

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Blut-Hirnschranken-Permeabilität im subakuten Stadium des
ischämischen Schlaganfalls:
MRT-Bildgebung, Blut-Biomarker und funktionelles Langzeit-Outcome**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Sarah Müller
aus Paderborn

Datum der Promotion: 03.03.2023

Vorwort

Teilergebnisse, sowie einzelne Abbildungen und Tabellen der vorliegenden Arbeit wurden im Oktober 2021 veröffentlicht in:

Sarah Müller, Anna Kufner, Andrea Dell Orco, Torsten Rackoll, Ralf Mекle, Sophie K Piper, Jochen Fiebach, Kersten Villringer, Agnes Flöel, Matthias Endres, Martin Ebinger, Alexander H Nave. Evolution of blood-brain barrier permeability in subacute ischemic stroke and associations with serum biomarkers and functional outcome, *Front. Neurol.*, 20 October 2021, doi: 10.3389 /fneur.2021.730923.

I Abkürzungsverzeichnis	5
II Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	7
III Abstract	8
1. Einleitung	12
1.1. Schlaganfall	12
1.2. Struktur der Blut-Hirnschranke	13
1.2.1 Neurovaskuläre Einheit	13
1.2.2 Transportmechanismen	15
1.3. Ischämischer Schlaganfall: Störung der Blut-Hirnschranke	16
1.3.1 Phasen der gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität	17
1.3.2 Pathophysiologische Prozesse	18
1.4. Bildgebung	24
1.5. Risikofaktoren	25
1.6. Komplikation: Hämorrhagische Transformation	26
1.7. Fitnessstraining	27
1.8. Funktionelles Langzeit-Outcome	27
2. Zielsetzung und Fragestellung	30
3. Material und Methoden	31
3.1. Patient*innen und Studiendesign	31
3.2. Demographische Daten und Blut-Biomarker	34
3.3. MRT-Bildgebung: Akquisition und Verarbeitung	35
3.4. Statistische Analyse	40
4. Ergebnisse	41
4.1. Gesamtkohorte	41
4.1.1 Prävalenz und Dynamik der gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität	43
4.2. Charakteristika der Patient*innen bei gesteigerter Blut-Hirnschranken-Permeabilität	47
4.2.1 Intensität der gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität	48
4.3. Blut-Biomarker und Blut-Hirnschranken-Permeabilität	49
4.4. Funktionelles Langzeit-Outcome	53

5. Diskussion	57
6. Limitationen	63
7. Schlussfolgerung	64
IV Literaturverzeichnis	65
V Eidesstaatliche Versicherung	79
VI Lebenslauf	82
VII Publikationsliste	83
VIII Danksagung	84

I Abkürzungsverzeichnis

aHT	Arterielle Hypertonie
ADL	Activities of Daily Living (Aktivitäten des täglichen Lebens)
ANTs	Advanced Normalization Tools
ATP	Adenosin-Triphosphat
AJ	Adherens Junctions (Adhärenzverbindungen)
BBB	Blood brain barrier (Blut-Hirnschranke)
BBBP	Blood brain barrier permeability (Blut-Hirnschranken-Permeabilität)
BI	Barthel Index
CBF	Cerebral blood flow (zerebraler Blutfluss)
CE	Contrast-agent enhancement (Kontrastmittelanreicherung)
CI	Confidence interval (Konfidenzintervall)
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DCE	Dynamic contrast-enhanced (dynamisch Kontrast-verstärkt)
DTI	Diffusion tensor imaging (Diffusionstensor Bildgebung)
DWI	Diffusion weighted imaging (diffusionsgewichtete Bildgebung)
DM	Diabetes mellitus
EVT	Endovaskuläre Thrombektomie
EZM	Extrazelluläre Matrix
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery (flüssigkeitssupprimierte Inversions-Rückgewinnungssequenz)
FSL	FMRIB Software Library
GJ	Gap Junctions (Zell-Zell-Kanäle)
HLP	Hyperlipoproteinämie
hsCRP	High-sensitive (hoch sensibles) C-reaktives Protein
HT	Hämorrhagische Transformation
ICAM	Intercellular adhesion molecule (interzelluläres Adhäsionsmolekül)
IL	Interleukin
IQR	Interquartile range (Interquartilsabstände)
KM	Kontrastmittel
LAM	Leukocyte adhesion molecules (Leukozyten Adhäsionsmoleküle)
LDL	Low-density (niedrige Dichte) Lipoprotein

LVO	Large Vessel Occlusion (Großgefäßverschluss)
MMP	Matrixmetalloproteasen
MPRAGE	Magnetization Prepared-Rapid Gradient Echo (T1-gewichtete 3D-Gradientenecho-Bildgebung)
mRS	Modified Rankin Scale (modifizierte Rankin Skala)
MRT	Magnetresonanztomographie
NO	Stickstoffmonoxid
NOAK	Neue orale Antikoagulanzen
NIHSS	National Institute of Health Stroke Scale (Schlaganfall Score nach National Institute of Health)
NVU	Neurovascular Unit (neurovaskuläre Einheit)
OR	Odds ratio (Chancenverhältnis)
PET	Positronen-Emissionstomographie (PET)
PWI	Perfusion weighted imaging (Perfusionsgewichtete Bildgebung)
ROI	Region of interest (ausgewählter Bildbereich)
ROS	Reactive oxygen species (reaktive Sauerstoffspezies)
rtPA	Recombinant tissue Plasminogen Activator (rekombinanter Gewebsplasminogenaktivator)
SAB	Subarachnoidalblutung
SD	Standard deviation (Standardabweichung)
SE	Standard error (Standardfehler)
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography (Single-Photonen-Emissionscomputertomographie)
TE	Time to echo (Echozeit)
TR	Time to repetition (Repetitionszeit)
TJ	Tight Junctions (Zonula occludens/Schlussleiste)
TNF-α	Tumornekrosefaktor-Alpha
VCAM	Vascular cell adhesion molecule (vaskuläre Zelladhäsionsmoleküle)
VEGF	Vascular endothelial growth factor (vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor)
VHF	Vorhofflimmern
VSI	Vessel size imaging (Gefäßgrößenbildgebung)
ZNS	Zentrales Nervensystem

II Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: modified Rankin Scale

Tabelle 2: Barthel Index

Tabelle 3: Ein- und Ausschlusskriterien *PHYS-STROKE* und *BAPTISe*

Tabelle 4: MRT-Sequenzen *BAPTISe*-Studie

Tabelle 5: Demographische Daten

Tabelle 6: Patient*innen mit und ohne gesteigerter BBBP vor (V1) und nach (V2) Intervention

Tabelle 7: Patient*innen mit einer gesteigerten BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt und zu keinem Zeitpunkt

Tabelle 8: Patient*innen - BBBP Dynamik (persistierend vs. regredient)

Tabelle 9: Gesteigerte BBBP vor (V1) und nach (V2) der Intervention

Tabelle 10: Gemischtes lineares Model der BBBP Intensität (normalisierte CE-ROI) vor (V1) und nach (V2) der Intervention

Tabelle 11: Gesamtkohorte - Blut-Biomarker vor der Intervention (V1)

Tabelle 12: Blut-Biomarker vor der Intervention (V1) mit und ohne gesteigerte BBBP vor (V1) und nach (V2) der Intervention

Tabelle 13: Blut-Biomarker vor der Intervention (V1) mit und ohne gesteigerte BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt

Tabelle 14: Blut-Biomarker vor der Intervention (V1) und BBBP Dynamik (persistierend vs. regredient)

Tabelle 15: modified Ranking Scale nach 3 Monaten

Tabelle 16: modified Ranking Scale nach 6 Monaten

Tabelle 17: Barthel Index nach 3 Monaten

Tabelle 18: Barthel Index nach 6 Monaten

Abbildung 1: Phasen und pathophysiologische Prozesse der gesteigerten BBBP

Abbildung 2: Workflow

Abbildung 3: Hirninfarkt im Stromgebiet der Arteria cerebri media rechts

Abbildung 4: T1-gewichtete MRT-Sequenzen – Regrediente BBBP

Abbildung 5: T1-gewichtete MRT-Sequenzen – Progrediente BBBP

III Abstract

a) Deutschsprachige Kurzzusammenfassung

Zielsetzung: Bei akuten ischämischen Schlaganfall ist die gesteigerte Blut-Hirnschranken-Permeabilität (englisch: blood-brain barrier permeability, BBBP) ein Zeichen einer geschädigten Barrierefunktion, das mit einem erhöhten Risiko eines schlechten funktionellen Langzeit-Outcome einherzugehen scheint. In der subakuten Phase steht die Permeabilitätssteigerung potentiell mit regenerativen Mechanismen in Verbindung. In präklinischen Studien konnte gezeigt werden, dass Blut-basierte Biomarker wie Zytokine Einfluss auf die Integrität der Blut-Hirnschranke haben können. In dieser Arbeit wurde die BBBP im subakuten ischämischen Schlaganfall mittels Kontrastmittel-gestützter Magnetresonanztomographie (MRT) sowie potenzielle Assoziationen mit ausgewählten Serum-Biomarkern und Auswirkungen auf das funktionelle Langzeit-Outcome der Proband*innen untersucht. **Methoden:** 93 in die Beobachtungsstudie *BAPTISe* („Biomarkers And Perfusion – Training-Induced changes after Stroke“) eingeschlossene Patient*innen im subakuten Stadium nach ischämischem Schlaganfall wurden betrachtet. Im Rahmen der randomisierten Kontrollstudie *PHYS-STROKE* („Physical Fitness Training in Patients with Subacute Stroke“), in die *BAPTISe* eingegliedert war, erfolgte eine vierwöchige Intervention (Fitnessstraining versus Entspannung). Patient*innen mit mindestens einer MRT-Bildgebung mit Kontrastmittelapplikation vor (Visite 1 [V1]) oder nach (Visite 2 [V2]) der Intervention wurden in die Analyse einbezogen. Die Prävalenz einer gesteigerten BBBP wurde qualitativ auf T1-gewichteten MRT-Sequenzen anhand der Kontrastmittelanreicherung innerhalb der ischämischen Läsion bewertet. Die BBBP-Intensität wurde semi-quantitativ beurteilt. Mittels Subtraktions-Bildgebung wurde die BBBP-Dynamik visuell evaluiert. Die Serum-Biomarker C-reaktives Protein, Interleukin-6, Tumornekrosefaktor-Alpha, Matrixmetalloprotease-9 und der Vaskuläre Endotheliale Wachstumsfaktor wurden zu V1 bestimmt und als kontinuierliche und dichotomisierte Variablen ausgewertet. Das funktionelle Outcome wurde nach drei und sechs Monate anhand der modified Rankin Scale und des Barthel Index beurteilt. **Ergebnisse:** Die 93 Patient*innen wiesen in der primär behandelnden Schlaganfalleinheit einen medianen National Institute of Health Stroke Scale von 9 Punkten auf. Bei V1 hatten 80% der Patient*innen eine gesteigerte BBBP sichtbar als Kontrastmittelanreicherung im Infarktkern (median 26 Tage bis V1-MRT), bei V2 waren es 74% (median 56 Tage bis V2-MRT). Die gesteigerte BBBP war zu beiden Visiten mit größeren Läsionsvolumina sowie der Schwere des Schlaganfalls

assoziiert. Die Zeit bis zur MRT-Bildgebung in Tagen war invers mit der Intensität der gesteigerten BBBP assoziiert (Koeffizient -0,002, Standard Fehler 0,007, $p < 0,01$). Ausgewählte Blut-Biomarker hatten keinen Effekt auf die Prävalenz oder die Dynamik der gesteigerten BBBP. Die persistierende BBBP konnte als Prädiktor eines abhängigen funktionellen Outcomes nach sechs Monaten identifiziert werden (adjusted OR 1,2, 95% CI 1,0-1,4, $p = 0,02$). **Schlussfolgerung:** Bei Patient*innen mit moderatem bis schwerem ischämischen Schlaganfall ist die gesteigerte BBBP ein häufiges, über viele Wochen anhaltendes Phänomen, das mit Läsionsvolumen und Schwere des Schlaganfalls vergesellschaftet war. Die persistierende BBBP ist dabei mit einem schlechteren Langzeit-Outcome assoziiert.

Schlüsselwörter: subakuter ischämischer Schlaganfall, Blut-Hirnschranken-Permeabilität, Magnetresonanztomographie, Blut-Biomarker, funktionelles Langzeit-Outcome

b) Englischsprachige Kurzzusammenfassung

Background and purpose: In the acute setting of an ischemic stroke, the increased blood-brain barrier permeability (BBBP) as a sign of injury is frequently described and believed to be associated with increased risk of poor outcome. In the subacute phase, an increased BBBP is possibly associated with regenerative mechanisms. Pre-clinical studies show that blood-based biomarkers such as cytokines may play a role in BBBP post-stroke. The aim was to investigate the increased BBBP in subacute stroke using contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI) and analyze potential associations with selected blood serum biomarkers and functional recovery. **Methods:** This is an analysis of 93 patients with subacute ischemic stroke enrolled in the *BAPTISe* study ('Biomarkers And Perfusion – Training-Induced changes after Stroke') nested within the randomized controlled *PHYS-STROKE* ('Physical Fitness Training in Patients with Subacute Stroke') trial (intervention: four weeks of aerobic fitness training versus relaxation). Patients with at least one contrast-enhanced MRI before (visit 1 [V1]) or after (visit 2 [V2]) the intervention were eligible. The prevalence of an increased BBBP was visually assessed on T1-weighted MR-images by contrast-agent enhancement within the ischemic lesion. The intensity of BBBP was semi-quantitatively assessed. Subtraction imaging was used to visually evaluate the evolution of BBBP. The serum biomarkers C-reactive Protein, Interleukin 6, Tumor Necrosis Factor Alpha, Matrix Metalloproteinase 9 and Vascular Endothelial Growth Factor were assessed at V1 and analyzed as continuous and dichotomized variables. Functional outcome was assessed three and six months post-stroke via modified Rankin Scale and Barthel Index. **Results:** The 93 patients had a median National Institute of Health Stroke Scale at the primary treating stroke unit of 9. Increased BBBP was observed in 80% on V1 MRI (median 26 days to V1-MRI), in 74% at V2 (median 56 days to V2-MRI). The increased BBBP was associated with larger lesion volumes and more severe strokes at both V1 and V2. Time from stroke onset to MRI was inversely associated with increased BBBP intensity (Coefficient -0.002 Standard Error 0.007, $p < 0.01$). No association of selected biomarkers and presence or dynamic of increased BBBP was identified. Persisting BBBP had a predictive value for a dependent functional outcome after six months (adjusted OR 1.2, 95% CI 1.0-1.4, $p = 0.02$). **Conclusion:** In patients with moderate to severe subacute stroke the increased BBBP is a common phenomenon which lasted for several weeks and was associated with stroke severity and lesion size. Persisting BBBP was associated with poor functional outcome.

Key words: Subacute Ischemic Stroke, Blood-Brain Barrier Permeability, Magnet Resonance Imaging, Serum Biomarker, Functional Outcome

1. Einleitung

1.1 Schlaganfall

Der Schlaganfall ist global die zweithäufigste Todesursache. Allein 2016 standen international 5,5 Millionen Todesfälle mit einem Schlaganfall in Zusammenhang (1). Auch in Deutschland zählt der Schlaganfall zu den häufigsten Todesursachen (2). Zudem stellt die Erkrankung die zweithäufigste Ursache für dauerhafte Behinderung und einen großen Kostenfaktor für das Gesundheitssystem dar (3-5). In industrialisierten Ländern ist es in den vergangenen Jahren vermutlich durch verbesserte Prävention und Therapie des Schlaganfalls insgesamt zu einer Abnahme der Inzidenz- und Mortalitätsraten gekommen. Aufgrund des demografischen Wandels ist jedoch zukünftig von einem Anstieg der Fallzahlen auszugehen (6-8).

Es kann zwischen den Subtypen des hämorrhagischen und des ischämischen Schlaganfalles unterschieden werden: Beim hämorrhagischen Schlaganfall handelt es sich um eine intrakranielle Blutung, die durch die Ruptur intrakranieller Gefäße zustande kommt (9). Mit mehr als 80% sind die Mehrheit der Schlaganfälle in den USA ischämischer Genese (10). Der ischämische Schlaganfall ist durch die Unterbrechung oder Beeinträchtigung des zerebralen Blutflusses und damit der Versorgung des betroffenen Areals mit Sauerstoff und Glukose charakterisiert. Es kommt folglich zu einer irreversiblen Schädigung von Gehirngewebe. Das umgebende von der Minderversorgung bedrohte Gewebe wird als Penumbra bezeichnet (11).

Die intravenöse systemische Thrombolyse mittels des rekombinanten gewebespezifischem Plasminogenaktivators (englisch: recombinant tissue Plasminogen Activator, rtPA) ist die einzige zugelassene pharmazeutische Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls (12). Da die systemische Thrombolyse mit einem erhöhten Risiko von hämorrhagischen Komplikationen und Tod in Verbindung steht, kann sie nur unter bestimmten Voraussetzungen und in einem bestimmten Zeitfenster als Akuttherapie angewendet werden (13). Eine weitere Akuttherapie stellt die Intervention der endovaskulären Thrombektomie (EVT) dar, welche maßgeblich zur Verbesserung des klinischen Outcomes bei Patient*innen mit akuten ischämischen Schlaganfall aufgrund eines Großgefäßverschlusses (englisch: large vessel occlusion, LVO) beitragen kann (14). Auch die EVT kann ebenso wie die systemische Thrombolyse nur in einem begrenzten Zeitraum Anwendung finden (15-18) und ist mit einem erhöhten Risiko einer hämorrhagischen Transformation (HT) verbunden (19).

1.2 Struktur der Blut-Hirnschranke

Die Blut-Hirnschranke (englisch: blood brain barrier, BBB) ist eine hochspezialisierte Struktur des neurovaskulären Systems. Sie ist entscheidend für die neuronale Funktion sowie für den Schutz vor Schäden im Zentralen Nervensystems (ZNS). Die BBB separiert Komponenten des zirkulierenden Blutes und die Neurone. Zudem erhält sie das chemische Milieu der Neurone, welches für die Funktion neuronaler Schaltkreise, für die synaptische Transmission, das Remodelling sowie für die Angiogenese und Neurogenese des Gehirns notwendig ist (20).

Die BBB setzt sich aus zellulären Komponenten, inklusive Transportern und Enzymen, zusammen. Letztere erhalten die extrazelluläre Umgebung im ZNS. Die physikalische Barriere der BBB basiert insbesondere auf den Endothelzellen (20, 21).

Die Kapillaren des ZNS sind kontinuierliche nicht gefensterte Gefäße. Ihre verschiedenen zellulären Komponenten formen die BBB. Endothelzellen bilden die Kapillaren, durch die das Blut fließen kann. Abluminal heften den Endothelzellen die Perizyten an. Sowohl die Endothelzellen als auch die Perizyten sind von einer Basallamina umgeben, an die wiederum die Plasmamembran der Astrozyten-Endfüße angrenzt (22). Auch die Basallamina als Teil der Extrazellulären Matrix (EZM) und die Astrozyten tragen zur Integrität und Permeabilität der BBB bei. Die Basallamina formt sich aus Komponenten der EZM wie Kollagen IV, Laminin, Fibronectin, Enaktin, Thrombospondin, verschiedenen Proteoglykanen und Heparansulfaten (23, 24).

Endothelzellen lassen sich gemeinsam mit Perizyten, Astrozyten, Neuronen und der EZM als Neurovaskuläre Einheit (englisch: neurovascular unit, NVU) zusammenfassen. Diese Einheit bestimmt zusammen mit den im Blut zirkulierenden Zellen die Eigenschaften der BBB (23, 25). Die Funktionalität der BBB ist folglich vom Zusammenspiel der Komponenten der NVU abhängig. Die Induktion und der Erhalt der Barrierefunktion ermöglichen, die Bewegung von Molekülen, Ionen und Zellen zwischen dem Blut und dem ZNS zu regulieren(20, 23).

1.2.1 Neurovaskuläre Einheit

Das komplexe Zusammenspiel der NVU ermöglicht die einzigartigen Eigenschaften der BBB. Der Erhalt der Funktionen der BBB ist abhängig von der neuronalen Umgebung, die wiederum auf der genauen Regulation zwischen extra- und intravasalem Raum basiert (26).

Zelluläre Komponenten

Die wesentlichen Eigenschaften der BBB ergeben sich aus der Funktion der Endothelzellen: Neuronale Endothelzellen unterscheiden sich insofern von nicht-neuronalen, als dass sie hoch polarisierte Zellen formen, die von Tight Junctions (TJ) zusammengehalten werden.

Eine Besonderheit der zerebralen Endothelzellen ist einerseits die geringe Flussrate durch die Zellen im Verhältnis zum Anteil spezifischer Transporter, andererseits ihre geringe Fensterung. Dies limitiert den transzellulären Fluss (27). Spezifische Mechanismen der Endothelzellen umfassen Efflux-Transporter, die es ermöglichen, frei über die Zellmembran diffundierende Toxine aus den Zellen zu schleusen. Weitere Transporter versorgen das Gehirn mit essentiellen Nährstoffen (28).

Abluminal der kapillären Endothelzellen formen die Perizyten eine Schicht mit fingerförmigen Ausläufern, die an die endothelialen Zellen anknüpfen (29). Perizyten sind bei Prozessen der Angiogenese, dem vaskulären Remodelling, dem vaskulären Tonus und nicht zuletzt bei der Formierung der BBB von Bedeutung (30, 31). Die Kapillaren des ZNS haben im Vergleich zu anderen Kapillarsystemen den höchsten Anteil an Perizyten (32).

Eine weitere bedeutende zelluläre Komponente stellen die Astrozyten dar, die dem Zelltyp der Gliazellen zugeordnet werden und bei vielen Funktionen des ZNS eine Rolle spielen (33). Es konnte gezeigt werden, dass Astrozyten bei der Regulierung von Transportern und junctionalen Komponenten der BBB beteiligt sind (25). Die Astrozyten-Endfüße tragen unter anderem durch die Expressierung von Aquaporin-Kanälen zur Wasser-Homöostase des ZNS bei (34).

Darüber hinaus sind Mikrogliazellen als zelluläre Komponente der NVU zu nennen, die als ansässige Immunzellen des ZNS betrachtet werden können. Sie befinden sich im Parenchym und stammen als gewebeständige Makrophagen von einer monozytären Zelllinie ab (35). In Zellkultur-basierten Studien konnte gezeigt werden, dass die Mikroglia mit den Gefäßen des zentralen Nervensystems interagiert und die Passage von Immunzellen über die BBB reguliert (36, 37). Somit ist sie auch als Mediator inflammatorischer Reaktionen im ZNS zu verstehen (35). Des Weiteren hat die Mikroglia eine Funktion bei der Angiogenese (38).

Molekulare Komponenten

Zu den molekularen Komponenten der BBB gehören unter anderem Leukozytenadhäsionsmoleküle (englisch: leukocyte adhesion molecules, LAM), die Komponenten der Basallamina und die des junktionalen Komplexes.

Die LAM werden auf der Oberfläche von Endothelzellen exprimiert und vermitteln die Bindung von Leukozyten und deren Übertritt ins Parenchym. Zu ihnen gehören E-Selektin und P-Selektin sowie vaskuläre und interzelluläre Zelladhäsionsmoleküle (englisch: vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1; intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1) (39).

Die Basallamina besteht vorwiegend aus Typ IV Kollagen, Laminin, Heparansulfat sowie vielen weiteren Glykoproteinen. Man kann zwischen einer inneren endothelialen und einer äußeren parenchymalen Membran differenzieren. Die endotheliale Seite leitet sich von den Perizyten und Endothelzellen ab, die parenchymale von den Astrozyten (34). Der Übertritt von Molekülen und Zellen erfolgt demnach über diese zwei Membranen der Basallamina (23).

Unter dem junktionalen Komplex lassen sich TJ, Gap Junctions (GJ) und Adherens Junctions (AJ) zusammenfassen (40, 41). TJ und AJ verbinden die Endothelzellen und verhindern das unkontrollierte Einströmen von Ionen sowie die parazelluläre Diffusion. AJ und TJ werden durch verschiedene transmembranöse Adhäsionsmoleküle und ihre intrazellulären Partner gebildet. Bei TJ wird die Adhäsion vor allem über Okkludine und Claudine vermittelt, bei AJ über Cadherine und weitere Ankerproteine (27).

1.2.2 Transportmechanismen

Die Transportwege über die BBB können wie zuvor bereits erwähnt in zwei Kategorien aufgeteilt werden: den parazellulären und den transzellulären Transport.

Der parazelluläre Transport erfolgt passiv durch Osmose über die TJ, die den Transport im ZNS beschränken (27). Diese Eigenschaften der TJ minimieren den parazellulären Transport im physiologischen Zustand. Die Mehrheit der Moleküle ist jedoch auf transzelluläre Transportmechanismen angewiesen.

Die Diffusion ist ein Mechanismus des transzellulären Transportes, die auf Sauerstoff, Kohlenstoffdioxid (42) und kleine lipophile Moleküle begrenzt ist (43, 44).

Mittels der Rezeptor-vermittelten Transzytose gelangen weitere Moleküle wie zum Beispiel das low-density Lipoprotein (LDL) in die Zelle (41). Die Moleküle binden hierfür an Rezeptoren auf der Zelloberfläche. Dies führt zur Ausbildung von Vesikeln, die die

BBB übertreten und das Molekül freigegeben (45). Substrat-spezifische Transporter ermöglichen den aktiven oder passiven Austausch zwischen Blut und dem ZNS (46). Efflux-Transporter sorgen für das Ausschleusen von Molekülen aus dem ZNS. Sie verhindern die Akkumulation von potenziell schädlichen Substanzen, die die BBB passiert haben (42, 46, 47).

1.3 Ischämischer Schlaganfall: Störung der Blut-Hirnschranke

Wie zuvor aufgezeigt, basiert die Homöostase des ZNS auf dem komplexen Zusammenspiel der NVU und der Regulation der BBB. Ein Ungleichgewicht in diesem Geflecht kann zu pathologischen Prozessen und zur Steigerung der BBBP führen, die bei einer Vielzahl neurologischer Erkrankungen wie Epilepsie, Multipler Sklerose und Morbus Alzheimer beobachtet wurde (48, 49).

Der ischämische Schlaganfall ist durch die Unterbrechung beziehungsweise deutliche Reduktion der Glukose- und Sauerstoffversorgung von Gehirngewebe gekennzeichnet. Dieser Mangelzustand bringt eine Kaskade pathologischer Mechanismen ins Rollen, die eine Progression vom Akutereignis bis in die chronische Phase bedingt. Diese pathologischen Prozesse laufen parallel ab und führen zur Zerstörung von Nervenzellen, die klinisch als neurologisches Defizit beim Betroffenen sichtbar werden (50, 51).

