

Aus der Klinik für Neurologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. med. Michael Gliem

Vergleich der Mengen der leichten Kette des Neurofilaments
(NfL) und des sauren Gliafaserproteins (GFAP) im Blut von
Patienten mit asymptomatischen Stenosen der Aa. carotides
internae für die Evaluation von NfL und GFAP als Biomarker

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Cleopatra Papasimos

2026

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Michael Gliem

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Markus Wagenhäuser

Meinen Eltern

Zusammenfassung

Der Schlaganfall stellt in Deutschland die zweithäufigste Todesursache dar und zählt zu den Hauptursachen bleibender körperlicher Behinderung.¹ Üblicherweise führt ein Gefäßverschluss, der als Folge einer Embolie oder hochgradigen Stenose eines hirnversorgenden Gefäßes entsteht, zum Schlaganfall. In Deutschland liegt die Ätiologie bei knapp 15% der Schlaganfälle in einer solchen Verengung.² Auch in den kommenden Jahren ist ein weiterer Anstieg der Inzidenz von Schlaganfällen zu erwarten.^{3,4} Zu den Maßnahmen der Schlaganfallprävention zählt daher die Früherkennung einer solchen Gefäßverengung durch Ultraschall- oder Computertomographie (CT)-basierte Diagnostik und Abklärung von Stenosen der hirnversorgenden Gefäße.^{5,6} Aktuelle Studien, wie der European Carotid Surgery Trial 2 (ECST-2) oder CREST-2, fordern, dass nicht nur allein der Stenosegrad, sondern auch andere patientenbezogene Faktoren Einfluss auf die Indikationsstellung zur interventionellen oder operativen Therapie nehmen. Hier wäre es denkbar, dass ein Biomarker als diagnostisches Entscheidungsmittel herangezogen wird, der als Marker für neuronalen Schaden dient.^{7,8} Ein etablierter Biomarker für die Detektion einer Gefäßverengung mit erhöhtem Schlaganfallrisiko ist derzeit nicht bekannt. Vor diesem Hintergrund wurden in der vorliegenden Studie Patienten mit extrakranieller Stenose der A. carotis interna (ACI) eingeschlossen, die im Rahmen ihrer klinischen Routineterminale in den Neurovaskulären- oder Gefäßambulanzen des Universitätsklinikums Düsseldorf vorstellig wurden. Bei allen Studienteilnehmern wurden die Serumkonzentrationen der als für neuronalen Schadens etablierten Biomarker Neurofilament-Leichtkette (sNfL) und gliales fibrilläres saures Protein (sGFAP) mithilfe hochsensitiver Immunoassays bestimmt.⁹⁻¹² Die Biomarkerwerte wurden in Beziehung zum Stenosegrad sowie zu klinischen Parametern analysiert. Dabei zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen sNfL und dem Ausmaß der ACI-Stenose, während für sGFAP kein vergleichbarer Zusammenhang festgestellt werden konnte. Erhöhte sNfL-Werte traten insbesondere bei höhergradigen Stenosen auf, auch bei fehlender klinischer Symptomatik. Dies ließe sich durch eine chronische zerebrale Hypoperfusion oder rezidivierende Mikroembolisation bei Patienten mit Karotisstenose (CAS) erklären. Die vorliegenden Ergebnisse legen nahe, dass sNfL als Marker subklinischer neuronaler Schädigung zur verbesserten Risikostratifizierung bei asymptomatischer ACI-Stenose beitragen könnte und damit eine zusätzliche Unterstützung für die individuelle Therapieentscheidung zwischen konservativen und interventionellen Strategien bieten kann.

Summary

Stroke represents the second leading cause of death in Germany and is one of the main causes of permanent physical disability.¹ Typically, stroke is caused by vascular occlusion resulting from embolism or high-grade stenosis of a cerebral supplying vessel. In Germany, the aetiology of approximately 15% of all strokes is attributable to such vascular narrowing.² In the coming years, the incidence of stroke is expected to continue to increase.^{3,4} Measures for stroke prevention therefore include the early detection of such vascular stenoses using ultrasound- or computed tomography (CT)-based diagnostic procedures and the evaluation of stenoses of cerebral vessels.^{5,6} Recent studies, such as the European Carotid Surgery Trial 2 (ECST-2) and the CREST-2 trial, indicate that therapeutic decision-making regarding interventional or surgical treatment should not be based solely on the degree of stenosis, but should also incorporate additional patient-specific factors.^{7,8} In this context, a biomarker reflecting neuronal injury could potentially serve as a diagnostic aid in therapeutic decision-making, particularly as no established biomarker is currently available for the detection of vascular stenosis associated with an increased risk of stroke. Against this background, the present study included patients with extracranial stenosis of the internal carotid artery (ICA) who were evaluated during routine clinical visits at neurovascular units or vascular outpatient clinics of the University Hospital Düsseldorf. In all study participants, serum concentrations of the established biomarkers of neuronal injury, neurofilament light chain (sNfL) and glial fibrillary acidic protein (sGFAP), were measured using highly sensitive immunoassays.^{9–12} The analysis revealed a significant association between sNfL and the severity of ICA stenosis, whereas no comparable association was observed for sGFAP. Elevated sNfL levels were particularly evident in patients with higher-grade stenosis, even in the absence of clinical symptoms. This finding may be attributable to chronic cerebral hypoperfusion and recurrent microembolization in patients with carotid artery stenosis (CAS). Overall, these findings suggest that sNfL may serve as a marker of subclinical neuronal injury and could contribute to improved risk stratification in patients with asymptomatic internal carotid artery stenosis, thereby providing additional support for individualized decision-making between conservative and interventional treatment strategies.

Abkürzungsverzeichnis

ACI	<i>A. carotis interna</i>
ANOVA.....	<i>Analysis of Variance</i>
ASS	<i>Acetylsalicylsäure</i>
BMI	<i>Body-Mass-Index</i>
CAR.....	<i>Carotid Artery Risk</i>
CAS	<i>Karotisstenose</i>
CEA	<i>Carotisendarterektomie</i>
CT.....	<i>Computertomographie</i>
DEGUM.....	<i>Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin</i>
DSA	<i>Digitale Subtraktionsangiographie</i>
ECST-2.....	<i>European Carotid Surgery Trial 2</i>
EDV	<i>Enddiastolic Velocity (enddiastolische Strömungsgeschwindigkeit)</i>
eGFR.....	<i>estimated Glomerular Filtration Rate</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
GFAP	<i>saures Gliafaserprotein</i>
HbA1c.....	<i>Hämoglobin A1c</i>
HDL	<i>High-Density Lipoprotein</i>
HDL-c	<i>High-Density Lipoprotein-Cholesterin</i>
ICA	<i>internal carotid artery</i>
Il-6	<i>Interleukin-6</i>
IQR	<i>Interquartilabstand</i>
LDL.....	<i>Low-Density-Lipoprotein</i>
LDL-c.....	<i>Low-Density Lipoprotein-Cholesterin</i>
Lp(a)	<i>Lipoprotein (a)</i>
MoCA	<i>Montreal Cognitive Assessment</i>
mRNA.....	<i>messenger RNA</i>
mRS	<i>modifizierte Rankin Skala</i>
MRT.....	<i>Magnetresonanztomographie</i>
NASCET.....	<i>North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial</i>
NfL.....	<i>Neurofilament leichte Kette</i>
NFTPs	<i>Neurofilament-Triplet-Proteine</i>
NIHSS	<i>National Institutes of Health Stroke Scale</i>
ns.....	<i>nicht signifikant</i>

OMT	<i>Optimal medikamentöse Therapie</i>
ox-LDL	<i>Oxidiertes Low-Density Lipoprotein</i>
pg/ml.....	<i>Pikogramm pro Milliliter</i>
PSV	<i>Peak Systolic Velocity (maximale systolische Strömungsgeschwindigkeit)</i>
SD	<i>Standardabweichung</i>
sGFAP	<i>Serum gliales fibrilläres Säureprotein</i>
sNfL	<i>Serum Neurofilament leichte Kette</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TAVR.....	<i>Transkatheter-Aortenklappenimplantation</i>
TIA.....	<i>Transitorische Ischämische Attacke</i>
TNF-a	<i>Tumornekrosefaktor-Alpha</i>
ZNS	<i>Zentrales Nervensystem</i>
µL	<i>Mikroliter</i>

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Freisetzung von NfL in den Liquor und das periphere Blut nach neuronalem Schaden	3
Abb. 2: Verlauf der A. carotis interna nach Abzweigung aus der A. carotis communis	5
Abb. 3: Schematische Darstellung der Sonographischen Graduierung des NASCET-Stenosegrades	8
Abb. 4: Testprinzip des Immunoassays der Firma Roche zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von NfL	16
Abb. 5: Korrelation Stenosegrad der ACI und sNfL	22
Abb. 6: Boxplot Stenosegrad der ACI und sNfL	23
Abb. 7: Korrelation sNfL Z-Score und Stenosegrad der ACI	24
Abb. 8: Boxplot sNfL Z-Score und Stenosegrad der ACI	25
Abb. 9: Korrelation sGFAP und Stenosegrad der ACI	26
Abb. 10: Boxplot sGFAP und Stenosegrad der ACI	27
Abb. 11: sNfL bei unilateraler vs. bilateraler Stenose der ACI	28
Abb. 12: sGFAP bei unilateraler vs. bilateraler Stenose der ACI	29
Abb. 13: Korrelation sNfL und eGFR	30
Abb. 14: Korrelation sGFAP und eGFR	31
Abb. 15: Korrelation sNfL und Alter	32
Abb. 16: Korrelation sGFAP und Alter	33

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stenosegraduierung der A. carotis interna	7
Tabelle 2: modifizierte Rankin Skala	14
Tabelle 3: MoCA-Test: Übersicht der kognitiven Domänen und Aufgaben	15
Tabelle 4: Baseline Characteristics	20

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Klinische Relevanz	1
1.2	Die Neurofilament leichte Kette (NfL).....	1
1.3	Das saure Gliafaserprotein (GFAP)	3
1.4	Asymptomatische extrakranielle Gefäßstenose der Arteria carotis interna	4
1.4.1	Definition	4
1.4.2	Prävalenz.....	5
1.4.3	Ätiologie und Risikofaktoren.....	5
1.4.4	Symptome.....	6
1.4.5	Diagnostik	6
1.4.6	Therapie der asymptomatischen Karotisstenose.....	8
1.4.7	Prognose	9
1.4.8	Biomarker.....	10
1.5	Ziele der Arbeit.....	11
2	Methodik und Patientenkollektiv.....	12
2.1	Studiendesign.....	12
2.2	Analytik / Probenverarbeitung.....	12
2.3	Ethikstatement.....	12
2.4	Einschlusskriterien	13
2.5	Ausschlusskriterien	13
2.6	Anamneseerhebung und Erhebung des funktionellen Outcomes	13
2.7	Neuropsychologische Testung	14
2.8	Bestimmung von NfL und GFAP	15
2.9	Datenanalyse	17
2.10	Stenoseklassifikation (Verteilung nach Stenosegraden, unilaterale vs. bilaterale Stenose).....	17
3	Ergebnisse.....	19

3.1	Charakterisierung der Studienkohorte.....	19
3.2	Analysen der Biomarker sNfL und GFAP	21
3.2.1	Zusammenhang zwischen sNfL-Spiegel und Schweregrad der Karotisstenose	21
3.2.2	Zusammenhang zwischen sNfL Z-Score und Schweregrad der Karotisstenose	24
3.2.3	Kein Zusammenhang zwischen sGFAP und Schweregrad der Karotisstenose ..	26
3.2.4	Keine Unterschiede der Biomarkerkonzentrationen bei unilateralen vs. bilateralen Stenosen	28
3.3	Subgruppenanalysen.....	30
3.3.1	Zusammenhang zwischen sNfL und der Nierenfunktion	30
3.3.2	Zusammenhang zwischen sGFAP und der Nierenfunktion	31
3.3.3	Zusammenhang zwischen sNfL und dem Alter	32
3.3.4	Zusammenhang zwischen sGFAP und dem Alter	33
3.4	Zusammenfassung.....	33
4	Diskussion (einschließlich Schlussfolgerungen).....	34
4.1	Korrelation der Biomarker NfL und GFAP mit dem Schweregrad der Karotisstenose.....	35
4.2	Subgruppenanalysen	37
4.3	Klinische Relevanz und Implikationen	38
4.4	Methodische Stärken und Limitationen	38
4.5	Ausblick	39
4.6	Fazit	40
5	Literatur - und Quellenverzeichnis	41
6	Anhang.....	48
7	Danksagung	49

1 Einleitung

1.1 Klinische Relevanz

Die CREST-2-Studie hat kürzlich die hohe Wirksamkeit einer intensiven medikamentösen Behandlung bei asymptomatischer CAS aufgezeigt, wodurch die Auswahl von Patienten, die von einer Revaskularisierung profitieren könnten, zunehmend komplexer wird.¹³

Vor diesem Hintergrund untersucht die vorliegende Studie bereits etablierte Biomarker für neuronalen Schaden bei Patienten mit asymptomatischer CAS. Die Biomarker sNfL und sGFAP im Serum sollen helfen, Patienten zu identifizieren, bei denen eine Sanierung oder Optimierung der Therapie angezeigt ist.^{9–12} Neben den primären klinischen Endpunkten wie dem Auftreten eines Schlaganfalls, kardiovaskulärer Risiken oder Tod sollen auch aktuell noch sekundäre subklinische Endpunkte in die Therapieentscheidung einfließen.⁸ So könnten sNfL oder sGFAP das Potential haben, klinische Endpunkte wie kognitive Funktionen oder Hirnatrophie zu berücksichtigen und hier als Surrogatparameter zu dienen, da genannte Endpunkte aktuell mittels alleiniger morphologischer Beurteilung der Stenose nicht erfasst werden können.

Dies ist ein wichtiger Schritt in Richtung einer personalisierten Schlaganfallprävention und einer verfeinerten Risikostratifizierung im viel diskutierten Bereich des CAS-Managements.

Zukünftig könnten sNfL und sGFAP, ähnlich wie das Troponin beim Myokardinfarkt, als Biomarker zur Therapieentscheidung bei Patienten mit asymptomatischer CAS etabliert werden.

1.2 Die Neurofilament leichte Kette (NfL)

Ein Kandidat für einen solchen Biomarker im Blut ist das bereits in der Diagnostik verschiedener neurodegenerativer Erkrankungen eingesetzte Protein „leichte Kette des Neurofilaments“ (NfL).^{12,14,15}

Bei zerebralen Schädigungen, welche oft mit neuronalen Verlusten einhergehen, kommt es unter anderem, wie in Abbildung 1 veranschaulicht, zur Freisetzung von Neurofilamenten.^{16,17} Diese sind Proteine des Zytoskeletts und bestehen aus vier Untereinheiten, dem α -Internexin und den Neurofilament-Triplet-Proteinen (NfTPs).¹⁶ Letztere werden als Neurofilament light chain, Neurofilament medium chain, Neurofilament heavy chain bezeichnet.¹⁶

Die NfTPs sind jeweils nach ihren Molekulargewichten in niedrig, mittel und hoch unterteilt und bestimmen den Durchmesser von Axonen.¹⁶ Die Zusammensetzung und das genaue Verhältnis dieser Proteine sind entscheidend für die Assemblierung und den Transport der Intermediärfilamente.¹⁶

Eine dieser Untereinheiten ist NfL.¹⁸ Dieses kommt in den langen myelinisierten subkortikalen Axonen des zentralen Nervensystems (ZNS) vor und ist von Bedeutung für das Wachstum, sowie die Verzweigung von Axonen und dendritischen Strukturen.¹⁹ Bei neuronaler Zellschädigung erfolgt die Freisetzung von NfL in die Interzellularflüssigkeit und anschließend in den Liquor und in den systemischen Blutkreislauf.²⁰ Da NfL ausschließlich in Neuronen exprimiert wird und damit spezifisch für diese ist, wird es bereits für diverse neurologische Erkrankungen als Biomarker herangezogen.²¹ So lassen sich bei Alzheimer, ischämischem Schlaganfall, Multipler Sklerose oder auch Morbus Parkinson signifikante NfL-Erhöhen im Serum der Patienten feststellen.¹⁸ Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit ischämischem Schlaganfall nicht nur erhöhte sNfL-Werte haben, sondern auch, dass es eine Korrelation zwischen Infarktvolumen und sNfL-Erhöhung gibt.²² Dementsprechend soll man anhand des sNfL-Wertes Aussagen über den kurz- und langfristigen potenziellen funktionellen klinischen Outcome eines Stroke-Patienten treffen können.²³

In vorherigen Untersuchungen wurde eine Assoziation zwischen sNfL und fortgeschrittenem Alter, erhöhten Serumcholesterinwerten, gesteigertem systolischem Blutdruck und einem erhöhten Hämoglobin A1c (HbA1c)-Spiegel festgestellt.²⁴ Dabei ergab sich, dass der sNfL-Spiegel unabhängig vom Geschlecht war.²⁴

Daraus schlussfolgernd kann das sNfL bereits als Biomarker für Patienten mit neuro-axonalem Schaden herangezogen werden, um nachfolgende funktionelle Einschränkungen einzuschätzen.

Ob sNfL auch als zuverlässiger Biomarker für Patienten mit asymptomatischer extrakranieller Gefäßstenose der ACI genutzt werden kann, um Patientengruppen identifizieren zu können, bei denen trotz fehlender klinischer Symptomatik relevante subklinische neurologische Schäden vorliegen, ist nicht untersucht. So könnte insbesondere im Hinblick auf die Abwägung zwischen einer primär medikamentösen und interventionellen Therapie, zukünftig eine klinisch relevante Hilfestellung bei der therapeutischen Entscheidungsfindung gegeben werden.

