

„Das Herz bleibt ein Kind“

Theodor Fontane * 30.12.1819, † 20.09.1898

Meiner Familie

Bibliographische Beschreibung

Herz, Angelika:

Die Expression von CEACAM 1 in cerebralen Arteriovenösen Malformationen und ihre potentielle Bedeutung für eine Blutung. Eine klinische und immunhistochemische Studie. -2021. -82 Bl., 26 Abb., 16 Tab.

Kurzreferat

Arteriovenöse Malformationen des Gehirns sind eine häufige Ursache cerebraler Blutungen bei jungen Erwachsenen. In einem multifaktoriellen Geschehen scheinen auch inflammatorische Prozesse eine Rolle zu spielen. Die vorliegende Arbeit beleuchtet das Vorkommen und die potentielle Bedeutung des *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1), einem zentralen Signalmolekül der zellulären Immunmodulation in Arteriovenösen Malformationen (AVMs). Zu diesem Zweck wurde die CEACAM1-Expression in Paraffin eingebetteten AVM-Gewebeschnitten von 58 Patienten untersucht, die zwischen 1995 und 2014 in der Neurochirurgischen Klinik des Nordstadt Krankenhauses in Hannover operiert wurden. CEACAM1 konnte dabei erstmals auf Neutrophilen Granulozyten festgestellt werden, die in das AVM-Parenchym eingewandert waren (parenchymale Immuninfiltration) oder dem Endothel benachbarter Gefäße anhafteten (endovasale Immunadhäsion). Gleichsam fand sich auch eine CEACAM1-Expression der AVM-Endothelzellen selbst. Das Ausmaß der CEACAM1-positiven parenchymalen Immuninfiltration und endovasalen Adhäsion unterschied sich dabei abhängig vom klinischen (Blutung / keine Blutung) und dem zeitlichen Verlauf (Operationszeitpunkt im Verhältnis zum Blutungsereignis). Die Subgruppenanalyse ergab jedoch deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede im Hinblick auf das Abklingen der inflammatorischen Reaktionen nach stattgehabter Blutung. Bemerkenswerterweise wies die CEACAM1-Endothelexpression insbesondere bei Frauen eine signifikante Altersabhängigkeit auf. Mit dem Wissen um die stabilisierenden Fähigkeiten von CEACAM1 auf die Bluthirnschranke und einen offensichtlichen CEACAM1-Verlust des Endothels in der mittleren Altersdekade, könnte dieser Aspekt das gehäufte Auftreten einer AVM-Blutung in der mittelalten Population in Teilen erklären. Die vorliegenden Ergebnisse stützen somit die Relevanz inflammatorischer Prozesse in der Pathophysiologie cerebraler AVMs. Wohlwissend sind unsere Aussagen aufgrund des Studiendesigns und der Gruppengröße aber limitiert.

Schlüsselwörter: Arteriovenöse Malformation, Angiombutung, CEACAM1, Expression, Infiltration, Adhäsion, Neutrophile Granulozyten, Endothel,

Inhaltsverzeichnis

Bibliographische Beschreibung	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Allgemeine Einteilung der Angiome.....	1
1.1.1 Morphologie, Lokalisation und Angioarchitektur von Arteriovenösen Malformationen	1
1.1.2 Epidemiologie.....	3
1.1.3 Ätiologie und Pathogenese.....	4
1.1.4 Symptomatik	5
1.1.5 Diagnostik	6
1.1.6 Therapiemöglichkeiten	7
1.1.7 Einteilung von Arteriovenösen Malformationen.....	9
1.2 Arteriovenöse Malformationen und Inflammation.....	11
1.3 Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1).....	14
1.3.1 CEACAM1 und Inflammation.....	15
1.3.2 CEACAM1-Funktion im Endothel	16
1.4 Wissenschaftliche Fragestellung	16
2 Material und Methoden	18
2.1 Patientendaten	18
2.2 <i>Tissue-microarray</i> (TMA) und Immunhistochemie	19
2.3 CEACAM1 in cerebralen AVM: Expression & Scoring	25
2.4 Statistische Auswertung	28
2.5 Ethikvotum	29
3 Ergebnisse	29
3.1 Klinische Patientendaten	30
3.2 MPO- und CEACAM1-Expression bzw. Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen	36
3.3 Parenchymale Immuninfiltration	37
3.3.1 Parenchymale Immuninfiltration und klinische Parameter	37
3.3.2 Parenchymale Immuninfiltration und Blutungsanamnese	39
3.3.3 Parenchymale Immuninfiltration und Operationszeitpunkt	40
3.4 Endovasale Immunadhäsion	41
3.4.1 Endovasale Immunadhäsion und klinische Parameter	41
3.4.2 Endovasale Immunadhäsion und Blutungsanamnese	42
3.4.3 Endovasale Immunadhäsion und Operationszeitpunkt.....	43
3.5 CEACAM1-Expression am Endothel	44
3.5.1 Endothelexpression und klinische Parameter	44
3.5.2 Endothelexpression und Blutungsanamnese.....	46

3.5.3	Endothelexpression und Operationszeitpunkt.....	47
3.5.4	Subgruppenanalyse in Abhängigkeit von der Endothelexpression.....	48
4	Diskussion.....	49
4.1	Klinische Patientendaten.....	49
4.2	AVMs und Inflammation.....	51
4.2.1	Parenchymale Immuninfiltration in nicht gebluteten AVMs.....	51
4.2.2	CEACAM1 als möglicher Endothelstabilisator in AVMs.....	51
4.2.3	Inflammation als Folge einer Angiomblutung.....	54
4.2.4	Differente parenchymale Immuninfiltration bei Männern und Frauen – ein geschlechtsabhängiger Entzündungsprozess?.....	56
4.3	CEACAM1, Sexualhormone und Inflammation in vaskulären und neurovaskulären Erkrankungen.....	57
4.4	Ausblick: AVMs und Lifestyle-Faktoren.....	59
4.5	Limitationen der Studie.....	60
5	Zusammenfassung.....	63
6	Literaturverzeichnis.....	64
	Tabellenverzeichnis.....	VI
	Abbildungsverzeichnis.....	VII
	Danksagung.....	IX
	Ehrenerklärung.....	X
	Darstellung des Bildungsweges.....	XI

Abkürzungsverzeichnis

ACM	Arteria cerebri media
ap	anterior posterior
Aqua dest	Destilliertes Wasser
AVM	Arteriovenöse Malformation
BGP	<i>Biliary glycoprotein</i>
BOP - Intervall	Intervall zwischen Blutung und OP
CAM	<i>Cellular-adhesion-molecule</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CEA	<i>Carcinoembryonic antigen</i>
CEACAM	<i>Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule</i>
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CTA	Computertomographische Angiographie
CCT	Kraniale Computertomographie
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
Er α	<i>Estrogen-receptor-alpha</i>
HIER	heat-induced antigen retrieval
HUVECs	<i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i>
ICAM	<i>Intercellular-adhesion-molecule</i>
ICB	Intracerebrale Blutung
IL	<i>Interleukin</i>
IL1RN	<i>Interleukin-1 receptor antagonist</i>
IRS	immunoreactive score
KDR	<i>Kinase insert domain receptor</i>

MDR1	Multidrug-resistance protein 1
MMP	Matrix-Metalloprotease
MPO	Myeloperoxidase
MRA	Magnetresonanzangiographie
mRS	Modified-Ranking-Scale / Modifizierte Rankin Skala
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
PMN	Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten
PSG	Pregnancy-Specific Glycoprotein
rho.	<i>Spearman Rangkoeffizient</i>
RRMS	Schubförmige remittierende MS
S.	Sinus
sag.	sagittalis
SD	standard deviation (Standardabweichung)
sigm.	sigmoideus
SM	Spetzler-Martin
SNP	<i>Single-nucleotide polymorphism</i>
sup.	superior
suppSM	<i>Supplemented Spetzler-Martin grade</i>
STAT	Signal transducer and activator of transcription
Tab.	Tabelle
TM	Transmembran
TMA	<i>Tissue-microarray</i>
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
TOF	Time-of-flight

trans.	transversus
VCAM	<i>Vascular-cell-adhesion-protein</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Einteilung der Angiome

Angiomatöse Gefäßveränderungen wurden bereits 1863 von Virchow beschrieben [11, 127]. Heute werden unter dem Sammelbegriff „Angiome“ verschiedene Gefäßmissbildungen zusammengefasst.

1966 wurde die Gruppe der intrakraniellen Gefäßmissbildungen von McCormick in vier Subtypen unterteilt, darunter die der Arteriovenösen Malformationen (AVM). Die anderen Subtypen bilden venöse Angiome, cavernöse Malformationen – auch Cavernome genannt - sowie kapilläre Teleangiektasien [77].

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich ausschließlich mit der Subgruppe der cerebralen AVMs.

1.1.1 Morphologie, Lokalisation und Angioarchitektur von Arteriovenösen Malformationen

Im Zentrum einer jeden AVM steht der Nidus, eine Art Gefäßknäuel aus abnormen, teils undifferenzierten Gefäßstrukturen mit unterschiedlichem Kaliber. Durch das fehlende Kapillarnetz zwischen arteriellen und venösen Gefäßen trägt der Nidus nicht zur Blutversorgung des Hirnparenchyms bei. In und um den Nidus liegt gliotisch verändertes, teilweise degeneriertes Hirnparenchym. Auch Amyloid- sowie Hämosiderinablagerungen können bei stattgehabten Mikroblutungen vorkommen [26, 96]. Die zuführenden, arteriellen Gefäße werden Feeder genannt und zeigen einen irregulären Wandaufbau: Die Tunica media kann dabei in Teilen fibrosiert und verdickt erscheinen, während die Membrana elastica interna fokal gespalten oder gar unterbrochen wirkt [96]. Infolge der hämodynamischen Beanspruchung erscheinen die arteriellen Gefäßwände streckenweise ausgedünnt und können Aneurysmen ausbilden [66, 77]. Feeder, die neben dem Angiom auch gesundes Hirnparenchym versorgen, werden als *en passant* Feeder bezeichnet. Das arterialisierte, oxygenierte Blut fließt direkt aus den Feedern über den Nidus in die drainierenden, venösen Gefäße, die aufgrund des hohen Druckgradienten stark dilatiert und ektatisch imponieren können (**Abb. 1**). Histologisch zeichnen sich diese „arterialisierten“ Venen durch eine erhöhte Zelldichte innerhalb der Gefäßwand aus, die auf die Proliferation von Fibroblasten zurückzuführen ist. Fokal können thrombosierte Abschnitte auftreten. Partiiell kann die histologische Unterscheidung von arteriellen und venösen Strukturen erschwert sein [15]. Als Folge der Vaskulopathie neigen diese krankhaft veränderten Gefäßstrukturen zur Ruptur und können so zu einer lebensbedrohlichen intracerebralen Blutung (ICB) führen [27].

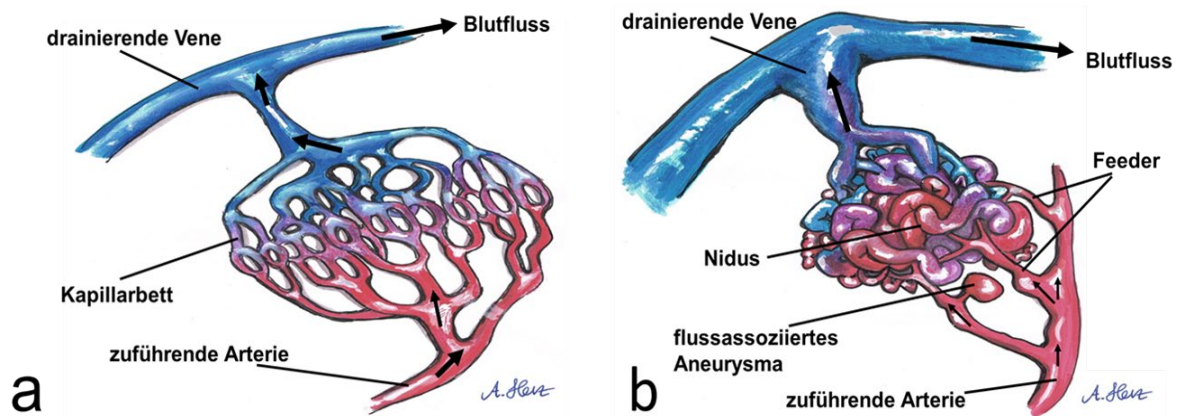


Abb. 1: Schematische Darstellung physiologischer Angioarchitektur mit dazwischengeschaltetem Kapillarbett (a) sowie Angioarchitektur einer AVM (b).

Cerebrale AVMs können ubiquitär im gesamten Gehirn vorkommen. In 85 % der Fälle liegen sie supratentoriell [66], dabei können sie oberflächlich gyral oder sulcal lokalisiert sein. Eine keilförmige Konfiguration mit Ausbreitung in die Tiefe bis zum Ventrikelsystem ist häufig. Je nach Lokalisation erfolgt die unterschiedliche arterielle Versorgung, wobei auch Zuflüsse über multiple Feeder sowie externe Zuflüsse über durale Gefäße möglich sind [92].

AVMs können sowohl über oberflächliche, kortikale Venen entlang der Hirnrinde, als auch über die tiefliegenden inneren Hirnvenen drainiert werden. Zusätzlich können aufgrund des Druckgefälles venöse Ektasien, aber auch Okklusionen sowie ein venöser Reflux auftreten. Die Bedeutung dieser Veränderungen für die Blutungsneigung wird unterschiedlich eingeschätzt. Neben anderen Faktoren, ist eine tiefe venöse Drainage laut Stapf et al. als wichtiger Risikofaktor für ein Blutungsereignis bei Patienten mit bisher nicht therapierter AVM anzusehen [110].

Das kombinierte Auftreten von AVMs und intrakraniellen Aneurysmen wurde erstmals in den frühen 1940er Jahren beschrieben und ist seither Gegenstand zahlreicher Publikationen [10, 22], da diese Konstellation eine besondere Behandlungsstrategie erfordert. Bezogen auf die Lokalisation zur AVM können unterschiedliche Aneurysma-Typen klassifiziert werden [11, 22], Eine von der AVM unabhängige Aneurysma-Lokalisation ist ebenfalls möglich.

1.1.2 Epidemiologie

Aufgrund asymptomatischer Verläufe gibt es unterschiedliche Angaben zur Epidemiologie cerebraler AVMs. Je 100 000 Einwohner treten etwa 50 Fälle auf [66]. Die jährliche Inzidenzrate wird mit 1,3 / 100 000 Personenjahre angegeben und ist in den letzten Jahren infolge des technischen Fortschritts und verbesserten Zugangs, insbesondere zur Magnetresonanztomographie- (MRT) gestiegen, da auf diese Weise auch asymptomatische Zufallsbefunde detektiert werden [66, 109]. Dennoch stellen Arteriovenöse Malformationen des Gehirns weiterhin ein seltenes Erkrankungsbild dar.

In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben zur Geschlechterverteilung von AVMs. Während einige Arbeiten ein leichtes Überwiegen des männlichen Geschlechts beschreiben [44], sehen andere keinen klaren Geschlechtsunterschied [22, 109]. Stapf et al. detektierten im Rahmen der prospektiven *New York Islands AVM Hemorrhage Study* in einem Beobachtungszeitraum von 27 Monaten innerhalb eines Einzugsgebietes mit ca. 9,43 Mio. Einwohnern 284 Patienten mit einer cerebralen AVM. In 144 Fällen kam es zu einem Blutungsereignis, dabei waren zu 50 % Frauen betroffen [109].

AVMs treten sporadisch auf, können aber mit angeborenen Gendefekten vergesellschaftet sein. So weisen Patienten mit dem Osler-Weber-Rendu Syndrom (Hereditäre Hämorrhagische Teleangiektasie = HHT) in 15-20 % cerebrale AVMs auf [2, 128].

Meist werden AVMs zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr diagnostiziert [98]. Angaben zur Mortalität variieren in der Literatur stark. Laakso und Hernesniemi geben in ihrer epidemiologischen Übersichtsarbeit von 2012 eine jährliche Mortalität für AVM-Patienten zwischen 0,7 und 2,9 % an, betonen jedoch, dass in dem Kontext keine Vergleichsangaben zur jährlichen Mortalität der Grundpopulation gemacht werden und die Zahlen kritisch zu betrachten sind [61].

1.1.3 Ätiologie und Pathogenese

Früher wurde davon ausgegangen, dass AVMs angeborene, statische Läsionen sind. Eine Größenzunahme im Verlauf wurde meist auf eine vermehrte Vasodilatation und Rekrutierung weiterer Gefäße zurückgeführt [77]. Heute wird jedoch angenommen, dass AVMs einer Dynamik unterliegen [75]. Lasjaunias propagierte 1997 die Theorie, dass große AVMs möglicherweise auf eine frühe embryonale Mutation zurückzuführen seien, während kleinere Läsionen mit einem bestimmten Ereignis, beispielsweise einer Ischämie oder Blutung als Auslöser für eine Größenzunahme vergesellschaftet sind [64].

Nach Mullan et al. gelingt die Identifikation und Diagnose einer AVM *in utero* im Rahmen der pränatalen Ultraschalluntersuchung nur selten [82], da die Läsionen zu klein sind bzw. erst post partum eine für die Diagnostik ausreichende Größe bzw. Charakteristik und Flussdynamik ausbilden. In der Literatur finden sich nur vereinzelte Fälle von intrauterin diagnostizierten AVMs [8], obschon die pränatale Ultraschalldiagnostik inzwischen deutlich verbessert wurde und auch fetale MRT-Diagnostik bei anderen vorgeburtlichen zerebrovaskulären Erkrankungen wie etwa Vena-Galeni-Malformationen durchaus zum Einsatz kommt [130].

Entgegen der Theorie, dass es sich bei AVMs um kongenital angelegte Läsionen handelt, wird in der Literatur auch eine *de novo* Entstehung von AVMs beschrieben [80, 86], sodass insgesamt von einem multifaktoriellen Geschehen auszugehen ist. Auch bereits behandelte AVMs können an gleicher oder unterschiedlicher Lokalisation erneut auftreten [106]. So präsentierten Walker et al. ein Mausmodell und zeigten, dass sowohl genetische Mutation als auch eine angiogene Stimulation zur Entwicklung einer AVM führen können [123]. Sie skizzierten so eine mögliche Erklärung für *de novo* bzw. rekurrent auftretende AVMs. Der *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) wurde dabei als wichtiger Angiogenesefaktor beschrieben [100]. Mit VEGF wird eine Gruppe von Proteinen beschrieben, die die Ausbildung und Differenzierung neuer Gefäße sowohl in der Embryonalphase (Vaskulogenese) als auch bei bestehenden Gefäßen (Angiogenese) reguliert. Darüber hinaus beeinflusst VEGF die vaskuläre Permeabilität [129]. Vaskulogenese und Angiogenese wiederum spielen laut Mouchtouris et al. bei Bildung und Progress von AVMs eine zentrale Rolle [81]. Cheng et al. demonstrierten anhand eines Mausmodells, dass eine erhöhte Expression von VEGF in AVMs mit einer vermehrten Rupturrate korrelierte [19].

1.1.4 Symptomatik

AVMs neigen aufgrund ihrer pathologischen Gefäßmorphologie zur Ruptur. Eine ICB gilt als die gefährlichste Komplikation für AVM-Patienten, da sie mit beträchtlichen neurologischen Ausfällen einhergehen kann und eine lebensbedrohliche Situation darstellt. 50 % der symptomatischen AVMs werden aufgrund eines erstmaligen Blutungsereignisses diagnostiziert [66]. Dieser Anteil ist in den letzten Jahren dank verbessertem Zugang zur nichtinvasiven MRT-Diagnostik gesunken [61]. Etwa 30 % der primären ICBs bei jungen Erwachsenen sind auf AVMs zurückzuführen [5]. Das jährliche Risiko einer spontanen Blutung bei Patienten mit bisher nicht rupturierter AVM liegt zwischen 1 bis 4 % [66, 98]. Infratentorielle AVMs scheinen dabei ein höheres Blutungsrisiko aufzuweisen [114]. Ebenso scheinen Kinder häufiger von Blutungen betroffen zu sein: Stein et al. beschreiben in ihrer Arbeit von 2018 in 76 % von 46 pädiatrischen Fällen eine AVM-Ruptur [112].

Neben einer vorangegangenen ICB gelten eine tiefe venöse Drainage, eine tiefliegende AVM-Lokalisation sowie das Vorliegen flussassoziiertes Aneurysmen als wesentliche Risikofaktoren für ein (erneutes) Blutungsereignis. Dabei wird einem stattgehabten Blutungsereignis das größte Gewicht eingeräumt [66, 98]. Kim et al. geben für bereits geblutete AVMs ein jährliches Risiko von 4,8 % für eine erneute Blutung an [55]. Bezüglich einer Korrelation zwischen AVM-Größe und Blutungsrisiko variieren die Angaben in der Literatur stark. Jedoch konnten die meisten Arbeiten keinen statistisch aussagekräftigen Zusammenhang feststellen [98]. Im Durchschnitt kann das jährliche Blutungsrisiko mit 2-4 % pro Lebensjahr angegeben werden, wobei es individuell stark von den o.g. Risikofaktoren abhängig ist [61, 96].

30 % der Patienten mit symptomatischer AVM fallen initial durch epileptische Anfälle auf [1]. Somit stellt ein erstmaliger epileptischer Anfall das zweithäufigste Primärsymptom bei AVM-Patienten dar [61]. Laut Hoh et al. gehen Faktoren wie männliches Geschlecht, Alter jünger als 65 Jahre, Nidus > 3cm und Lokalisation im Temporallappen statistisch häufiger mit epileptischen Anfällen einher [45]. Josephson et al. beziffern das Risiko für Erwachsene mit nicht rupturierter AVM in den ersten 5 Jahren nach einem erstmaligen epileptischen Krampfanfall eine symptomatische Epilepsie zu entwickeln auf 58 % [49].

Weitere Symptome können Ischämie-Zeichen aufgrund von Steal-Phänomenen sein. Als Steal-Phänomen wird die Hypoperfusion des umliegenden Hirnparenchyms bezeichnet, klinisch kann dies in Form von Sprach- und Sprechstörungen, Sehstörungen oder Paresen manifest werden. Als weitere unspezifische Symptome sind rezidivierende Kopfschmerzen und Schwindel zu nennen. Zwischen 5 und 14 % der AVM-Patienten fallen durch chronische Kopfschmerzen auf [1].

1.1.5 Diagnostik

Intracerebrale Blutungen sind prinzipiell immer verdächtig für das Vorliegen einer vaskulären Pathologie und müssen genauer untersucht werden. In der Akutphase erfolgt die Diagnostik primär mittels nativer, kranialer Computertomographie (CT) und anschließender Kontrastmittelgabe. In der nativen CT-Diagnostik lässt sich meist nur die Blutung selbst feststellen, kleinere sowie nicht-rupturierte AVMs können nicht sicher detektiert werden. Über eine intravenöse Kontrastmittelapplikation im Rahmen der CTA lassen sich pathologische Gefäße und deren Bezug zu den hirnversorgenden Arterien und Venen genauer darstellen. Eine MRT-Untersuchung weist eine deutlich höhere Spezifität und Sensitivität auf, sowohl für die Diagnose von gebluteten als auch nichtgebluteten Angiomen. Sie stellt jedoch keine Methode der Notfalldiagnostik dar. Im MRT können die Gefäßstrukturen nativ mit Hilfe von *Time-of-flight*- (TOF) Sequenzen dargestellt werden [54, 66, 71]. Als Goldstandard gilt die Panangiografie [66] der hirnversorgenden Arterien sowie der Arteria carotis externa, um die genaue Angioarchitektur, die zuführenden Feeder, den Nidus, das Drainagesystem und ggf. mögliche Aneurysmen abzubilden.

Abb. 2 fasst den Ablauf der Diagnostik bei einer Patientin mit stattgehabter rechts temporaler Angiomblutung zusammen.

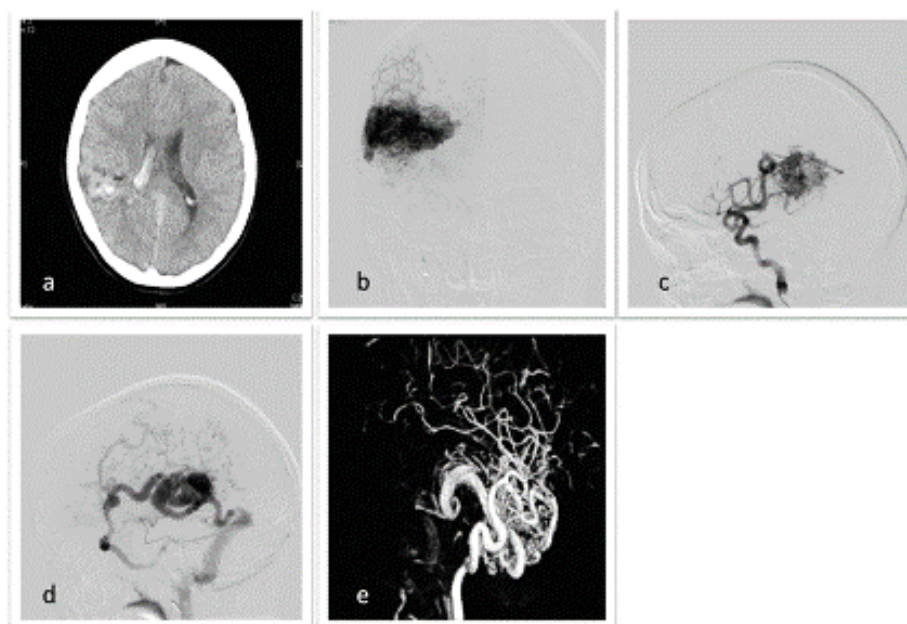


Abb. 2: 21-jährige Patientin mit rechts temporaler Angiomblutung; native CCT-Bildgebung (a) Arteriovenöse Malformation (AVM) Spetzler-Martin-Grad II in der Digitalen Subtraktionsangiographie (DSA), ap-Übersichtsaufnahme (b), arterielle Phase (c), venöse Phase (d), 3D-Darstellung (e); (Klinik f. Neuroradiologie Nordstadt Krankenhaus Hannover).

1.1.6 Therapiemöglichkeiten

Im Falle einer rupturierten AVM richtet sich die Wahl der Therapieoption im Rahmen der Notfallversorgung zunächst nach dem Ausmaß der stattgehabten ICB. Bei geringem Masseneffekt erfolgt zunächst die intensivmedizinische Stabilisierung der Patienten sowie die Komplettierung der Diagnostik zur genauen Therapieplanung. Wenn möglich gilt es eine AVM-Behandlung in der akuten Phase eines Hirnödems nach stattgehabter Blutung zu vermeiden [54].

Das grundsätzliche Therapieziel ist stets die vollständige Ausschaltung bzw. Obliteration oder Exstirpation der AVM [54]. Dabei ist das Behandlungsrisiko dem individuellen Risiko des natürlichen Verlaufs einer AVM-Erkrankung gegenüberzustellen. Zu den derzeitigen Therapieoptionen gehören die mikrochirurgische Resektion, eine neuroradiologische bzw. endovaskuläre Behandlung sowie die Radiochirurgie. Die aufgeführten Therapiemöglichkeiten sind nicht kompetitiv zu werten und können multimodal angewendet werden, sodass in vielen Fällen ein interdisziplinäres Behandlungskonzept erarbeitet wird [31, 56, 85, 99]. Die Wahl der Behandlungsmethode und deren Planung sind vom Spetzler-Martin-(SM)-Grad, zusätzlich vorhandenen angiografischen Besonderheiten, dem klinischen Zustand des Patienten, dem Lebensalter und individuellen, patientenspezifischen Faktoren abhängig.

Auch Einstellung und Wünsche der Betroffenen müssen berücksichtigt werden. AVMs sollten aufgrund ihrer Komplexität und Seltenheit ausschließlich in spezialisierten, cerebrovaskulären Zentren unter Einbeziehung der interventionellen Neuroradiologie, Neurochirurgie, Radiochirurgie und Neurologie behandelt werden. Die Behandlung einer AVM erfolgt möglichst elektiv bei nicht gebluteten AVMs bzw. nach stattgehabter Blutung in der subakuten Phase.

Rupturierte AVMs haben ein erhöhtes Nachblutungsrisiko [61] und sollten daher behandelt werden. Auch hier liegt das primäre Ziel in der vollständigen Ausschaltung bzw. Entfernung der AVM. Eine unvollständige Resektion bzw. nur teilweise Okklusion der Läsion führt zu einem erhöhten jährlichen Blutungsrisiko. Bei zusätzlich vorhandenen Aneurysmen bedürfen diese prinzipiell, auch im Falle einer asymptomatischen AVM, einer neurochirurgischen oder endovaskulären Behandlung und müssen bei der Behandlungsplanung miteinbezogen werden. Ggf. ist die Behandlung des Aneurysmas unabhängig von der Behandlung der AVM anzusehen. Stein et al. empfehlen flussassoziierte Aneurysmen ab einem Durchmesser von 5mm zu behandeln, auch wenn keine Indikation zur Behandlung der AVM selbst besteht [113].

