

Aus dem
CharitéCentrum für diagnostische und interventionelle
Radiologie und Nuklearmedizin
Institut für Neuroradiologie
Direktor: Prof. Dr. med. Bernd Hamm

Habilitationsschrift

Pathophysiologie und Behandlung der Blutungsexpansion bei akuten intrazerebralen Blutungen

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Experimentelle Radiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät

Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Frieder Schlunk

Eingereicht: Januar 2022

Dekan: Prof. Dr. Axel R. Pries

1. Gutachter/in: Prof. Dr. Elke Hattingen
2. Gutachter/in: Prof. Dr. Thorsten Steiner

Inhaltsverzeichnis:

ABKÜRZUNGEN.....	II
1. Einleitung.....	1
1.1 <i>Epidemiologischer Hintergrund</i>	1
1.2 <i>Blutungsexpansion der intrazerebralen Blutung</i>	1
1.3 <i>Mechanismus der Blutungsexpansion</i>	2
1.4 <i>Behandlungsmöglichkeiten der Blutungsexpansion intrazerebraler Blutungen</i>	3
1.5 <i>Zielsetzung</i>	4
2. Eigene Arbeiten	6
2.1 <i>Sekundäre Gefäßruptur und Blutung als möglicher Mechanismus der Blutungsexpansion bei experimentellen intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 1)</i>	6
2.2 <i>Einfluss der Blutdruckhöhe in den ersten 24 Stunden auf neurologisches Outcome und Blutungsgröße bei intrazerebralen Blutungen mit und ohne Warfarineinnahme (Originalarbeit 2)</i>	14
2.3 <i>Zerebrale Mikroblutungen und der Effekt einer intensiven Blutdrucksenkung auf Blutungsexpansion und funktionelles Outcome. Eine Sekundäranalyse der randomisierten klinischen Studie ATACH-2 (Originalarbeit 3)</i>	27
2.4 <i>Antikoagulation mit Dabigatran führt nicht zu höherem Blutungsvolumen bei experimentellen intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 4)</i>	39
2.5 <i>Kontrastmittelextravasation bei intrazerebralen Blutungen assoziiert mit oraler Antikoagulation dargestellt mit Dual-Energy Computertomographie (Originalarbeit 5)</i> ...	49
2.6 <i>Rekombinanter Faktor VII und Prothrombinkomplex-Konzentrat sind gleich effektiv in der Reduktion von Blutungswachstum bei warfarinassozierten intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 6)</i>	59
2.7 <i>Eine Behandlung mit Fingolimod (FTY720) hat keinen positiven Effekt auf das Outcome in einem experimentellen Modell der intrazerebralen Blutung (Originalarbeit 7)</i>	64
3. Diskussion	73
3.1 <i>Pathophysiologie</i>	73
3.2 <i>Behandlungsoptionen</i>	77
3.3 <i>Limitationen</i>	79
4. Zusammenfassung.....	80
5. Liste der in dieser Habilitation zusammengefassten Veröffentlichungen.....	82
6. Literaturangaben	83
DANKSAGUNG	87
ERKLÄRUNG	88

ABKÜRZUNGEN

CAA	Zerebrale Amyloidangiopathie (<i>engl. cerebral amyloid angiopathy</i>)
DOAC	Direkte Orale Antikoagulantien (<i>engl. direct oral anticoagulants</i>)
CTA	Computertomographische Angiographie
CT	Computertomographie
FAST	<i>Factor Seven for Acute Hemorrhagic Stroke</i>
STOP-IT	<i>The Spot Sign for Predicting and Treating ICH Growth Study</i>
SPOTLIGHT	<i>“Spot Sign” Selection of Intracerebral Hemorrhage to Guide Hemostatic Therapy</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay</i>
ATACH-2	<i>Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage-2</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
CI	Konfidenzintervall (<i>engl. confidence interval</i>)
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
PCC	Prothrombinkomplex-Konzentrat (<i>engl. prothrombin complex concentrate</i>)
rFVIIa	Rekombinanter Aktivierter Faktor VII
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
FTY720	Fingolimod
MMP-9	Matrixmetalloproteinase-9
CMB	Zerebrale Mikroblutung (<i>engl. cerebral microbleed</i>)
CSVD	<i>Cerebral small vessel disease</i>

1. Einleitung

1.1 Epidemiologischer Hintergrund

Intrazerebrale Blutungen sind definiert als Einblutung ins Hirnparenchym. Wegen der schlagartig auftretenden Symptomatik werden sie, trotz eines anderen Pathomechanismus, zusammen mit dem ischämischen Hirninfarkt unter dem Überbegriff Schlaganfall eingeordnet. Man unterscheidet primäre von sekundären intrazerebralen Blutungen. Häufigste Ursachen der primären intrazerebralen Blutung, mit der sich diese Arbeit beschäftigt, sind die arterielle Hypertension und die zerebrale Amyloidangiopathie (CAA). Von sekundären intrazerebralen Blutungen spricht man falls der Blutung eine maligne Erkrankung (hirneigener Tumor, Metastasen), Gefäßfehlbildungen (arteriovenöse Malformation, Aneurysma, Kavernom) oder eine Gerinnungsstörung zugrunde liegen.¹⁻³

Ungefähr 6,5 bis 19,6 % aller Schlaganfälle sind verursacht durch intrazerebrale Blutungen, was gleichzusetzen ist mit ungefähr 2 Millionen neuen Fällen pro Jahr weltweit.^{1, 3-5} Eine besonders hohe Inzidenz weisen hierbei Länder mit geringem Einkommen auf.⁶ Die Häufigkeit nimmt mit dem Alter zu und Männer sind häufiger betroffen als Frauen.⁵ Die Prognose der Erkrankung hat sich in den letzten Jahren trotz einer erhöhten Anzahl von Hospitalisierungen nicht verbessert.⁷ Die Mortalität einen Monat nach Krankheitsbeginn beträgt ca. 40 %. Nach einem Jahr sind 75 % der Patienten entweder verstorben oder funktionell eingeschränkt.^{8, 9} Obwohl sich die Anzahl von Therapiestudien in den vergangenen Jahren deutlich erhöht hat, gibt es unverändert keine befriedigenden Behandlungsoptionen.¹⁰

1.2 Blutungsexpansion der intrazerebralen Blutung

Das lohnenswerteste Therapieziel bei diesem Krankheitsbild ist es eine noch aktive Blutung zu stoppen, um weiteres Wachstum zu verhindern. Bei ungefähr 30 % der Patienten kommt es noch nach Ankunft im Krankenhaus zu einer weiteren Vergrößerung der intrazerebralen Blutung.^{11, 12} Für eine klinisch relevante Blutungsexpansion gibt es verschiedene Definitionen. Für klinische Studien wird häufig ein cut-off verwendet, z.B. bei einem absoluten Volumenzuwachs von >6 ml bzw. 33 % zwischen initialer und follow-up Bildgebung.⁹ Pathophysiologisch ist der Begriff streng genommen falsch, da die Blutungsexpansion eigentlich direkt nach der initialen

Gefäßruptur beginnt und nicht erst nach Durchführung der initialen Bildgebung zur Diagnosestellung. Jedoch ist dieser Begriff in der Literatur fest verankert und macht innerhalb des Diagnose- und Behandlungsalgorithmus Sinn. Er wird deshalb auch hier weiterverwendet. Verschiedene Risikofaktoren machen den Blutungsprozess wahrscheinlicher. Dazu zählt die Einnahme von oralen Antikoagulanzen, wobei es wichtig ist zwischen Vitamin-K-Antagonisten und den neueren, direkten oralen Antikoagulanzen (DOACs) zu unterscheiden, da letztere ein wahrscheinlich etwas geringeres Risiko darstellen.¹³⁻¹⁵ Weitere Risikofaktoren sind das initiale Blutungsvolumen (größere Blutungen tendieren eher dazu weiter zu wachsen), die frühe Präsentation des Patienten im Krankenhaus nach Symptombeginn sowie das Vorhandensein eines CTA-Spot Signs (einer sichtbaren Ausschwemmung von Kontrastmittel in die Blutung).^{9, 16, 17} Wann genau im Verlauf der Erkrankung Blutungswachstum stattfindet und welchen Gesetzen sie folgt, ist noch nicht ausreichend erforscht und bedarf dringend weiterer Klärung. Bekannt ist dass Blutungsexpansion vor allem in den ersten 3 Stunden nach Symptombeginn stattfindet, aber in Einzelfällen auch später als 6 Stunden noch zu beobachten ist.^{18, 19} Das Blutungsvolumen stellt insgesamt den bedeutendsten prognostischen Faktor dar im Hinblick auf Morbidität und Mortalität.²⁰

1.3 Mechanismus der Blutungsexpansion

Aufgrund der großen klinischen Bedeutung der finalen Blutungsgröße, muss es das Ziel sein, Patienten mit einer Risikokonstellation für weitere Blutungsexpansion zunächst korrekt zu diagnostizieren und sie danach einer therapeutischen Intervention zukommen zu lassen. Dass wir von diesem Ziel noch entfernt sind, liegt wahrscheinlich auch an unserem mangelnden Wissen über die Pathophysiologie des Blutungswachstums. Man vermutet, dass initial ein chronisch vorgeschädigtes Gefäß spontan einreißt (wobei auch hier über den Triggermechanismus nur spekuliert werden kann), worauf sich ein initiales Hämatom bildet. Aber was passiert danach? Man ging früher davon aus, dass die Blutung monophasisch und linear wächst mit dem initial gerissenen Gefäß als einzige Blutungsquelle.⁵ Fisher veröffentlichte 1971 eine neuropathologische Studie, in der er zeigen konnte, dass in der Umgebung einer initialen Blutung multiple sekundär rupturierte Gefäße zu finden sind. Er schloss daraus, dass Blutungsexpansion das Ergebnis der initialen Blutungsquelle in Kombination mit nachgeordneten Sekundärblutungen, Tertiärblutungen usw. ist. Diese

Vermutung ging als sogenannte Avalanche-Theorie in die Geschichte ein.²¹ Mehrere Beobachtungen stützen diese Annahme. Intrazerebrale Blutungen sind oft irregulär konfiguriert und ändern ihre Ausbreitungsrichtung in der akuten Phase, was die makroskopische Entsprechung eines Zerreißens lokaler Gefäßcluster sein könnte.²² ²³ Suggestiv für Sekundärblutungen ist auch das bereits weiter oben erwähnte CTA Spot-Sign, insbesondere wenn es mehrfach simultan vorliegt.^{24, 25} In einer Studie an 15 Patienten war die Tendenz zur Blutungsexpansion am größten an Stellen der Blutungsoberfläche, die dem Blutungszentrum am nächsten lagen.²⁶ Sekundärblutungen könnten somit am ehesten nahe dem Blutungszentrum entstehen, während in der Peripherie, bei steigendem Gegendruck von Hirngewebe, es häufiger zur Strömungsverlangsamung und vermehrten Gerinnungsvorgängen kommen mag. Angenommen Fishers Theorie ist korrekt, bleibt es bislang unklar, welchen Gesetzmäßigkeiten sekundäre Gefäßrupturen und Blutungen folgen.

