke.* Februar 2010;41(2):394–6.
71. Garrett MC, Komotar RJ, Starke RM, Merkow MB, Otten ML, Connolly ES. Predictors of seizure onset after intracerebral hemorrhage and the role of long-term antiepileptic therapy. *J Crit Care.* 1. September 2009;24(3):335–9.
72. Madžar D, Kuramatsu JB, Gollwitzer S, Lücking H, Kloska SP, Hamer HM, u. a. Seizures among long-term survivors of conservatively treated ICH patients: incidence, risk factors, and impact on functional outcome. *Neurocrit Care.* Oktober 2014;21(2):211–9.
73. Naidech AM, Garg RK, Liebling S, Levasseur K, Macken MP, Schuele SU, u. a. Anticonvulsant use and outcomes after intracerebral hemorrhage. *Stroke.* Dezember 2009;40(12):3810–5.
74. Lodder J, van Raak L, Hilton A, Hardy E, Kessels A, EGASIS Study Group. Diazepam to improve acute stroke outcome: results of the early GABA-Ergic activation study in stroke trial. a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Cerebrovasc Dis Basel Switz.* 2006;21(1–2):120–7.
75. Gilad R, Boaz M, Dabby R, Sadeh M, Lampl Y. Are post intracerebral hemorrhage seizures prevented by anti-epileptic treatment? *Epilepsy Res.* August 2011;95(3):227–31.
76. Patel NJ, Deshmukh A, Pant S, Singh V, Patel N, Arora S, u. a. Contemporary trends of hospitalization for atrial fibrillation in the United States, 2000 through 2010: implications for healthcare planning. *Circulation.* 10. Juni 2014;129(23):2371–9.
77. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, Eikelboom J, Oldgren J, Parekh A, u. a. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 17. September 2009;361(12):1139–51.
78. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJV, Lopes RD, Hylek EM, Hanna M, u. a. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 15. September 2011;365(11):981–92.
79. Rosand J, Eckman MH, Knudsen KA, Singer DE, Greenberg SM. The effect of warfarin and intensity of anticoagulation on outcome of intracerebral hemorrhage. *Arch Intern Med.* 26. April 2004;164(8):880–4.
80. Seet RCS, Zhang Y, Moore SA, Wijidicks EF, Rabinstein AA. Subtherapeutic international normalized ratio in warfarin-treated patients increases the risk for

- symptomatic intracerebral hemorrhage after intravenous thrombolysis. *Stroke*. August 2011;42(8):2333–5.
81. Bershad EM, Suarez JI. Prothrombin complex concentrates for oral anticoagulant therapy-related intracranial hemorrhage: a review of the literature. *Neurocrit Care*. Juni 2010;12(3):403–13.
 82. Kuramatsu JB, Gerner ST, Schellinger PD, Glahn J, Endres M, Sobesky J, u. a. Anticoagulant reversal, blood pressure levels, and anticoagulant resumption in patients with anticoagulation-related intracerebral hemorrhage. *JAMA*. 24. Februar 2015;313(8):824–36.
 83. Steiner T, Böhm M, Dichgans M, Diener H-C, Ell C, Endres M, u. a. Recommendations for the emergency management of complications associated with the new direct oral anticoagulants (DOACs), apixaban, dabigatran and rivaroxaban. *Clin Res Cardiol Off J Ger Card Soc*. Juni 2013;102(6):399–412.
 84. Mendelow AD, Gregson BA, Fernandes HM, Murray GD, Teasdale GM, Hope DT, u. a. 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 Lond Engl*. 29. Februar 2005;365(9457):387–97.
 85. Prasad K, Mendelow AD, Gregson B. Surgery for primary supratentorial intracerebral haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev*. 8. Oktober 2008;(4):CD000200.
 86. Mendelow AD, Gregson BA, Mitchell PM, Murray GD, Rowan EN, Gholkar AR, u. a. Surgical trial in lobar intracerebral haemorrhage (STICH II) protocol. *Trials*. 17. Mai 2011;12:124.
 87. Mendelow AD, Gregson BA, Rowan EN, Murray GD, Gholkar A, Mitchell PM, u. a. Early surgery versus initial conservative treatment in patients with spontaneous supratentorial lobar intracerebral haematomas (STICH II): a randomised trial. *Lancet Lond Engl*. 3. August 2013;382(9890):397–408.
 88. Mould WA, Carhuapoma JR, Muschelli J, Lane K, Morgan TC, McBee NA, u. a. Minimally invasive surgery plus recombinant tissue-type plasminogen activator for intracerebral hemorrhage evacuation decreases perihematomal edema. *Stroke*. März 2013;44(3):627–34.
 89. Hanley DF. Minimally Invasive Surgery Plus Rt-PA for ICH Evacuation Phase III - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [zitiert 16. März 2019]. Verfügbar unter: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01827046>
 90. Kirolos RW, Tyagi AK, Ross SA, van Hille PT, Marks PV. Management of spontaneous cerebellar hematomas: a prospective treatment protocol. *Neurosurgery*. Dezember 2001;49(6):1378-1386-1387.
 91. Papacocea A, Papacocea T, Dănăilă L, Ion D, Bădărău A, Papacocea R. [Primary intracerebellar hematomas: surgical indications, prognosis]. *Chir Buchar Rom* 1990. Dezember 2010;105(6):805–7.