Die Wahl der richtigen Behandlungsstrategie wurde im Rahmen der ARUBA-Studie kontrovers diskutiert [79]. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine elektive neurochirurgische oder neuroradiologische Behandlung nicht gebluteter AVMs zu einem schlechteren neurologischen

Ergebnis im Langzeitverlauf führe. Das Studiendesign sowie die Ergebnisqualität dieser Studie wurden kritisch bewertet, sodass die Aussagen von ARUBA, insbesondere von Neurochirurgen, als nicht allgemein hin gültig eingestuft wurden [24, 66, 74]. Bemängelt wurde u. a. ein möglicher Selektionsbias durch den Einschluss von nur 13 % der gesehenen 1740 Patienten. Zudem war das operative Vorgehen im Interventionsarm mit < 16 % klar unterrepräsentiert. Zweifel gab es auch aufgrund der Tatsache, dass 30 Patienten allein mittels Embolisation behandelt wurden [9]. Dennoch ist die ARUBA-Studie die bis dato einzige kontrolliert-randomisierte Erhebung von Daten zur Behandlung inzidenteller, nicht gebluteter AVMs. Da sie einen Paradigmenwechsel einläutete, kann sie nicht unbeachtet bleiben.

Eine kurative medikamentöse Therapie von gebluteten und nicht gebluteten AVMs existiert bis heute nicht.

Abb. 3 zeigt intraoperative Aufnahmen der mikrochirurgischen Exstirpation der in **Abb. 2** dargestellten AVM. Das postoperative Ergebnis wird in **Abb. 4** zusammengefasst.

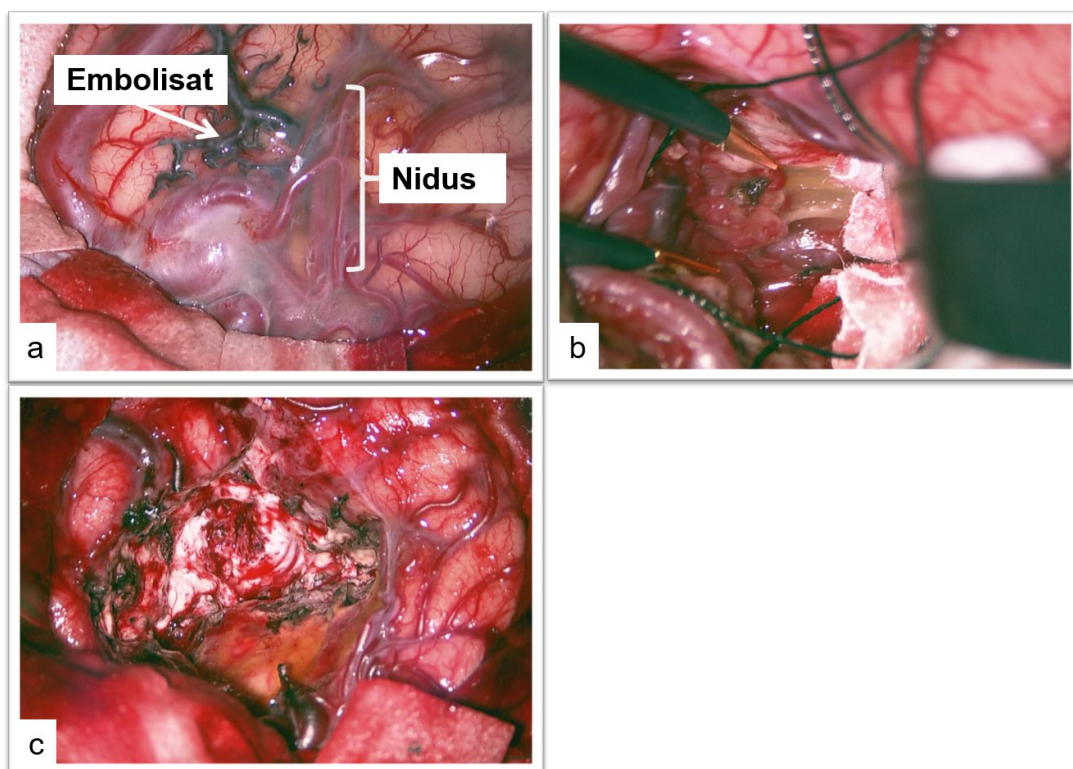


Abb. 3: Mikrochirurgische Exstirpation einer rechts temporalen, präembolisierten AVM SM-Grad II. Intraoperative Übersicht vor Eröffnung der Arachnoidea (a), Präparation der Feedergefäße (b), Abschlussübersicht nach Exstirpation (c); (Klinik f. Neurochirurgie Nordstadt Krankenhaus Hannover).

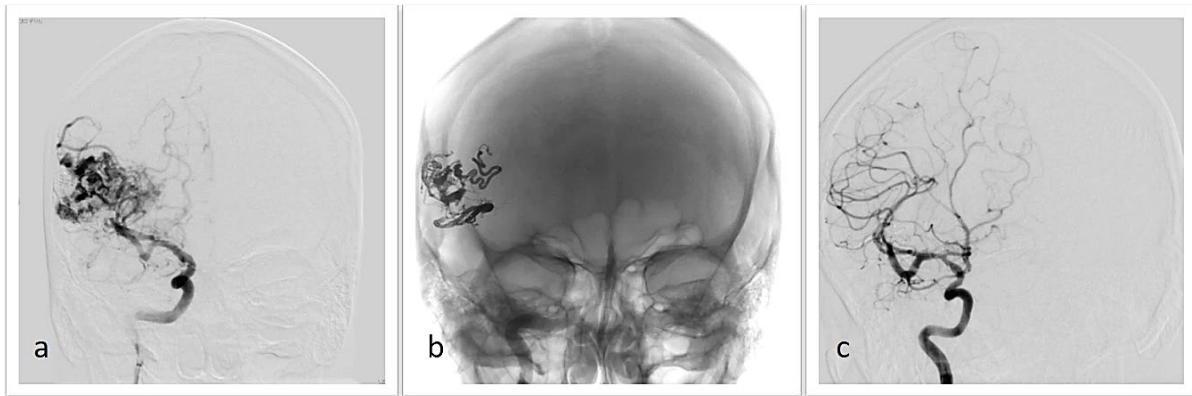


Abb. 4: Multimodale Therapie einer rechts temporalen, präembolisierten AVM SM-Grad II Embolisationsversuch mit Onyx (a), ap-Übersichtsaufnahme (b), postoperative DSA nach vollständiger mikrochirurgischer Exstirpation der AVM (c); (Klinik f. Neuroradiologie Nordstadt Krankenhaus Hannover).

1.1.7 Einteilung von Arteriovenösen Malformationen

Spetzler und Martin veröffentlichten 1986 ihre auch heute noch gängige AVM-Klassifikation mit dem Ziel, die Wahl der richtigen Behandlungsstrategie auf Grundlage des Behandlungsrisikos zu vereinfachen [107]. Ursprünglich für eine chirurgische Therapie etabliert, ist diese Einteilung auch heute noch Grundlage für die individuelle und multimodale Behandlungsplanung von AVMs. Dabei werden die in **Tab. 1** genannten Kriterien unterschiedlich mit Punkten gewichtet und addiert, maximal 5 Punkte können erreicht werden. Aus der Summe wird dann der entsprechende Spetzler-Martin-Grad I bis V (SM-Grad) abgeleitet. AVMs mit geringerem SM-Grad sind sicherer zu operieren und mit einem besseren postoperativen neurologischen Outcome verbunden. Dieser Zusammenhang wurde später auch von anderen Autoren beschrieben und hat heute noch Bestand [40, 115].

Tab. 1: Arteriovenöse Malformation (AVM) – Einteilung nach Spetzler und Martin [106]

Kriterium	Punkte
Größe des Nidus	
klein, < 3cm	1 Punkt
mittel, 3-6 cm	2 Punkte
groß, > 6cm	3 Punkte
Lokalisation	
eloquente Hirnregion*	1 Punkt
nicht-eloquente Hirnregion	0 Punkte
venöse Drainage	
oberflächlich	0 Punkte
tief	1 Punkt
* sensomotorischer, sprachlicher und visueller Kortex; Capsula interna; Hirnstamm; Hypothalamus; Thalamus; Kleinhirnschenkel und Kleinhirnerne	

In einer vereinfachten Version der etablierten SM-Einteilung präsentierten Spetzler und Ponce 2011 eine neue Abstufung in drei Klassen statt der bisherigen fünf Grade. Das klinische Outcome nach erfolgter Therapie wurde dabei vom SM-Grad abgeleitet und ins Verhältnis gesetzt. Dies erfolgte mit der Intention, aus der vereinfachten Einteilung nun die derzeit empfohlene, auch multimodale Behandlungsstrategie ableiten zu können vgl. **Tab. 2.** [108].

Tab. 2: Arteriovenöse Malformation (AVM) - Einteilung nach Spetzler und Ponce [108]

Spetzler-Martin-Grad	Klassifizierung nach Spetzler und Ponce	Behandlungsstrategie
Grad I	Klasse A	operativ
Grad II		
Grad III	Klasse B	multimodal
Grad IV	Klasse C	konservativ
Grad V		

Ergänzend zu der vereinfachten Form der SM-Skala veröffentlichten Lawton et al. die *Supplementary-Grading-Scale* (auch Supplemented SM-Grade, suppSM), in der sie neben den bekannten drei Eckpunkten weitere Faktoren (Alter, stattgehabte Blutung und

Kompaktheit der AVM) verwendeten. Ziel war auch hier, den ermittelten Wert als Prädiktor für die Operabilität von AVMs zu etablieren [66].

1.2 Arteriovenöse Malformationen und Inflammation

Die Mechanismen, die letztlich zur Ruptur von AVMs führen, sind bis heute nicht hinreichend geklärt, müssen aber als multifaktoriell angenommen werden. Neben individuellen morphologischen und hämodynamischen Faktoren werden seit langem auch inflammatorische Prozesse in der Genese zerebrovaskulärer Erkrankungen vermutet. 1999 fanden Chyatte et al. in resezierten intrakraniellen Aneurysmen histologische und immunhistochemische Anzeichen einer chronischen Inflammation – sowohl bei rupturierten als auch bei nicht rupturierten Aneurysmen [20]. Diese These wurde auch auf die Entstehung von AVMs übertragen. Verschiedene Arbeiten beschäftigten sich mit dem Einfluss immunaktivierender und proliferativer Mechanismen und deren Nachweis. Es wird angenommen, dass freigesetzte Zytokine, sowie einwandernde Neutrophile und Makrophagen zu einer lokalen Inflammation der Gefäßwände führen, welche dann durch genetische Faktoren getriggert wird.

Als Trigger für allgemeine inflammatorische Prozesse und vaskuläre Dysmorphogenese wurden mehrere *Single-nucleotide polymorphism* (SNPs) in Genen proinflammatorischer Zytokine identifiziert [81]. Beispielsweise war ein SNP im Interleukin-(IL)-6 Promotor (-174G>C) mit dem gehäuften Auftreten von AVM-Blutungen assoziiert [91]. Das Vorhandensein dieses SNPs führt zu einer erhöhten IL-6-Expression und zur Induktion von Matrix-Metalloproteasen (MMPs) [91]. MMPs sind Zink-abhängige Endopeptidasen, die an physiologischen und pathophysiologischen Zellprozessen beteiligt sind. MMP-9 spaltet Proteine der Extrazellulärmatrix (z. B. Kollagene) und aktiviert auf diese Weise Zytokine und Chemokine. Dieser Mechanismus ist bei der Ruptur arteriosklerotischer Plaques von Bedeutung [126]. Übertragen auf AVMs könnte die proteolytische Spaltung von Bestandteilen der Extrazellulärmatrix in den Gefäßwänden zu deren Destabilisierung und somit zu einer AVM-Ruptur führen [44]. MMP-9 als Ziel einer medikamentösen Therapie für AVM-Patienten wurde von Hashimoto et al. 2005 untersucht. Im Rahmen einer Pilotstudie wurde die Wirkung von Doxycyclin, einem Proteinsynthese-Inhibitor, insbesondere auf die Expression von MMP-9 im AVM-Gewebe hin untersucht. Zehn AVM-Patienten nahmen präoperativ eine Woche lang zweimal täglich 100mg Doxycyclin, während vier weitere Patienten in der Kontrollgruppe ein Placebo erhielten. Letztlich konnte eine reduzierte Expression von MMP-9 in den AVM-Resektaten unter Doxycyclin festgestellt werden [44].

IL-6 stimuliert indirekt die Rekrutierung von Leukozyten, die Aktivierung von Endothelien sowie die Proliferation von glatter Muskulatur in Gefäßwänden durch eine Expressionssteigerung verschiedener Zytokine (IL-1 β , Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α), IL-8) im AVM-Gewebe [17]. Die rekrutierten Leukozyten sezernieren ihrerseits Myeloperoxidase (MPO), MMPs, Zytokine und andere proteolytische Enzyme, wodurch die Gefäßwände innerhalb der AVM geschädigt werden [17, 67]. Chen et al. bewiesen, dass IL-6 in Versuchen an Endothelzellreihen ähnliche angiogene Effekte zeigte wie VEGF [17]. Wang und Newman konnten in ihren Versuchen an glatten Gefäßmuskelzellen deren vermehrte Migration und Motilität feststellen, welche durch IL-6 hervorgerufen wurde [125].

Die Einwanderung der rekrutierten Leukozyten ins Gewebe wird u.a. durch sogenannte *Cellular-adhesion-molecules* (CAMs) auf Endothelzellen vermittelt, indem sie zirkulierende Leukozyten binden. In AVM-Gewebeproben konnte man erhöhte Werte der Adhäsionsmoleküle *Intercellular-adhesion-molecule 1* (ICAM-1), *Vascular-cell-adhesion-protein 1* (VCAM-1) und E-Selectin nachweisen, die sowohl an Inflammationsprozessen als auch an der Vaskulogenese beteiligt sind [116]. Die beschriebenen Inflammationsprozesse werden schematisch in **Abb. 5** zusammengefasst.

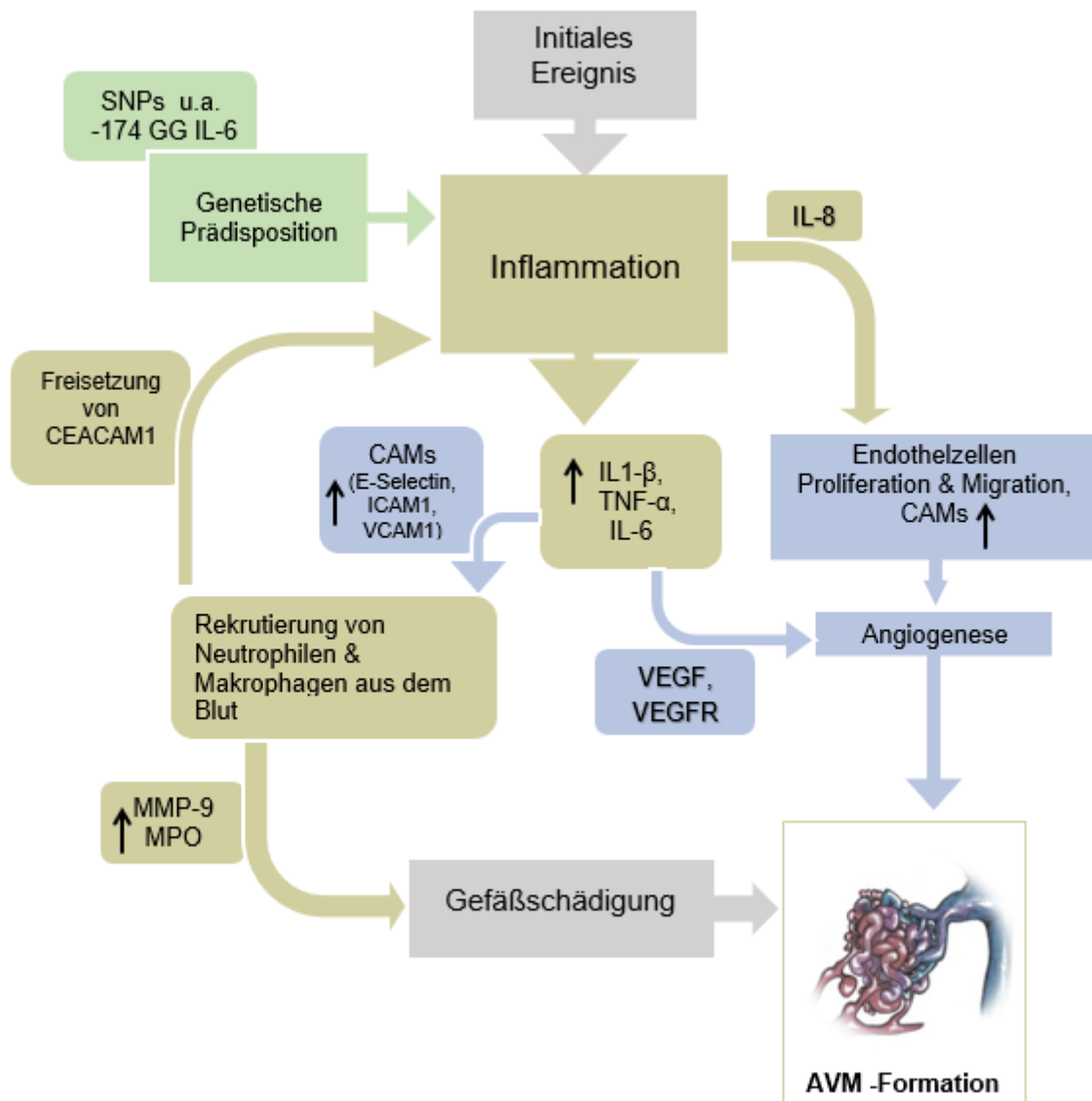


Abb. 5: Schematische Übersicht - Inflammation und AVM, modifiziert nach Mouchtouris et al. [81] CAMs = Cellular-adhesion-molecules; CEACAM1 = Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule-1; IL = Interleukin; MMP = Matrix-Metalloprotease; MPO = Myeloperoxidase; SNPs = Single-nucleotide polymorphism; TNF- α = Tumornekrosefaktor alpha; VCAM = Vascular-cell-adhesion-protein; VEGF = Vascular-endothelial-growth-factor; VEGFR = Vascular-endothelial-growth-factor-receptor.

1.3 Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1)

CEACAM1 (früher auch *biliary glycoprotein* (BGP) 1 genannt) ist ein multifunktionales Glycoprotein, das an physiologischen und pathologischen Prozessen im Rahmen von Zelldifferenzierung, Zellwachstum und Inflammation beteiligt ist. CEACAMs gehören zur CEA-Subgruppe, der andere Teil wird durch schwangerschaftsspezifische Glykoproteine *pregnancy-specific glycoproteins* (PSG) gebildet. Alle zusammen werden in der CEA-Familie zusammengefasst und zu den Immunglobulinen gezählt. Der genetische Code ist auf dem Chromosom 19q13.2 lokalisiert. Sieben dieser Gene codieren für die CEA-Subgruppe, die anderen 11 für die PSGs [41, 95].

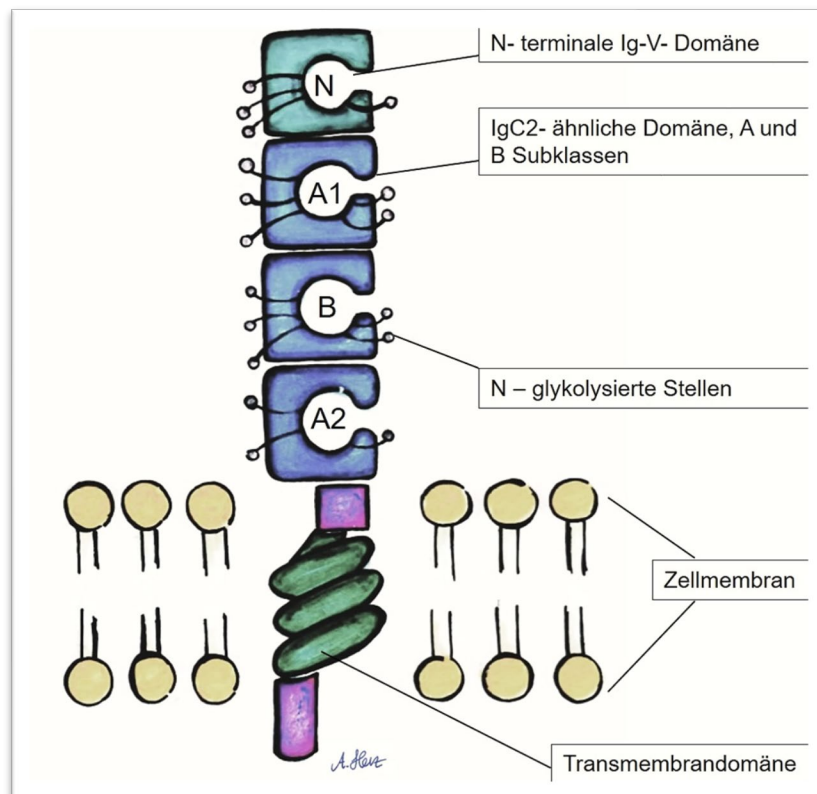


Abb. 6: Schematische Darstellung des Aufbaus von *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1), modifiziert nach Gray-Owen und Blumberg [37].

CEA (Carcinoembryonales Antigen) selbst ist lange bekannt und kommt im klinischen Alltag als etablierter Tumormarker bei der Behandlung und Verlaufskontrolle von Patienten mit einem kolorektalen Karzinom [33, 87] vor. Auch CEACAM1 ist in tumorproliferative Prozesse involviert [103]. CEACAMs sind pluripotente Signalmoleküle, welche als membranständige Adhäsionsmoleküle Zell-Zellverbindungen vermitteln können. CEACAM1 ist auf Epithel-, Endothel- und auf Immunzellen nachweisbar und wirkt dort regulatorisch. **Abb. 6** stellt schematisch den Aufbau von CEACAM1 dar.

1.3.1 CEACAM1 und Inflammation

CEACAM1 kann in und auf Neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden [59]. Dabei wird das Molekül vor allem in den spezifischen bzw. sekundären Granula der Neutrophilen gespeichert. Durch die Neutrophilenaktivierung wird CEACAM1 aus den Granula freigesetzt und entweder auf der Zelloberfläche exprimiert oder als lösliches CEACAM1 sezerniert [59]. Die Bindung CEACAM1-spezifischer Antikörper sowie löslicher rekombinanter CEACAM1-FC Fusionsproteine induziert Signalkaskaden, die verschiedene Vorgänge wie z.B. die Zellproliferation, Tumorwachstum, Angiogenese, lymphozytäre Immunreaktion, Immunadhäsion [104,105] und die Apoptose Neutrophiler Granulozyten (bei der Ratte) regulieren [102]. Durch die Regulation der Apoptose von Neutrophilen Granulozyten kann ebenso das Abklingen von Entzündungsreaktionen getriggert werden [102]. **Abb. 7** veranschaulicht die möglichen Effekte von CEACAM1 auf Neutrophile Granulozyten.

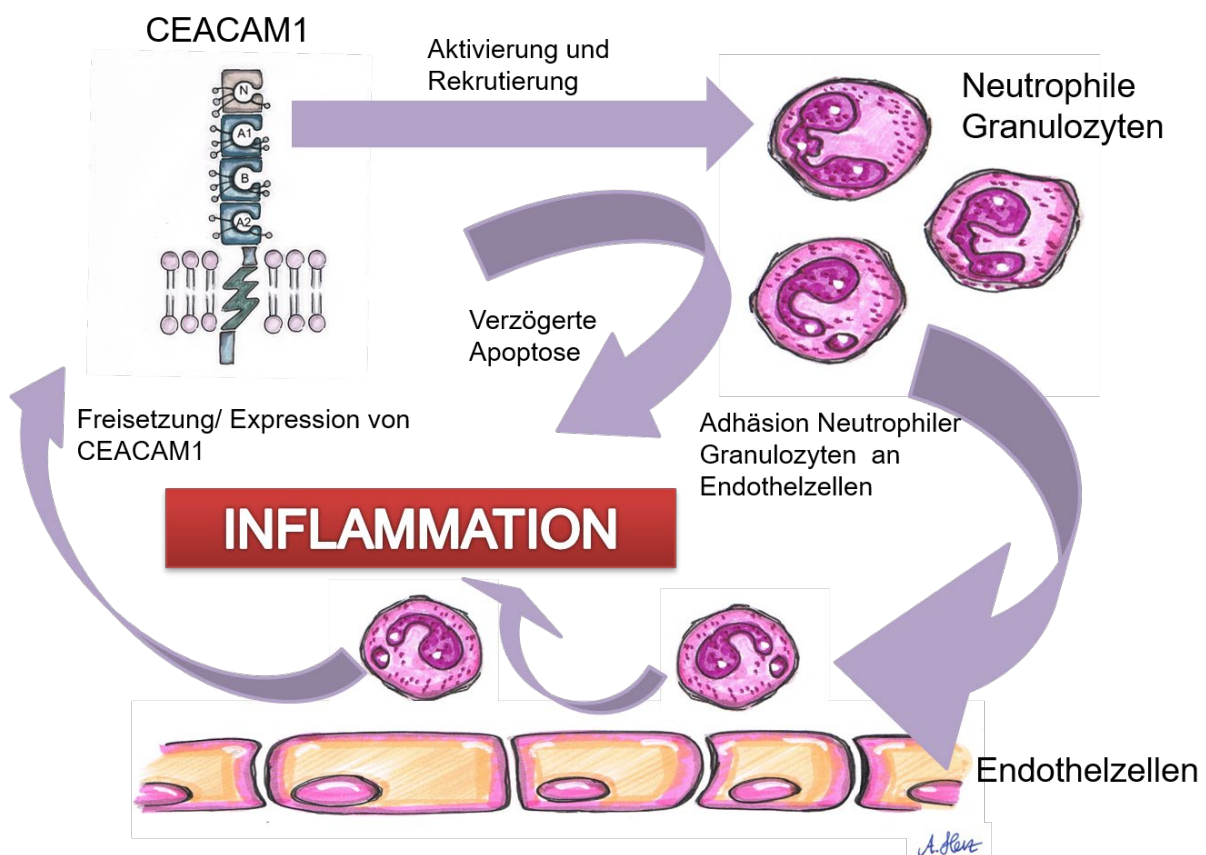


Abb. 7. Mögliche Wirkung von *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) auf Neutrophile Granulozyten [102, 104, 105].

Ein vermehrtes Vorkommen von Neutrophilen Granulozyten und Makrophagen in nicht gebluteten, nicht präembolisierten AVMs beschrieben Chen et al. in ihrer Arbeit von 2008. Auch eine erhöhte Expression von MPO und MMP-9 konnte die Arbeitsgruppe in den Proben der AVM-Patienten feststellen [18].

Im Gehirn wird CEACAM1 von Oligodendrozyten exprimiert [94]. Die Rolle von CEACAM1 und MMP-9 wurde im Zusammenhang mit einer cerebralen Ischämie von Ludewig et al. untersucht. In einem Mausmodell konnte gezeigt werden, dass die MMP-9 Sekretion durch Neutrophile an der gestörten Bluthirnschranke durch CEACAM1 reguliert und kontrolliert wird. Die Gruppe vermutete, dass CEACAM1 die, durch einwandernde Neutrophile hervorgerufenen, Zellschäden beeinflussen und inhibieren kann. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass CEACAM1-markierte Neutrophile als erste Leukozyten das postischämische Hirngewebe infiltrieren [69].

1.3.2 CEACAM1-Funktion im Endothel

Die Rolle von CEACAM1 für die Aufrechterhaltung der Homöostase und Integrität des Endothels wurde überwiegend im Rahmen von Tiermodellen erforscht. Die Arbeiten konzentrierten sich meist auf Fragestellungen zur Pathogenese kardiovaskulärer und arteriosklerotischer Erkrankungen sowie der Angiogenese von Tumorerkrankungen. Horst et al. identifizierten CEACAM1 als Modulator des sogenannten vaskulären Remodellings sowohl *in vitro* als auch *in vivo*. In ihrer Versuchsreihe zeigten CEACAM1-*knock-out*-Mäuse eine gestörte Neovaskularisation mit pathologischem Wandaufbau in neu aussprossenden Kapillaren infolge einer Ischämie mit resultierender erhöhter Permeabilität der Gefäßwände und vermehrter Apoptose [46]. Ähnliche Beobachtungen machten andere Arbeitsgruppen und beschrieben ebenfalls eine Fehlfunktion des Endothels mit erhöhter Permeabilität bei CEACAM1-defizienten Tieren bzw. Geweben [31, 89]. Eine erhöhte vaskuläre Leckage mit vermehrtem Vorkommen von Blutzellen im Tumorgewebe duktaler Mammakarzinome konnten Gerstel et al. im Mausmodell bei CEACAM1-*knock-out*-Mäusen feststellen [29].