1.4 Behandlungsmöglichkeiten der Blutungsexpansion intrazerebraler Blutungen

Die praktikabelste und vielversprechendste Lösung für eine Behandlung der Blutungsexpansion wäre die Möglichkeit einer Gabe eines intravenös applizierbaren Medikaments zur Hämostase. Dieses könnte nach Diagnosestellung direkt auf dem CT-Tisch im Krankenhaus beziehungsweise gegebenenfalls schon in einem entsprechend ausgestatteten Rettungswagen verabreicht werden.²⁷ Grundsätzlich ist hier zwischen Patienten zu unterscheiden, welche ein gerinnungshemmendes Medikament einnehmen und welche nicht.

Bei Patienten ohne Einnahme eines gerinnungshemmenden Medikaments zeigte in der Vergangenheit die Behandlung mit rekombinantem Faktor VIIa (FAST-trial) eine Reduktion der Blutungsexpansion jedoch keine Besserung des Outcomes.²⁸ Als möglicher Grund wurde damals der Einschluss von Patienten mit bereits sistierter Blutung in die Behandlungsgruppe diskutiert. Diese Subgruppe profitiert nicht von der Behandlung, ist aber möglichen Nebenwirkungen wie z.B. thromboembolischen Komplikationen ausgesetzt. In zwei weiteren randomisierten klinischen Studien (STOP-IT und SPOTLIGHT) wurde das Medikament deshalb nur verabreicht falls ein CTA-Spot Signs als möglicher Marker einer noch aktiven Blutung vorlag.²⁹ Auch diese Studien zeigten jedoch nicht den gewünschten Behandlungserfolg, möglicherweise

aufgrund einer insgesamt zu späten Medikamentengabe beziehungsweise einer unzureichenden Sensitivität des Spot Signs.

Auch Tranexamsäure, eine Substanz, welche die Bindung von Plasminogen an Thrombin verhindert, wurde in mehreren klinischen Studien untersucht. Während eine aktuelle Meta-Analyse eine Reduktion der Mortalität bei Patienten mit Subarachnoidalblutung beschreibt, konnte ein ähnlicher Effekt bei der intracerebralen Blutung nicht beobachtet werden.³⁰⁻³²

Bei der Behandlung von intrazerebralen Blutungen, die mit oralen Antikoagulanzen einhergehen, unterscheidet man zwischen der Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten und DOAKs. Da Vitamin-K-Antagonisten die γ -Carboxylierung der Gerinnungsfaktoren hemmen, wird im akuten Setting intravenöses Vitamin K verabreicht. Zusätzlich wird Prothrombinkomplex-Konzentrat verabreicht, welches die defizienten Gerinnungsfaktoren FII, FVII, FIX und FX ersetzt und die Gerinnungsfunktion so sofort wiederherstellt.³³

Bei DOAKs werden zwei Wirkstoffklassen unterschieden. Die direkten Thrombin-Inhibitoren (Dabigatran) und Faktor Xa-Inhibitoren (Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban, Betrixaban). Als Antidot stehen neben der Gabe von Aktivkohle (soll Absorption verhindern) mittlerweile spezifische Medikamente zur Verfügung (Andexanet alfa und Idarucizumab).³⁴

1.5 Zielsetzung

Im Rahmen dieser Habilitationsschrift werden folgende Fragestellungen bearbeitet:

- Entstehen im Rahmen der Blutungsexpansion bei intrazerebralen Blutungen Sekundärblutungen und wenn ja, welchen Gesetzmäßigkeiten unterliegen diese (Originalarbeit 1)?
- Welchen Einfluss hat der systemische Blutdruck in den ersten 24 Stunden auf die Blutungsexpansion und das neurologische Outcome bei intrazerebralen Blutungen, insbesondere vor dem Hintergrund einer Antikoagulation mit Warfarin. (Originalarbeit 2)?
- Sind zerebrale Mikroblutungen vor dem Hintergrund einer intensiven Blutdrucksenkung assoziiert mit einem erhöhten Risiko für prolongierte Blutung und Blutungsexpansion bei intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 3)?

- Wie unterscheidet sich die Blutungsgröße bei experimentellen intrazerebralen Blutungen nach Einnahme von Dabigatran und Warfarin (Originalarbeit 4)?
- Kann eine aktive Blutung bei der experimentellen intrazerebralen Blutung mit moderner CT-Technologie dargestellt und näher charakterisiert werden? Wie wirken sich hier verschiedene orale Antikoagulanzen aus (Originalarbeit 5)?
- Ist rekombinanter Faktor VIIa geeignet zur Reduktion des Blutungswachstums bei warfarinassozierten intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 6)?
- Kann eine Behandlung mit Fingolimod (FTY720) Sekundärschäden in einem experimentellen Modell der intrazerebralen Blutung verhindern (Originalarbeit 7)?

2. Eigene Arbeiten

2.1 Sekundäre Gefäßruptur und Blutung als möglicher Mechanismus der Blutungsexpansion bei experimentellen intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 1)

Frieder Schlunk, Maximilian Böhm, Gregoire Boulouis, Tao Qin, Michal Arbel, Isra Tamim, Paul Fischer, Brian J. Bacsikai, Matthew P. Frosch, Matthias Endres, Steven M. Greenberg, Cenk Ayata

(Stroke. 2019;50:1210-1215. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.118.021732>)

Der Pathomechanismus der Blutungsexpansion bei intrazerebralen Blutungen ist weitestgehend unbekannt. Neuropathologische Studien lassen vermuten, dass der Masseneffekt einer wachsenden Blutung Gefäße durch Druck- und Scherkräfte zum Zerreißen bringt, was zu weiterem Blutungswachstum führt.

Um dies experimentell zu untersuchen wurde eine intrazerebrale Blutung durch intrastriatale Injektion eines flüssigen Polymers, welches bei Kontakt mit Gewebe koaguliert, simuliert. Es wurde untersucht, ob durch den Masseneffekt Sekundärblutungen entstehen und welches Volumen diese haben (durch Hämoglobin ELISA 15 Minuten nach Injektion).

Sekundärblutungen traten abhängig vom Volumen (4, 7.5 oder 15 μ l) und der Wachstumsgeschwindigkeit (0.05, 0.5, oder 5 μ l/s) der initialen „Blutung“ auf. Antikoagulation (Warfarin, Dabigatran) führte zu deutlich größeren Sekundärblutungen. Um unsere Ergebnisse in einem zweiten Modell zu überprüfen, wurde außerdem intrastriatal Vollblut einer Donormaus injiziert. Zuvor wurde den Mäusen intravenös EvansBlue verabreicht um Sekundärblutungen von der Initialblutung unterscheiden zu können (rote Initialblutung vs. blaue, fluoreszierende Sekundärblutungen). Auch in diesem Modell zeigten sich Sekundärblutungen, welche wiederum nach Antikoagulation deutlich größer waren. Durch Phenylephrin und Labetalol wurde in einem weiteren Experiment der systemische Blutdruck gehoben bzw. gesenkt. Zu beobachten war hier eine Korrelation der Blutdruckhöhe mit der Größe der Sekundärblutungen und zwar sowohl bei antikoagulierten als auch bei nicht antikoagulierten Mäusen.

Unsere Studie lieferte das erste Proof of Concept für das Entstehen von Sekundärblutungen. Unsere Arbeit beschreibt möglicherweise den Pathomechanismus des Blutungswachstums bei intrazerebralen Blutungen.

2.2 Einfluss der Blutdruckhöhe in den ersten 24 Stunden auf neurologisches Outcome und Blutungsgröße bei intrazerebralen Blutungen mit und ohne Warfarineinnahme (Originalarbeit 2)

Frieder Schlunk, Yuchiao Chang, Alison Ayres, Thomas Battey, Anastasia Vashkevich, Miriam Raffeld, Natalia Rost, Anand Viswanathan, M Edip Gurol, Kristin Schwab, Steven M Greenberg, Jonathan Rosand, Joshua N Goldstein

(International Journal of Stroke 2016, Vol. 11(8) 898–909.

<https://doi.org/10.1177/1747493016658300>)

In großen klinischen Studien werden Patienten mit intrazerebralen Blutungen, welche mit Antikoagulation assoziiert sind, häufig ausgeschlossen. Es bleibt somit unklar, ob diese große Patientengruppe von einer therapeutischen Blutdrucksenkung profitiert.