92. Tamaki T, Kitamura T, Node Y, Teramoto A. Paramedian suboccipital mini-craniectomy for evacuation of spontaneous cerebellar hemorrhage. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. November 2004;44(11):578–582; discussion 583.
93. Samprón N, Mendia A, Azkarate B, Alberdi F, Arrazola M, Urculo E. Early mortality in spontaneous supratentorial intracerebral haemorrhage. *Neurocir Astur Spain*. April 2010;21(2):93–8.
94. Satopää J, Mustanoja S, Meretoja A, Putaala J, Kaste M, Niemelä M, u. a. Comparison of all 19 published prognostic scores for intracerebral hemorrhage. *J Neurol Sci*. 15. August 2017;379:103–8.
95. Ji R, Shen H, Pan Y, Wang P, Liu G, Wang Y, u. a. A novel risk score to predict 1-year functional outcome after intracerebral hemorrhage and comparison with existing scores. *Crit Care*. 2013;17(6):R275.
96. Lutz HT. *Ultraschallfibel Innere Medizin*. 3. Auflage. Berlin: Springer-Verlag; 2007.
97. Schäberle W, Herausgeber. *Ultraschall in der Gefäßdiagnostik*. 4. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2016.
98. Kramme R, Herausgeber. *Medizintechnik*. 3. Auflage. Heidelberg: Springer-Verlag; 2007.
99. von Reutern G-M, Herausgeber. *Ultraschalldiagnostik der hirnversorgenden Arterien*. 3. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2000.
100. Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. *Ultraschalldiagnostik: Neuere Bewertung der biologischen Sicherheit* [Internet]. *Deutsches Ärzteblatt*. 1996 [zitiert 16. März 2019]. Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/1807/Ultraschalldiagnostik-Neuere-Bewertung-der-biologischen-Sicherheit>
101. Barlinn K, Tsivgoulis G, Molina CA, Alexandrov DA, Schafer ME, Alleman J, u. a. Exploratory analysis of estimated acoustic peak rarefaction pressure, recanalization, and outcome in the transcranial ultrasound in clinical sonothrombolysis trial. *J Clin Ultrasound JCU*. August 2013;41(6):354–60.
102. Pressure Sensor M [Internet]. [zitiert 16. März 2019]. Verfügbar unter: <https://mueller-instruments.de/en/pressure-measurement/pressure-sensor-m/>
103. Wagner KR, Xi G, Hua Y, Zuccarello M, de Courten-Myers GM, Broderick JP, u. a. Ultra-early clot aspiration after lysis with tissue plasminogen activator in a porcine model of intracerebral hemorrhage: edema reduction and blood-brain barrier protection. *J Neurosurg*. März 1999;90(3):491–8.
104. Vespa P, McArthur D, Miller C, O'Phelan K, Frazee J, Kidwell C, u. a. Frameless stereotactic aspiration and thrombolysis of deep intracerebral hemorrhage is associated with reduction of hemorrhage volume and neurological improvement. *Neurocrit Care*. 2005;2(3):274–81.