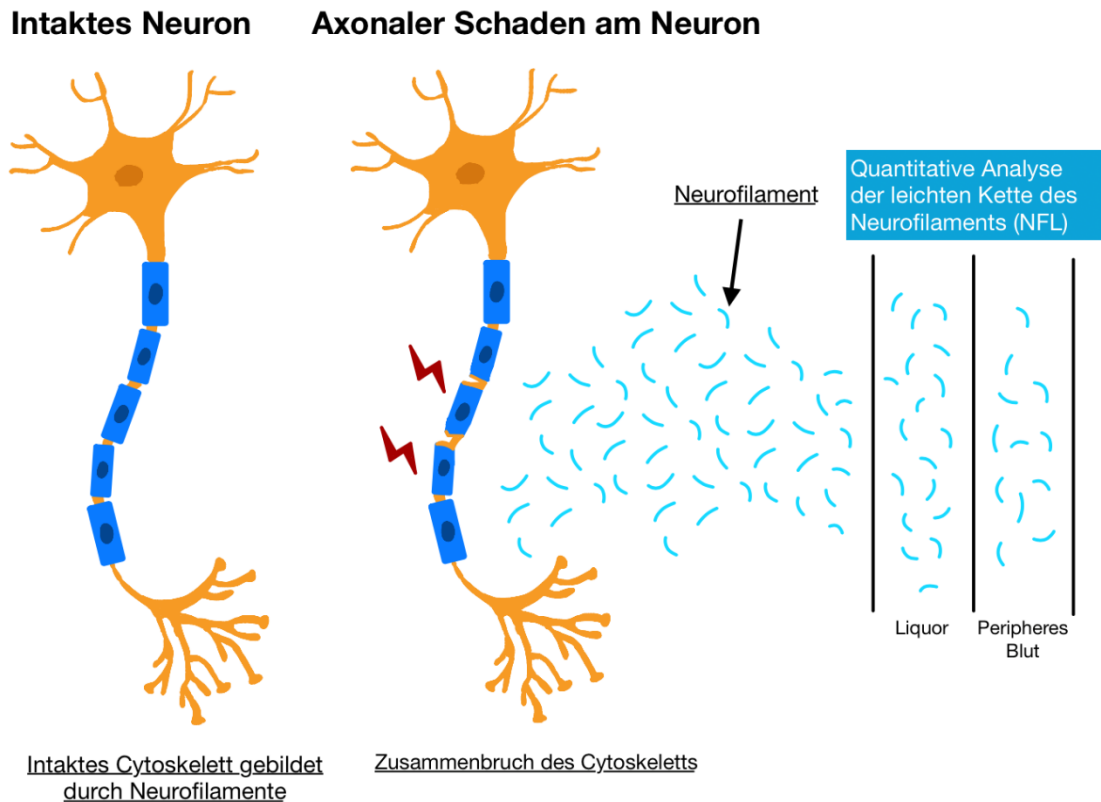


Abb. 1: Freisetzung von NfL in den Liquor und das periphere Blut nach neuronalem Schaden¹⁵

1.3 Das saure Gliafaserprotein (GFAP)

Ein weiterer Kandidat stellt das saure Gliafaserprotein (GFAP), ein Teil des Zytoskeletts von Gliazellen, dar.^{25,26}

In reifen Astrozyten des ZNS stellt GFAP das Hauptintermediärfilamentprotein dar und fungiert gleichzeitig als wesentliche Komponente bei der Entwicklung des Zytoskeletts von Astrozyten.²⁷ Dabei besitzen die Astrozyten im adulten Gehirn stammzellähnliche Eigenschaften.²⁸ Sie dienen nicht nur als Unterstützung der Neurone des Gehirns, sondern sind auch für die Herstellung und Aufrechterhaltung der Blut-Hirn-Schranke von großer Bedeutung.²⁹ Weiterhin erhalten sie die synaptische Plastizität und koordinieren die Kommunikation der Neurone untereinander.²⁹ GFAP spielt hierbei eine bedeutende Rolle bei der Migration sowie Regeneration der Astrozyten.³⁰ Es wurde bereits nachgewiesen, dass GFAP bei zerebralen Läsionen wie ischämischen Insulten oder degenerativen Vorgängen des ZNS erhöht ist.³¹

Auch im Alter kommt es zu einer vermehrten Expression von GFAP.³² Durch eine vermehrte Anzahl oxidativ geschädigter Proteine im Alter, wird eine erhöhte Transkription von GFAP messenger-RNA (mRNA) induziert.³²

Zusätzlich zu einer erhöhten altersbedingten Expression von GFAP im Hirngewebe wurde gezeigt, dass es auch zu einer Zunahme von GFAP im Liquor kommt.³³

Auch eine Korrelation von erhöhtem GFAP im Serum und kognitiver Funktion ist bereits nachgewiesen.³⁴ So konnten beispielsweise bei an Alzheimer erkrankten Probanden erhöhte GFAP-Werte im Serum festgestellt werden.³⁴

In einer umfassenden Betrachtung ist das GFAP an zahlreichen zellulären Prozessen beteiligt und fungiert als zentraler Regulator der Kommunikation zwischen Astrozyten und Neuronen. Somit können erhöhte GFAP-Level infolge zerebraler Schäden das Volumen der Astrozyten erhöhen, was wiederum dazu führt, dass die Synapsen der Neurone nun eine größere Anzahl an Astrozyten bedienen müssen als zuvor.³¹

Ob GFAP auch als zuverlässiger Biomarker für Patienten mit asymptomatischer extrakranieller Gefäßstenose der ACI genutzt werden kann und somit Patientengruppen identifiziert werden könnten, bei denen trotz fehlender klinischer Symptomatik relevante subklinische neurologische Schäden vorliegen, ist nicht untersucht. So könnte insbesondere im Hinblick auf die Abwägung zwischen einer primär medikamentösen und interventionellen Therapie, zukünftig eine klinisch relevante Hilfestellung bei der therapeutischen Entscheidungsfindung geleistet werden.

1.4 Asymptomatische extrakranielle Gefäßstenose der Arteria carotis interna

1.4.1 Definition

Die ACI versorgt vor allem das Gehirn mit Blut.³⁵ Der Verlauf dieser ist unten in der Abbildung 2 dargestellt.³⁵

Kommt es zu einer Stenose dieser Arterie, kann dies eine Minderperfusion der zu versorgenden Gehirnareale und hemisphärische Funktionsverluste im Rahmen ischämischer Schlaganfälle oder einer transitorisch ischämischen Attacke (TIA) wie Aphasie, Lähmungen, Apraxie oder Neglect zur Folge haben.³⁶ Laut der Leitlinie beginnt die Abgrenzung einer symptomatischen zu einer asymptomatischen ACI-Stenose mit der Anamnese und einer klinischen neurologischen Untersuchung sowie computertomographischer oder magnetresonanztomographischer Bildgebung.³⁷ Kann sowohl bildgebend als auch anamnestisch ein ischämisches Ereignis in den letzten

sechs Monaten nicht nachgewiesen werden, kann von einer asymptomatischen Stenose ausgegangen werden.³⁷

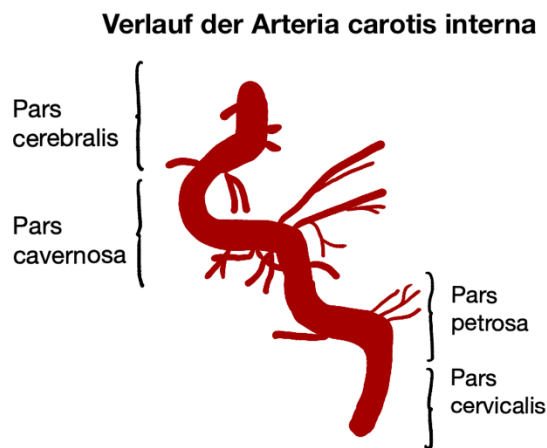


Abb. 2: Verlauf der A. carotis interna nach Abzweigung aus der A. carotis communis³⁸

1.4.2 Prävalenz

Atherosklerotische Veränderungen der ACI können zu einem Schlaganfall führen.² 15% aller Hirninfarkte sind durch extrakranielle Stenosen der A. carotis verursacht.² Die Leitlinie besagt, dass die Prävalenz einer CAS von über $\geq 50\%$ nach NASCET - Kriterien in der Bevölkerung bei ca. 4,2% liegt und ab dem 65. Lebensjahr auf 6-15% ansteigt.⁶

Eine erhöhte Prävalenz wurde insbesondere beim männlichen Geschlecht und kaukasischer Population festgestellt.³⁹ Die Outcomes hingegen sind nach Schlaganfall beim weiblichen Geschlecht schlechter.³⁹ Genannte Unterschiede werden auf pathophysiologische Gegebenheiten, sozioökonomische Bedingungen sowie den Zugang zur medizinischen Versorgung zurückgeführt.³⁹

1.4.3 Ätiologie und Risikofaktoren

Die Atherosklerose ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der arteriellen Gefäßwände.⁴⁰ Die Wechselwirkungen zwischen Lipoproteinen, T-Zellen, Makrophagen und den physiologischen arteriellen Zellkomponenten regen dabei einen entzündlich-basierten Prozess an.⁴¹ Dieser kann zur Ausbildung atherosklerotischer Läsionen oder Plaques führen, die in das Gefäßlumen hineinragen und den physiologischen Blutstrom beeinflussen können.⁴¹ Genannte Makrophagen oder T-Zellen produzieren gleichzeitig inflammatorische Zytokine, Proteasen oder Koagulationsfaktoren, welche die Plaques destabilisieren.⁴¹ Die Ruptur dieser Plaques

kann schwerwiegende klinische Ereignisse wie einen Schlaganfall oder Herzinfarkt zur Folge haben.⁴²

Zu den Risikofaktoren für atherosklerotische Veränderungen der ACI zählen Nikotinkonsum, arterielle Hypertonie, erhöhte Low-Density Lipoprotein (LDL)-Cholesterinspiegel, männliches Geschlecht, höheres Lebensalter, sowie eine positive Krankheitsanamnese hinsichtlich Gefäßerkrankungen.^{6,40,43}

Besonders bei Frauen ist ein ungünstiges Hüft-Taillenverhältnis in Kombination mit einer überwiegend abdominellen Fettverteilung mit einer CAS assoziiert.⁴⁴

Hingegen zählen zu protektiven Faktoren hohe High-Density Lipoprotein (HDL)-Spiegel, sportliche Betätigung sowie der Konsum von Alkohol.⁴⁰

1.4.4 Symptome

Die asymptomatische CAS ist durch das Fehlen von Symptomen gekennzeichnet.⁶

Als symptomatisch wird eine CAS eingestuft, wenn innerhalb der letzten sechs Monate ein ipsilateraler Hirninfarkt, eine ipsilaterale TIA oder eine ipsilaterale retinale Ischämie aufgetreten sind.⁶

1.4.5 Diagnostik

Die Diagnosestellung einer CAS erfolgt meist im Rahmen einer kardiologischen Untersuchung oder nach einem zerebralen ischämischen Ereignis. Ein Routinescreening ab einem gewissen Alter ist nicht vorgesehen, weil es bislang keine belastbaren Daten gibt, die darauf hindeuten, dass ein Screening die Schlaganfall- oder Mortalitätsrate in der Allgemeinbevölkerung senken könnte.⁴⁵ Vielmehr könnte dies eine Überdiagnostik und nicht indizierte Folgeinterventionen zur Folge haben.⁴⁵

Zur Untersuchung einer CAS kommt die farbduplexsonographische Doppleruntersuchung zum Einsatz.⁴⁶ Weitere bildgebende Verfahren wie eine magnetresonanz- oder computertomographische-Angiographie kommen vor allem in Betracht, wenn eine dopplersonographische Untersuchung erschwert ist.^{47,48}

Sollte durch genannte diagnostische Verfahren dennoch keine eindeutige Diagnostik möglich sein, kann auch eine digitale Subtraktionsangiographie (DSA) zum Einsatz kommen. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die periinterventionelle Komplikationsrate unter 0,5% liegen sollte.⁴⁸

Die Ultraschalluntersuchung erfolgt gemäß den standardisierten Kriterien der Deutschen Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM).⁶ Diese Kriterien verwenden Schwellenwerte für die maximale systolische Geschwindigkeit (PSV) und

die enddiastolische Geschwindigkeit (EDV) sowie Geschwindigkeitsverhältnisse zur Einstufung des Schweregrads der Stenose und liefern Prozentwerte, die denen der Einstufung der NASCET-Kriterien entsprechen.^{6,49}

Diese sind in Tabelle 1 veranschaulicht. In der Studie wurde die Tabelle 1 zur Berechnung des Stenosegrades verwendet.

Stenosegrad (NASCET) [%]	10	20 - 40	50	60	70	80	90	Verschluss
Hauptkriterien								
1. B-Bild		+++	+				+++	
2. Farb-Doppler-Bild	+	+++					+++	
3. Systolische Spitzengeschwindigkeit im Stenosemaximum [cm/s] ca.			200	250	300	350-400	100-500	+++
4. Systolische Spitzengeschwindigkeit poststenotisch [cm/s]					>50	<50	<30	
5. Kollateralen und Vorstufen (Periorbitalarterien / ACA)					(+)	++	+++	+++
Zusatzkriterien								
6. Diastolische Strömungsverlangsamung prästenotisch (ACC)					(+)	++	+++	+++
7. Strömungsstörungen poststenotisch			+		++	+++	(+)	
8. Enddiastolische Strömungsgeschwindigkeit im Stenosemaximum [cm/s]			bis 100	bis 100	über 100	über 100		
9. Konfetti-Zeichen					(+)	++	++	
10. Stenoseindex ACI/ACC			≥2	≥2	≥4	≥4		

Tabelle 1: Stenosegraduierung der A. carotis interna nach aktuellen DEGUM Kriterien⁶
 ACA: A. cerebri anterior, ACC: A. carotis communis, ACI: A. carotis interna
 Stenosegrad nach NASCET [%]: die Zahlenangaben betreffen jeweils einen 10%-Bereich (±5%)

Da aufgrund der atherosklerotischen Ablagerungen an der Karotis eine erhöhte Wahrscheinlichkeit besteht, dass auch andere Organsysteme befallen sind, sollte eine kardiovaskuläre und periphere vaskuläre Untersuchung erfolgen.⁶

Anhand des Ausmaßes der asymptomatischen CAS und begleitender Klinik des Patienten werden weitere Entscheidungen über Therapiemöglichkeiten getroffen.⁶

Abbildung 3 zeigt eine schematische Darstellung der Stenosegraduierung nach NASCET.

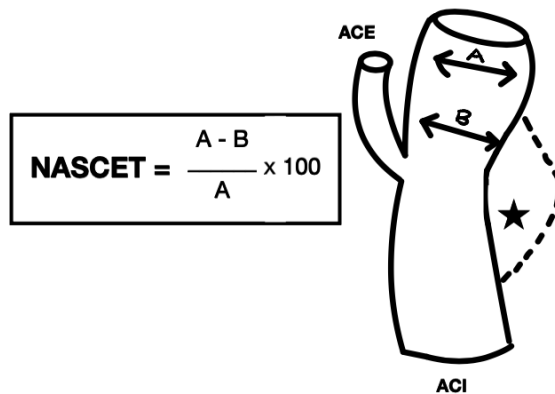


Abb. 3: Schematische Darstellung der Sonographischen Graduierung des NASCET-Stenosegrades⁵⁰

ACE: A. carotis externa, ACI: A. carotis interna, Stern: stenosiertes Lumen

1.4.6 Therapie der asymptomatischen Karotisstenose

Als therapeutische Optionen stehen eine Carotisendarteriektomie (CEA), eine ACI-Stentimplantation sowie eine konservative Therapie mittels optimal medikamentöser Therapie (OMT) zur Verfügung.^{51,52}

Ab einer hochgradigen CAS von > 60% nach NASCET-Kriterien kann eine Sanierung in Erwägung gezogen werden.⁶ Dies trifft vor allem dann zu, wenn das Risiko eines Schlaganfalls unter alleiniger OMT erhöht ist.^{6,53,54}

Nach Abwägung der OP-Risiken, sowie der Risiken eines karotisbedingten Schlaganfalls, kann eine CEA oder ein Carotisstenting erfolgen.^{51,55,56} Die Risikobewertung fokussiert sich hierbei primär auf schwerwiegende Morbiditäten wie beispielsweise das Auftreten eines Schlaganfalls, Myokardinfarkts oder auf die Mortalität.⁴⁸ Weitere periinterventionelle oder systemische Komplikationen werden zwar berücksichtigt, stehen aber nicht im Vordergrund der Nutzen-Risiko-Abwägung, da sie keinen signifikanten Einfluss auf das endgültige Behandlungsergebnis haben.⁴⁸ Von großer Bedeutung bei der Intervention ist, dass das perioperative Schlaganfall- und Mortalitätsrisiko jeweils unter 2% liegt.⁶ Diese Aspekte sollten durch einen erfahrenen Neurologen, aber auch interdisziplinär überprüft und beurteilt werden.⁶

In einem ersten Schritt wird allen Patienten eine Reduktion kardiovaskulärer Risikofaktoren empfohlen.⁵⁷

Dazu sollte zunächst, unabhängig vom Stenosegrad, eine Lebensstilmodifikation erfolgen.⁵⁷ Diese umfasst eine gesunde und ausgewogene Ernährung, die reich an

Vollwertkost ist.⁶ Außerdem sollte regelmäßige körperliche Aktivität in den Alltag integriert werden.⁶ Zudem wird dringend empfohlen, auf den Konsum von Nikotin zu verzichten.⁵⁷

Parallel zur Lebensstilmodifikation sollte leitliniengerecht eine OMT erfolgen.^{6,51}

Zur Reduktion des kardiovaskulären Risikos ist eine medikamentöse Senkung des LDL-Wertes erforderlich.⁶ Dies geschieht in der Regel primär mittels Statinen, Cholesterintransporterhemmer oder PCSK9 Inhibitoren.⁶

Die Senkung des LDL-Cholesterins sollte risikoadaptiert erfolgen.^{56,58} Hochrisikopatienten sollten einen Ziel LDL-Wert von < 55 mg/dl anstreben.^{56,58}

Weiterhin sollte bei Patienten mit einer asymptomatischen CAS von mehr als 50% und einem geringen Blutungsrisiko eine Thrombozytenaggregationshemmung erfolgen.⁶

Diese erfolgt in der Regel durch die Einnahme von 100 mg Acetylsalicylsäure (ASS).⁶

Alternativ ist auch die tägliche Einnahme von 75 mg Clopidogrel möglich.⁵⁸

Liegt ein Arterieller Hypertonus vor, sollte dieser sowohl durch konservative Maßnahmen wie Gewichtsreduktion, salzarme Diät oder Bewegung, als auch medikamentös therapiert werden.⁵⁸

Zusätzlich sollten Diabetiker sowohl durch ihren Lebensstil als auch medikamentös so eingestellt sein, dass ihr HbA1c-Zielwert unter 7% liegt.⁵³

Diese Maßnahmen sind die Grundlagen der konservativen Therapie und tragen bei konsequenter Durchführung zur Reduktion des kardiovaskulären Gesamtrisikos bei.⁶

Sechs Monate nach Erstdiagnose der asymptomatischen CAS sollte eine duplexsonographische Verlaufskontrolle erfolgen.⁶ Bei unverändertem Stenosegrad oder stabilem Befund reicht eine jährliche Kontrolle aus.⁶

1.4.7 Prognose

Eine asymptomatische ACI-Stenose erhöht das Schlaganfallrisiko um circa 1% pro Jahr.⁵⁹

Bei einer eingehenden Untersuchung des 5-Jahres-Risikos für einen ipsilateralen Schlaganfall bei Patienten mit asymptomatischer ACI-Stenose fällt auf, dass Patienten mit einer hochgradigen asymptomatischen ACI-Stenose von über 70% das höchste Schlaganfallrisiko haben.⁶⁰ Das 5-Jahres-Risiko liegt für die genannte Patientengruppe bei 18,5%.⁶⁰

Im Vergleich dazu beträgt das Schlaganfallrisiko bei Patienten ohne ACI-Stenose lediglich 4,6%.⁶⁰ Somit haben Patienten mit einer hochgradigen asymptomatischen

ACI-Stenose von über 70% im Vergleich zur Kontrollgruppe ein vierfach erhöhtes Schlaganfallrisiko.⁶⁰

Mit abnehmendem Stenosegrad sinkt auch das Schlaganfallrisiko.⁶⁰ Patienten mit einer ACI-Stenose von 50-59% haben ein Schlaganfallrisiko von 12,9%, während bei Patienten mit einer ACI-Stenose von weniger als 50% das 5-Jahres-Risiko für einen Schlaganfall bei 7,4% liegt.⁶⁰

Eine asymptomatische Okklusion der ACI führt wiederum zu einem ipsilateralen Schlaganfallrisiko von 9,4%.⁶⁰

1.4.8 Biomarker

Dass bestimmte Biomarker mit einer Stenose der ACI korrelieren können, wurde bereits in einigen Studien nachgewiesen. Diese beschränken sich jedoch überwiegend auf Atherosklerose als Grunderkrankung.⁶¹

Gemäß einer Metaanalyse, die Daten von Patienten mit asymptomatischer CAS aus der Cochrane Library und MEDLINE bis September 2023 umfasst, besteht das Potenzial, dass sowohl inflammatorische als auch Lipid-Biomarker dabei helfen könnten, diejenigen asymptomatischen Patienten mit ACI-Stenose zu identifizieren, die von einer interventionellen Therapie profitieren könnten.⁶¹

Biomarker wie Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6), Low-Density Lipoprotein-Cholesterin (LDL-c), High-Density Lipoprotein-Cholesterin (HDL-c), oxidiertes Low-Density Lipoprotein (ox-LDL) und Lipoprotein(a) (Lp(a)) könnten bereits Patienten mit asymptomatischer CAS und hohem Schlaganfallrisiko identifizieren.⁶¹ Dennoch wäre es, um eine klinische Relevanz endgültig festzustellen, von Bedeutung diesen Tatsachen durch weitere Studien näher nachzugehen.⁶¹

Auf Basis dieser Erkenntnisse gewinnt die Untersuchung neuronaler Biomarker zunehmend an Bedeutung. Während Lipid- und inflammatorische Marker Hinweise auf ein erhöhtes Schlaganfallrisiko bei asymptomatischer CAS liefern können, ermöglichen neuronale Biomarker wie sNfL und sGFAP eine direkte Abbildung subklinischer neuronaler Schäden. Dass eine vermehrte Ausschüttung beider Biomarker nach einem Schlaganfall stattfindet, konnte bereits in zahlreichen Studien gezeigt werden.⁹⁻¹¹ Diese könnten damit nicht nur helfen das Schlaganfallrisiko besser einzuschätzen, sondern auch Hinweise darauf liefern, welche Patienten möglicherweise von einer weiterführenden therapeutischen Intervention profitieren.