In dieser retrospektiven Arbeit wurden Patienten mit intrazerebralen Blutungen, assoziiert mit oraler Antikoagulation (Warfarineinnahme) mit einer entsprechenden nicht antikoagulierten Kontrollgruppe verglichen. Wichtigstes Einschlusskriterium war die Vorstellung im Krankenhaus <6 h nach Symptombeginn. Mit univariater und multivariabler logistischer Regressionsanalyse wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen dem Blutdruck in den ersten 24 Stunden und der Blutungsexpansion beziehungsweise der Mortalität besteht.

69 Patienten mit intrazerebralen Blutungen assoziiert mit Warfarineinnahme und 69 nicht antikoagulierte Patienten mit intrazerebralen Blutungen wurden in die Studie eingeschlossen. Blutungsexpansion war in 36 % der antikoagulierten und 22 % der nicht antikoagulierten Patienten zu beobachten. Antikoagulierte Patienten hatten einen signifikant niedrigeren Blutdruck in den ersten 24 Stunden im Vergleich zu den nicht antikoagulierten Kontrollpatienten ($p=0,033$). Wir fanden keine Korrelation zwischen dem Blutdruck in den ersten 24 Stunden und Blutungsexpansion beziehungsweise Mortalität nach 30 Tagen in beiden Untersuchungsgruppen.

Wir fanden somit keinen Hinweis darauf, dass der Blutdruck in den ersten 24 Stunden mit vermehrtem Blutungswachstum bei Patienten mit intrazerebraler Blutung nach Warfarineinnahme assoziiert ist.

2.3 Zerebrale Mikroblutungen und der Effekt einer intensiven Blutdrucksenkung auf Blutungsexpansion und funktionelles Outcome. Eine Sekundäranalyse der randomisierten klinischen Studie ATACH-2 (Originalarbeit 3)

Ashkan Shoamanesh, Andrea Morotti, Javier M. Romero, Jamary Oliveira-Filho, **Frieder Schlunk**, Michael J. Jessel, Alison M. Ayres, Anastasia Vashkevich, Kristin Schwab, Mohammad R. Afzal, Christy Cassarly, Renee H. Martin, Adnan I. Qureshi, Steven M. Greenberg, Jonathan Rosand, Joshua N. Goldstein

(JAMA Neurology 2018, 75(7):850-859. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.0454>)

Zerebrale Mikroblutungen sind möglicherweise assoziiert mit einem erhöhten Risiko für prolongierte Blutung und Blutungsexpansion bei intrazerebralen Blutungen.

In dieser Arbeit wurde eine prospektiv geplante Subgruppenanalyse der internationalen randomisierten klinischen Studie ATACH-2 durchgeführt. In die Studie wurden zwischen Mai 2011 und September 2015 1000 Patienten mit akuter intrazerebraler Blutung eingeschlossen. Die Teilnehmer wurden in die Studie eingeschlossen, falls spätestens 4,5 Stunden nach Symptombeginn eine antihypertensive Behandlung begonnen werden konnte.

Für unsere Subgruppenanalyse wurden die Patienten untersucht, welche eine MRT Untersuchung mit auswertbarer axialer T2*-Sequenz erhielten (167 der 1000 Studienteilnehmer) um zerebrale Mikroblutungen zu quantifizieren.

Primärer Endpunkt der Analyse war die Mortalität und das funktionelle Outcome (modified Ranking Scale, 4-6) nach 3 Monaten. Sekundärer Endpunkt war eine Blutungsexpansion von mindestens 33 %.

Bei 120 der 167 Patienten wurden zerebrale Mikroblutungen gefunden. Das Risiko eines schlechten Outcomes (modified Ranking Scale >4) war ähnlich für Patienten mit intensiver vs. herkömmlicher Blutdruckbehandlung bei Patienten mit zerebralen Mikroblutungen (relatives Risiko, 1,19; 95 % CI, 0,61-2,33; p=0,61) und denen ohne zerebrale Mikroblutungen (relatives Risiko, 1,42; 95 % CI, 0,43-4,70; p=0,57). Keine signifikante Interaktion konnte beobachtet werden (Interaktionskoeffizient, 0,18; 95 % CI, -1,20 - 1,55; p=0,80). Ebenso war das Risiko einer Blutungsexpansion nicht

unterschiedlich zwischen den untersuchten Gruppen (Interaktionskoeffizient 0,62; 95 % CI, -1,08 - 2,31; p=0,48).

Zusammenfassend waren zerebrale Mikroblutungen bei Patienten mit intrazerebraler Blutung häufig, hatten aber keinen Einfluss auf den Behandlungserfolg der intensiven Blutdrucksenkung.

2.4 Antikoagulation mit Dabigatran führt nicht zu höherem Blutungsvolumen bei experimentellen intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 4)

Arne Lauer, Flor A. Cianchetti, Elizabeth M. Van Cott, **Frieder Schlunk**, Elena Schulz, Waltraud Pfeilschifter, Helmuth Steinmetz, Chris B. Schaffer, Eng H. Lo, Christian Foerch (*Circulation*. 2011;124:1654-1662. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.035972>)

Die Antikoagulation mit neuen, direkten Antikoagulantien (DOAKs) wie Dabigatran ersetzt inzwischen mehr und mehr die bislang übliche Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten wie Warfarin. Mit unserer Studie wollten wir untersuchen, ob Blutungsexpansion bei einer intrazerebralen Blutung unter Dabigatran geringer ausfällt als mit Warfarin und das Medikament damit einen potentiellen Sicherheitsvorteil bietet.

Hierfür wurden CD-1 Mäuse mit Dabigatran, Warfarin oder Placebo vorbehandelt. Resultierend hatten Dabigatran-Mäuse eine erhöhte partielle Thromboplastinzeit (im Vergleich zu den Kontrollmäusen $p=0,022$). Warfarinmäuse zeigten hingegen eine erhöhte Prothrombinzeit ($p<0,001$). Durch eine stereotaktische Collagenase-VIIs Injektion wurden intrazerebrale Blutungen induziert. 24 Stunden nach Blutungsinduktion hatten Warfarinmäuse deutlich größere Blutungen als die Kontrollmäuse, während Dabigatranmäuse keinen signifikanten Unterschied zu den Kontrollmäusen aufwiesen (Welch ANOVA between-group differences $p=0,007$; Posthoc Analyse mit der Dunnett Methode: Dabigatran versus Kontrolle, $p=0,899$; Warfarin versus Kontrolle, $p<0,001$; Dabigatran versus Warfarin, $p=0,001$).

Zusätzlich wurde ein Modell benutzt, bei dem kortikale Mikroblutungen durch Laser induziert werden. Auch hier waren die Blutungen in Warfarinmäusen vergrößert aber nicht bei Dabigatranmäusen.

Zusammenfassend weisen unsere Daten auf ein möglicherweise besseres Sicherheitsprofil von Dabigatran im Vergleich zu Warfarin im Hinblick auf Blutungsexpansion bei intrazerebralen Blutungen hin.

2.5 Kontrastmittelextravasation bei intrazerebralen Blutungen assoziiert mit oraler Antikoagulation dargestellt mit Dual-Energy Computertomographie (Originalarbeit 5)

Sae-Yeon Won*; **Frieder Schlunk***; Julien Dinkel, Hulya Karatas, Wendy Leung, Kazuhide Hayakawa, Arne Lauer, Helmuth Steinmetz, Eng H. Lo, Christian Foerch, Rajiv Gupta

(*geteilte Erstautorschchaft, *Stroke*. 2013;44:2883-2890.

<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001224>)

Das CTA-Spot Sign (die Extravasation von Kontrastmittel) ist allgemein als Marker einer aktiven Blutung bei intrazerebralen Blutungen angesehen und wird mit weiterer Blutungsexpansion assoziiert. In dieser Studie sollte ein experimentelles Modell der intrazerebralen Blutung etabliert werden, in welchem Kontrastmittelextravasation quantifiziert werden kann. Ziel war es, die genauere Blutungsdynamik bei antikoagulierten (Warfarin, Dabigatran) und nicht antikoagulierten Mäusen zu untersuchen, sowie den Effekt von Prothrombinkomplex-Konzentrat (PCC) auf Warfarin-assoziierte intrazerebrale Blutungen.

Mäuse wurden oral vorbehandelt mit Warfarin, Dabigatran oder Placebo. Ein Teil der Warfarinmäuse wurde in einer Therapiestudie (Prothrombinkomplex-Konzentrat vs. Placebo) untersucht. Intrazerebrale Blutungen wurden induziert durch stereotaktische, intrastriale Injektion von Collagenase VII-s. Kontrastmittel (350 µl Isovue 370 mg/ml) wurde 2-3,5 Stunden nach Blutungsinduktion intravenös appliziert. 30 Minuten nach Kontrastmittelgabe wurden die Mäuse getötet und die Kontrastmittelextravasation wurde quantifiziert durch Messung des Iodgehalts in der Blutung mit Dual-Energy Computertomographie.

3 Stunden nach Blutungsinduktion zeigten sich Unterschiede zwischen den einzelnen experimentellen Gruppen (Abnahme beziehungsweise Zunahme der Kontrastmittelextravasation) weswegen dieser Zeitpunkt als optimaler Untersuchungszeitpunkt definiert wurde. Bei Warfarinmäusen waren signifikant größere Mengen von Kontrastmittel messbar als bei nicht-antikoagulierten Kontrollen ($p=0,002$). Dabigatran hingegen unterschied sich in dieser Hinsicht nicht von der Kontrollgruppe. Bei warfarinisierten Mäusen, welche mit Placebo behandelt wurden,

zeigte sich signifikant mehr Kontrastmittelextravasation als bei solchen welche mit Prothrombinkomplex-Konzentrat behandelt wurden ($p < 0,001$).