105. Staykov D. Neues zum Management intrazerebraler Blutungen // What's new in the management of intracerebral hemorrhage? J Für Neurol Neurochir Psychiatr. 20. September 2018;19(3):89–94.
106. Chen C-J, Ding D, Ironside N, Buell TJ, Southerland AM, Woo D, u. a. Predictors of Surgical Intervention in Patients with Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. World Neurosurg. 1. März 2019;123:e700–8.
107. Fu C, Wang N, Chen B, Wang P, Chen H, Liu W, u. a. Surgical Management of Moderate Basal Ganglia Intracerebral Hemorrhage: Comparison of Safety and Efficacy of Endoscopic Surgery, Minimally Invasive Puncture and Drainage, and Craniotomy. World Neurosurg. Februar 2019;122:e995–1001.
108. Goyal N, Tsivgoulis G, Malhotra K, Katsanos AH, Pandhi A, Alsherbini KA, u. a. Minimally invasive endoscopic hematoma evacuation vs best medical management for spontaneous basal-ganglia intracerebral hemorrhage. J Neurointerventional Surg. 7. Januar 2019;
109. Hanley DF, Thompson RE, Rosenblum M, Yenokyan G, Lane K, McBee N, u. a. 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 Lond Engl. 9. März 2019;393(10175):1021–32.
110. Adams RE, Diringer MN. Response to external ventricular drainage in spontaneous intracerebral hemorrhage with hydrocephalus. Neurology. Februar 1998;50(2):519–23.
111. Dey M, Stadnik A, Riad F, Zhang L, McBee N, Kase C, u. a. Bleeding and infection with external ventricular drainage: a systematic review in comparison with adjudicated adverse events in the ongoing Clot Lysis Evaluating Accelerated Resolution of Intraventricular Hemorrhage Phase III (CLEAR-III IHV) trial. Neurosurgery. März 2015;76(3):291–300; discussion 301.
112. Alexandrov AV, Molina CA, Grotta JC, Garami Z, Ford SR, Alvarez-Sabin J, u. a. Ultrasound-enhanced systemic thrombolysis for acute ischemic stroke. N Engl J Med. 18. November 2004;351(21):2170–8.
113. Barreto AD, Alexandrov AV, Shen L, Sisson A, Bursaw AW, Sahota P, u. a. CLOTBUST-Hands Free: pilot safety study of a novel operator-independent ultrasound device in patients with acute ischemic stroke. Stroke. Dezember 2013;44(12):3376–81.
114. Saqqur M, Tsivgoulis G, Nicoli F, Skoloudik D, Sharma VK, Larrue V, u. a. The role of sonolysis and sonothrombolysis in acute ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials and case-control studies. J Neuroimaging Off J Am Soc Neuroimaging. Juni 2014;24(3):209–20.
115. Newell DW, Shah MM, Wilcox R, Hansmann DR, Melnychuk E, Muschelli J, u. a. Minimally invasive evacuation of spontaneous intracerebral hemorrhage using sonothrombolysis. J Neurosurg. September 2011;115(3):592–601.
116. Keric N, Masomi-Bornwasser J, Müller-Werkmeister H, Kantelhardt SR, König J, Kempfski O, u. a. Optimization of Catheter Based rtPA Thrombolysis in a Novel

In Vitro Clot Model for Intracerebral Hemorrhage [Internet]. BioMed Research International. 2017 [zitiert 16. März 2019]. Verfügbar unter: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/5472936/>