Die Störung der BBB wird als gesteigerte Permeabilität sichtbar, die nach der Unterbrechung des Blutflusses beginnt und nach bisherigen Erkenntnissen in der akuten und frühen subakuten Phase für Tage anhalten kann (52). Zudem besteht ein Zusammenhang zwischen der gesteigerten BBBP und der Reperfusion, auf welchen im weiteren Verlauf eingegangen wird.

Die gesteigerte BBBP entsteht als Folge der akuten Schädigung durch einen Gefäßverschluss, führt aber auch selbst zu einer weiteren Gewebeschädigung (53). Pathophysiologische Prozesse bedingen im zeitlichen Verlauf die primäre und sekundäre Schädigung sowie letztlich Reparaturmechanismen, die der Wiederherstellung der BBB-Integrität dienen (54). Der zeitliche Ablauf und das Zusammenspiel der komplexen Prozesse, die zu dieser Störung und Wiederherstellung bei dem ischämischen Schlaganfall führen, sind weiterhin unklar (12).

In klinischen Studien, welche auf MRT- oder CT-Bildgebung basieren, konnte in der hyperakuten Phase des ischämischen Schlaganfalls innerhalb der ersten sechs Stunden ein erster Permeabilitätsanstieg als Zeichen der Hypoxie detektiert werden (55-57).

In der akuten Phase führen zytotoxische Prozesse zur Neuro-Inflammation und folglich zu einer Permeabilitätssteigerung, die im Tiermodell in MRT-basierten Studien am stärksten ausgeprägt nach 72 bis 96 Stunden beobachtet wurde (50, 58, 59). In dieser Phase wurde zudem ein erhöhtes Risiko einer HT beobachtet, welches wiederum durch die Reperfusion verstärkt wird (51, 60).

In **Abbildung 1** werden die pathophysiologischen Prozesse im zeitlichen Zusammenhang schematisch dargestellt.

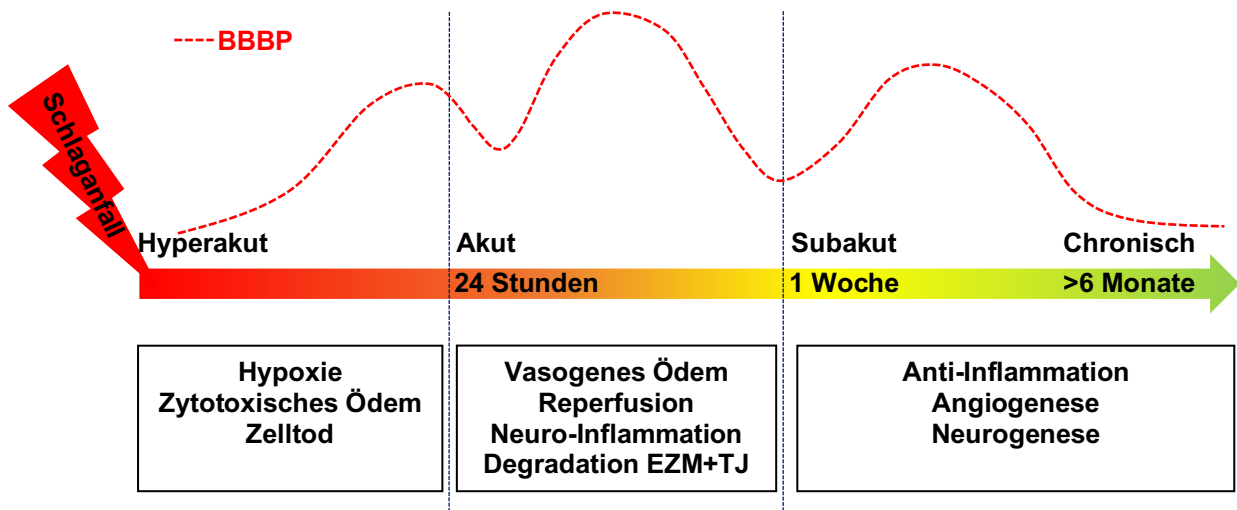


Abbildung 1: Phasen und pathophysiologische Prozesse der gesteigerten BBBP
(modifiziert nach Bernado-Castro *et al.* (12))

1.3.1 Phasen der gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität

Hyperakute Phase

Als hyperakute Phase werden die ersten 24 Stunden nach dem Akutereignis bezeichnet (61). Im Zuge der Unterbrechung des zerebralen Blutflusses kommt es zu einer komplexen neurotoxischen Kaskade, welche initial durch die Hypoxie geprägt ist, im Verlauf zum zytotoxischen Ödem führt und letztlich im Zelltod mündet.

Akute Phase

In der akuten Phase nach ischämischem Insult - definiert als 24 Stunden bis sieben Tage nach dem Akutereignis (61) - kann es zu weiterem Zelluntergang in der den Infarktkern umgebenden Penumbra kommen. Das Fortschreiten der Ischämie in diese Zone erfolgt durch sekundäre Schädigungsprozesse. Die Prozesse der Inflammation und der Produktion freier Radikale führen einerseits zu diesem zeitlich verzögerten Zelluntergang

in der Penumbra, können andererseits im weiteren Verlauf zu Reparaturprozessen beitragen (62). Die neuronalen inflammatorischen Prozesse in der akuten Phase bedingen maßgeblich die Steigerung der BBBP (63).

Subakute Phase

Die subakute Phase des ischämischen Schlaganfalls kann in ein frühes und ein spätes Stadium eingeteilt werden. Als frühe subakute Phase wird der Zeitraum ab dem siebten Tag bis zu drei Monate nach dem Akutereignis definiert. Die späte subakute Phase erstreckt sich vom dritten bis zum sechsten Monat. Nach mehr als sechs Monaten spricht man vom chronischen Stadium (61).

In der subakuten Phase nach dem ischämischen Ereignis stehen Wiederherstellungsprozesse des Gehirns wie die Neurogenese und die Angiogenese sowie anti-inflammatorische Prozesse im Vordergrund (12). Insbesondere zwischen der Angiogenese und der Neurogenese besteht eine enge Vernetzung, die für die Wiederherstellung der NVU und damit für das Wiedererlangen der BBB-Integrität von großer Bedeutung ist.

1.3.2 Pathophysiologische Prozesse

Hypoxie und zytotoxisches Ödem

In der hyperakuten Phase des ischämischen Schlaganfalls kommt es durch die Unterbrechung des zerebralen Blutflusses zu einer Minderversorgung mit Glukose und Sauerstoff im betroffenen Areal und folglich zu einer Verminderung von Adenosin-Triphosphat (ATP). Es entsteht ein Ungleichgewicht der Ionen zum Beispiel indem das intrazelluläre Natrium in den Neuronen ansteigt, was zu einer Umverteilung von Flüssigkeit in den extravasalen Raum führt. Dies mündet im Anschwellen der Zellen, dem zytotoxischen Ödem (64). Durch eine Dysbalance des Natrium-Austauschs auch in den Endothelzellen kommt es zur Zellschwellung mit konsekutiver Permeabilitätssteigerung der BBB (65). Der Anstieg von intrazellulärem Kalzium führt über die Akkumulation von Glutamat und Dopamin sowie über die Aktivierung von Enzymen zum Zelltod (66). Des Weiteren kommt es durch das Kalzium zu einer Dysfunktion der Mitochondrien. Die Folge ist die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (englisch: Reactive Oxygen Species, ROS). Nichtsdestotrotz ist in diesem hyperakuten Stadium die Barrierefunktion der BBB noch weitestgehend intakt (12).

Vasogenes Ödem

Minuten bis Stunden nach dem Akutereignis treten Makromoleküle vom intravasalen in den extrazellulären Raum des ZNS. Dieser Übertritt bedingt über die Formierung eines osmotischen Gradienten das vasogene Ödem. Bildmorphologisch lässt sich das vasogene Ödem vier bis sechs Stunden nach Eintreten der Ischämie in FLAIR (englisch: Fluid-Attenuated Inversion Recovery)-Sequenzen MR-bildgebend nachweisen (67, 68).

Reperfusionsschaden

Als Reperfusion wird die Wiederherstellung des zerebralen Blutflusses und damit der Versorgung des hypoxischen Areals mit Sauerstoff und Glukose bezeichnet (22, 69). Die Reperfusion ist ein im Gesamtgeschehen eines ischämischen Schlaganfalls für das Überleben von Hirngewebe essenzieller Prozess. Gleichzeitig kann die Reperfusion aber auch zu weiterer Gewebeschädigung führen (70). Sie trägt zum Erhalt des vital gefährdeten Gewebes der Penumbra bei, kann jedoch auch zum Übertritt von osmotisch wirksamen Bestandteilen durch die gestörte BBB und damit zu weiterer Schädigung bis hin zur Komplikation einer HT führen (12).

Der Prozess der Reperfusion tritt spontan durch die Umverteilung des Blutflusses aus Kollateralen und benachbarten Gefäßen oder durch therapeutische Maßnahmen wie die der systemischen Thrombolyse oder der EVT auf (22, 69).

Drei Stadien der Reperfusion lassen sich beschreiben: Das erste Stadium der reaktiven Hyperämie ist durch den Verlust der zerebralen Vasoregulation charakterisiert und geht mit einer gesteigerten Permeabilität der BBB einher. Das zweite Stadium der Hypoperfusion entsteht durch die Schwellung der Endothelzellen und Astrozyten mit konsekutiver mikrovaskulärer Obstruktion sowie durch die Initiierung neuro-inflammatorischer Kaskaden (69).

Auf die Hypoperfusion folgt das dritte Stadium der gesteigerten parazellulären Permeabilität. Diese tritt vorwiegend zwischen drei und 96 Stunden nach primärer Reperfusion auf. In diesem Stadium wird ein biphasischer Verlauf der Permeabilitätssteigerung angenommen: Drei bis acht Stunden nach der Reperfusion wird die Permeabilität vor allem durch die Prozesse der Inflammation und des oxidativen Stresses sowie der EZM-Degradation gesteigert. Die zweite Phase 18 bis 96 Stunden nach der Reperfusion scheint durch das vasogene Ödem und regenerative Prozesse wie die Angiogenese bestimmt zu sein (22, 71-73). Zusammenfassend basiert der

Reperfusionsschaden auf dem Zusammenspiel mehrerer Mechanismen (74), auf welche im Folgenden genauer eingegangen wird.

Oxidativer Stress

Im ischämischen Schlaganfall führen die zuvor beschriebenen Mechanismen der Ischämie und der Reperfusion zu einer erhöhten Produktion freier Radikale wie ROS und Stickstoffmonoxid (englisch: nitric oxide, NO). Zugleich werden im Rahmen der Hypoxie Systeme gestört, die im physiologischen Zustand für die Beseitigung der freien Radikale sorgen würden. Die ROS schädigen Endothelzellen, Perizyten und Astrozyten und gelten als die primären freien Radikale, die in die Erhöhung der Permeabilität und der Entwicklung eines zerebralen Ödems involviert sind (24). NO ist ein freies Radikal und Neurotoxin, das vasodilatatorisch wirkt, die endotheliale Schädigung verstärkt und so potentiell zur Permeabilitätssteigerung beiträgt (22). Freie Radikale stören unmittelbar die endothelialen TJ, was eine Steigerung der parazellulären Permeabilität nach sich zieht (75, 76). Auf weitere Mediatoren, die im Zusammenspiel die BBBP und die Entwicklung eines Hirnödems beeinflussen, wirken die freien Radikale ebenfalls ein. Hinsichtlich der Hochregulierung von Matrixmetalloproteasen (MMP) ist NO eines der wichtigsten freien Radikale (77). Auch auf die Expression von vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (englisch: Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), welche wiederum die Aktivität von MMP und die fokale Angiogenese induzieren kann, nimmt NO Einfluss (78). Eine Quelle freier Radikale stellen Leukozyten im Verlauf der Ischämie und Reperfusion dar (24). So steigen mit der Dauer der Ischämie die Level der durch die neutrophilen Leukozyten generierten ROS an (79).

Neuro-Inflammation

Die Immunantwort ist ein pathophysiologischer Prozess, der eine bedeutende Rolle in Folge eines ischämischen Schlaganfalls spielt. Die primären Mediatoren des Immunsystems sind hierbei die Gliazellen und infiltrierende Leukozyten. In aktivierter Form können Mikrogliazellen als gewebeständige Makrophagen und Teil des Immunsystems im ZNS zwei Phänotypen ausbilden. Hier spielt einer dieser Phänotypen eine wesentliche Rolle bei der Neuro-Inflammation, der andere bei Wiederherstellungsprozessen (80-83). Auf letztere wird im weiteren Verlauf genauer eingegangen.

Der pro-inflammatorische Phänotyp produziert zytotoxische Verbindungen wie NO und

inflammatorische Zytokine (82). Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- α) zählt neben Interleukin-6 (IL-6) zu den wichtigsten Zytokinen der neuro-inflammatorischen Kaskade. Es aktiviert und beeinflusst die synaptische Übertragung und Plastizität (84). So kann es unter anderem zur Aktivierung von MMP (85) führen und Einfluss auf die Stabilität von TJ (43) haben. Die Hochregulierung der TNF- α -Expression in ischämischen Regionen führt nachweislich zu einem Anstieg der BBBP (86).

Interleukine gehören ebenfalls zu der Gruppe der Zytokine. Sie spielen über die Aktivierung und Differenzierung sowie durch die Adhäsion und Infiltration von Immunzellen eine entscheidende Rolle nicht nur bei neuronalen inflammatorischen Prozessen. Interleukine regulieren die Kommunikation zwischen Makrophagen, B- und T-Zellen sowie weiteren an der Immunantwort beteiligten Zellen. Auch auf die Synthese anderer Interleukine können sie einwirken (87). De Vries *et al.* konnten im Tiermodell an zerebralen Endothelzellen zeigen, dass die Exposition der Endothelien mit den Zytokinen Interleukin-1 β (IL-1 β) und IL-6 eine erhöhte parazelluläre Durchlässigkeit zur Folge hat (88). Zudem trägt insbesondere IL-6 direkt zur Synthese und Ausschüttung von Chemokinen bei (85). In Interaktion führen Zytokine und Chemokine zur Bildung von Adhäsionsmolekülen wie P- und L-Selektin auf den Endothelzellen und Leukozyten (89). Es kommt zur Aktivierung und Extravasation beziehungsweise Infiltration von Leukozyten. Die Rekrutierung neutrophiler Leukozyten und phagozytierender Monozyten in die ischämische Region verstärkt die Synthese freier Radikale, MMP, VEGF und anderer Mediatoren (24, 90). Durch die daraus resultierende Induktion weiterer Zytokine und endothelialer Adhäsionsmoleküle (51, 82) wird die Neuro-Inflammation weiter verstärkt (80, 81). Die Leukozytenadhäsion und -infiltration induziert überdies eine Signalkaskade, die den Verlust der TJ-Proteine bewirkt und damit deren Integrität stört (24). Zusammenfassend bewirken Leukozytenadhäsion und -migration einen sich selbst verstärkenden Prozess, indem sie über die Aktivierung verschiedener Signalwege eine weitere BBBP-Steigerung bewirken.

Das C-reaktive Protein (CRP) könnte als Akute-Phase-Protein, das von der Leber produziert wird, und im Rahmen inflammatorischer Prozesse im Blut zirkuliert, ebenfalls Einfluss auf die Permeabilität der BBB haben. Tierversuche *in vivo* konnten zeigen, dass CRP einen direkten Einfluss auf die zerebralen Endothelzellen hat. Es induziert unter anderem die Hochregulierung des Leukozytenadhäsionsmoleküls VCAM-1 (91). Somit

spielt es mittelbar eine Rolle in der neuro-inflammatorischen Kaskade. Zudem konnten direkte Zusammenhänge zwischen einer erhöhten BBBP und erhöhten CRP-Werten in zellbasierten Tierversuchen festgestellt werden (92).

Degradation Extrazelluläre Matrix und Junktionaler Komplex

Die Proteolyse der EZM-Bestandteile ist ein weiterer pathophysiologischer Prozess, der sich im Rahmen des ischämischen Schlaganfalls abspielt. Durch die Proteolyse kommt es zur Degradation der Basallamina und folglich zu einer BBB-Funktionsstörung (93, 94). Ein wichtiger Faktor für die Integrität der BBB sind Adhäsionsrezeptoren, die die zellulären Komponenten der BBB mit spezifischen Liganden der Basalmembran bzw. der EZM verbinden. Laminine sind Bestandteile der Basallamina und fungieren als Liganden für Integrin-Adhäsionsrezeptoren. Nach zerebraler Ischämie ist die Expression spezifischer Integrine im Vergleich zu der ihrer Liganden schnell reduziert, was für einen frühen Verlust der Integrität zwischen Gefäßwand und EZM spricht (95). Hauptsächlich für die Proteolyse verantwortlich sind Serinproteasen, Plasminogenaktivatoren (PA) sowie MMP (89, 96-98). Ein besonderer Fokus liegt auf den letzten beiden Enzymtypen, da diese hauptsächlich bei der Zersetzung der EZM beteiligt sind (51). Gewebespezifische PA werden endogen infolge der zerebralen Ischämie gebildet und sind in medikamentöser Form (rtPA) die einzige zugelassene pharmazeutische Akuttherapie des Schlaganfalls (12). Im Kontext des Plasminogen-Plasmin-Systems könnten sie nicht nur eine Rolle bei der Fibrinolyse, sondern auch bei der Proteolyse von Komponenten der EZM spielen.

MMP sind Enzyme, deren Expression im Verlauf der zerebralen Ischämie und Reperfusion hochreguliert wird (94). MMP werden sowohl durch die Steigerung von gewebespezifische PA (94) als auch durch eine erhöhte Produktion freier Radikale (99) und Zytokine (94) aktiviert. Insbesondere die Produktion und Hochregulierung der MMP-9-Expression spielt über die Degradation der EZM und des junktionalen Komplexes unmittelbar eine entscheidende Rolle für die gesteigerte BBBP. Die Konzentration von MMP-9 steigt innerhalb von Stunden nach dem Akutereignis an und bleibt über Tage erhöht (100, 101). MMP allgemein greifen sowohl TJ und deren Ankerproteine Okkludin und Claudin (102) als auch Proteine der Basallamina wie Fibronectin, Laminin und Heparansulfate an (60, 103). In klinischen Studien mit seriellen laborchemischen Bestimmungen von MMP-9 bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall konnten Zusammenhänge zwischen erhöhten MMP-9-Werten und dem initialen Infarktvolumen

(104) sowie dem klinischen Outcome (105) festgestellt werden. In weiteren klinischen Studien mit Schlaganfallpatienten konnte gezeigt werden, dass eine hohe MMP-9-Plasmakonzentration unabhängig von der Schlaganfallätiologie als Prädiktor für die Komplikation einer HT dienen kann (106, 107).

Wiederherstellung der Blut-Hirnschranke

Bei den Prozessen zur Wiederherstellung der BBB nach der akuten Ischämie sind vor allem die Anti-Inflammation sowie die Neuro- und der Angiogenese von Bedeutung.

Die Angiogenese, die als Wachstum von Blutgefäßen aus einem vorbestehenden Gefäßsystem definiert ist, tritt sowohl bei physiologischen als auch bei pathologischen Prozessen auf (108). Die Neurogenese wird als Formation von Neuronen aus Stamm- und Vorläuferzellen (109) definiert.

Wie zuvor beschrieben verändert sich die Mikroglia nach einer Gewebeschädigung und exprimiert folglich anti-inflammatorische Zytokine (81). Die Mikroglia ist des Weiteren die treibende Kraft der Neurogenese, unter anderem indem sie eine Vielzahl neurotroper Faktoren sezerniert (80). Die Mikroglia stimuliert die Migration und Proliferation neuronaler Stammzellen und trägt so zur Neuroplastizität bei (110).

Ferner sind neben der Mikroglia auch andere Zelltypen bei Reparaturmechanismen wichtig: Progenitorzellen integrieren sich beispielweise in die alterierte BBB, genauer gesagt in die Endothelzellen, und sezernieren spezifische Mediatoren (80). Endotheliale Progenitorzellen tragen so zur Angiogenese und zu vaskulären Reparaturmechanismen nach einem ischämischen Ereignis bei (111). In ihrer MRT-gestützten Studie an Menschen konnten Sargento-Freitas *et al.* (112) feststellen, dass bestimmte endotheliale Progenitorzellen mit einer erhöhten BBBP im subakuten Stadium des ischämischen Schlaganfalls und die BBBP-Erhöhung wiederum mit einem verbesserten klinischen Outcome der Proband*innen assoziiert waren.

Im Rahmen des ischämischen Schlaganfalls kommt es wie zuvor erwähnt zur Degradation der junktionalen Komplexe, was die Steigerung der BBBP zur Folge hat. Die unzureichende Reorganisation der junktionalen Komplexe ist als wichtiger Mechanismus einer unvollständigen Wiederherstellung der Barrierefunktion zu nennen: Sie kann einerseits zu einem erhöhten Risiko einer intrakraniellen Blutung führen, andererseits jedoch auch zur Neurogenese beitragen und nicht zuletzt potenziell für therapeutische Zwecke genutzt werden (113).

Der Wachstumsfaktor VEGF, der durch Hypoxie induziert wird, ist bei den Prozessen des

vaskulären Remodelling, der Angiogenese und der Neurogenese einer der wichtigsten Faktoren (114-116). VEGF kann jedoch vermutlich auch bei der Störung der vaskulären Barrierefunktion im Rahmen der zerebralen Ischämie bedeutend sein (117). Die Annahme, dass VEGF bei der Störung der BBB involviert ist, wurde aufgrund von Beobachtungen getroffen, die eine synchrone Hochregulierung von VEGF und eine Zunahme der BBBP gezeigt haben (118). VEGF wird bereits eine Stunde nach Akutereignis unter anderem von Makrophagen, Perizyten, Gliazellen und Neuronen exprimiert (118, 119). In präklinischen Studien an Nagetieren konnte beobachtet werden, dass eine intravenöse Gabe von VEGF die BBBP und die Infarktgröße erhöht und mit einem schlechteren funktionellen Outcome in Verbindung steht (120-122). Durch VEGF scheint die parazelluläre Durchlässigkeit gesteigert und die Ankerproteine der TJ verringert zu werden (123, 124). In Zellkultur-basierten Studien konnte außerdem gezeigt werden, dass VEGF die Expression von MMP-2 und MMP-9 erhöht (125), deren Auswirkungen auf die EZM und TJ zuvor erläutert wurden. Ein Anstieg von VEGF nach 24 oder mehr Stunden scheint mit protektiven neuronalen Prozessen einherzugehen. Man nimmt an, dass dieser späte Effekt, der die Wiederherstellungsprozesse fördert, vor allem durch die Verbesserung der Angiogenese geprägt ist (126). Als Antwort auf die Ischämie scheint VEGF unter anderem Einfluss auf die Mobilisation von zirkulierenden endothelialen Progenitorzellen zu haben (127, 128), die wie oben erwähnt die Angiogenese und Reparaturmechanismen fördern.

1.4 Bildgebung

Die BBB als entscheidender Faktor der physiologischen Funktionsfähigkeit des ZNS kann sowohl anhand zerebraler Bildgebung mittels MRT (89,90), als auch mittels der CT, der Single-Photonen-Emissionscomputertomographie (englisch: Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) und der Positronen-Emissionstomographie (PET) beurteilt werden. Jede Untersuchungsmethode hat Vor- und Nachteile (12): Die CT ist eine Routineuntersuchung des ischämischen Schlaganfalls und wurde in einer Vielzahl von Studien mittels Kontrastmittel-gestützter Bildgebung zur Detektion und Evaluation der BBB verwendet (129-131). Auch die SPECT-Bildgebung fand bereits in Studien zur Evaluation der BBB Anwendung (132, 133). Nachteil ist sowohl bei der CT- als auch bei der SPECT-Bildgebung die mit der Methodik einhergehende ionisierende Strahlung (134). Die PET-Bildgebung ist derweil im klinischen Alltag aufgrund ihrer Komplexität und

ihrer radioaktiven Strahlung als nachrangig in der Bewertung des ischämischen Schlaganfalles im Allgemeinen und der BBBP im Besonderen zu betrachten (12).

Die MRT-Bildgebung ist generell zur Evaluation des ischämischen Schlaganfalls, nicht zuletzt im Sinne der Therapieentscheidung und Verlaufsbeurteilung, ein wichtiges Diagnostikum. Die MRT-Bildgebung wartet mit einer geringen Invasivität, guter Auflösung und geringen Risiken für Patient*innen auf. Als nachteilig zu benennen sind der Kostenfaktor der Methode sowie potenzielle patientenbasierte Limitationen wie magnetisch wirksame Implantate oder Klaustrophobie (12). Zudem ist diese Methodik anfällig für Bewegungsartefakte und insgesamt zeitaufwendig. Zur Evaluation der gesteigerten BBBP als Zeichen einer Schrankenstörung sowohl in klinischen als auch in präklinischen Studien hat sich die MRT-Bildgebung mit Kontrastmittelapplikation bewährt (135-138). Die Extravasation des Kontrastmittels (KM) Gadolinium wird klinisch als diagnostischer Marker der gestörten BBB verwendet (54, 139).

Bei der visuellen Evaluation der BBBP werden T1-gewichtete Sequenzen vor und nach KM betrachtet. Der nativen T1-gewichteten Sequenz folgt die Applikation von KM. Nach KM-Gabe wird der Übertritt des Gadoliniums in das Parenchym als hyperintenses Signal sichtbar (54). Der Übertritt von KM als Zeichen der gesteigerten BBBP kann weiterführend sowohl semi-quantitativ als auch quantitativ analysiert werden. In vorangegangenen klinischen Studien an Menschen wurden MR-gestützte Bildgebung vor und nach Gadolinium-Gabe, bzw. zwischen betroffenem und kontralateralen nicht betroffenem Gewebe zur semi-quantitativen Einschätzung der BBBP angewendet (140, 141). Eine Methode der quantitativen Beurteilung einer gesteigerten BBBP basiert auf der dynamic contrast-enhanced (DCE)-MRT-Bildgebung (142, 143). Hier besteht der Ansatz darin, Regionen mit erhöhter BBBP durch die zeitliche und räumliche Kinetik des Kontrastmittels zu ermitteln (144). In ihrer klinischen Studie an Patient*innen mit ischämischen Schlaganfall zogen Israeli *et al.* (139) Subtraktionsanalysen T1-gewichteter MRT-Bildgebung nach KM-Gabe zur weiteren Evaluation der BBBP heran.

1.5 Risikofaktoren

Bei der Mehrheit der Schlaganfallpatient*innen bestehen Risikofaktoren und Komorbiditäten, die einen großen Einfluss insbesondere auf die Spätfolgen nach dem Akutereignis haben. Studienergebnisse legen nahe, dass auch die gesteigerte BBBP als Zeichen einer gestörten BBB mit verschiedenen Komorbiditäten assoziiert ist (145).