Wir konnten eine neue Methode etablieren mit dem es möglich ist, unter Zuhilfenahme von Dual-Energy Computertomographie Kontrastmittelextravasation als Marker einer noch aktiven Blutung zu quantifizieren. Dabigatran zeigte geringere Kontrastmittelextravasation als Warfarin, was auf ein geringeres Risiko der Blutungsexpansion hinweist. Dieser Effekt konnte bei warfarinisierten Mäusen durch die Gabe von Prothrombinkomplex-Konzentrat reduziert werden.

2.6 Rekombinanter Faktor VII und Prothrombinkomplex-Konzentrat sind gleich effektiv in der Reduktion von Blutungswachstum bei warfarinassozierten intrazerebralen Blutungen (Originalarbeit 6)

Frieder Schlunk, Elizabeth M. Van Cott, Kazuhide Hayakawa, Waltraud Pfeilschifter, Eng H. Lo, Christian Foerch.

(Stroke 2012, 43:246-249. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.629360>)

Im Falle einer intrazerebralen Blutung unter Antikoagulation mit einem Vitamin-K-Antagonisten wie Warfarin wird in den aktuellen Guidelines empfohlen die Gerinnung mit der Gabe von Prothrombinkomplex-Konzentrat (PCC; enthält die Vitamin K abhängigen Gerinnungsfaktoren FII, FVII, FIX und FX) rasch wiederherzustellen um eine weitere Blutungsexpansion zu verhindern. Rekombinanter Faktor VIIa (rFVIIa) aktiviert direkt Faktor X auf der Oberfläche aktivierter Thrombozyten. In unserer experimentellen Studie untersuchten wir, ob PCC und rFVIIa die Blutungsexpansion bei intrazerebralen Blutungen unter Antikoagulation mit Warfarin reduzieren.

Mäuse wurden über das Trinkwasser mit Warfarin (2 mg/kg) behandelt. Mit einer intrastriatalen Injektion von Collagenase VII_s wurde eine intrazerebrale Blutung induziert. 45 Minuten danach wurden die Mäuse mit PCC, rFVIIa oder Placebo intravenös behandelt. Nach 24 Stunden wurden die Gehirne entnommen und das Blutungsvolumen spektrophotometrisch über den Hämoglobingehalt bestimmt.

Die mit Warfarin behandelten Mäuse hatten einen erhöhten INR (international normalized ratio) als Korrelat einer effektiven Antikoagulation ($4,3 \pm 0,4$). Durch die Gabe von rFVIIa ($0,9 \pm 0,1$) oder PCC ($1,4 \pm 0,2$) wurde der INR rasch normalisiert. Nach 24 Stunden hatten die Mäuse ein intrazerebrales Blutungsvolumen von $29,0 \pm 19,7$ ml. Die Gabe von PCC reduzierte die finale Blutungsgröße signifikant ($6,1 \pm 1,8$ ml) genauso wie rFVIIa ($8,6 \pm 4,3$ ml; analysis of variance between-group differences $p=0,004$; post hoc rFVIIa versus Placebo $p=0,021$; PCC versus Placebo $p=0,007$). Zwischen den zwei Medikamenten wurde kein signifikanter Unterschied gefunden.

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass sowohl PCC als auch rFVIIa in der Lage sind, die Gerinnung im Falle einer Antikoagulation mit Warfarin rasch wiederherzustellen und weitere Blutungsexpansion effektiv zu verhindern.

2.7 Eine Behandlung mit Fingolimod (FTY720) hat keinen positiven Effekt auf das Outcome in einem experimentellen Modell der intrazerebralen Blutung (Originalarbeit 7)

Frieder Schlunk, Waltraud Pfeilschifter, Kazim Yigitkanli, Eng H. Lo, Christian Foerch

(*Experimental & Translational Stroke Medicine* 2016, 8:1. <https://doi.org/10.1186/s13231-016-0016-z>)

Eine intrazerebrale Blutung geht einher mit einer Entzündungsreaktion in der Peripherie der Blutung. Vor diesem Hintergrund wollten wir testen, wie sich eine Behandlung mit dem immunmodulatorisch wirksamen Medikament Fingolimod (FTY720) in einem experimentellen Modell auswirkt.

Bei CD-1 Mäusen wurde eine intrazerebrale Blutung durch eine intrastriatale Injektion von Collagenase VII-s induziert. FTY720 (1 mg/kg) oder Placebo wurde 1h nach Blutungsinduktion intraperitoneal injiziert. 24 Stunden später wurde die Blutungsgröße sowie nach 24 und 72 Stunden die Ödembildung, das neurologische Outcome und die Konzentration von Matrix Metalloproteinase 9 (Marker der Blut-Hirn-Schrankenstörung) untersucht.

Wir fanden keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass FTY720 keinen neuroprotektiven Effekt bei der akuten intrazerebralen Blutung aufweist.

3. Diskussion

Um die Behandlung von Patienten mit intrazerebraler Blutung verbessern zu können sind neue Erkenntnisse notwendig: Die Pathophysiologie der Erkrankung, insbesondere des Blutungswachstums, muss besser verstanden werden, um effektive Therapieansätze entwickeln zu können. Des Weiteren müssen neue diagnostische Algorithmen geschaffen werden, um diejenigen Patienten mit dem höchsten Risiko für weitere Blutungsexpansion, korrekt und noch in der hyperakuten Phase zu diagnostizieren, damit sie rasch einer Behandlung zugeführt werden können.

In der vorliegenden Arbeit liegt der Fokus auf der Pathophysiologie der Blutungsexpansion, deren Mechanismus und Einflussfaktoren erforscht werden sollten und auf möglichen Therapieoptionen, insbesondere vor dem Hintergrund einer Antikoagulation.

3.1 Pathophysiologie

Es ist anzunehmen, dass eine intrazerebrale Blutung beginnt, indem ein einzelnes, in der Regel vorgeschädigtes (durch chronische Hypertension oder zerebrale Amyloidangiopathie) Gefäß einreißt.²¹ Die Größe der initialen Blutung hängt dabei vermutlich am ehesten von der Größe des betroffenen Gefäßes, der Weite der entstandenen Öffnung am rupturierten Gefäß sowie von der individuellen Blutgerinnung ab.¹⁶ Wie schnell die Initialblutung wächst ist unbekannt, da in aller Regel eine erste Bildgebung frühestens nach ca. >30 Minuten vorliegt und die Dynamik hiermit nicht zu erfassen ist. Da die Symptomatik aber bekanntermaßen beginnt „wie auf einen Schlag“, ist von einem eher schnellen Blutungswachstum zu Beginn auszugehen, wenn der Gegendruck des Gewebes noch gering ist und ein Tamponadeeffekt somit ausbleibt. Sporadische Fallberichte und einzelne experimentelle Daten stützen diese Annahme.^{22, 35}

Umstritten ist, ob auf diese Initialblutung eine zweite Phase folgt, die in ihrem Mechanismus von der vorhergehenden abweicht. Während manche Autoren davon ausgehen, dass das finale Blutvolumen gänzlich aus dem initial gerissenen Gefäß stammt, gibt es Hinweise darauf, dass die initiale Blutung durch Druck- und Scherkräfte Gefäße in ihrer Nähe zum Reißen bringt.^{18, 23, 36} Die Idee, dass die entstehenden Sekundärblutungen wiederum Blutungen in ihrer Umgebung verursachen und so zu weiterer Blutungsexpansion führen, ging als „Avalanche-Theorie“ von Fisher in die

Geschichte ein.²¹ Diese anhand von Beobachtungen an neuropathologischen Schnitten aufgestellte Theorie wurde jedoch nie überprüft. In *Originalarbeit 1* haben wir die Theorie experimentell getestet und zugrundeliegende Gesetzmäßigkeiten aufgedeckt. Es konnte in einem neuen (intrastriale Injektion eines flüssigen Polymers) und einem modifizierten etablierten (intrastriale Blutungsinjektion) experimentellen Modell zum ersten Mal gezeigt werden, dass Sekundärblutungen entstehen und dass deren Ausprägung von der Größe und der Wachstumsgeschwindigkeit des initialen Hämatoms abhängen. Interessanterweise zeigten unsere Daten eine nahezu bimodale Aufteilung der Sekundärblutungen in Mikro- und Makroblutungen. Diese Beobachtung ist in Übereinstimmung mit einer Studie an 46 Patienten mit Lobärblutungen, die eine ähnliche Verteilung zeigte.³⁷ Es scheint also am ehesten ein Schwellenwert zu existieren der erreicht werden muss um eine „Avalanche-Blutung“ auszulösen. Das heißt, die Initialblutung muss mit ausreichender Geschwindigkeit eine ausreichende Größe erreichen um substantielle Sekundärblutungen auszulösen. Passend hierzu löst eine langsam wachsende Masse wie ein Hirntumor nicht unbedingt eine Hirnblutung aus.¹⁶ Des Weiteren war in unserer Arbeit die Größe der Sekundärblutungen abhängig von der Vulnerabilität des Individuums, repräsentiert durch effektive Antikoagulation (mit Dabigatran oder Warfarin) oder erhöhten Blutdruck (nach Phenylephrin-Injektion). Die Blutungsgröße im Zusammenhang mit einer Antikoagulation wird in diesem Text weiter unten (Originalarbeiten 4-6) diskutiert.