117. Pfaffenberger S, Devcic-Kuhar B, Kollmann C, Kastl SP, Kaun C, Speidl WS, u. a. Can a commercial diagnostic ultrasound device accelerate thrombolysis? An in vitro skull model. *Stroke*. Januar 2005;36(1):124–8.
118. Eggers J, Koch B, Meyer K, König I, Seidel G. Effect of ultrasound on thrombolysis of middle cerebral artery occlusion. *Ann Neurol*. Juni 2003;53(6):797–800.
119. Mizushige K, Kondo I, Ohmori K, Hirao K, Matsuo H. Enhancement of ultrasound-accelerated thrombolysis by echo contrast agents: dependence on microbubble structure. *Ultrasound Med Biol*. November 1999;25(9):1431–7.
120. Lippitz BE, Mayfrank L, Spetzger U, Warnke JP, Bertalanffy H, Gilsbach JM. Lysis of basal ganglia haematoma with recombinant tissue plasminogen activator (rtPA) after stereotactic aspiration: initial results. *Acta Neurochir (Wien)*. 1994;127(3–4):157–60.
121. 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.
122. Keric N, Kantelhardt SR, Neulen A, Dechent P, Henning A, Vollmer FC, u. a. Image-guided intracranial endosonography. *J Neurosurg Anesthesiol*. Juli 2013;25(3):317–23.
123. American Institute of Ultrasound in Medicine. AIUM Practice Parameter for the Performance of a Transcranial Doppler Ultrasound Examination for Adults and Children. 2017; Verfügbar unter: <https://www.aium.org/resources/guidelines/transcranial.pdf>
124. Braaten JV, Goss RA, Francis CW. Ultrasound reversibly disaggregates fibrin fibers. *Thromb Haemost*. September 1997;78(3):1063–8.
125. Francis CW, Blinc A, Lee S, Cox C. Ultrasound accelerates transport of recombinant tissue plasminogen activator into clots. *Ultrasound Med Biol*. 1995;21(3):419–24.
126. Wilhelm-Schwenkmezger T, Pittermann P, Zajonz K, Kempfski O, Dieterich M, Nedelmann M. Therapeutic application of 20-kHz transcranial ultrasound in an embolic middle cerebral artery occlusion model in rats: safety concerns. *Stroke*. März 2007;38(3):1031–5.
127. Nedelmann M, Reuter P, Walberer M, Sommer C, Alessandri B, Schiel D, u. a. Detrimental effects of 60 kHz sonothrombolysis in rats with middle cerebral artery occlusion. *Ultrasound Med Biol*. Dezember 2008;34(12):2019–27.
128. Daffertshofer M, Gass A, Ringleb P, Sitzer M, Sliwka U, Els T, u. a. Transcranial low-frequency ultrasound-mediated thrombolysis in brain ischemia: increased risk of hemorrhage with combined ultrasound and tissue plasminogen activator: results of a phase II clinical trial. *Stroke*. Juli 2005;36(7):1441–6.

129. Apfel RE, Holland CK. Gauging the likelihood of cavitation from short-pulse, low-duty cycle diagnostic ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 1991;17(2):179–85.
130. Miller DL, Gies RA. The influence of ultrasound frequency and gas-body composition on the contrast agent-mediated enhancement of vascular bioeffects in mouse intestine. *Ultrasound Med Biol.* Februar 2000;26(2):307–13.
131. Datta S, Coussios C-C, McAdory LE, Tan J, Porter T, De Courten-Myers G, u. a. Correlation of cavitation with ultrasound enhancement of thrombolysis. *Ultrasound Med Biol.* August 2006;32(8):1257–67.
132. Soltani A, Singhal R, Garcia JL, Raju NR. Absence of biological damage from prolonged exposure to intravascular ultrasound: a swine model. *Ultrasonics.* März 2007;46(1):60–7.
133. Pieters M, Hekkenberg RT, Barrett-Bergshoeff M, Rijken DC. The effect of 40 kHz ultrasound on tissue plasminogen activator-induced clot lysis in three in vitro models. *Ultrasound Med Biol.* November 2004;30(11):1545–52.
134. Masomi-Bornwasser J, Winter P, Neulen A, Kantelhardt SR, König J, Kempfski O, u. a. Doppler sonography enhances rtPA-induced fibrinolysis in an in vitro clot model of spontaneous intracerebral hemorrhages. *PloS One.* 2019;14(1):e0210810.
135. Epple C, Kuramatsu JB, Huttner HB, Steiner T, Schwab S. Neues bei der Therapie intrazerebraler Blutungen. *Aktuelle Neurol.* Dezember 2015;42(10):581–95.
136. Die spontane intrazerebrale Blutung | ÖGPB [Internet]. [zitiert 28. Dezember 2019]. Verfügbar unter: <https://oegpb.at/2016/05/06/die-spontane-intrazerebrale-blutung/>
137. Masomi-Bornwasser J, Winter P, Müller-Werkmeister H, Strand S, König J, Kempfski O, u. a. Combination of ultrasound and rtPA enhances fibrinolysis in an In Vitro clot system. *PloS One.* 2017;12(11):e0188131.
138. Eggers J, König IR, Koch B, Händler G, Seidel G. Sonothrombolysis with transcranial color-coded sonography and recombinant tissue-type plasminogen activator in acute middle cerebral artery main stem occlusion: results from a randomized study. *Stroke.* Mai 2008;39(5):1470–5.
139. Atar S, Luo H, Nagai T, Sahm RA, Fishbein MC, Siegel RJ. Arterial thrombus dissolution in vivo using a transducer-tipped, high-frequency ultrasound catheter and local low-dose urokinase delivery. *J Endovasc Ther Off J Int Soc Endovasc Spec.* Juni 2001;8(3):282–90.
140. Rosenschein U, Roth A, Rassin T, Basan S, Laniado S, Miller HI. Analysis of coronary ultrasound thrombolysis endpoints in acute myocardial infarction (ACUTE trial). Results of the feasibility phase. *Circulation.* 18. März 1997;95(6):1411–6.
141. Linninger A, Basati S, Dawe R, Penn R. An Impedance Sensor to Monitor and Control Cerebral Ventricular Volume. *Med Eng Phys.* September 2009;31(7):838–45.