Die neueste Generation hochsensitiver, auf Antikörpern basierender Chemilumineszenz-Immunoassays wie Roches Elecsys® ermöglicht die zuverlässige, schnelle und hochdurchsatzfähige Vor-Ort-Analyse von sNfL- und sGFAP-Spiegeln. Die Serumspiegel von GFAP und NfL stehen in engem Zusammenhang mit dem Alter, in geringerem Maße mit dem Body-Mass-Index (BMI) und, im Falle von sGFAP, mit dem Geschlecht.¹⁰

Um diese Zusammenhänge zu modellieren und einzelne Messwerte anhand einer Referenz zu kontextualisieren, wurden anhand einer Referenzdatenbank mit > 4500 Personen Z-Scores berechnet.¹⁰

1.5 Ziele der Arbeit

Die Studie befasst sich mit der Frage, ob es eine Korrelation zwischen den Serumspiegeln von NfL und GFAP bei Patienten mit asymptomatischer CAS und dem Grad der Stenose gibt.

Ziel ist es, durch den Vergleich der Serumspiegel von NfL und GFAP bei n = 139 Patienten mit und ohne extrakranielle Gefäßstenose der ACI, die Korrelation dieser Biomarker mit dem Stenosegrad zu untersuchen. So sollen Patientengruppen mit subklinisch neuronalem Schaden identifizieren werden können, die von einer Revaskularisierung profitieren könnten. Die Etablierung von Biomarkern, welche subklinische neuronale Schädigung im Gehirn anzeigen, könnte von großer Bedeutung sein, da solche Schäden aktuell mittels alleiniger morphologischer Beurteilung der Stenose nicht erfasst werden.

Folgende Hypothese soll im Rahmen der Studie geprüft werden

1. Die Menge von NfL und GFAP im Blut von Patienten mit Stenose einer hirnversorgenden Arterie korreliert mit dem Grad der Stenose.

Die Identifizierung geeigneter Biomarker zur Risikoeinschätzung für das Auftreten von Schlaganfällen bei Patienten mit asymptomatischer CAS ist von klinischer Relevanz, da dies möglicherweise die Früherkennung und Behandlung dieser Patienten verbessern kann. Dies ist von Bedeutung, da aktuell kein verlässlicher Biomarker etabliert ist, der ein erhöhtes Schlaganfallrisiko anzeigen oder als Entscheidungskriterium bei Stellung der OP-Indikation dienen könnte.

2 Methodik und Patientenkollektiv

2.1 Studiendesign

Es wurde eine klinisch-prospektive, monozentrische Beobachtungsstudie durchgeführt. Bei dieser wurden insgesamt 139 Patienten eingeschlossen. Die Erfassung der in der Dissertation dargestellten Daten begann im Januar 2023 und endete im Juni 2024. Zur Gewährleistung der Repräsentativität der Studie wurde das Patientenkollektiv unter Berücksichtigung u. g. Ein- und Ausschlusskriterien ausgewählt. Die Patientendaten und ihre jeweiligen Termine in den Ambulanzen wurden unter Verwendung des Krankenhausinformationssystems CGM Medico (CompuGroup Medical SE & Co. KGaA, Koblenz, Deutschland) des Universitätsklinikums Düsseldorf erhoben. Bei jedem der prospektiv eingeschlossenen Patienten wurde nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung zur Teilnahme an der Studie eine Anamnese durchgeführt, sowie eventuelle neurologische Defizite mittels neuropsychologischer Testung erhoben. Im Rahmen der klinischen Routine erfolgte eine Blutentnahme. Die Datenerhebung und Speicherung erfolgten pseudo- und anschließend anonymisiert.

Die Nierenretentionsparameter wurden ebenfalls aus dem Krankenhausinformationssystem CGM Medico (CompuGroup Medical SE & Co. KGaA, Koblenz, Deutschland) des Universitätsklinikums Düsseldorf entnommen. Bei insgesamt $n = 26$ Patienten lagen keine vollständigen Daten zu den Nierenretentionsparametern vor.

2.2 Analytik / Probenverarbeitung

Die entnommenen Vollblutproben wurden innerhalb von 2 Stunden in Serumröhrchen überführt und bei 4°C gelagert, bevor sie zentrifugiert und aliquotiert bei -80°C gelagert wurden.

Die Analyse der Biomarker NfL und GFAP wurde im zertifizierten Labor des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt. Die Testdurchführung erfolgte blind bezüglich der Patientendaten, um eine Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden.

2.3 Ethikstatement

Die Studie namens „Vergleich der Mengen der leichten Kette des Neurofilaments (NfL) und des sauren Gliafaserproteins (GFAP) im Blut von Patienten mit extra- oder intrakranieller Gefäßstenose für die Evaluation von NfL und GFAP als Biomarker“

wurde von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Düsseldorf genehmigt (Nummer: 2022-1965).

2.4 Einschlusskriterien

Aus den Ambulanzen der Fachbereiche Neurologie und Gefäßchirurgie wurden Patienten im Alter von 60 bis 80 Jahren konsekutiv rekrutiert, bei denen mittels Farbduplexsonographie eine ACI-Stenose jeglichen Grades (0 - 100 % nach NASCET-Kriterien) diagnostiziert wurde. Die Rekrutierung erfolgte im Rahmen von dopplersonographischen Erstuntersuchungen oder Verlaufskontrollen. Damit der Einschluss erfolgen konnte, mussten die Patienten einwilligungsfähig zur Studienteilnahme sein und nach Aufklärung die Einverständniserklärung schriftlich bestätigen.

2.5 Ausschlusskriterien

Die Ausschlusskriterien berücksichtigten Pathologien, welche ohnehin mit einer Erhöhung des NfL oder GFAP im Blut einhergehen. Somit schlossen wir Patienten mit folgenden Pathologien oder Ereignissen aus:

- Neurodegenerative Erkrankungen wie jede Form der Demenz oder Parkinsonsyndrome
- Schwere Polyneuropathie
- Multiple Sklerose
- Schlaganfall innerhalb der letzten 12 Monate
- TIA innerhalb der letzten 12 Monate
- Schädelhirntrauma innerhalb der letzten 12 Monate
- Vorhofflimmern (aufgrund des erhöhten kardioembolischen Schlaganfallrisikos)
- Hochgradige Spinalkanalstenose oder sonstiger Nachweis einer Myelopathie
- CEA oder Carotisstenting innerhalb der letzten 12 Monate

Die Daten wurden anamnestisch, aus dem Krankenhausinformationssystem CGM Medico (CompuGroup Medical SE & Co. KGaA, Koblenz, Deutschland) oder aus vorherigen vorliegenden bildgebenden Untersuchungen erhoben.

2.6 Anamneseerhebung und Erhebung des funktionellen Outcomes

Es erfolgten Angaben zu folgenden Stammdaten:

- Alter
- Geschlecht
- Gewicht und Körpergröße (BMI)

Anamnestisch erfolgte die Erfassung folgender atherosklerotischer Risikofaktoren:

- Arterieller Hypertonie
- Hypercholesterinämie
- Diabetes mellitus
- Nikotinabusus (in packyears)

Zur Bewertung und Quantifizierung eventueller neurologischer Defizite und des funktionellen Outcomes wurden erhoben:

- National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)
- modifizierte Rankin Skala (mRS) (in Tabelle 2 dargestellt)

Punktzahl	Art der Symptome oder Beeinträchtigungen
0	Es bestehen keine Symptome.
1	Es bestehen keine relevanten Beeinträchtigungen. Der Patient ist in der Lage, seinen Alltag selbstständig zu gestalten.
2	Es bestehen leichte Beeinträchtigungen. Der Patient hat Einschränkungen im Alltag, ist aber nicht auf Hilfe angewiesen.
3	Es bestehen mittelgradige Beeinträchtigungen. Der Patient ist auf Hilfe im Alltag angewiesen. Gehen ist ohne fremde Hilfe (ggf. mit Hilfsmitteln) möglich.
4	Es besteht eine höhergradige Beeinträchtigung. Der Patient ist nicht mehr in der Lage, seinen Körper zu pflegen oder selbstständig zu laufen.
5	Es besteht eine schwere Behinderung. Der Patient ist bettlägerig, inkontinent und auf ständige Pflege angewiesen.
6	Tod infolge des Schlaganfalls.

Tabelle 2: modifizierte Rankin Skala ⁶²

2.7 Neuropsychologische Testung

Ein weiterer wichtiger Bestandteil der Untersuchung war die Durchführung des Montreal Cognitive Assessment (MoCA). Dieser dient der Objektivierung der kognitiven Fähigkeit der Patienten.⁶³ Der Test umfasst eine Zeitdauer von etwa 15 Minuten.⁶³ Die maximal erreichbare Punktzahl liegt bei 30 Punkten.⁶³ Erreicht ein Patient unter 26 Punkte, kann dies bereits auf eine kognitive Beeinträchtigung

hindeuten.⁶³ Dabei wäre der Wert falsch positiver Ergebnisse jedoch zu hoch, weswegen Carson et al. einen Cut-off-Wert von 23 Punkten als ideal definieren.⁶⁴

Folgende in der Tabelle 3 dargestellten Fähigkeiten werden in dem MoCA geprüft:

Kognitive Domäne	Beschreibung	Beispielaufgabe
Visuell-räumliche Fähigkeiten	Beurteilt das Verständnis und die räumliche Wahrnehmung.	Uhrzeit einzeichnen, geometrische Figuren nachzeichnen.
Exekutive Funktionen	Bewertet Problemlösungsfähigkeit und Planung.	Verbinden von Zahlen und Buchstaben in Reihenfolge.
Benennung	Testet die Fähigkeit, Objekte zu benennen.	Benennen von Tieren anhand von Bildern.
Gedächtnis	Beurteilt das Kurzzeitgedächtnis.	Fünf Wörter lernen und später wiederholen.
Aufmerksamkeit und Konzentration	Misst die Fokussierungsfähigkeit und das Kurzzeitgedächtnis.	Zahlenreihen vor- und rückwärts wiederholen, von 100 ab 7 zählen.
Sprache	Bewertet sprachliche Fähigkeiten.	Satzwiederholung, Generieren von Wörtern zu einem Anfangsbuchstaben.
Abstraktionsvermögen	Testet die Fähigkeit, Gemeinsamkeiten zu erkennen.	Ähnlichkeiten zwischen Begriffen benennen.
Orientierung	Bewertet das Wissen über Zeit und Ort.	Fragen nach dem aktuellen Datum, Monat, Jahr, Ort und Stadt.

Tabelle 3: MoCA-Test: Übersicht der kognitiven Domänen und Aufgaben⁶³

2.8 Bestimmung von NfL und GFAP

Im Anschluss wurde den Teilnehmern gemäß standardisiertem Verfahren mittels Vacutainer Safety-Lok Blutentnahmesets in der Größe 21G oder 23G und 18 cm Schlauch (BD Vacutainer®, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) im Rahmen der klinischen Routine zweimal jeweils 8,5 ml Vollblut entnommen. Dies wurde in Vacutainer SST II Advance Serumröhrchen mit Trenngel und Gerinnungsaktivator in der Größe 8,5 ml (BD Vacutainer®, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) aufgefangen. Innerhalb einer Stunde nach der Entnahme wurden die Blutproben zur zentralen Biobank der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf transportiert und bei 3000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert (Heraeus Megafuge 40 R und Heraeus Multifuge X3R, ThermoFisher,

Schwerte, Deutschland). So konnte das Serum von den Blutzellen getrennt werden. Anschließend wurden die Proben pipettiert, aliquotiert und innerhalb von 60 Minuten bei -20 °C eingefroren. Alle vier Wochen wurden die gelagerten Proben in einen -80 °C Tiefkühlschrank überführt, wo sie bis zur abschließenden Laboranalyse verblieben. Vor Analyse der Proben wurden diese wieder auf Raumtemperatur aufgetaut.

Das gewonnene Serum wurde auf das Vorhandensein von NfL und GFAP analysiert. Die Analyse erfolgte mittels Elecsys® Neurofilament Light Chain RUO der Firma Roche (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) gemäß den Herstellerangaben. Hierbei handelt es sich um einen Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von NfL und GFAP. Das Testprinzip basiert auf einem Sandwich-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) und die Testdauer beträgt 18 Minuten.⁶⁵

In einem ersten Schritt wurden 48 Mikroliter (µL) der Probe mit einem biotinylierten monoklonalen Antikörper sowie einem ruthenylierten monoklonalen Antikörper inkubiert.⁶⁶ Beide sind spezifisch für NfL. Dadurch entsteht ein Sandwich-Komplex.⁶⁶

In einem zweiten Schritt wurden Streptavidin-beschichtete Mikropartikel hinzugefügt. Diese binden an den biotinylierten monoklonalen Antikörper. Daraus entsteht ein weiterer Komplex. Dieser wurde anschließend auf die Elektrodenoberfläche des Messmoduls aufgebracht.⁶⁶ Die Messung erfolgte durch das Anlegen einer Spannung, die eine chemilumineszente Reaktion auslöst. Deren Intensität ist direkt proportional zur NfL-Konzentration in der Probe. Die Ergebnisse wurden in Pikogramm pro Milliliter (pg/ml) angegeben.⁶⁶

Gleiches Prozedere gilt für die Messung von GFAP.

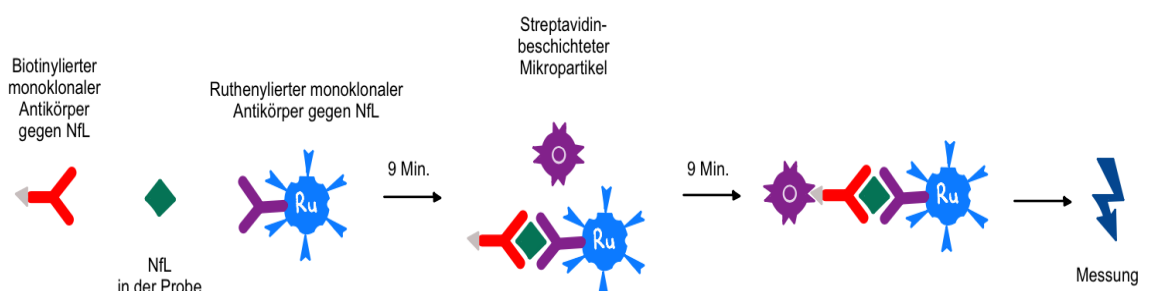


Abb. 4: Testprinzip des Immunoassays der Firma Roche zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von NfL⁶⁶

Zur Einordnung bekannter Assoziationen von sNfL mit BMI und Alter wurden Z-Scores berechnet.⁶⁷ Hierfür wurde ein Generalized Additive Model for Location, Scale and

Shape (GAMLSS) verwendet, basierend auf Referenzdaten von über 4500 Individuen in Kooperation mit der Forschungsgruppe von Jens Kuhle vom Department of Clinical Research der Universität Basel, Schweiz.

2.9 Datenanalyse

Die elektronische Erfassung der Patientendaten erfolgte mittels Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA; Version 16.101.3). Die statistische Auswertung erfolgte mittels IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Statistics (IBM Corp., Armonk, NY, USA; Version 29.0.2.0). Nach Datenerhebung wurden die Daten in SPSS übertragen.

Zunächst wurden die Daten mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung geprüft.

Es erfolgte eine deskriptive Statistik im Sinne von Berechnung der Häufigkeiten, der Mittelwerte, der Standardabweichung, des Medians sowie des Interquartilabstands. Die Unterschiede innerhalb der Gruppen wurden bei den kategorialen Variablen mittels Chi-Quadrat berechnet. Bei den kontinuierlichen Variablen erfolgte die Berechnung mittels Kruskal-Wallis-Test für nicht normalverteilte Variablen und mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) für normalverteilte Variablen.

Zur Prüfung eines Zusammenhangs der Daten wurden Spearman-Korrelationsanalysen durchgeführt.

Um Unterschiede innerhalb der Stenosegruppen festzustellen, wurde bei nicht normalverteilten Daten der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, während normalverteilte Daten mittels ANOVA getestet wurden.

Um Unterschiede zwischen zwei nicht normalverteilten Gruppen festzustellen, erfolgte ein Mann-Whitney-U-Test.

Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 5\%$ festgelegt.