Der Zusammenhang zwischen systemischem Blutdruck und Blutungsgröße beziehungsweise Outcome war in der näheren Vergangenheit Gegenstand der Untersuchung in großen randomisierten klinischen Studien.^{38, 39} In *Originalarbeit 1* fanden wir eine signifikante Korrelation der Größe von Sekundärblutungen mit dem systemischen Blutdruck sowohl in antikoagulierten als auch in nicht antikoagulierten Tieren. Im Falle einer Antikoagulation nahm der Ausprägungsgrad der Sekundärblutungen nach antihypertensiver Behandlung (Labetalol) ab. Dagegen konnte ein überzeugender Zusammenhang zwischen systemischer Blutdrucksenkung und Blutungsexpansion in den genannten klinischen Studien nicht eindeutig gezeigt werden, allerdings werden in solchen Studien häufig Patienten mit großen Blutungen (und damit antikoagulierte Patienten) ausgeschlossen. Weiterhin gelingt in solchen Studien häufig nicht eine Behandlung bereits in der hyperakuten Phase, in der

wahrscheinlich das meiste Größenwachstum entsteht, was möglicherweise die diskrepanten Ergebnisse zu unserer Studie erklärt.^{38, 40}

In *Originalarbeit 2* wurde in einer klinischen Studie der Zusammenhang zwischen systemischem Blutdruck, Blutungsexpansion und Outcome vor dem Hintergrund einer Antikoagulation mit dem Vitamin-K-Antagonisten Warfarin genauer untersucht. Hierzu wurde der Blutdruck in den ersten 24 Stunden nach Symptombeginn retrospektiv ermittelt. Unsere Ergebnisse zeigten keinen Zusammenhang zwischen der Blutdruckhöhe über die ersten 24 Stunden auf der einen Seite und Blutungsexpansion oder Mortalität auf der anderen Seite unabhängig vom Antikoagulationsstatus der Patienten. Unsere Ergebnisse stehen damit im Widerspruch zu einer Studie an 211 Patienten, welche eine Korrelation zwischen dem mittleren 24-Stunden Blutdruck und Blutungsexpansion beziehungsweise Outcome zeigte.⁴¹ Antikoagulierte Patienten waren hier ausgeschlossen und das Zeitfenster bis zur Behandlung mit <3 Stunden nach Symptombeginn war eng gefasst. Des Weiteren zeigte eine große Beobachtungsstudie an Patienten mit intrazerebraler Blutung und Warfarineinnahme geringere Blutungsexpansion falls eine Blutdrucksenkung <160 mmHg und eine Normalisierung des INR <1,3 nach 4 Stunden erreicht wurde.⁴² Unsere Daten zeigten eine höhere Mortalität für Patienten mit niedrigeren Blutdruckwerten zum Zeitpunkt 3 Stunden nach Symptombeginn. Ein möglicher Grund für die Unterschiede zu unserer Studie ist die Größe der untersuchten Patientenkohorte. Jedoch ist eine Stärke unserer Studie die große Anzahl an gesammelten Blutdruckwerten in den ersten 24 Stunden. Hierbei zeigte sich insbesondere bei den Patienten mit Warfarineinnahme ein vorübergehender systolischer Blutdruckpeak nach genau 4 Stunden hinter einem eher niedrigeren Blutdruck in den ersten 3 Stunden. Möglicherweise zeigte die angesprochene Studie zum Zeitpunkt 4 Stunden das Ergebnis von genau diesem Blutdruckpeak, was darauf hindeutet, dass der systemische Blutdruck möglicherweise unterschiedliche Auswirkungen auf das Blutungswachstum in den verschiedenen Phasen der Blutungsexpansion zeigt.⁴³ Auch unsere experimentellen Daten aus *Originalarbeit 1* zeigten ja eine geringere Ausprägung von Sekundärblutungen bei niedrigerem Blutdruck in der ultrafrühen Phase der Erkrankung.

Eine weitere Manifestation jahrelanger Hypertension sind zerebrale Mikroblutungen (CMB). Diese im MRT auf entsprechenden blutungssensitiven Sequenzen gut sichtbaren Einblutungen sind das Resultat einer Erkrankung der kleinen zerebralen

Gefäße (CSVD; betroffen sind hier Kapillaren und Arteriolen) auf dem Boden chronischen Bluthochdrucks oder einer zerebralen Amyloidangiopathie.⁴⁴ In *Originalarbeit 3* untersuchten wir anhand der Daten einer großen klinischen randomisierten Studie (ATACH-2) die Hypothese, dass eine zugrundeliegende CSVD einen Einfluss auf den Behandlungserfolg einer intensiven Blutdrucksenkung bei der intrazerebralen Blutung hat. Während 120 von 167 (72 %) Patienten CMB aufwiesen, fanden wir entgegen unserer Vermutung keine Korrelation mit Blutungsexpansion oder Outcome. Auch das Ergebnis einer intensiven Blutdruckbehandlung war nicht unterschiedlich zwischen Patienten mit und ohne CMBs. Wenn man den in *Originalarbeit 1* beschriebenen Mechanismus der Blutungsexpansion zugrunde legt, hätte man vermuten können, dass die durch chronischen Bluthochdruck oder CAA vorgeschädigten Kleinstgefäße leichter reißen und sich die Blutung so entlang vorgeschädigter Gefäßcluster besser nach vorne arbeiten kann. Auf der anderen Seite sind die Gefäßwände bei einer CSVD verdickt. Im Falle von sehr hohen Cholesterinwerten zeigen experimentelle und klinische Daten einen protektiven Effekt im Hinblick auf Blutungsexpansion, möglicherweise aufgrund steiferer, dickerer und damit rissfesterer Gefäßwände.⁴⁵ In der Tat zeigten Studien an CAA Patienten in der Vergangenheit eine inverse Korrelation zwischen der Anzahl an Mikroblutungen und Blutungsexpansion.^{46, 47} Patienten mit CAA waren in unserer Studie möglicherweise unterrepräsentiert.

Ein Zusammenhang zwischen oraler Antikoagulation mit einem Vitamin-K-Antagonisten und Blutungsexpansion bei der intrazerebralen Blutung ist unter Fachleuten unbestritten.^{9, 48} Mit der Entwicklung neuerer oraler Antikoagulantien wie dem direkten Thrombin-Inhibitor Dabigatran kam die Frage auf ob auch diese zu größeren Blutvolumina führen. Mithilfe des etablierten Collagenase-Modells und eines weiteren Modells, bei dem kortikale Mikroblutungen mit Laser induziert werden, wurde in *Originalarbeit 4* genau diese Fragestellung untersucht. Es konnte hier zum ersten Mal gezeigt werden, dass Dabigatran im Hinblick auf Blutungsexpansion einen möglichen Sicherheitsvorteil im Vergleich zu Warfarin hat. In *Originalarbeit 5* konnte unter Zuhilfenahme eines neuen Modells, bei dem die intrazerebrale Jodkonzentration nach intravenöser Kontrastmittelgabe mit Dual-Energy Computertomographie gemessen wurde, gezeigt werden, dass Mäuse nach einer Behandlung mit Warfarin im Vergleich zu Dabigatran in der Tat zu späteren Zeitpunkten stärker intrazerebral zu bluten scheinen. Der Grund hierfür mag darin liegen, dass im Falle einer

Antikoagulation mit einem Vitamin-K-Antagonisten vier Schlüsselspieler der Gerinnung (FII, FVII, FIX und FX) ausgeschaltet werden, während im Falle von Dabigatran nur Thrombin inhibiert wird. Andere Studien haben gezeigt, dass ein Mangel an FVII und FX zu einer verlangsamten Gerinnung führt, nicht aber die reduzierte Aktivität von Thrombin.^{49, 50} Mehr im Detail wurde in der Vergangenheit diskutiert, dass hohe Konzentrationen von Faktor III, welche zerebrale Blutgefäße umgeben, möglicherweise direkt Faktor VIIa aktivieren und so eine Abkürzung in der Gerinnungskaskade genommen wird.¹⁵ In unserer *Originalarbeit 1* zeigten sich größere Sekundärblutungen in Verbindung mit Dabigatran und Warfarin. Auch wenn die Datenlage klinischer Studien ebenfalls auf ein besseres Sicherheitsprofil von Dabigatran im Sinne einer reduzierten Häufigkeit intrazerebraler Blutungen hinweist, kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch Dabigatran in einigen Konstellationen zu vermehrter Blutungsexpansion führt.⁵¹⁻⁵³

3.2 Behandlungsoptionen

Die beste Therapieoption für Patienten mit intrazerebraler Blutung ist es nach einer raschen Diagnosefindung sofort eine hämostatische Behandlung einzuleiten um weiteres Blutungswachstum zu verhindern. Während die Anzahl an randomisierten klinischen Therapiestudien in der jüngeren Vergangenheit deutlich zugenommen hat, konnte dies jedoch bis jetzt nicht überzeugend gezeigt werden.¹⁰ Die Gelegenheit einer effektiven Behandlung bietet sich aber bei Patienten mit Warfarin-assoziiertes Blutung. Hier kann die Gerinnung durch eine intravenöse Gabe verschiedener Substanzen wiederhergestellt werden und so der bestehende Nachteil gegenüber nicht-antikoagulierten Patienten ausgeglichen werden. Während Fresh-Frozen-Plasma hierfür heutzutage nicht mehr als erste Wahl gilt, wird die Gabe von Prothrombinkomplex-Konzentrat empfohlen, da eine rasche Normalisierung der Gerinnungswerte (des INR) erfolgt.⁵⁴ In *Originalarbeit 5* konnten wir zeigen, dass durch die Gabe von Prothrombinkomplex-Konzentrat bei mit Warfarin assoziierten intrazerebralen Blutungen die Gerinnungsvorgänge im Gehirn rascher einzusetzen scheinen als nach Placebo Behandlung. In *Originalarbeit 6* hatten Mäuse nach Behandlung mit Prothrombinkomplex-Konzentrat eine sofortige Normalisierung des INR und signifikant kleinere finale Blutvolumina als die Kontrollgruppe. Während wir hiermit die Ergebnisse einer früheren Arbeit bestätigen konnten, lag unser