Hierzu zählen insbesondere der arterielle Hypertonus, die Hyperglykämie, die Hyperlipoproteinämie, sowie nicht beeinflussbare Faktoren wie Alter und Geschlecht. Der arterielle Hypertonus verstärkt im Rahmen des ischämischen Schlaganfalls beispielsweise die Schädigung der TJ Proteine der BBBP und ist somit ein Risikofaktor, der zu einem schlechteren Outcome beitragen kann (146, 147). Die Hyperglykämie als pathologischer Zustand zum Beispiel im Rahmen eines Diabetes mellitus (DM) trägt ebenfalls zur gesteigerten BBBP und damit zur Dysfunktion im Rahmen der zerebralen Ischämie und Reperfusion bei (148, 149). Eine Hyperlipoproteinämie kann die BBB über die Aktivierung von MMP, Inflammation und oxidativen Stress beeinflussen (150). Als nicht modifizierbarer Risikofaktor eines ischämischen Schlaganfalls spielt das Alter eine Rolle: mit steigendem Alter werden die Patient*innen durch verschiedene Mechanismen wie dem der Apoptose anfälliger für die Folgen der Ischämie und für Reperfusionsschäden (151, 152). Wesentliche Unterschiede zwischen den Geschlechtern ergeben sich aus dem Einfluss der Sexualhormone auf die BBBP (145). So konnte im Tierversuch eine Assoziation zwischen einer gesteigerten BBBP und einem Rückgang an Östrogenen in weiblichen Mäusen beobachtet werden (153-155).

1.6 Komplikation: Hämorrhagische Transformation

Die HT ist eine häufige Komplikation des ischämischen Schlaganfalls, die mit einem schlechten funktionellen Outcome der Betroffenen in Verbindung steht (12). Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer HT sowie der Schweregrad ihrer Ausprägung stehen im direkten Zusammenhang mit einer gesteigerten BBBP (156, 157). Die HT tritt bei circa 30-40% Prozent der Fälle (94, 158) entweder spontan oder nach Reperfusionstherapie auf (94). Wie zuvor beschrieben, ist der Mechanismus der Reperfusion entscheidend für das Überleben der Nervenzellen, trägt jedoch auch zu weiteren Gewebeschädigung bei und kann Ursache einer HT sein. Sowohl nach systemischer Thrombolyse mit rtPA als auch bei der mechanischen Thrombektomie ist die HT eine gefürchtete Komplikation. Es wird angenommen, dass die systemische Thrombolyse über die Prozesse der Reperfusion und das Einwirken auf die MMP-Aktivität die HT bedingt (60). Die endovaskuläre Therapie kann durch ihre mechanische, endotheliale Reizung und durch die rasche Reperfusion eine HT auslösen (159). Insbesondere aufgrund dieser Assoziationen mit Reperfusionstherapien, wird von einer höheren Rate von HT in der akuten Schlaganfallphase ausgegangen. Valide Zahlen zur

Prävalenz der Komplikation in anderen Stadien fehlen (12).

1.7 Fitnessstraining

In vorangegangenen wissenschaftlichen Arbeiten wurde der Einfluss von Fitnessstraining auf die Funktion der BBB betrachtet und die Annahme getroffen, dass Training durch die Reduktion von oxidativem Stress und durch anti-inflammatorische Prozesse die Integrität der BBB verbessern kann (160). Experimentell konnte im Tierversuch an Ratten gezeigt werden, dass auf molekularer Ebene durch frühes Training die Hochregulierung von MMP-9 als wesentlicher Faktor der Degradation entscheidender BBB-Komponenten inhibiert wird (161). Des Weiteren konnte sowohl experimentell (162-165) als auch in klinischen Studien an Menschen (166, 167) gezeigt werden, dass Training im Rahmen der Schlaganfallrehabilitation zu funktionellen und neurologischen Veränderungen führt: Die Motorik (168) verbessert sich, die Infarktgröße (162, 168) nimmt ab und die Neurogenese und synaptische Plastizität (165, 169) werden gefördert. Zu Langzeitauswirkungen von körperlichem Training auf die BBBP bei ischämischem Schlaganfall liegen nur wenige Daten vor. In einer Studie an Patient*innen, die an Multipler Sklerose erkrankt waren, konnte nach einem mehrwöchigen Training ein Rückgang einer erhöhten BBBP, welche anhand serologischer Biomarker gemessen wurde, beobachtet werden (170).

1.8 Funktionelles Langzeit-Outcome

Zur Evaluation des funktionellen Langzeit-Outcomes von Patient*innen nach ischämischem Schlaganfall sind die modified Rankin Scale (mRS) und der Barthel Index (BI) gut validierte und weit verbreitete Parameter, die sich zur Beurteilung der Autonomie bei den Aktivitäten des täglichen Lebens (englisch: Activities of Daily Living, ADL) etabliert haben (171, 172). Mittels des mRS kann der Grad der Behinderung bzw. die Abhängigkeit bei Tätigkeiten des täglichen Lebens nach einem Schlaganfall beurteilt werden. Die Skala reicht von null bis sechs Punkten (siehe **Tabelle 1**).

Anhand des Barthel Index werden zehn Tätigkeiten des täglichen Lebens bewertet, die von der Eigenständigkeit beim Transfer und der Bewegung über die Nahrungsaufnahme bis hin zur Körperpflege reichen (siehe **Tabelle 2**). Der Score geht von null bis 100 Punkte, wobei eine höhere Punktzahl eine größere Unabhängigkeit abbildet (173).

In klinischen Studien, in denen eine gesteigerte BBBP mittels MRT- und SPECT-Bildgebung evaluiert wurde, konnte hinsichtlich des funktionellen Langzeit-Outcome nach einem ischämischen Schlaganfall ein Zusammenhang mit der Störung der BBB im akuten Stadium festgestellt werden (104, 132, 146). Der Einfluss der gesteigerten BBBP im subakuten Stadium auf das funktionelle Ergebnis der Rehabilitation bleibt hingegen unklar.

Tabelle 1: modified Rankin Scale

<u>Punkte</u>	<u>Beschreibung</u>
0	Keine Symptome
1	Keine relevante Beeinträchtigung. Kann trotz gewisser Symptome Alltagsaktivitäten verrichten.
2	Leichte Beeinträchtigung. Kann sich ohne Hilfe versorgen, ist aber im Alltag eingeschränkt.
3	Mittelschwere Beeinträchtigung. Benötigt Hilfe im Alltag, kann aber ohne Hilfe gehen.
4	Höhergradige Beeinträchtigung. Benötigt Hilfe bei der Körperpflege, kann nicht ohne Hilfe gehen.
5	Schwere Behinderung. Bettlägerig, inkontinent, benötigt ständige pflegerische Hilfe.
6	Tod infolge des Schlaganfalls.

Tabelle 2: Barthel Index

<u>Punkte</u>	<u>Beschreibung Tätigkeit</u>
0, 5 oder 10	Essen und Trinken
0 oder 5	Baden/Duschen
0 oder 5	Körperpflege
0, 5 oder 10	An- und Ausziehen
0, 5 oder 10	Stuhlkontrolle
0, 5 oder 10	Harnkontrolle
0, 5 oder 10	Benutzung der Toilette
0, 5, 10 oder 15	Bett-/Stuhltransfer
0, 5, 10 oder 15	Mobilität (selbständiges Gehen/Fahren mit Rollstuhl)
0, 5 oder 10	Treppen steigen

2. Zielsetzung und Fragestellung

Die gesteigerte BBBP ist einer der pathophysiologischen Prozesse nach ischämischem Schlaganfall. Die BBBP ist von vielschichtigen Mechanismen beeinflusst, die eine komplexe Dynamik aufweisen (55). In der akuten Phase bedingen der Reperfusionsschaden und die endotheliale Schädigung die Alteration der BBB, was folglich zu einer BBBP-Steigerung führt (59). Im subakuten Stadium scheint die gesteigerte BBBP jedoch auch mit Wiederherstellungsprozessen wie der protektiven neuronalen Inflammation, der Angiogenese und Neurogenese einherzugehen (51).

Ziel dieser Arbeit ist es das Phänomen der gesteigerten BBBP bei Patient*innen mit ischämischem Schlaganfall im subakuten Stadium mittels Kontrastmittel-gestützter MRT-Bildgebung zu untersuchen sowie potentielle Assoziationen mit Blut-basierten Biomarkern und Auswirkungen auf das funktionelle Langzeit-Outcome der Patient*innen zu analysieren. Hieraus ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Wie häufig lässt sich eine gesteigerten BBBP im subakuten Stadium des ischämischen Schlaganfalls mittels Kontrastmittel-gestützter MRT-Bildgebung nachweisen?
2. Welche Dynamik weist die gesteigerte BBBP auf?
3. Welche Risikofaktoren sind mit dem Auftreten, der Intensität und der Dynamik einer gesteigerten BBBP assoziiert?
4. Wie wirkt sich aerobes Fitnessstraining auf die gesteigerte Blut-Hirnschranken-Permeabilität im subakuten Stadium aus?
5. Können ausgewählte Blutbiomarker (CRP, IL-6, TNF- α , MMP-9, VEGF) als Prädiktoren einer gesteigerten BBBP oder ihrer Dynamik im subakuten Stadium dienen?
6. Welchen Einfluss hat die gesteigerte BBBP und ihre Dynamik im subakuten Stadium auf das funktionelle Langzeit-Outcome der Patienten?

3. Material und Methoden

3.1 Patient*innen und Studiendesign

Alle in dieser Analyse betrachteten Fälle nahmen an der prospektiven Endpunkt-verblindeten Beobachtungsstudie *BAPTISe* „Biomarkers And Perfusion – Training-Induced changes after Stroke“ (NCT01954797) (174) als Teilstudie der *PHYS-STROKE* „Physical Fitness Training in sub-acute Stroke“ (NCT01953549) teil. Zwischen den Jahren 2013 und 2017 wurden 200 Patient*innen mit subakutem Schlaganfall im definierten Zeitraum von Tag Fünf bis Tag 45 nach dem Akutereignis in sieben verschiedenen Rehabilitationszentren in der *PHYS-STROKE*-Studie eingeschlossen. Die genauen Ein- und Ausschlusskriterien der *PHYS-STROKE*-Studie wurden zuvor publiziert (175). Es erfolgte eine 1:1 Randomisierung der Proband*innen für eine vierwöchige Intervention. Diese Intervention sah entweder aerobes Fitnesstraining oder Entspannungsübungen zusätzlich zum üblichen Rehabilitationsprogramm vor. Die Proband*innen erhielten Fitnesstraining, welches aus Laufbandtraining auf einem kardiorespiratorisch aktiven Niveau (aerob) für 25 Minuten fünf Mal wöchentlich bestand. Im Rahmen des aeroben Trainings sollte die Ziel-Herzfrequenzrate von 180 Schlägen pro Minute minus des Alters der Proband*innen als Korrelat einer individuellen 50-60%igen maximalen Herzrate erzielt werden. Im Falle einer Medikation mit Beta-Blockern wurde die Ziel-Herzfrequenzrate der Proband*innen um zehn Schläge pro Minute reduziert (175). In der *PHYS-STROKE*-Studie wurden keine signifikanten Unterschiede der primären Endpunkte der maximalen Gehgeschwindigkeit und des Barthel Index drei Monate nach dem Schlaganfall beobachtet. In der Fitness-Gruppe konnte jedoch eine signifikant höhere Rate an schweren unerwünschten Ereignissen (englisch: Serious Adverse Event, SAE) detektiert werden (176, 177).

Eine Subgruppe von 110 Patient*innen mit ischämischem Schlaganfall im subakuten Stadium fünf bis 45 Tage nach dem Akutereignis wurden in die *BAPTISe*-Studie eingeschlossen und erhielten in diesem Rahmen eine zerebrale Bildgebung mittels MRT vor (Visite 1 [V1]) und nach (Visite 2 [V2]) der Intervention. Die Ein- und Ausschlusskriterien der *BAPTISe*-Studie sind in der **Tabelle 3** aufgelistet. Der Workflow der vorliegenden Arbeit ist in **Abbildung 2** dargestellt.

Die *BAPTISe*- und die *PHYS-STROKE*-Studie erhielten jeweils die Zustimmung der zuständigen Ethikkommission der Charité - Universitätsmedizin Berlin (EA1/137/13 und EA1/138/13). Alle Patient*innen wurden ausführlich über die Studie aufgeklärt. Die schriftliche Einwilligungserklärung über die Teilnahme liegt für alle Proband*innen vor.

Tabelle 3: Ein- und Ausschlusskriterien *PHYS-STROKE* und *BAPTISe*

<i>PHYS-STROKE</i>	<i>BAPTISe</i>
Einschlusskriterien	
Alter >18 Jahre	
Diagnose eines Schlaganfall im subakuten Stadium (innerhalb 5-45 Tage nach Akutereignis), ischämisch oder hämorrhagisch, mit Nachweis im initialem MRT/CT (alle Infarktlokalisationen)	Diagnose eines ischämischen Schlaganfall im subakuten Stadium (innerhalb 5-45 Tage nach Akutereignis) mit Nachweis im initialen MRT/CT (alle Infarktlokalisationen)
Barthel Index <65 Punkte zum Zeitpunkt des Einschlusses	
Freies Sitzen für mindestens 30 Sekunden möglich (ohne Unterstützung oder Festhalten)	
Fähigkeit aerobes Fitness-Training zu durchlaufen	
Schriftliche Einwilligungserklärung für <i>PHYS-STROKE</i> und <i>BAPTISe</i>	
Ausschlusskriterien	
Nichterfüllen der Studienvoraussetzungen: intrakranielle Hämorrhagie aufgrund eines rupturierten Aneurysma oder einer arteriovenösen Malformation	Nichterfüllen der Studienvoraussetzungen: primär hämorrhagischer Schlaganfall (ICB), frühere Subarachnoidalblutung (SAB) oder ICB
Progressiver Schlaganfall	
<p>Patient*in nicht in der Lage, an den notwendigen Übungen aufgrund von a) medizinischen b) muskuloskelettalen oder c) neurologischen Problemen teilzunehmen</p> <p>a) Instabile kardiovaskuläre oder andere schwere kardiale Vorerkrankung (z.B. New York Heart Association Kategorie IV, Hospitalisierung aufgrund von Myokardinfarkt oder Operation am Herzen innerhalb der letzten 120 Tage, schwere Kardiomyopathie oder dokumentierte schwere instabile kardiale Arrhythmien)</p> <p>b) Eingeschränkter passiver Bewegungsumfang in den Gelenken der unteren Extremitäten (definiert als Extensionsdefizit von >20° des betroffenen Knie oder der betroffenen Hüfte oder Dorsalflexionsdefizit von >20° der betroffenen Fußgelenke)</p> <p>c) Schwere der Schlaganfall-bezogenen Defizite</p>	Medizinische Kontraindikationen gegen vorgesehenes Fitness-Training

Patient*in benötigte von mindestens einer Person Hilfe beim Laufen aufgrund von neurologischen (z.B. fortgeschrittenes Parkinson Syndrom, Amyotrophe Lateralsklerose, Multiple Sklerose) oder nicht-neurologischer Vorerkrankungen (z.B. Herzinsuffizienz orthopädische Probleme)	Prä-mRS >3 Punkte (Patient*in benötigt Hilfe beim Laufen von mindestens einer Person)
	MRT-Kontraindikationen (Herzschrittmacher, Platzangst, Tinnitus etc.)
Lebenswahrscheinlichkeit <1 Jahr (Einschätzung der Studienärzt*innen)	
Chronische Suchtleiden (Alkohol oder Drogen) innerhalb der letzten 6 Monate	
Starke psychische Störung: diagnostizierte therapierefraktäre bipolar-affektive Störung, Psychosen, Schizophrenie oder Suizidalität	
Teilnahme an weiteren Interventionsstudien	

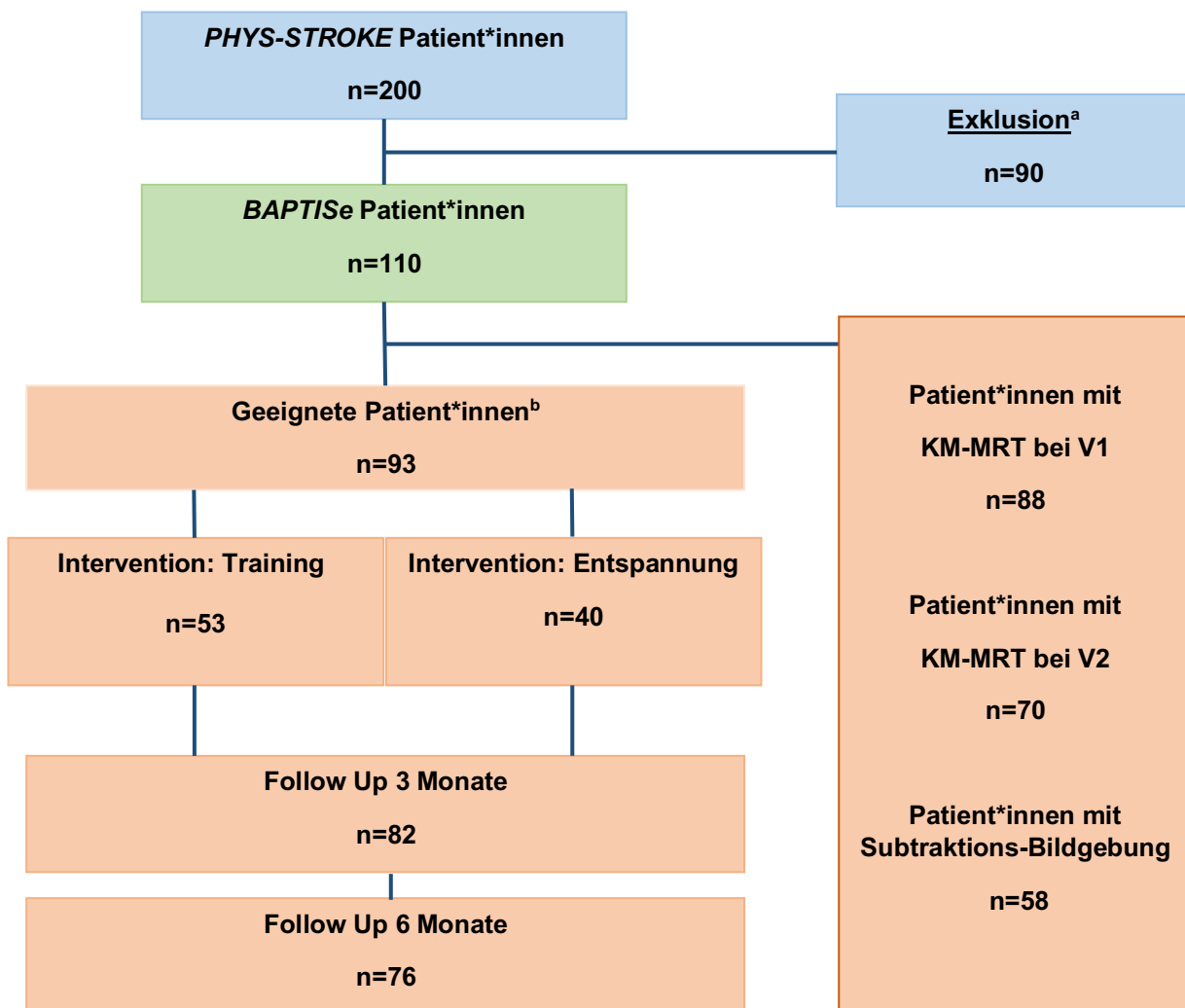


Abbildung 2: Workflow

^aEin- und Ausschlusskriterien der *BAPTISe*- und *PHYS-STROKE*-Studie sind in **Tabelle 3** aufgeführt;

^bEinschlusskriterien der vorliegenden Analyse: mindestens eine MRT-Bildgebung mit Kontrastmittel-Gabe (KM-MRT) bei V1 und/oder V2.

3.2 Demographische Daten und Blut-Biomarker

Die demographischen Daten inklusive Vorerkrankungen, therapeutische Behandlung mit intravenöser Thrombolyse, Ätiologie und Schwere des Schlaganfalles wurden dokumentiert. Die ätiologische Einordnung erfolgte anhand der Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Klassifikation. Die Schwere des Schlaganfalls wurde mittels des NIHSS zum einen in der primär behandelnden Schlaganfalleinheit zum anderen bei den *BAPTISe* Visiten vor (V1) und nach (V2) Intervention bewertet.

Die Folgeuntersuchungen erfolgten drei und sechs Monate nach dem akuten ischämischen Schlaganfall. Das funktionelle Langzeit-Outcome wurde anhand des mRS und des BI bewertet. Ein gutes funktionelles Langzeit-Outcome wurde als ein mRS Score von 0-2 definiert. Bei der Betrachtung des BI wurde eine Verbesserung um zehn Punkte als gutes Outcome gewertet. Als ein unabhängiges funktionelles Langzeit-Outcome galt ein mRS von 0-3 bzw. ein BI ≥ 75 Punkte.

Folgende Blut-basierte Biomarker wurden vor dem Start der vierwöchigen Intervention (V1) erhoben: hoch-sensibles CRP (englisch: high sensitive CRP, hsCRP), IL-6, TNF- α , MMP-9 und VEGF. Die Biomarker hsCRP, IL-6 und TNF- α wurden unmittelbar innerhalb von sechs Stunden nach der Blutentnahme mittels eines immunometrischen Chemilumineszenz-Festphasen-Assays (IMMULITE® 1000, Siemens Healthcare Diagnostics) gemessen. Die Serumproben von VEGF und MMP-9 wurden bei -80° Celsius eingefroren und eine Subprobe mittels enzym-gekoppelten Immuno-Assay (englisch: enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) analysiert. In der vorliegenden Arbeit werden die spezifischen Biomarker als kontinuierliche und dichotomisierte Variablen betrachtet. Die Dichotomisierung erfolgte anhand von Grenzwerten, die durch das bearbeitende Labor festgelegt wurden. Dementsprechend wurde eine Überschreitung des Grenzwertes als erhöht definiert. Der obere Grenzwert für hohes hsCRP lag bei 3,0 Milligramm/Liter (mg/L), der des IL-6 bei 3,6 Pikogramm/Milliliter (pg/mL) und der des TNF- α bei 8,1 pg/mL. Hoch war VEGF bei Werten von ≥ 991 pg/mL, MMP-9 bei Werten von ≥ 1279 Nanogramm/Milliliter (ng/mL).

3.3 MRT-Bildgebung: Akquisition und Verarbeitung

Die MRT-Untersuchungen wurden von Oktober 2013 bis Dezember 2016 an einem 3 Tesla MRT (TIM Trio; Siemens AG, Erlangen, Deutschland) vor (V1) und nach (V2) der Studienintervention durchgeführt. Das detaillierte standardisierte MRT-Protokoll wurde vorab publiziert (174) und ist in **Tabelle 4** aufgelistet.

Tabelle 4: MRT-Sequenzen BAPTISe-Studie

Nummer	Sequenz
(1)	T2 — nur bei V2
1	Localizer
1	FLAIR (Fluid-Attenuated Inversion Recovery)
3	Resting state (Ruhezustand)
4	DTI (Diffusion Tensor Imaging)
5	MPRAGE (Magnetization Prepared Rapid Acquisition with Gradient Echoes)
6	MRA (MR-Angiographie)
7	T1
8	DWI (diffusion-weighted imaging)
Kontrastmittel-Applikation (Gadolinium)	
9	VSI / PWI (Vessel Size Imaging / Perfusion-Weighted Imaging)
10	T1

Die Parameter der im Rahmen dieser Analyse verwendeten Sequenzen sind wie folgt:

- FLAIR: Schichtdicke 5 Millimeter (mm), Repetitionszeit (TR) 8000 Millisekunden (ms), Echozeit (TE) 100 ms, Schichtabstand 0%, Akquisitionszeit 114 Sekunden (s)
- Diffusions-gewichtete Sequenz (englisch: Diffusion-Weighted Imaging, DWI): Schichtdicke 5 mm, TR 8000 ms, TE 93 ms, Schichtabstand 0%, B-Wert 1000 mm²/s, Akquisitionszeit 82 s
- T1-gewichtete Sequenz vor Kontrastmittelgabe: 5 mm, TR 90 ms, TE 2,46 ms, Schichtabstand 0%, flip angle 50°, Akquisitionszeit 30 s
- T1-gewichtete Sequenz nach Kontrastmittelgabe: 5 mm, TR 90 ms, TE 2,46 ms, Schichtabstand 0%, flip angle 50°, Akquisitionszeit 30 s

Die Bildverarbeitung erfolgte nach Transfer und Transformation der Primärdaten. Die Dateien im DICOM-Format (englisch: Digital Imaging and Communications in Medicine) wurden mittels der Konvertierungs-Software „dcm2nii“ (<https://people.cas.sc.edu/rorden/mricron/dcm2nii.html>) in ein Nifti-Format (englisch: Neuroimaging Informatics Technology Initiative) überführt. Zur Datenanalyse wurde die Software MRlcron (<https://www.nitrc.org/projects/mricron>) verwendet.

Qualitative Beurteilung: Prävalenz gesteigerte BBBP

Im ersten Schritt erfolgte die Infarktlokalisierung in der den DWI-Sequenzen zum Zeitpunkt der MRT-Messungen vor und nach Intervention (V1 und V2). Hierfür wurden ergänzend die schriftlichen neuroradiologischen Befunde herangezogen. Im nächsten Schritt wurde jeweils die native T1-gewichtete Sequenz (flip angle 50°) vor Applikation des KM und die T1-gewichtete Sequenz nach KM-Applikation gesichtet. Insgesamt wurden 0.13 mL/kg Körpergewicht Gadolinium verabreicht. Eine KM-Anreicherung (englisch: Contrast-agent Enhancement, CE) in der ischämischen Region sichtbar als hyperintenses Signal, wurde als gesteigerte BBBP bewertet. Die Region der CE wurde als ausgewählter Bildbereich (englisch: Region of Interest, ROI) definiert. Die CE-ROI wurde folglich mit der kontralateralen, gesunden Hemisphäre gespiegelt (englisch: mirrored ROI). Die CE-ROI und die mirrored ROI wurden manuell für Signale von Blutgefäßen und Liquorräumen korrigiert. Die Durchführung und Beurteilung erfolgten durch eine eingewiesene Raterin (Sarah Müller, S.M.).

Semi-quantitative Beurteilung: BBBP Intensität

Die Intensität der gesteigerten BBBP wurde semi-quantitativ mittels normalisierter CE-ROI beurteilt. Hierfür wurde unter Verwendung der Software FSL (englisch: FMRIB Software Library, FSL) (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Fslutils>) die mediane Voxel-Intensität innerhalb der CE-ROI berechnet und diese anschließend mit der mirrored ROI normalisiert. Diese normalisierte CE-ROI wurde zu beiden Zeitpunkten V1 und V2 bestimmt. Ein Beispiel ist in **Abbildung 3** dargestellt.