2.10 Stenoseklassifikation (Verteilung nach Stenosegraden, unilaterale vs. bilaterale Stenose)

Die Stenosegrade der ACI wurden nach NASCET-Kriterien klassifiziert. Dabei wurde zunächst nicht berücksichtigt, ob bei den Patienten eine uni- oder bilaterale Stenose vorliegt. Es erfolgte eine Orientierung an dem höheren Stenosegrad. Lag bei einem Patienten beispielsweise eine bilaterale Stenose mit links 50% und rechts 80% nach NASCET-Kriterien vor, wurde die 80%ige Stenose als Referenz herangezogen. Somit ergab sich die Einteilung der Stenosegrade der ACI nach NASCET-Kriterien.

Dennoch wurde in einem weiteren Schritt zwischen unilateraler und bilateraler Stenose unterschieden. Dabei wurden zunächst uni- und bilaterale Stenosen ohne Berücksichtigung der Höhe des Stenosegrades verglichen. Stenosen von 0% wurden dabei ausgeschlossen.

3 Ergebnisse

3.1 Charakterisierung der Studienkohorte

Es wurden insgesamt 139 Patienten eingeschlossen. Davon insgesamt 88 (63,3%) männliche und 51 (36,7%) weibliche Patienten, was einem Geschlechterverhältnis von circa 5:3 zugunsten der männlichen Patienten entspricht. Das durchschnittliche Alter lag bei 70 Jahren ($\pm 5,96$ Jahre), wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stenosegruppen festgestellt wurden.

Anamnestisch wurden kardiovaskuläre Risikofaktoren erhoben. Darunter fielen arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Adipositas, Hypercholesterinämie, BMI und Nikotinabusus. Der durchschnittliche BMI der Patienten lag bei circa 26 kg/m².

Der Großteil der eingeschlossenen Patienten litt an Hypercholesterinämie (85%) und arterieller Hypertonie (86%). Etwa 70% der Patienten gaben einen Nikotinabusus an. Insgesamt 19% litten an Adipositas, 19% an Diabetes mellitus.

Die renale Funktion der Studienpopulation war insgesamt gut erhalten. Die eGFR der Patienten lag im Durchschnitt bei 84 ml/min und das Kreatinin bei 0,86 mg/dl.

Die gemessenen Biomarkerkonzentrationen lagen für sNfL im Durchschnitt bei 2,25 pg/ml und für sGFAP im Median bei 0,078 pg/ml. Der sNfL-Z-Score betrug im Median 0,52, wobei eine deutliche Streuung der Werte beobachtet wurde.

Die Verteilung der Stenosegrade der ACI wurde gemäß NASCET-Kriterien vorgenommen. Der Großteil der Patienten wies moderate bis hochgradige Stenosen von über 50% nach NASCET auf. Insbesondere 11% der Patienten hatten eine vollständige Okklusion (100%-Stenose), während bei 15 Patienten (10,8%) eine Stenose von 90% vorlag. In 26,6% der Fälle wurden niedriggradige Stenosen bis 40% festgestellt.

Die Verteilung nach Geschlecht, Alter und relevanten Komorbiditäten zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stenosegruppen. Lediglich für den Faktor „Nikotinabusus“ konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden ($p = 0,041$). Dies könnte auf einen Zusammenhang zwischen Raucherstatus und dem Ausmaß der Gefäßveränderung hinweisen.

Stenosegrad der A. carotis interna (nach NASCET-Kriterien)

Charakteristikum	Alle	0%	10%	20-40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%	Signifikanz (p-Wert)
Anzahl N	139	37	7	19	19	9	13	15	11	9	
Geschlecht											
weiblich	51 (36,7%)	12 (32,4%)	1 (14,3%)	7 (36,8%)	11 (57,9%)	2 (22,2%)	7 (53,8%)	4 (26,7%)	5 (45,5%)	2 (22,2%)	ns
männlich	88 (63,3%)	25 (67,6%)	6 (85,7%)	12 (63,2%)	8 (42,1%)	7 (77,8%)	6 (46,2%)	11 (73,3%)	6 (54,5%)	7 (77,8%)	ns
Alter in Jahren (Mittelwert $\pm$ SD)	70 $\pm$ 5,96	70 $\pm$ 5,87	70 $\pm$ 7,6	71 $\pm$ 6,2	69 $\pm$ 5,8	69 $\pm$ 5,8	70 $\pm$ 5,3	71 $\pm$ 7,2	71 $\pm$ 6,5	69 $\pm$ 5,42	ns
Arterielle Hypertonie	120 (86,3%)	29 (78,4%)	6 (85,7%)	18 (94,7%)	17 (89,5%)	8 (88,9%)	11 (84,6%)	14 (84,6%)	8 (72,7%)	9 (100%)	ns
Diabetes Mellitus Typ 2	26 (18,7%)	3 (8,1%)	2 (28,6%)	4 (21,1%)	3 (15,8%)	3 (33,3%)	3 (23,1%)	3 (20%)	3 (27,3%)	2 (22,2%)	ns
Hypercholesterinämie	117 (84,8%)	30 (81,1%)	6 (85,7%)	17 (89,5%)	16 (84,2%)	7 (77,8%)	11 (84,6%)	14 (93,3%)	7 (70%)	9 (100%)	ns
Nikotinabusus	96 (69,6%)	24 (64,9%)	1 (14,3%)	16 (84,2%)	16 (84,2%)	6 (66,7%)	10 (76,9%)	10 (66,7%)	8 (80%)	5 (55,6%)	0,041
Adipositas	27 (18,7%)	3 (8,1%)	3 (42,9%)	4 (21,1%)	5 (26,3%)	2 (22,2%)	5 (38,5%)	3 (20%)	0	1 (11,1%)	ns
BMI (kg/m ²)	26 (5,1)	26 (3,5)	27 (14,4)	26 (5,3)	24 (5,8)	27 (3,8)	28 (8)	27 (3,5)	23 (6,3)	28 (2,8)	ns
eGFR (ml/min, Median (IQR))	84 (26)	86 (16)	86 (13)	71 (41)	85 (21)	85 (39)	80 (25)	81 (31)	87 (36)	80 (44)	ns
Serum Kreatinin (mg/dl, Median (IQR))	0,86 (0,28)	0,83 (0,17)	0,84 (0,31)	0,95 (0,41)	0,82 (0,32)	0,87 (0,44)	0,83 (0,22)	0,9 (0,37)	0,8 (0,38)	0,9 (0,76)	ns
sNfL (Z-Score, Median (IQR))	0,52 (1,8)	0,05 (1,86)	0,44 (2,72)	0,88 (1,25)	0,33 (2,04)	0,28 (1,42)	0,44 (1,43)	0,71 (1,26)	1,37 (1,78)	0,67 (2,07)	ns
sNfL (pg/ml, Median (IQR))	2,26 (1,55)	2,41 (1,17)	2,23 (2,37)	3,07 (1,95)	2,54 (1,2)	3,12 (1,15)	2,37 (0,66)	2,75 (1,83)	4,43 (3,98)	2,89 (3,75)	ns
sGFAP (pg/ml, Median (IQR))	0,08 (0,06)	0,08 (0,05)	0,07 (0,08)	0,09 (0,04)	0,07 (0,62)	0,07 (0,09)	0,08 (0,35)	0,08 (0,08)	0,11 (0,15)	0,88 (0,09)	ns

Tabelle 4: Baseline Characteristics

In der Tabelle sind alle untersuchten Fälle dargestellt. Die Verteilung der Variablen wurde mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung geprüft. Eine Normalverteilung konnte lediglich für die Variable Alter festgestellt werden. Daher werden für Alter der Mittelwert ($\pm$ Standardabweichung) angegeben, während für alle anderen kontinuierlichen Variablen der Median mit Interquartilabstand dargestellt wird.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Für den Vergleich kategorialer Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet, für kontinuierliche Variablen kam der Kruskal-Wallis-Test zum Einsatz. Für das Alter erfolgte ein ANOVA Test.

Abkürzungen: ns = nicht signifikant, SD = Standardabweichung, IQR =

Interquartilabstand, eGFR = estimated Glomerular Filtration Rate, sGFAP= serum glial fibrillary acidic protein, sNfL= serum neurofilament light chain, BMI = Body Mass Index, NASCET = North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial

3.2 Analysen der Biomarker sNfL und GFAP

Insgesamt wurden, wenn nicht anders angegeben, $n = 139$ Proben in die statistische Auswertung eingeschlossen. Diese wurden wie oben dargestellt nach dem Stenosegrad kategorisiert.

3.2.1 Zusammenhang zwischen sNfL-Spiegel und Schweregrad der Karotisstenose

Es zeigte sich ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der CAS und dem sNfL-Spiegel ($r = 0,203$; $p = 0,017$). Dieser Befund legt nahe, dass höhere Stenosegrade mit einer leichten, aber messbaren Zunahme von NfL assoziiert sein könnten.

Zur Überprüfung möglicher Unterschiede der sNfL-Konzentrationen zwischen den Stenosegruppen unterteilt nach NASCET-Kriterien wurde ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Dieser ergab einen p-Wert von 0,053 und deutet damit auf einen Trend zur Signifikanz hin. Besonders bei höhergradigen Stenosen zeigten sich tendenziell erhöhte sNfL-Werte.

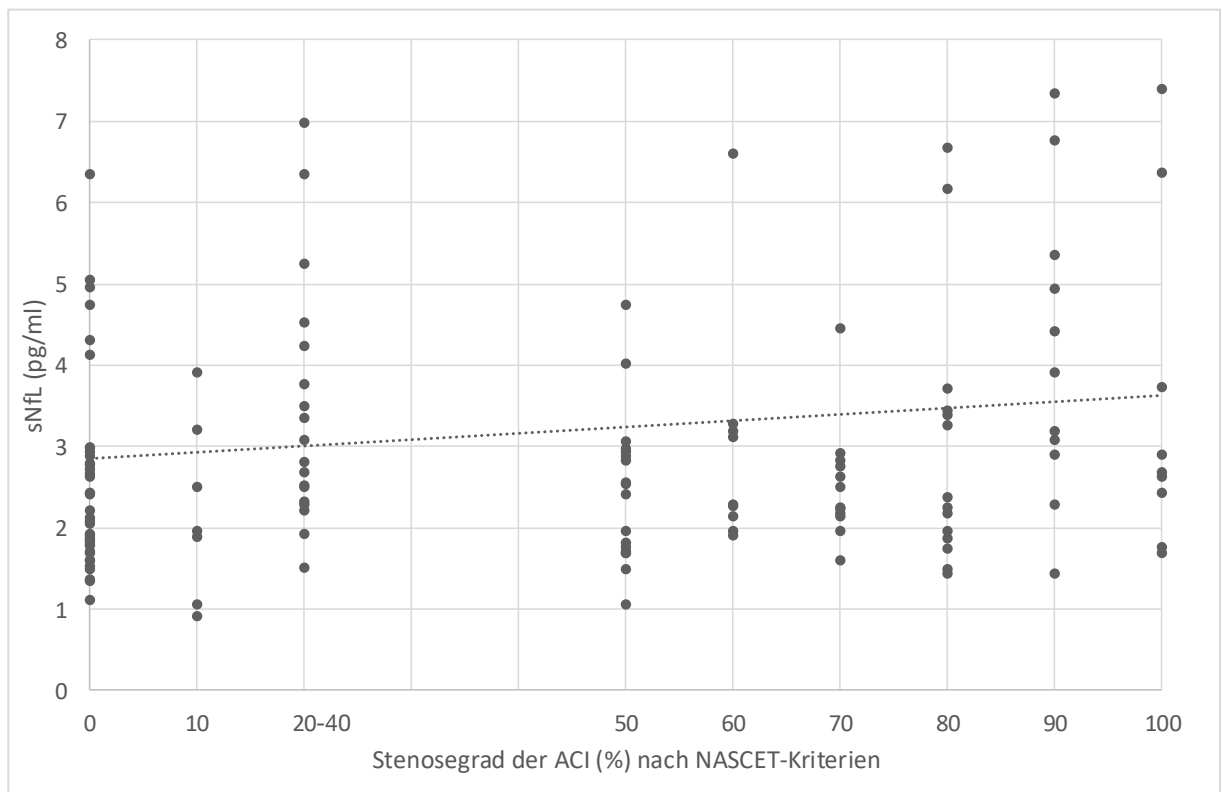


Abb. 5: Korrelation Stenosegrad der ACI und sNfL

Es wurde ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen dem sNfL-Spiegel und dem Stenosegrad der ACI zu untersuchen. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,203 bei einem p-Wert von 0,017 ($p < 0,05$). Ausreißer (sNfL = 12,8 pg/ml bei 0%, sNfL = 9,26 pg/ml bei 20-40%, sNfL = 8,79 pg/ml bei 50%, sNfL = 11,8 pg/ml bei 70%, sNfL = 10,4 pg/ml bei 80%) sind nicht abgebildet.

Abkürzungen: sNfL = serum neurofilament light chain, ACI = A. carotis interna, NASCET = North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial

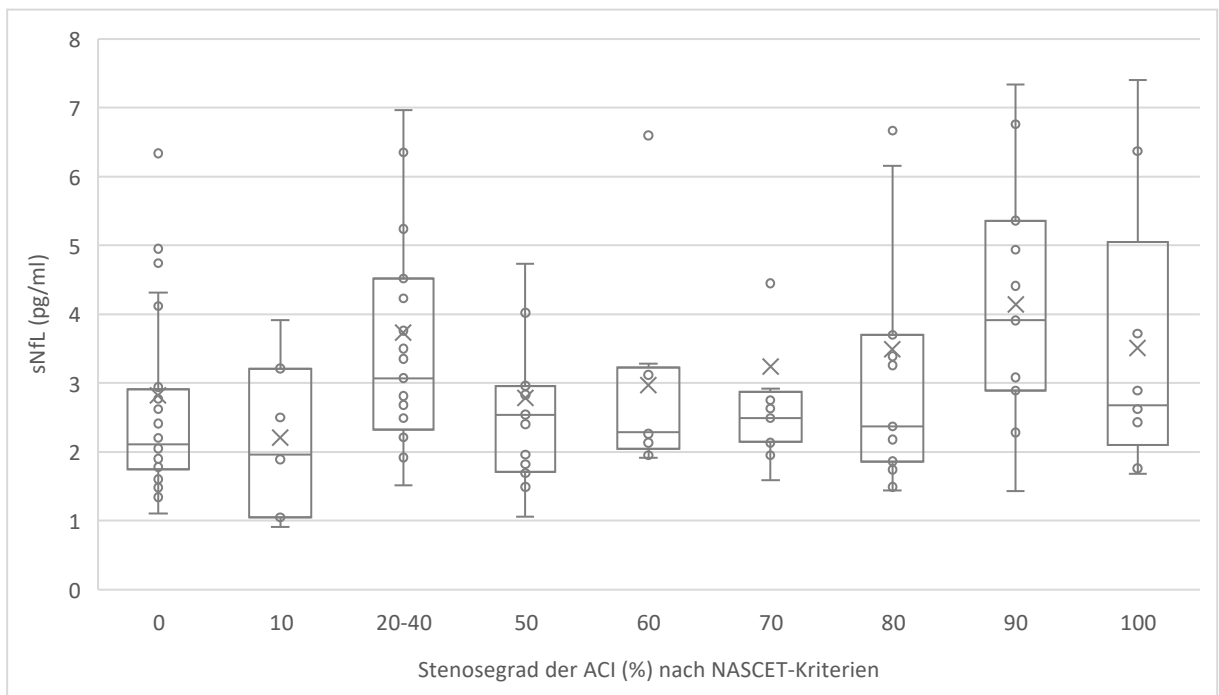


Abb. 6: Boxplot Stenosegrad der ACI und sNfL

Zur Prüfung der Unterschiede zwischen den Gruppen wurde ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Der p-Wert beträgt 0,053 ($p > 0,05$). Ausreißer sind nicht abgebildet.

Abkürzungen: sNfL = serum neurofilament light chain, ACI = A. carotis interna, NASCET = North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial

3.2.2 Zusammenhang zwischen sNfL Z-Score und Schweregrad der Karotisstenose

Eine Korrelationsprüfung des sNfL-Z-Scores und den Stenosegraden ergab einen signifikant positiven Zusammenhang ($r = 0,190$; $p = 0,025$.) Beim Vergleich der sNfL-Z-Scores zwischen den Stenosegruppen mittels Kruskal-Wallis-Test zeigte sich ein Trend zur Signifikanz ($p = 0,079$), wobei insbesondere bei höhergradigen Stenosen eine Tendenz zu erhöhten sNfL-Z-Scores erkennbar war.

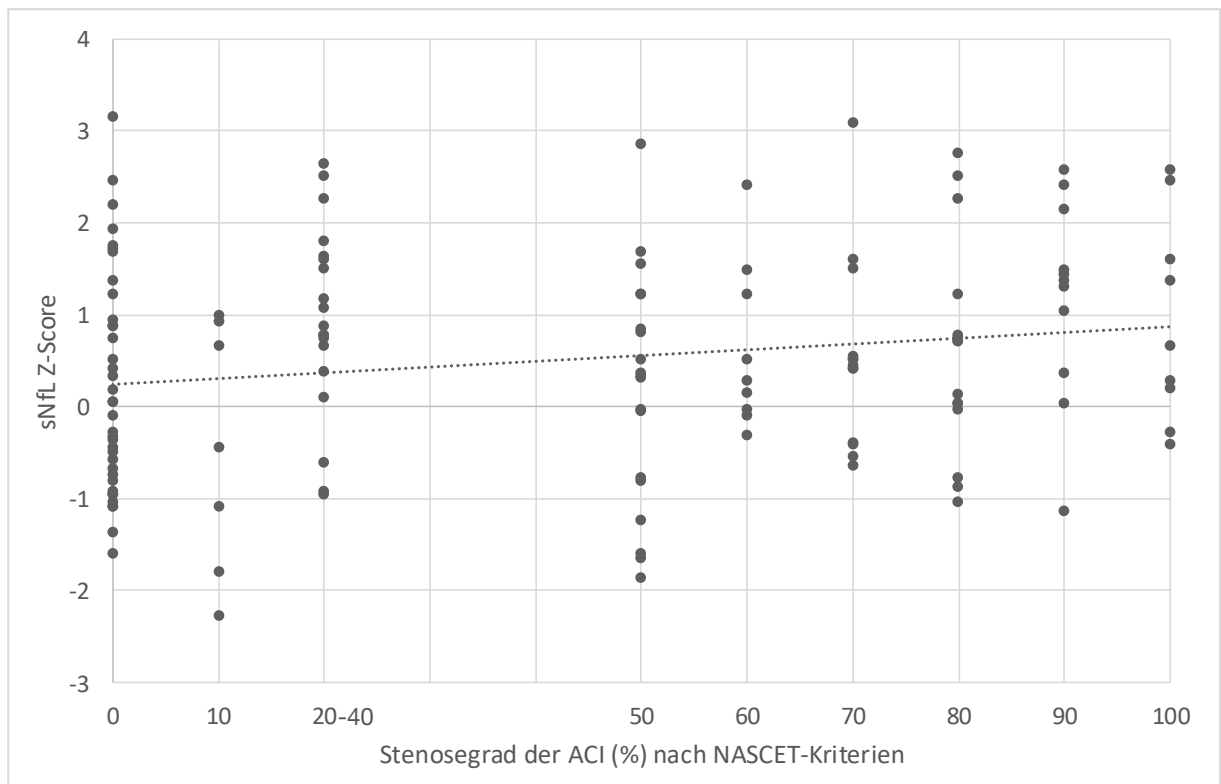


Abb. 7: Korrelation sNfL Z-Score und Stenosegrad der ACI

Es wurde ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen dem Stenosegrad der ACI und dem Z-Score zu analysieren. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,190 bei einem p-Wert von 0,025 ($p < 0,05$).