Hauptaugenmerk vor allem auf der Hypothese, dass auch rekombinanter Faktor VIIa (rFVIIa) in der Lage ist den INR zu normalisieren und Blutungsexpansion zu verhindern.⁵⁵ Unsere Ergebnisse zeigten, dass rFVIIa im experimentellen Modell ebenfalls den INR rasch normalisiert und hocheffektiv weiteres Blutungswachstum verhindern kann. Im Vergleich zu Prothrombinkomplex-Konzentrat zeigte sich kein Nachteil. Bei gleicher Verfügbarkeit würde man in der Praxis momentan wahrscheinlich trotzdem Prothrombinkomplex-Konzentrat vorziehen, da dieses wesentlich kostengünstiger ist. Dennoch könnte rFVIIa bereits jetzt wichtige praktische Bedeutung gewinnen, z.B. vor dem Hintergrund eines Patienten, der aus Glaubensgründen Blutplasmaprodukte ablehnt. Interessanterweise scheint es nicht notwendig zu sein, alle vier Gerinnungsfaktoren zu ersetzen um eine effektive Gerinnung wiederherzustellen. rFVIIa, aktiviert direkt Faktor X, welcher Prothrombin in Thrombin umwandelt.⁵⁶ Die Bedeutung von FVII könnte auch ein Grund dafür sein, dass Dabigatran (keine geringeren Mengen an FVII) im Gegensatz zu Warfarin (Produktion von FVII vermindert) weniger Blutungsexpansion zeigt (*Originalarbeit 4*). Auch bei nicht antikoagulierten Patienten wurde einige Hoffnung in die Behandlung mit rFVIIa gesetzt, nachdem in einer Phase II Studie Blutungsexpansion vermindert werden konnte. Leider hatte dies in der Phase III kein besseres Patientenoutcome zur Folge, möglicherweise aufgrund einer unzureichenden Patientenselektion (Patienten wurden unabhängig vom Risiko der Blutungsexpansion randomisiert, konnten deshalb nicht von der Behandlung profitieren, waren aber möglichen thromboembolischen Komplikationen ausgesetzt).²⁸ Aktuell wird rFVIIa erneut in einer randomisierten klinischen Studie getestet, in der das Zeitfenster von Symptombeginn bis zur Behandlung klein ist (<2 h).⁵⁷

Mit *Originalarbeit 7* soll noch auf die Bedeutung von Sekundärschäden wie Hirnödemen oder Zelltod hingewiesen werden. Während Blutungsexpansion die wohl wichtigste klinische Determinante darstellt und die Blutmenge auch maßgeblich das Ausmaß von Sekundärschäden beeinflusst, darf insbesondere der Einfluss des Hirnödems auf das klinische Outcome ebenfalls nicht unterschätzt werden.⁵⁸⁻⁶⁰ Nach einer Phase von mechanischer Gewebszerstörung beginnen Entzündungsprozesse bei denen Leukozyten ins Gehirn einwandern.^{59, 61} Da diese Entzündungsprozesse die Integrität der Blut-Hirn-Schranke zerstören können und so die Ausbildung eines Hirnödems begünstigen liegt die Hypothese nahe, dass ein immunmodulatorisch wirksames Medikament hier protektiv wirken kann. Wir fanden in *Originalarbeit 7* aber keinen

positiven Effekt von Fingolimod (FTY720) auf die untersuchten Endpunkte Ödembildung und Blut-Hirn-Schrankenstörung (repräsentiert durch die Aktivität von Matrixmetalloproteinase 9). In mehreren experimentellen Studien am ischämischen Schlaganfall zeigte FTY720 einen neuroprotektiven Effekt mit besserem Outcome und reduzierter Infarktgröße.^{62, 63} In einer Studie konnte gezeigt werden, dass eine Lymphozytenreduktion in den Hirngefäßen die Thrombusbildung in Kleinstgefäßen reduzierte.⁶⁴ Dieser pathophysiologische Unterschied zur intrazerebralen Blutung ist ein möglicher Erklärungsansatz für die fehlende Wirkung in unserem Experiment.⁶⁵

3.3 Limitationen

In unseren experimentellen Arbeiten verwendeten wir meist das etablierte Collagenase-Modell der intrazerebralen Blutung. Während dieses Modell sehr gut zu reproduzieren ist und die Pathophysiologie der Erkrankung (initiale Gefäßruptur und danach Blutungsexpansion) wahrscheinlich nahe abbildet, ist der Entstehungsmechanismus doch verschieden zum natürlichen Verlauf beim Menschen, da die Gefäßwand durch enzymatische Aktivität von außen verdaut wird und dieser Prozess eventuell länger andauert, sowie mehr als ein Gefäß betreffen kann. Die zweite Einschränkung unserer experimentellen Arbeiten ist die Verwendung eines einzelnen Mausstammes. Während sich die zugrundeliegenden Mechanismen der Blutungsexpansion zwischen einzelnen Mausstämmen mutmaßlich nicht unterscheiden, sei darauf hingewiesen, dass wir unsere Experimente in der Regel in relativ jungen Mäusen, ohne chronisch vorgeschädigte Gefäße, durchführten. Weiterhin ist das Gerinnungssystem von Mensch und Maus zwar im Wesentlichen wohl sehr ähnlich, die molekulare Struktur der einzelnen Gerinnungsfaktoren aber doch nicht identisch, was insbesondere in unseren Studien, in denen wir Gerinnungshemmern verwendeten, einen Einfluss gehabt haben könnte.⁶⁶⁻⁶⁸

In den zwei klinischen Studien, welche in diese Habilitationsschrift mitaufgenommen wurden, untersuchten wir jeweils eine große Patientenkohorte (ATACH-2 umfasste 1000 Patienten). Nach Anwendung der Ausschlusskriterien war die statistische Power für die Beantwortung mancher Teilfragen aber eventuell etwas zu gering.

4. Zusammenfassung

Die intrazerebrale Blutung ist der Subtyp des Schlaganfalls mit der höchsten Mortalität und eine Verbesserung der Behandlungsoptionen ist dringend erforderlich. Mit dieser Arbeit soll ein Beitrag geleistet werden, um die Pathophysiologie der Blutungsexpansion besser zu verstehen und neue Behandlungsansätze im Falle einer intrazerebralen Blutung, insbesondere unter Antikoagulation, zu untersuchen.

Es wurde ein neues experimentelles Mausmodell entwickelt um den Mechanismus des Blutungswachstums besser zu verstehen. Hierbei konnte zum ersten Mal Fishers „Avalanche-Theorie“ bestätigt und die Gesetzmäßigkeiten dahinter näher beleuchtet werden. Neben rein mechanischen Gesichtspunkten wurde dabei auch der Einfluss von Antikoagulation und Blutdruck in einer spezifischen Phase des Blutungswachstums, nämlich nach sekundär mechanischem Zerreißen von zerebralen Blutgefäßen, untersucht.

Der Einfluss der Blutdruckhöhe auf die Blutungsexpansion vor dem Hintergrund einer Antikoagulation mit Warfarin wurde von uns auch in einer klinischen Studie an 69 antikoagulierten Patienten und 69 nicht antikoagulierten Kontrollpatienten, retrospektiv untersucht. Im Gegensatz zu einzelnen anderen Publikationen fanden wir keinen Zusammenhang zwischen dem Blutdruck in den ersten 24 Stunden und der Blutungsexpansion. Möglicherweise hat die Blutdruckhöhe in den verschiedenen Phasen der Blutungsexpansion unterschiedliche Auswirkungen was diskrepante Ergebnisse zu anderen Gruppen erklären mag.

In einer weiteren Arbeit wurde anhand der Daten einer großen randomisierten klinischen Studie (ATACH-2 umfasste 1000 Patienten) mit einer im Voraus geplanten Subgruppenanalyse untersucht, ob eine Erkrankung der kleinen zerebralen Gefäße, welche ihren Ausdruck in zerebralen Mikroblutungen findet, assoziiert ist mit einem erhöhten Risiko der Blutungsexpansion. Während sich eine hohe Prävalenz zerebraler Mikroblutungen bei intrazerebralen Blutungen zeigte, konnte kein erhöhtes Risiko für Blutungsexpansion festgestellt werden.

Mit der Zulassung von neuen oralen Antikoagulantien stellte sich die Frage nach deren Sicherheitsprofil. Experimentell konnten wir in zwei unterschiedlichen Mausmodellen (Collagenase-Modell, Lasermodell kortikaler Mikroblutungen) als erste einen Sicherheitsvorteil des direkten Thrombininhibitors Dabigatran im Vergleich zu einer herkömmlichen Antikoagulation mit dem Vitamin-K-Antagonisten Warfarin im Hinblick

auf Blutungsgröße der intrazerebralen Blutung feststellen. Neben direkten praktischen Implikationen, wirft diese Arbeit auch ein Licht auf die Wichtigkeit und Komplexität der Gerinnungskaskade im Hinblick auf Blutungsexpansion.

Diese Zusammenhänge untersuchten wir auch noch einmal eingehender, indem wir das etablierte Collagenase-Modell der intrazerebralen Blutung mit moderner kontrastmittelgestützter Dual-Energy Computertomographie verbanden und so experimentell zeigen konnten, dass Blutungen unter Dabigatran früher sistieren als unter Warfarin. Dieser Effekt konnte mit der Gabe von Prothrombinkomplex-Konzentrat bei Blutungen unter Warfarin aufgehoben werden.

Die Effektivität von Prothrombinkomplex-Konzentrat im Hinblick auf eine Begrenzung des Blutungswachstums im Falle einer intrazerebralen Blutung konnten wir noch in einer weiteren Arbeit experimentell bestätigen. Zusätzlich gelang es uns darzulegen, dass rFVIIa äquivalent effektiv in der Lage ist, die Gerinnung rasch zu normalisieren und Blutungsexpansion zu verhindern.