1.4 Wissenschaftliche Fragestellung

Cerebrovaskuläre Erkrankungen und deren Komplikationen sind für Neurologen, Neuroradiologen und Neurochirurgen eine große Herausforderung. AVMs, machen dabei nur einen kleinen Teil aus, betreffen jedoch zumeist jüngere Patienten in den mittleren Lebensdekaden mit potentiell lebensbedrohlichen oder in höchstem Maße die Lebensqualität beeinträchtigenden Komplikationen. Die Detektion möglicher Risikofaktoren und Prediktoren für eine Blutung zur optimalen Beratung der Betroffenen und die Wahl der richtigen Therapieoptionen sind zentrale Motive aktueller Forschungsarbeiten. Die zugrundeliegende Pathogenese erscheint zumindest multifaktoriell und ist bis heute weitgehend ungeklärt.

Spezifische Muster in Morphologie und Angioarchitektur von AVMs erscheinen als Faktoren für die Risikoeinschätzung einer Angiomblutung plausibel, erfassen die Problematik aber offensichtlich nur in Teilen [38]. Gleiches gilt für hämodynamische Aspekte. Das Auftreten von immunmodulierenden Zellen und Enzymen in den AVMs spricht für einen Inflammationsprozess als mögliche Ursache für das Auftreten einer ICB [2,17, 67].

CEACAM1 kommt in der Kaskade inflammatorischer Prozesse dabei eine zentrale Bedeutung zu. In diesem Zusammenhang wurde u.a. der Einfluss von CEACAM1 auf Neutrophile Granulozyten untersucht [103, 104, 105]. Gleichzeitig wird CEACAM1 eine wichtige Rolle als Stabilisator der Endothelfunktion zugeschrieben [31, 89]. Ludwig et al. konnten CEACAM1 auf Neutrophilen Granulozyten in infarziertem Hirngewebe identifizieren und so Rückschlüsse auf die gestörte Bluthirnschranke ziehen [69]. Das Vorkommen von Immunzellen in AVMs, insbesondere die Infiltration durch Neutrophile Granulozyten in nicht rupturierten, nicht präembolisierten AVMs wurde u.a. von Chen et al. beschrieben [18]. Das Vorkommen von CEACAM1 in AVM-Gewebe wurde bisher jedoch nicht untersucht.

Trotz der oben geschilderten Zusammenhänge bleiben zahlreiche Fragen unbeantwortet. Mit dem Nachweis von Neutrophilen Granulozyten insbesondere in Resektaten gebluteter AVMs ist davon auszugehen, dass auch diese Zellen CEACAM1 exprimieren. Es bleibt aber offen, ob diese Expression eine ursächliche Rolle in der Entstehung einer Angiomruptur spielt, oder als Phänomen einer stattgehabten Blutung zu betrachten ist. Vor diesem Hintergrund ergeben sich mit dem Fokus auf CEACAM1-exprimierende Immunzellen in den Resektaten cerebraler AVMs folgende wissenschaftliche Fragestellungen:

1. Bestehen im Hinblick auf die CEACAM1-Expression Unterschiede zwischen rupturierten und nicht rupturierten AVMs?
2. Lassen sich neben CEACAM1-positiven Immunzellen im AVM-Parenchym auch andere CEACAM1-exprimierende Zellen z.B. im Bereich des Endothels identifizieren?
3. Korreliert die Expression von CEACAM1 mit einzelnen klinischen Subgruppen des Patientenkollektivs (Alter, Geschlecht, SM-Grad, Epilepsie)?
4. Hat das Zeitintervall zwischen Angiomblutung und Operation einen Einfluss auf den Nachweis von CEACAM1 in den verschiedenen Zelllinien?

2 Material und Methoden

2.1 Patientendaten

Grundlage der Untersuchung waren Patienten, die in der Neurochirurgischen Klinik des Nordstadt Krankenhauses Hannover zwischen 1995 und 2014 an einer cerebralen AVM operiert wurden. Die Patientendaten wurden dem Akten- und Bildmaterial des Krankenhausarchivs und bei Patienten ab dem Jahr 2000 den digitalen Krankenakten des klinikinternen Krankenhausinformationssystem (SAP) entnommen. Die Graduierung des klinischen Zustandes bei Aufnahme erfolgte gemäß *Modified-Rankin-Scale* (mRS) vgl. **Tab. 3** [97]. Neben allgemein demografischen Daten wurden die AVM-Lokalisation (infratentoriell, supratentoriell), Größe der AVM, SM-Grad, Blutungsereignis, Embolisation, Epilepsie sowie der prä- und postoperative mRS ermittelt.

Fehlende Daten wurden, sofern möglich, telefonisch nachevaluert. Die erfassten Ergebnisse wurden in einer Datenbank (Microsoft Excel) zusammengefasst. Aus 85 Patienten konnten insgesamt 58 Fälle mit ausreichend Gewebematerial und vollständigem Datensatz für die Untersuchung genutzt werden.

Tab. 3: *Modified-Rankin-Scale* (mRS)

Wert	Beeinträchtigung
0	Keine Beeinträchtigung
1	Leichte Symptome, keine Beeinträchtigung der alltäglichen Aktivität
2	Leichte Beeinträchtigung, Alltag noch ohne fremde Hilfe möglich
3	Mittelschwere Beeinträchtigung, fremde Hilfe im Alltag notwendig, Gehen selbstständig möglich
4	Schwere Behinderung, Gehen nicht möglich, auf fremde Hilfe im Alltag und bei der Pflege angewiesen
5	Schwere Behinderung, bettlägerig, inkontinent, Vollpflege
6	Tod

Modifiziert nach Rankin [97].

2.2 *Tissue-microarray (TMA) und Immunhistochemie*

Die Färbung von Antigenen in Zellen und Geweben erfordert ein immunhistochemisches Verfahren und die Verwendung spezifischer Antikörper, die an die gesuchten Antigene binden und diese so markieren. Für die vorgesehene immunhistochemische Färbung und anschließende Auswertung wurden spezielle Gewebeschnitte gewählt, sogenannte *tissue-microarrays* (TMA). Mit diesem durch Kononen et al. 1998 etablierten Verfahren können Gewebeproben aus einem großen Kollektiv auf einen einzelnen Paraffinblock transferiert und gleichzeitig analysiert werden. Dieses Verfahren eignet sich vor allem zur Sichtung großer Mengen an Gewebematerial [57, 90, 101].

Die Proben der AVM-Patienten waren durch das Neuropathologische Institut in üblicher Weise in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet worden. Zur Herstellung der TMAs wurde das Arraymold kit E (Riverton, UT, USA), verwendet. Zunächst wurden die histologisch relevanten Stellen im Rahmen einer mikroskopischen Sichtung (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) auf jedem Paraffinblock markiert. Im Anschluss wurden an den markierten Stellen 3mm große Gewebezylinder (Cores) aus den Spenderblöcken entnommen. Diese wurden auf leere Empfängerblöcke transferiert und in 2µm dünne Gewebeschnitte geschnitten.

Für die Markierung mit CEACAM1-Antikörpern wurden die Schnitte im nächsten Schritt entparaffiniert. Dazu wurden die Schnitte nach festgelegtem Protokoll (2 x für 10 min mit Xylol, 3 x für 5 min mit 100 %igem Isopropanol, 1 x 5 min mit 70 %igem Isopropanol) gewaschen und abschließend 2 x 5 min in destilliertem Wasser rehydriert, um Lösungsmittelreste zu entfernen. Die Antigen-Freilegung erfolgte mithilfe des laboreigenen *heat-induced antigen retrieval* (HIER)-Protokolls. Hierzu wurden die Schnitte mit Zitratpuffer (Thermo Scientific, Fremont, CA, USA; pH 6,0) behandelt und über Nacht mit 1,6 µg / ml CEACAM1 *mouse-antihuman* Antikörpern (clone C5-1x) [84] bei 4°C inkubiert. Die folgenden Färbeschritte wurden unter Verwendung des *Ultra Vision™ LP Detection Systems* nach Herstelleranweisung der Firma Thermo Scientific durchgeführt. Die Zellkerne wurden mit Hematoxylin (Carl Roth, Karlsruhe, Germany) gefärbt und die TMAs mit einem alkoholischen Eindeckmittel (Mountex® Medite, Burgdorf, Germany) vollständig überzogen. **Abb. 8** stellt einen solchen Arbeitsablauf schematisch dar.

Um zu überprüfen, dass die CEACAM1- positiv markierten Zellen tatsächlich Neutrophile sind, erfolgte eine Standardfärbung mit Myeloperoxidase (MPO) als Marker für Neutrophile Granulozyten in einem weiteren Satz von TMAs vgl. **Abb. 9** [42, 76]. Darüber hinaus erfolgte eine weitere Färbung gegen *Cluster of differentiation 31* (CD31) als Endothelzellmarker [3], so konnten die CEACAM1-positiven Immunzellen im Parenchym von denen am Endothel differenziert werden vgl. **Abb. 10**.

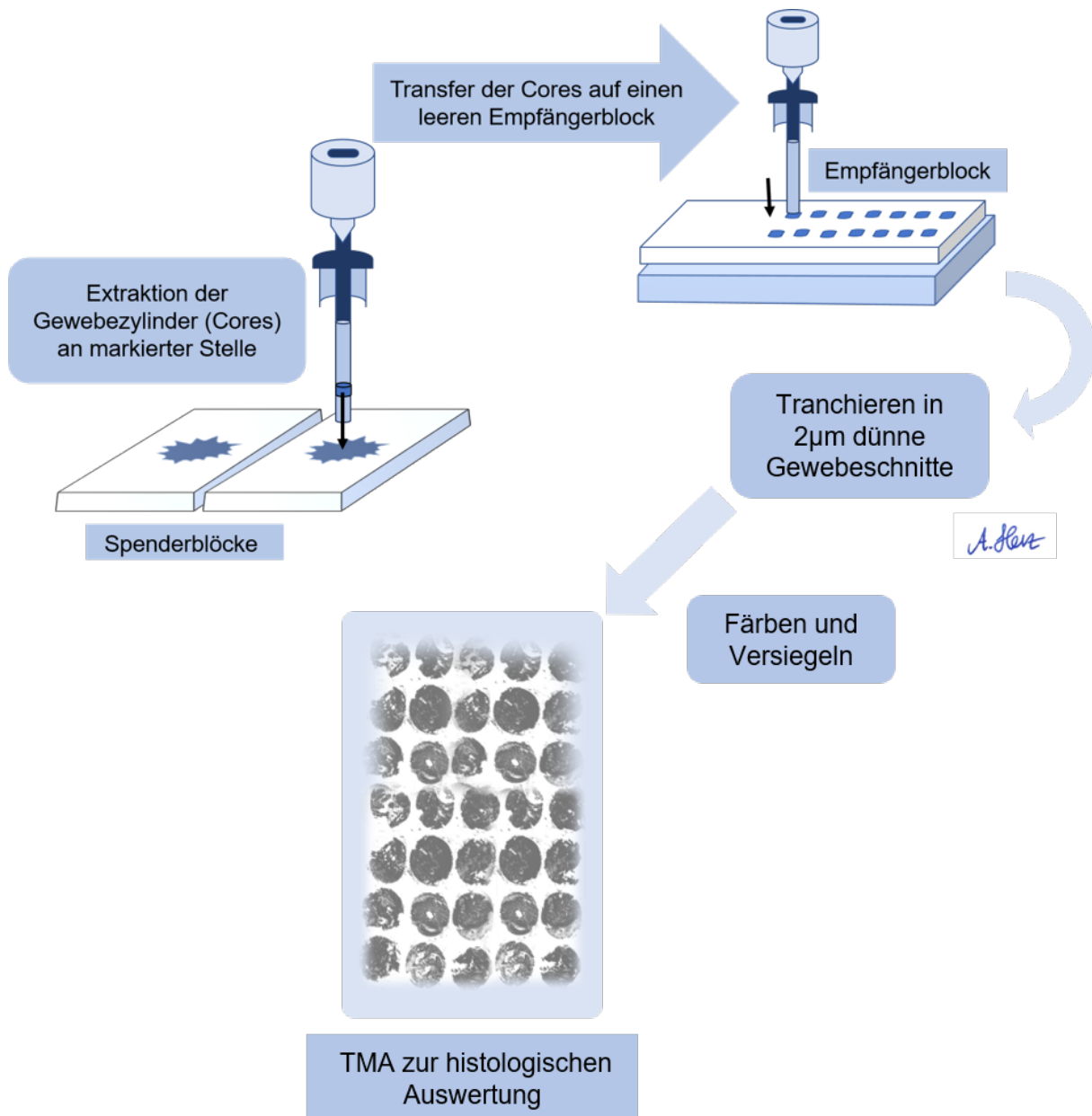


Abb. 8: Arbeitsschema: Anfertigung von TMAs zur Identifikation von Gewebemarkern.

Beide Färbungen erfolgten vollautomatisch im *Dako Omnis*[™] Färbeautomaten (Dako AS Instruments, Glostrup, Denmark) nach Herstellerprotokoll mit den herstellereignenen Reagenzien: Im ersten Schritt erfolgte die Entparaffinierung der Gewebeschnitte mit dem Lösungsmittel *Clearify*[™] *Clearing Agent*, anschließend die Rehydratation mit destilliertem Wasser vgl. **Tab. 4**. Die Antigen-Freilegung erfolgte nach HIER-Vorbehandlung mit *EnVision*[™] *FLEX Target Retrieval Solution High pH* 1 x 30 min bei 97°C. Für die Färbungen wurden die herstellereignenen *ready-to-use FLEX polyclonal rabbit-antihuman* MPO-Antikörper bzw. *FLEX monoclonal mouse-antihuman* CD31-Antikörper (Dako Denmark A / S, Glostrup, Denmark) verwendet. Die genauen Färbeprotokolle sind **Tab. 5 und 6** zu entnehmen.

Tab. 4: Gewebepreparation und Entparaffinierung

2-Phasen Wachsentfernung				
Reagenz	Medium	Temperatur	Inkubation	Zyklen
Clearify™ Clearing Agent (Lösungsmittel)	Aqua dest.	25°C	10 s oben 1 min unten	1
Aqua dest.			5 s	1
Demaskierung				
EnV Flex TRS, High pH	Aqua dest.	97°C	30 min	1

Tab 5: Färbeprotokoll Myeloperoxidase (MPO)

		Inkubation	Zyklen
Waschen	Wash Buffer	2:40 min	2
Prim. Antikörper	MPO	20 min	
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
Endogen. Enzymblock	EnVision™ Flex Peroxidase Blocking Reagent	3 min	1
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
Markiertes Polymer	EnVision™ Flex / HRP	20 min	1
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
	Wash Buffer	2 min	10
	Aqua dest.	31 s	1
	Wash Buffer	2 min	10
Substrat-Chromogen	EnVision™ FLEX, High pH	5 min	1
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
	Aqua dest.	31 s	1
	Wash Buffer	2min	10
Gegenfärbung	Hematoxylin	3 min	1
Waschen	Aqua dest.	2 min	10
	Wash Buffer	2 min	10

Tab 6: Färbeprotokoll *Cluster of differentiation 31 (CD31)*

		Inkubation	Zyklen
Waschen	Wash Buffer	2:40 min	2
Prim. Antikörper	CD31	10 min	
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
Endogen. Enzymblock	EnVision™ Flex Peroxidase Blocking Reagent	3 min	1
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
Sek. Reagenz	EnVision™ Flex + mouse LINKER	10 min	1
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
Markiertes Polymer	EnVision™ FLEX / HRP	5 min	1
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
	Wash Buffer	2 min	10
	Aqua dest.	31 s	1
	Wash Buffer	2min	10
Substrat-Chromogen	EnVision™ FLEX, High pH	5 min	1
Waschen	Wash Buffer	2 min	10
	Aqua dest.	31 s	1
	Wash Buffer	2min	10
Gegenfärbung	Hematoxylin	3 min	1
Waschen	Aqua dest.	2 min	10
	Wash Buffer	2 min	10

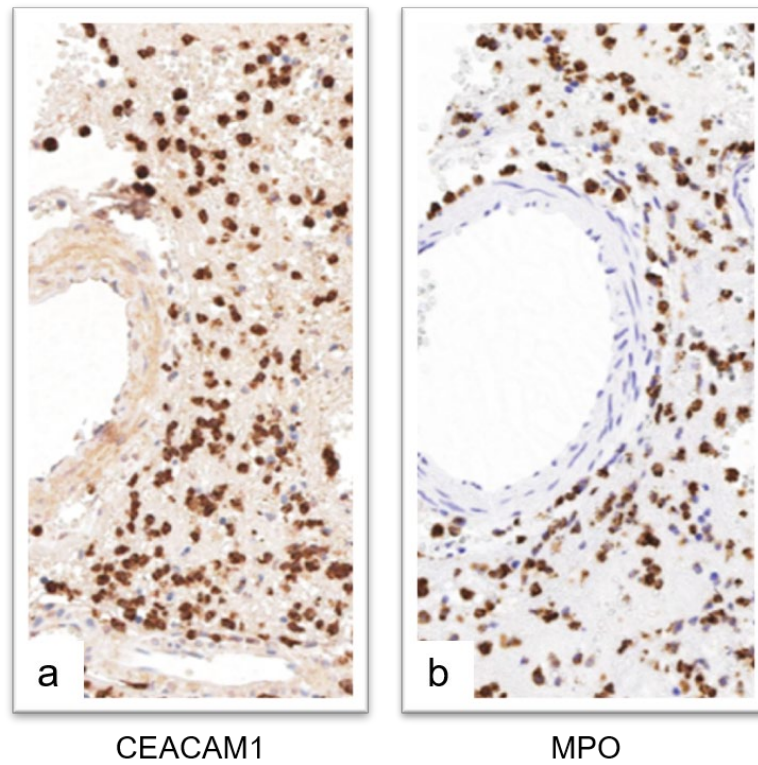


Abb. 9: Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) (a) und Myeloperoxidase (MPO) -Expression (b) in äquivalenten Gewebeschnitten eines Patienten mit Arteriovenöser Malformation (AVM); 20-fache Vergrößerung.

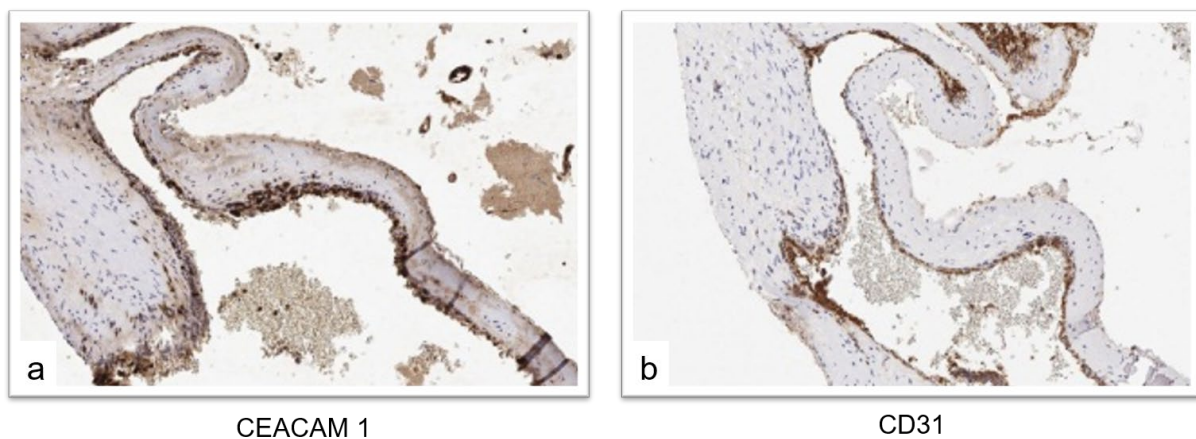


Abb. 10: Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) (a) und Cluster of differentiation 31 (CD31) -Expression (b) am Endothel; 10-fache Vergrößerung.

Mit Hilfe eines hochauflösenden Scanners der Firma Aperio (AT2) wurden die angefertigten TMAs digitalisiert. Die digitalen Aufnahmen wurden mit der *Aperio Image Scope Software* (Leica Biosystems, Nussloch, Germany) bearbeitet und im finalen Schritt verblindet von vier unabhängigen Untersuchern histologisch bewertet. **Abb. 11** zeigt eine solche digitalisierte Aufnahme der hier verwendeten TMA.

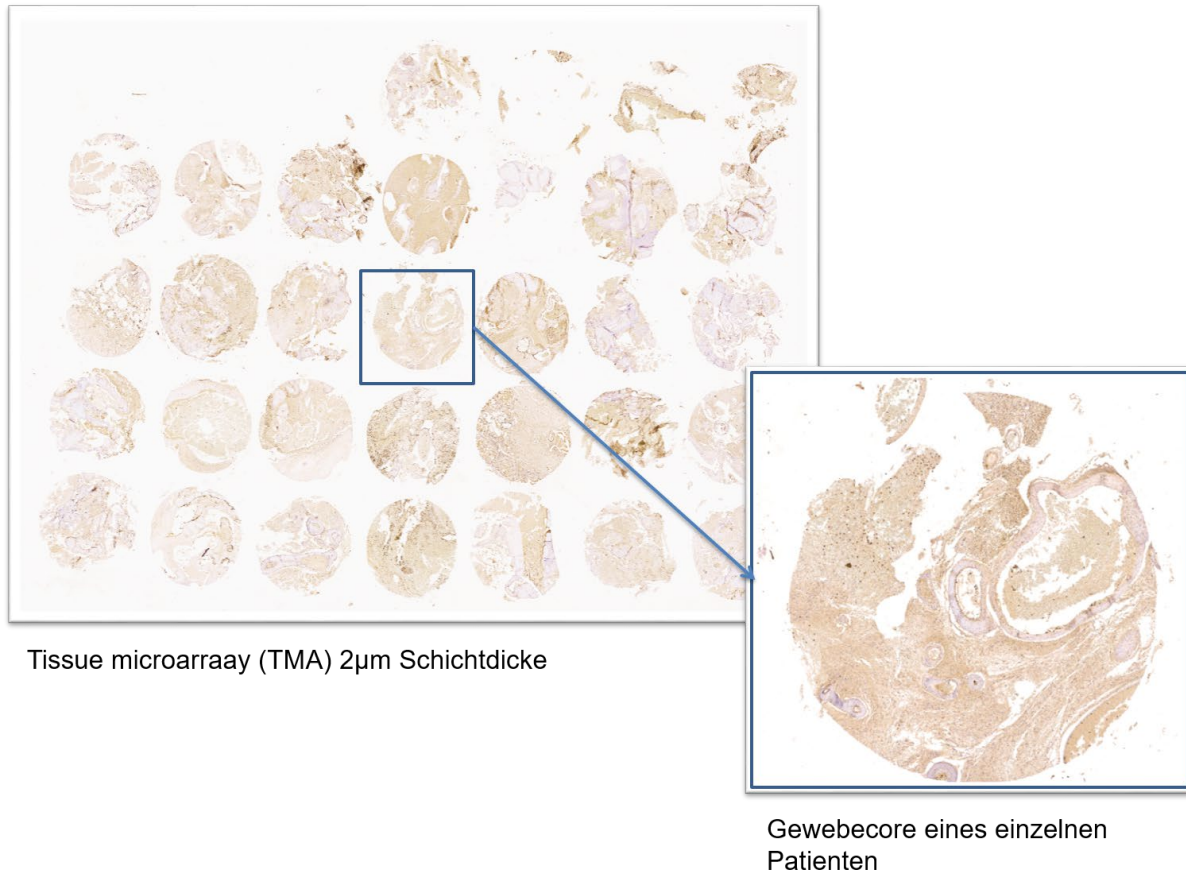


Abb. 11: *Tissue-microarray (TMA)* mit mehreren Gewebecores von AVM-Resektaten.

2.3 CEACAM1 in cerebralen AVM: Expression & Scoring

Das Ausmaß der Zellinfiltration bzw. die Dichte der CEACAM1-positiven Immunzellen (CEACAM1 immune infiltration, Immuninfiltration) wurde durch ein bereits etabliertes Scoringmodell, die *Immunoreactive-score* (IRS) Methode, bewertet [78, 119]. Entsprechend der CEACAM1-Expression bzw. der Ausprägung einer Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen erfolgte die Einteilung der Proben in: negativ, schwach, mittel und stark infiltriert vgl. **Abb. 12**. Für die endgültige statistische Analyse wurden Gruppen gebildet. Dabei wurden die Gruppen negativ und schwach als „schwache Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen“ bezeichnet, die Gruppen mittel und stark wurden als „starke Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen“ zusammengefasst.

Analog zur Einteilung bei CEACAM1 erfolgte auch für die MPO-Färbung eine abgestufte Einteilung in starke und schwache Infiltration mit MPO-positiven Zellen gemäß **Abb. 13**.

Im Folgenden wird die Bezeichnung „Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen“ auch als „parenchymale Infiltration“ abgekürzt.

Entsprechend wurde das Ausmaß der Adhäsion CEACAM1-positiver Immunzellen am Gefäßendothel in die Gruppen „negativ“ und „positiv“ eingeteilt, siehe dazu **Abb. 14**. Der Begriff „Ausmaß der Adhäsion CEACAM1-positiver Immunzellen am Gefäßendothel“ wird im weiteren Text auch als „endovasale Immunadhäsion“ abgekürzt.

Die CEACAM1-Expression im Endothel wurde zunächst als prozentualer Anteil (Anzahl der CEACAM1-positiven Gefäßanschnitte / Gesamtanzahl aller Gefäßanschnitte im Gewebeschnitt x 100) berechnet. Die ermittelten Werte wurden gemäß der *Median-split* Methode dichotomisiert, d. h. nach dem Medianwert in zwei Teilmengen unterteilt. Eine endotheliale CEACAM1-Expression $\geq 50\%$ wurde als „stark“ und eine Expression $< 50\%$ als „schwach“ klassifiziert. Die Expression von CEACAM1 im Endothel wird im Folgenden vereinfacht auch als „Endothelexpression“ bezeichnet.

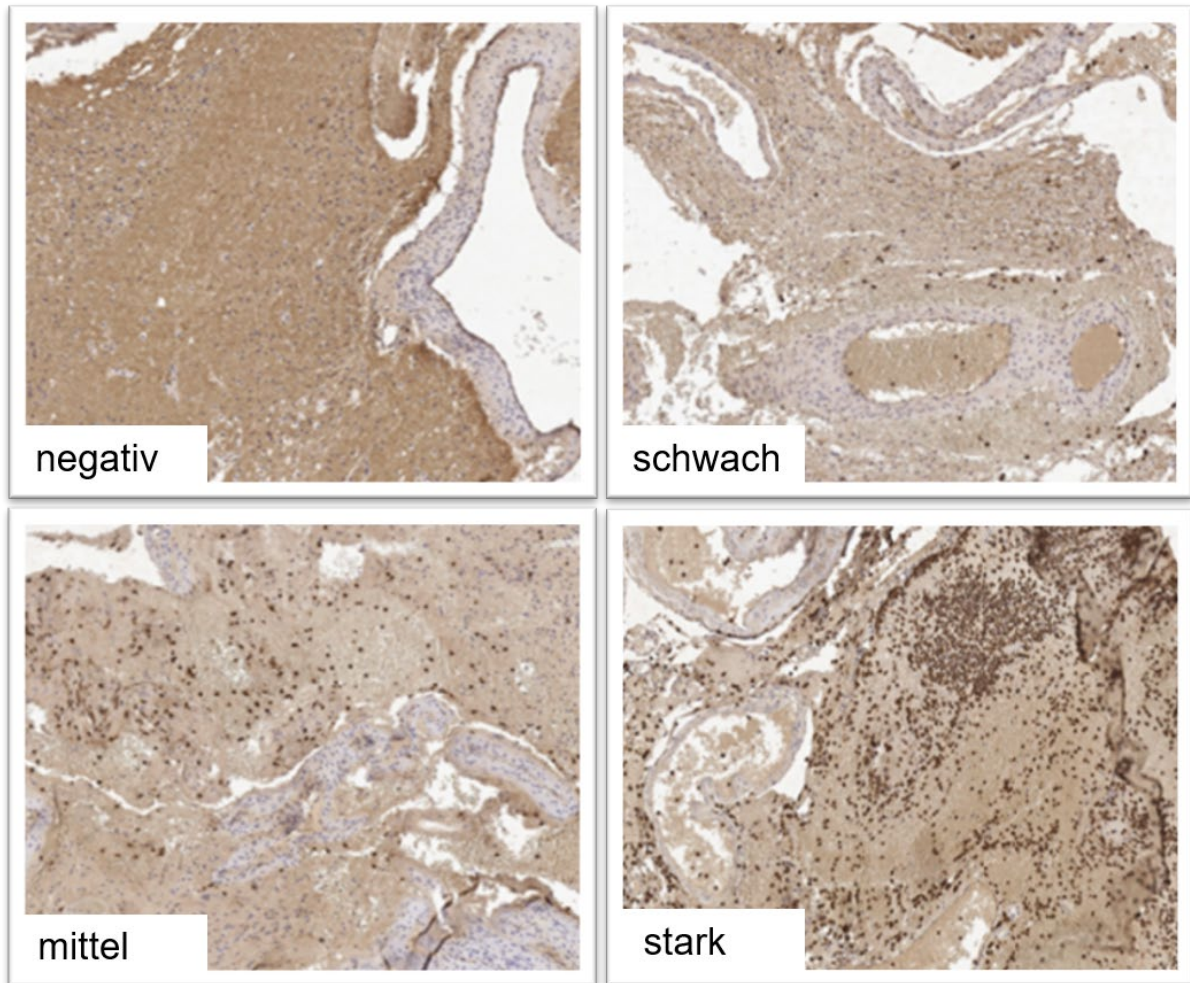


Abb. 12: Parenchymale Immuninfiltration mit *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) -positiven Zellen (*Immunoreactive-score* (IRS) Methode); 10-fache Vergrößerung.