142. Culjat MO, Goldenberg D, Tewari P, Singh RS. A review of tissue substitutes for ultrasound imaging. *Ultrasound Med Biol.* Juni 2010;36(6):861–73.
143. Alexandrov AV, Köhrmann M, Soenne L, Tsivgoulis G, Barreto AD, Demchuk AM, u. a. Safety and efficacy of sonothrombolysis for acute ischaemic stroke: a multicentre, double-blind, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Neurol.* April 2019;18(4):338–47.
144. Daffertshofer M, Hennerici M. Ultrasound in the treatment of ischaemic stroke. *Lancet Neurol.* Mai 2003;2(5):283–90.
145. Francis CW, Onundarson PT, Carstensen EL, Blinc A, Meltzer RS, Schwarz K, u. a. Enhancement of fibrinolysis in vitro by ultrasound. *J Clin Invest.* November 1992;90(5):2063–8.
146. Suchkova V, Siddiqi FN, Carstensen EL, Dalecki D, Child S, Francis CW. Enhancement of fibrinolysis with 40-kHz ultrasound. *Circulation.* 8. September 1998;98(10):1030–5.
147. Ishibashi T, Akiyama M, Onoue H, Abe T, Furuhashi H. Can transcranial ultrasonication increase recanalization flow with tissue plasminogen activator? *Stroke.* Mai 2002;33(5):1399–404.
148. Staykov D, Kuramatsu JB, Bardutzky J, Volbers B, Gerner ST, Kloska SP, u. a. Efficacy and safety of combined intraventricular fibrinolysis with lumbar drainage for prevention of permanent shunt dependency after intracerebral hemorrhage with severe ventricular involvement: A randomized trial and individual patient data meta-analysis. *Ann Neurol.* Januar 2017;81(1):93–103.
149. Steiner T, Poli S, Griebel M, Hüsing J, Hajda J, Freiburger A, u. a. Fresh frozen plasma versus prothrombin complex concentrate in patients with intracranial haemorrhage related to vitamin K antagonists (INCH): a randomised trial. *Lancet Neurol.* Mai 2016;15(6):566–73.
150. Pollack CV, Reilly PA, van Ryn J, Eikelboom JW, Glund S, Bernstein RA, u. a. Idarucizumab for Dabigatran Reversal - Full Cohort Analysis. *N Engl J Med.* 03 2017;377(5):431–41.
151. Connolly SJ, Milling TJ, Eikelboom JW, Gibson CM, Curnutte JT, Gold A, u. a. Andexanet Alfa for Acute Major Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med.* 22. September 2016;375(12):1131–41.
152. Connolly SJ, Crowther M, Eikelboom JW, Gibson CM, Curnutte JT, Lawrence JH, u. a. Full Study Report of Andexanet Alfa for Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *N Engl J Med.* 4. April 2019;380(14):1326–35.
153. Christensen H, Cordonnier C, Körv J, Lal A, Ovesen C, Purrucker JC, u. a. European Stroke Organisation Guideline on Reversal of Oral Anticoagulants in Acute Intracerebral Haemorrhage. *Eur Stroke J.* 1. Dezember 2019;4(4):294–306.
154. Dey M, Jaffe J, Stadnik A, Awad IA. External Ventricular Drainage for Intraventricular Hemorrhage. *Curr Neurol Neurosci Rep.* Februar 2012;12(1):24–33.