Abkürzungen: sNfL = serum neurofilament light chain, ACI = A. carotis interna, NASCET = North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial

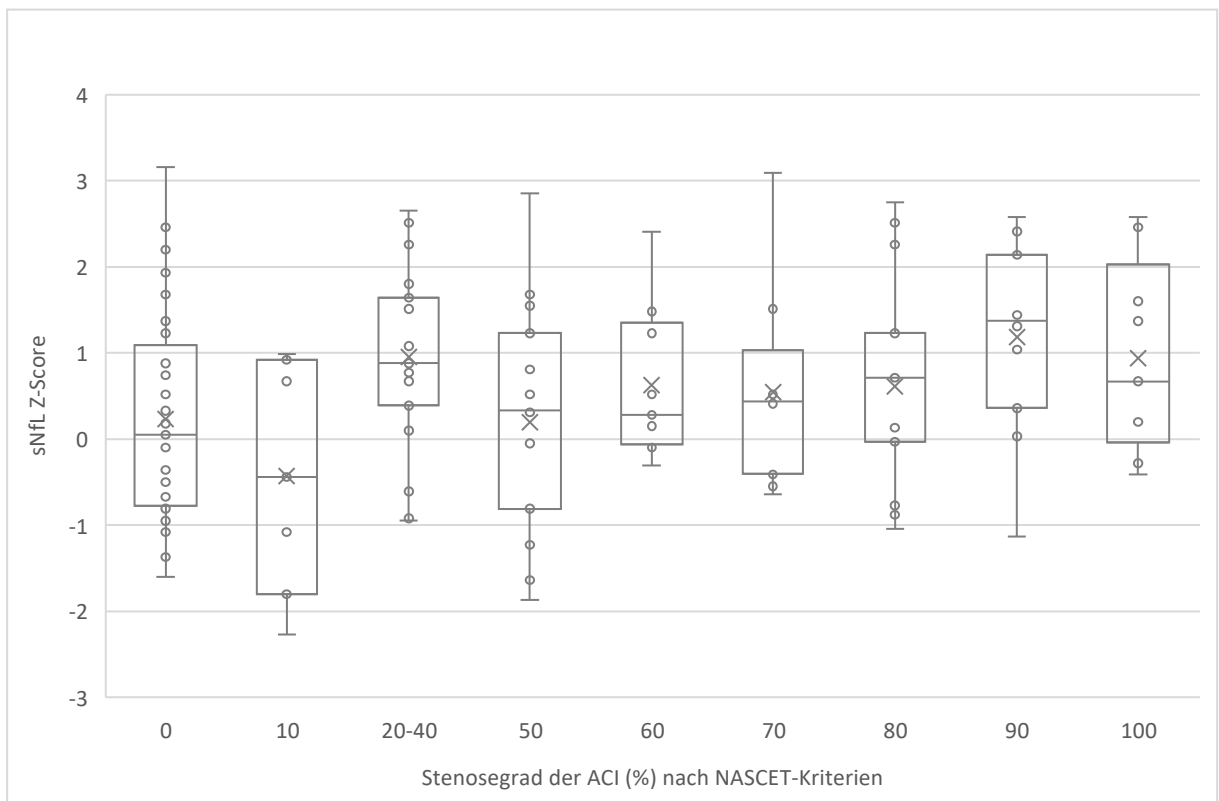


Abb. 8: Boxplot sNfL Z-Score und Stenosegrad der ACI

Zur Prüfung von Unterschieden im sNfL Z-Score zwischen den Stenosegruppen wurde ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Der p-Wert beträgt 0,079 ($p > 0,05$).

Abkürzungen: sNfL = serum neurofilament light chain, ACI = A. carotis interna, NASCET = North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial

3.2.3 Kein Zusammenhang zwischen sGFAP und Schweregrad der Karotisstenose

Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Stenosegrad der ACI und dem sGFAP-Spiegel ($r = 0,046$; $p = 0,588$). Auch der Kruskal-Wallis-Test ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,903$).

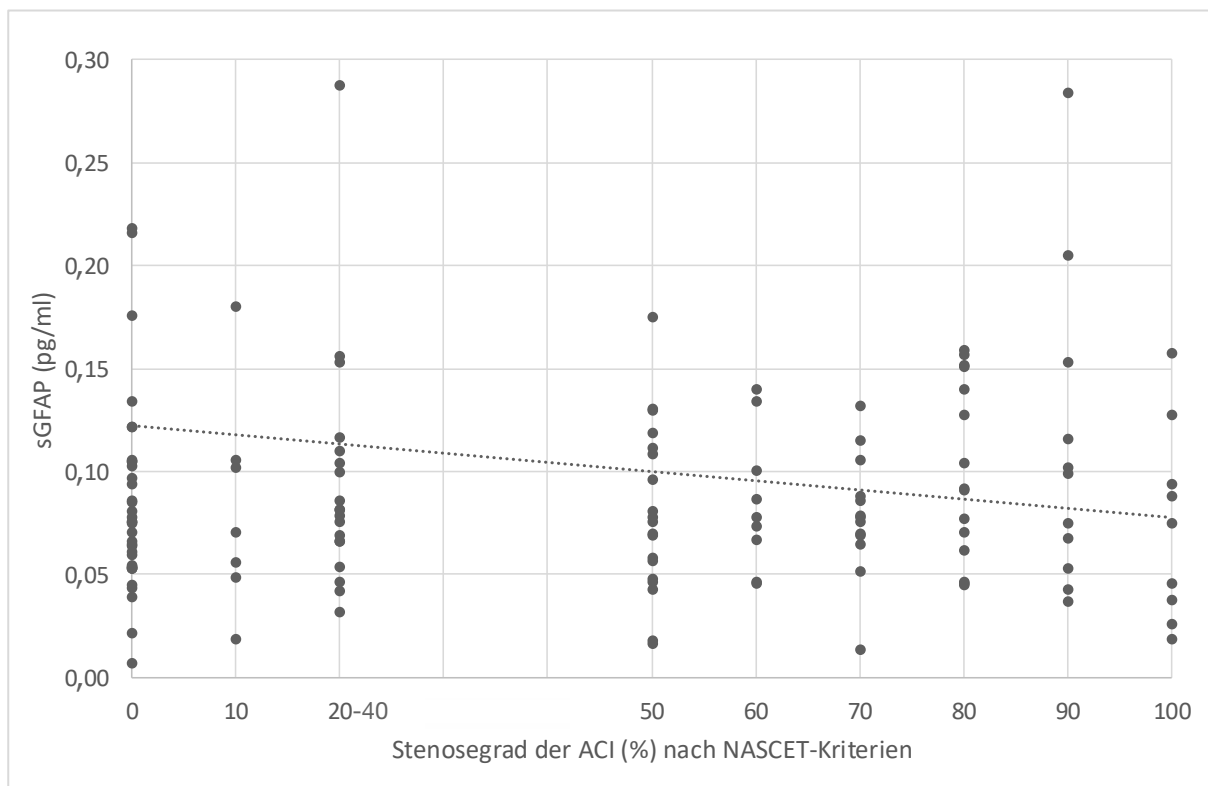


Abb. 9: Korrelation sGFAP und Stenosegrad der ACI

Es wurde ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen dem Stenosegrad der ACI und dem sGFAP-Spiegel zu analysieren. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,046 bei einem p-Wert von 0,588 ($p > 0,05$).

Abkürzungen: sGFAP = serum glial fibrillary acidic protein, ACI = A. carotis interna, NASCET = North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial

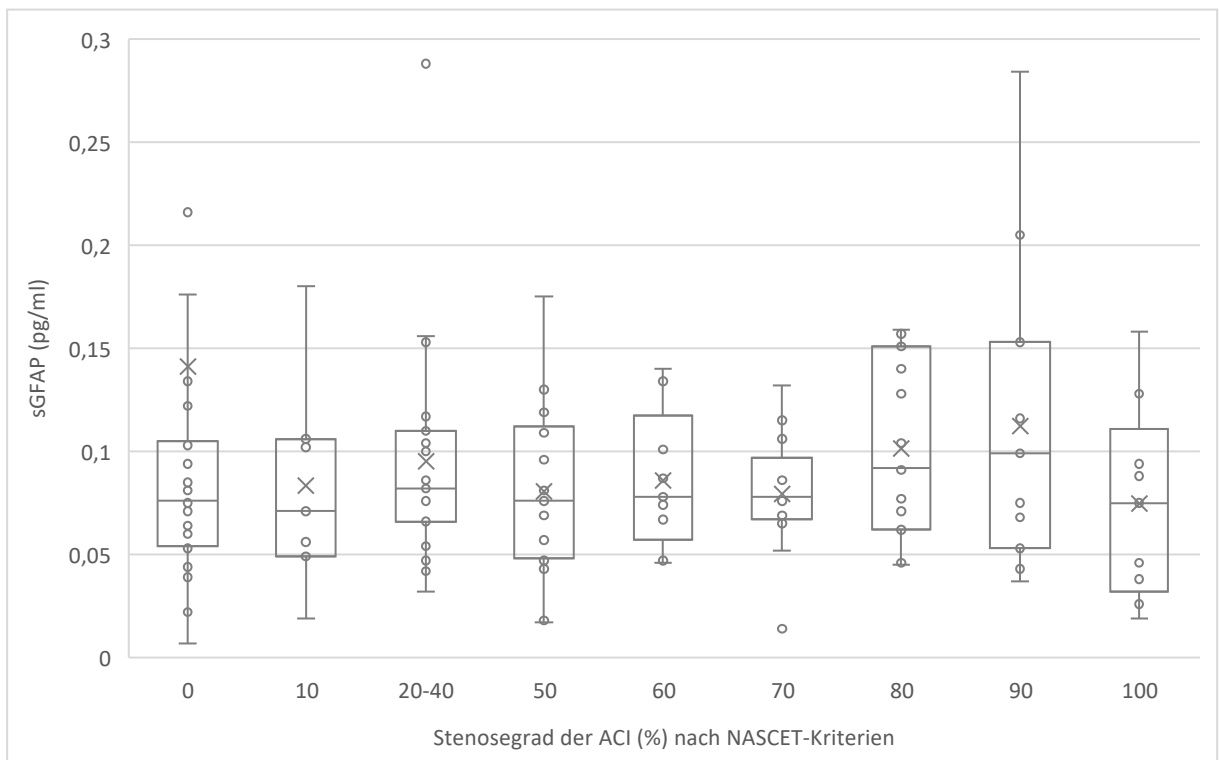


Abb. 10: Boxplot sGFAP und Stenosegrad der ACI

Zur Untersuchung möglicher Unterschiede der sGFAP-Werte zwischen den Gruppen wurde ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Der p-Wert liegt bei 0,903 ($p > 0,05$).

Abkürzungen: sGFAP = serum glial fibrillary acidic protein, ACI = A. carotis interna, NASCET = North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial

3.2.4 Keine Unterschiede der Biomarkerkonzentrationen bei unilateralen vs. bilateralen Stenosen

Ein Vergleich der sNfL-Konzentrationen bei Patienten mit unilateraler versus bilateraler ACI-Stenose zeigte keinen signifikanten Unterschied ($n = 102$; $p = 0,284$). Die Lateralisierung der Stenose scheint somit keinen Einfluss auf den sNfL-Spiegel zu haben.

Auch für sGFAP ergab der Vergleich zwischen unilateraler und bilateraler Stenose keine signifikanten Unterschiede ($n = 102$; $p = 0,666$). Die Biomarkerkonzentrationen waren unabhängig von der Verteilung des Stenosegrades.

Hier ergibt sich eine Stichprobengröße von $n = 102$, da bei dem Vergleich die Patienten ohne nachweisbare CAS ausgeschlossen wurden.

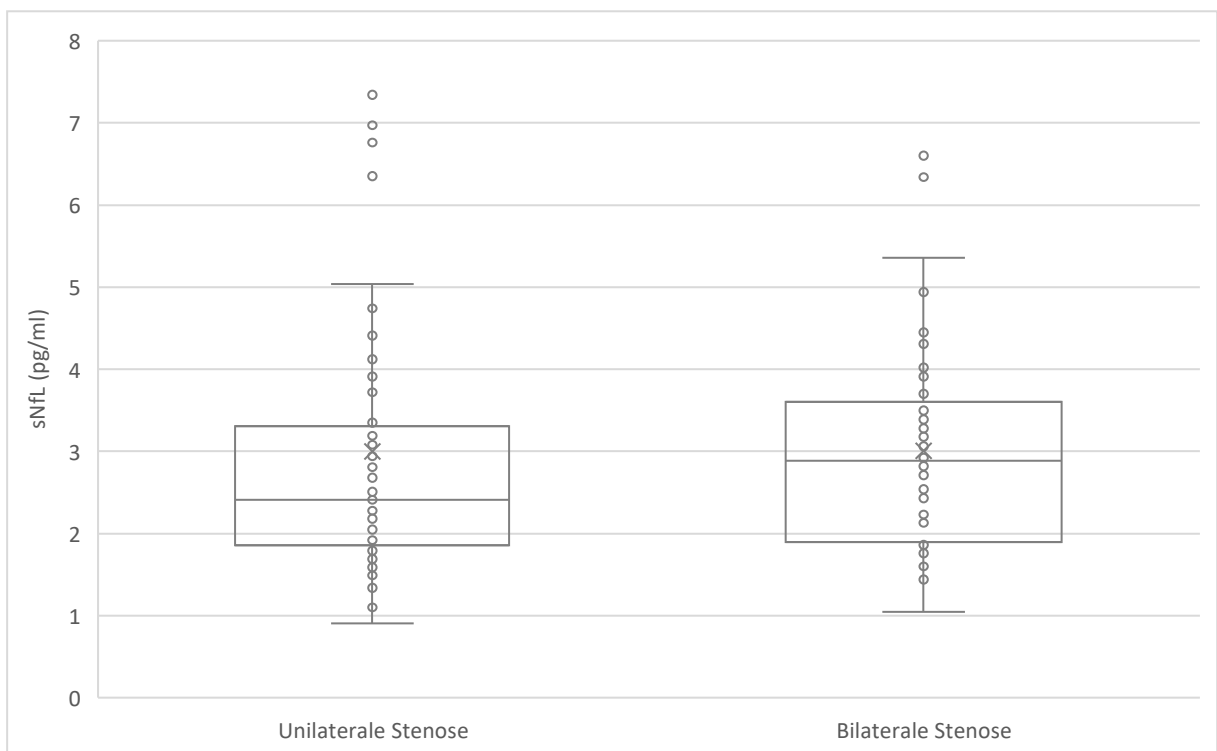


Abb. 11: sNfL bei unilateraler vs. bilateraler Stenose der ACI

Dargestellt ist die Verteilung von sNfL (pg/ml) zwischen den Gruppen der unilateralen und bilateralen Stenosen. Der Mann-Whitney-U-Test ergab bei einem n von 102 einen p -Wert von 0,284 ($p > 0,05$). Ausreißer (sNfL = 11,8 pg/ml) ist nicht abgebildet.

Abkürzungen: sNfL= serum neurofilament light chain

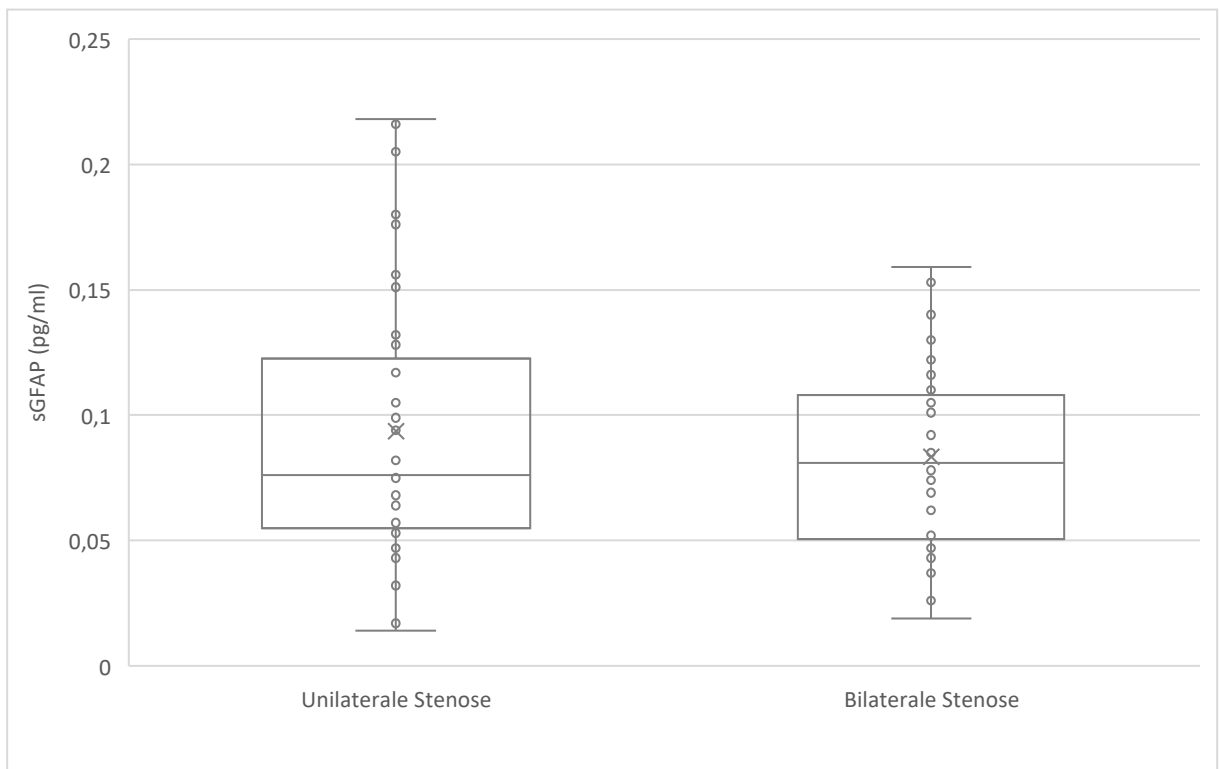


Abb. 12: sGFAP bei unilateraler vs. bilateraler Stenose der ACI

Dargestellt ist die Verteilung von sGFAP (pg/ml) zwischen den Gruppen der unilateralen und bilateralen Stenosen. Der Mann-Whitney-U-Test ergab bei einem n von 102 einen p-Wert von 0,666 ($p > 0,05$). Ausreißer (sGFAP = 0,284) ist nicht abgebildet.