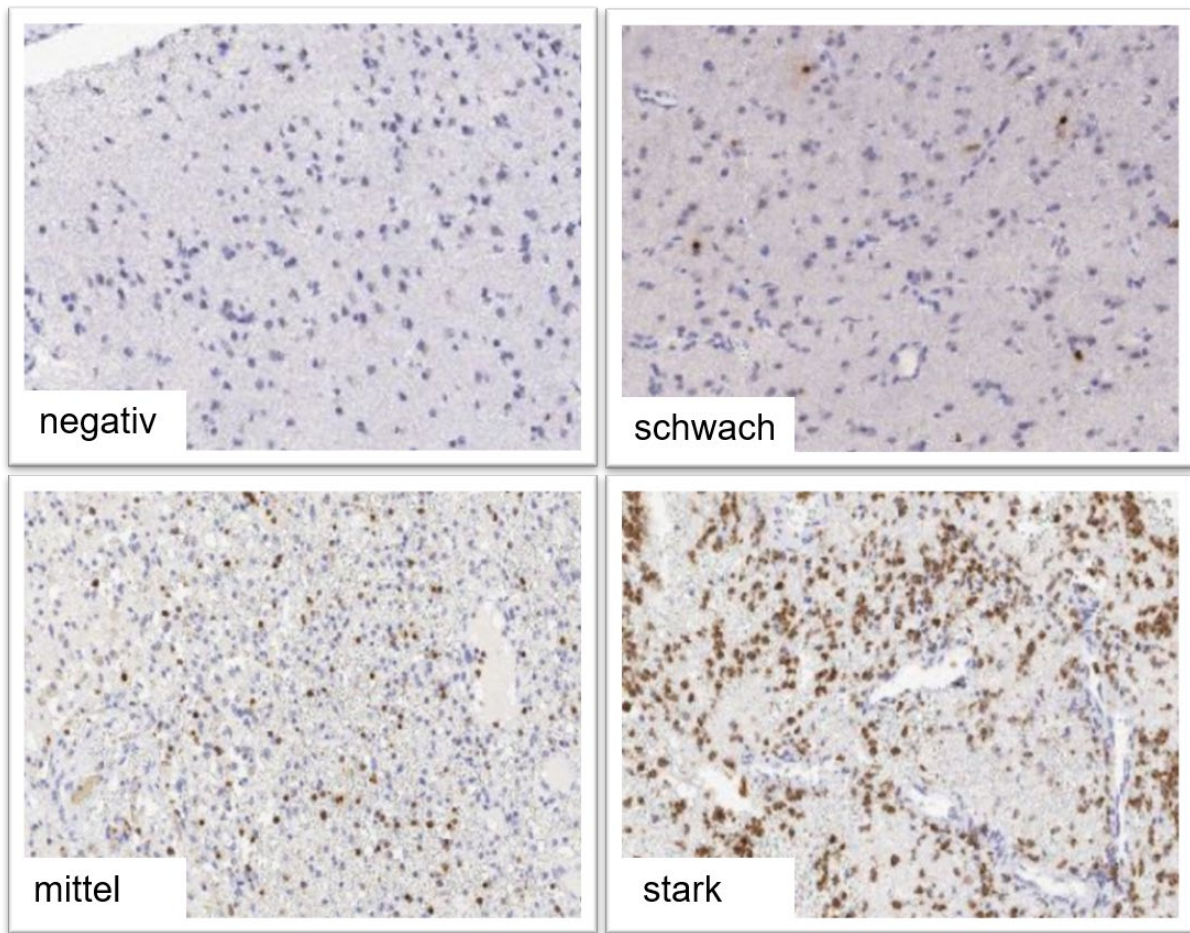


Abb. 13: Parenchymale Immuninfiltration mit Myeloperoxidase (MPO) -positiven Zellen (*Immunoreactive-score* (IRS) Methode); 15-fache Vergrößerung.

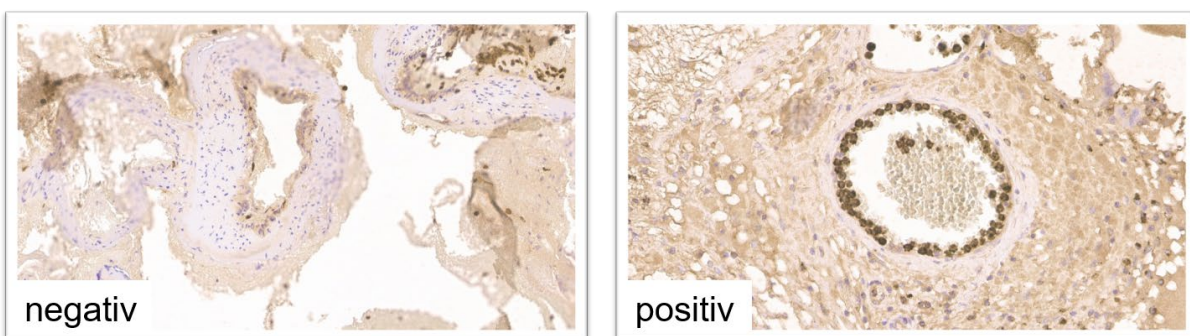


Abb. 14: Endovasale Immunadhäsion mit *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) -positiven Immunzellen am Endothel; 10-fache Vergrößerung.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Datenanalyse erfolgte mit der Software SPSS 26.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Um eine Korrelation zwischen der Infiltration mit MPO-positiven Zellen und der Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen zu ermitteln, wurde zunächst der Spearmans Rangkorrelationskoeffizient ρ berechnet. Je näher ρ an 1 (maximaler positiver Zusammenhang) bzw. -1 (maximaler negativer Zusammenhang) lag, desto stärker war der Zusammenhang bzw. die Korrelation. Für $\rho = 0$ lag kein Zusammenhang / keine Korrelation vor. Das Signifikanzniveau wurde in allen Analysen mit $p \leq 0,05$ festgelegt.

Die Interpretation des ermittelten Rangkorrelationskoeffizienten ρ erfolgte gemäß **Tab. 7** [121].

Tab. 7: Einteilung d. Rangkorrelationskoeffizienten

Rangkorrelationskoeffizient (ρ)	Korrelationsstärke
$0,0 < \rho \leq 0,2$	Keine bis sehr geringe Korrelation
$0,2 < \rho \leq 0,5$	Geringe / schwache Korrelation
$0,5 < \rho \leq 0,7$	Mittlere / moderate Korrelation
$0,7 < \rho \leq 0,9$	Hohe / starke Korrelation
$0,9 < \rho \leq 1$	Sehr hohe (perfekte) Korrelation

Im nächsten Schritt wurden die Scoring-Ergebnisse der CEACAM1 Infiltration bzw. Expression mit den klinischen Parametern aus der Datenbank ins Verhältnis gesetzt und auf eine mögliche Korrelation hin untersucht.

Dazu wurden die Patienten in sechs Altersklassen (0-15 Jahre, 16-30 Jahre, 31-45 Jahre, 46-60 Jahre, 61-75 Jahre, ≥ 76 Jahre) eingeteilt. Im Folgenden beziehen sich Ausführungen hinsichtlich des Patientenalters daher stets auf die o.g. Einteilung in Altersklassen.

Im Falle einer vorhandenen Korrelation wurde anschließend eine binominale logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Die CEACAM1-Expression wurde dabei als abhängige Variante definiert, während die klinischen Parameter als unabhängige Variable dienten.

Für die Kriterien Alter, Epilepsie, AVM-Größe, Embolisation und Blutung wurde ein geschlechtsspezifischer Rangkorrelationskoeffizient ρ nach Spearman ermittelt. Ebenfalls wurde das Zeitintervall zwischen stattgehabter Blutung und Operation (BOP = „Blutung bis OP“) bestimmt. Der Blutungszeitpunkt wurde durch folgende Kriterien festgelegt: Akutes Auftreten klinischer Beschwerden, Manifestation durch neue neurologische Defizite und

entsprechende Veränderungen in der bildgebenden Diagnostik. Die Werte wurden dichotomisiert und als „BOP-kurz“ (1-4 Tage) und „BOP-lang“ (5-120 Tage) bezeichnet.

Die einzelnen CEACAM1-positiven Gruppen wurden in Kreuztabellen und Chi-Quadrat-Untersuchungen verglichen. Bei zu erwartenden Häufigkeiten < 5 in mehr als 20 % der Zellen, wurde der Exakte Fisher-Test verwendet.

Der prädiktive Wert einer CEACAM1-positiven parenchymalen Immuninfiltration für ein Blutungsereignis wurde im Rahmen multivarianter Regressionsanalysen untersucht. Dabei wurde als abhängige Variable das Blutungsereignis verwendet, während die unabhängige Variable die Immuninfiltration darstellte. In zwei weiteren Regressionsanalysen wurde der Effekt der endovasalen Immunadhäsion sowie der CEACAM1-Endothelexpression auf das Auftreten einer ICB hin untersucht. Alle Werte $p \leq 0,05$ wurden als signifikant angesehen.

2.5 Ethikvotum

Für diese Studie wurde ein Ethikvotum (Nr. 2506-2014) der zuständigen Ethikkommission der Medizinischen Hochschule Hannover eingeholt.

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Patientendaten

Im Zeitraum von 1995 bis 2014 wurden in der Neurochirurgischen Klinik des Nordstadt Krankenhauses in Hannover insgesamt 86 Patienten an einer cerebralen AVM operativ behandelt. 58 von ihnen konnten in die vorliegende Studie eingeschlossen werden. Die übrigen 28 Patienten wurden aufgrund relevanter Lücken in der Patientenakte und / oder fehlender Operationspräparate ausgeschlossen.

Mit 30 Männern und 28 Frauen war die Geschlechterverteilung nahezu ausgewogen. Das mediane Alter lag bei 36 Jahren bezogen auf die Gesamtkohorte (Standardabweichung 17Jahre). **Abb. 15** und **16** zeigen die genaue Altersverteilung bzw. die Altersverteilung der Sub- und Geschlechtsgruppen. Die meisten Patienten waren zum Behandlungszeitpunkt zwischen 31 und 45 Jahre alt.

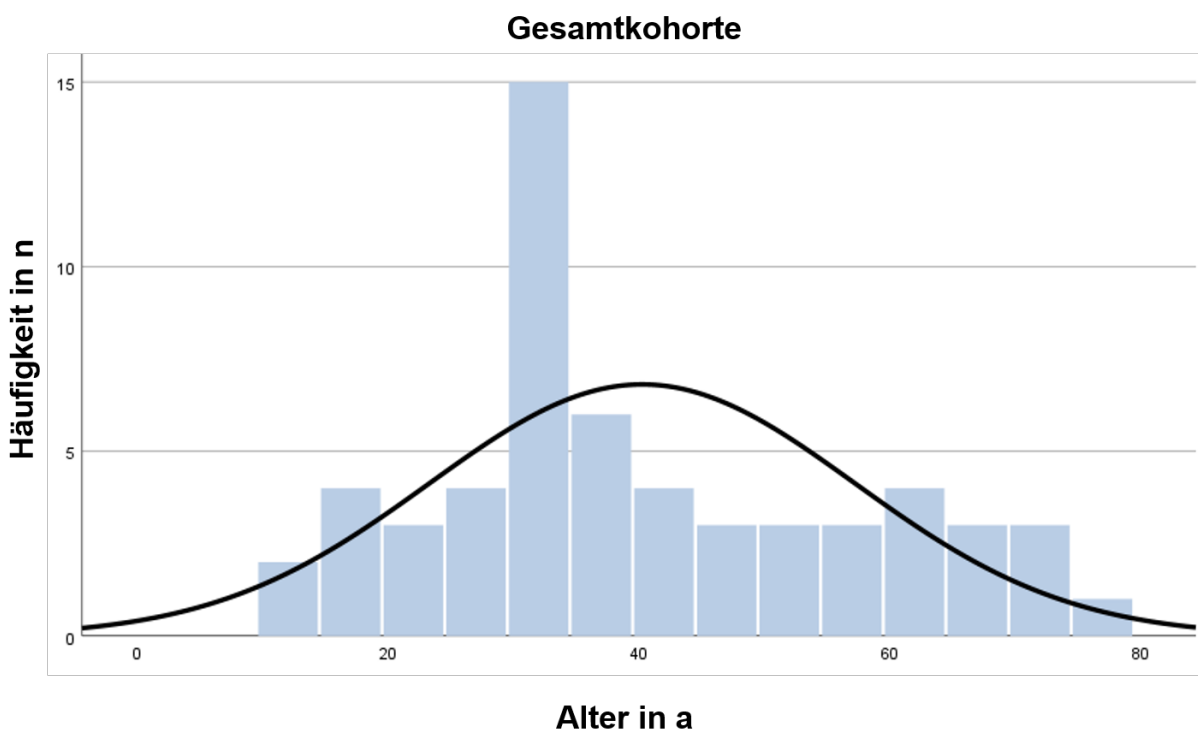


Abb. 15: Altersverteilung der Gesamtkohorte, geordnet nach Altersklassen.

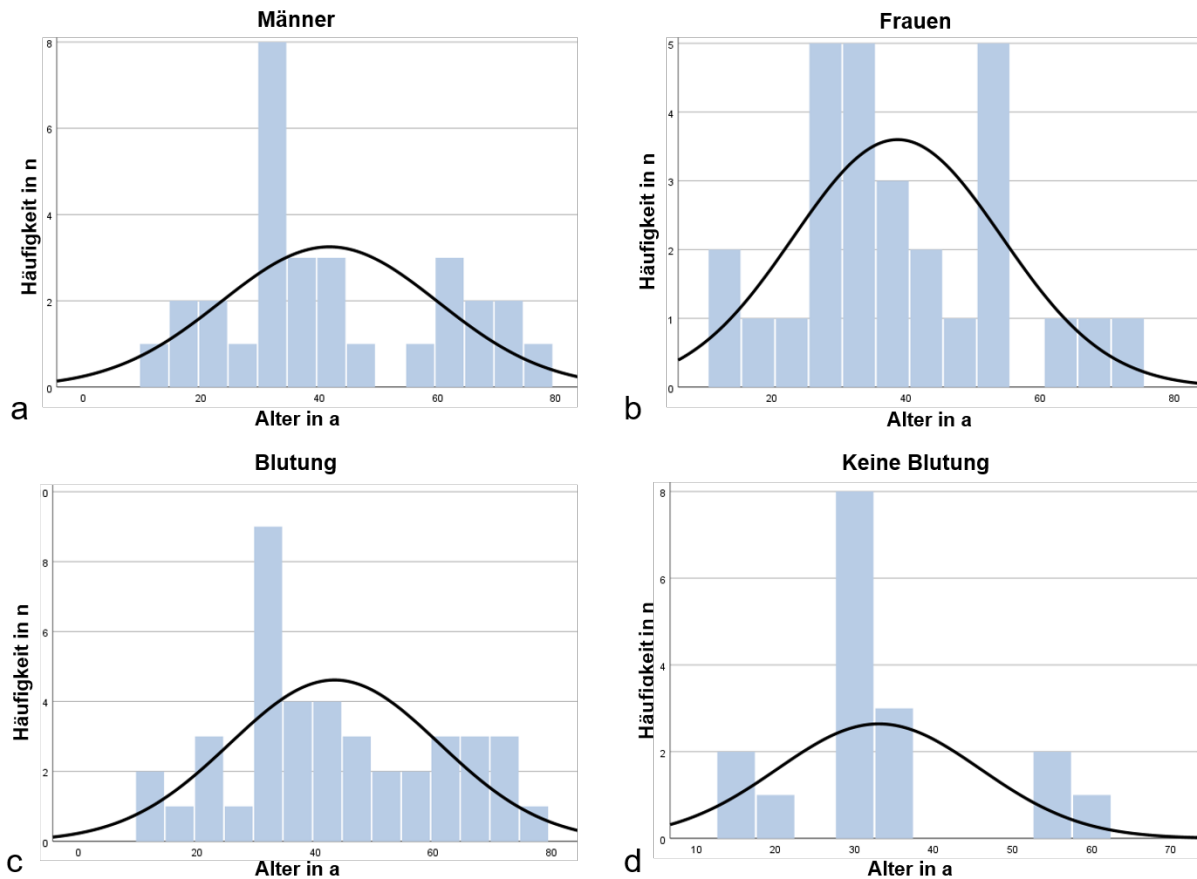


Abb. 16: Altersverteilung geordnet nach Subgruppen: (a) Männer, (b) Frauen, (c) Patienten mit Blutung und (d) Patienten ohne Blutung.

Die Verteilung gemäß Altersklassen in Abhängigkeit von Geschlecht und Blutungsanamnese wird in **Tab. 7** deutlich. Alle weiteren, von uns erhobenen, klinischen Patientendaten sind in **Tab. 8** zusammengefasst.

Tab. 7: Verteilung gemäß Altersklassen, Geschlecht und Blutungsanamnese

Altersklasse	Alter	Häufigkeit n (%)				
		gesamt	Männer	Frauen	Blutung	keine Blutung
		58 (100)	30 (100)	28 (100)	41 (100)	17 (100)
1	0-15 J.	3 (5)	1 (3)	2 (7)	2 (4)	1 (6)
2	16-30 J.	15 (26)	8 (27)	7 (25)	8 (20)	7 (41)
3	31-45 J.	21 (37)	11 (37)	10 (36)	15 (37)	6 (35)
4	46-60 J.	9 (15)	3 (10)	6 (21)	7 (17)	2 (12)
5	61-75 J.	9 (15)	6 (20)	3 (11)	8 (20)	1 (6)
6	Ab 76 J.	1 (2)	1 (3)	0	1 (2)	0

Tab. 8: Klinische Patientendaten

	gesamt	Männer	Frauen
gesamt	n (%)	n (%)	n (%)
	58 (100)	30 (52)	28 (48)
Lokalisation			
infratentoriell	5 (9)	4 (13)	1 (4)
supratentoriell	53 (91)	26 (87)	27 (96)
AVM Größe			
< 30mm	37 (64)	20 (67)	17 (61)
30-60mm	21 (36)	10 (33)	11 (39)
Embolisation			
ja	8 (14)	4 (13)	4 (14)
nein	50 (86)	26 (87)	24 (86)
Spetzler-Martin-Grad (n = 55)			
I	18 (33)	11 (41)	7 (25)
II	15 (27)	8 (30)	7 (25)
III	18 (33)	6 (22)	12 (43)
IV	4 (7)	2 (7)	2 (7)
V	0	0	0
n.a.	3	3	0
Blutung			
ja	41 (71)	21 (70)	20 (71)
nein	17 (29)	9 (30)	8 (29)
Epilepsie			
ja	17 (29)	10 (33)	7 (25)
Nein	41 (71)	20 (67)	21 (75)
präop. mRS			
0-2	22 (38)	12 (40)	10 (36)
3	6 (10)	1 (3)	5 (18)
4-6	30 (52)	17 (57)	13 (46)
postop. mRS			
0-2	35 (60)	17 (57)	19 (68)
3	8 (14)	3 (10)	4 (14)
4-6	15 (26)	10 (33)	5 (18)

AVM = Arteriovenöse Malformation; n.a. = nicht angegeben; präop. mRS = präoperativer *Modified-Rankin-Scale* (mRS) Wert; postop. mRS = postoperativer *Modified-Rankin-Scale* (mRS) Wert

Hinsichtlich des Geschlechts zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, 21 männliche und 20 weibliche Patienten waren in der Blutungsgruppe vertreten. In der Gruppe nicht gebluteter AVMs zeigte sich ebenfalls ein nahezu ausgewogenes Geschlechterverhältnis. In der Gruppe gebluteter AVMs waren 51 % zwischen 30 und 60 Jahre alt. 90% der Patienten, die älter als 61 Jahre waren, erlitten eine AVM-Blutung.

Die meisten AVMs waren supratentoriell (91 %) lokalisiert mit einer Präferenz für den Frontallappen (31 %). Die Verteilung der exakten Lokalisationen kann **Abb. 17** entnommen werden. Mit 64 % waren Läsionen < 30 mm in dieser Studie anteilig häufiger vertreten. Die mediane AVM-Größe lag bei 20mm (Standardabweichung 13,2 mm). Bei drei Patienten konnte der SM-Grad retrospektiv nicht ermittelt werden, da aufgrund der Notfallsituation bei Aufnahme der Patienten keine DSA durchgeführt wurde, bzw. die Aussagekraft der CTA nicht ausreichend war. Mit 33 % war der Anteil an SM-Grad I- und III-Läsionen am Gesamtkollektiv identisch. Keine AVM erfüllte die Kriterien für einen SM-Grad V.

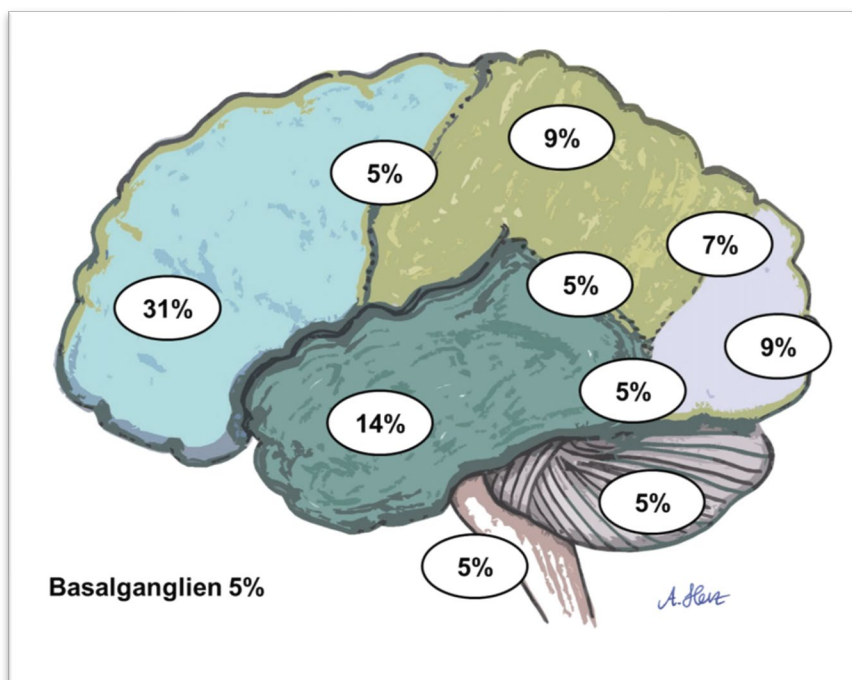


Abb. 17: Exakte Lokalisation der Arteriovenösen Malformation (AVM) im Gesamtkollektiv (n = 58)

Bei Männern war der Anteil an SM-Grad I-Läsionen mit 41 % am größten, während bei weiblichen Patientinnen SM-Grad III-Angiome mit 43 % dominierten vgl. **Abb. 18**. 41 der 58 Patienten hatten eine ICB (71 %). Darunter waren SM-Grad I-Angiome mit 40 % am häufigsten vertreten. Die Anteile der Grad II- und III- Angiome waren mit 29 und 26 % vergleichbar groß. In der Gruppe nicht gebluteter Angiome überwog der Anteil von SM-Grad III-Läsionen mit 47 % vgl. **Abb. 19**. Die Relation weiterer klinischer Parameter zur Blutungsanamnese zeigt **Tab. 9**.

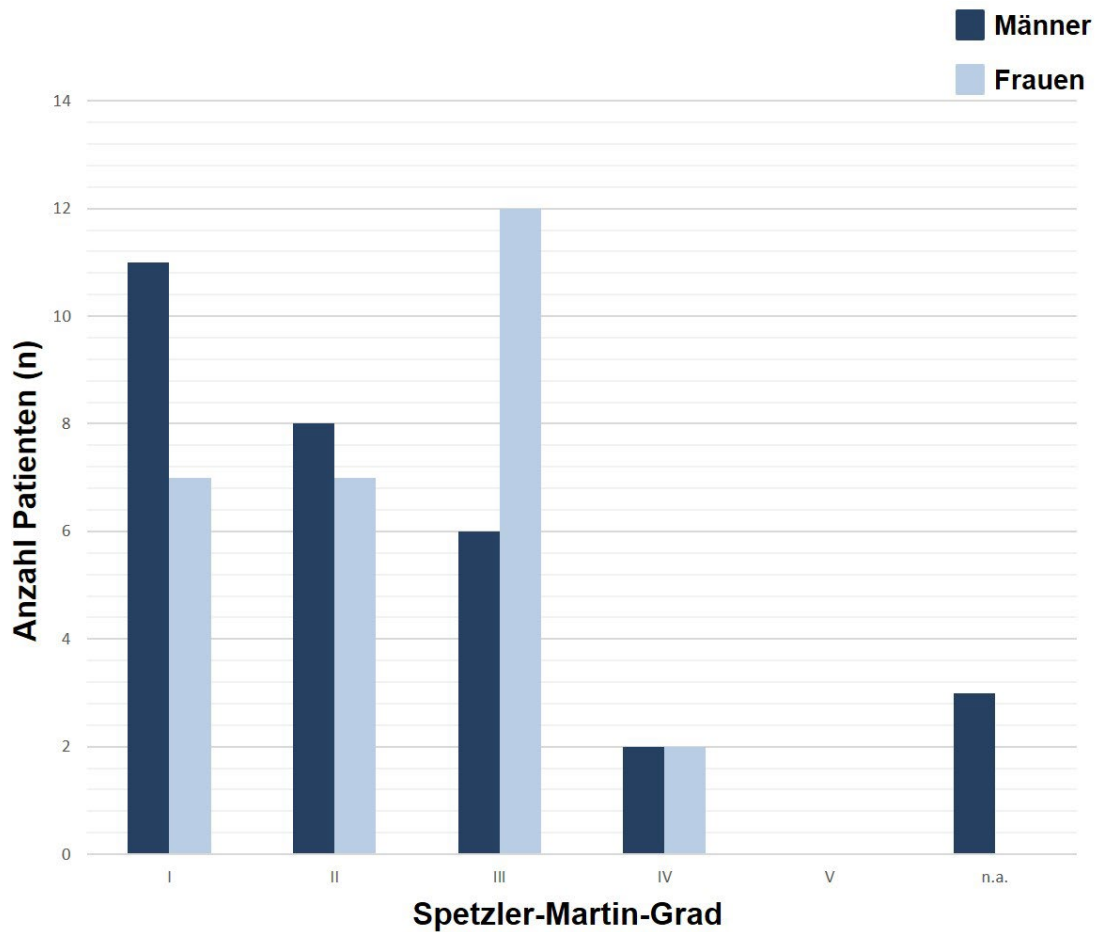


Abb. 18: Spetzler-Martin-Grad in den Geschlechtsgruppen (n=58)

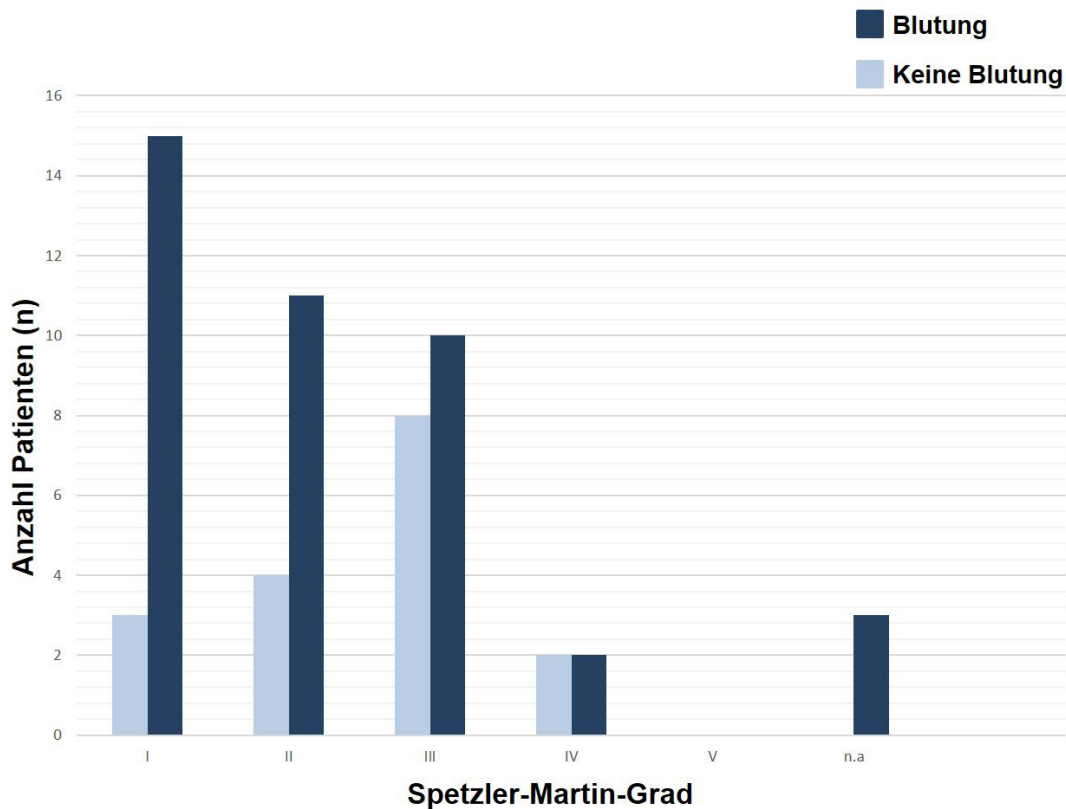


Abb. 19: Spetzler-Martin-Grad in Abhängigkeit von der Blutungsanamnese (n=58)

Tab. 9: Klinische Patientendaten und Blutungsanamnese

Parameter	Blutung	
	ja n = 41 n (%)	nein n = 17 n (%)
AVM-Größe		
< 30mm	30 (73)	7 (42)
30-60mm	11 (27)	10 (58)
Embolisation		
ja	3 (7)	5 (29)
Nein	38 (93)	12 (71)
Epilepsie		
ja	8 (20)	9 (53)
Nein	33 (80)	8 (47)
präop. mRS		
0-2	6 (15)	16 (94)
3	6 (15)	0
4-6	29 (70)	1(6)

AVM = Arteriovenöse Malformation; präop. mRS = präoperativer *Modified-Rankin-Scale* (mRS) Wert

Insgesamt acht Patienten wurden präoperativ embolisiert, drei von ihnen fielen zuvor klinisch mit einer ICB auf. Somit machten embolisierte Patienten nur einen geringen Anteil (14 %) des Patientenkollektivs aus.