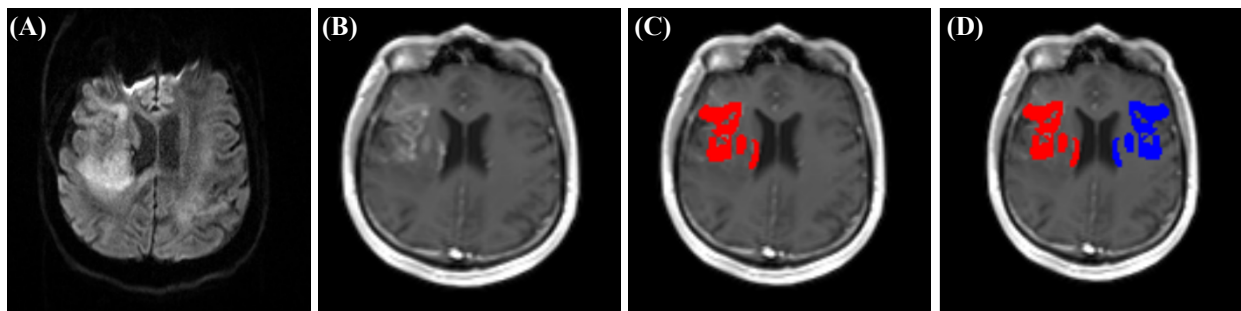


Abbildung 3: Hirninfarkt im Stromgebiet der Arteria cerebri media rechts

(A) DWI-Sequenz: Infarktlokalisierung, (B-D) T1 post-KM Sequenzen: (B) mit KM-Anreicherung (CE) - Hyperintensität (C) CE-ROI (rot), (D) ROI und mirrored ROI (blau)

Subtraktions-Bildgebung: Dynamik der BBBP

Zur Visualisierung und qualitativen Beurteilung der Dynamik der BBBP innerhalb eines Subjektes wurde eine Subtraktions-Bildgebung T1-gewichteter Sequenzen generiert. Vor und nach KM-Applikation (prä- und post-KM) wurden anhand vorab generierter ROI der Flüssigkeitssupprimierten-Inversions-Recovery (Fluid-Attenuated Inversion Recovery, FLAIR)-Sequenzen mit der FSL-Software (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Fslutils>) und der Advanced Normalization Tools (ANTs)-Software (<https://stnava.github.io/ANTs/>) ausgerichtet und koregistriert.

Im ersten Schritt erfolgte die Raum-Zeit-Ausrichtung (englisch: space time realign) und Subtraktion der T1-Sequenzen prä- und post-KM jeweils zu den zwei Zeitpunkten. Die FLAIR-ROI sowie die Infarktvolumenta wurden im Vorfeld im Rahmen eines anderen Projektes unter Verwendung der Toolbox „clusterize“ (<https://www.medizin.uni-tuebingen.de/de/das-klinikum/einrichtungen/kliniken/kinderklinik/kinderheilkunde-iii/forschung-iii/software>) semi-automatisiert nach standardisiertem Vorgehen berechnet (178, 179): Die Software wurde mittels der Statistical Parametric Mapping Software (SPM) Version 12 (<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>) verwendet. Nach dem Einfügen der notwendigen FLAIR-Sequenzen in die Toolbox wurden Cluster von Arealen, die durch die Toolbox als Läsion identifiziert wurden, durch einen Rater/Neurologen (Hamza Mousa, H.M.) als Läsionen identifiziert und ausgewählt. Die Qualitätskontrolle erfolgte durch eine erfahrene Neuroradiologin (Kersten Villringer, K.V.). Die Beurteilung der BBBP-Dynamik erfolgte nach der Subtraktion der prä-post-KM Datei zum Zeitpunkt V1 von der zum Zeitpunkt V2. Ein hypointenses Signal in der finalen Subtraktion wurde als „regrediente BBBP“ gewertet (siehe **Abbildung 4**). Eine Isointensität wurde als persistierende, ein hyperintenses Signal als progrediente BBBP

definiert. Die Phänomene der persistierenden und der progredienten BBBP wurden in der gemeinsamen Kategorie „persistierende BBBP“ zusammengefasst. Ein Fallbeispiel einer progredienten BBBP ist in **Abbildung 5** dargestellt.

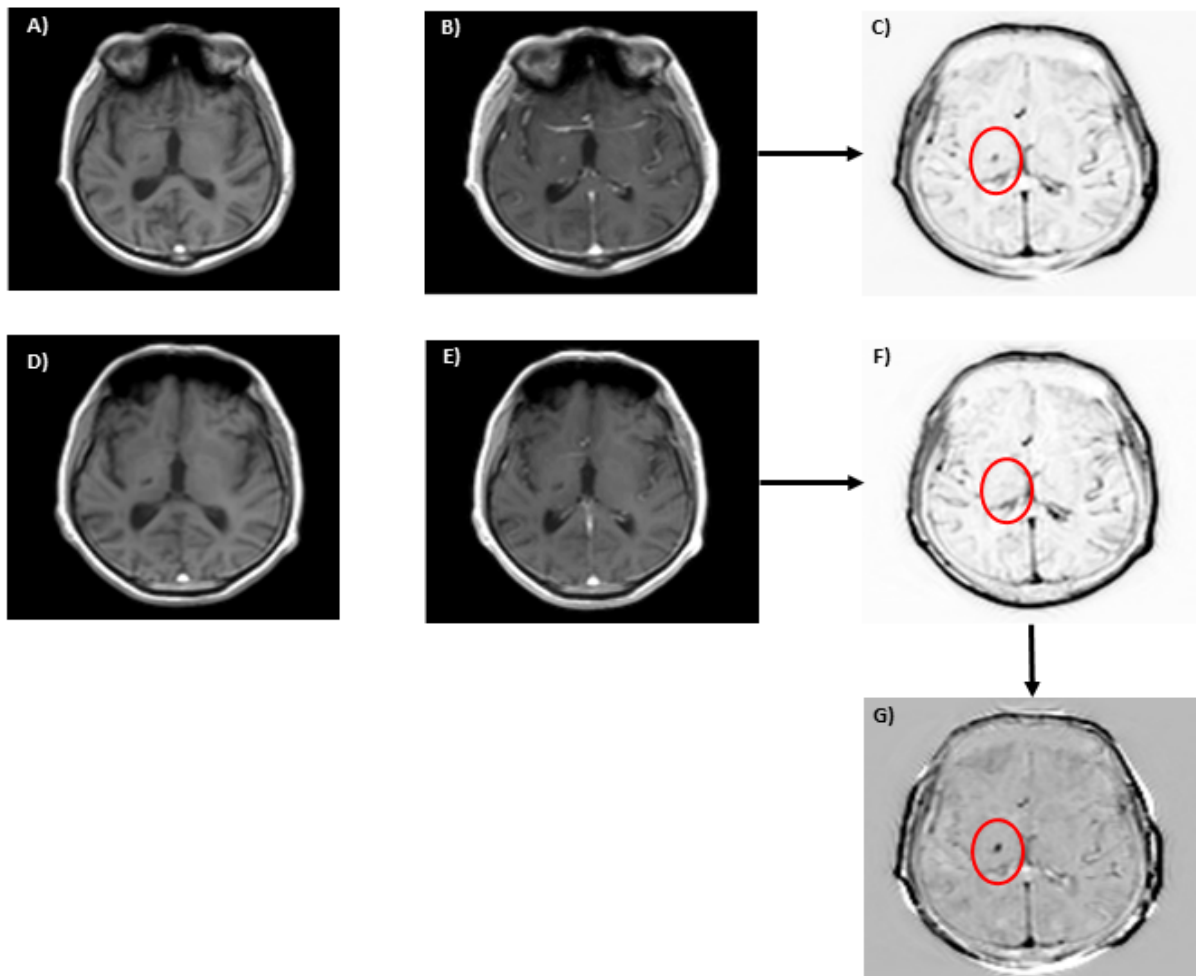


Abbildung 4: T1-gewichtete MRT-Sequenzen – Regrediente BBBP

Hirnfarkt im Stromgebiet der Arteria choroidea anterior rechts

Vor Intervention (V1): **A)** V1 prä-KM, **B)** V1 post-KM, **C)** V1 Subtraktion prä-post-KM: Hypointensität (roter Kreis)

Nach Intervention (V2): **D)** V2 prä-KM, **E)** V2 post-KM, **F)** V2 Subtraktion prä-post-KM: Isointensität (roter Kreis)

G) Finale Subtraktion V1-V2: Hypointensität (roter Kreis)

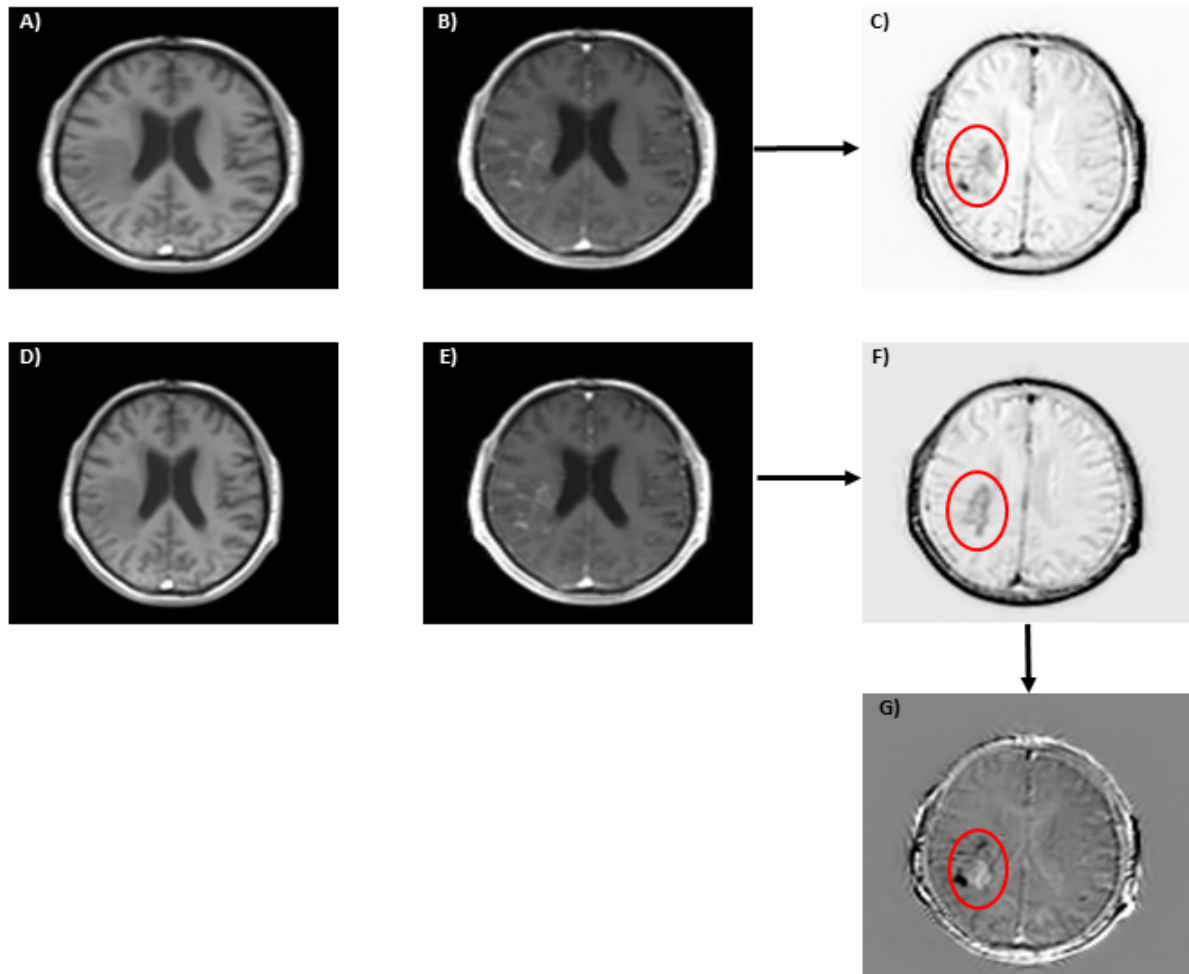


Abbildung 5: T1-gewichtete MRT-Sequenzen – Progrediente BBBP

Hirnfarkt im Stromgebiet der Arteria cerebri media rechts

Vor Intervention (V1): A) V1 prä-KM, B) V1 post-KM, C) V1 Subtraktion prä-post-KM: Hypointensität (roter Kreis)

Nach Intervention (V2): D) V2 prä-KM, E) V2 post-KM, F) V2 Subtraktion prä-post-KM: Hypointensität (roter Kreis)

G) Finale Subtraktion V1-V2: Hyperintensität (roter Kreis)

3.4 Statistische Analyse

Kontinuierliche, nicht normal verteilte Variablen werden in dieser Analyse im Median und mit Interquartilsabständen (englisch: Interquartile Range, IQR) angegeben. Bei normal verteilten Werten werden die Mittelwerte (englisch: mean) und die Standardabweichung (englisch: Standard Deviation, SD) verwendet. Der Student t-Test und der Wilcoxon-Mann-Whitney-U Test wurden zur Bewertung von Unterschieden von Gruppen mit kontinuierlichen Variablen herangezogen. Kategoriale Variablen werden als Häufigkeiten und Prozent präsentiert. Die kategorialen Variablen wurden unter Verwendung des Chi-Quadrat-Tests (Chi² Test) verglichen.

Zur Analyse der Parameter, die potenziell mit einer gesteigerten BBBP Intensität bei V1- und V2-MRT-Bildgebung einhergehen, wurde ein gemischtes lineares Modell mit der normalisierten CE-ROI als abhängige Variable angewendet. Das einzelne Subjekt wurde hier als zufälliger Effekt (englisch: random effect) betrachtet. Als fixe Effekte (englisch: fixed effects) wurden der Zeitpunkt der MRT-Bildgebung (V1 versus [vs.] V2), die Zeit bis zur MRT-Bildgebung nach Schlaganfall in Tagen und die Interventionsgruppe in das Modell einbezogen. In einem zweiten gemischten linearen Modell wurde dieses für die Parameter adjustiert, die in der univariablen Analyse ein Signifikanzniveau von $p < 0,5$ erreicht hatten.

Des Weiteren wurden logistische Regressionsanalysen zur Betrachtung von Assoziationen zwischen einer erhöhten BBBP und den demographischen Daten durchgeführt. In multivariablen Regressionsanalysen mit der gesteigerten BBBP als abhängige Variable erfolgte die Adjustierung für die aus der Literatur bekannten Variablen Alter und Geschlecht sowie für die Variablen, die in der univariablen Analyse ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,1$ erreicht hatten.

In multivariablen Regressionsanalysen wurden sowohl potentielle Assoziationen zwischen der unabhängigen Variable der Prävalenz und der Dynamik der gesteigerten BBBP mit dem funktionellen Outcome als abhängige Variable anhand des mRS und dem BI nach drei und sechs Monaten bewertet. Ein gutes Langzeit-Outcome wurde als ein mRS < 3 bzw. eine Verbesserung des BI um plus 10 Punkte definiert. Ein unabhängiges Langzeit-Outcome wurde als ein mRS < 4 definiert. Korrespondierend zu diesem mRS wurde das unabhängige Langzeit-Outcome als ein Barthel Index von ≥ 75 Punkte definiert (180). Die Modelle wurden für die Variablen Alter, Geschlecht sowie für die

Variablen, die in der univariablen Analyse ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,1$ erreicht hatten, adjustiert.

Aufgrund des explorativen Ansatzes wurde für multiple Testung nicht korrigiert. Das Signifikanzniveau wurde als $p < 0,05$ definiert. Alle p-Werte sind im Rahmen des explorativen Ansatzes zu werten und erlauben keine konfirmatorische Generalisierung der Ergebnisse. Alle statistischen Tests wurden mittels SPSS Version 25 für Windows (SPSS Inc.) sowie Stata/IC 14.1 für Windows (StataCorp LP) durchgeführt. Tabellen wurden mittels Microsoft Word 2016 erstellt.

4. Ergebnisse

4.1 Gesamtkohorte

Von den 110 in die *BAPTISe*-Studie eingeschlossenen Proband*innen erfüllten 93 (85%) das für die Analyse notwendige Kriterium von mindestens einer KM-gestützten MRT-Bildgebung.

Achtundachtzig Patienten (95%) erhielten zum Zeitpunkt der Visite vor Intervention (V1) eine MRT-Bildgebung mit KM-Applikation. Bei fünf Patient*innen (5%) erfolgte zu diesem Zeitpunkt keine MRT-Bildgebung mit KM-Gabe. Zum Zeitpunkt der Visite 2 nach Intervention unterliefen 70 Patient*innen (75%) eine KM-gestützte MRT-Bildgebung. 65 Proband*innen (61%) erhielten ein MRT mit KM-Applikation sowohl bei V1 als auch bei V2.

Achtunddreißig Prozent der Teilnehmenden waren weiblichen Geschlechts, das Alter lag im Mittelwert bei 68,5 Jahren (SD 11,3 Jahre), der mediane akute NIHSS in der primär versorgenden Schlaganfalleinheit lag bei 9 [IQR 6-12] Punkten. Die Zeit bis zum V1-MRT lag im Median bei 30 [IQR 18-37] Tagen, das mediane Läsionsvolumen bei V1 war 4 [IQR 1,2-23,4] mL und der mediane NIHSS bei V1 bei 4 [IQR 3-9] Punkten. Bis zum V2-MRT vergingen im Median 60 [IQR 46-70] Tage, das Läsionsvolumen war bei V2 im Median 3 [IQR 0,9-26,1] mL, der NIHSS lag bei V2 im Median bei 3 [IQR 2-5]. Die demographischen Daten der gesamten *BAPTISe* Kohorte sowie der in dieser Untersuchung betrachteten geeigneten Patient*innen sind in **Tabelle 5** dargestellt.

Tabelle 5: Demographische Daten

	BAPTISe Gesamt	Geeignete Patient*innen
	(n=110)	(n=93)
Alter, mean (SD)	66,9 (11,2)	68,5 (11,3)
Weibliches Geschlecht, % (n)	42 (46)	38 (35)
Rauchen, % (n)	37 (41)	36 (33)
aHT, % (n)	84 (92)	83 (77)
DM, % (n)	26 (29)	29 (27)
VHF, % (n)	19 (21)	18 (17)
HLP, % (n)	49 (54)	52 (48)
i.v. Thrombolyse, % (n)	34 (37)	32 (30)
Aerobes Fitnesstraining, % (n)	56 (61)	57 (53)
TOAST Kriterien		
makroangiopathisch, % (n)	33 (36)	32 (30)
kardioembolisch, % (n)	28 (31)	28 (26)
mikroangiopathisch, % (n)	17 (19)	20 (19)
andere, % (n)	6 (6)	5 (5)
unklar, % (n)	15 (16)	14 (13)
Läsionsvolumen (mL)		
V1, median (IQR)	4 (1,2-26)	4 (1,2-23,4)
V2, median (IQR)	4 (0,9-25)	3 (0,9-26,1)
NIHSS		
SU, median (IQR)	9 (6-13)	9 (6-12)
V1, median (IQR)	5 (3-9)	4 (3-9)
V2, median (IQR)	3 (2-6)	3 (2-5)
Zeit bis MRT (Tage)		
V1, median (IQR)	27 (16-35)	30 (18-37)
V2, median (IQR)	60 (48-70)	60 (46-70)

aHT: arterieller Hypertonus, DM: Diabetes mellitus, VHF: Vorhofflimmern, HLP: Hyperlipoproteinämie, i.v.: intravenös, TOAST: Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment classification, NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale, SU: Stroke Unit.

4.1.1 Prävalenz und Dynamik der gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität

Eine gesteigerte BBBP ließ sich qualitativ bei 70 von 88 Patient*innen (80%) bei V1, im Vergleich zu 52 von 70 Patient*innen (74%) bei V2 detektieren.

Bei Patienten mit einer gesteigerten BBBP bei V1 vor der Intervention lagen im Median 26 [IQR 17-35] Tage zwischen dem Akutereignis und dem V1-MRT, bei denen mit einer gesteigerten BBBP bei V2 nach der Intervention waren es 56 [IQR 46-67] Tage. Die Daten der nach gesteigerter BBBP bei V1 und V2 stratifizierten Patientenkohorte sind in **Tabelle 6** aufgelistet.

Die Mehrheit der Proband*innen (n=78, 84%) wies eine gesteigerte BBBP entweder zum Zeitpunkt V1 oder V2 („zu einem beliebigen Zeitpunkt“) auf. Keine visuell sichtbare BBBP-Steigerung weder zu V1 noch zu V2 („keine gesteigerte BBBP“) hatten hingegen nur 15 Patient*innen (16%). Die Charakteristika der Patient*innen stratifiziert nach der Prävalenz der gesteigerten BBBP zu einem der Zeitpunkte und zu keinem Zeitpunkt werden in **Tabelle 7** gezeigt.

In der finalen Subtraktions-Bildgebung konnte bei der Mehrheit der Fälle, konkret bei 45 von 58 Proband*innen (78%) eine regrediente BBBP festgestellt werden. Bei dreizehn Proband*innen war die BBBP persistierend, sprich unverändert oder progredient über die Zeit (siehe **Tabelle 8**).

Tabelle 6: Patient*innen mit und ohne gesteigerter BBBP vor (V1) und nach (V2) Intervention

	Gesteigerte BBBP V1		p-Wert	Gesteigerte BBBP V2		p-Wert
	Ja (n=70)	Nein (n=18)		Ja (n=52)	Nein (n=18)	
Alter, mean (SD)	68,1 (11,4)	69 (11,0)	0,9 ^a	67,4 (11,1)	70,4 (11,8)	0,6 ^a
Weibliches Geschlecht, % (n)	40 (28)	33 (6)	0,6 ^b	39 (20)	22 (4)	0,2 ^b
Rauchen, % (n)	36 (25)	44 (8)	0,2 ^b	35 (18)	22 (4)	0,2 ^b
aHT, % (n)	87 (61)	72 (13)	0,1 ^b	83 (43)	83 (15)	1,0 ^b
DM, % (n)	27 (19)	28 (5)	0,3 ^b	23 (12)	44 (8)	0,2 ^b
VHF, % (n)	16 (11)	22 (4)	0,4 ^b	14 (7)	22 (4)	0,4 ^b
HLP, % (n)	47 (33)	72 (13)	0,1 ^b	42 (22)	72 (13)	0,1 ^b
i.v. Thrombolysse, % (n)	36 (25)	17 (3)	0,6 ^b	35 (18)	17 (3)	0,2 ^b
Aerobes Fitnessstraining, % (n)	54 (38)	67 (12)	0,6 ^b	58 (30)	56 (10)	1,0 ^b
TOAST Kriterien			0,7 ^b			0,4 ^b
makroangiopathisch, % (n)	33 (23)	28 (5)		31 (16)	33 (6)	
kardioembolisch, % (n)	27 (19)	28 (5)		27 (14)	28 (5)	
mikroangiopathisch, % (n)	20 (14)	28 (5)		25 (13)	17 (3)	
andere, % (n)	6 (4)	0 (0)		10 (5)	0 (0)	
unklar, % (n)	14 (10)	17 (3)		8 (4)	22 (4)	
Läsionsvolumen (mL)						
V1, median (IQR)	4 (1,7-26,1)	1 (0,4-7,1)	0,01 ^c	5 (1,4-26,1)	2 (0,4-7,2)	0,03 ^c
V2, median (IQR)	4 (0,9-27,8)	2 (0,3-10,0)	0,1 ^c	5 (1,2-32,8)	1 (0,3-7,4)	0,02 ^c
NIHSS						
SU, median (IQR)	9 (6-13)	9,5 (5-11)	0,5 ^c	10 (6-12)	9 (5-11,25)	0,6 ^c
V1, median (IQR)	5 (3-9)	3 (1,75-	0,03 ^c	5 (3-9)	3 (2-4,25)	0,02 ^c
V2, median (IQR)	3,5 (2-5)	2 (1-4,75)	0,07 ^c	4 (2-6)	2 (1-4)	0,03 ^c
Zeit bis MRT (Tage)						
V1, median (IQR)	26 (17-34)	35 (20-43)	0,1 ^c	27 (19-35)	30 (13-44)	0,9 ^c
V2, median (IQR)	57 (46-67)	65 (48-74)	0,3 ^c	56 (46-67)	63 (40-72)	0,8 ^c

aHT: arterieller Hypertonus, DM: Diabetes mellitus, VHF: Vorhofflimmern, HLP: Hyperlipoproteinämie, i.v.: intravenös, TOAST: Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment classification, NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale, SU: Stroke Unit.

^a: t-test; ^b: Chi² Test; ^c: Mann-Whitney-U Test.

Tabelle 7: Patient*innen mit einer gesteigerten BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt und zu keinem Zeitpunkt

	Gesteigerte BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt	Keine gesteigerte BBBP	<i>p</i> -Wert
	84% (n=78)	16% (n=15)	
Alter, mean (SD)	68,1 (11,5)	70,4 (10,1)	0,9 ^a
Weibliches Geschlecht, % (n)	40 (31)	27 (4)	0,3 ^b
Rauchen, % (n)	36 (28)	33 (5)	0,9 ^b
aHT, % (n)	83 (65)	80 (12)	0,4 ^b
DM, % (n)	27 (21)	40 (6)	0,3 ^b
VHF, % (n)	17 (13)	27 (4)	0,4 ^b
HLP, % (n)	46 (36)	80 (12)	0,02 ^b
i.v. Thrombolyse, % (n)	36 (28)	13 (2)	0,2 ^b
Aerobes Fitnesstraining, % (n)	56 (44)	60 (9)	0,8 ^b
TOAST Kriterien			0,8 ^b
makroangiopathisch, % (n)	33 (26)	27 (4)	
kardioembolisch, % (n)	27 (21)	33 (5)	
mikroangiopathisch, % (n)	21 (16)	20 (3)	
andere, % (n)	6 (5)	0 (0)	
unklar, % (n)	13 (10)	20 (3)	
Läsionsvolumen (mL)			
V1, median (IQR)	5 (1,7-26,1)	1 (0,3-6,7)	0,01 ^c
V2, median (IQR)	4 (1,0-28,6)	1 (0,2-8,0)	0,07 ^c
NIHSS			
SU, median (IQR)	10 (6-13)	8 (5-11)	0,2 ^c
V1, median (IQR)	5 (3-9)	3 (2-5)	0,04 ^c
V2, median (IQR)	4 (2-5,75)	2 (1-4,5)	0,09 ^c
Zeit bis MRT (Tage)			
V1, median (IQR)	29 (18-36)	39 (29-44)	0,02 ^c
V2, median (IQR)	58 (46-70)	70 (56-75)	0,03 ^c

aHT: arterieller Hypertonus, DM: Diabetes mellitus, VHF: Vorhofflimmern, HLP: Hyperlipoproteinämie, i.v.: intravenös, TOAST: Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment classification, NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale, SU: Stroke Unit.