Abkürzungen: sGFAP = serum glial fibrillary acidic protein

3.3 Subgruppenanalysen

3.3.1 Zusammenhang zwischen sNfL und der Nierenfunktion

Es besteht ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen eGFR und sNfL ($r = -0,376$; $p < 0,001$). Eine eingeschränkte Nierenfunktion ist somit mit erhöhten Konzentrationen des Biomarkers assoziiert.

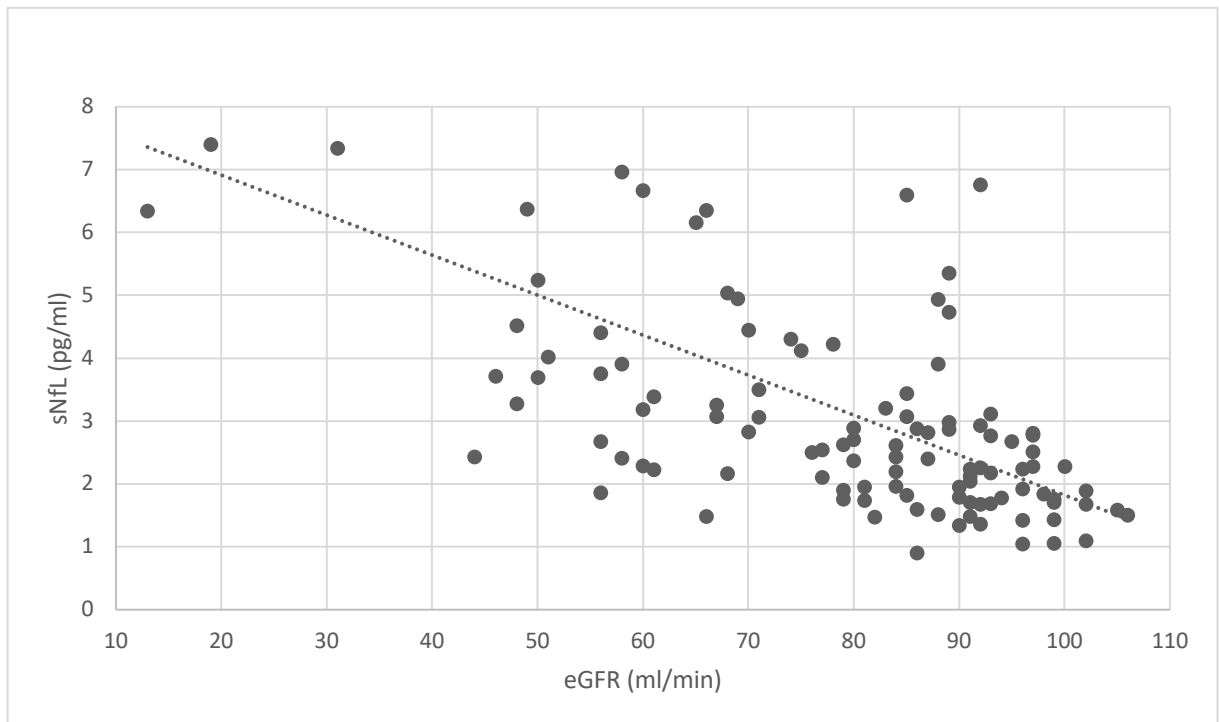


Abb. 13: Korrelation sNfL und eGFR

Es wurde ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen der Nierenfunktion (eGFR) und dem sNfL-Spiegel zu untersuchen. Der Korrelationskoeffizient beträgt $-0,376$ bei einem p-Wert von $< 0,001$. Ausreißer (sNfL = 11,8 pg/ml bei 14 ml/min, sNfL = 8,79 pg/ml bei 19 ml/min, sNfL = 9,26 pg/ml bei 27 ml/min, sNfL = 12,8 pg/ml bei 85ml/min) sind nicht abgebildet.

Abkürzungen: sNfL= serum neurofilament light chain, eGFR = estimated Glomerular Filtration Rate

3.3.2 Zusammenhang zwischen sGFAP und der Nierenfunktion

Es besteht ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen eGFR und sGFAP ($r = -0,369$; $p < 0,001$). Eine eingeschränkte Nierenfunktion ist somit mit erhöhten Konzentrationen des Biomarkers assoziiert.

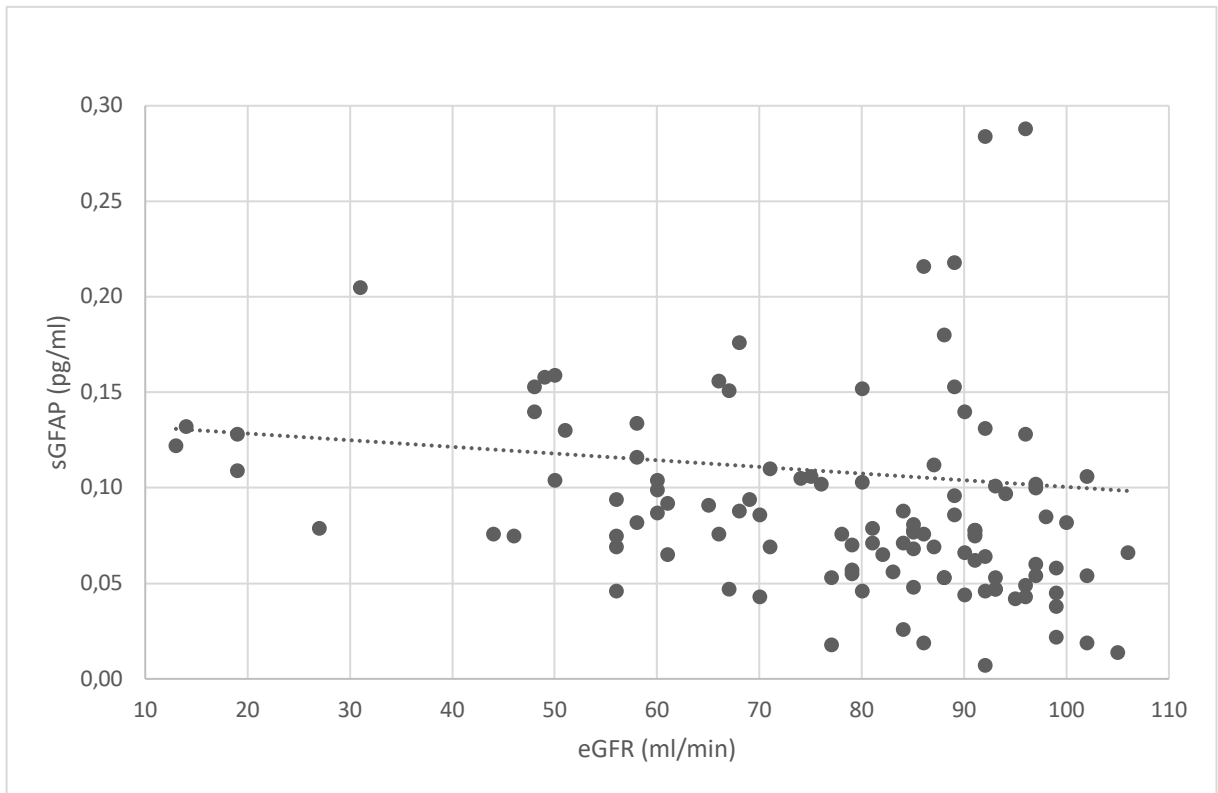


Abb. 14: Korrelation sGFAP und eGFR

Es wurde ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen der Nierenfunktion (eGFR) und dem sGFAP-Spiegel zu untersuchen. Der Korrelationskoeffizient beträgt $-0,369$ bei einem p -Wert $< 0,001$.

Abkürzungen: sGFAP = serum glial fibrillary acidic protein, eGFR = estimated Glomerular Filtration Rate

3.3.3 Zusammenhang zwischen sNfL und dem Alter

Es zeigte sich ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten und dem Biomarker sNfL ($r = 0,539$; $p < 0,001$). Mit zunehmendem Alter steigen demnach die Konzentrationen des Biomarkers signifikant an.

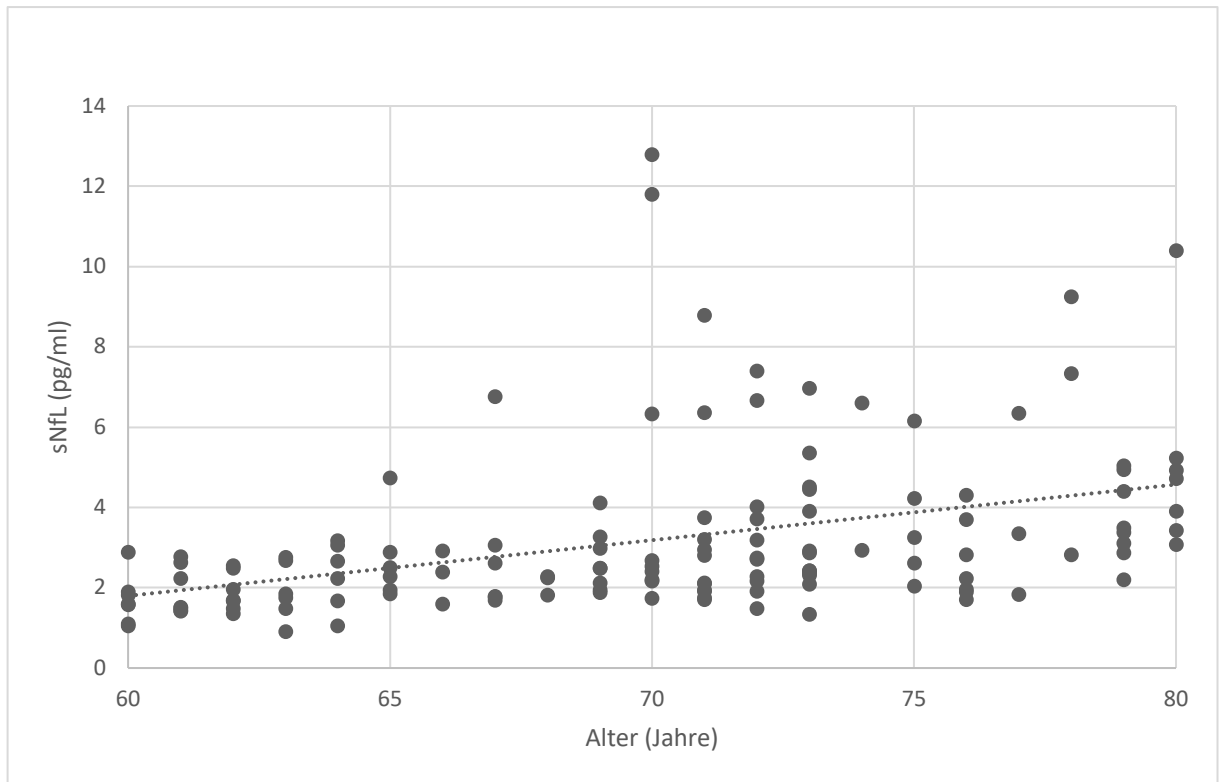


Abb. 15: Korrelation sNfL und Alter

Es wurde ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen dem sNfL-Spiegel und dem Alter zu untersuchen. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,539 bei einem p-Wert $< 0,001$.

Abkürzungen: sNfL= serum neurofilament light chain

3.3.4 Zusammenhang zwischen sGFAP und dem Alter

Es zeigte sich ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten und dem Biomarker sGFAP ($r = 0,421$; $p < 0,001$). Mit zunehmendem Alter steigen demnach die Konzentrationen des Biomarkers signifikant an.

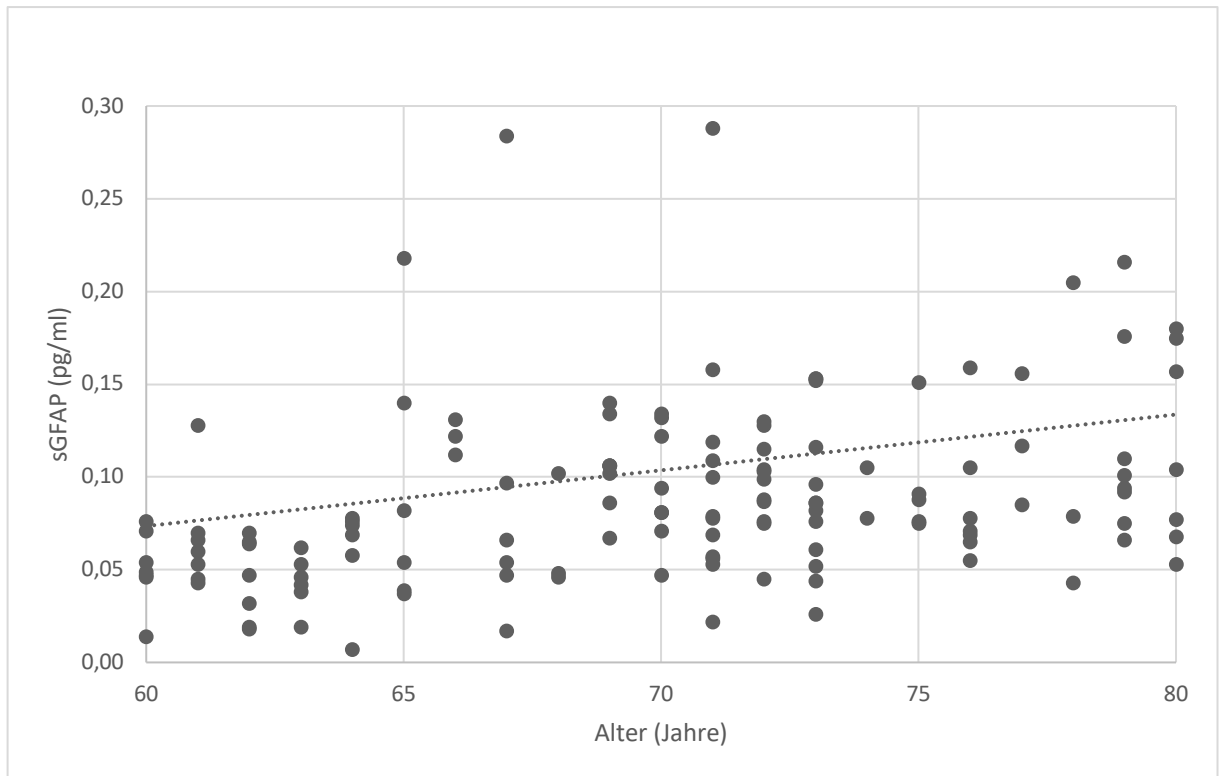


Abb. 16: Korrelation sGFAP und Alter

Es wurde ein Spearman-Rangkorrelationstest durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen Alter und sGFAP-Spiegel zu analysieren. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,421 bei einem p-Wert $< 0,001$.

Abkürzungen: sGFAP = serum glial fibrillary acidic protein

3.4 Zusammenfassung

Die Analyse zeigt, dass sNfL, sowohl im absoluten Wert als auch im Z-Score, positiv mit dem Stenosegrad der ACI assoziiert ist. In der Gruppenanalyse zeigt sich lediglich ein Trend zur Signifikanz.

Das sGFAP zeigte hingegen keine statistisch signifikante Assoziation mit dem Stenosegrad.

Beide Biomarker waren signifikant beeinflusst durch Alter und Nierenfunktion. Eine beidseitige Stenose führte im Vergleich zu einer einseitigen Stenose zu keinem signifikanten Unterschied der Biomarkerkonzentrationen im Serum.

4 Diskussion (einschließlich Schlussfolgerungen)

Als primärer Endpunkt der Promotionsarbeit galt die Analyse der Korrelation der Biomarker NfL und GFAP mit dem Grad der Stenose der ACI nach NASCET-Kriterien. In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass höhergradige Stenosen der ACI mit erhöhten NfL-Konzentrationen im Serum einhergehen. Innerhalb der Stenosegruppen nach NASCET-Kriterien unterschieden sich die Serumkonzentrationen der Biomarker NfL und GFAP nicht signifikant.

Da das Alter und Nierenretentionsparameter Einfluss auf die Biomarkerkonzentrationen nehmen⁶⁸, erfolgten Subgruppenanalysen, um potenzielle Einflussfaktoren auf die Biomarkerkonzentrationen zu identifizieren. Die Subgruppenanalysen zeigten, dass eine eingeschränkte Nierenfunktion und ein höheres Alter mit einer erhöhten Serumkonzentration von NfL und GFAP einhergehen. Weiterhin wurde verglichen, ob es hinsichtlich unilateraler- und bilateraler Stenosen einen Unterschied in den Biomarker Serumkonzentrationen gibt. Hier konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Es existieren bereits Studien wie ECST-2 oder CREST-2, welche darlegen, dass individuelle Risikostratifizierungsmodelle etabliert werden sollen, die darüber entscheiden, ob es zu einem konservativen oder invasiven Procedere bei Patienten mit asymptomatischer CAS kommt.^{7,13}

Aktuelle Daten der SPACE-2-Studie zeigen, dass eine OMT oft ausreichend ist.⁵⁵

Ergebnisse der ECST-2 Studie unterstützen die OMT bei Patienten mit einem geschätzten Schlaganfallrisiko von < 20% innerhalb von fünf Jahren, bestimmt mittels des Carotid Artery Risk (CAR) Score.⁷

Dabei wird jedoch die Integration stiller Infarkte in zukünftige Studien und Risikomodelle ausdrücklich empfohlen.⁷

Grund dafür ist, dass neben dem Stenosegrad viele weitere Faktoren wie beispielsweise stille Hirninfarkte, Plaquemorphologie oder mikroembolische Signale Einfluss nehmen.⁵¹ Die Stratifizierung dieser Risikofaktoren erfordert jedoch oft aufwändigere Ressourcen.⁵¹

In diesem Fall könnte die Etablierung von Biomarkern, welche subklinische neuronale Schädigung im Gehirn anzeigen können, von großer Bedeutung sein, da solche Schäden aktuell mittels alleiniger morphologischer Beurteilung der Stenose nicht erfasst werden. Solche Biomarker könnten analog zu den in ECST-2 angewandten Parametern in Risikostratifizierungsmodelle integriert werden.

4.1 Korrelation der Biomarker NfL und GFAP mit dem Schweregrad der Karotisstenose

In einer Korrelationsanalyse konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen sNfL und dem Schweregrad der CAS ($p = 0,017$) nachgewiesen werden. Mit zunehmendem Stenosegrad steigt die NfL-Konzentration im Serum der Patienten an. Auch der sNfL Z-Score zeigte eine statistisch signifikante Korrelation mit dem Schweregrad der CAS ($p = 0,025$).