52 % der Gesamtkohorte zeigten einen präoperativen mRS von 4-6 und waren somit höhergradig beeinträchtigt, in der Gruppe mit ICB lag der Anteil mit 70 % noch einmal deutlich höher. Auch postoperativ wurde der mRS Score ermittelt, konnte jedoch aufgrund der extremen Heterogenität der Zeitintervalle für die weitere Auswertung nicht berücksichtigt werden.

3.2 MPO- und CEACAM1-Expression bzw. Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen

Insgesamt 58 TMAs wurden auf die Expression von CEACAM1 immunhistochemisch untersucht. Mikroskopisch konnten die Zellen mit starker CEACAM1-Expression anhand ihrer segmentierten Zellkerne und nach erfolgter MPO-Färbung als Neutrophile Granulozyten identifiziert werden. Diese konnten im Parenchym der AVM erkannt werden (parenchymale Immuninfiltration). Davon abzugrenzen war die intravasale Adhäsion CEACAM1-positiver Zellen am Endothel (endovasale Immunadhäsion). Anhand der CD31-Färbung konnte CEACAM1 auch im Endothel nachgewiesen werden. Ein TMA ließ sich aufgrund mangelnder Qualität hinsichtlich der CD31-Färbung nicht auswerten.

Es zeigte sich eine deutliche Korrelation zwischen der Infiltrationsstärke mit MPO-positiven Zellen und CEACAM1-positiven Zellen sowohl in der Gesamtkohorte, als auch in den geschlechtsspezifischen Berechnungen vgl. **Tab. 10**. Daher wurde im Folgenden die Infiltration mit CEACAM1-positiven Immunzellen im Parenchym als Infiltration mit Neutrophilen Granulozyten gleichgesetzt.

Tab. 10: Parenchymale MPO- und CEACAM1-Infiltration, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (*rho*) nach Spearman

Gesamtkollektiv		Männer		Frauen	
p-Wert	rho	p-Wert	rho	p-Wert	rho
< 0,001	0,493	0,009	0,540	0,030	0,426

rho = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

3.3 Parenchymale Immuninfiltration

3.3.1 Parenchymale Immuninfiltration und klinische Parameter

Als schwach signifikant stellte sich für das männliche Geschlecht eine schwache Korrelation zwischen der parenchymalen Immuninfiltration und einer AVM-Blutung ($p = 0,048$; $\rho = 0,364$) heraus. Einen solchen Zusammenhang konnte man für die Gesamtkohorte sowie für das weibliche Kollektiv nicht feststellen. Eine Übersicht der ermittelten Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) nach Spearman gibt **Tab. 11**.

Tab. 11: Parenchymale Immuninfiltration und klinische Parameter, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) nach Spearman

Parameter	Gesamtkohorte		Männer		Frauen	
	p-Wert	ρ	p-Wert	ρ	p-Wert	ρ
Altersklasse	0,674	0,056	0,785	-0,054	0,785	-0,054
Epilepsie	0,553	0,080	0,456	-0,141	0,823	-0,044
AVM Größe	0,708	-0,050	0,456	-0,141	0,713	-0,073
Embolisation	0,320	-0,133	1,000	0,000	0,148	-0,281
Blutung	0,078	0,233	0,048	0,364	0,624	0,097
präop. mRS	0,057	0,252	0,090	0,315	0,389	0,169

AVM = Arteriovenöse Malformation; präop. mRS = präoperativer *Modified-Rankin-Scale* (mRS) Wert; ρ = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

Im Rahmen der multivariaten Regressionsanalyse konnte kein kausaler Effekt der o.g. klinischen Parameter auf die parenchymale Immuninfiltration nachgewiesen werden. Insbesondere im Hinblick auf ein Blutungsereignis ließ sich die parenchymale Immuninfiltration weder in der Gesamtkohorte noch in den Geschlechtsgruppen als Einflussfaktor identifizieren vgl. **Tab 12**. Mit $p = 0,059$ erreichte der Wert in der Gruppe der männlichen Patienten letztlich keine Signifikanz.

Tab. 12: Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der parenchymalen Immuninfiltration und dem Auftreten eines Blutungsereignisses – logistische Regressionsanalyse

		parenchymale Immuninfiltration	
		schwach	stark
Gesamt- kohorte	Odds Ratio	1	3,095
	Konfidenzintervall [95 %]		0,863-11,1
	p-Wert		0,083
Männer	Odds Ratio	1	5,687
	Konfidenzintervall [95 %]		0,939-34,457
	p-Wert		0,059
Frauen	Odds Ratio	1	1,615
	Konfidenzintervall [95 %]		0,255-10,226
	p-Wert		0,610

3.3.2 Parenchymale Immuninfiltration und Blutungsanamnese

49 % der Patienten mit positiver Blutungsanamnese zeigten eine starke parenchymale Immuninfiltration. **Abb. 20** veranschaulicht unter **(a)** die nahezu ausgeglichenen Verhältnisse in der Blutungsgruppe der Gesamtkohorte. In der Gruppe nicht gebluteter AVMs überwog mit 77 % der Anteil mit schwacher Immuninfiltration. Bei 62 % der männlichen Patienten mit stattgehabter AVM-Blutung konnte eine starke Infiltration festgestellt werden **(b)**, bei Frauen lag der prozentuale Anteil mit starker Immuninfiltration nach AVM-Blutung bei nur 35 % **(c)**.

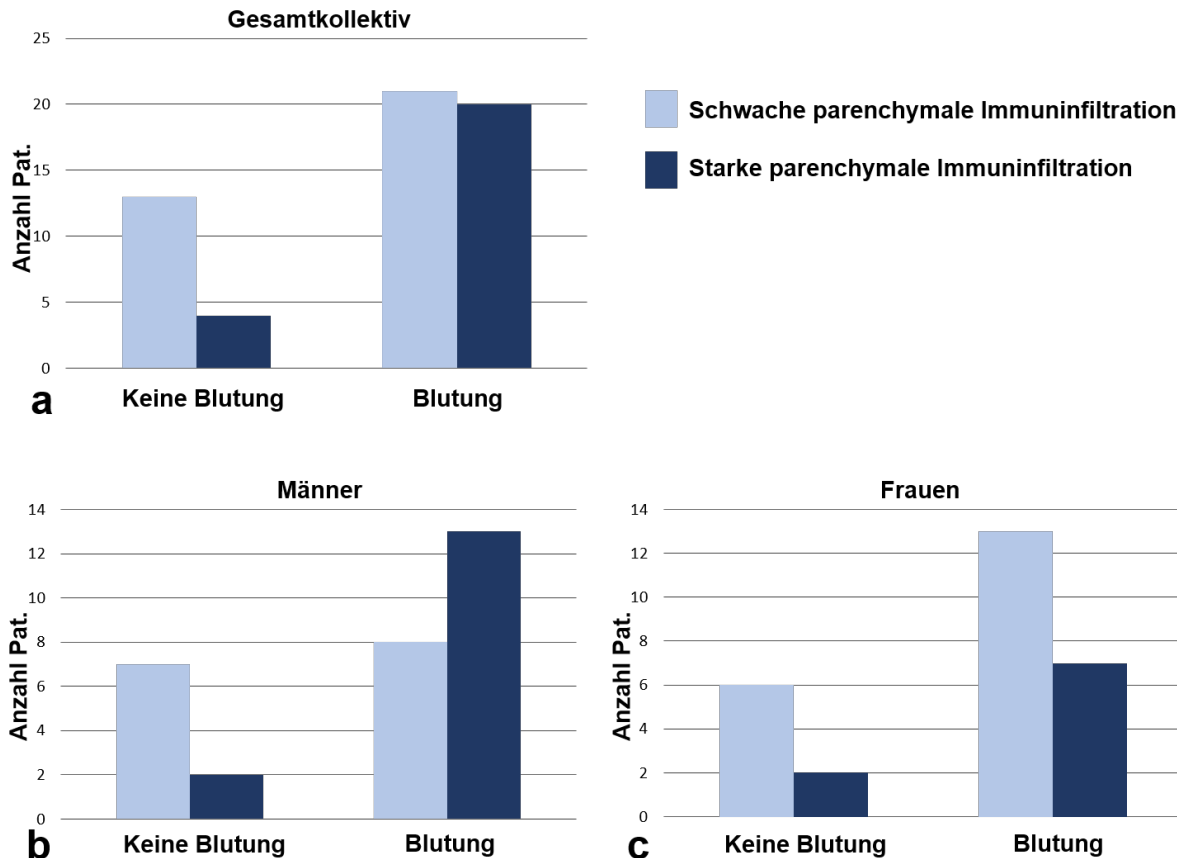


Abb. 20: Zusammenhang zwischen parenchymaler Immuninfiltration und Blutungsanamnese bezogen auf (a) die Gesamtkohorte (n=58), (b) Männer (n= 30) und (c) Frauen (n=28).

3.3.3 Parenchymale Immuninfiltration und Operationszeitpunkt

Betrachtet man das Zeitintervall zwischen stattgehabter Blutung und erfolgter Operation (BOP), zeigten 70 % aller Patienten der BOP-kurz Gruppe eine starke Immuninfiltration des Parenchyms **(a)**. Im Vergleich dazu konnte lediglich bei 29 % der BOP-lang Gruppe eine starke Infiltration mit CEACAM1-positiven Immunzellen festgestellt werden ($p = 0,008$; χ^2 -Test). Bezogen auf die männlichen Patienten zeigten 69 % der BOP-kurz Gruppe und 50 % der BOP-lang-Gruppe eine starke CEACAM1-Infiltration **(b)**. Nur 15 % der Patientinnen in der BOP-lang Gruppe zeigten eine starke Immuninfiltration, während es in der BOP-kurz-Gruppe 71 % waren **(c)**. Dieser Zusammenhang stellte sich als signifikant dar ($p = 0,022$; Exakter Fisher-Test) vgl.

Abb. 21.

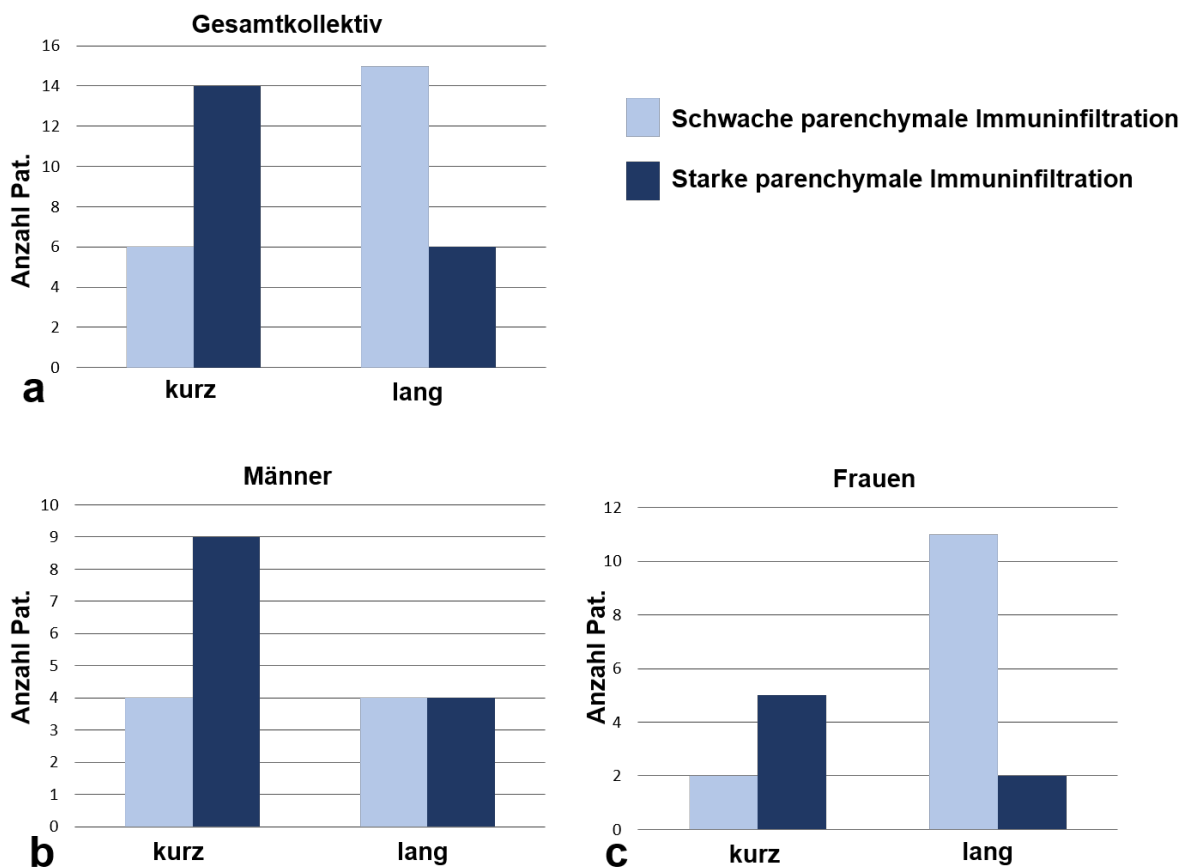


Abb. 21: Zusammenhang zwischen parenchymaler Immuninfiltration und Operationszeitpunkt bezogen auf (a) die Gesamtkohorte gebluteter AVMs (n=41), (b) Männer (n= 21) und (c) Frauen (n=20).

3.4 Endovasale Immunadhäsion

3.4.1 Endovasale Immunadhäsion und klinische Parameter

In der Gesamtkohorte sowie bei Männern konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß der endovasalen Immunadhäsion und den vorliegenden klinischen Parametern gefunden werden. Bei Frauen zeigte sich eine schwache Korrelation zwischen dem Auftreten einer symptomatischen Epilepsie und der Adhäsion CEACAM1-positiver Immunzellen am Endothel ($\rho = -0,397$; $p = 0,036$) vgl. **Tab. 13**. Dieser Zusammenhang stellte sich bei der Berechnung der logistischen Regression als nicht signifikant dar ($p = 0,999$).

Tab. 13: Endovasale Immunadhäsion und klinische Parameter, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) nach Spearman

Parameter	Gesamtkohorte		Männer		Frauen	
	p-Wert	ρ	p-Wert	ρ	p-Wert	ρ
Altersklasse	0,546	-0,082	0,455	-0,144	0,941	-0,015
Epilepsie	0,181	-0,180	0,917	-0,020	0,036	-0,397
AVM Größe	0,681	-0,056	0,917	-0,020	0,624	0,097
Embolisation	0,463	-0,099	0,491	0,133	0,752	-0,062
Blutung	0,457	0,100	0,571	0,110	0,678	0,099
präop. mRS	0,849	-0,026	0,786	-0,053	1,000	0,000

AVM = Arteriovenöse Malformation; präop. mRS = präoperativer *Modified-Rankin-Scale* (mRS) Wert; ρ = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

3.4.2 Endovasale Immunadhäsion und Blutungsanamnese

Im Gesamtkollektiv konnte bei 37 % der Patienten eine endovasale Immunadhäsion nachgewiesen werden **(a)**. In den einzelnen Geschlechtsgruppen konnte eine ähnliche Verteilung ermittelt werden, mit 41 % zeigten Männer jedoch häufiger eine endovasale Immunadhäsion **(b)** als Frauen, deren Anteil bei 32 % lag **(c)**. Bezogen auf die Blutungsanamnese konnten wir keinen relevanten Zusammenhang zwischen der Adhäsion CEACAM1-positiver-Zellen am Endothel und einer Angiomblutung feststellen. Mit 45 % lag der Anteil mit vorhandener endovasaler Adhäsion nach stattgehabter Blutung in der männlichen Gruppe vergleichsweise höher (Frauen 35 %) bei annähernd gleich großen Ausgangskohorten vgl. **Abb. 22**.

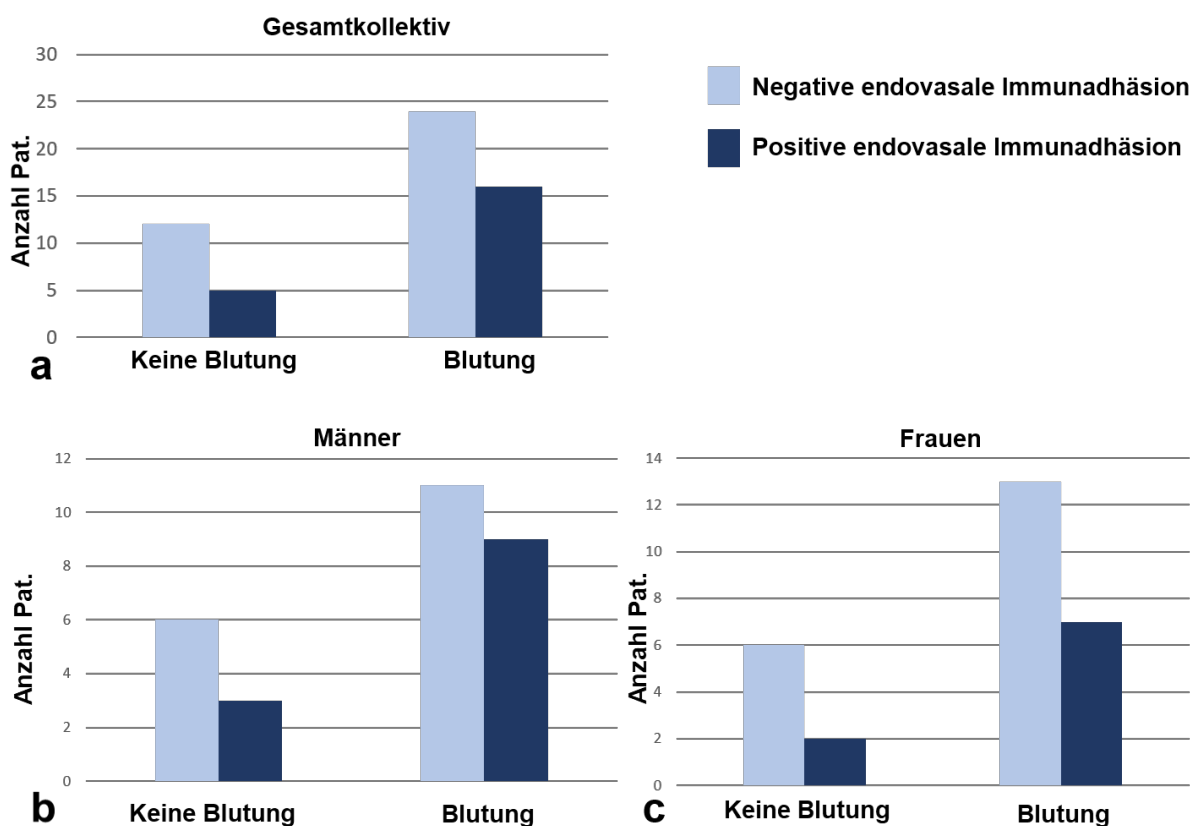


Abb. 22: Zusammenhang zwischen endovasaler Immunadhäsion und Blutungsanamnese bezogen auf (a) die Gesamtkohorte (n=57), (b) Männer (n= 29) und (c) Frauen (n=28).

3.4.3 Endovasale Immunadhäsion und Operationszeitpunkt

Zwischen dem Operationszeitpunkt bzw. BOP-Intervall und der endovasalen Immunadhäsion bestand kein erkennbarer Zusammenhang. Der Anteil der Patienten mit positiver Adhäsion betrug in der Gruppe mit kurzem BOP-Intervall 42 % und in der Gruppe mit langem BOP-Intervall 38 % (a).

Bei männlichen Patienten mit kurzem BOP-Intervall war der Anteil der Patienten mit und ohne endovasale Immunadhäsion mit jeweils 50 % identisch (b). Bei Frauen waren sowohl in der Gruppe mit kurzem BOP-Intervall (29 %) als auch in der Gruppe mit langem BOP-Intervall (38 %) die Patientinnen mit einer endovasalen Immunadhäsion in der Minderheit (c) vgl. **Abb. 23**.

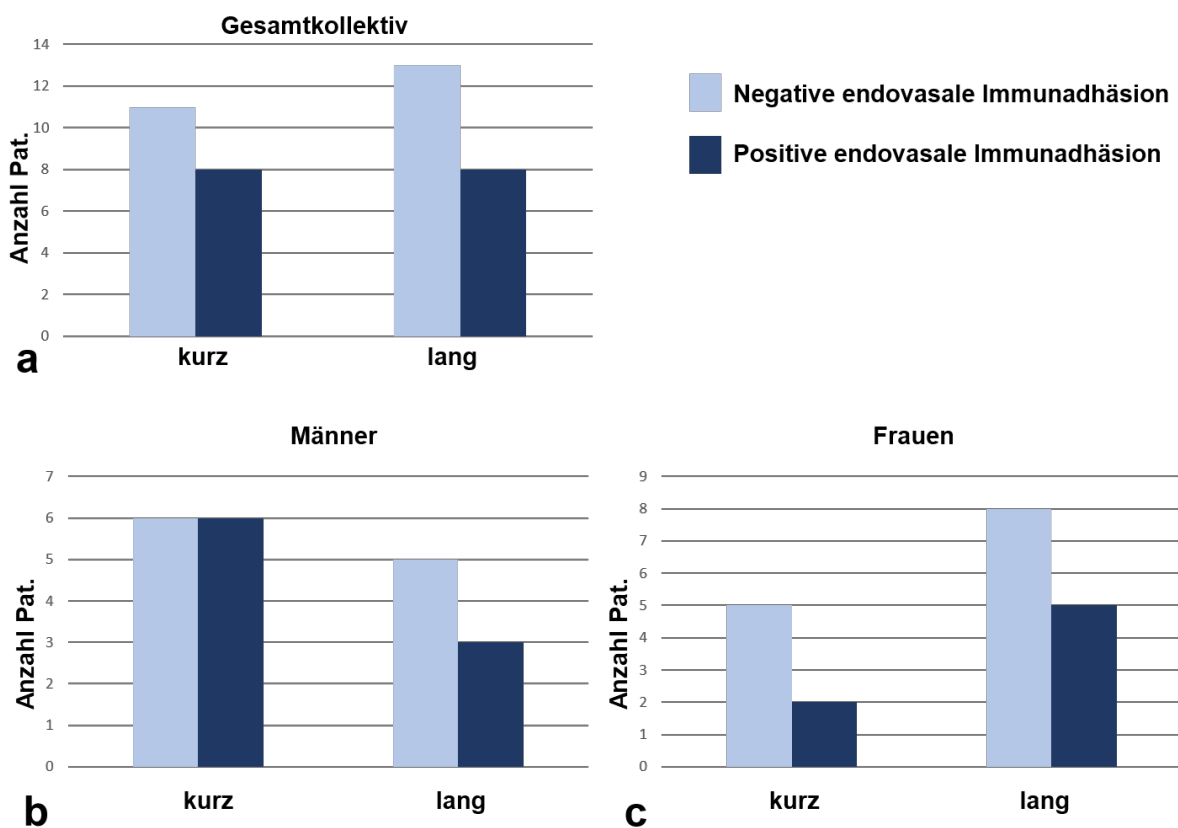


Abb. 23: Zusammenhang zwischen endovasaler Immunadhäsion und Operationszeitpunkt bezogen auf (a) die Gesamtkohorte gebluteter AVMs (n=40), (b) Männer (n= 20) und (c) Frauen (n=20).

3.5 CEACAM1-Expression am Endothel

3.5.1 Endothelexpression und klinische Parameter

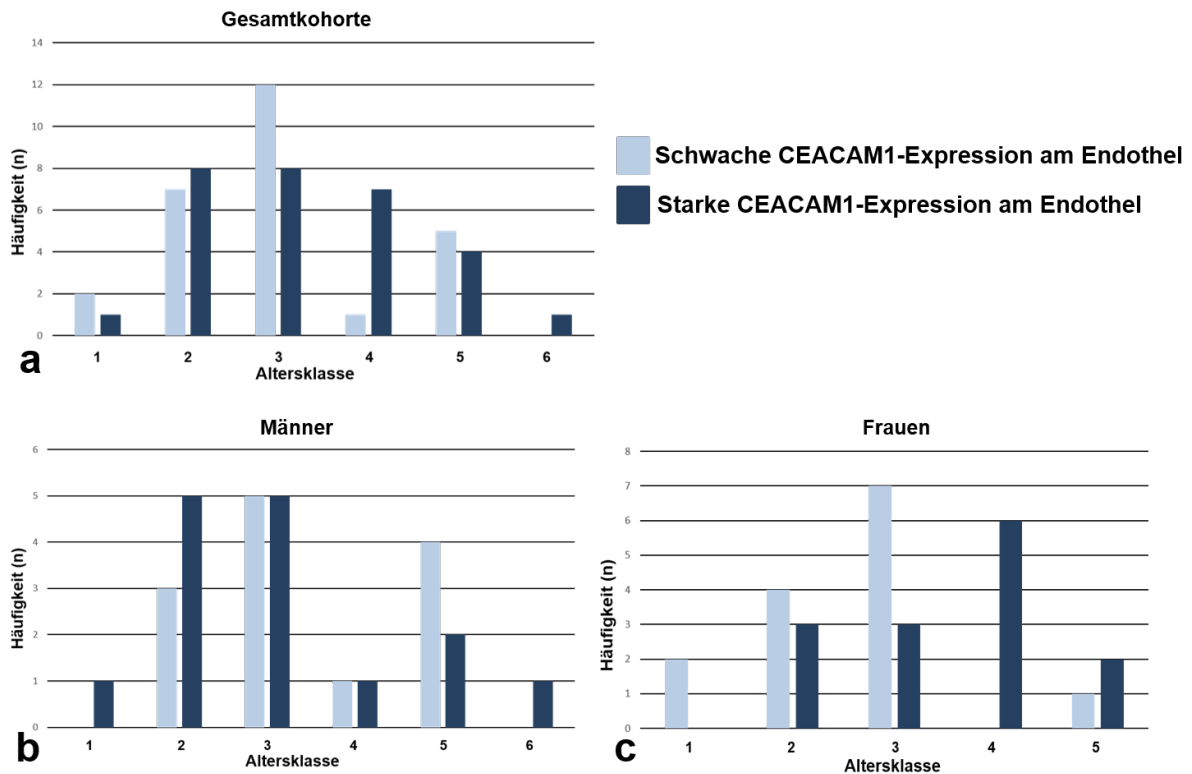


Abb. 24: Zusammenhang zwischen CEACAM1-Expression am und Alter (Einteilung gemäß Altersklassen vgl. Tab.7) bezogen auf (a) die Gesamtkohorte (n=58), (b) Männer (n= 30) und (c) Frauen (n=28).

Sowohl in der Gesamtkohorte als auch bei Frauen wies die mittlere Altersklasse 3 (31 – 45 Jahre) den höchsten Anteil schwacher CEACAM1-Expression am Endothel auf. Bei Männern zeigte sich in dieser Altersklasse ein ausgeglichenes Verhältnis. In der männlichen Subgruppe fiel der Peak einer starken CEACAM1-Expression in die Altersgruppen 2 (16 - 30 Jahre) und 3. Frauen zeigten in den älteren Altersklassen 4 (46 – 60 Jahre) und 5 (61 – 75 Jahre) eine stärkere Expression als in den jüngeren Altersklassen. **Abb. 24** gibt eine Übersicht über die Expression von CEACAM1 am Endothel in den einzelnen Altersklassen.