^a: t-test; ^b: Chi² Test; ^c: Mann-Whitney-U Test.

Tabelle 8: Patient*innen - BBBP Dynamik (persistierend vs. regredient)

	Persistierende BBBP	Regrediente BBBP	<i>p</i> -Wert
	22% (n=13)	78% (n=45)	
Alter, mean (SD)	69,5 (10,5)	66,4 (11,6)	0,8 ^a
Weibliches Geschlecht, %	31 (4)	36 (16)	0,8 ^b
Rauchen, % (n)	46 (6)	36 (16)	0,5 ^b
aHT, % (n)	77 (10)	84 (38)	0,5 ^b
DM, % (n)	15 (2)	28 (13)	0,3 ^b
VHF, % (n)	39 (5)	9 (4)	<0,001 ^b
HLP, % (n)	62 (8)	47 (21)	0,4 ^b
i.v. Thrombolyse, % (n)	31 (4)	27 (12)	0,8 ^b
Aerobes Fitnesstraining, %	54 (7)	58 (26)	0,8 ^b
TOAST Kriterien			0,5 ^b
makroangiopathisch, % (n)	23 (3)	36 (16)	
kardioembolisch, % (n)	39 (5)	20 (9)	
mikroangiopathisch, % (n)	23 (3)	24 (11)	
andere, % (n)	0 (0)	9 (4)	
unklar, % (n)	15 (2)	11 (5)	
Läsionsvolumen (mL)			
V1, median (IQR)	4 (0,8-7,1)	5 (1,1-25,7)	0,4 ^c
V2, median (IQR)	4 (0,8-17,9)	3 (0,7-26,1)	0,8 ^c
NIHSS			
SU, median (IQR)	10 (5,5-11)	9 (5-12)	0,7 ^c
V1, median (IQR)	3 (2-7,5)	4 (3-7,75)	0,3 ^c
V2, median (IQR)	3 (0,5-5,5)	3 (2-5)	0,5 ^c
Zeit bis MRT (Tage)			
V1, median (IQR)	25 (13-45)	24 (16-35)	0,8 ^c
V2, median (IQR)	54 (42-72)	53 (41-66)	0,3 ^c

aHT: arterieller Hypertonus, DM: Diabetes mellitus, VHF: Vorhofflimmern, HLP: Hyperlipoproteinämie, i.v.: intravenös, TOAST: Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment classification, NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale, SU: Stroke Unit.

^a: t-test; ^b: Chi² Test; ^c: Mann-Whitney-U Test.

4.2 Charakteristika der Patient*innen bei gesteigerter Blut-Hirnschranken-Permeabilität

In univariablen Analysen war das Auftreten einer gesteigerten BBBP bei V1 mit größeren medianen Infarktvolumina (4 [IQR 1,7-26,1] mL vs. 1 [IQR 0,4-7,1] mL, $p=0,01$) und mit höheren medianen NIHSS-Werten bei V1 (5 [IQR 3-9] vs. 3 [IQR 1,75-5,25], $p=0,03$) assoziiert. Zum Zeitpunkt V2 konnte der gleiche Zusammenhang zwischen größeren Infarktvolumina (5 [IQR 1,2-32,8] mL vs. 1 [IQR 0,3-7,4] mL, $p=0,02$) bzw. höheren NIHSS bei V2 (4 [IQR 2-6] vs. 2 [IQR 1-4]; $p=0,03$) und dem Auftreten einer BBBP-Steigerung beobachtet werden. Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer gesteigerten BBBP und der Akuttherapie der intravenösen Thrombolyse konnte nicht detektiert werden (V1 36% ($n=25$) vs. 17% ($n=3$), $p=0,6$); V2 (35% ($n=18$) vs. 17% ($n=3$), $p=0,2$; siehe **Tabelle 6**).

Mittels multivariabler Regressionsanalyse erfolgte die Adjustierung für Alter, Geschlecht, und die Variablen, die in der univariablen Analyse ein Signifikanzniveau von $p<0,1$ erreicht hatten (V1: arterielle Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, Läsionsvolumen bei V1, NIHSS bei V1 und Zeit bis zum V1 MRT; V2: Hyperlipoproteinämie, Läsionsvolumen bei V2, NIHSS bei V2). Vor der Intervention (V1) konnte kein Zusammenhang zwischen den unabhängigen Variablen und dem Auftreten einer gesteigerten BBBP detektiert werden (siehe **Tabelle 9**). Die Komorbidität einer vorbeschriebenen Hyperlipoproteinämie war in der multivariablen Analyse signifikant mit einem reduzierten Risiko einer gesteigerten BBBP nach Intervention (V2) assoziiert (OR 0,3 95% CI 0,1-1,0, $p<0,05$; siehe **Tabelle 9**). Da die Mehrheit der Proband*innen (83%, $n=77$) eine Statin-Therapie zum Zeitpunkt der Messungen erhielt, erfolgte die ergänzende Adjustierung für diese Vormedikation im multivariablen Modell. Hier fand sich keine signifikante Assoziation einer vorbestehenden Hyperlipoproteinämie mit dem Auftreten einer gesteigerten BBBP bei V2 (OR 0,3 95% CI 0,1-1,2, $p=0,1$).

In der **Tabelle 8** werden die Charakteristika der Patient*innen mit einer persistierenden bzw. regredienten BBBP zusammengefasst: In der explorativen univariablen Analyse konnte ein Zusammenhang zwischen der Vorerkrankung eines Vorhofflimmerns und einer persistierenden BBBP detektiert werden (39% ($n=5$) vs. 9% ($n=4$); $p<0,001$).

Die vierwöchige Intervention des aeroben Fitnesstrainings hatte in dieser Analyse weder Auswirkungen auf das Auftreten einer gesteigerten BBBP bei V2 nach der Intervention (58% ($n=30$) vs. 56% ($n=10$), $p=1,0$; siehe **Tabelle 6**), noch auf die Dynamik der BBBP (54% ($n=7$) vs. 58% ($n=26$), $p=0,8$; siehe **Tabelle 8**).

Tabelle 9: Gesteigerte BBBP vor (V1) und nach (V2) der Intervention

	Odds ratio (95% CI)	p-Wert
Gesteigerte BBBP V1		
Weibliches Geschlecht	1,3 (0,4-5,1)	0,7
Alter	1,0 (0,9-1,1)	0,7
aHT	6,1 (0,7-56,5)	0,1
HLP	0,4 (0,1-1,5)	0,2
Läsionsvolumen V1	1,0 (1,0-1,1)	0,3
NIHSS V1	1,1 (0,9-1,3)	0,6
Zeit bis zum V1 MRT in Tagen	1,0 (0,9-1,0)	0,2
Gesteigerte BBBP V2		
Weibliches Geschlecht	2,6 (0,7-10)	0,2
Alter	1,0 (0,9-1,0)	0,5
HLP	0,3 (0,1-1,0)	<0,05
Läsionsvolumen V2	1,0 (1,0-1,1)	0,4
NIHSS V2	1,2 (0,9-1,6)	0,3

Adjustiert für Alter, Geschlecht und Variablen, die in der univariablen Analyse ein Signifikanzniveau von $\leq 0,1$ erreicht haben. aHT: arterieller Hypertonie, CI: confidence interval (Konfidenzintervall), HLP: Hyperlipoproteinämie, NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale.

4.2.1 Intensität der gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität

In der Betrachtung aller MRT-Messungen konnte im gemischten linearen Modell abgebildet in **Tabelle 10** nur die Zeit vom Akutereignis des ischämischen Schlaganfalls bis zur V1-MRT-Bildgebung als Haupteffekt auf die Intensität der gesteigerten BBBP identifiziert werden. Diese Zeit bis zum V1-MRT war invers mit der BBBP Intensität assoziiert (Koeffizient -0.002; Standard Error 0,001, $p < 0,01$). Zwischen der BBBP-Intensität und dem Alter, dem Geschlecht oder der Vorerkrankung des arteriellen Hypertonus konnten kein Zusammenhang identifiziert werden.

Tabelle 10: Gemischtes lineares Model der BBBP Intensität (normalisierte CE-ROI) vor (V1) und nach (V2) der Intervention

Abhängige Variable: BBBP Intensität			
Fixed Effects			
	Koeffizient	Standard Error	p-Wert
Zeit bis V1 MRT (Tage)	-0,002	0,001	0,001
Zeitpunkt MRT (V1 vs. V2)	-0,009	0,026	0,724
Intervention (Training)	0,006	0,18	0,735
Random Effects			
	Estimate	Standard Error	95% CI
Patienten ID	0,044	0,018	0,020 – 0,096
Abhängige Variable: BBBP Intensität (adjustiert für Alter, Geschlecht und aHT)			
Fixed Effects			
	Koeffizient	Standard Error	p-Wert
Zeit bis V1 MRT (Tage)	-0,002	0,001	0,001
Zeitpunkt MRT (V1 vs. V2)	-0,011	0,026	0,672
Intervention (Training)	0,005	0,018	0,776
aHT	-0,028	0,026	0,297
Alter	<0,001	0,001	0,945
Geschlecht	-0,006	0,018	0,761
Random Effects			
	Estimate	Standard Error	95% CI
Patienten ID	0,039	0,021	0,014 – 0,111

aHT: arterieller Hypertonus, CI: confidence interval (Konfidenzintervall), ID: identify (Identifikation).

4.3 Blut-Biomarker und gesteigerte Blut-Hirnschranken-Permeabilität

Vor der Intervention zum Zeitpunkt V1 war das hsCRP bei 96% (n=89) der Proband*innen bestimmt worden, die Biomarker TNF- α und IL-6 waren bei 95% (n=88) der Proband*innen verfügbar. Nur bei einem geringen Anteil standen die Blut-Biomarker MMP-9 und VEGF zur Verfügung (39%, n=36). Die vor der Intervention erhobenen Biomarker der im Rahmen dieser Analyse betrachteten Patient*innen sind in **Tabelle 11** aufgelistet.

Eine Assoziation zwischen einer gesteigerten BBBP zu V1 oder V2 und den Serum-Biomarkern vor Intervention konnte nicht beobachtet werden. Dies gilt sowohl für die Biomarker (hsCRP, TNF- α , IL-6, MMP-9 und VEGF) als kontinuierliche Variablen als auch nach Dichotomisierung (siehe **Tabelle 12**). Auch zwischen einer gesteigerten BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt (siehe **Tabelle 13**) oder einer persistierenden BBBP über die Zeit (siehe **Tabelle 14**) konnte kein Zusammenhang mit den Biomarkern vor Intervention beobachtet werden.

Tabelle 11: Gesamtkohorte - Blut-Biomarker vor der Intervention (V1)

	Total % (n)	Geeignete Patient*innen (n=93)
hsCRP mg/L, median (IQR)	96 (89)	2,1 (1,1-8,0)
TNF- α pg/mL, median (IQR)	95 (88)	8,2 (6,6-9,7)
IL-6 pg/mL, median (IQR)	98 (91)	3,6 (2,4-6,1)
VEGF pg/mL, median (IQR)	39 (36)	718 (433-1070)
MMP-9 ng/mL, median (IQR)	39 (36)	1050 (846-1318)
Hohes hsCRP, % (n)	96 (89)	59 (55)
Hoher TNF- α , % (n)	95 (88)	48 (45)
Hohes IL-6, % (n)	98 (91)	43 (40)
Hoher VEGF, % (n)	39 (36)	13 (12)
Hohe MMP-9, % (n)	39 (36)	13 (12)

Hohes high sensitive C-reaktives Protein (hsCRP) definiert als $\geq 3,0$ mg/L, hoher Tumornekrosefaktor Alpha (TNF- α) definiert als $\geq 8,1$ pg/mL, hohes Interleukin 6 (IL-6) definiert als $\geq 3,6$ pg/mL, hoher Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) definiert als ≥ 991 pg/mL und hohe Matrixmetalloprotease 9 (MMP-9) definiert als ≥ 1279 ng/mL.

Tabelle 12: Blut-Biomarker vor der Intervention (V1) mit und ohne gesteigerte BBBP vor (V1) und nach (V2) der Intervention

	Total	Gesteigerte BBBP V1		p-Wert	Gesteigerte BBBP V2		p-Wert
		Ja (n=70)	Nein (n=18)		Ja (n=52)	Nein (n=18)	
hsCRP mg/L, median (IQR)	2,1 (1,1-8,0)	2,6 (1,1-7,8)	1,6 (0,5-8,5)	0,4 ^a	3,0 (1,1-6,8)	1,2 (0,5-6,8)	0,3 ^a
TNF-α pg/mL, median (IQR)	8,2 (6,6-9,7)	8,1 (6,6-10,8)	7,6 (6,1-8,6)	0,2 ^a	7,7 (6,1-9,6)	7,6 (5,1-8,5)	0,5 ^a
IL-6 pg/mL, median (IQR)	3,6 (2,4-6,1)	3,5 (2,4-5,9)	3,7 (1,9-8,6)	0,8 ^a	3,6 (2,4-5,3)	3,4 (2,1-7,6)	1,0 ^a
VEGF pg/mL, median (IQR)	718 (433-1070)	718 (436-1025)	855 (549-1397)	0,3 ^a	762 (433-1070)	663 (341-1203)	0,7 ^a
MMP-9 ng/mL, median (IQR)	1050 (846-1318)	955 (836-1316)	1294 (870-1477)	0,3 ^a	1092 (864-1344)	942 (682-1294)	0,6 ^a
Hohes hsCRP, % (n)	59 (55)	60 (42)	56 (10)	0,9 ^b	64 (33)	56 (10)	0,7 ^b
Hoher TNF-α, % (n)	48 (45)	49 (34)	33 (6)	0,05 ^b	46 (24)	39 (7)	0,3 ^b
Hohes IL-6, % (n)	43 (40)	41 (29)	44 (8)	0,8 ^b	44 (23)	50 (9)	0,7 ^b
Hoher VEGF, % (n)	13 (12)	11 (8)	17 (3)	0,8 ^b	15 (8)	11 (2)	0,6 ^b
Hohe MMP-9, % (n)	13 (12)	11 (8)	22 (4)	0,2 ^b	14 (7)	11 (2)	1,0 ^b

Hohes high sensitive C-reaktives Protein (hsCRP) definiert als $\geq 3,0$ mg/L, hoher Tumornekrosefaktor Alpha (TNF-α) definiert als $\geq 8,1$ pg/mL, hohes Interleukin 6 (IL-6) definiert als $\geq 3,6$ pg/mL, hoher Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) definiert als ≥ 991 pg/mL und hohe Matrixmetalloprotease 9 (MMP-9) definiert als ≥ 1279 ng/mL.

^a: Mann-Whitney-U Test. ^b: Chi² Test.

Tabelle 13: Blut-Biomarker vor der Intervention (V1) mit und ohne gesteigerte BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt

	Gesteigerte BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt	Keine gesteigerte BBBP	p-Wert
	84% (n=78)	16% (n=15)	
hsCRP mg/L, median (IQR)	5,0 (1,7-10,5)	3,9 (0,8-14,7)	0,4 ^a
TNF- α pg/mL, median (IQR)	8,2 (6,7-10,4)	7,7 (6,2-9,1)	0,3 ^a
IL-6 pg/mL, median (IQR)	3,6 (2,4-5,2)	3,8 (2,2-12,9)	0,7 ^a
VEGF pg/mL, median (IQR)	734 (439-1070)	663 (341-1343)	1,0 ^a
MMP-9 ng/mL, median (IQR)	1045 (849-1317)	1077 (682-1330)	1,0 ^a
Hohes hsCRP, % (n)	60 (47)	53 (8)	0,5 ^b
Hoher TNF- α , % (n)	50 (39)	40 (6)	0,7 ^b
Hohes IL-6, % (n)	41 (32)	53 (8)	0,4 ^b
Hoher VEGF, % (n)	13 (10)	13 (2)	0,8 ^b
Hohe MMP-9, % (n)	11 (9)	20 (3)	0,6 ^b

Hohes high sensitive C-reaktives Protein (hsCRP) definiert als $\geq 3,0$ mg/L, hoher Tumornekrosefaktor Alpha (TNF- α) definiert als $\geq 8,1$ pg/mL, hohes Interleukin 6 (IL-6) definiert als $\geq 3,6$ pg/mL, hoher Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) definiert als ≥ 991 pg/mL und hohe Matrixmetalloprotease 9 (MMP-9) definiert als ≥ 1279 ng/mL.

^a: Mann-Whitney-U Test. ^b: Chi² Test.

Tabelle 14: Blut-Biomarker vor der Intervention (V1) und BBBP Dynamik (persistierend vs. regredient)

	Persistierende BBBP	Regrediente BBBP	p-Wert
	22% (n=13)	78% (n=45)	
hsCRP mg/L, median (IQR)	7,2 (0,9-14,2)	4,9 (1,7-13,1)	0,9 ^a
TNF- α pg/mL, median (IQR)	8,1 (6,4-9,9)	7,3 (6,0-9,1)	0,4 ^a
IL-6 pg/mL, median (IQR)	3,6 (2,1-7,2)	3,5 (2,3-5,9)	0,8 ^a
VEGF pg/mL, median (IQR)	1010 (499-1293)	718 (467-957)	0,4 ^a
MMP-9 ng/mL, median (IQR)	1077 (887-1434)	1070 (634-1344)	0,8 ^a
Hohes hsCRP, % (n)	62 (8)	60 (27)	0,6 ^b
Hoher TNF- α , % (n)	54 (7)	32 (15)	0,2 ^b
Hohes IL-6, % (n)	39 (5)	44 (20)	0,5 ^b
Hoher VEGF, % (n)	11 (8)	17 (3)	0,8 ^b
Hohe MMP-9, % (n)	11 (8)	22 (4)	0,2 ^b

Hohes high sensitive C-reaktives Protein (hsCRP) definiert als $\geq 3,0$ mg/L, hoher Tumornekrosefaktor Alpha (TNF- α) definiert als $\geq 8,1$ pg/mL, hohes Interleukin 6 (IL-6) definiert als $\geq 3,6$ pg/mL, hoher Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) definiert als ≥ 991 pg/mL und hohe Matrixmetalloprotease 9 (MMP-9) definiert als ≥ 1279 ng/mL.

^a: Mann-Whitney-U Test. ^b: Chi² Test.

4.4 Funktionelles Langzeit-Outcome

Modified Rankin Scale

Der mRS und der BI wurden drei Monate nach dem Akutereignis bei 88% (n=82), nach sechs Monate bei 82% (n=76) der Fälle erhoben.

Nach drei Monaten wiesen 22% (n=18) einen mRS zwischen null und zwei Punkten auf. Nach sechs Monaten hatten 41% Prozent der Patienten (n=31) ein gutes Langzeit-Outcome. Ein unabhängiges Outcome, definiert als mRS <4 Punkte, wiesen nach drei Monaten 51% (n=42) und nach sechs Monaten 68% (n=52) auf.

Hinsichtlich eines guten funktionellen Langzeit-Outcomes nach drei Monaten gemessen am mRS konnte weder zwischen dem Auftreten einer gesteigerten BBBP bei V1 (adjusted OR 1,0, 95% CI 0,5-1,9, p=1,0) noch bei V2 (adjusted OR 1,1, 95% CI 0,8-1,4, p=0,6) ein Zusammenhang beobachtet werden (siehe **Tabelle 15**). Auch zur gesteigerten BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt (adjusted OR 1,0, 95% CI 0,1-6,7, p=1,0) oder zur persistierenden BBBP (adjusted OR 1,2, 95% CI 1,0-1,5, p=0,09) bestand kein signifikanter Zusammenhang nach drei Monaten. Hinsichtlich eines unabhängigen funktionellen Langzeit Outcome nach drei Monaten definiert als mRS <4 ergaben sich ähnliche Ergebnisse: Es konnten keine signifikanten Assoziationen zwischen einer gesteigerten BBBP bei V1 (adjusted OR 1,0, 95% CI 0,7-1,5, p=0,9), bei V2 (adjusted OR 1,0, 95% CI 0,9-1,3, p=0,8) oder zu einem beliebigen Zeitpunkt (adjusted OR 0,4, 95% CI 0,1-2,5, p=0,3) und dem unabhängigen Outcome beobachtet werden. Das adjustierte Quotenverhältnis einer persistierenden BBBP und dem unabhängigen mRS nach drei Monaten lag bei 1,1 (95% CI 1,0-1,3, p=0,07).

In den Analysen eines guten Langzeit-Outcome (mRS <3 Punkte) nach sechs Monaten und der gesteigerten BBBP bei V1 (adjusted OR 0,9, 95% CI 0,6-1,4, p=0,6), bei V2 (adjusted OR 0,9, 95% CI 0,7-1,2, p=0,7), zu einem beliebigen Zeitpunkt (adjusted OR 0,2, 95%CI 0,02-1,3, p=0,09) oder der persistierenden BBBP (adjusted OR 1,1, 95% CI 1,0-1,3, p=0,2) konnten keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden (siehe **Tabelle 16**).

Ein signifikanter Zusammenhang konnte zwischen der persistierenden BBBP und einem unabhängigen Langzeit-Outcome (mRS<4) nach sechs Monaten beobachtet werden (adjusted OR 1.2, 95% CI 1,0-1,4, p=0,02; siehe **Tabelle 16**).

Tabelle 15: modified Ranking Scale nach 3 Monaten

	mRS 3 Monate	
	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
Gutes Outcome (mRS<3)		
Gesteigerte BBBP V1	1,6 (0,7-3,6)	1,0 (0,5-1,9) ^a
Gesteigerte BBBP V2	1,1 (0,9-1,4)	1,1 (0,8-1,4) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	2,1 (0,6-7,1)	1,0 (0,1-6,7) ^c
Persistierende BBBP	1,2 (1,0-1,5)	1,2 (1,0-1,5) ^d
Unabhängiges Outcome (mRS<4)		
Gesteigerte BBBP V1	1,2 (0,9-1,5)	1,0 (0,7-1,5) ^a
Gesteigerte BBBP V2	1,1 (1,0-1,3)	1,0 (0,9-1,3) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	0,8 (0,3-2,5)	0,4 (0,1-2,5) ^c
Persistierende BBBP	1,2 (1,0-1,4)	1,1 (1,0-1,3) ^d

^aadjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^badjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1). ^cadjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^dadjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Vorhofflimmern). Crude and Adjusted OR: odds ratio (rohes und adjustiertes Quotenverhältnis), CI: confidence interval (Konfidenzintervall).

Tabelle 16: modified Ranking Scale nach 6 Monaten

	mRS 6 Monate	
	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
Gutes Outcome (mRS<3)		
Gesteigerte BBBP V1	1,1 (0,8-1,4)	0,9 (0,6-1,4) ^a
Gesteigerte BBBP V2	1,0 (0,9-1,2)	0,9 (0,7-1,2) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	0,7 (0,2-2,2)	0,2 (0,02-1,3) ^c
Persistierende BBBP	1,1 (1,0-1,3)	1,1 (1,0-1,3) ^d
Unabhängiges Outcome (mRS<4)		
Gesteigerte BBBP V1	1,3 (1,0-1,7)	1,5 (0,8-2,7) ^a
Gesteigerte BBBP V2	1,3 (1,0-1,3)	1,0 (0,7-1,3) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	1,3 (0,4-4,7)	1,9 (0,1-29,5) ^c
Persistierende BBBP	1,2 (1,1-1,4)	1,2 (1,0-1,4) ^d

^aadjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^badjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1). ^cadjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^dadjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Vorhofflimmern). Crude and Adjusted OR: odds ratio (rohes und adjustiertes Quotenverhältnis), CI: confidence interval (Konfidenzintervall).

Barthel Index

Ein gutes funktionelles Langzeit-Outcome definiert als eine Verbesserung des BI um zehn Punkte im Vergleich zum Ausgangswert wurde bei 92% (n=75) nach drei Monaten und ebenfalls bei 92% (n=70) nach sechs Monaten beobachtet. Ein BI ≥ 75 Punkte, definiert als unabhängiges Outcome, wurde bei 83% (n=68) nach drei und bei 91% (n=69) nach sechs Monaten beobachtet.

Bezüglich eines guten funktionellen Langzeit-Outcomes konnte kein Einfluss einer gesteigerten BBBP bei V1 (adjusted OR 1,3, 95% CI 0,5-3,1, p=0,6) oder bei V2 (adjusted OR 0,9, 95% CI 0,7-1,1, p=0,3) auf den BI nach 3 Monaten festgestellt werden. Auch zur gesteigerten BBBP zu einem beliebigen Zeitpunkt (adjusted OR 0,8, 95% CI 0,1-10,8, p=0,8) oder zur persistierenden BBBP (adjusted OR 0,9, 95% CI 0,8-1,2, p=0,6) bestand kein signifikanter Zusammenhang nach 3 Monaten. Gleiches gilt für das unabhängige Outcome definiert als ein BI ≥ 75 Punkte (siehe **Tabelle 17**).

Nach sechs Monaten konnten weder eine gesteigerte BBBP bei V1 (adjusted 2,4, 95% CI 0,4-14,1, p=0,3), noch bei V2 (adjusted OR 0,8, 95% CI 0,6-1,1, p=0,1), zu einem beliebigen Zeitpunkt (adjusted OR 1,2, 95% CI 0,1-29,5, p=0,9) oder eine persistierenden BBBP (adjusted OR 0,8, 95% CI 0,6-1,1, p=0,2) als Prädiktoren eines guten Langzeit-Outcome belegt werden. Auch bezüglich eines unabhängigen Outcomes konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Prävalenz oder der Persistenz der BBBP nach sechs Monaten detektiert werden (siehe **Tabelle 18**).

Tabelle 17: Barthel Index nach 3 Monaten

	BI 3 Monate	
	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
Gutes Outcome (+10 BI)		
Gesteigerte BBBP V1	1,2 (0,6-2,4)	1,3 (0,5-3,1) ^a
Gesteigerte BBBP V2	0,8 (0,7-1,0)	0,9 (0,7-1,1) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	0,8 (0,1-6,5)	0,8 (0,1-10,8) ^c
Persistierende BBBP	0,9 (0,7-1,1)	0,9 (0,8-1,2) ^d
Unabhängiges Outcome (≥ 75 BI)		
Gesteigerte BBBP V1	1,1 (0,8-1,4)	1,1 (0,7-1,8) ^a
Gesteigerte BBBP V2	0,9 (0,8-1,1)	1,1 (0,9-1,4) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	1,0 (0,3-3,4)	2,5 (0,3-20,7) ^c
Persistierende BBBP	0,9 (0,8-1,1)	0,9 (0,8-1,1) ^d

^a adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^b adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1). ^c adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^d adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Vorhofflimmern). OR: odds ratio (Quotenverhältnis), CI: confidence interval (Konfidenzintervall).