In einer letzten Arbeit setzten wir den Fokus auf die Behandlung von Sekundärschäden wie Blut-Hirn-Schrankenstörung und Hirnödemen nach experimenteller intrazerebraler Blutung. Das immunmodulatorisch wirksame Medikament Fingolimod (FTY720) zeigte sich hier, anders als in einigen experimentellen Arbeiten zum ischämischen Schlaganfall, nicht neuroprotektiv wirksam.

Zusammenfassend hat sich in den vergangenen Jahren die Forschung zur intrazerebralen Blutung intensiviert. Durch den technischen Fortschritt werden wir in Zukunft immer schneller zum Patienten und zur Diagnose gelangen. Damit sind wir vielleicht schon in absehbarer Zeit in der Lage, den Patienten in der mutmaßlich vulnerabelsten Phase seiner Erkrankung zu behandeln. Weitere Forschung ist notwendig, um die Pathophysiologie der intrazerebralen Blutung im Detail zu verstehen, Diagnosealgorithmen zu verbessern und Behandlungsoptionen, insbesondere zur Hämostase zu entwickeln.

5. Liste der in dieser Habilitation zusammengefassten Veröffentlichungen.

1. **Schlunk F**, Böhm M, Boulouis G, Qin T, Arbel M, Tamim I, Fischer P, Bacskai BJ, Frosch MP, Endres M, Greenberg SM, Ayata C. *Secondary Bleeding During Acute Experimental Intracerebral Hemorrhage*. Stroke. 2019 May;50(5):1210-1215.
2. **Schlunk F**, Chang Y, Ayres A, Battey T, Vashkevich A, Raffeld M, Rost N, Viswanathan A, Gurol ME, Schwab K, Greenberg SM, Rosand J, Goldstein JN. *Blood pressure burden and outcome in warfarin-related intracerebral hemorrhage*. International Journal of Stroke. 2016 Oct;11(8):898-909.
3. Shoamanesh A, Morotti A, Romero JM, Oliveira-Filho J, **Schlunk F**, Jessel MJ, Ayres AM, Vashkevich A, Schwab K, Afzal MR, Cassarly C, Martin RH, Qureshi AI, Greenberg SM, Rosand J, Goldstein JN; *Antihypertensive Treatment of Acute Cerebral Hemorrhage 2 (ATACH-2) and the Neurological Emergencies Treatment Trials (NETT) Network Investigators. Cerebral Microbleeds and the Effect of Intensive Blood Pressure Reduction on Hematoma Expansion and Functional Outcomes: A Secondary Analysis of the ATACH-2 Randomized Clinical Trial*. JAMA Neurology. 2018 Jul 1;75(7):850-859.
4. Won SY*, **Schlunk F***, Dinkel J, Karatas H, Leung W, Hayakawa K, Lauer A, Steinmetz H, Lo EH, Foerch C, Gupta R. ***geteilte Erstautorschaft** *Imaging of contrast medium extravasation in anticoagulation-associated intracerebral hemorrhage with dual-energy computed tomography*. Stroke. 2013 Oct;44(10):2883-90.
5. Lauer A, Cianchetti FA, Van Cott EM, **Schlunk F**, Schulz E, Pfeilschifter W, Steinmetz H, Schaffer CB, Lo EH, Foerch C. *Anticoagulation with the oral direct thrombin inhibitor dabigatran does not enlarge hematoma volume in experimental intracerebral hemorrhage*. Circulation. 2011 Oct 11;124(15):1654-62.
6. **Schlunk F**, Van Cott EM, Hayakawa K, Pfeilschifter W, Lo EH, Foerch C. *Recombinant activated coagulation factor VII and prothrombin complex concentrates are equally effective in reducing hematoma volume in experimental warfarin-associated intracerebral hemorrhage*. Stroke. 2012 Jan;43(1):246-9.
7. **Schlunk F**, Pfeilschifter W, Yigitkanli K, Lo EH, Foerch C. *Treatment with FTY720 has no beneficial effects on short-term outcome in an experimental model of intracerebral hemorrhage*. Experimental & Translational Stroke Medicine. 2016 Feb 18;8:1.

6. Literaturangaben

1. Sutherland GR, Auer RN. Primary intracerebral hemorrhage. *J Clin Neurosci*. 2006;13:511-517
2. Aguilar MI, Brott TG. Update in intracerebral hemorrhage. *Neurohospitalist*. 2011;1:148-159
3. Keep RF, Hua Y, Xi G. Intracerebral haemorrhage: Mechanisms of injury and therapeutic targets. *Lancet Neurol*. 2012;11:720-731
4. Sacco S, Marini C, Toni D, Olivieri L, Carolei A. Incidence and 10-year survival of intracerebral hemorrhage in a population-based registry. *Stroke*. 2009;40:394-399
5. Qureshi AI, Tuhrim S, Broderick JP, Batjer HH, Hondo H, Hanley DF. Spontaneous intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med*. 2001;344:1450-1460
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;8:355-369
7. Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF. Intracerebral haemorrhage. *Lancet*. 2009;373:1632-1644
8. van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, van der Tweel I, Algra A, Klijn CJ. Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2010;9:167-176
9. Brouwers HB, Greenberg SM. Hematoma expansion following acute intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis*. 2013;35:195-201
10. Hemphill JC, 3rd, Greenberg SM, Anderson CS, Becker K, Bendok BR, Cushman M, et al. Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2015;46:2032-2060
11. Brott T, Broderick J, Kothari R, Barsan W, Tomsick T, Sauerbeck L, et al. Early hemorrhage growth in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 1997;28:1-5
12. Kazui S, Naritomi H, Yamamoto H, Sawada T, Yamaguchi T. Enlargement of spontaneous intracerebral hemorrhage. Incidence and time course. *Stroke*. 1996;27:1783-1787
13. Kurogi R, Nishimura K, Nakai M, Kada A, Kamitani S, Nakagawara J, et al. Comparing intracerebral hemorrhages associated with direct oral anticoagulants or warfarin. *Neurology*. 2018;90:e1143-e1149
14. Caldeira D, Rodrigues FB, Barra M, Santos AT, de Abreu D, Goncalves N, et al. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and major bleeding-related fatality in patients with atrial fibrillation and venous thromboembolism: A systematic review and meta-analysis. *Heart*. 2015;101:1204-1211
15. Lauer A, Pfeilschifter W, Schaffer CB, Lo EH, Foerch C. Intracerebral haemorrhage associated with antithrombotic treatment: Translational insights from experimental studies. *Lancet Neurol*. 2013;12:394-405
16. Schlunk F, Greenberg SM. The pathophysiology of intracerebral hemorrhage formation and expansion. *Transl Stroke Res*. 2015;6:257-263
17. Dowlatshahi D, Brouwers HB, Demchuk AM, Hill MD, Aviv RI, Ufholz LA, et al. Predicting intracerebral hemorrhage growth with the spot sign: The effect of onset-to-scan time. *Stroke*. 2016;47:695-700
18. Mayer SA. Ultra-early hemostatic therapy for intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2003;34:224-229
19. LoPresti MA, Bruce SS, Camacho E, Kunchala S, Dubois BG, Bruce E, et al. Hematoma volume as the major determinant of outcomes after intracerebral hemorrhage. *J Neurol Sci*. 2014;345:3-7
20. Tanaka K, Toyoda K. Clinical strategies against early hematoma expansion following intracerebral hemorrhage. *Front Neurosci*. 2021;15:677744

21. Fisher CM. Pathological observations in hypertensive cerebral hemorrhage. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1971;30:536-550
22. Edlow BL, Bove RM, Viswanathan A, Greenberg SM, Silverman SB. The pattern and pace of hyperacute hemorrhage expansion. *Neurocrit Care.* 2012;17:250-254
23. Barras CD, Tress BM, Christensen S, MacGregor L, Collins M, Desmond PM, et al. Density and shape as ct predictors of intracerebral hemorrhage growth. *Stroke.* 2009;40:1325-1331
24. Brouwers HB, Falcone GJ, McNamara KA, Ayres AM, Oleinik A, Schwab K, et al. Cta spot sign predicts hematoma expansion in patients with delayed presentation after intracerebral hemorrhage. *Neurocrit Care.* 2012;17:421-428
25. Romero JM, Heit JJ, Delgado Almandoz JE, Goldstein JN, Lu J, Halpern E, et al. Spot sign score predicts rapid bleeding in spontaneous intracerebral hemorrhage. *Emerg Radiol.* 2012;19:195-202
26. Boulouis G, Dumas A, Betensky RA, Brouwers HB, Fotiadis P, Vashkevich A, et al. Anatomic pattern of intracerebral hemorrhage expansion: Relation to ct angiography spot sign and hematoma center. *Stroke.* 2014;45:1154-1156
27. Ebinger M, Siegerink B, Kunz A, Wendt M, Weber JE, Schwabauer E, et al. Association between dispatch of mobile stroke units and functional outcomes among patients with acute ischemic stroke in berlin. *JAMA.* 2021;325:454-466
28. Mayer SA, Brun NC, Begtrup K, Broderick J, Davis S, Diringer MN, et al. Efficacy and safety of recombinant activated factor vii for acute intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med.* 2008;358:2127-2137
29. Gladstone DJ, Aviv RI, Demchuk AM, Hill MD, Thorpe KE, Khoury JC, et al. Effect of recombinant activated coagulation factor vii on hemorrhage expansion among patients with spot sign-positive acute intracerebral hemorrhage: The spotlight and stop-it randomized clinical trials. *JAMA Neurol.* 2019;76:1493-1501
30. Meretoja A, Yassi N, Wu TY, Churilov L, Sibolt G, Jeng JS, et al. Tranexamic acid in patients with intracerebral haemorrhage (stop-aust): A multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol.* 2020;19:980-987
31. Sprigg N, Flaherty K, Appleton JP, Al-Shahi Salman R, Bereczki D, Beridze M, et al. Tranexamic acid for hyperacute primary intracerebral haemorrhage (tich-2): An international randomised, placebo-controlled, phase 3 superiority trial. *Lancet.* 2018;391:2107-2115
32. Bouillon-Minois JB, Croizier C, Baker JS, Pereira B, Moustafa F, Outrey J, et al. Tranexamic acid in non-traumatic intracranial bleeding: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2021;11:15275
33. Morotti A, Goldstein JN. Diagnosis and management of acute intracerebral hemorrhage. *Emerg Med Clin North Am.* 2016;34:883-899
34. Bower MM, Sweidan AJ, Shafie M, Atallah S, Groysman LI, Yu W. Contemporary reversal of oral anticoagulation in intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 2019;50:529-536
35. Liu R, Huynh TJ, Huang Y, Ramsay D, Hynynen K, Aviv RI. Modeling the pattern of contrast extravasation in acute intracerebral hemorrhage using dynamic contrast-enhanced mr. *Neurocrit Care.* 2015;22:320-324
36. Greenberg CH, Frosch MP, Goldstein JN, Rosand J, Greenberg SM. Modeling intracerebral hemorrhage growth and response to anticoagulation. *PLoS One.* 2012;7:e48458
37. Greenberg SM, Nandigam RN, Delgado P, Betensky RA, Rosand J, Viswanathan A, et al. Microbleeds versus macrobleeds: Evidence for distinct entities. *Stroke.* 2009;40:2382-2386
38. Anderson CS, Heeley E, Huang Y, Wang J, Stapf C, Delcourt C, et al. Rapid blood-pressure lowering in patients with acute intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med.* 2013;368:2355-2365
39. Qureshi AI, Palesch YY, Barsan WG, Hanley DF, Hsu CY, Martin RL, et al. Intensive blood-pressure lowering in patients with acute cerebral hemorrhage. *N Engl J Med.* 2016;375:1033-1043
40. Boulouis G, Morotti A, Goldstein JN, Charidimou A. Intensive blood pressure lowering in patients with acute intracerebral haemorrhage: Clinical outcomes and haemorrhage