Für das weibliche Geschlecht konnte ein schwacher, jedoch signifikanter Zusammenhang ($\rho = 0,346$; $p = 0,020$) zwischen der Endothelexpression von CEACAM1 und dem Alter festgestellt werden. Die Abhängigkeit der Endothelexpression vom Alter konnte in der multivariaten Regressionsanalyse für die weibliche Gruppe mit einer Signifikanz $p = 0,037$

bestätigt werden. Für alle weiteren klinischen Parameter ließ sich kein statistisch relevanter Effekt ermitteln vgl. **Tab. 14**.

Tab. 14: Endothelexpression und klinische Parameter, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (rho) nach Spearman

Parameter	Gesamtkohorte		Männer		Frauen	
	p-Wert	rho	p-Wert	rho	p-Wert	rho
Altersklasse	0,409	0,112	0,372	-0,175	0,020	0,436
Epilepsie	0,208	0,117	0,627	0,096	0,204	0,247
AVM Größe	0,190	0,178	0,787	0,053	0,101	0,316
Embolisation	0,915	-0,015	0,372	0,175	0,297	-0,204
Blutung	0,112	-0,215	0,566	-0,113	0,101	-0,316
präop. mRS	0,401	-0,114	0,777	0,056	0,341	-0,187

AVM = Arteriovenöse Malformation; präop. mRS = präoperativer *Modified-Rankin-Scale* (mRS) Wert; rho = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

Die Subgruppenanalyse ergab für Patientinnen mit stattgehabter Angiombutung ebenfalls eine schwache Korrelation nach Spearman zwischen dem Alter und der Endothelexpression mit statistischer Signifikanz (rho = 0,468; p = 0,037). Dieser Zusammenhang erwies sich in der durchgeführten Regressionsanalyse jedoch als nicht signifikant vgl. **Tab. 15**.

Tab. 15: Logistische Regressionsanalyse: Einfluss des Alters (Altersklasse) auf die Endothelexpression von CEACAM1

	Odds-Ratio	95 %	
		Konfidenzintervall	p-Wert
Gesamtkohorte	1,219	0,778-1,912	0,387
Männer	0,781	0,430-1,418	0,416
Frauen	2,548	1,056-6,149	0,037
Frauen mit AVM-Blutung	2,913	0,879-9,659	0,080

3.5.2 Endothelexpression und Blutungsanamnese

Die statistische Analyse zeigte keine Korrelation zwischen der Endothelexpression und dem Auftreten einer Angiombutung. Im Gesamtkollektiv **(a)** zeigten 69 % der Patienten ohne Blutungsereignis eine starke Endothelexpression (Männer 62 %; Frauen 75 %).

In der Gesamtkohorte (55 %) und bei Frauen **(c)**; 60 %) konnte ein vergleichsweise hoher Anteil mit schwacher CEACAM1-Expression bei Patienten mit positiver Blutungsanamnese verzeichnet werden. Bei Männern zeigte sich ein ausgeglichenes Verhältnis **(b)** vgl. **Abb. 25**.

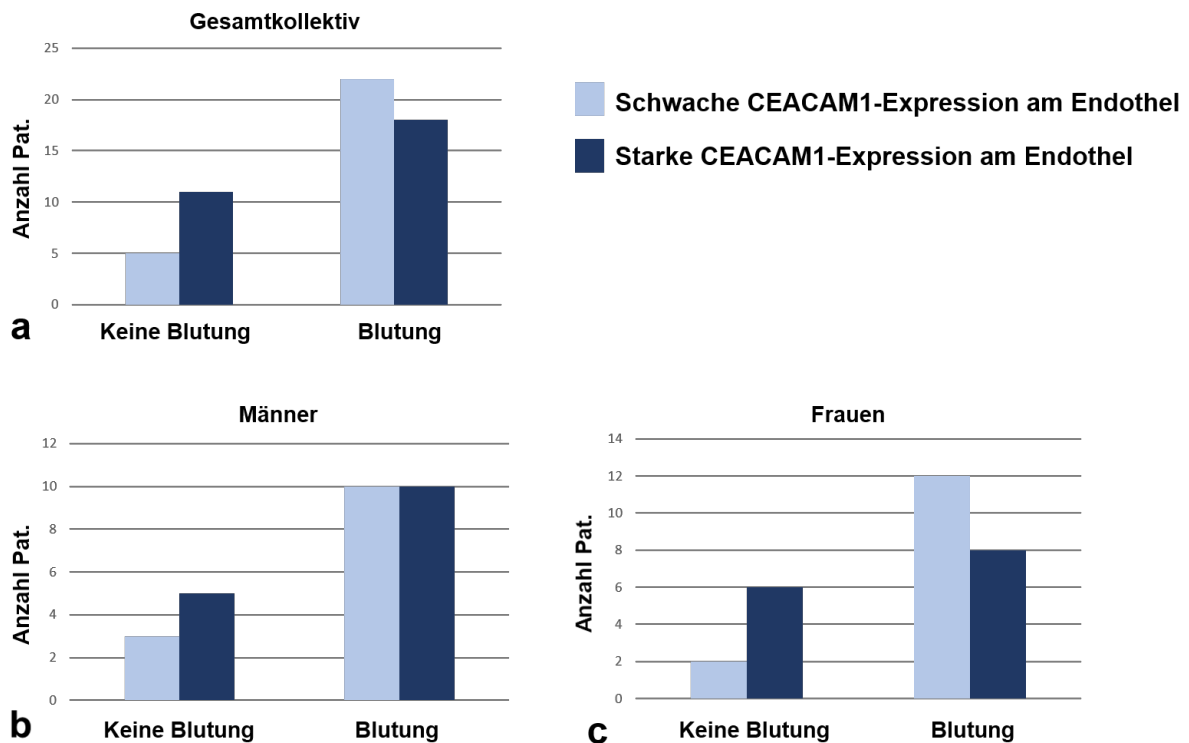


Abb. 25: Zusammenhang zwischen Endothelexpression und Blutungsanamnese bezogen auf (a) die Gesamtkohorte (n=56), (b) Männer (n= 28) und (c) Frauen (n=28).

3.5.3 Endothelexpression und Operationszeitpunkt

61 % der Patienten im langen BOP-Intervall zeigten in der Gesamtkohorte eine schwache Endothelexpression, während im kurzen Intervall eine stärkere Expression mit 52 % leicht dominierte. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in der männlichen Subgruppe vgl. **Abb. 26**. Bei Frauen überwog mit einem Anteil von 62 % im langen BOP-Intervall ebenso eine schwache Expression von CEACAM1 im Endothel.

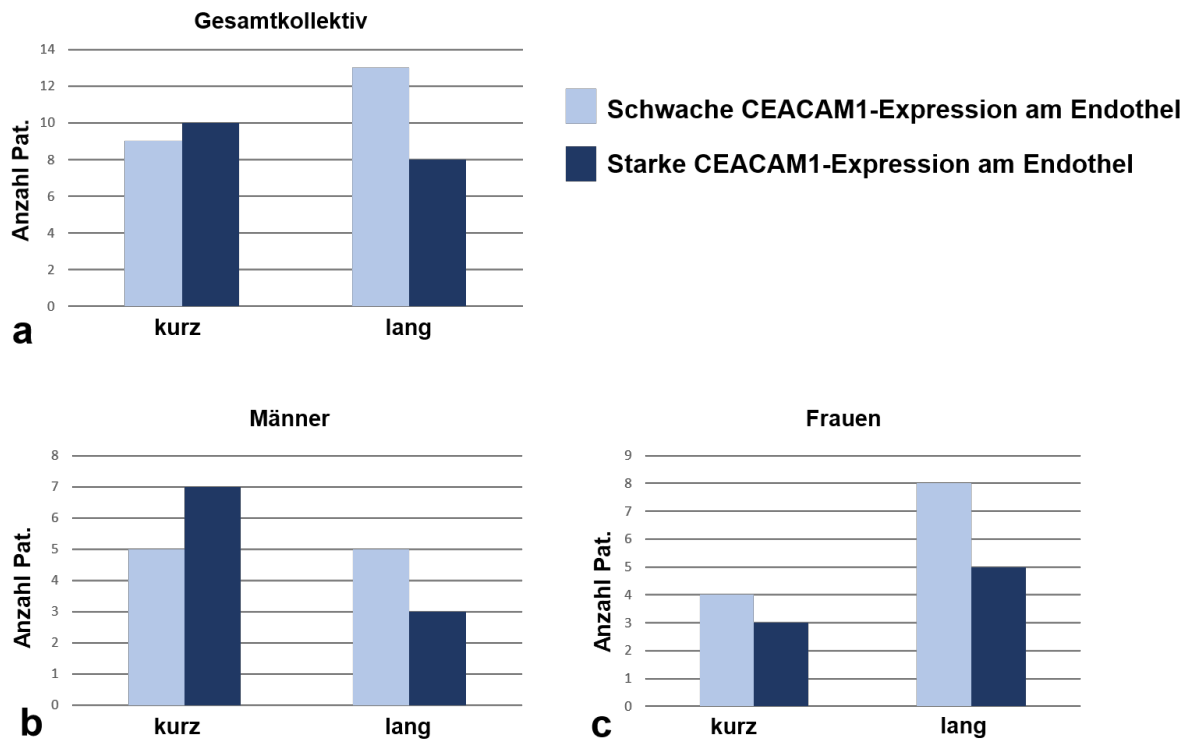


Abb. 26: Zusammenhang zwischen Endothelexpression und Operationszeitpunkt bezogen auf (a) die Gesamtkohorte gebluteter AVMs (n=40), (b) Männer (n= 20) und (c) Frauen (n=20).

3.5.4 Subgruppenanalyse in Abhängigkeit von der Endothelexpression

Das Patientenkollektiv mit einer schwachen Endothelexpression (n=27) zeigte einen schwachen, aber signifikanten Zusammenhang zwischen der parenchymalen Immuninfiltration und einem Blutungsereignis ($p = 0,041$; $\rho = 0,395$).

In der geschlechtsspezifischen Subgruppenanalyse wies das männliche Kollektiv mit schwacher Endothelexpression eine moderate Korrelation zwischen der Immuninfiltration des Parenchyms und einem Blutungsereignis (n =13; $p = 0,033$; $\rho = 0,592$) auf.

In der weiblichen Gruppe mit schwacher Endothelexpression konnte ein solcher Zusammenhang nicht festgestellt werden. Es zeigte sich jedoch eine moderate Korrelation zwischen der endovasalen Immunadhäsion und einer stattgehabten Angiomblutung (n =14; $p = 0,013$; $\rho = -0,645$).

Die o.g. Beobachtungen hatten in der Berechnung einer logistischen Regression keinen mathematischen Bestand. Die Regressionsanalyse wurde daher in diesen Fällen verworfen.

4 Diskussion

Storer et al. konnten 2008 das vermehrte Vorkommen der Zelladhäsionsmoleküle ICAM-1, VCAM-1 und E-Selectin in AVM-Gewebeproben nachweisen [117]. Auch CEACAM1 ist ein Zelladhäsionsmolekül, dessen Einfluss sowohl auf Entzündungsprozesse, Zellproliferation als auch die Vaskulogenese mannigfaltig ist [25, 38, 94, 103, 104]. Erhöhte Werte immunmodulierender Moleküle, Zytokine (IL-6, IL1- β , TNF- α , IL-8) und proteolytischer Enzyme (MMP-9, MPO) in AVMs wurden bereits mit einer vermehrten Gefäßschädigung [43] und Rupturneigung in Zusammenhang gebracht [17, 67]. Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte CEACAM1 in unterschiedlicher Ausprägung in Gewebeproben gebluteter und nicht-gebluteter AVMs nachgewiesen werden.

4.1 Klinische Patientendaten

Die epidemiologischen und klinischen Ergebnisse der vorliegenden Studie werden in **Tab. 16** den Daten aktueller Vergleichsliteratur gegenübergestellt.

Mit einer Fallzahl von 58 Patienten hat die vorliegende Studie einen deutlich kleineren Umfang als die Vergleichsliteratur. Die Geschlechterverteilung, das mediane Alter und die AVM-Lokalisation entsprachen annähernd den Parameterverteilungen in den Vergleichsstudien. Der Anteil kleiner AVMs (<30mm) ist mit 64 % in der vorliegenden Patientenkohorte etwas höher, verglichen mit den Ergebnissen von Chen et al. aus 2006 [17]. Auch waren die hier untersuchten AVMs hinsichtlich ihrer medianen AVM-Größe etwas kleiner. Bezüglich des SM-Grads sind die vorliegenden Daten durchaus repräsentativ, 93 % des Kollektivs sind dem Grad I bis III zuzuordnen. Im Gegensatz zu den Vergleichsarbeiten, sind in der hiesigen Studie die Anteile der Patienten mit einer AVM des Spetzler-Martin Grads I bis III annähernd gleich groß. Sechsendachtzig Prozent der Patienten wurden ausschließlich operativ behandelt, das vorliegende Patientengut ist somit klar chirurgisch dominiert. Das multimodale Therapievorgehen, insbesondere im Hinblick auf die präoperative Embolisation, hatte in den Arbeiten von Chen et al. sowie Luksik et al. einen weitaus höheren Stellenwert [17, 70] und ist hier daher unterrepräsentiert. An dieser Stelle ist zu betonen, dass Arteriovenöse Malformationen ein seltenes Krankheitsbild darstellen, dass immer seltener ausschließlich neurochirurgisch behandelt wird.

Betrachtet man die klinische Symptomatik, so ist der Anteil gebluteter AVMs in der vorliegenden Studie mit 71 % deutlich höher. Der prozentuale Anteil an Patienten mit einer Epilepsie ist im Vergleich nahezu identisch.

Tab. 16: Klinische Patientendaten im Literaturvergleich

Studie	eigene Studie	Stapf et al. 2006 ^[110]	Chen et al. 2006 ^[17]	Luksik et al. 2017 ^[70]
Anzahl AVM in n	58	622	139	133
Anteil Frauen in %	48 %	53 %	45 %	58 %
medianes Alter in a (SD)	36 (17)	35 (15)	n.a.	37 (16)
infratentoriell	9 %	12 %	n.a.	13 %
AVM-Größe		n.a.		n.a.
< 30mm	64 %		53 %	
30-60mm	36 %		46 %	
> 60mm	0		1 %	
mediane AVM-Größe in mm (SD)	20 (13)	32 (16)	n.a.	25 (1)
Spetzler – Martin Grad		n.a.		
I	33 %		15 %	29 %
II	27 %		37 %	47 %
III	33 %		35 %	18 %
IV	7 %		11 %	5 %
V	0		1 %	1 %
Embolisation präop.	14 %	n.a.	67 %	36 %
Bestrahlung präop.	0	n.a.	6 %	n.a.
nur Operation	86 %	n.a.	27 %	64 %
Blutung	71 %	45 %	49 %	48 %
Epilepsie	29 %	29 %	n.a.	27 %

n.a. = nicht angegeben; präop = präoperativ; SD = Standardabweichung

4.2 AVMs und Inflammation

Es gibt zahlreiche Erklärungsversuche für morphologische Umbauprozesse innerhalb von AVMs, welche schließlich zu einer Sequenz von Progress, Ruptur und Blutung führen können. Die meisten Arbeiten konzentrieren sich dabei auf Entzündungsprozesse und ihre Modulatoren sowie die Angiogenese [17, 18, 67, 91]. CEACAM1 ist an multiplen Zellprozessen beteiligt und hat ebenso Aufgaben in der Signaltransduktion, der Regulation des Zellzyklus, Aktivierung und Adhäsion von Immunzellen, Tumorphiliferation sowie Angiogenese [104]. Ergün et al. sehen in CEACAM1 einen potenten angiogenetischen Faktor, dessen Expression in endothelialen Zellen durch VEGF erhöht wird [25].

Laut aktuellem Kenntnisstand führen genetische und hämodynamische Triggerfaktoren zur Rekrutierung von Immunzellen innerhalb der AVM. Die als Folge freigesetzten immunmodulierenden Zytokine und proangiogenetischen Mediatoren schwächen die Gefäßwände und begünstigen eine Ruptur der AVM. Auch in der vorliegenden Studie wurden im Zuge der MPO-Färbung Anzeichen einer Inflammation in Form einer Infiltration von Neutrophilen Granulozyten in das AVM-Parenchym nachgewiesen. Zudem exprimierten die MPO-positiven Zellen CEACAM1, somit konnte in dieser Studie erstmals das Vorkommen von CEACAM1 in humanen AVMs nachgewiesen werden. Das Ausmaß der Infiltration durch MPO-positive Zellen korrelierte signifikant mit der Stärke der Infiltration durch CEACAM1-positive Zellen ($p < 0,001$; $\rho = 0,493$), sodass von einer parenchymalen Immuninfiltration auszugehen ist.

4.2.1 Parenchymale Immuninfiltration in nicht gebluteten AVMs

Chen et al. beschrieben ein vermehrtes Vorkommen myeloider Immunzellen, insbesondere Neutrophiler Granulozyten und Makrophagen, in Resektaten nicht gebluteter AVMs verglichen mit denen von Epilepsiepatienten. Analog dazu wurden erhöhte Werte von IL-6, MMP-9 und MPO festgestellt und an anderer Stelle beleuchtet [17, 18, 111].

Auch in unserer Studie konnte in nicht gebluteten AVMs eine Infiltration mit CEACAM1-positiven Zellen nachgewiesen werden, jedoch fiel diese überwiegend schwach aus – sowohl in der Gesamtkohorte als auch in beiden Geschlechtergruppen. Ob und in wie weit dies dennoch als ein Anzeichen für eine mögliche, bereits ablaufende Inflammation und damit verbunden eine gestörte Mikroarchitektur bzw. Schwächung des Gefäßkonstrukts ist, lässt sich anhand der vorliegenden Untersuchungsergebnisse nicht einschätzen. In der Literatur wurde CEACAM1 bereits die Fähigkeit zur Regulation der transepithelialen Migration sowie Apoptose bzw. Überleben von Neutrophilen Granulozyten zugesprochen [102, 104]. Übertragen könnte dies die Modulation und vasale Rekrutierung Neutrophiler Granulozyten in

das Gefäßgerüst und somit die Verstärkung der Entzündungsreaktion bewirken. Da die vorliegende Analyse eine signifikante Korrelation zwischen der Infiltrationsstärke von MPO- und CEACAM1 sowohl im Gesamtkollektiv ($p < 0,001$; $\rho = 0,493$), als auch in den Subgruppen gebluteter ($p = 0,029$; $\rho = 0,380$) und nicht gebluteter ($p = 0,001$; $\rho = 0,784$) Angiome zeigte, ist davon auszugehen, dass CEACAM1 auch in AVMs an immunologischen Prozessen in Verbindung mit Neutrophilen Granulozyten beteiligt ist. Die fehlende Korrelation zwischen MPO- und CEACAM1-Expression in einigen Subgruppen (z.B. Geschlecht) beruht möglicherweise auf einer zu divergenten bzw. zu kleinen Gruppengröße. Zum anderen muss aber auch eine CEACAM1-Expression durch andere Zellen in Betracht gezogen werden. Prager et al. konnten im Rahmen ihrer Studien zu ZNS-Entwicklung und Myelinisierung sowohl *in vitro* sowie im Rattenmodell eine CEACAM1-Expression durch Oligodendrozyten nachweisen [94]. Andere Zellen der neuronalen Nische (Astrozyten, Neuronen, Mikroglia) hingegen wiesen diese Eigenschaft nicht auf. Die Expression von CEACAM1 durch gliale Zellen war nicht Gegenstand dieser Arbeit, sodass diese Fragestellung weiterhin unbeantwortet bleibt.

4.2.2 CEACAM1 als möglicher Endothelstabilisator in AVMs

Neben Neutrophilen exprimierten auch CD31-positive Endothelzellen CEACAM1. Das Vorkommen von CEACAM1 in Endothelien ist bekannt, eine CEACAM1-Expression in humanen AVMs wurde bisher jedoch nicht beschrieben. Verschiedene Autoren haben dem Molekül im Rahmen von Tierversuchen eine wichtige Schlüsselrolle für die endotheliale Integrität und vaskuläre Homöostase zugeschrieben [30, 89]. Im Tierversuch mit CEACAM1-*knock-out*-Mäusen stellten mehrere Arbeitsgruppen eine erhöhte vaskuläre Permeabilität des aortalen Endothels bei Tieren mit CEACAM1-Defizienz fest. Dies führte letztlich zur Instabilität der *adherens junctions* zwischen den Endothelzellen und ging mit einer erhöhten Interaktion zwischen Leukozyten und Endothelzellen einher [31]. Aktuelle Arbeiten sehen in CEACAM1 einen Co-Faktor vaskulärer Alterungsprozesse. Die Endothelexpression von CEACAM1 verändert sich im Laufe des Lebens, wie in Tierversuchen gezeigt werden konnte [30, 56]. Während der Embryonal- und Wachstumsphase führt eine starke Expression zur Ausbildung und Stabilisierung neuer Blutgefäße. In der Lebensmitte wird hingegen kaum CEACAM1 auf dem Endothel exprimiert. Im Zuge des Alterungsprozesses kommt es zu einer Re-Expression. CEACAM1 führt dann über den TNF- α -Signalweg zu vermehrtem oxidativem Stress und letztlich zu einer Anhäufung von Kollagen in den Gefäßwänden und damit verbunden einer beeinträchtigten endothelialen Barrierefunktion [30]. Für eine altersabhängige Endothelexpression spricht die Altersverteilung der vorliegenden Studie im Hinblick auf das Auftreten von Angiomblytungen sowie der Vergleich mit der Literatur [70, 98, 110]. Die

Patienten mit stattgehabter Blutung waren im hiesigen Kollektiv zwischen 31 und 45 Jahre alt, dies deckt sich mit den Angaben in der Literatur [98]. Der Peak fällt demnach genau in die Lebensmitte mit physiologisch geringer Expression von CEACAM1 im Endothel. Unsere Ergebnisse zeigen insbesondere bei Frauen eine schwache CEACAM1-Expression am Endothel in der Altersklasse der 31 bis 45-Jährigen. In dieser Altersklasse zeigte sich das höchste Auftreten von Angiomblyungen sowohl in der Gesamtkohorte als auch in den Geschlechtsgruppen, jedoch tritt diese Altersgruppe in unserem Kollektiv auch am häufigsten auf. Der Einfluss des Alters auf die CEACAM1-Expression im Endothel war in der vorliegenden Studie nur für weibliche Patienten signifikant. Ein signifikanter Effekt des Alters auf das Auftreten einer Angiomblyung konnte in der Regressionsanalyse für keine Subgruppe bestätigt werden. Dies ist möglicherweise wieder der geringen Gruppengröße geschuldet. Eine Studie von Karlsson et al. mit insgesamt 1479 AVM-Patienten stellte bereits 1997 eine höhere Blutungshäufigkeit in der weiblichen Patientenkohorte fest und leitete davon ein erhöhtes Blutungsrisiko für Frauen während der Fertilitätsphase (15-40 Jahre) ab [52]. Ein altersspezifisches Blutungsrisiko konnte die Arbeitsgruppe jedoch nicht feststellen.

In der vorliegenden Analyse fiel auf, dass sowohl in der Gesamtkohorte als auch in den beiden Geschlechtergruppen ohne AVM-Blutung überwiegend eine starke CEACAM1-Expression im Endothel vorlag. Somit könnte CEACAM1 auch in AVMs eine Endothel-stabilisierende Rolle spielen, wie sie für andere Gewebe im Tiermodell beschrieben wurde [30, 89]. Im Umkehrschluss könnte eine fehlende CEACAM1-Expression eine verstärkte Permeabilität bzw. Rupturneigung zur Folge haben. Eine erhöhte Permeabilität der Bluthirnschranke konnten Ludewig et al. in einem Mausmodell feststellen [69]. Diese Beobachtung trat nach einer Ischämie des Hirngewebes bei CEACAM1-defizienten Tieren auf und wurde durch eine erhöhte Freisetzung von MMP-9 aus Neutrophilen Granulozyten hervorgerufen. Auch in der aktuellen Studie konnten am Endothel adhärenente, CEACAM1-exprimierende Neutrophile Granulozyten nachgewiesen werden, die ein möglicher Indikator für eine gestörte Permeabilität sein könnten. Eine auffällige Korrelation mit bestimmten klinischen Parametern, insbesondere einem Blutungsereignis konnte in der Gesamtkohorte nicht festgestellt werden. Jedoch zeigte sich bei den Patienten mit nicht gebluteter AVM in allen Subgruppen ein höherer Anteil mit fehlender endovasaler Immunadhäsion. Dieser Umstand wirft die Frage auf, ob ein stattgehabtes Blutungsereignis nicht physiologischerweise zu einer endovasalen Immunadhäsion (und letztlich zur Migration bzw. Infiltration von u.a. Neutrophilen Granulozyten) führt. Schließlich ist dieses Phänomen bei Patienten mit nicht gebluteter AVM in der vorliegenden Studie kaum zu beobachten.

4.2.3 Inflammation als Folge einer Angiomblutung

Der Nachweis von Immunzellen und die damit verbundene Entzündungsreaktion im AVM-Gewebe nach stattgehabter Blutung kann allgemein als physiologischer Prozess angesehen werden. So wiesen Gong et al. in einem Tierversuch nach Induktion eines intracerebralen Hämatoms die Einwanderung von MPO-positiven Neutrophilen Granulozyten in das umliegende Hirngewebe nach [35]. Ähnlich ließen sich in der vorliegenden Arbeit über die MPO-Expression Neutrophile in AVMs detektieren. Weiter fanden Gong et al. eine erhöhte ICAM-1-Expression im lokalen Endothel [35]. Im o.g. Zusammenhang stellten Power et al. ebenfalls anhand eines Rattenmodells erhöhte Werte von Matrixmetalloproteinasen in der Randzone eines intracerebralen Hämatoms fest [93]. Tejima et al. stellten die Hypothese auf, dass im Rahmen einer intracerebralen Blutung Hämoglobin freigesetzt werde, welches zu oxidativem Stress, einer erhöhten Freisetzung von MMP-9 aus Astrozyten und somit zur Zunahme eines lokalen Ödems führe [118]. Chen et al. stellten 2006 ein vermehrtes Vorkommen von Neutrophilen Granulozyten sowie MPO, MMP-9 und anderer Inflammationsmarker (u.a. IL-6) in Resektaten gebluteter AVMs fest. Verglichen mit der Kontrollgruppe (epilepsiechirurgisch behandelte Patienten) zeigte sich auch in den Resektaten nicht gebluteter AVMs eine vermehrte Expression dieser Inflammationsmarker [17].

In der vorliegenden Arbeit wirkt sich ein Blutungsereignis ebenfalls auf die Stärke der Infiltration mit Neutrophilen Granulozyten aus. Der Anteil TMAs mit einer starken parenchymalen Immuninfiltration nach einer Blutung (49 %) war prozentual höher als bei nicht gebluteten AVMs (23 %). Zhou et al. fassen in ihrer Übersichtsarbeit die Aktivierung von mikroglialen Zellen sowie die Infiltration durch Leukozyten und Makrophagen als frühe Immunantwort auf eine stattgehabte ICB zusammen [131]. Nguyen et al. sprechen einwandernden Polymorphkernigen Granulozyten eine neurotoxische Wirkung im Rahmen der sekundären Hirnschädigung als Folge einer ICB zu [88].

In der vorliegenden Studie zeigten 55 % der Männer und 65 % der Frauen nach einer ICB keine endovasale Immunadhäsion. Dieses Ergebnis war unerwartet, da als Reaktion auf eine AVM-Blutung eine erhöhte Adhäsion von Immunzellen am Endothel vermutet wurde. Mögliche Ursachen für diese Diskrepanz sind der Operationszeitpunkt und eine variable CEACAM1-Expression am Endothel. Für Letzteres sprechen die Ergebnisse der Subgruppenanalyse hinsichtlich einer möglichen Korrelation zwischen einem Blutungsereignis und der Immuninfiltration in Abhängigkeit von der Endothelexpression. Bei Patienten mit schwacher Endothelexpression korrelierte die Stärke der Immuninfiltration im Gesamtkollektiv mit dem Auftreten einer AVM-Blutung ($p = 0,041$; $\rho = 0,395$). Bei Männern stellte sich dieser Zusammenhang ebenfalls als signifikant heraus ($p = 0,033$; $\rho = 0,595$), bei Frauen hingegen nicht. Bei Frauen mit geringer Endothelexpression zeigte sich jedoch ein Zusammenhang

zwischen der endovasalen Immunadhäsion und einer stattgehabten ICB ($p = 0,013$; $\rho = -0,645$).

Die vorliegenden Ergebnisse sprechen für eine geschlechtsabhängige CEACAM1-Expression im Endothel. Aufgrund der fehlenden Signifikanz bei der Regressionsanalyse könnte der vermeintliche Geschlechtsunterschied aber auch auf der Divergenz der Kohorte und der geringen Gruppengröße beruhen. Die Rolle des Operationszeitpunkts in Bezug auf das Blutungsereignis im Hinblick auf eine Adhäsion von CEACAM1-positiven Immunzellen am Endothel wird im Folgenden erörtert.