Tabelle 18: Barthel Index nach 6 Monaten

	BI 6 Monate	
	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
Gutes Outcome (+10 BI)		
Gesteigerte BBBP V1	1,6 (0,4-7,5)	2,4 (0,4-14,1) ^a
Gesteigerte BBBP V2	0,7 (0,6-0,9)	0,8 (0,6-1,1) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	2,2 (0,4-13,3)	1,2 (0,1-29,5) ^c
Persistierende BBBP	0,8 (0,6-1,0)	0,8 (0,6-1,1) ^d
Unabhängiges Outcome (≥ 75 BI)		
Gesteigerte BBBP V1	1,4 (0,7-2,8)	3,4 (0,4-32,7) ^a
Gesteigerte BBBP V2	0,9 (0,8-1,0)	1,1 (0,8-1,4) ^b
Gesteigerte BBBP beliebiger Zeitpunkt	1,1 (0,3-4,0)	1,7 (0,1-20,8) ^c
Persistierende BBBP	0,9 (0,8-1,1)	1,0 (0,8-1,1) ^d

^a adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^b adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1). ^c adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Hyperlipoproteinämie, NIHSS bei V1, Läsionsvolumen bei V1, Tage bis zum V1-MRT). ^d adjustiert für Geschlecht, Alter und Variablen, die in der univariablen Analyse eine Signifikanz von $p \leq 0,1$ erreicht haben (Vorhofflimmern). OR: odds ratio (Quotenverhältnis), CI: confidence interval (Konfidenzintervall).

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine gesteigerte Blut-Hirnschranken-Permeabilität anhand Kontrastmittel-gestützter MRT-Bildgebung in der frühen bis zur späten subakuten Phase nach moderatem bis schwerem ischämischen Schlaganfall in drei von vier Fällen beobachtet werden kann. Die Blut-Hirnschranken-Permeabilität erwies sich im zeitlichen Verlauf regredient, blieb jedoch bis zu zwei Monate nach dem Akutereignis nachweisbar.

Da die persistierende Blut-Hirnschrankenpermeabilität vermutlich ein Zeichen von Schädigungs- und Wiederherstellungsprozessen darstellt, sind diese Ergebnisse eine wichtige Ergänzung des diagnostischen Spektrums hinsichtlich einer Erforschung zugrundeliegender pathophysiologischer Prozesse nach ischämischen Schlaganfall.

Bei der Betrachtung möglicher Risikofaktoren konnte gezeigt werden, dass die Schwere des Schlaganfalls und die Läsionsvolumina mit dem Auftreten einer Blut-Hirnschranken-Permeabilitätssteigerung im frühen und späteren subakuten Stadium vergesellschaftet sind. Ein signifikanter Einfluss der Studienintervention eines vierwöchigen aeroben Fitnessstraining auf das Auftreten und die Dynamik des Phänomens konnte nicht festgestellt werden.

Obgleich vorangegangene Studien (86, 88) nahe gelegt haben, dass spezifische Biomarker als Surrogat-Parameter einer gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität dienen können, wurden in dieser Kohorte einer prospektiven Schlaganfall-Rehabilitationsstudie keine eindeutigen Assoziationen zwischen Biomarkern der Inflammation, der Proteolyse und des vaskulären Remodeling mit der Integrität der Blut-Hirnschranke detektiert.

Bezüglich der prognostischen Relevanz wurde das Phänomen einer persistierenden Blut-Hirnschranken-Permeabilität als möglicher negativer Einflussfaktor auf das unabhängige Langzeit-Outcome nach sechs Monaten identifiziert.

Diagnostische Aspekte der gesteigerten BBBP

Mittels der Kontrastmittel-gestützten T1-gewichteten MRT-Bildgebung wurde in dieser Untersuchung ein Persistieren einer gesteigerten BBBP in der subakuten Phase nach moderatem bis schwerem ischämischen Schlaganfall bei der Mehrheit der Patienten beobachtet.

Eine gesteigerte BBBP, bewertet anhand von Kontrastmittel-Anreicherung in der MRT-Bildgebung, ist ein häufig beobachtetes Phänomen in der hyperakuten und akuten Phase

des ischämischen Schlaganfalls (51, 55, 59, 112, 181). Bereits in vorangegangenen Studien konnte die Bedeutung der MRT-Bildgebung zur Diagnostik und Verlaufskontrolle der Blut-Hirnschranken-Integrität in den hyperakuten und akuten Stadien des ischämischen Schlaganfalls gezeigt werden. So wurde unter anderem durch Ostwaldt *et al.* (141) der hyperintense akute Reperfusionmarker (englisch: Hyper Acute Reperfusion Marker, HARM) als frühes Zeichen einer gestörten BBB beschrieben. Dieser Marker ist bei einem Drittel der Patienten mit ischämischen Schlaganfall nachweisbar und wird mit einem schlechteren funktionellen Outcome in Verbindung gebracht (182). Das Auftreten einer gesteigerten Blut-Hirnschranken-Störung und ihre Dynamik im subakuten Stadium sind weitaus weniger erforscht. Ebenso wenig wie eine einheitliche Dynamik konnten bisher Surrogat-Marker der gesteigerten BBBP in der subakuten Phase ausgemacht werden (51).

In einer Vielzahl von Tierstudien konnte demonstriert werden, dass eine gesteigerte BBBP bis zu drei Wochen nach akutem Schlaganfall nachzuweisen ist (59, 181). Auch Studien am Menschen unterstützen die Hypothese, dass die gesteigerte Permeabilität der BBB auch im subakuten Stadium bestehen bleibt (55, 112, 183). Eine chronische Steigerung der Blut-Hirnschranken-Permeabilität wurde bereits in Studien an Patient*innen mit zerebraler Mikroangiopathie nachgewiesen (51, 184). In ihrer klinischen Studie, welche auf T1-gewichteter Kontrastmittel-gestützter MRT-Bildgebung basiert, konnten Liu *et al.* (183) ebenfalls eine parenchymale Kontrastmittelanreicherung als Zeichen einer gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität in der subakuten bis chronischen Phase nach der Ischämie feststellen. Die chronische Phase wurde hier als maximal ein Monat nach dem Akutereignis definiert.

Interessanterweise konnte in der vorliegenden Arbeit erstmalig das Auftreten einer gesteigerten BBBP für bis zu zwei Monate nach dem Akutereignis mittels qualitativer Beurteilung der Kontrastmittelanreicherung im Bereich der ischämischen Läsion gezeigt werden.

Die seriellen MRT-Bildgebungen im Rahmen der *BAPTISe* Studie ermöglichten zudem die Evaluation der BBBP Dynamik innerhalb eines Subjekts im zeitlichen Verlauf. Hier konnte eine rückläufige Tendenz der BBBP festgestellt werden

Eine weitere Beobachtung, die hier gemacht werden konnte, ist die Assoziation einer subakut gesteigerten BBBP mit dem Läsionsvolumen bzw. der Schwere des Schlaganfalls gemessen am NIHSS. Diese Ergebnisse stehen im Kontrast zu

vorangegangener Forschung: Klinische Studien, bei denen die BBBP Veränderungen anhand von Liquor/Serum-Albumin-Quotienten bewertet wurden, konnten diese Korrelation zwischen der BBB-Integrität und der Läsionsgröße in der CT-Bildgebung nicht feststellen (185, 186). In einer klinischen Studien, die auf CT-Perfusionsbildgebung basiert, konnte der hier beschriebene Zusammenhang zwischen der gesteigerten BBBP und dem NIHSS ebenfalls nicht erfasst werden (187).

Die Hypothese, dass die neurovaskuläre Toxizität der intravenösen Thrombolyse-Therapie mit rtPA in Kombination mit pathophysiologischen Prozessen wie oxidativem Stress und Inflammation potentiell zur Alteration der BBB beiträgt, beruht auf zuvor veröffentlichten Daten (188). Eine Korrelation zwischen der therapeutischen intravenösen Thrombolyse und der subakuten BBBP-Steigerung konnte in der vorliegenden Analyse nicht beobachtet werden.

Des Weiteren konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer persistierenden BBBP und der Vorerkrankung eines Vorhofflimmerns beobachtet werden. In diesem Rahmen ist zu betonen, dass die orale Antikoagulation bei ischämischen Schlaganfall kardioembolischer Genese im Rahmen eines Vorhofflimmerns eine essentielle Prävention eines erneuten ischämischen Ereignisses darstellt. Die persistierende BBBP-Steigerung könnte durch eine orale Antikoagulation beeinflusst werden und somit auch potenziell das Risiko einer hämorrhagischen Transformation steigern (189). In diesem Sinne könnte die Detektion einer gesteigerten BBBP im subakuten Stadium die weitere medikamentöse Therapie beeinflussen. Hypothetisch könnte diese Persistenz mit der Einnahme oraler Antikoagulation verbunden sein. In dieser Kohorte lagen die Informationen zur Initiierung einer medikamentösen oralen Antikoagulation während der Rehabilitation nicht vor, weshalb diesbezüglich keine statistische Analyse erfolgen konnte.

Der Effekt von aeroben Fitnesstraining ist Teil aktueller Forschung: es besteht die generelle Annahme, dass oxidativer Stress und inflammatorische Prozesse durch körperliches Training reduziert und somit die Integrität der BBB gestärkt werden könnte (160). In der vorliegenden Analyse konnten konkret die Auswirkungen der Studienintervention eines vierwöchigen Fitnesstraining im Rahmen eines ischämischen Schlaganfall betrachtet werden. Körperliche Aktivität in Form von aeroben Fitnesstraining konnte hier nicht als Einflussfaktor auf die BBBP im Laufe der Zeit identifiziert werden. In

vorab publizierten Daten der *PHYS-STROKE*-Studie konnten ebenfalls keine Zusammenhänge zwischen der Intervention und der maximalen Gehgeschwindigkeit oder dem Barthel Index nach 3 Monaten beobachtet werden (176). Es zeigte sich vielmehr eine höhere Rate an schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen in der Gruppe der Fitness-Intervention innerhalb von sechs Monaten nach Schlaganfall (177).

Eines der Anliegen der vorliegenden Arbeit bestand darin, ausgewählte Blutbiomarker (hsCRP, IL-6, TNF- α , MMP-9, VEGF) als potenzielle Prädiktoren einer gesteigerten BBBP oder ihrer Evolution im subakuten Stadium zu identifizieren. Zuvor publizierte Studien konnten sowohl den diagnostischen als auch den prognostischen Wert spezifischer Biomarker im Setting des Schlaganfalls determinieren. Es konnte zum Beispiel im Tierversuch gezeigt werden, dass das inflammatorische Zytokin IL-6 die Dysfunktion der BBB steigert (88). In ihrer präklinischen Studie konnten Zhang *et al.* (120) demonstrieren, dass die Inhibition von VEGF in der akuten Phase der Ischämie die Permeabilität der BBB und folglich das Risiko einer hämorrhagischen Transformation reduzieren kann. Im Modell an Mäusen mit der Vorerkrankung eines Diabetes mellitus wurde die Alteration der BBB durch die Inhibition von VEGF-Signalwegen ebenfalls vermindert (190). Hieraus lässt sich möglicherweise schließen, dass Biomarker unter Berücksichtigung anderer Einflussfaktoren, die das Risiko einer BBBP-Veränderung steigern, betrachtet werden sollten. In einer klinischen Studie an Patient*innen mit akutem ischämischen Schlaganfall wurde zum Beispiel der prädiktive Wert eines Panels neuroendokriner Biomarker für das funktionelle Outcome diskutiert und gezeigt, dass die Kombination verschiedener Biomarker das Outcome effektiver vorhersagen können als der NIHSS oder einzelne Biomarker (191). Demzufolge könnte die Kombination verschiedener Biomarker hilfreich in der Evaluation der Schlaganfallentwicklung sein.

In der vorliegenden Untersuchung wurden weder die Inflammationsparameter (hsCRP, TNF- α , IL-6), noch die Biomarker der enzymatischen Degradation (MMP-9) oder die des vaskulären Remodelling (VEGF) als Prädiktoren des Auftretens einer gesteigerten BBBP oder ihrer Dynamik im subakuten Stadium identifiziert. Eine umfassende Analyse einer größeren unabhängigen Kohorte von Schlaganfallpatienten würde sich anbieten, um diese Beobachtungen zu belegen bzw. zu widerlegen. Ferner sollten die Blut-Biomarker ergänzend zu späteren Zeitpunkten des subakuten bis chronischen Stadiums beurteilt werden, um das Verständnis ihres Einflusses auf die pathophysiologischen

Mechanismen der neuro-protektiven Inflammation, der Angiogenese und der Neurogenese zu verbessern.

In Kombination mit translationalem Wissen anderer neurologischer Erkrankungen könnten die vorliegenden Ergebnisse zu einem besseren Verständnis des Phänomens der gesteigerten BBBP beitragen:

Es ist bekannt, dass die Dysregulation der BBB bei Patienten mit einer Multiplen Sklerose (MS) Erkrankung eine der frühesten zerebrovaskulären Auffälligkeiten darstellt. Aktuelle MS-Forschung wendet sich molekularen Mechanismen der BBB-Funktionen unter physiologischen und pathophysiologischen Umständen zu (192). In ihrer klinischen Studie an MS-Patient*innen konnten Wabaunt *et al.* (193) exemplarisch zeigen, dass Zytokine, wenn auch mit geringer Spezifität als Surrogat-Parameter der BBBP dienen. In unserer Studie konnte diese Beobachtung nicht bestätigt werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass in dieser explorativen Analyse einer prospektiven Rehabilitationsstudie zum ersten Mal eine gesteigerte BBBP bis in das späte subakute Stadium nach ischämischen Schlaganfall nachgewiesen werden konnte. Hinsichtlich ihres diagnostischen Werts schlußfolgerten bereits Liebner *et al.*(194), dass die MRT-basierte Evaluation der BBBP-Veränderungen in späteren, sprich subakuten bis chronischen Phasen des Schlaganfalls, dazu beitragen könnte, die zu Grunde liegenden Regenerationsmechanismen wie das vaskuläre Remodelling zu verstehen. Auch potentielle Assoziationen mit dem funktionellen Outcome der Betroffenen könnten hierdurch analysiert werden (195).

Prognostische und therapeutische Aspekte der gesteigerten BBBP

Nach bestem Wissen ist dies die erste klinische Studie, die den Effekt einer gesteigerten BBBP im subakuten Stadium des ischämischen Schlaganfalls auf die Langzeit-Prognose der Betroffenen untersucht hat. Zuvor publizierte klinische Studien, die sowohl auf bildgebenden Methoden als auch auf der Betrachtung von Liquor-/Serum-Albumin-Quotienten zur Detektion einer gesteigerten BBBP im akuten Setting basierten, konnten zeigen, dass eine akut veränderte BBB sich auf das funktionelle Langzeit Outcome der Schlaganfallpatienten auswirkt (104, 132, 146). Aufgrund der zuvor eruierten Annahme, dass die gesteigerte BBBP im subakuten Setting auch mit regenerativen Prozessen einhergeht, könnte vermutet werden, dass sich die persistierenden BBBP auch günstig auf die funktionelle Wiederherstellung der Betroffenen auswirken kann: Das Auftreten

einer gesteigerten BBBP vor und nach der Intervention, zu einem beliebigen Zeitpunkt oder die persistierende BBBP waren nicht prädiktiv bezüglich eines guten funktionellen Langzeit Outcomes nach drei oder sechs Monaten. In der vorliegenden Analyse konnte lediglich bei der Betrachtung des mRS ein Zusammenhang zwischen einer persistierenden BBBP nach sechs Monaten und dem unabhängigen Langzeit-Outcome festgestellt werden. Hier zeigte sich, dass die BBBP-Persistenz mit einem abhängigen funktionellen Outcome ($mRS \geq 4$) vergesellschaftet war. Um dieses Ergebnis zu bestätigen, bedarf es weiterer Forschung an größeren unabhängigen Kohorten. Sollten weitere Studien den prognostischen Wert einer gesteigerten BBBP bestätigen, könnte die Detektion einer persistierenden BBBP im subakuten Stadium zum Beispiel einen Leitfaden für individuelle Rehabilitationsstrategien sein (196, 197).

Ein weiterer prognostisch interessanter Aspekt einer gesteigerten BBBP ist die Komplikation einer hämorrhagischen Transformation. Klinische MRT- und CT-gestützte Bildgebungsstudien konnten zeigen, dass eine alterierte BBB in direktem Zusammenhang mit dem Auftreten der Komplikation einer HT steht (198). Die Komplikation ist wiederum mit einem schlechten funktionellen Outcome der Betroffenen assoziiert (22, 51). Eine HT tritt zumeist in der akuten Phase der Ischämie auf und wird durch die frühe Reperfusion oder durch die gesteigerte BBBP selbst verursacht (199-201).

In einer retrospektiven Rehabilitationsstudie konnte beobachtet werden, dass sowohl die Medikation mit oralen Antikoagulanzen oder Thrombozytenaggregationshemmern vor dem Akutereignis als auch die akute medikamentöse Therapie mit rtPA mit der Komplikation einer HT assoziiert sind (200). Des Weiteren konnten Ramos-Araque *et al.* (202) in ihrer klinischen Studie zeigen, dass eine vorbestehende orale Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten ein unabhängiger Prädiktor einer symptomatischen intrakraniellen Hämorrhagie nach endovaskulärer Thrombektomie ist. Interessanterweise galt diese Beobachtung nur für die Vitamin-K-Antagonisten und nicht für die sogenannten neuen oralen Antikoagulanzen (NOAK). Im Fokus weiterer Betrachtungen könnte somit der Einfluss der Vormedikation auf die Persistenz der BBBP im subakuten Stadium und letztlich deren Auswirkung auf die Komplikation der HT stehen.

Eine zukünftige therapeutische Perspektive der persistierenden gesteigerten Permeabilität nach ischämischen Schlaganfall ergibt sich im Hinblick auf ihre hypothetische Funktion als gezielter Transportmechanismus über die BBB. Der effektive, gezielte Transport von Medikamenten über die BBB bleibt eine der größten

Herausforderung der Behandlung zerebraler Erkrankungen (12). Therapieoptionen könnten zum Beispiel die subakut gesteigerte BBBP als Weg nutzen, die insuffiziente endogene neuronale Wiederherstellung nach der Ischämie gezielt zu beeinflussen. Im präklinischen Setting wird ausgiebig an der Nutzung physiologischer oder pathophysiologischer Transportwege in das Gehirn für die zielgerichtete Therapie geforscht. Klinisch anwendbare therapeutische Optionen, mittels derer das ZNS gezielt erreicht wird, sind weiterhin selten. Ein Beispiel für einen präklinischen Ansatz stellen zell-basierte Therapien dar, die die Abhängigkeit des Übertritts peripherer Zellen von der Permeabilität der BBB nutzen. So könnte zukünftig die Transplantation allogener neuronaler oder endothelialer Stammzellen ein erfolgversprechender Ansatz zur Unterstützung der Regeneration nach Schlaganfall sein (203, 204).

6. Limitationen

Die primäre Limitation der vorliegenden Arbeit ist der explorative Charakter der Analyse als Teil einer randomisierten kontrollierten Schlaganfall-Rehabilitationsstudie. Des Weiteren wurde das MRT-Protokoll der *BAPTISe* Studie nicht explizit für die Evaluation der Blut-Hirnschranke konzipiert. Die BBB-Integrität wurde im Rahmen dieser Arbeit anhand Kontrastmittel-gestützter MRT-Bildgebung beurteilt, welche eine zuverlässige darstellt und bereits in publizierten klinischen Studien Anwendung gefunden hat (54, 136). Goldstandard der Visualisierung und Quantifizierung der Blut-Hirnschranken-Permeabilität bleibt das „dynamic contrast enhanced“ (DCE)-MRT (141, 205, 206).

Limitierend sind zudem die Zeitpunkte der MRT-Bildgebung vor und nach Intervention: Da der Zeitraum des Einschlusses zwischen fünf und 45 Tage nach dem Akutereignis lag, waren die Zeitpunkte der Visiten sehr inhomogen, was folglich zu Überschneidungen geführt und die Vergleichbarkeit verringert hat. Dennoch ist festzuhalten, dass sich hierdurch ein breites Spektrum der frühen subakuten Phase des ischämischen Schlaganfalles repräsentiert wurde.

Um die Dynamik der BBBP über die Zeit abbilden zu können wurden mittels komplexer Prozesse zur Datenverarbeitung eine Subtraktions-Bildgebung je Subjekt erstellt (134, 207). Die visuelle Evaluation sowohl der Kontrastmittel-gestützten als auch der Subtraktions-Bildgebung durch lediglich eine Raterin kann die Ergebnisse aufgrund des Rater-Bias verzerren. Außerdem war die Anzahl an Probanden, denen Kontrastmittel zu beiden Visitenzeitpunkten V1 und V2 appliziert wurde, verhältnismäßig gering und somit

das Risiko eines Fehlers 2. Art erhöht. Der Ansatz sowohl qualitative als auch semi-quantitative Methoden zur Evaluation der BBBP heranzuziehen, trägt dennoch zum wissenschaftlichen Wert der vorliegenden Arbeit bei.

Nicht zuletzt wird die statistische Aussagekraft dieser Analyse durch die verhältnismäßig geringe Anzahl an Messungen der Blut-Biomarker VEGF und MMP-9 limitiert.

7. Schlussfolgerung

In der subakuten Phase bleibt die Steigerung der Blut-Hirnschranken-Permeabilität bei drei von vier Patienten bis zu zwei Monate nach moderatem bis schwerem ischämischen Schlaganfall mittels Kontrastmittel-gestützter MRT-Bildgebung nachweisbar. Das Auftreten einer gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität war mit größeren Infarkt volumina und der Schwere des Schlaganfalls assoziiert. Auswirkungen der Studienintervention des aeroben Fitness-Trainings auf die Blut-Hirnschrankenpermeabilität konnten nicht beobachtet werden.

Die ausgewählten Biomarker der Inflammation, der enzymatischen Proteolyse und des vaskulären Remodeling wirkten sich in der im Rahmen dieser Arbeit betrachteten Kohorte nicht auf das Auftreten oder die Evolution der gesteigerten BBBP aus. Eine subakut persistierende Permeabilitätssteigerung war in dieser Analyse prädiktiv für das unabhängige funktionelle Langzeit-Outcome der Probanden nach sechs, nicht jedoch nach drei Monaten.

Zusammenfassend bedarf es weitere Untersuchungen größerer Kohorten, um den prognostischen Wert einer gesteigerten Blut-Hirnschranken-Permeabilität im subakuten Stadium des ischämischen Schlaganfalls zu erforschen.

IV Literaturverzeichnis

1. GBD 2016 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*. 2019;18(5):439-58.
2. M.A. Busch ASENAG. Prävalenz des Schlaganfalls bei Erwachsenen im Alter von 40 bis 79 Jahren in Deutschland Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1) 2013 [Available from: <https://edoc.rki.de/bitstream/handle/176904/1483/25wmgjFNsWBCw.pdf?sequence=1&isAllowed=y>].
3. WHO. The top 10 causes of death 2020 [Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>].
4. Gorelick PB. The global burden of stroke: persistent and disabling. *The Lancet Neurology*. 2019;18(5):417-8.
5. Kolominsky-Rabas PL, Heuschmann PU, Marschall D, Emmert M, Baltzer N, Neundörfer B, Schöffski O, Krobot KJ. Lifetime cost of ischemic stroke in Germany: results and national projections from a population-based stroke registry: the Erlangen Stroke Project. *Stroke*. 2006;37(5):1179-83.
6. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Barker-Collo SL, Parag V. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2009;8(4):355-69.
7. Truelsen T, Piechowski-Józwiak B, Bonita R, Mathers C, Bogousslavsky J, Boysen G. Stroke incidence and prevalence in Europe: a review of available data. *Eur J Neurol*. 2006;13(6):581-98.
8. Kunst AE, Amiri M, Janssen F. The decline in stroke mortality: exploration of future trends in 7 Western European countries. *Stroke*. 2011;42(8):2126-30.
9. Sutherland GR, Auer RN. Primary intracerebral hemorrhage. *J Clin Neurosci*. 2006;13(5):511-7.
10. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, de Ferranti SD, Floyd J, Fornage M, Gillespie C, Isasi CR, Jiménez MC, Jordan LC, Judd SE, Lackland D, Lichtman JH, Lisabeth L, Liu S, Longenecker CT, Mackey RH, Matsushita K, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nasir K, Neumar RW, Palaniappan L, Pandey DK, Thiagarajan RR, Reeves MJ, Ritchey M, Rodriguez CJ, Roth GA, Rosamond WD, Sasson C, Towfighi A, Tsao CW, Turner MB, Virani SS, Voeks JH, Willey JZ, Wilkins JT, Wu JH, Alger HM, Wong SS, Muntner P. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(10):e146-e603.
11. Liu S, Levine SR, Winn HR. Targeting ischemic penumbra: part I - from pathophysiology to therapeutic strategy. *J Exp Stroke Transl Med*. 2010;3(1):47-55.
12. Bernardo-Castro S, Sousa JA, Bras A, Cecília C, Rodrigues B, Almendra L, Machado C, Santo G, Silva F, Ferreira L, Santana I, Sargento-Freitas J. Pathophysiology of Blood-Brain Barrier Permeability Throughout the Different Stages of Ischemic Stroke and Its Implication on Hemorrhagic Transformation and Recovery. *Front Neurol*. 2020;11:594672.
13. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, Toni D, Lesaffre E, von Kummer R, Boysen G, Bluhmki E, Höxter G, Mahagne MH. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke. The European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS). *Jama*. 1995;274(13):1017-25.