- expansion. Systematic review and meta-analysis of randomised trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017;88:339-345
41. Sakamoto Y, Koga M, Yamagami H, Okuda S, Okada Y, Kimura K, et al. Systolic blood pressure after intravenous antihypertensive treatment and clinical outcomes in hyperacute intracerebral hemorrhage: The stroke acute management with urgent risk-factor assessment and improvement-intracerebral hemorrhage study. *Stroke*. 2013;44:1846-1851
 42. Kuramatsu JB, Gerner ST, Schellinger PD, Glahn J, Endres M, Sobesky J, et al. Anticoagulant reversal, blood pressure levels, and anticoagulant resumption in patients with anticoagulation-related intracerebral hemorrhage. *JAMA*. 2015;313:824-836
 43. Schlunk F, Chang Y, Ayres A, Battey T, Vashkevich A, Raffeld M, et al. Blood pressure burden and outcome in warfarin-related intracerebral hemorrhage. *Int J Stroke*. 2016;11:898-909
 44. Greenberg SM, Vernooij MW, Cordonnier C, Viswanathan A, Al-Shahi Salman R, Warach S, et al. Cerebral microbleeds: A guide to detection and interpretation. *Lancet Neurol*. 2009;8:165-174
 45. Schlunk F, Fischer P, Princen HMG, Rex A, Prinz V, Foddiss M, et al. Effects of inhibition or deletion of pcsk9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) on intracerebral hemorrhage volumes in mice. *Stroke*. 2020;51:e297-e298
 46. Boulouis G, van Etten ES, Charidimou A, Auriel E, Morotti A, Pasi M, et al. Association of key magnetic resonance imaging markers of cerebral small vessel disease with hematoma volume and expansion in patients with lobar and deep intracerebral hemorrhage. *JAMA Neurol*. 2016;73:1440-1447
 47. Evans A, Demchuk A, Symons SP, Dowlathshahi D, Gladstone DJ, Zhang L, et al. The spot sign is more common in the absence of multiple prior microbleeds. *Stroke*. 2010;41:2210-2217
 48. Flibotte JJ, Hagan N, O'Donnell J, Greenberg SM, Rosand J. Warfarin, hematoma expansion, and outcome of intracerebral hemorrhage. *Neurology*. 2004;63:1059-1064
 49. Nielsen VG, Cohen BM, Cohen E. Effects of coagulation factor deficiency on plasma coagulation kinetics determined via thrombelastography: Critical roles of fibrinogen and factors ii, vii, x and xii. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2005;49:222-231
 50. Won SY, Schlunk F, Dinkel J, Karatas H, Leung W, Hayakawa K, et al. Imaging of contrast medium extravasation in anticoagulation-associated intracerebral hemorrhage with dual-energy computed tomography. *Stroke*. 2013;44:2883-2890
 51. Schlunk F, Bohm M, Boulouis G, Qin T, Arbel M, Tamim I, et al. Secondary bleeding during acute experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2019;50:1210-1215
 52. Grysiewicz R, Gorelick PB. Incidence, mortality, and risk factors for oral anticoagulant-associated intracranial hemorrhage in patients with atrial fibrillation. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014;23:2479-2488
 53. Hart RG, Diener HC, Yang S, Connolly SJ, Wallentin L, Reilly PA, et al. Intracranial hemorrhage in atrial fibrillation patients during anticoagulation with warfarin or dabigatran: The re-ly trial. *Stroke*. 2012;43:1511-1517
 54. Christensen H, Cordonnier C, Korv J, Lal A, Ovesen C, Purrucker JC, et al. European stroke organisation guideline on reversal of oral anticoagulants in acute intracerebral haemorrhage. *Eur Stroke J*. 2019;4:294-306
 55. Foerch C, Arai K, Van Cott EM, van Leyen K, Lo EH. Rapid reversal of anticoagulation reduces hemorrhage volume in a mouse model of warfarin-associated intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29:1015-1021
 56. Hedner U, Lee CA. First 20 years with recombinant fviia (novoseven). *Haemophilia*. 2011;17:e172-182
 57. Naidech AM, Grotta J, Elm J, Janis S, Dowlathshahi D, Toyoda K, et al. Recombinant factor viia for hemorrhagic stroke treatment at earliest possible time (fastest): Protocol for a phase iii, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Int J Stroke*. 2021:17474930211042700

58. Schlunk F, Schulz E, Lauer A, Yigitkanli K, Pfeilschifter W, Steinmetz H, et al. Warfarin pretreatment reduces cell death and mmp-9 activity in experimental intracerebral hemorrhage. *Transl Stroke Res.* 2015;6:133-139
59. Xi G, Keep RF, Hoff JT. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol.* 2006;5:53-63
60. Ironside N, Chen CJ, Ding D, Mayer SA, Connolly ES, Jr. Perihematomal edema after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 2019;50:1626-1633
61. Wang J, Dore S. Inflammation after intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27:894-908
62. Czech B, Pfeilschifter W, Mazaheri-Omrani N, Strobel MA, Kahles T, Neumann-Haefelin T, et al. The immunomodulatory sphingosine 1-phosphate analog fty720 reduces lesion size and improves neurological outcome in a mouse model of cerebral ischemia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;389:251-256
63. Pfeilschifter W, Czech-Zechmeister B, Sujak M, Mirceska A, Koch A, Rami A, et al. Activation of sphingosine kinase 2 is an endogenous protective mechanism in cerebral ischemia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;413:212-217
64. Kraft P, Gob E, Schuhmann MK, Gobel K, Deppermann C, Thielmann I, et al. Fty720 ameliorates acute ischemic stroke in mice by reducing thrombo-inflammation but not by direct neuroprotection. *Stroke.* 2013;44:3202-3210
65. Schlunk F, Pfeilschifter W, Yigitkanli K, Lo EH, Foerch C. Treatment with fty720 has no beneficial effects on short-term outcome in an experimental model of intracerebral hemorrhage. *Exp Transl Stroke Med.* 2016;8:1
66. Tsang VC, Wyatt CR, Damian RT. Comparative thermometric coagulation studies of plasmas from normal outbred swiss webster mice and persons. *Am J Vet Res.* 1979;40:857-862
67. Tsakiris DA, Scudder L, Hodiola-Dilke K, Hynes RO, Coller BS. Hemostasis in the mouse (mus musculus): A review. *Thromb Haemost.* 1999;81:177-188
68. Lauer A, Cianchetti FA, Van Cott EM, Schlunk F, Schulz E, Pfeilschifter W, et al. Anticoagulation with the oral direct thrombin inhibitor dabigatran does not enlarge hematoma volume in experimental intracerebral hemorrhage. *Circulation.* 2011;124:1654-1662

DANKSAGUNG

Mein Dank gilt zuerst Professor Dr. med. Christian Förch für meine langjährige Förderung und die große Freude die er mir an der Forschungsarbeit vermittelt hat.

Danken will ich vor allem auch meinen Klinikleitern an der Charité, Professor Dr. med. Matthias Endres, Professor Dr. med. Bernd Hamm und Dr. med. Georg Bohner für die große Unterstützung meiner Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt dem gesamten Team der Neuroradiologie.

Des Weiteren will ich meinen PIs an der Harvard Medical School herzlich danken: Professor Eng H. Lo, Professor Steven M. Greenberg, Professor Cenk Ayata und Professor Joshua N. Goldstein.

Vielen Dank an das Berlin Institute of Health (BIH) für die Förderung im Clinician Scientist Programm.

Widmen möchte ich diese Arbeit meiner lieben Familie.

ERKLÄRUNG

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....

Datum

.....

Dr.med. Frieder Schlunk