4.2.4 Differente parenchymale Immuninfiltration bei Männern und Frauen – ein geschlechtsabhängiger Entzündungsprozess?

In der vorliegenden Studie zeigten Männer und Frauen klare Differenzen bei der Stärke der parenchymalen Immuninfiltration. Während Männer mit Angiombutung häufiger eine starke Immuninfiltration aufwiesen, fiel diese bei Frauen unabhängig von der Blutungsanamnese überwiegend schwach aus.

Weiter zeigten Patientinnen mit einem längeren BOP-Intervall häufiger eine schwache parenchymale Immuninfiltration; bei Männern war dieses Phänomen deutlich geringer ausgeprägt.

Auch im Rahmen verschiedener Tiermodelle wurde die Immuninfiltration des Hirnparenchyms nach hervorgerufener intracerebraler Blutung in Abhängigkeit der Zeit untersucht. Dabei konnte eine Infiltration durch Polymorphkernige Neutrophile Granulozyten bereits nach weniger als 24 Stunden nachgewiesen werden. Nach weiteren 24-48 Stunden zeigte sich die stärkste Immuninfiltration, welche dann rasch abflachte und nach sieben Tagen kaum noch feststellbar war [124]. Mackenzie und Clayton führten 1999 eine Autopsiestudie an 33, infolge einer ICB verstorbenen, Patienten durch und untersuchten die zellulären Veränderungen in der Penumbra einer ICB. Blutungsursache war meist eine hypertensive oder Aneurysmablutung. Bereits nach 72 Stunden waren kaum noch Granulozyten nachweisbar [72]. Diese Ergebnisse lassen sich nicht vollständig auf die vorliegende Studie übertragen, da hier eine Immuninfiltration auch in nicht gebluteten AVMs auftrat. In der vorliegenden Studie wurde zwischen einem kurzen (1-4 Tage) und langen BOP-Intervall (5-120 Tage) unterschieden. Da auch bei einem langen BOP-Intervall Neutrophile nachweisbar waren, kann es sich nicht um eine rein reaktive parenchymale Immuninfiltration handeln.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen vermuten, dass die parenchymale Immuninfiltration bei Frauen möglicherweise schneller abklingt. Diese Beobachtung wird durch die Auswertung der endovasalen Immunadhäsion unterstützt. Bei der männlichen Subgruppe mit positiver Blutungsanamnese war der Anteil der Proben mit und ohne endovasale Immunadhäsion ausgeglichen. Die anderen Subgruppen zeigten keine endovasale Immunadhäsion. Möglicherweise hatten die Immunzellen das Endothel bereits passiert, was für eine länger zurückliegende Immunreaktion sprechen könnte.

Der festgestellte Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer symptomatischen Epilepsie und der endovasalen Immunadhäsion in der weiblichen Subgruppe entspricht am ehesten einem Zufallsbefund mit geringem Stellenwert. Hier ist nochmals hervorzuheben, dass lediglich vier Patientinnen einer Embolisation unterzogen wurden und das Ableiten einer Kausalität bei solch geringen Gruppengrößen schwierig ist.

Die Auswirkungen von CEACAM1 auf einen ablaufenden Inflammationsprozess wurden 2005 von Singer et al. beleuchtet. Die Arbeitsgruppe stimulierte ruhende Ratten-PMN und wies im Anschluss eine maximale Oberflächen-Expression von CEACAM1 sowie eine vollständige Degranulation, d.h. eine vollständige Entleerung von löslichem CEACAM1 aus den Granula, nach [102]. Kuroki et al. hatten ein solches Verhalten schon 1995 an humanen PMN beobachtet [59]. Singer et al. konnten darüber hinaus eine verspätete Apoptose der Neutrophilen Granulozyten durch eine Liganden-Bindung von löslichem CEACAM1 beobachten. Diese Ergebnisse führen zu der Hypothese, dass CEACAM1 einen Entzündungsprozess verlängern kann [102]. In der hiesigen Studie wurde keine quantitative Bestimmung von löslichem CEACAM1 durchgeführt, daher kann diesbezüglich keine Aussage getroffen werden.

4.3 CEACAM1, Sexualhormone und Inflammation in vaskulären und neurovaskulären Erkrankungen

Der Einfluss von Sexualhormonen auf vaskuläre und neurovaskuläre Erkrankungen ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [12, 29, 120]. Beispielsweise wird dem weiblichen Hormon Östrogen eine vasoprotektive Wirkung zugesprochen. Laser et al. wiesen sowohl im Mausmodell als auch in menschlichen Gewebeproben aus infrarenalen Aortenaneurysmen ein erhöhtes Vorkommen von *Estrogen receptor alpha* (ER α) bei Frauen bzw. weiblichen Versuchstieren nach. Dieser Wert korrelierte invers mit der Aktivität von MMP2 und MMP9 sowie der Aneurysmaausdehnung [63]. Das Vorkommen mehrerer Unterformen von ER α in Endothelzellen und glatten Muskelzellen cerebraler Gefäße weiblicher Ratten wurde von Stirone et al. beschrieben. Dabei war das Vorkommen von der Östrogenexposition abhängig. Eine Ovariectomie führte zu weniger Expression [116]. Zhou et al. stellten in ihrer Review u.a. verschiedene antiinflammatorische Effekte von Östrogen in Zusammenhang mit einer Hirnschädigung nach stattgehabter ICB sowohl im Tiermodell als auch im Rahmen klinischer Studien zusammen [131].

Östrogene wirken kardiovaskulär protektiv [62]. Eine Hormonersatztherapie bei postmenopausalen Patientinnen mit koronarer Herzerkrankung findet aber aufgrund des erhöhten Risikos für einen thromboembolischen Schlaganfall aktuell keine klinische Anwendung [13, 120]. In Experimenten an Ratten fanden Friedrich et al. ein besseres *Outcome* für weibliche Versuchstiere nach Subarachnoidalblutung [28]. Eine mögliche Erklärung ist der protektive Einfluss von Östrogen bezüglich des Vasospasmus nach einer

Subarachnoidalblutung [68]. Ähnliche Effekte beschrieben Chang et al. in Tierversuchen für Progesteron [16].

Jamous et al. stellten 2005 im Rattenmodell eine erhöhte Rate cerebraler Aneurysmen infolge einer beidseitigen Ovariectomie fest [47]. In einem zweiten Schritt konnte unter der Supplementierung von Östrogen eine verminderte de novo- Ausbildung und eine Größenabnahme bereits vorhandener intrakranieller Aneurysmen bei weiblichen Ratten festgestellt werden [48]. Ähnliche Ergebnisse zeigten Maekawa et al. unter Verwendung des selektiven Östrogenrezeptormodulators Bazedoxifen, dessen Applikation zu einer Senkung der Ruptur- bzw. Blutungsrate cerebraler Aneurysmen bei ovariectomierten Ratten führte [73].

Auch Androgene wurden auf ihre mögliche Beteiligung an der Entstehung vaskulärer Erkrankungen hin untersucht. So stellten Hak et al. ein erhöhtes Risiko für Arteriosklerose bei älteren Männern mit niedrigem Testosteronspiegel fest [39]. Alexandersen et al. wiesen in einem Tierversuch den positiven Effekt einer Supplementierung von Testosteron im Hinblick auf die Entwicklung einer Arteriosklerose bei kastrierten Tieren nach [4].

Die geschlechtsspezifische Erforschung neurologischer, insbesondere neuroimmunologischer Erkrankungen fordern Golden und Voskuhl und beleuchten dies am Beispiel der Multiplen Sklerose (MS). Die Autoren beschreiben, dass Frauen zwar häufiger an MS erkranken als Männer, letztere jedoch schwerere Krankheitsverläufe zeigen [34]. Klinische Versuche einer Supplementation mit Testosteron führten zu einer Reduktion des Verlustes an grauer Substanz der männlichen Patienten mit schubförmig remittierender MS (RRMS) [60]. Ähnliche Effekte wurden nach Östrogeneinnahme bei Frauen im Rahmen einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Phase 2 Studie beobachtet [122].

Die o.g. Zusammenhänge können jedoch nur eingeschränkt auf AVMs übertragen werden. Die Entstehung von AVMs kann nicht geschlechtsabhängig sein, dagegen spricht das ausgeglichene Geschlechterverhältnis im Hinblick auf die Inzidenz in der Literatur [22, 109]. Auch in der vorliegenden Studie sind die Gruppen annähernd gleich verteilt. Lediglich der klinische Verlauf scheint sich geschlechtsspezifisch zu unterscheiden, jedoch altersspezifisch und erst nach stattgehabter Blutung. Denn eine signifikante Korrelation zwischen Blutungsereignis und Geschlecht konnte auch in unserer Studie nicht festgestellt werden. Aussagen über ein besseres Outcome des vorliegenden weiblichen Patientenkollektivs analog zu den Ergebnissen bei anderen zerebrovaskulären Erkrankungen [68] sind anhand der aktuellen Ergebnisse nicht möglich. Für künftige Studien ist eine Objektivierung des klinischen Outcomes anhand des mRS in einem definierten Follow-up-Zeitraum sinnvoll.

Die vorliegenden Ergebnisse führen zu der Annahme, dass das Vorkommen von CEACAM1 als Inflammationsmarker in AVMs geschlechtsabhängig ist und damit möglicherweise einem

hormonellen Einfluss unterliegt, wie die Literatur bereits in Bezug auf andere neurovaskuläre Erkrankungen beschreibt [120]. Der Zusammenhang zwischen Sexualhormonen und Inflammation wurde bereits im Rahmen zahlreicher experimenteller und klinischer Studien beleuchtet [6, 53], da vaskuläre Erkrankungen wie die Arteriosklerose zunehmend als chronisch-dynamische Entzündungskrankheiten verstanden werden [83]. Der Einfluss von Östrogen und Progesteron auf Matrixmetalloproteinasen im Zusammenhang mit Inflamationsprozessen und vaskulärem Remodeling wurde von Grandas et al. beschrieben [36]. Zuloaga et al. konnten in einem Zellversuch einen direkten antiinflammatorischen Effekt von Androgenmetaboliten auf das P-Glykoprotein (auch MDR1 genannt), eine Schlüsselkomponente der Bluthirnschranke, nachweisen [132]. Analog zu diesen Ergebnissen konnten Atallah et al. die Notwendigkeit physiologischer Testosteronwerte für eine intakte Funktion der Bluthirnschranke im Mausversuch zeigen [7]. Im Rahmen einer klinischen Doppelblindstudie konnte unter Testosteron-Supplementierung bei Männern mit einem Hypogonadismus und Metabolischen Syndrom eine Reduzierung der Inflammationsmarker IL-1 β , TNF- α and CRP festgestellt werden [51].

In unserer Studie zeigten Frauen überwiegend eine geringere parenchymale Immuninfiltration in der Gruppe gebluteter als auch nicht gebluteter AVMs. Das mediane Alter unseres weiblichen Patientenkollektivs lag bei 36 Jahren und somit deutlich unter dem in der Literatur angegebenen medianen Alter für den Eintritt der Menopause, welches bei 52 Jahren liegt [32]. Karim et al. beschreiben in ihrer Arbeit zwar einen antiinflammatorischen Effekt von Östrogen, jedoch nur für postmenopausale Frauen unter Östrogensubstitution. In diesem Fall bestehe ein inverser Zusammenhang zwischen Östrogen und den gemessenen Inflammationsmarkern (ICAM1- sowie Homocysteinspiegel) im Serum [53]. Anhand der hier vorliegenden Ergebnisse sind jedoch keine Rückschlüsse auf einen solchen oder ähnlichen Zusammenhang möglich.

4.4 Ausblick: AVMs und Lifestyle-Faktoren

Rauchen und Adipositas gelten allgemein als Risikofaktoren vaskulärer Erkrankungen und werden auch in Verbindung mit immunologischen Prozessen ausgiebig in der Literatur beschrieben. Fettgewebe, insbesondere das viszerale Fettgewebe, wirkt wie ein endokrines Organ und sezerniert neben stoffwechselwirksamen Hormonen auch proinflammatorische Moleküle wie beispielsweise IL-6 und TNF-alpha, die in diesem Fall Adipokine genannt werden, und u.a. die kapilläre Mikrozirkulation stören [23]. Konrad et al. stellten fest, dass Rauchen und Taillenumfang bei Frauen vor der Menopause den größten Einfluss auf die Endothelfunktion und damit auf das kardiovaskuläre Risiko ausüben [58]. In unserer

retrospektiven Studie konnten Faktoren wie Rauchen, Übergewicht und Hormontherapie aufgrund teilweise unvollständiger Daten nicht berücksichtigt werden. Zukünftige, prospektive Studien sollten jedoch auch diese Aspekte unseres heutigen Lebenswandels beleuchten. Browning et al. konnten 2008 beispielsweise erhöhte Werte bestimmter inflammatorischer Marker, darunter auch das bereits erwähnte IL-6, bei adipösen Patienten feststellen. Schlussfolgernd wurden IL-6 und das bekannte C-reaktive Protein (CRP) als Marker für eine gewichtsabhängige Inflammation identifiziert [14]. Andere Autoren bestätigen zwar einen Zusammenhang erhöhter CRP-Werte mit proinflammatorischen, klinischen Symptomen eines metabolischen Syndroms sowie Rauchen, eine Korrelation mit IL-6 zeigte sich jedoch nicht [50].

In wie weit eine Infiltration mit CEACAM1-positiven Immunzellen im AVM-Gewebe mit gemessenen Werten inflammatorischer Serummarker korreliert, ist nicht bekannt. Im klinischen Alltag gilt CRP zwar als Standardentzündungsmarker, seine Spezifität für bestimmte Erkrankungen ist jedoch gering, da erhöhte CRP-Werte sogar mit einer erhöhten Suizidabilität in Zusammenhang gebracht werden können [21].

4.5 Limitationen der Studie

Eine der wesentlichen Limitationen der vorliegenden Studie ist die geringe Größe der Patientenkohorte. Dies kann zum Teil auf die geringe Inzidenz der Erkrankung in der Bevölkerung zurückgeführt werden. Zusätzlich werden AVMs immer häufiger endovaskulär behandelt oder im Falle zufälliger Diagnosen verlaufskontrolliert [17, 69]. Ebenso ist das retrospektive Studiendesign limitierend. Die klinischen Parameter des Patientenkollektivs (Geschlecht, Alter, Lokalisation und klinische Symptomatik) entsprachen weitgehend den Daten in der Literatur [22, 66, 98], jedoch war der Anteil gebluteter AVMs in der vorliegenden Studie mit 71 % deutlich höher [70, 98]. Darüber hinaus ist die vorliegende Stichprobe klar chirurgisch dominiert mit einem geringen Anteil präembolisierter Patienten von nur 14 %. Zum Vergleich lag der Anteil der präoperativen Embolisationen in der Arbeit von Luksik et al. bei 36 % [70]. Die Aussagekraft der Ergebnisse für präembolisierte AVMs ist daher angesichts der geringen Größe der Subgruppe stark eingeschränkt. Erwähnenswert ist jedoch, dass Chen et al. sowohl präembolisierte als auch geblutete AVMs aus ihrer Studie über den Nachweis von Neutrophilen Granulozyten und Makrophagen in AVMs ausschlossen, um ein mögliches Epiphänomen der so getriggerten Inflammation zu vermeiden [18]. Das mediane Alter unserer Studienkohorte entspricht dem der Vergleichsliteratur, es dominiert sowohl in der Gesamtkohorte als auch in den Geschlechtssubgruppen und in der Subgruppe mit positiver

Blutungsanamnese die Altersklasse der 31- bis 45-Jährigen. Dies muss als mögliches Bias, insbesondere im Hinblick auf die altersabhängige endotheliale CEACAM1-Expression bei Frauen, in Betracht gezogen werden.

In der vorliegenden Studie wurde erstmals das Vorkommen von CEACAM1-positiven Immunzellen in AVM-Gewebe nachgewiesen. Auch in der Gruppe nicht gebluteter AVMs konnte in einigen Proben, wenn auch nur zu einem geringen Anteil, eine starke parenchymale Immuninfiltration festgestellt werden. Daher stellen eine Kontrollgruppe (z.B. epilepsiechirurgisch behandelte Patienten) sowie der Nachweis von CEACAM1 auch an anderer Stelle innerhalb einer AVM (z.B. in Oligodendrozyten) interessante Ansätze für künftige Studien dar.

Die Rolle von CEACAM1 in AVMs lässt sich anhand der vorliegenden Studienergebnisse nicht abschließend klären. Ein Auftreten im Rahmen eines entzündlichen Epiphänomens mit möglicherweise geschlechtsabhängigem Regulationsmechanismus ist anhand der Ergebnisse denkbar und gut mit vorangegangenen Studien zu vereinbaren [120]. Weitere Parameter mit klinischer Relevanz wären beispielsweise das gleichzeitige Auftreten chronisch-inflammatorischer Erkrankungen, der Hormonstatus sowie Risikofaktoren wie Nikotinabusus oder Adipositas. Der Einfluss dieser Faktoren im hier untersuchten Kollektiv war aufgrund der retrospektiv erhobenen und teilweise unvollständigen Daten nicht möglich.

Zuletzt sei erwähnt, dass CEACAM1 durch alternatives Spleißen in zwei verschiedenen Isoformen vorkommen und so völlig entgegengesetzt regulierend wirken kann. Beide Formen unterscheiden sich durch die Länge ihrer zytoplasmatischen Domäne und werden als CEACAM1-L (long) und CEACAM1-S (short) bezeichnet. Dabei stellt sich je nach Überwiegen einer Isoform eine inhibierende oder aktivierende Wirkung ein. Singer et al. wiesen eine solche ambivalente Wirkung von CEACAM1 in Zusammenhang mit Zellproliferation nach [103]. In welcher der beiden Isoformen CEACAM1 in der hiesigen Studie vorlag und ob eine Isoform-spezifische Markierung zu vergleichbaren Ergebnissen geführt hätte, lässt sich retrospektiv nicht klären. Zudem scheint CEACAM1 auf unterschiedlichen Zelltypen unterschiedliche Funktionen zu vermitteln. Die Funktion von CEACAM1 auf Endothelzellen in AVMs wäre ein weiterer interessanter Ansatz, der bisher wenig erforscht erscheint. Dies könnte im Rahmen eines Tiermodells näher beleuchtet werden, ähnlich, wie es durch die Arbeitsgruppen um Ghavampour et al. und Nouvion et al. für das Endothel in anderen Geweben beschrieben wurde [30, 89]. Es gilt zu überprüfen ob eine mögliche CEACAM1-Defizienz am Endothel eine Rupturneigung in AVMs erklären kann. Weiterhin stellt sich die Frage, ob Patienten mit gebluteter AVM lediglich am AVM-Endothel wenig CEACAM1 exprimieren, oder an allen Endothelien weniger Expression aufweisen, insbesondere da eine altersabhängige Endothelexpression von CEACAM1 in der Literatur beschrieben wird [30]. So könnte ein

mögliches Epiphänomen nach stattgehabter Blutung besser ausgeschlossen werden. Zudem wäre eine Bestimmung des systemischen CEACAM1-Spiegels interessant.

5 Zusammenfassung

Arteriovenöse Malformationen können im Rahmen einer Ruptur und der damit verbundenen Blutung zu schweren neurologischen Defiziten bis hin zum Tod führen. Der zugrundeliegende Pathomechanismus ist bis heute nicht abschließend geklärt. Entzündungsprozesse und ihre Modulatoren sowie angiogenetische Vorgänge wurden in diesem Bezug analysiert. Die vorliegende Arbeit untersucht die Rolle von CEACAM1 in diesem Zusammenhang. CEACAM1 ist ein multifunktionales Glycoprotein bzw. Immunglobulin, das u.a. von Neutrophilen Granulozyten und auf Endothelzellen gebildet und exprimiert wird. Im Rahmen von Entzündungsprozessen ist CEACAM1 u.a. an der Immunadhäsion beteiligt, spielt aber auch eine Rolle bei der Angiogenese sowie Zellproliferation. Aus 58 AVM-Operationspräparaten konnten sogenannte TMAs angefertigt werden. Insgesamt 41 der 58 Patienten hatten ein Blutungsereignis. CEACAM1 konnte dabei als immunhistochemischer Marker auf infiltrierenden Neutrophilen Granulozyten sowie dem Gefäßendothel selbst und ihm adhärenen Neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden. Bei Männern zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß der parenchymalen Immuninfiltration und einer AVM-Blutung ($p = 0,029$; $\rho = 0,392$), bei Frauen nicht. Bezogen auf den Blutungszeitpunkt gab es ebenfalls Geschlechtsunterschiede: Männer zeigten häufiger eine starke Immuninfiltration unabhängig vom Operationszeitpunkt als Frauen. Denkbar wäre, dass in der weiblichen Subgruppe ein rascheres Abklingen der Entzündungszeichen, z.B. durch den Einfluss von Sexualhormonen oder geschlechtsspezifischen Faktoren zu diesen Ergebnissen führte. Ähnliches wurde bereits in Bezug auf andere vaskuläre Erkrankungen diskutiert. In der Gesamtkohorte und in den geschlechtsspezifischen Subgruppenanalysen ohne Angiomblutung lag eine überwiegend starke CEACAM1-Expression am Endothel vor. Diese Beobachtung suggeriert, dass CEACAM1 auch in AVMs die Funktion eines Endothel-Stabilisators erfüllen könnte, wie sie schon für andere Gewebe im Tiermodell festgestellt wurde. Die vorliegenden Ergebnisse zeigten zudem bei Frauen eine altersabhängige Endothelexpression ($p = 0,02$; $\rho = 0,436$). In der Literatur wurde eine altersspezifische Funktion von CEACAM1 am Endothel bereits beschrieben. Letztlich fügen sich die hier demonstrierten Ergebnisse in die bisherigen Arbeitshypothesen ein und unterstützen das Modell eines inflammatorischen Prozesses innerhalb der AVM. Jedoch wäre auch ein Epiphänomen denkbar. Es kann anhand der vorliegenden Studie daher keine Aussage über eine daraus resultierende gestörte Mikroarchitektur mit möglicher Rupturneigung getroffen werden. Geschlechtsabhängige Faktoren können dabei eine Rolle spielen und helfen die komplexen Vorgänge innerhalb arteriovenöser Malformationen besser zu verstehen, der genaue Mechanismus bleibt aber ungeklärt. Ziel bleibt weiterhin eine Hilfestellung bei der bestmöglichen Wahl einer individuellen Behandlungsstrategie für Patienten mit AVMs zu bieten.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Abecassis IJ, Xu DS, Batjer HH, Bendok BR: Natural history of brain arteriovenous malformations: a systematic review. *Neurosurg Focus*. 37. E7 (2014)
- [2] Achrol AS, Guzman R, Varga M, Adler JR, Steinberg GK, Chang SD: Pathogenesis and radiobiology of brain arteriovenous malformations: implications for risk stratification in natural history and posttreatment course. *Neurosurg Focus*. 26. E9 (2009)
- [3] Albelda SM, Muller WA, Buck CA, Newman PJ: Molecular and cellular properties of PECAM-1 (endoCAM/CD31): a novel vascular cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol*. 114. 1059–68 (1991)
- [4] Alexandersen P, Haarbo J, Byrjalsen I, Lawaetz H, Christiansen C: Natural androgens inhibit male atherosclerosis: a study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ Res*. 84. 813–9 (1999)
- [5] Al-Shahi R, Warlow C: A systematic review of the frequency and prognosis of arteriovenous malformations of the brain in adults. *Brain*. 124. 1900–26 (2001)
- [6] Annibalini G, Agostini D, Calcabrini C, Martinelli C, Colombo E, Guescini M, Tibollo P, Stocchi V, Sestili P: Effects of sex hormones on inflammatory response in male and female vascular endothelial cells. *J Endocrinol Invest*. 37. 861–9 (2014)
- [7] Atallah A, Mhaouty-Kodja S, Grange-Messent V: Chronic depletion of gonadal testosterone leads to blood–brain barrier dysfunction and inflammation in male mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 37. 3161–75 (2017)
- [8] Auyeung KM, Laughlin S, TerBrugge KG: Prenatal Diagnosis of Unusual Fetal Pial Arteriovenous Malformation. *Interv Neuroradiol*. 9. 163–8 (2003)
- [9] Bambakidis NC, Cockroft KM, Hirsch JA, Connolly ES, Amin-Hanjani S, Meyers, PM, Friedlander RM: The Case Against A Randomized Trial of Unruptured Brain Arteriovenous Malformations. *Stroke*. (45). 2808–10 (2014)
- [10] Batjer H, Suss RA, Samson D: Intracranial Arteriovenous Malformations Associated with Aneurysms. *Neurosurg*. 18. 29–35 (1986)
- [11] Bendok BR, El Tecle NE, El Ahmadieh TY, Koht A, Gallagher TA, Carroll TJ, Markl M, Sabbagha R, Sabbagha A, Cella D, Nowinski C, Dewald JPA, Meade TJ, Samson D, Batjer HH: Advances and Innovations in Brain Arteriovenous Malformation Surgery. *Neurosurg*. 74. S60–73 (2014)
- [12] Bleker SM, Coppens M, Middeldorp S: Sex, thrombosis and inherited thrombophilia. *Blood Rev*. 28. 123–33 (2014)
- [13] Boardman HMP, Hartley L, Eisinga A, Main C, Roqué i Figuls M, Bonfill Cosp X, Gabriel Sanchez R, Knight B: Hormone therapy for preventing cardiovascular disease in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*. CD002229 (2015).
- [14] Browning LM, Krebs JD, Magee EC, Frühbeck G, Jebb SA: Circulating Markers of Inflammation and Their Link to Indices of Adiposity. *Obes Facts*. 1. 259–65 (2008)
- [15] Challa VR, Moody DM, Brown WR: Vascular malformations of the central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*. 54. 609–21 (1995)

- [16] Chang CM, Su YF, Chang CZ, Chung CL, Tsai YJ, Loh JK, Lin CL: Progesterone Attenuates Experimental Subarachnoid Hemorrhage-Induced Vasospasm by Upregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase via Akt Signaling Pathway. *Biomed Res Int.* 2014: 207616 (2014)
- [17] Chen Y, Fan Y, Poon KYT, Achrol AS, Lawton MT, Zhu Y, McCulloch CE, Hashimoto T, Lee C, Barbaro NM, Bollen AW, Yang GY, Young WL: MMP-9 expression is associated with leukocytic but not endothelial markers in brain arteriovenous malformations. *Front Biosci.* 11. 3121–8 (2006)
- [18] Chen Y, Zhu W, Bollen AW, Lawton MT, Barbaro NM, Dowd CF, Hashimoto T, Yang G-Y, Young WL: Evidence of inflammatory cell involvement in brain arteriovenous malformations. *Neurosurg.* 62. 1340–9; discussion 1349-50 (2008)
- [19] Cheng P, Ma L, Shaligram S, Walker EJ, Yang ST, Tang C, Zhu W, Zhan L, Li Q, Zhu X, Lawton MT, Su H: Effect of elevation of vascular endothelial growth factor level on exacerbation of hemorrhage in mouse brain arteriovenous malformation. *J Neurosurg.* 26.1–8 (2019)
- [20] Chyatte D, Bruno G, Desai S, Todor DR: Inflammation and intracranial aneurysms. *Neurosurg.* 45. 1137–46; discussion 1146-7 (1999)
- [21] Courtet Ph, Jaussent I, Genty C, Dupuy AM, Guillaume S, Ducasse D, Olié E: Increased CRP levels may be a trait marker of suicidal attempt. *Eur Neuropsychopharmacol.* 25. 1824–31 (2015)
- [22] da Costa L, Wallace M, Ter Brugge, KG, O’Kelly C, Willinsky RA, Tymianski M: The natural history and predictive features of hemorrhage from brain arteriovenous malformations. *Stroke.* 40. 100–5 (2009)
- [23] das Graças Coelho de Souza M, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E: Inflammation-induced microvascular dysfunction in obesity – A translational approach. *Clin Hemorheol Microcirc* 64. 645–54 (2016)
- [24] Elhammady MS, Heros RC: Editorial: The ARUBA study: where do we go from here? *J Neurosurg.* 126. 481–5 (2017)
- [25] Ergün S, Kilic N, Ziegeler G, Hansen A, Nollau P, Götze J, Wurmbach J-H, Horst A, Weil J, Fernando M, Wagener C: CEA-Related Cell Adhesion Molecule 1. *Molecular Cell.* 5. 311–20 (2000)
- [26] Fleetwood IG, Steinberg GK: Arteriovenous malformations. *Lancet.* 359. 863–73 (2002)
- [27] Friedlander RM: Arteriovenous Malformations of the Brain *N Engl J Med.* 356. 2704-12 (2007)
- [28] Friedrich V, Bederson JB, Sehba FA: Gender Influences the Initial Impact of Subarachnoid Hemorrhage: An Experimental Investigation. *PLOS ONE.* 8. e80101 (2013)
- [29] Gerstel D, Wegwitz F, Jannasch K, Ludewig P, Scheike K, Alves F, Beauchemin N, Deppert W, Wagener C, Horst AK: CEACAM1 creates a pro-angiogenic tumor microenvironment that supports tumor vessel maturation. *Oncogene.* 30 (41): 4275-88 (2011)
- [30] Ghavampour S, Kleefeldt F, Bömmel H, Volland J, Paus A, Horst A, Pfeiffer V, Hübner S, Wagner N, Rueckschloss U, Ergün S: Endothelial barrier function is differentially regulated by CEACAM1-mediated signaling. *The FASEB Journal.* 32 (10): 5612–25 (2018)