14. Sarraj A, Savitz S, Pujara D, Kamal H, Carroll K, Shaker F, Reddy S, Parsha K, Fournier LE, Jones EM, Sharrief A, Martin-Schild S, Grotta J. Endovascular Thrombectomy for Acute Ischemic Strokes. *Stroke*. 2020;51(4):1207-17.
15. Berkhemer OA, Fransen PSS, Beumer D, van den Berg LA, Lingsma HF, Yoo AJ, Schonewille WJ, Vos JA, Nederkoorn PJ, Wermer MJ, van Walderveen MA, Staals J, Hofmeijer J, van Oostayen JA, Lycklama à Nijeholt GJ, Boiten J, Brouwer PA, Emmer BJ, de Bruijn SF, van Dijk LC, Kappelle LJ, Lo RH, van Dijk EJ, de Vries J, de Kort PL, van Rooij WJ, van den Berg JS, van Hasselt BA, Aerden LA, Dallinga RJ, Visser MC, Bot JC, Vroomen PC, Eshghi O, Schreuder TH, Heijboer RJ, Keizer K, Tielbeek AV, den Hertog HM, Gerrits DG, van den Berg-Vos RM, Karas GB, Steyerberg EW, Flach HZ, Marquering HA, Sprengers ME, Jenniskens SF, Beenen LF, van den Berg R, Koudstaal PJ, van Zwam WH, Roos YB, van der Lugt A, van Oostenbrugge RJ, Majoie CB, Dippel DW; MR CLEAN Investigators. A Randomized Trial of Intraarterial Treatment for Acute Ischemic Stroke. *New England Journal of Medicine*. 2014;372(1):11-20.
16. Jovin TG, Chamorro A, Cobo E, de Miquel MA, Molina CA, Rovira A, San Román L, Serena J, Abilleira S, Ribó M, Millán M, Urra X, Cardona P, López-Cancio E, Tomasello A, Castaño C, Blasco J, Aja L, Dorado L, Quesada H, Rubiera M, Hernandez-Pérez M, Goyal M, Demchuk AM, von Kummer R, Gallofré M, Dávalos A; REVASCAT Trial Investigators. Thrombectomy within 8 Hours after Symptom Onset in Ischemic Stroke. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(24):2296-306.
17. Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC, Bonafe A, Budzik RF, Bhuva P, Yavagal DR, Ribo M, Cognard C, Hanel RA, Sila CA, Hassan AE, Millan M, Levy EI, Mitchell P, Chen M, English JD, Shah QA, Silver FL, Pereira VM, Mehta BP, Baxter BW, Abraham MG, Cardona P, Veznedaroglu E, Hellinger FR, Feng L, Kirmani JF, Lopes DK, Jankowitz BT, Frankel MR, Costalat V, Vora NA, Yoo AJ, Malik AM, Furlan AJ, Rubiera M, Aghaebrahim A, Olivot JM, Tekle WG, Shields R, Graves T, Lewis RJ, Smith WS, Liebeskind DS, Saver JL, Jovin TG; DAWN Trial Investigators. Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. *New England Journal of Medicine*. 2017;378(1):11-21.
18. Albers GW, Marks MP, Kemp S, Christensen S, Tsai JP, Ortega-Gutierrez S, McTaggart RA, Torbey MT, Kim-Tenser M, Leslie-Mazwi T, Sarraj A, Kasner SE, Ansari SA, Yeatts SD, Hamilton S, Mlynash M, Heit JJ, Zaharchuk G, Kim S, Carrozzella J, Palesch YY, Demchuk AM, Bammer R, Lavori PW, Broderick JP, Lansberg MG; DEFUSE 3 Investigators. Thrombectomy for Stroke at 6 to 16 Hours with Selection by Perfusion Imaging. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(8):708-18.
19. Spronk E, Sykes G, Falcione S, Munsterman D, Joy T, Kamtchum-Tatuene J, Jickling GC. Hemorrhagic Transformation in Ischemic Stroke and the Role of Inflammation. *Frontiers in Neurology*. 2021;12(597).
20. Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*. 2008;57(2):178-201.
21. Abbott NJ, Rönnebeck L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(1):41-53.
22. Khatiri R, McKinney AM, Swenson B, Janardhan V. Blood-brain barrier, reperfusion injury, and hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Neurology*. 2012;79(13 Suppl 1):S52-7.
23. Daneman R. The blood-brain barrier in health and disease. *Ann Neurol*. 2012;72(5):648-72.
24. Heo JH, Han SW, Lee SK. Free radicals as triggers of brain edema formation after stroke. *Free Radic Biol Med*. 2005;39(1):51-70.

25. Armulik A, Genové G, Mäe M, Nisancioglu MH, Wallgard E, Niaudet C, He L, Norlin J, Lindblom P, Strittmatter K, Johansson BR, Betsholtz C. Pericytes regulate the blood-brain barrier. *Nature*. 2010;468(7323):557-61.
26. Serlin Y, Shelef I, Knyazer B, Friedman A. Anatomy and physiology of the blood-brain barrier. *Semin Cell Dev Biol*. 2015;38:2-6.
27. Dejana E. Endothelial cell-cell junctions: happy together. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5(4):261-70.
28. Löscher W, Potschka H. Role of drug efflux transporters in the brain for drug disposition and treatment of brain diseases. *Prog Neurobiol*. 2005;76(1):22-76.
29. Li F, Lan Y, Wang Y, Wang J, Yang G, Meng F, Han H, Meng A, Wang Y, Yang X. Endothelial Smad4 maintains cerebrovascular integrity by activating N-cadherin through cooperation with Notch. *Dev Cell*. 2011;20(3):291-302.
30. Winkler EA, Bell RD, Zlokovic BV. Central nervous system pericytes in health and disease. *Nat Neurosci*. 2011;14(11):1398-405.
31. Armulik A, Genové G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev Cell*. 2011;21(2):193-215.
32. Tang DG, Conti CJ. Endothelial cell development, vasculogenesis, angiogenesis, and tumor neovascularization: an update. *Semin Thromb Hemost*. 2004;30(1):109-17.
33. Guillamón-Vivancos T, Gómez-Pinedo U, Matías-Guiu J. Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): function and molecular description. *Neurologia*. 2015;30(2):119-29.
34. Sorokin L. The impact of the extracellular matrix on inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(10):712-23.
35. Thurgur H, Pinteaux E. Microglia in the Neurovascular Unit: Blood-Brain Barrier-microglia Interactions After Central Nervous System Disorders. *Neuroscience*. 2019;405:55-67.
36. Persidsky Y, Ghorpade A, Rasmussen J, Limoges J, Liu XJ, Stins M, Fiala M, Way D, Kim KS, Witte MH, Weinand M, Carhart L, Gendelman HE. Microglial and astrocyte chemokines regulate monocyte migration through the blood-brain barrier in human immunodeficiency virus-1 encephalitis. *Am J Pathol*. 1999;155(5):1599-611.
37. Hudson LC, Bragg DC, Tompkins MB, Meeker RB. Astrocytes and microglia differentially regulate trafficking of lymphocyte subsets across brain endothelial cells. *Brain Res*. 2005;1058(1-2):148-60.
38. Welser JV, Li L, Milner R. Microglial activation state exerts a biphasic influence on brain endothelial cell proliferation by regulating the balance of TNF and TGF- β 1. *J Neuroinflammation*. 2010;7:89.
39. Huang J, Upadhyay UM, Tamargo RJ. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia. *Surg Neurol*. 2006;66(3):232-45.
40. Stamatovic SM, Johnson AM, Keep RF, Andjelkovic AV. Junctional proteins of the blood-brain barrier: New insights into function and dysfunction. *Tissue Barriers*. 2016;4(1).
41. Rusu AD, Georgiou M. The multifarious regulation of the apical junctional complex. *Open Biol*. 2020;10(2):190278.
42. Orthmann A, Fichtner I, Zeisig R. Improving the transport of chemotherapeutic drugs across the blood-brain barrier. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2011;4(4):477-90.
43. Moura RP, Martins C, Pinto S, Sousa F, Sarmiento B. Blood-brain barrier receptors and transporters: an insight on their function and how to exploit them through nanotechnology. *Expert Opin Drug Deliv*. 2019;16(3):271-85.
44. Barar J, Rafi MA, Pourseif MM, Omid Y. Blood-brain barrier transport machineries and targeted therapy of brain diseases. *Bioimpacts*. 2016;6(4):225-48.

45. Lalatsa A, Butt AM. Chapter 3 - Physiology of the Blood–Brain Barrier and Mechanisms of Transport Across the BBB. In: Kesharwani P, Gupta U, editors. *Nanotechnology-Based Targeted Drug Delivery Systems for Brain Tumors*: Academic Press; 2018. p. 49-74.
46. Tajes M, Ramos-Fernández E, Weng-Jiang X, Bosch-Morató M, Guivernau B, Eraso-Pichot A, Salvador B, Fernández-Busquets X, Roquer J, Muñoz FJ. The blood-brain barrier: structure, function and therapeutic approaches to cross it. *Mol Membr Biol*. 2014;31(5):152-67.
47. Uhr M, Tontsch A, Namendorf C, Ripke S, Lucae S, Ising M, Dose T, Ebinger M, Rosenhagen M, Kohli M, Kloiber S, Salyakina D, Bettecken T, Specht M, Pütz B, Binder EB, Müller-Myhsok B, Holsboer F. Polymorphisms in the Drug Transporter Gene ABCB1 Predict Antidepressant Treatment Response in Depression. *Neuron*. 2008;57(2):203-9.
48. Sarvari S, Moakedi F, Hone E, Simpkins JW, Ren X. Mechanisms in blood-brain barrier opening and metabolism-challenged cerebrovascular ischemia with emphasis on ischemic stroke. *Metab Brain Dis*. 2020;35(6):851-68.
49. Xhima K, Weber-Adrian D, Silburt J. Glutamate Induces Blood–Brain Barrier Permeability through Activation of N-Methyl-D-Aspartate Receptors. *The Journal of Neuroscience*. 2016;36(49):12296-8.
50. Pillai DR, Dittmar MS, Baldaranov D, Heidemann RM, Henning EC, Schuierer G, Bogdahn U, Schlachetzki F. Cerebral ischemia-reperfusion injury in rats—a 3 T MRI study on biphasic blood-brain barrier opening and the dynamics of edema formation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29(11):1846-55.
51. Sandoval KE, Witt KA. Blood-brain barrier tight junction permeability and ischemic stroke. *Neurobiol Dis*. 2008;32(2):200-19.
52. Kassner A, Merali Z. Assessment of Blood-Brain Barrier Disruption in Stroke. *Stroke*. 2015 Nov;46(11):3310-5.
53. Balkaya M, Kim ID, Shakil F, Cho S. CD36 deficiency reduces chronic BBB dysfunction and scar formation and improves activity, hedonic and memory deficits in ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2021;41(3):486-501.
54. Yang Y, Rosenberg GA. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease. *Stroke*. 2011;42(11):3323-8.
55. Merali Z, Huang K, Mikulis D, Silver F, Kassner A. Evolution of blood-brain-barrier permeability after acute ischemic stroke. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171558.
56. Aviv RI, d'Esterre CD, Murphy BD, Hopyan JJ, Buck B, Mallia G, Li V, Zhang L, Symons SP, Lee TY. Hemorrhagic transformation of ischemic stroke: prediction with CT perfusion. *Radiology*. 2009;250(3):867-77.
57. Kim T, Koo J, Kim SH, Song IU, Chung SW, Lee KS. Blood-brain barrier permeability assessed by perfusion computed tomography predicts hemorrhagic transformation in acute reperfusion therapy. *Neurol Sci*. 2018;39(9):1579-84.
58. Lin CY, Chang C, Cheung WM, Lin MH, Chen JJ, Hsu CY, Chen JH, Lin TN. Dynamic changes in vascular permeability, cerebral blood volume, vascular density, and size after transient focal cerebral ischemia in rats: evaluation with contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008;28(8):1491-501.
59. Durukan A, Marinkovic I, Strbian D, Pitkonen M, Pedrono E, Soenne L, Abo-Ramadan U, Tatlisumak T. Post-ischemic blood-brain barrier leakage in rats: one-week follow-up by MRI. *Brain Res*. 2009;1280:158-65.
60. Jickling GC, Liu D, Stamova B, Ander BP, Zhan X, Lu A, Sharp FR. Hemorrhagic transformation after ischemic stroke in animals and humans. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014;34(2):185-99.

61. Bernhardt J, Hayward KS, Kwakkel G, Ward NS, Wolf SL, Borschmann K, Krakauer JW, Boyd LA, Carmichael ST, Corbett D, Cramer SC. Agreed definitions and a shared vision for new standards in stroke recovery research: The Stroke Recovery and Rehabilitation Roundtable taskforce. *Int J Stroke*. 2017;12(5):444-50.
62. Carmichael ST. The 3 Rs of Stroke Biology: Radial, Relayed, and Regenerative. *Neurotherapeutics*. 2016;13(2):348-59.
63. Yang C, Hawkins KE, Doré S, Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019;316(2):C135-c53.
64. Stokum JA, Gerzanich V, Simard JM. Molecular pathophysiology of cerebral edema. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36(3):513-38.
65. Abdullahi W, Tripathi D, Ronaldson PT. Blood-brain barrier dysfunction in ischemic stroke: targeting tight junctions and transporters for vascular protection. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2018;315(3):C343-C56.
66. Vazana U, Veksler R, Pell GS, Prager O, Fassler M, Chassidim Y, Roth Y, Shahar H, Zangen A, Raccah R, Onesti E, Ceccanti M, Colonnese C, Santoro A, Salvati M, D'Elia A, Nucciarelli V, Inghilleri M, Friedman A. Glutamate-Mediated Blood-Brain Barrier Opening: Implications for Neuroprotection and Drug Delivery. *J Neurosci*. 2016;36(29):7727-39.
67. Dijkhuizen RM, Nicolay K. Magnetic resonance imaging in experimental models of brain disorders. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2003;23(12):1383-402.
68. Giraud M, Cho TH, Nighoghossian N, Maucourt-Boulch D, Deiana G, Østergaard L, Baron JC, Fiehler J, Pedraza S, Derex L, Berthezène Y. Early Blood Brain Barrier Changes in Acute Ischemic Stroke: A Sequential MRI Study. *J Neuroimaging*. 2015;25(6):959-63.
69. L L, X W, Z Y. Ischemia-reperfusion Injury in the Brain: Mechanisms and Potential Therapeutic Strategies. *Biochem Pharmacol (Los Angel)*. 2016;5(4).
70. Janardhan V, Qureshi AI. Mechanisms of ischemic brain injury. *Curr Cardiol Rep*. 2004;6(2):117-23.
71. Preston E, Sutherland G, Finsten A. Three openings of the blood-brain barrier produced by forebrain ischemia in the rat. *Neuroscience Letters*. 1993;149(1):75-8.
72. Huang ZG, Xue D, Preston E, Karbalai H, Buchan AM. Biphasic opening of the blood-brain barrier following transient focal ischemia: effects of hypothermia. *Can J Neurol Sci*. 1999;26(4):298-304.
73. Belayev L, Busto R, Zhao W, Ginsberg MD. Quantitative evaluation of blood-brain barrier permeability following middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Research*. 1996;739(1):88-96.
74. Warach S, Latour LL. Evidence of reperfusion injury, exacerbated by thrombolytic therapy, in human focal brain ischemia using a novel imaging marker of early blood-brain barrier disruption. *Stroke*. 2004;35(11 Suppl 1):2659-61.
75. Schreibelt G, Kooij G, Reijerkerk A, van Doorn R, Gringhuis SI, van der Pol S, Weksler BB, Romero IA, Couraud PO, Piontek J, Blasig IE, Dijkstra CD, Ronken E, de Vries HE. Reactive oxygen species alter brain endothelial tight junction dynamics via RhoA, PI3 kinase, and PKB signaling. *Faseb j*. 2007;21(13):3666-76.
76. Rao RK, Basuroy S, Rao VU, Karnaky KJ, Jr., Gupta A. Tyrosine phosphorylation and dissociation of occludin-ZO-1 and E-cadherin-beta-catenin complexes from the cytoskeleton by oxidative stress. *Biochem J*. 2002;368(Pt 2):471-81.
77. Underly RG, Shih AY. Rapid, Nitric Oxide Synthesis-Dependent Activation of MMP-9 at Pericyte Somata During Capillary Ischemia in vivo. *Frontiers in Physiology*. 2021;11(1758).

78. Lee CZ, Xue Z, Hao Q, Yang G-Y, Young WL. Nitric oxide in vascular endothelial growth factor-induced focal angiogenesis and matrix metalloproteinase-9 activity in the mouse brain. *Stroke*. 2009;40(8):2879-81.
79. Fabian RH, Kent TA. Superoxide anion production during reperfusion is reduced by an antineutrophil antibody after prolonged cerebral ischemia. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(3-4):355-61.
80. Zhang W, Zhu L, An C, Wang R, Yang L, Yu W, Li P, Gao Y. The blood brain barrier in cerebral ischemic injury – Disruption and repair. *Brain Hemorrhages*. 2020;1(1):34-53.
81. Liu R, Pan M-X, Tang J-C, Zhang Y, Liao H-B, Zhuang Y, Zhao D, Wan Q. Role of neuroinflammation in ischemic stroke. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*. 2017;4:158-66.
82. Kim JY, Park J, Chang JY, Kim S-H, Lee JE. Inflammation after Ischemic Stroke: The Role of Leukocytes and Glial Cells. *Exp Neurobiol*. 2016;25(5):241-51.
83. Ronaldson PT, Davis TP. Regulation of blood-brain barrier integrity by microglia in health and disease: A therapeutic opportunity. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2020;40(1_suppl):S6-s24.
84. Stellwagen D, Malenka RC. Synaptic scaling mediated by glial TNF- α . *Nature*. 2006;440(7087):1054-9.
85. Ballesteros I, Cuartero MI, Pradillo JM, Moro MA, Lizasoain I. Chapter 58 - Cytokines and Chemokines in Stroke. In: Caplan LR, Biller J, Leary MC, Lo EH, Thomas AJ, Yenari M, editors. *Primer on Cerebrovascular Diseases (Second Edition)*. San Diego: Academic Press; 2017. p. 280-4.
86. Hosomi N, Ban CR, Naya T, Takahashi T, Guo P, Song XY, Kohno M. Tumor necrosis factor- α neutralization reduced cerebral edema through inhibition of matrix metalloproteinase production after transient focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(8):959-67.
87. Justiz Vaillant AA, Qurie A. Interleukin. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
88. de Vries HE, Blom-Roosemalen MC, van Oosten M, de Boer AG, van Berkel TJ, Breimer DD, Kuiper J. The influence of cytokines on the integrity of the blood-brain barrier in vitro. *J Neuroimmunol*. 1996;64(1):37-43.
89. del Zoppo G, Ginis I, Hallenbeck JM, Iadecola C, Wang X, Feuerstein GZ. Inflammation and stroke: putative role for cytokines, adhesion molecules and iNOS in brain response to ischemia. *Brain Pathol*. 2000;10(1):95-112.
90. Rosell A, Cuadrado E, Ortega-Aznar A, Hernández-Guillamon M, Lo EH, Montaner J. MMP-9-positive neutrophil infiltration is associated to blood-brain barrier breakdown and basal lamina type IV collagen degradation during hemorrhagic transformation after human ischemic stroke. *Stroke*. 2008;39(4):1121-6.
91. Zhang J, Rui YC, Yang PY, Lu L, Li TJ. C-reactive protein induced expression of adhesion molecules in cultured cerebral microvascular endothelial cells. *Life Sci*. 2006;78(26):2983-8.
92. Kuhlmann CR, Librizzi L, Closhen D, Pflanzner T, Lessmann V, Pietrzik CU, de Curtis M, Luhmann HJ. Mechanisms of C-reactive protein-induced blood-brain barrier disruption. *Stroke*. 2009;40(4):1458-66.
93. Roberts J, Kahle MP, Bix GJ. Perlecan and the blood-brain barrier: beneficial proteolysis? *Front Pharmacol*. 2012;3:155.
94. Wang X, Lo EH. Triggers and mediators of hemorrhagic transformation in cerebral ischemia. *Mol Neurobiol*. 2003;28(3):229-44.

95. Tagaya M, Haring HP, Stuver I, Wagner S, Abumiya T, Lucero J, Lee P, Copeland BR, Seiffert D, del Zoppo GJ. Rapid loss of microvascular integrin expression during focal brain ischemia reflects neuron injury. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001;21(7):835-46.
96. Armao D, Kornfeld M, Estrada EY, Grossetete M, Rosenberg GA. Neutral proteases and disruption of the blood-brain barrier in rat. *Brain Res.* 1997;767(2):259-64.
97. Petty MA, Wettstein JG. Elements of cerebral microvascular ischaemia. *Brain Res Brain Res Rev.* 2001;36(1):23-34.
98. Lo EH, Wang X, Cuzner ML. Extracellular proteolysis in brain injury and inflammation: role for plasminogen activators and matrix metalloproteinases. *J Neurosci Res.* 2002;69(1):1-9.
99. Gasche Y, Copin JC, Sugawara T, Fujimura M, Chan PH. Matrix metalloproteinase inhibition prevents oxidative stress-associated blood-brain barrier disruption after transient focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001;21(12):1393-400.
100. Clark AW, Krekoski CA, Bou SS, Chapman KR, Edwards DR. Increased gelatinase A (MMP-2) and gelatinase B (MMP-9) activities in human brain after focal ischemia. *Neurosci Lett.* 1997;238(1-2):53-6.
101. Gasche Y, Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Copin JC, Kawase M, Massengale J, Chan PH. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood-brain barrier dysfunction. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999;19(9):1020-8.
102. Turner RJ, Sharp FR. Implications of MMP9 for Blood Brain Barrier Disruption and Hemorrhagic Transformation Following Ischemic Stroke. *Front Cell Neurosci.* 2016;10:56.
103. Rosenberg GA, Yang Y. Vasogenic edema due to tight junction disruption by matrix metalloproteinases in cerebral ischemia. *Neurosurg Focus.* 2007;22(5):E4.
104. Brouns R, Wauters A, De Surgeloose D, Mariën P, De Deyn PP. Biochemical markers for blood-brain barrier dysfunction in acute ischemic stroke correlate with evolution and outcome. *Eur Neurol.* 2011;65(1):23-31.
105. Montaner J, Alvarez-Sabín J, Molina C, Anglés A, Abilleira S, Arenillas J, González MA, Monasterio J. Matrix metalloproteinase expression after human cardioembolic stroke: temporal profile and relation to neurological impairment. *Stroke.* 2001;32(8):1759-66.
106. Castellanos M, Leira R, Serena J, Pumar JM, Lizasoain I, Castillo J, Dávalos A. Plasma metalloproteinase-9 concentration predicts hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2003;34(1):40-6.
107. Álvarez-Sabín J, Maisterra O, Santamarina E, Kase CS. Factors influencing haemorrhagic transformation in ischaemic stroke. *Lancet Neurol.* 2013;12(7):689-705.
108. Kanazawa M, Takahashi T, Ishikawa M, Onodera O, Shimohata T, del Zoppo GJ. Angiogenesis in the ischemic core: A potential treatment target? *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* 2019;39(5):753-69.
109. Kumar A, Pareek V, Faiq MA, Ghosh SK, Kumari C. Adult Neurogenesis in Humans: A Review of Basic Concepts, History, Current Research, and Clinical Implications. *Innov Clin Neurosci.* 2019;16(5-6):30-7.
110. Sanin V, Heeß C, Kretzschmar HA, Schüller U. Recruitment of neural precursor cells from circumventricular organs of patients with cerebral ischaemia. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2013;39(5):510-8.
111. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis. *Science.* 1997;275(5302):964-6.

112. Sargento-Freitas J, Aday S, Nunes C, Cordeiro M, Gouveia A, Silva F, Machado C, Rodrigues B, Santo GC, Ferreira C, Amorim A, Sousa S, Gomes AC, Castelo-Branco M, Ferreira L, Cunha L. Endothelial progenitor cells enhance blood-brain barrier permeability in subacute stroke. *Neurology*. 2018;90(2):e127-e34.
113. Sladojevic N, Stamatovic SM, Johnson AM, Choi J, Hu A, Dithmer S, Blasig IE, Keep RF, Andjelkovic AV. Claudin-1-Dependent Destabilization of the Blood-Brain Barrier in Chronic Stroke. *J Neurosci*. 2019;39(4):743-57.
114. Chen X, Wang Y, Fu M, Lei H, Cheng Q, Zhang X. Plasma Immunoproteasome Predicts Early Hemorrhagic Transformation in Acute Ischemic Stroke Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017;26(1):49-56.
115. Gotts JE, Chesselet MF. Vascular changes in the subventricular zone after distal cortical lesions. *Exp Neurol*. 2005;194(1):139-50.
116. Schänzer A, Wachs FP, Wilhelm D, Acker T, Cooper-Kuhn C, Beck H, Winkler J, Aigner L, Plate KH, Kuhn HG. Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol*. 2004;14(3):237-48.
117. Weis SM, Cheresh DA. Pathophysiological consequences of VEGF-induced vascular permeability. *Nature*. 2005;437(7058):497-504.
118. Abumiya T, Lucero J, Heo JH, Tagaya M, Koziol JA, Copeland BR, del Zoppo GJ. Activated microvessels express vascular endothelial growth factor and integrin alpha(v)beta3 during focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1999;19(9):1038-50.
119. Plate KH, Beck H, Danner S, Allegrini PR, Wiessner C. Cell type specific upregulation of vascular endothelial growth factor in an MCA-occlusion model of cerebral infarct. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1999;58(6):654-66.
120. Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, Zhang R, Davies K, Powers C, Bruggen Nv, Chopp M. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *J Clin Invest*. 2000;106(7):829-38.
121. Kilic E, Kilic U, Wang Y, Bassetti CL, Marti HH, Hermann DM. The phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway mediates VEGF's neuroprotective activity and induces blood brain barrier permeability after focal cerebral ischemia. *Faseb j*. 2006;20(8):1185-7.
122. Kaya D, Gürsoy-Ozdemir Y, Yemisci M, Tuncer N, Aktan S, Dalkara T. VEGF protects brain against focal ischemia without increasing blood--brain permeability when administered intracerebroventricularly. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(9):1111-8.
123. Wang W, Dentler WL, Borchardt RT. VEGF increases BMEC monolayer permeability by affecting occludin expression and tight junction assembly. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280(1):H434-40.
124. Fischer S, Wiesnet M, Marti HH, Renz D, Schaper W. Simultaneous activation of several second messengers in hypoxia-induced hyperpermeability of brain derived endothelial cells. *J Cell Physiol*. 2004;198(3):359-69.
125. Wang H, Keiser JA. Vascular endothelial growth factor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells: role of flt-1. *Circ Res*. 1998;83(8):832-40.
126. Zhang Z, Chopp M. Vascular endothelial growth factor and angiopoietins in focal cerebral ischemia. *Trends Cardiovasc Med*. 2002;12(2):62-6.
127. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Gordon R, Tepper O, Gravereaux E, Pieczek A, Iwaguro H, Hayashi SI, Isner JM, Asahara T. Vascular endothelial growth factor(165) gene transfer augments circulating endothelial progenitor cells in human subjects. *Circ Res*. 2000;86(12):1198-202.