Die Korrelationsanalysen der sGFAP-Konzentration bei zunehmendem Stenosegrad zeigten keine signifikante Veränderung ($p = 0,588$).

Der Kruskal-Wallis-Test ergab keine signifikanten Unterschiede der Biomarker Konzentrationen innerhalb der einzelnen Stenosegruppen. Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass sich die pathophysiologischen Veränderungen kontinuierlich entwickeln und nicht strikt gruppenbasiert auftreten.

Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, ob es bereits frühere Evidenz für die im Rahmen der Promotionsarbeit erhobenen Befunde gibt.

Eine mögliche Ursache für die erhöhten sNfL-Spiegel könnte ein embolischer Pathomechanismus sein. Diese Hypothese wird dadurch gestützt, dass mikroembolische Signale distal einer CAS bereits seit den 1990er-Jahren als Risikofaktor beschrieben sind und in nationalen Leitlinien als Kriterium für eine Hochrisiko-CAS berücksichtigt werden.^{69,70}

Molloy et al. gingen der Frage nach, wie sich Patienten mit einer CAS identifizieren ließen, die ein erhöhtes Risiko für ein zerebrovaskuläres Ereignis wie einen Schlaganfall haben und daher von einer therapeutischen Intervention wie beispielsweise einer CEA profitieren würden.⁶⁹ Dafür wurde bei 111 Patienten mit einer ACI-Stenose von $> 60\%$ eine Transkranielle Dopplersonographie der A. cerebri media durchgeführt und im Rahmen dessen erfolgte eine Analyse auf embolische Signale.⁶⁹ Dabei konnten bei etwa 37% der asymptomatischen Patienten mit ACI-Stenose embolische Signale nachgewiesen werden.⁶⁹ Laut Molloy et al. war das Vorhandensein von embolischen Signalen ein starker Prädiktor für spätere zerebrovaskuläre Ereignisse.⁶⁹

Daraus ließe sich ableiten, dass pathophysiologisch auch bei asymptomatischen CAS ein embolischer Mechanismus stattfindet, welcher nicht risikoarm ist, sondern im Gegenteil zur langsam progredienten subklinischen Hirnschädigung führen kann.^{69,71} Diese subklinische, durch stille Embolien verursachte Hirnschädigung könnte erklären,

warum die Serumkonzentration des von uns untersuchten Biomarkers sNfL auch bei Patienten mit asymptomatischer CAS erhöht ist und nicht ausschließlich in klar definierten Hochrisikogruppen wie beispielsweise bei Patienten mit symptomatischer hochgradiger CAS auftritt.⁷¹

Ein möglicher Hinweis auf eine kausale Beziehung findet sich in jüngeren Studien zur Transkatheter-Aortenklappenimplantation (TAVR).⁷² Sjölin et al. untersuchten sNfL als Biomarker, um perinterventionell neu aufgetretene stille zerebrale Infarkte zu detektieren.⁷² Die Studie zeigte einen Anstieg der Plasma-NfL-Spiegel vor und nach TAVR mit einer mittleren Zunahme von etwa 60% (18 pg/ml).⁷² Dennoch besteht bislang keine belastbare Evidenz für eine signifikante direkte Kausalität zwischen mikroembolischen Ereignissen und erhöhten sNfL-Spiegeln.^{72,73} Diese Befunde legen jedoch nahe, dass sNfL auf stille, subklinische neurologische Vorgänge reagiert. Zukünftige Studien sollten daher gezielt untersuchen, ob ein kausaler Zusammenhang zwischen erhöhten sNfL-Konzentrationen und mikroembolischer Signalgebung besteht. Solche Untersuchungen könnten helfen, die klinische Bedeutung von sNfL als Marker für stille, aber potenziell relevante Hirnschäden besser einzuschätzen.

Saba et al. heben hervor, dass neben einer Berechnung des Stenosegrades auch eine Einschätzung der Plaquemorphologie von Bedeutung ist, da vulnerable Plaques eine Ursache für subklinische Mikroembolisationen sein könnten.⁷⁴ Diese kann mittels Ultraschall oder Magnetresonanztomographie (MRT) beurteilt werden.⁷⁴ Zukünftig könnte man daher, zur Evaluation des weiteren therapeutischen Procederes, neben den Biomarkern die Plaquemorphologie systematisch berücksichtigen.⁷¹ Darüber hinaus weisen aktuelle Publikationen auf weitere potenzielle Biomarker wie beispielsweise P-Selektin hin.⁷⁵

Außerdem sollten die kognitiven Funktionen der Patienten berücksichtigt werden.⁷¹ Die SMART-MR Studie beschreibt, dass es bei asymptomatischen CAS zu hämodynamischen Veränderungen im Gehirn kommt, die infolge atherosklerotischer Veränderungen und der damit einhergehenden Stenose auftreten.⁷⁶ Diese äußern sich anschließend in Form einer Hirnatrophie, einer Abnahme der kognitiven Funktion, oder eines Verlustes der Gedächtnisses.⁷⁶ Studien wie CREST-2 unterstützen die Aussage, dass es bei asymptomatischen CAS im Vergleich zur Normalpopulation zu einer Einschränkung der kognitiven Funktionen kommen kann.¹³ Diese hämodynamischen

Veränderungen, sowie strukturelle Hirnveränderungen, könnten eine Erklärung für die erhöhten sNfL-Spiegel in der vorliegenden Studie sein.

Dass sGFAP keine Signifikanz in Bezug auf die CAS aufzeigt, könnte auf eine geringere Sensitivität für frühe subklinische Veränderungen oder auf eine limitierte Fallzahl zurückzuführen sein.

4.2 Subgruppenanalysen

Durch Studien ist bereits bekannt, dass ein höheres Alter mit höheren NfL und GFAP-Serumkonzentrationen assoziiert ist.⁷⁷ Dies konnte durch die vorliegende Studie bestätigt werden. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass eine reduzierte Nierenfunktion mit erhöhten NfL und GFAP-Serumkonzentrationen assoziiert ist. Auch das wurde schon durch andere Studien wie beispielsweise Akamine et al. nachgewiesen.^{68,78}

Da das Alter ein wesentlicher Confounder ist, beschränkte sich die vorliegende Studie auf ein Patientenkollektiv, das auf 60-80 Jahre festgelegt wurde. Weiterhin erfolgte durch die Anwendung des Z-Scores eine Adjustierung um das Alter, Geschlecht und den BMI. Auch nach alterskorrigiertem sNfL-Wert besteht in der vorliegenden Studie eine signifikante Korrelation zum Stenosegrad der ACI.

Eine Erklärung für den Anstieg des sNfL mit dem Alter könnte sein, dass es altersassoziiert zu einer zunehmenden neuronalen Schädigung kommt.⁷⁹ Diese Prozesse führen zu einer kontinuierlichen Freisetzung von NfL ins Blut.⁷⁹

NfL zeigt also nicht nur akute Pathologien an, sondern kann auch als Ausdruck der biologischen Alterung des Cerebrums gesehen werden.

Darüber hinaus können erhöhte NfL-Werte im Alter auf eine altersbedingte Abnahme der kompensatorischen Kapazität des ZNS zur Reparatur neuronaler Schäden zurückgeführt werden.⁸⁰⁻⁸²

Dass es zu einem Anstieg des NfL bei eingeschränkter Nierenfunktion kommt, könnte man dadurch erklären, dass es sich bei dem Biomarker um ein kleines wasserlösliches Protein handelt, welches unter anderem renal eliminiert wird.⁸³ Ist die renale Filtration eingeschränkt, kann es dementsprechend im Serum aufgrund fehlender renal Elimination zu einer Akkumulation des NfL kommen.⁸³ Dies geschähe auch unabhängig von neuronaler Schädigung.⁸³ Axelsson et al. belegen, dass dieser Effekt besonders ab einer eGFR < 60 ml/min bemerkbar wäre und gleiches auch für sGFAP zutrifft.⁸³

4.3 Klinische Relevanz und Implikationen

Hinsichtlich der klinischen Implikationen unserer Studie ist die Verwendung von sNfL und sGFAP insbesondere aus neuroinflammatorischen Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose bekannt, in denen diese Biomarker zur Erfassung einer schubunabhängigen Krankheitsprogression, sowie zur Therapiekontrolle eingesetzt werden.¹² Dabei werden sNfL und sGFAP als komplementäre Serum-Biomarker diskutiert.¹²

Klinisch relevant wären diese Biomarker, um früh stille neurodegenerative Schäden zu detektieren und größeren Schäden präventiv entgegenwirken zu können. Asymptomatische CAS gehen im Vergleich zu symptomatischen CAS mit einem geringeren Risiko für hypoperfusionsbedingte Schäden einher.⁶⁹ Molloy et al. zeigten jedoch, dass auch bei diesen ein Risiko für zerebrovaskuläre Ereignisse besteht.⁶⁹

Bisher wurden in die Evaluierung des weiteren therapeutischen Procederes bei Patienten mit asymptomatischer CAS vor allem Outcome Parameter wie das Schlaganfallrisiko, kardiovaskuläre Risiken oder Tod einbezogen.^{8,13} Studien wie SMART-MR zeigen jedoch, dass auch andere Outcome Parameter wie kognitive Beeinträchtigungen, Hirnatrophie oder Demenz von Bedeutung sind und zukünftig systematisch berücksichtigt werden sollten.^{13,76} SNfL könnte hier als Surrogatparameter dienen.

Für asymptomatische CAS deuten unsere Daten auf eine positive Korrelation von sNfL mit dem Stenosegrad gemäß NASCET-Kriterien hin. Eine mögliche Anwendung könnte daher die Integration des Biomarkers sNfL in bestehende Risikoscores für CAS, wie beispielsweise das kürzlich publizierte PACAS-Risikomodell sein, um eine höhere Diskriminationsfähigkeit zu gewährleisten.⁵²

Von Vorteil wäre, dass Biomarker im Rahmen einer Blutentnahme bestimmt werden können, während andere Verfahren wie die MRT ein technisch und finanziell aufwändigeres Vorgehen darstellen.

4.4 Methodische Stärken und Limitationen

Die vorliegenden Ergebnisse weisen sowohl Stärken als auch Limitationen auf.

Als Stärken wären das prospektive Studiendesign und das Vorhandensein einer Kontrollgruppe hervorzuheben. Weiterhin sind sNfL und sGFAP gut validierte Biomarker für axonalen Schaden und Schlaganfälle.^{84–87}

Durch die Bestimmung der Biomarker mittels hochsensitivem Immunoassay kann eine hohe analytische Sensitivität garantiert werden.⁶⁶

Um die Confounder einzuschränken, erfolgte eine Beschränkung des Altersbereiches auf 60-80 Jahre und durch Anwendung des Z-Scores bei sNfL eine Adjustierung der Ergebnisse um Alter, Geschlecht und BMI.

Um eine gute Vergleichbarkeit mit anderen Studien zu gewährleisten, erfolgte die Messung des Stenosegrades nach den NASCET-Kriterien.⁴⁹

Als Limitationen wären das Querschnittsdesign zu nennen, aufgrund dessen sich aus den Ergebnissen keine kausalen Zusammenhänge ableiten lassen.

Die zeitliche Dynamik der Biomarker konnte nicht untersucht werden. Dies könnte Gegenstand weiterer Forschung sein.

Auch die geringe Stichprobengröße von $n = 139$ Patienten stellt eine Limitation dar. Weiterhin erfolgte keine systematische Bildgebung im Sinne eines MRT oder transkranieller Dopplersonographie, um eventuelle stille Infarkte, Hirnatrophie oder mikroembolische Signale zu detektieren.

Es erfolgten allerdings neuropsychologische Testungen wie der MoCA-Test, um kognitive Einschränkungen zu demaskieren.

Insgesamt stellen die Ergebnisse eine Grundlage für zukünftige weitere Studien dar.

4.5 Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Promotionsarbeit liefern Hinweise darauf, dass der serumbasierte Biomarker NfL subklinische neuronale Schädigungsprozesse bei Patienten mit asymptomatischer CAS widerspiegeln könnte. Um die klinische Bedeutung dieser Befunde weiter zu klären, wäre es essenziell, weitere Aspekte in zukünftigen Studien zu adressieren.

Eine interessante Fragestellung wäre, ob es einen Zusammenhang der Biomarker Serumkonzentrationen mit dem Verlauf der CAS gibt. Beispielsweise könnte man prüfen, ob es nach erfolgreicher Intervention zu einem Abfall der Biomarker Serumkonzentrationen kommt, als weiteren Hinweis für eine Assoziation zwischen subklinischer ischämischer Schädigung bei hochgradigen ACI-Stenosen. Die zeitliche Dynamik der Biomarker ist durch eine bereits laufende prospektive longitudinale Studie unserer Arbeitsgruppe für Neuroinflammation und Schlaganfallforschung des Universitätsklinikums Düsseldorf Gegenstand aktueller Forschung.

Außerdem wäre eine multimodale Diagnostik von Bedeutung. Hier könnte eine Ergänzung um MRT-Daten, die still ablaufende zerebrale Defekte wie stille Hirninfarkte oder Hirnatrophie detektieren, sinnvoll sein. Weiterhin könnte man, um mikroembolische Signale zu detektieren, die Ergänzung um eine transkranielle

Dopplersonographie in Betracht ziehen.^{69,70} Auch die Analyse der Plaquemorphologie und die damit verbundene Identifikation vulnerabler Hochrisikoplaques sollte in zukünftigen Studien berücksichtigt werden.⁷⁴

Langfristig könnte der Biomarker NfL in bestehende Risikoscores wie PACAS integriert werden.⁵² Dadurch könnte man eine Hilfestellung zur Etablierung des weiteren therapeutischen Vorgehens bei Patienten mit asymptomatischer CAS geben.

4.6 Fazit

Aktuell liegt die Hypothese nahe, dass sNfL infolge von chronischer zerebraler Hypoperfusion und rezidivierender Mikroembolisation bei Patienten mit CAS erhöht ist. Dabei ist jedoch wichtig zu betonen, dass sNfL nicht krankheitsspezifisch ist, sondern einen Marker für neuronalen Schaden darstellt.⁸⁸

Vor allem bei Patienten mit asymptomatischer CAS ist es von großer Bedeutung, diesen „stillen“ neuronalen Schaden präventiv zu erkennen.

Bisher existiert für Patienten mit CAS kein serologischer Biomarker, der ähnlich wie das Troponin beim Myokardinfarkt, neuronale Schädigungen anzeigen oder bei der Therapieentscheidung helfen kann.

In der vorliegenden Promotionsarbeit wird die Relevanz des sNfL als Marker für neurodegenerative Prozesse hervorgehoben.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Höhe der Serumkonzentration von NfL und dem Stenosegrad der ACI.

Bei sGFAP zeigt sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der Serumkonzentration und dem Schweregrad der CAS.

Zusammenfassend deuten die Ergebnisse darauf hin, dass sNfL das Potenzial besitzt, zukünftig in Risikostratifizierungsmodelle zur Evaluation des therapeutischen Vorgehens bei Patienten mit CAS integriert zu werden. Aufgrund der limitierten Stichprobengröße und der teilweise fehlenden Signifikanz ist hierfür jedoch weitere klinische Forschung erforderlich.

5 Literatur - und Quellenverzeichnis

1. Busch, M. & Kuhnert, R. 12-Month prevalence of stroke or chronic consequences of stroke in Germany. *Journal of Health Monitoring* **2**, 64–69 (2017).
2. Mechtouff, L. *et al.* A narrative review of the pathophysiology of ischemic stroke in carotid plaques: a distinction versus a compromise between hemodynamic and embolic mechanism. *Ann. Transl. Med.* **9**, 1208–1208 (2021).
3. Pu, L. *et al.* Projected Global Trends in Ischemic Stroke Incidence, Deaths and Disability-Adjusted Life Years From 2020 to 2030. *Stroke* **54**, 124–134 (2023).
4. Feigin, V. L. *et al.* World Stroke Organization: Global Stroke Fact Sheet 2025. *International Journal of Stroke* **20**, 132–144 (2025).
5. Forjoe, T. & Rahi, M. A. Systematic review of preoperative carotid duplex ultrasound compared with computed tomography carotid angiography for carotid endarterectomy. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* **101**, 141–149 (2019).
6. Eckstein, H. H. *et al.* S3-Leitlinie zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge der extracraniellen Carotisstenose. **2**, 10–34 (2020).
7. Cheng, S. F. *et al.* The 2nd European Carotid Surgery Trial (ECST-2): rationale and protocol for a randomised clinical trial comparing immediate revascularisation versus optimised medical therapy alone in patients with symptomatic and asymptomatic carotid stenosis at low to intermediate risk of stroke. *Trials* **23**, (2022).
8. Brott, T. G. *et al.* Medical Management and Revascularization for Asymptomatic Carotid Stenosis. *New England Journal of Medicine* <https://doi.org/10.1056/nejmoa2508800> (2025)
9. Vollmuth, C. *et al.* Incremental value of serum neurofilament light chain and glial fibrillary acidic protein as blood-based biomarkers for predicting functional outcome in severe acute ischemic stroke. *Eur. Stroke J.* **9**, 751–762 (2024).
10. Benkert, P. *et al.* Serum neurofilament light chain for individual prognostication of disease activity in multiple sclerosis: a retrospective modelling and validation study. *Lancet Neurology* **21**, 246–257 (2022).
11. Paul, J. F. *et al.* Serum glial fibrillary acidic protein in acute stroke: feasibility to determine stroke-type, timeline and tissue-impact. *Front. Neurol.* **15**, (2024).

12. Barro, C. *et al.* Serum GFAP and NfL Levels Differentiate Subsequent Progression and Disease Activity in Patients With Progressive Multiple Sclerosis. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* **10**, (2023).
13. Lazar, R. M. *et al.* Baseline cognitive impairment in patients with asymptomatic carotid stenosis in the CREST-2 trial. *Stroke* **52**, 3855–3863 (2021).
14. Mattsson, N. *et al.* Association of plasma neurofilament light with neurodegeneration in patients with Alzheimer disease. *JAMA Neurol.* **74**, 557–566 (2017).
15. Khalil, M. *et al.* Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat. Rev. Neurol.* **20**, 269–287 (2024).
16. Ching, G. Y. & Liem, R. K. H. Neuronal Intermediate Filaments and Neurodegenerative Diseases. *Eurekah Bioscience* 137–146 (2005).
17. Bavato, F. *et al.* Introducing neurofilament light chain measure in psychiatry: current evidence, opportunities, and pitfalls. *Mol. Psychiatry* **29**, 2543–2559 (2024).
18. Nielsen, H. H. *et al.* Acute Neurofilament Light Chain Plasma Levels Correlate With Stroke Severity and Clinical Outcome in Ischemic Stroke Patients. *Front. Neurol.* **11**, 1–4 (2020).
19. Onatsu, J. *et al.* Serum Neurofilament Light Chain Concentration Correlates with Infarct Volume but Not Prognosis in Acute Ischemic Stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* **28**, 2242–2249 (2019).
20. Gaiottino, J. *et al.* Increased Neurofilament Light Chain Blood Levels in Neurodegenerative Neurological Diseases. *PLoS One* **8**, (2013).
21. Uphaus, T. *et al.* NfL (Neurofilament Light Chain) Levels as a Predictive Marker for Long-Term Outcome After Ischemic Stroke. *Stroke* **50**, 3077–3084 (2019).
22. Tiedt, S. *et al.* Serum neurofilament light a biomarker of neuroaxonal injury after ischemic stroke. *Neurology* **91**, E1–E10 (2018).
23. Pedersen, A. *et al.* Circulating neurofilament light in ischemic stroke: temporal profile and outcome prediction. *J. Neurol.* **266**, 2796–2806 (2019).
24. Korley, F. K. *et al.* Serum NfL (Neurofilament Light Chain) Levels and Incident Stroke in Adults with Diabetes Mellitus. *Stroke* **50**, 1669–1675 (2019).
25. Shahim, P. *et al.* Serum NfL and GFAP as biomarkers of progressive neurodegeneration in TBI. *Alzheimer's and Dementia* **20**, 4663–4676 (2024).
26. Brenner, M. Role of GFAP in CNS injuries. *Neurosci. Lett.* **565**, 7–13 (2014).