155. Linn J, Halpin A, Demaerel P, Ruhland J, Giese AD, Dichgans M, u. a. Prevalence of superficial siderosis in patients with cerebral amyloid angiopathy. *Neurology*. 27. April 2010;74(17):1346–50.
156. Block F, Dafotakis M. Cerebral Amyloid Angiopathy in Stroke Medicine. *Dtsch Arzteblatt Int*. 20 2017;114(3):37–42.
157. Schaumberg J, Trauscheid M, Eckert B, Petersen D, Schulz-Schaeffer W, Röther J, u. a. Zerebrale Amyloidangiopathie assoziiert mit Inflammation. *Nervenarzt*. 1. Juni 2018;89(6):682–91.
158. Greenberg SM, Vernooij MW, Cordonnier C, Viswanathan A, Al-Shahi Salman R, Warach S, u. a. Cerebral microbleeds: a guide to detection and interpretation. *Lancet Neurol*. Februar 2009;8(2):165–74.
159. Linn J, Herms J, Dichgans M, Brückmann H, Fesl G, Freilinger T, u. a. Subarachnoid Hemosiderosis and Superficial Cortical Hemosiderosis in Cerebral Amyloid Angiopathy. *Am J Neuroradiol*. 1. Januar 2008;29(1):184–6.
160. Klinke R, Pape H-C, Kurtz A, Silbernagel S. *Physiologie*. 6. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag;
161. Raum D, Marcus D, Alper CA, Levey R, Taylor PD, Starzl TE. Synthesis of Human Plasminogen by the Liver. *Science*. 30. Mai 1980;208(4447):1036–7.
162. Pechet L. Fibrinolysis. *N Engl J Med*. 28. Oktober 1965;273(18):966–73.
163. Cesarman- Maus G, Hajjar KA. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol*. 2005;129(3):3079(3)
164. Wilson EL, Becker MLB, Hoal EG, Dowdle EB. Molecular Species of Plasminogen Activators Secreted by Normal and Neoplastic Human Cells. *Cancer Res*. 1. MEB. 1980;40(3):933Spe
165. Levin EG, del Zoppo GJ. Localization of tissue plasminogen activator in the endothelium of a limited number of vessels. *Am J Pathol*. Mai 1994;144(5):855–61.
166. Lindahl TL, Ohlsson PI, Wiman B. The mechanism of the reaction between human plasminogen-activator inhibitor 1 and tissue plasminogen activator. *Biochem J*. 1. Januar 1990;265(1):1091):1
167. Kruithof EKO, Tran-Thang C, Bachmann F. Studies on the Release of a Plasminogen Activator Inhibitor by Human Platelets. *Thromb Haemost*. 1986;55(2):201st.
168. Abdul S, Leebeek FWG, Rijken DC, Uitte de Willige S. Natural heterogeneity of $\alpha 2$ -antiplasmin: functional and clinical consequences. *Blood*. 4. Februar 2016;127(5):538(5):
169. Loscalzo J, Braunwald E. Tissue Plasminogen Activator. *N Engl J Med*. 6. Oktober 1988;319(14):925–31.

170. 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):274:274
171. 030-140l_S2k_akuter_ischaemischer_schlaganfall_2016-05.pdf [Internet]. [zitiert 14. April 2020]. Verfügbar unter: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/030-140l_S2k_akuter_ischaemischer_schlaganfall_2016-05.pdf
172. Fachinformation Actilyse® [Internet]. [cited 14.04.2020]. Available from: <http://www.fachinfo.de>
173. The SWITCH trial [Internet]. SWITCH. [zitiert 19. April 2020]. Verfügbar unter: <https://www.switch-trial.ch/about-switch/>
174. Krishnamurthi RV, Feigin VL, Forouzanfar MH, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, u. a. 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.* November 2013;1(5):e259–81.

Danksagung

Lebenslauf