128. Kalka C, Tehrani H, Laudenberg B, Vale PR, Isner JM, Asahara T, Symes JF. VEGF gene transfer mobilizes endothelial progenitor cells in patients with inoperable coronary disease. *Ann Thorac Surg.* 2000;70(3):829-34.
129. Edgell RC, Vora NA. Neuroimaging markers of hemorrhagic risk with stroke reperfusion therapy. *Neurology.* 2012;79(13 Suppl 1):S100-4.
130. Hom J, Dankbaar JW, Soares BP, Schneider T, Cheng SC, Bredno J, Lau BC, Smith W, Dillon WP, Wintermark M. Blood-brain barrier permeability assessed by perfusion CT predicts symptomatic hemorrhagic transformation and malignant edema in acute ischemic stroke. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2011;32(1):41-8.
131. Ozkul-Wermester O, Guegan-Massardier E, Triquenot A, Borden A, Perot G, Gérardin E. Increased blood-brain barrier permeability on perfusion computed tomography predicts hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Eur Neurol.* 2014;72(1-2):45-53.
132. Lorberboym M, Lampl Y, Sadeh M. Correlation of 99mTc-DTPA SPECT of the blood-brain barrier with neurologic outcome after acute stroke. *J Nucl Med.* 2003;44(12):1898-904.
133. Gilad R, Lampl Y, Eilam A, Boaz M, Loyberboim M. SPECT-DTPA as a tool for evaluating the blood-brain barrier in post-stroke seizures. *J Neurol.* 2012;259(10):2041-4.
134. Veksler R, Shelef I, Friedman A. Blood-brain barrier imaging in human neuropathologies. *Archives of medical research.* 2014;45(8):646-52.
135. Tomkins O, Shelef I, Kaizerman I, Eliushin A, Afawi Z, Misk A, Gidon M, Cohen A, Zumsteg D, Friedman A. Blood-brain barrier disruption in post-traumatic epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79(7):774-7.
136. Tomkins O, Feintuch A, Benifla M, Cohen A, Friedman A, Shelef I. Blood-brain barrier breakdown following traumatic brain injury: a possible role in posttraumatic epilepsy. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* 2011;2011:765923.
137. Schoknecht K, Shalev H. Blood-brain barrier dysfunction in brain diseases: clinical experience. *Epilepsia.* 2012;53 Suppl 6:7-13.
138. Rebeles F, Fink J, Anzai Y, Maravilla KR. Blood-brain barrier imaging and therapeutic potentials. *Top Magn Reson Imaging.* 2006;17(2):107-16.
139. Israeli D, Tanne D, Daniels D, Last D, Shneur R, Guez D, Landau E, Roth Y, Ocherashvilli A, Bakon M, Hoffman C, Weinberg A, Volk T, Mardor Y. The application of MRI for depiction of subtle blood brain barrier disruption in stroke. *Int J Biol Sci.* 2010;7(1):1-8.
140. Peng R, Chow D, De Seta D, Lalwani AK. Intensity of gadolinium enhancement on MRI is useful in differentiation of intracochlear inflammation from tumor. *Otol Neurotol.* 2014;35(5):905-10.
141. Villringer K, Sanz Cuesta BE, Ostwaldt AC, Grittner U, Brunecker P, Khalil AA, Schindler K, Eisenblätter O, Audebert H, Fiebach JB. DCE-MRI blood-brain barrier assessment in acute ischemic stroke. *Neurology.* 2017;88(5):433-40.
142. Knight RA, Nagaraja TN, Ewing JR, Nagesh V, Whitton PA, Bershad E, Fagan SC, Fenstermacher JD. Quantitation and localization of blood-to-brain influx by magnetic resonance imaging and quantitative autoradiography in a model of transient focal ischemia. *Magn Reson Med.* 2005;54(4):813-21.
143. Sourbron SP, Buckley DL. Tracer kinetic modelling in MRI: estimating perfusion and capillary permeability. *Phys Med Biol.* 2012;57(2):R1-33.
144. Chassidim Y, Veksler R, Lublinsky S, Pell GS, Friedman A, Shelef I. Quantitative imaging assessment of blood-brain barrier permeability in humans. *Fluids Barriers CNS.* 2013;10(1):9.

145. Jiang X, Andjelkovic AV, Zhu L, Yang T, Bennett MVL, Chen J, Keep RF, Shi Y. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke. *Prog Neurobiol.* 2018;163-164:144-71.
146. Nadareishvili Z, Simpkins AN, Hitomi E, Reyes D, Leigh R. Post-Stroke Blood-Brain Barrier Disruption and Poor Functional Outcome in Patients Receiving Thrombolytic Therapy. *Cerebrovasc Dis.* 2019;47(3-4):135-42.
147. Hom S, Fleegal MA, Egleton RD, Campos CR, Hawkins BT, Davis TP. Comparative changes in the blood-brain barrier and cerebral infarction of SHR and WKY rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;292(5):R1881-92.
148. Ennis SR, Keep RF. Effect of sustained-mild and transient-severe hyperglycemia on ischemia-induced blood-brain barrier opening. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27(9):1573-82.
149. Dietrich WD, Alonso O, Busto R. Moderate hyperglycemia worsens acute blood-brain barrier injury after forebrain ischemia in rats. *Stroke.* 1993;24(1):111-6.
150. Deng J, Zhang J, Feng C, Xiong L, Zuo Z. Critical role of matrix metalloprotease-9 in chronic high fat diet-induced cerebral vascular remodelling and increase of ischaemic brain injury in mice. *Cardiovasc Res.* 2014;103(4):473-84.
151. Roussel BD, Macrez R, Jullienne A, Agin V, Maubert E, Dauphinot L, Potier MC, Plawinski L, Castel H, Hommet Y, Munuera J, Montaner J, Yepes M, Ali C, Vivien D. Age and albumin D site-binding protein control tissue plasminogen activator levels: neurotoxic impact. *Brain.* 2009;132(Pt 8):2219-30.
152. Diaz-Otero JM, Garver H, Fink GD, Jackson WF, Dorrance AM. Aging is associated with changes to the biomechanical properties of the posterior cerebral artery and parenchymal arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016;310(3):H365-75.
153. Bake S, Sohrabji F. 17beta-estradiol differentially regulates blood-brain barrier permeability in young and aging female rats. *Endocrinology.* 2004;145(12):5471-5.
154. Wilson AC, Clemente L, Liu T, Bowen RL, Meethal SV, Atwood CS. Reproductive hormones regulate the selective permeability of the blood-brain barrier. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1782(6):401-7.
155. Maggioli E, McArthur S, Mauro C, Kieswich J, Kusters DHM, Reutelingsperger CPM, Yaqoob M, Solito E. Estrogen protects the blood-brain barrier from inflammation-induced disruption and increased lymphocyte trafficking. *Brain Behav Immun.* 2016;51:212-22.
156. Saenger AK, Christenson RH. Stroke biomarkers: progress and challenges for diagnosis, prognosis, differentiation, and treatment. *Clin Chem.* 2010;56(1):21-33.
157. Li Q, Gao X, Yao Z, Feng X, He H, Xue J, Gao P, Yang L, Cheng X, Chen W, Yang Y. Permeability Surface of Deep Middle Cerebral Artery Territory on Computed Tomographic Perfusion Predicts Hemorrhagic Transformation After Stroke. *Stroke.* 2017;48(9):2412-8.
158. Balami JS, Chen RL, Grunwald IQ, Buchan AM. Neurological complications of acute ischaemic stroke. *Lancet Neurol.* 2011;10(4):357-71.
159. Teng D, Pannell JS, Rennert RC, Li J, Li YS, Wong VW, Chien S, Khalessi AA. Endothelial trauma from mechanical thrombectomy in acute stroke: in vitro live-cell platform with animal validation. *Stroke.* 2015;46(4):1099-106.
160. Mańkiewicz MA, Szarmach A, Sabisz A, Cabała WJ, Szurowska E, Winklewski PJ. Blood-brain barrier permeability and physical exercise. *J Neuroinflammation.* 2019;16(1):15.
161. Zhang Y, Zhang P, Shen X, Tian S, Wu Y, Zhu Y, Jia J, Wu J, Hu Y. Early exercise protects the blood-brain barrier from ischemic brain injury via the regulation of MMP-9 and occludin in rats. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):11096-112.

162. Yang YR, Wang RY, Wang PS. Early and late treadmill training after focal brain ischemia in rats. *Neurosci Lett*. 2003;339(2):91-4.
163. Quirié A, Hervieu M, Garnier P, Demougeot C, Mossiat C, Bertrand N, Martin A, Marie C, Prigent-Tessier A. Comparative effect of treadmill exercise on mature BDNF production in control versus stroke rats. *PLoS One*. 2012;7(9):e44218.
164. Liu N, Huang H, Lin F, Chen A, Zhang Y, Chen R, Du H. Effects of treadmill exercise on the expression of netrin-1 and its receptors in rat brain after cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2011;194:349-58.
165. Chang HC, Yang YR, Wang SG, Wang RY. Effects of treadmill training on motor performance and extracellular glutamate level in striatum in rats with or without transient middle cerebral artery occlusion. *Behav Brain Res*. 2009;205(2):450-5.
166. Enzinger C, Dawes H, Johansen-Berg H, Wade D, Bogdanovic M, Collett J, Guy C, Kischka U, Ropele S, Fazekas F, Matthews PM. Brain activity changes associated with treadmill training after stroke. *Stroke*. 2009;40(7):2460-7.
167. Langhammer B, Lindmark B. Functional exercise and physical fitness post stroke: the importance of exercise maintenance for motor control and physical fitness after stroke. *Stroke Res Treat*. 2012;2012:864835.
168. Matsuda F, Sakakima H, Yoshida Y. The effects of early exercise on brain damage and recovery after focal cerebral infarction in rats. *Acta Physiol (Oxf)*. 2011;201(2):275-87.
169. van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci*. 2009;32(5):283-90.
170. Mokhtarzade M, Motl R, Negaresh R, Zimmer P, Khodadoost M, Baker JS, Patel D, Majdinasab N, Ranjbar R. Exercise-induced changes in neurotrophic factors and markers of blood-brain barrier permeability are moderated by weight status in multiple sclerosis. *Neuropeptides*. 2018;70:93-100.
171. Shah S, Vanclay F, Cooper B. Improving the sensitivity of the Barthel Index for stroke rehabilitation. *J Clin Epidemiol*. 1989;42(8):703-9.
172. Lee SY, Kim DY, Sohn MK, Lee J, Lee SG, Shin YI, Kim SY, Oh GJ, Lee YH, Lee YS, Joo MC, Lee SY, Ahn J, Chang WH, Choi JY, Kang SH, Kim IY, Han J, Kim YH. Determining the cut-off score for the Modified Barthel Index and the Modified Rankin Scale for assessment of functional independence and residual disability after stroke. *PLoS One*. 2020;15(1):e0226324.
173. Mahoney FI, Barthel DW. Functional Evaluation: The Barthel Index. *Md State Med J*. 1965;14:61-5.
174. Nave AH, Kröber JM, Brunecker P, Fiebach JB, List J, Grittner U, Endres M, Meisel A, Flöel A, Ebinger M. Biomarkers and perfusion--training-induced changes after stroke (BAPTISe): protocol of an observational study accompanying a randomized controlled trial. *BMC Neurol*. 2013;13:197.
175. Flöel A, Werner C, Grittner U, Hesse S, Jöbges M, Knauss J, Seifert M, Steinhagen-Thiessen E, Gövercin M, Dohle C, Fischer W, Schlieder R, Nave AH, Meisel A, Ebinger M, Wellwood I. Physical fitness training in Subacute Stroke (PHYS-STROKE)-study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2014;15:45.
176. Nave AH, Rackoll T, Grittner U, Bläsing H, Gorsler A, Nabavi DG, Audebert HJ, Klostermann F, Müller-Werdan U, Steinhagen-Thiessen E, Meisel A, Endres M, Hesse S, Ebinger M, Flöel A. Physical Fitness Training in Patients with Subacute Stroke (PHYS-STROKE): multicentre, randomised controlled, endpoint blinded trial. *Bmj*. 2019;366:l5101.
177. Rackoll T, Nave AH, Ebinger M, Endres M, Grittner U, Flöel A; ; for the PHYS-Stroke study group. Physical Fitness Training in Patients with Subacute Stroke (PHYS-

- STROKE): Safety analyses of a randomized clinical trial. *Int J Stroke*. 2021; 7:17474930211006286.
178. Clas P, Groeschel S, Wilke M. A semi-automatic algorithm for determining the demyelination load in metachromatic leukodystrophy. *Acad Radiol*. 2012;19(1):26-34.
179. de Haan B, Clas P, Juenger H, Wilke M, Karnath HO. Fast semi-automated lesion demarcation in stroke. *Neuroimage Clin*. 2015;9:69-74.
180. Uyttenboogaart M, Stewart R, Vroomen P, De Keyser J, Luijckx G-J. Optimizing Cutoff Scores for the Barthel Index and the Modified Rankin Scale for Defining Outcome in Acute Stroke Trials. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2005;36:1984-7.
181. Strbian D, Durukan A, Pitkonen M, Marinkovic I, Tatlisumak E, Pedrono E, Abo-Ramadan U, Tatlisumak T. The blood-brain barrier is continuously open for several weeks following transient focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 2008;153(1):175-81.
182. Henning EC, Latour LL, Warach S. Verification of enhancement of the CSF space, not parenchyma, in acute stroke patients with early blood-brain barrier disruption. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008;28(5):882-6.
183. Liu HS, Chung HW, Chou MC, Liou M, Wang CY, Kao HW, Chiang SW, Juan CJ, Huang GS, Chen CY. Effects of Microvascular Permeability Changes on Contrast-Enhanced T1 and Pharmacokinetic MR Imagings After Ischemia. *Stroke*. 2013;44(7):1872-7.
184. Taheri S, Gasparovic C, Huisa BN, Adair JC, Edmonds E, Prestopnik J, Grossetete M, Shah NJ, Wills J, Qualls C, Rosenberg GA. Blood-brain barrier permeability abnormalities in vascular cognitive impairment. *Stroke*. 2011;42(8):2158-63.
185. Al-Kassab S, Skyhøj Olsen T, Skriver EB. Blood-brain barrier integrity in patients with cerebral infarction investigated by computed tomography and serum-CSF-albumin. *Acta Neurol Scand*. 1981;64(6):438-45.
186. Niebrój-Dobosz I, Mariam AG, Lukasiuk M, Rafałowska J. Blood-cerebrospinal fluid barrier integrity in cerebral infarction. *Neuropatol Pol*. 1992;30(1):29-33.
187. Horsch AD, Dankbaar JW, van Seeters T, Niesten JM, Luitse MJ, Vos PC, van der Schaaf IC, Biessels GJ, van der Graaf Y, Kappelle LJ, Mali WP, Velthuis BK. Relation between stroke severity, patient characteristics and CT-perfusion derived blood-brain barrier permeability measurements in acute ischemic stroke. *Clin Neuroradiol*. 2016;26(4):415-21.
188. Fan X, Jiang Y, Yu Z, Yuan J, Sun X, Xiang S, Lo EH, Wang X. Combination approaches to attenuate hemorrhagic transformation after tPA thrombolytic therapy in patients with poststroke hyperglycemia/diabetes. *Adv Pharmacol*. 2014;71:391-410.
189. Paciaroni M, Bandini F, Agnelli G, Tsigoulis G, Yaghi S, Furie KL, Tadi P, Becattini C, Zedde M, Abdul-Rahim AH, Lees KR, Alberti A, Venti M, Acciarresi M, D'Amore C, Mosconi MG, Cimini LA, Altavilla R, Volpi G, Bovi P, Carletti M, Rigatelli A, Cappellari M, Putaala J, Tomppo L, Tatlisumak T, Marcheselli S, Pezzini A, Poli L, Padovani A, Masotti L, Vannucchi V, Sohn SI, Lorenzini G, Tassi R, Guideri F, Acampa M, Martini G, Ntaios G, Athanasakis G, Makaritsis K, Karagkiozi E, Vadikolias K, Liantinioti C, Chondrogianni M, Mumoli N, Consoli D, Galati F, Sacco S, Carolei A, Tiseo C, Corea F, Ageno W, Bellesini M, Colombo G, Silvestrelli G, Ciccone A, Lanari A, Scoditti U, Denti L, Mancuso M, Maccarrone M, Ulivi L, Orlandi G, Giannini N, Gialdini G, Tassinari T, De Lodovici ML, Bono G, Rueckert C, Baldi A, D'Anna S, Toni D, Letteri F, Giuntini M, Lotti EM, Flomin Y, Pieroni A, Kargiotis O, Karapanayiotides T, Monaco S, Maimone Baronello M, Csiba L, Szabó L, Chiti A, Giorli E, Del Sette M, Imberti D, Zabzuni D, Doronin B, Volodina V, Michel P, Vanacker P, Barlinn K, Pallesen LP, Barlinn J, Deleu D, Melikyan G, Ibrahim F, Akhtar N, Gourbali V, Caso V. Hemorrhagic Transformation in Patients With Acute

Ischemic Stroke and Atrial Fibrillation: Time to Initiation of Oral Anticoagulant Therapy and Outcomes. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(22):e010133.

190. Reeson P, Tennant KA, Gerrow K, Wang J, Weiser Novak S, Thompson K, Lockhart KL, Holmes A, Nahirney PC, Brown CE. Delayed Inhibition of VEGF Signaling after Stroke Attenuates Blood–Brain Barrier Breakdown and Improves Functional Recovery in a Comorbidity-Dependent Manner. *The Journal of Neuroscience.* 2015;35(13):5128-43.

191. Tu W-J, Dong X, Zhao S-J, Yang D-G, Chen H. Prognostic Value of Plasma Neuroendocrine Biomarkers in Patients with Acute Ischaemic Stroke. *Journal of Neuroendocrinology.* 2013;25(9):771-8.

192. Ortiz GG, Pacheco-Moisés FP, Macías-Islas MÁ, Flores-Alvarado LJ, Mireles-Ramírez MA, González-Renovato ED, Hernández-Navarro VE, Sánchez-López AL, Alatorre-Jiménez MA. Role of the blood-brain barrier in multiple sclerosis. *Arch Med Res.* 2014;45(8):687-97.

193. Waubant E. Biomarkers indicative of blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis. *Dis Markers.* 2006;22(4):235-44.

194. Liebner S, Dijkhuizen RM, Reiss Y, Plate KH, Agalliu D, Constantin G. Functional morphology of the blood-brain barrier in health and disease. *Acta Neuropathol.* 2018;135(3):311-36.

195. Jiang Q, Zhang ZG, Ding GL, Zhang L, Ewing JR, Wang L, Zhang R, Li L, Lu M, Meng H, Arbab AS, Hu J, Li QJ, Pourabdollah Nejad D S, Athiraman H, Chopp M. Investigation of neural progenitor cell induced angiogenesis after embolic stroke in rat using MRI. *NeuroImage.* 2005;28(3):698-707.

196. Masrur S, Cox M, Bhatt DL, Smith EE, Ellrodt G, Fonarow GC, Schwamm L. Association of Acute and Chronic Hyperglycemia With Acute Ischemic Stroke Outcomes Post-Thrombolysis: Findings From Get With The Guidelines-Stroke. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(10):e002193.

197. Marzolini S, Robertson AD, Oh P, Goodman JM, Corbett D, Du X, MacIntosh BJ. Aerobic Training and Mobilization Early Post-stroke: Cautions and Considerations. *Frontiers in Neurology.* 2019;10(1187).

198. Arba F, Rinaldi C, Caimano D, Vit F, Busto G, Fainardi E. Blood-Brain Barrier Disruption and Hemorrhagic Transformation in Acute Ischemic Stroke: Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Neurol.* 2020;11:594613.

199. Neumann-Haefelin C, Brinker G, Uhlenkücken U, Pillekamp F, Hossmann KA, Hoehn M. Prediction of hemorrhagic transformation after thrombolytic therapy of clot embolism: an MRI investigation in rat brain. *Stroke.* 2002;33(5):1392-8.

200. Pande SD, Win MM, Khine AA, Zaw EM, Manoharraj N, Lolong L, Tin AS. Haemorrhagic transformation following ischaemic stroke: A retrospective study. *Scientific Reports.* 2020;10(1):5319.

201. Maeshima S, Okamoto S, Okazaki H, Mizuno S, Asano N, Tsunoda T, Maeda H, Masaki M, Sonoda S. Hemorrhagic Transformation in Patients with Cerebral Infarction Referred to a Rehabilitation Hospital. *Interventional Neurology.* 2015;4(3-4):69-74.

202. Ramos-Araque ME, Chavarría-Miranda A, Gómez-Vicente B, López-Cancio Martínez E, Castañón Apilánez M, Castellanos M, López Fernández M, Tejada Meza H, Marta Moreno J, Tejada García J, Beltrán Rodríguez I, de la Riva P, Díez N, Arias Rivas S, Santamaría Cadavid M, Bravo Anguiano Y, Bártulos Iglesias M, Palacio Portilla EJ, Revilla García M, Timiraos Fernández JJ, Arenaza Basterrechea N, Maciñeiras Montero JL, Vicente Alba P, Julián Villaverde FJ, Pinedo Brochado A, Azkune I, Mar FM, Luna A, Arenillas JF. Oral Anticoagulation and Risk of Symptomatic Hemorrhagic Transformation

- in Stroke Patients Treated With Mechanical Thrombectomy: Data From the Nordictus Registry. *Frontiers in neurology*. 2020;11:594251-.
203. Geng J, Wang L, Qu M, Song Y, Lin X, Chen Y, Mamtilahun M, Chen S, Zhang Z, Wang Y, Yang GY. Endothelial progenitor cells transplantation attenuated blood-brain barrier damage after ischemia in diabetic mice via HIF-1 α . *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):163.
204. Sweeney MD, Zhao Z, Montagne A, Nelson AR, Zlokovic BV. Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. *Physiol Rev*. 2019;99(1):21-78.
205. Ku MC, Waiczies S, Niendorf T, Pohlmann A. Assessment of Blood Brain Barrier Leakage with Gadolinium-Enhanced MRI. *Methods Mol Biol*. 2018;1718:395-408.
206. Heye AK, Culling RD, Valdés Hernández Mdel C, Thrippleton MJ, Wardlaw JM. Assessment of blood-brain barrier disruption using dynamic contrast-enhanced MRI. A systematic review. *Neuroimage Clin*. 2014;6:262-74.
207. Zach L, Guez D, Last D, Daniels D, Grober Y, Nissim O, Hoffmann C, Nass D, Talianski A, Spiegelmann R, Cohen ZR, Mardor Y. Delayed contrast extravasation MRI for depicting tumor and non-tumoral tissues in primary and metastatic brain tumors. *PLoS One*. 2012;7(12):e52008.

V Eidesstaatliche Versicherung

Ich, Sarah Müller, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Blut-Hirnschranken-Permeabilität im subakuten Stadium des ischämischen Schlaganfalls: MRT-Bildgebung, Blut-Biomarker und funktionelles Langzeit-Outcome“/ ‚Blood-Brain Barrier Permeability in Subacute Ischemic Stroke: MR-Imaging, Blood Biomarkers and Functional Long-term Outcome‘ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet. Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht. Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte. Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

14. Oktober 2021

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Sarah Müller hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Sarah Müller, Anna Kufner, Andrea Dell Orco, Torsten Rackoll, Ralf Mекle, Sophie K Piper, Jochen Fiebach, Kersten Villringer, Agnes Flöel, Matthias Endres, Martin Ebinger, Alexander H Nave. Evolution of blood-brain barrier permeability in subacute ischemic stroke and associations with serum biomarkers and functional outcome, *Front. Neurol.*, 20 October 2021, doi: 10.3389 /fneur.2021.730923.

Beitrag im Einzelnen:

Nach ausführlicher Initiierung und unter Supervision führte die Promovendin die Erhebung der neurologischen Skala (NIHSS) und die entsprechenden Blutentnahmen inklusive Probenverarbeitung (Zentrifugation, Probenlagerung, Probenversand) im Rahmen der *BAPTISe*-Visiten durch.

Die Promovendin pflegte die Research Electronic Data Capture (REDCap)-Datenbank der *BAPTISe* Studie und führte unter Supervision durch PD Dr. med. A. H. Nave das detaillierte Monitoring der Datenbank durch. Fehlende Daten wurden durch die Promovendin ergänzt.

Durch die Promovendin wurde der Transfer der MRT-Primärdaten vom standort-basierten Server unter Supervision von Dr. R. Mекle sowie die Transformation in das für die Analysen geeignete Format eigenständig realisiert. Nach ausführlicher Einweisung und in Rücksprache mit Dr. K. Villringer vollzog die Promovendin die Bearbeitung und qualitative und semi-qualitative Auswertung der MRT-Daten.

Die statistische Datenauswertung wurde durch die Promovendin nach Absolvierung einer SPSS-Fortbildung und in Rücksprache mit Dr. S. Piper durchgeführt. Die Promovendin erstellte die Abbildungen (Figure 1-2) und Tabellen (Table 1-3, Table 5-7, Table S1-S7) sowie einen ersten Entwurf des Manuskripts selbstständig. Diese wurden zunächst von PD Dr. med. A. H. Nave und anschließend von allen Koautor*innen überarbeitet.

In Kommunikation mit dem Journal und den Reviewer*innen war die Promovendin gemeinsam mit dem korrespondierenden Autor PD Dr. med. A. H. Nave involviert. Die Revision des eingereichten Manuskripts erfolgte durch die Promovendin.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers PD Dr. med.
Alexander Heinrich Nave

Unterschrift der Doktorandin

VI Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

VII Publikationsliste

1. Publikation: Sarah Müller, Anna Kufner, Andrea Dell Orco, Torsten Rackoll, Ralf Mекle, Sophie K Piper, Jochen Fiebach, Kersten Villringer, Agnes Flöel, Matthias Endres, Martin Ebinger, Alexander H Nave. Evolution of blood-brain barrier permeability in subacute ischemic stroke and associations with serum biomarkers and functional outcome, *Front. Neurol.*, 20 October 2021, doi: 10.3389/fneur.2021.730923.

Link: <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.730923>

VIII Danksagung

Mein Dank gilt zunächst Privatdozent Dr. med. Alexander Heinrich Nave für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit. Er stand mir von der Entwicklung der Fragestellung bis zum Abschluss der Arbeit jederzeit mit konstruktiver Kritik unterstützend zur Seite. Ebenso gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. Dr. phil. Martin Ebinger, der es mir ermöglicht hat diese Dissertation im Rahmen der *BAPTISe* Studie zu realisieren.

Weiterhin möchte ich mich bei Dr. med. Anna Kufner Ibarroule für ihre die fachliche und emotionale Unterstützung herzlich bedanken. Andrea Dell'Orco gilt mein großer Dank für seine stets geduldige Unterstützung bei IT-Angelegenheiten. Ebenso möchte ich Frau Dr. med. Kersten Villringer, Herrn Dr. Ralf Mекle und Herrn Prof. Dr. med. Fiebach für die Unterstützung und den Einblick in der Welt der Neuroradiologie danken.

Zuletzt gilt der größte Dank meinen Lieben: meinen Eltern, die mir meine Ausbildung ermöglicht haben, und meinen Freund*innen, die mich stets mit größter Geduld und Verständnis unterstützt und in der Fertigstellung dieser Arbeit bekräftigt haben.