27. Gomi, H. *et al.* Mice devoid of the glial fibrillary acidic protein develop normally and are susceptible to scrapie prions. *Neuron* **14** 29–41 (1995).
28. Imura, T., Kornblum, H. I. & Sofroniew, M. V. The Predominant Neural Stem Cell Isolated from Postnatal and Adult Forebrain But Not Early Embryonic Forebrain Expresses GFAP. *The Journal of Neuroscience* **23**, 2824–2832 (2003).
29. Pekny, M. *et al.* Mice lacking glial fibrillary acidic protein display astrocytes devoid of intermediate filaments but develop and reproduce normally. *EMBO Journal* **14**, 1590–1598 (1995).
30. Brenner, M. Role of GFAP in CNS injuries. *Neurosci. Lett.* **565**, 7–13 (2014).
31. Middeldorp, J. & Hol, E. M. GFAP in health and disease. *Prog. Neurobiol.* **93**, 421–443 (2011).
32. Morgan, T. E. *et al.* Increased transcription of the astrocyte gene GFAP during middle-age is attenuated by food restriction: implications for the role of oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* **23**, 524–528 (1997).
33. Rosengren, L. E., Wikkelsø, C. & Hagberg, L. A sensitive ELISA for glial fibrillary acidic protein: application in CSF of adults. *J. Neurosci. Methods* **51**, 197–204 (1994).
34. Kashon, M. L. *et al.* Associations of cortical astrogliosis with cognitive performance and dementia status. *J. Alzheimers. Dis.* **6** 595–604 (2004).
35. Shapiro, M. *et al.* Toward an endovascular internal carotid artery classification system. *American Journal of Neuroradiology* **35**, 230–236 (2014).
36. Javaid, A. & Alfshawy, M. Internal Carotid Artery Stenosis Presenting with Limb Shaking TIA. *Case Rep. Neurol. Med.* **2016**, 1–4 (2016).
37. Ringleb, P. *et al.* S3-Leitlinie Extracranielle Carotisstenose: Kapitel 7: Symptome und Diagnostik von Carotisstenosen. *Gefasschirurgie* **17**, 502–519 (2012).
38. Bonasia, S. *et al.* Segmental Classification of the Internal Carotid Artery. *Contemp. Neurosurg.* **42**, (2020).
39. Shernaz, D. & Shipra, A. Epidemiology of atherosclerotic carotid artery disease. *Seminars Vascular Surgery* **34**, 3–9 (2021).
40. Falk, E. Pathogenesis of Atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* **47**, (2006).
41. Glass, C. K. & Witztum, J. L. Atherosclerosis: The Road Ahead Review. *Cell* **104**, 503–516 (2001).
42. Hansson, G. K. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *N. Engl. J. Med.* **352**, (2005).

43. Tang, Y. *et al.* Analysis of carotid vulnerable plaque MRI high-risk features and clinical risk factors associated with concomitant acute cerebral infarction. *BMC Cardiovascular Disorders* **23**, (2023).
44. De Michele, M. *et al.* Association of obesity and central fat distribution with carotid artery wall thickening in middle-aged women. *Stroke* **33**, 2923–2928 (2002).
45. Krist, A. H. *et al.* Screening for Asymptomatic Carotid Artery Stenosis. *JAMA* **325**, 476–481 (2021).
46. Arning, C., Widder, B., Von Reutern, G. M., Stiegler, H. & Görtler, M. Revision of DEGUM ultrasound criteria for grading internal carotid artery stenoses and transfer to NASCET measurement. *Ultraschall in der Medizin* **31**, 251–257 (2010).
47. Stötzel, S., Krause, F. & Bergert, H. Operative Therapie der hochgradigen, asymptomatischen Karotisstenose. *Zentralbl. Chir.* **137**, 411–413 (2012).
48. Barth A. Die Karotisstenose: Diagnostik, Patientenselektion, Therapie. *Therapeutische Umschau* (2003).
49. Grant, E. G., Hathout, G. M., Fink, J. R. & El-Saden, S. M. Sonographic NASCET Index: A New Doppler Parameter for Assessment of Internal Carotid Artery Stenosis. *American Journal of Neuroradiology* **26**, 68–75 (2005).
50. Staikov, I. N. *et al.* Comparison of the ECST, CC, and NASCET grading methods and ultrasound for assessing carotid stenosis. *J. Neurol.* **247**, 681–686 (2000).
51. Paraskevas, K. I. *et al.* Optimal Management of Asymptomatic Carotid Stenosis in 2021: The Jury is Still Out. An International, Multispecialty, Expert Review and Position Statement. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* **31**, 106182 (2022).
52. Poorthuis, M. H. F. *et al.* Prediction of Severe Baseline Asymptomatic Carotid Stenosis and Subsequent Risk of Stroke and Cardiovascular Disease. *Stroke* **55**, 2632–2640 (2024).
53. Müller, O. J. *et al.* DGK-Kommentar zu den Leitlinien der ESC (2024) zur Behandlung der peripheren arteriellen und aortalen Erkrankungen. *Die Kardiologie* **19**, 366–378 (2025).
54. Bonati, L. H. *et al.* European Stroke Organisation guideline on endarterectomy and stenting for carotid artery stenosis. *Eur. Stroke J.* **6**, I–XLVII (2021).

55. Reiff, T. *et al.* Carotid endarterectomy or stenting or best medical treatment alone for moderate-to-severe asymptomatic carotid artery stenosis: 5-year results of a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Neurol.* **21**, 877–888 (2022).
56. Hobson, R. W. *et al.* Management of atherosclerotic carotid artery disease: Clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery. *J. Vasc. Surg.* **48**, 480–486 (2008).
57. Naylor, R. *et al.* The 2023 European Society for Vascular Surgery (ESVS) clinical practice guidelines on the management of atherosclerotic carotid and vertebral artery disease. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* **65**, 7–111 (2023).
58. Andrassy, M. *et al.* Extrakranielle Karotisstenose: Prävalenz, Diagnostik und Therapie. *Kardiologie* **19**, 379–388 (2025).
59. Chang, R. W., Tucker, L. Y. & Rothenberg, K. A. Incidence of Ischemic Stroke in Patients With Asymptomatic Severe Carotid Stenosis Without Surgical Intervention. *JAMA* **327**, 1974–1982 (2022).
60. Omenico, D. *et al.* The causes and risk of Stroke in Patients with asymptomatic internal carotid-artery stenosis. *N. Engl. J. Med.* **342**, 1693–1700 (2000).
61. Martinez, E., Martorell, J. & Riambau, V. Review of serum biomarkers in carotid atherosclerosis. *J. Vasc. Surg.* **71**, 329–341 (2020).
62. Banks, J. L. & Marotta, C. A. Outcomes validity and reliability of the modified rankin scale: Implications for stroke clinical trials - A literature review and synthesis. *Stroke* **38**, 1091–1096 (2007).
63. Nasreddine Z. S. *et al.* *Montreal Cognitive Assessment (MoCA)*. (2005).
64. Carson, N., Leach, L. & Murphy, K. J. A re-examination of Montreal Cognitive Assessment (MoCA) cutoff scores. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **33**, 379–388 (2018).
65. Aydin, S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides (N.Y.)*. **72**, 4–15 (2015).
66. Roche. Elecsys® Neurofilament Light Chain (NfL) RUO. <https://doi.org/10.1038/s41380-024-02524-6>
67. Yalachkov, Y. *et al.* Effect of Estimated Blood Volume and Body Mass Index on GFAP and NfL Levels in the Serum and CSF of Patients With Multiple Sclerosis. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* **10**, (2023).

68. Akamine, S. *et al.* Renal function is associated with blood neurofilament light chain level in older adults. *Sci. Rep.* **10**, (2020).
69. Molloy, J. & Markus, H. S. Asymptomatic Embolization Predicts Stroke and TIA Risk in Patients With Carotid Artery Stenosis. *Stroke* **30**, 1440–1443 (1999).
70. AbuRahma, A. F. *et al.* The Society for Vascular Surgery clinical practice guidelines for management of extracranial cerebrovascular disease. *J. Vasc. Surg.* **75**, 4S-22S (2022).
71. Jansen, R. *et al.* Serum levels of neurofilament light chain (NfL) and glial fibrillary acid protein (GFAP) in patients with asymptomatic and symptomatic carotid artery stenosis. *JVS. Vasc. Sci.* **7**, (2026).
72. Sjölin, K. *et al.* Plasma Neurofilament Light Chain Is Elevated after Transcatheter Aortic Valve Implantation. *Cardiology (Switzerland)* **148**, 478–484 (2023).
73. Sharma, N. *et al.* Prevalence of Neurovascular Microemboli After Transcatheter Aortic Valve Replacement. *Journal of the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions* **3**, (2024).
74. Saba, L. *et al.* Carotid Plaque-RADS: A Novel Stroke Risk Classification System. *JACC Cardiovasc. Imaging* **17**, 62–75 (2024).
75. Rahmig, J. *et al.* Blood-based protein biomarkers during the acute ischemic stroke treatment window: a systematic review. *Front. Neurol.* **15**, (2024).
76. Muller, M. *et al.* Carotid atherosclerosis and progression of brain atrophy: The SMART-MR Study. *Ann. Neurol.* **70**, 237–244 (2011).
77. Khalil, M. *et al.* Serum neurofilament light levels in normal aging and their association with morphologic brain changes. *Nat. Commun.* **11**, (2020).
78. Akamine, S. *et al.* Renal function is associated with blood neurofilament light chain level in older adults. *Sci. Rep.* **10**, (2020).
79. Rodero-Romero, A. *et al.* Establishing Normal Serum Values of Neurofilament Light Chains and Glial Fibrillary Acidic Protein Considering the Effects of Age and Other Demographic Factors in Healthy Adults. *Int. J. Mol. Sci.* **25**, (2024).
80. Heuninckx, S., Wenderoth, N. & Swinnen, S. P. Systems Neuroplasticity in the Aging Brain: Recruiting Additional Neural Resources for Successful Motor Performance in Elderly Persons. *The Journal of Neuroscience* **28**, 91–99 (2008).
81. Burke, S. N. & Barnes, C. A. Neural plasticity in the aging brain. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 30–40 (2006).
82. Pereira, J. B. *et al.* Plasma GFAP is an early marker of amyloid- β but not tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain* **144**, 3505–3516 (2021).

83. Axelsson, T. *et al.* Plasma concentrations of neurofilament light, p-Tau231 and glial fibrillary acidic protein are elevated in patients with chronic kidney disease and correlate with measured glomerular filtration rate. *BMC Nephrol.* **26**, (2025).
84. Bacioglu, M. *et al.* Neurofilament Light Chain in Blood and CSF as Marker of Disease Progression in Mouse Models and in Neurodegenerative Diseases. *Neuron* **91**, 56–66 (2016).
85. Bergman, J. *et al.* Neurofilament light in CSF and serum is a sensitive marker for axonal white matter injury in MS. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* **3**, (2016).
86. Mayer, C. A. *et al.* Blood Levels of Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) in Patients with Neurological Diseases. *PLoS One* **8**, e62101 (2013).
87. Foerch, C. *et al.* Diagnostic Accuracy of Plasma Glial Fibrillary Acidic Protein for Differentiating Intracerebral Hemorrhage and Cerebral Ischemia in Patients with Symptoms of Acute Stroke. *Clin. Chem.* **58**, 237–245 (2012).
88. García Domínguez, J. M. *et al.* Relevance of serum neurofilament light chain determination as a biomarker in multiple sclerosis. Consensus of the Spanish Society of Neurology's Study Group on Multiple Sclerosis and Related Neuroimmune Diseases. *Neurologia* <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2025.501928> (2025).

6 Anhang

MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA)

NAME :

Ausbildung :

Geburtsdatum :

Geschlecht :

DATUM :

VISUOSPATIAL / EXEKUTIV						PUNKTE																	
Ende (E) Beginn (1) Würfel nachzeichnen				Eine Uhr zeichnen (Zehn nach elf) (3 Punkte)		[] [] [] Kontur Zahlen Zeiger																	
___/5																							
BENENNEN																							
___/3																							
GEDÄCHTNIS																							
Wortliste vorlesen, wiederholen lassen. 2 Durchgänge. Nach 5 Minuten überprüfen (s.u.)				<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th></th> <th>GESICHT</th> <th>SAMT</th> <th>KIRCHE</th> <th>TULPE</th> <th>ROT</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1. Versuch</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2. Versuch</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			GESICHT	SAMT	KIRCHE	TULPE	ROT	1. Versuch						2. Versuch					
	GESICHT	SAMT	KIRCHE	TULPE	ROT																		
1. Versuch																							
2. Versuch																							
In der vorgegebenen Reihenfolge wiederholen [] 2 1 8 5 4 Rückwärts wiederholen [] 7 4 2				___/2																			
Buchstabenliste vorlesen (1 Buchst./Sek.). Patient soll bei jedem Buchstaben „A“ mit der Hand klopfen. Keine Punkte bei 2 oder mehr Fehlern [] F B A C M N A A J K L B A F A K D E A A A J A M O F A A B																							
Fortlaufendes Abziehen von 7, mit 100 anfangen [] 93 [] 86 [] 79 [] 72 [] 65 4 oder 5 korrekte Ergebnisse: 3 P., 2 oder 3 korrekt: 2 P., 1 korrekt: 1 P., 0 korrekt: 0 P.																							
___/3																							
SPRACHE																							
Wiederholen: „Ich weiß lediglich, dass Hans heute an der Reihe ist zu helfen.“ [] „Die Katze versteckte sich immer unter der Couch, wenn die Hunde im Zimmer waren.“ []																							
Möglichst viele Wörter in einer Minute benennen, die mit dem Buchstaben F beginnen [] _____ (N ≥ 11 Wörter)																							
___/1																							
ABSTRAKTION																							
Gemeinsamkeit von z.B. Banane und Apfelsine = Frucht [] Eisenbahn - Fahrrad [] Uhr - Lineal																							
___/2																							
ERINNERUNG																							
Worte erinnern OHNE HINWEIS []		GESICHT []	SAMT []	KIRCHE []	TULPE []	ROT []																	
Optional Hinweis zu Kategorie Mehrfachauswahl																							
___/5																							
ORIENTIERUNG																							
[] Datum [] Monat [] Jahr [] Wochentag [] Ort [] Stadt																							
___/6																							
© Z Nasreddine MD Version 7. Nov. 2004 deutsche Übersetzung: SM Bartusch, SG Zipper																							
www.mocatest.org Untersucher: _____																							
TOTAL + 1 Punkt wenn ≤ 12 Jahre Ausbildung																							
___/30																							

7 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Doktorarbeit fachlich wie persönlich unterstützt und begleitet haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Michael Gliem für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie für die kontinuierliche und engagierte Betreuung. Seine wertvollen Anregungen, die konstruktive Kritik und die stets fördernde Unterstützung haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ganz besonders danken möchte ich meinem Betreuer Herrn Dr. med. Robin Jansen, der diese Arbeit in außergewöhnlicher Weise begleitet hat. Durch seine fachliche Kompetenz, seine Geduld und seine stets wertschätzende Art war er jederzeit ein verlässlicher Ansprechpartner. Seine konstruktiven Rückmeldungen, die hilfreichen Diskussionen und seine kontinuierliche Motivation haben wesentlich dazu beigetragen, dass diese Arbeit in ihrer jetzigen Form entstehen konnte. Er war mir nicht nur ein hervorragender Betreuer, sondern auch eine große Unterstützung während der gesamten Promotionszeit.

Ein großer Dank gilt der Arbeitsgruppe Neuroinflammation und Schlaganfallforschung unter der Leitung von PD Dr. med. Michael Gliem und PD Dr. med. John Lee für die freundliche Aufnahme, den intensiven wissenschaftlichen Austausch und die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre. Die interdisziplinäre Zusammenarbeit innerhalb der Arbeitsgruppe hat diese Arbeit in besonderer Weise bereichert.

Mein besonderer Dank gilt Ramona Hagler, die mich bei der Auswertung der Serumproben in herausragender Weise unterstützt hat. Mit ihrer fachlichen Expertise, ihrem Engagement und ihrer Geduld war sie für diesen zentralen Teil der Arbeit unverzichtbar. Ohne ihre Unterstützung wäre die Durchführung und Auswertung dieses Projektes in dieser Form nicht möglich gewesen.

Darüber hinaus danke ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik für Neurologie sowie der Klinik für Gefäßchirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf. Insbesondere den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Ambulanzen danke ich für die freundliche Zusammenarbeit, die organisatorische Unterstützung und die Hilfe bei der Datenerhebung.

Mein Dank gilt außerdem allen Patientinnen und Patienten, die durch ihre Teilnahme diese wissenschaftliche Arbeit überhaupt erst ermöglicht haben.

Von ganzem Herzen danken möchte ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre bedingungslose Unterstützung während des Studiums und der Promotionszeit.

Mein tiefster Dank gilt meinen Eltern, Dr. Dr. med. Sokrates Papasimos und Cristina Papasimos, die mich auf jedem Schritt meines Weges begleitet haben. Ihre stetige Unterstützung, ihr Vertrauen in mich und ihr unermüdlicher Rückhalt haben mir stets die Sicherheit gegeben, diesen Weg gehen zu können. Ohne sie wäre diese Arbeit und vieles darüber hinaus nicht möglich gewesen.

Meinem Partner Fabian Bugdoll danke ich von Herzen für seine Geduld, sein Verständnis und seine konstante Unterstützung, insbesondere in herausfordernden Phasen dieser Arbeit. Seine Ruhe, seine Zuversicht und seine Ermutigung waren mir eine große Stütze.

Meiner besten Freundin Ivana Nikic danke ich für ihre langjährige Freundschaft, ihre ehrlichen Worte, ihre Motivation und dafür, dass sie in allen Höhen und Tiefen stets an meiner Seite stand und immer an mich geglaubt hat.