- [31] Gobin YP, Laurent A, Merienne L, Schlienger M, Aymard A, Houdart E, Casasco A, Lefkopoulos D, George B, Merland JJ: Treatment of brain arteriovenous malformations by embolization and radiosurgery. *J Neurosurg.* 85. 19–28 (1996)
- [32] Gold EB, Crawford SL, Avis NE, Crandall CJ, Matthews KA, Waetjen LE, Lee JS, Thurston R, Vuga M, Harlow SD: Factors Related to Age at Natural Menopause: Longitudinal Analyses From SWAN. *Am J Epidemiol.* 178. 70–83 (2013)
- [33] Gold P, Freedman SO: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med.* 122. 467–81 (1965)
- [34] Golden LC, Voskuhl R: The importance of studying sex differences in disease: The example of multiple sclerosis: Sex Differences in Multiple Sclerosis. *J Neurosci Res.* 95. 633–43 (2017)
- [35] Gong C, Hoff JT, Keep RF: Acute inflammatory reaction following experimental intracerebral hemorrhage in rat. *Brain Res.* 871. 57–65 (2000)
- [36] Grandas OH, Mountain DH, Kirkpatrick SS, Cassada DC, Stevens SL, Freeman MB, Goldman MH: Regulation of vascular smooth muscle cell expression and function of matrix metalloproteinases is mediated by estrogen and progesterone exposure. *J Vasc Surg.* 49. 185–91 (2009)
- [37] Gray-Owen SD, Blumberg RS: CEACAM1: contact-dependent control of immunity. *Nat Rev Immunol.* 6. 433–46 (2006)
- [38] Gross BA, Du R: Natural history of cerebral arteriovenous malformations: a meta-analysis. *J Neurosurg.* 118. 437–43 (2013)
- [39] Hak AE, Wittteman JCM, de Jong FH, Geerlings M, Hofman, A, Pols HAP: Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in elderly men: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab.* 87. 3632–9 (2002)
- [40] Hamilton MG, Spetzler RF: The prospective application of a grading system for arteriovenous malformations. *Neurosurg.* 34. 2–6; discussion 6-7 (1994)
- [41] Hammarström S: The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol.* 9. 67–81 (1999)
- [42] Haqqani AS, Sandhu JK, Birnboim HC: A myeloperoxidase-specific assay based upon bromide-dependent chemiluminescence of luminol. *Anal Biochem.* 273. 126–32 (1999)
- [43] Hashimoto T, Matsumoto MM, Li JF, Lawton MT, Young WL: Suppression of MMP-9 by doxycycline in brain arteriovenous malformations. *BMC Neurol.* 5. 1 (2005)
- [44] Hofmeister C, Stapf C, Hartmann A, Sciacca RR, Mansmann U, terBrugge K, Lasjaunias P, Mohr JP, Mast H, Meisel J: Demographic, morphological, and clinical characteristics of 1289 patients with brain arteriovenous malformation. *Stroke.* 31. 1307–10 (2000)
- [45] Hoh BL, Chapman PH, Loeffler JS, Carter BS, Ogilvy CS: Results of multimodality treatment for 141 patients with brain arteriovenous malformations and seizures: factors associated with seizure incidence and seizure outcomes. *Neurosurg.* 51. 303–9; discussion 309-11 (2002)
- [46] Horst AK, Ito WD, Dabelstein J, Schumacher U, Sander H, Turbide C, Brümmer J, Meinertz T, Beauchemin N, Wagener C: Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 modulates vascular remodeling in vitro and in vivo. *J Clin Invest.* 116 (6):1596–605 (2006)

- [47] Jamous, MA, Nagahiro S, Kitazato KT, Satomi J, Satoh K: Role of estrogen deficiency in the formation and progression of cerebral aneurysms. Part I: experimental study of the effect of oophorectomy in rats. *J Neurosurg.* 103. 1046–51 (2005a)
- [48] Jamous MA, Nagahiro S, Kitazato KT, Tamura T, Kuwayama K, Satoh K: Role of estrogen deficiency in the formation and progression of cerebral aneurysms. Part II: experimental study of the effects of hormone replacement therapy in rats. *J Neurosurg.* 103. 1052–7 (2005b)
- [49] Josephson CB, Leach JP, Duncan R, Roberts RC, Counsell CE, Al-Shahi Salman R. Scottish Audit of Intracranial Vascular Malformations (SAIVMs) steering committee and collaborators: Seizure risk from cavernous or arteriovenous malformations: prospective population-based study. *Neurology.* 76. 1548–54 (2011)
- [50] Junqueira ASM, Romêo Filho LJM, Junqueira C de LC: Evaluation of the degree of vascular inflammation in patients with metabolic syndrome. *Arq Bras Cardiol.* 93. 360–6. 353–9 (2009)
- [51] Kalinchenko SY, Tishova YA, Mskhalaya GJ, Gooren LJG, Giltay EJ, Saad F: Effects of testosterone supplementation on markers of the metabolic syndrome and inflammation in hypogonadal men with the metabolic syndrome: the double-blinded placebo-controlled Moscow study: Testosterone and the metabolic syndrome. *Clin Endocrinol.* 73. 602–12 (2010)
- [52] Karlsson B, Lindquist C, Johansson A, Steiner L: Annual risk for the first hemorrhage from untreated cerebral arteriovenous malformations. *Minim Invasive Neurosurg.* 40 (2):40-6 (1997)
- [53] Karim R, Stanczyk FZ, Hodis HN, Cushman M, Lobo RA, Hwang J, Mack WJ: Associations between Markers of Inflammation and Physiological and Pharmacological Levels of Circulating Sex Hormones in Postmenopausal Women. *Menopause.* 17. 785–90 (2010)
- [54] Kato Y, Dong VH, Chaddad F, Takizawa K, Izumo T, Fukuda H, Hara T, Kikuta K, Nakai Y, Endo T, Kurita H, Xu B, Beneš V, Christian R, Pavesi G, Hodaie M, Sharma RK, Agarwal H, Mohan K, Liew BS: Expert Consensus on the Management of Brain Arteriovenous Malformations. *Asian J Neurosurg.* 14 (4) 1074–81 (2019)
- [55] Kim H, Al-Shahi Salman R, McCulloch CE, Stapf C, Young WL; MARS Coinvestigators: Untreated brain arteriovenous malformation: Patient-level meta-analysis of hemorrhage predictors. *Neurology.* 83. 590–7 (2014)
- [56] Kleefeldt F, Rueckschloss U, Ergün S: CEACAM1 promotes vascular aging processes. *Aging (Albany NY)* 12(4): 3121-3 (2020).
- [57] Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Bärlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP: Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 4. 844–7 (1998)
- [58] Konrad T, Bär F, Schneider F, Franke S, Böhles H, Vetter G, Balkau B: Factors influencing endothelial function in healthy pre- and postmenopausal women of the EU-RISC study. *Diab Vasc Dis Res.* 8. 229–36 (2011)
- [59] Kuroki M, Yamanaka T, Matsuo Y, Oikawa S, Nakazato H, Matsuoka Y: Immunochemical analysis of carcinoembryonic antigen (CEA)-related antigens differentially localized in intracellular granules of human neutrophils. *Immunol Invest.* 24. 829–43 (1995)
- [60] Kurth F, Luders E, Sicotte NL, Gaser C, Giesser BS, Swerdloff RS, Montag MJ, Voskuhl RR, Mackenzie-Graham A: Neuroprotective effects of testosterone treatment in men with multiple sclerosis. *Neuroimage Clin.* 4. 454–60 (2014)

- [61] Laakso A, Hernesniemi J: Arteriovenous malformations: epidemiology and clinical presentation. *Neurosurg Clin N Am.* 23. 1–6 (2012)
- [62] Langer RD: Hormone replacement and the prevention of cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 89. 36E–46E. discussion 46E (2002)
- [63] Laser A, Ghosh A, Roelofs K, Sadiq O, McEvoy B, DiMusto P, Eliason J, Upchurch GR: Increased estrogen receptor alpha in experimental aortic aneurysms in females compared with males. *J Surg Res.* 186. 467–74 (2014)
- [64] Lasjaunias P: A revised concept of the congenital nature of cerebral arteriovenous malformations. *Interv Neuroradiol.* 3. 275–81 (1997)
- [65] Lawton MT, Kim H, McCulloch CE, Mikhak B, Young WL: A Supplementary Grading Scale for Selecting Patients with Brain Arteriovenous Malformations for Surgery. *Neurosurg.* 66. 702–13 (2010)
- [66] Lawton MT, Rutledge WC, Kim H, Stapf C, Whitehead KJ, Li DY, Krings T, terBrugge K, Kondziolka D, Morgan MK, Moon K, Spetzler RF: Brain arteriovenous malformations. *Nat Rev Dis Primers.* 1. 15008 (2015)
- [67] Li X, Wan R, Wang X, Xue X, Ran D, Wang S: Relevance of IL-6 and MMP-9 to cerebral arteriovenous malformation and hemorrhage. *Mol Med Rep.* 7. 1261–6 (2013)
- [68] Lin CL, Dumont AS, Wu SC, Wang CJ, Hwang SL, Huang YF, Wong WY, Kassell NF, Jeng AY, Kwan AL: 17 β -Estradiol Inhibits Endothelin-1 Production and Attenuates Cerebral Vasospasm After Experimental Subarachnoid Hemorrhage. *Exp Biol Med.* 231 (6) 1054–7 (2006)
- [69] Ludwig P, Sedlacik J, Gelderblom M, Bernreuther C, Korkusuz Y, Wagener C, Gerloff C, Fiehler J, Magnus T, Horst AK: Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 inhibits MMP-9-mediated blood-brain-barrier breakdown in a mouse model for ischemic stroke. *Circ Res.* 113. 1013–22 (2013)
- [70] Luksik AS, Law J, Yang W, Garzon-Muvdi T, Caplan JM, Colby G, Coon AL, Tamargo RJ, Huang J: Assessing the Role of Preoperative Embolization in the Surgical Management of Cerebral Arteriovenous Malformations. *World Neurosurg.* 104. 430–41 (2017)
- [71] MacDonald ME, Dolati P, Mitha AP, Wong JH, Frayne R: Flow and pressure measurements in aneurysms and arteriovenous malformations with phase contrast MR imaging. *Magn Reson Imaging.* 34. 1322–8 (2016)
- [72] Mackenzie JM, Clayton JA: Early cellular events in the penumbra of human spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 8 (1): 1–8 (1999)
- [73] Maekawa H, Tada Y, Yagi K, Miyamoto T, Kitazato KT, Korai M, Satomi J, Hashimoto T, Nagahiro S: Bazedoxifene, a selective estrogen receptor modulator, reduces cerebral aneurysm rupture in Ovariectomized rats. *J Neuroinflammation.* 14. 1–8 (2017)
- [74] Magro E, Gentric JC, Darsaut TE, Ziegler D, Msi, Bojanowski MW, Raymond J: Responses to ARUBA: a systematic review and critical analysis for the design of future arteriovenous malformation trials. *J Neurosurg.* 126. 486–94 (2017)
- [75] Mahajan A, Manchandia TC, Gould G, Bulsara KR: De novo arteriovenous malformations: case report and review of the literature. *Neurosurg Rev.* 33. 115–9 (2010)
- [76] McConnico RS, Weinstock D, Poston ME, Roberts MC: Myeloperoxidase activity of the large intestine in an equine model of acute colitis. *Am J Vet Res.* 60. 807–13 (1999)

- [77] McCormick WF: The Pathology of Vascular (“Arteriovenous”) Malformations. *J Neurosurg.* 24. 807–16 (1966)
- [78] Metindir J, Dilek GB, Pak I: Staining characterization by immunohistochemistry of tumor cancer antigen in patients with endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 29. 489–92 (2008)
- [79] Mohr JP, Parides MK, Stapf C, Moquete E, Moy CS, Overbey JR, Al-Shahi Salman R, Vicaut E, Young WL, Houdart E, Cordonnier C, Stefani MA, Hartmann A, von Kummer R, Biondi A, Berkefeld J, Klijn CJM, Harkness K, Libman R, Barreau X, Moskowitz AJ, international ARUBA investigators: Medical management with or without interventional therapy for unruptured brain arteriovenous malformations (ARUBA): a multicentre, non-blinded, randomised trial. *Lancet.* 383. 614–21 (2014)
- [80] Morales-Valero SF, Bortolotti C, Sturiale CL, Lanzino G: Are parenchymal AVMs congenital lesions? *Neurosurg focus.* 37. Article E2 (2014)
- [81] Mouchtouris N, Jabbour PM, Starke RM, Hasan DM, Zanaty M, Theofanis T, Ding D, Tjoumakaris SI, Dumont AS, Ghobrial GM, Kung D, Rosenwasser RH, Chalouhi N: Biology of cerebral arteriovenous malformations with a focus on inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 35. 167–75 (2015)
- [82] Mullan S, Mojtahedi S, Johnson DL, Macdonald RL: Embryological basis of some aspects of cerebral vascular fistulas and malformations. *J Neurosurg.* 85. 1–8 (1996)
- [83] Mullenix PS, Andersen CA, Starnes BW: Atherosclerosis as Inflammation. *Ann Vasc Surg.* 19. 130–8 (2005)
- [84] Muturi HT, Dreesen JD, Nilewski E, Jastrow H, Giebel B, Ergun S, Singer BB: Tumor and endothelial cell-derived microvesicles carry distinct CEACAMs and influence T-cell behavior. *PLoS ONE.* 8. e74654 (2013)
- [85] Nagashima H, Okudera H, Muraoka S, Hongo K, Kobayashi S: Strategic embolisation for successful resection of a large cerebral arteriovenous malformation. *J Clin Neurosci.* 7 Suppl 1. 86–7 (2000)
- [86] Neil JA, Li D, Stiefel MF, Hu YC: Symptomatic de novo arteriovenous malformation in an adult: Case report and review of the literature. *Surg Neurol Int.* 5 (2014)
- [87] Neumaier M, Paululat S, Chan A, Matthaes P, Wagener C: Biliary glycoprotein, a potential human cell adhesion molecule, is down-regulated in colorectal carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 90. 10744–8 (1993)
- [88] Nguyen HX, O'Barr TJ, Anderson AJ: Polymorphonuclear leukocytes promote neurotoxicity through release of matrix metalloproteinases, reactive oxygen species, and TNF- α . *J Neurochem.* 102 (3): 900-12 (2007)
- [89] Nouvion AL, Oubaha M, Leblanc S, Davis EC, Jastrow H, Kammerer R, Breton V, Turbide C, Ergun S, Gratton JP, Beauchemin N: CEACAM1: a key regulator of vascular permeability. *J Cell Sci.* 123 (24): 4221–30 (2010)
- [90] Packeisen J, Korsching E, Herbst H, Boecker W, Buerger H: Demystified Tissue microarray technology. *Mol Pathol.* 56. 198–204 (2003)
- [91] Pawlikowska L, Tran MN, Achrol AS, McCulloch CE, Ha C, Lind DL, Hashimoto T, Zaroff J, Lawton MT, Marchuk DA, Kwok PY, Young WL, UCSF BAVM Study Project: Polymorphisms in genes involved in inflammatory and angiogenic pathways and the risk of hemorrhagic presentation of brain arteriovenous malformations. *Stroke.* 35. 2294–300 (2004)

- [92] Piao J, Ji T, Guo Y, Xu K, Yu J. Brain arteriovenous malformation with transdural blood supply: Current status. *Exp Ther Med*. 18 (4): 2363-8 (2019)
- [93] Power C, Henry S, Del Bigio MR, Larsen PH, Corbett D, Imai Y, Yong VW, Peeling J: Intracerebral hemorrhage induces macrophage activation and matrix metalloproteinases. *Ann Neurol*. 53. 731–42 (2003)
- [94] Prager S, Singer BB, Bendix I, Schlager GW, Bertling F, Ceylan B, Keller M, Felderhoff-Mueser U, Ergün S: CEACAM1 expression in oligodendrocytes of the developing rat brain shows a spatiotemporal relation to myelination and is altered in a model of encephalopathy of prematurity. *Dev Neurosci*. 35. 226–40 (2013)
- [95] Prall F, Nollau P, Neumaier M, Haubeck HD, Drzeniek Z, Helmchen U, Löning T, Wagener C: CD66a (BGP), an adhesion molecule of the carcinoembryonic antigen family, is expressed in epithelium, endothelium, and myeloid cells in a wide range of normal human tissues. *J Histochem Cytochem*. 44. 35–41 (1996)
- [96] Rangel-Castilla L, Russin JJ, Martinez-Del-Campo E, Soriano-Baron H, Spetzler RF, Nakaji P: Molecular and cellular biology of cerebral arteriovenous malformations: a review of current concepts and future trends in treatment. *Neurosurg Focus*. 37. E1 (2014)
- [97] Rankin J: Cerebral Vascular Accidents in Patients over the Age of 60: II. Prognosis: *Scot Med J*. 2 (5): 200-15 (2016)
- [98] Rutledge WC, Abla AA, Nelson J, Halbach VV, Kim H, Lawton MT: Treatment and outcomes of ARUBA-eligible patients with unruptured brain arteriovenous malformations at a single institution. *Neurosurg Focus*. 37. E8 (2014)
- [99] Sandalcioglu IE, Wanke I, Zappala V, Forsting M, Sure U: The management of arteriovenous malformations. *J Neurosurg Sci*. 55. 57–69 (2011)
- [100] Sandalcioglu IE, Wende D, Eggert A, Müller D, Roggenbuck U, Gasser T, Wiedemayer H, Stolke D: Vascular endothelial growth factor plasma levels are significantly elevated in patients with cerebral arteriovenous malformations. *Cerebrovasc Dis*. 21. 154–8 (2006)
- [101] Sauter G, Mirlacher M: Tissue microarrays for predictive molecular pathology. *J Clin Pathol*. 55. 575–86 (2002)
- [102] Singer BB, Klaile E, Scheffrahn I, Müller MM, Kammerer R, Reutter W, Obrink B, Lucka L: CEACAM1 (CD66a) mediates delay of spontaneous and Fas ligand-induced apoptosis in granulocytes. *Eur J Immunol*. 35. 1949–59 (2005)
- [103] Singer BB, Scheffrahn I, Obrink B: The tumor growth-inhibiting cell adhesion molecule CEACAM1 (C-CAM) is differently expressed in proliferating and quiescent epithelial cells and regulates cell proliferation. *Cancer Res*. 60. 1236–44 (2000)
- [104] Skubitz KM, Skubitz AP: Interdependency of CEACAM-1, -3, -6, and -8 induced human neutrophil adhesion to endothelial cells. *J Transl Med*. 6. 1–12 (2008)
- [105] Skubitz KM, Skubitz APN: Two new synthetic peptides from the N-domain of CEACAM1 (CD66a) stimulate neutrophil adhesion to endothelial cells. *Biopolymers*. 96. 25–31 (2011)
- [106] Sorenson TJ, Brinjikji W, Bortolotti C, Kaufmann G, Lanzino G: Recurrent Brain Arteriovenous Malformations (AVMs): A Systematic Review. *World Neurosurg*. 116. e856–e866 (2018)
- [107] Spetzler RF, Martin NA: A proposed grading system for arteriovenous malformations. *J Neurosurg*. 65 (4): 476-83 (1986)

- [108] Spetzler RF, Ponce FA: A 3-tier classification of cerebral arteriovenous malformations. Clinical article. *J Neurosurg.* 114. 842–9 (2011)
- [109] Stapf C, Mast H, Sciacca RR, Berenstein A, Nelson PK, Gobin YP, Pile-Spellman J, Mohr JP, New York Islands AVM Study Collaborators: The New York Islands AVM Study: design, study progress, and initial results. *Stroke.* 34. e29-33 (2003)
- [110] Stapf C, Mast H, Sciacca RR., Choi JH, Khaw AV, Connolly ES, Pile-Spellman J, Mohr JP: Predictors of hemorrhage in patients with untreated brain arteriovenous malformation. *Neurology.* 66. 1350–5 (2006)
- [111] Starke RM, Komotar RJ, Hwang BY, Hahn DK, Otten ML, Hickman ZL, Garrett MC, Sisti MB, Lavine SD, Meyers PM, Solomon RA, Connolly ES: Systemic expression of matrix metalloproteinase-9 in patients with cerebral arteriovenous malformations. *Neurosurg.* 66. 343–8; discussion 348 (2010)
- [112] Stein KP, Huetter BO, Goericke S, Oezkan N, Leyrer R, Sandalcioglu IE, Forsting M, Sure U, Mueller O: Cerebral arterio-venous malformations in the paediatric population: Angiographic characteristics, multimodal treatment strategies and outcome. *Clin Neurol Neurosurg.* 164: 164-8 (2018)
- [113] Stein KP, Wanke I, Forsting M, Zhu Y, Moldovan AS, Dammann P, Sandalcioglu IE, Sure U: Associated Aneurysms in Supratentorial Arteriovenous Malformations: Impact of Aneurysm Size on Haemorrhage. *Cerebrovasc Dis.* 39. 122–9 (2015)
- [114] Stein KP, Wanke I, Schlamann M, Dammann P, Moldovan AS, Zhu Y, Sure U, Sandalcioglu IE: Posterior fossa arterio-venous malformations: current multimodal treatment strategies and results. *Neurosurg Rev.* 37. 619–28 (2014)
- [115] Steinmeier R, Schramm J, Müller HG, Fahlbusch R: Evaluation of prognostic factors in cerebral arteriovenous malformations. *Neurosurg.* 24. 193–200 (1989)
- [116] Stirone C, Duckles SP, Krause DN: Multiple forms of estrogen receptor-alpha in cerebral blood vessels: regulation by estrogen. *Am. J Physiol Endocrinol Metab.* 284. E184-92 (2003)
- [117] Storer KP, Tu J, Karunanayaka A, Morgan MK, Stoodley MA: Inflammatory molecule expression in cerebral arteriovenous malformations. *J Clin Neurosci.* 15. 179–84 (2008)
- [118] Tejima E, Zhao B-Q, Tsuji K, Rosell A, van Leyen K, Gonzalez RG, Montaner J, Wang X, Lo EH: Astrocytic induction of matrix metalloproteinase-9 and edema in brain hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27. 460–8 (2007)
- [119] Trelakis S, Bruderek K, Dumitru CA, Gholaman H, Gu X, Bankfalvi A, Scherag A, Hütte J, Dominas N, Lehnerdt GF, Hoffmann TK, Lang S, Brandau S: Polymorphonuclear granulocytes in human head and neck cancer: enhanced inflammatory activity, modulation by cancer cells and expansion in advanced disease. *Int J Cancer.* 129. 2183–93 (2011)
- [120] Turtzo LC, McCullough LD: Sex Differences in Stroke. *Cerebrovasc Dis.* 26. 462–74 (2008)
- [121] Untersteiner H: Statistik – Datenauswertung mit Exel und SPSS für Naturwissenschaftler und Mediziner. 2. Aufl. S.87. Facultas Verlags- und Buchhandelsgesellschaft. Wien 2007

- [122] Voskuhl RR, Wang H, Wu TC, Sicotte NL, Nakamura K, Kurth F, Itoh N, Bardens J, Bernard JT, Corboy JR, Cross AH, Dhib-Jalbut S, Ford CC, Frohman EM, Giesser B, Jacobs D, Kasper L.H, Lynch S, Parry G, Racke MK, Reder AT, Rose J, Wingerchuk DM, MacKenzie-Graham AJ, Arnold DL, Tseng CH, Elashoff R: Estriol combined with glatiramer acetate for women with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol.* 15 (1): 35-46 (2016)
- [123] Walker EJ, Su H, Shen F, Choi E-J, Oh SP, Chen G, Lawton MT, Kim H, Chen Y, Chen W, Young WL: Arteriovenous Malformation in the Adult Mouse Brain Resembling the Human Disease. *Ann Neurol.* 69. 954–62 (2011)
- [124] Wang J, Doré S: Inflammation after intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27 (5): 894-908 (2007).
- [125] Wang Z, Newman WH: Smooth muscle cell migration stimulated by interleukin 6 is associated with cytoskeletal reorganization. *J Surg Res.* 111. 261–6 (2003)
- [126] Yabluchanskiy A, Ma Y, Iyer RP, Hall ME, Lindsey ML: Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease. *Physiology (Bethesda).* 28. 391–403 (2013)
- [127] Yasargil MG: *Microneurosurgery in 4 volumes: IIIA - AVM of the Brain, History, Embryology, Pathological Considerations, Hemodynamics, Diagnostic Studies, Microsurgical Anatomy.* pp 284-337. Georg Thieme Verlag. Stuttgart (1987)
- [128] Yılmaz B, Toktaş ZO, Akakin A, Işık S, Bilguvar K, Kılıç T, Günel M: Familial occurrence of brain arteriovenous malformation: a novel ACVRL1 mutation detected by whole exome sequencing. *J Neurosurg.* 126. 1879–83 (2017)
- [129] Ylä-Herttua S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol.* 49 (10): 1015-26 (2007)
- [130] Zhou LX, Dong SZ, Zhang MF: Diagnosis of Vein of Galen aneurysmal malformation using fetal MRI. *J Magn Reson Imaging.* 46. 1535–9 (2017)
- [131] Zhou Y, Wang Y, Wang J, Anne Stetler R, Yang QW: Inflammation in intracerebral hemorrhage: from mechanisms to clinical translation. *Prog Neurobiol.* 115: 25-44 (2014)
- [132] Zuloaga KL, Swift SN, Gonzales RJ, Wu TJ, Handa RJ: The Androgen Metabolite, 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol, Decreases Cytokine-Induced Cyclooxygenase-2, Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Expression, and P-Glycoprotein Expression in Male Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *Endocrinology.* 153. 5949–60 (2012)

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Arteriovenöse Malformation (AVM) – Einteilung nach Spetzler und Martin
Tab. 2	Arteriovenöse Malformation (AVM) - Einteilung nach Spetzler und Ponce
Tab. 3	Modified-Rankin-Scale (mRS)
Tab. 4	Gewebevorbereitung und Entparaffinierung
Tab. 5	Färbeprotokoll Myeloperoxidase (MPO)
Tab. 6	Färbeprotokoll <i>Cluster of differentiation</i> 31 (CD31)
Tab. 7	Verteilung gemäß Altersklassen, Geschlecht und Blutungsanamnese
Tab. 8	Klinische Patientendaten
Tab. 9	Klinische Patientendaten und Blutungsanamnese
Tab. 10	Parenchymale MPO- und CEACAM1-Infiltration, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) nach Spearman
Tab. 11	Parenchymale Immuninfiltration und klinische Parameter, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) nach Spearman
Tab. 12	Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der parenchymalen Immuninfiltration und dem Auftreten eines Blutungsereignisses – logistische Regressionsanalyse
Tab. 13	Endovasale Immunadhäsion und klinische Parameter, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) nach Spearman
Tab. 14	Endothelexpression und klinische Parameter, Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) nach Spearman
Tab. 15	Logistische Regressionsanalyse: Einfluss des Alters (Altersklasse) auf die Endothelexpression von CEACAM1
Tab. 16	Klinische Patientendaten im Literaturvergleich

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1** Schematische Darstellung physiologischer Angioarchitektur mit dazwischengeschaltetem Kapillarbett (a) sowie Angioarchitektur einer AVM (b)
- Abb. 2** 21-jährige Patientin mit rechts temporaler Angiomblutung
- Abb. 3** Mikrochirurgische Exstirpation einer rechts temporalen, präembolisierten AVM SM-Grad II
- Abb. 4** Multimodale Therapie einer rechts temporalen, präembolisierten AVM SM-Grad II
- Abb. 5** Schematische Übersicht - Inflammation und AVM, modifiziert nach Mouchtouris et al.
- Abb. 6** Schematische Darstellung des Aufbaus von *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1), modifiziert nach Gray-Owen und Blumberg
- Abb. 7** Mögliche Wirkung von *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) auf Neutrophile Granulozyten
- Abb. 8** Arbeitsschema: Anfertigung von TMAs zur Identifikation von Gewebemarkern
- Abb. 9** *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) -Expression (a) und Myeloperoxidase (MPO) -Expression (b) in äquivalenten Gewebeschnitten eines Patienten mit Arteriovenöser Malformation (AVM); 20-fache Vergrößerung
- Abb. 10** *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) Expression (a) und *Cluster of differentiation 31* (CD31) Expression (b) am Endothel; 10-fache Vergrößerung
- Abb. 11** *Tissue-microarray* (TMA) mit mehreren Gewebecores von AVM-Resektaten
- Abb. 12** Parenchymale Immuninfiltration mit *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) -positiven Zellen (*Immunoreactive-score* (IRS) Methode); 10-fache Vergrößerung.

- Abb. 13** Parenchymale Immuninfiltration mit Myeloperoxidase (MPO) -positiven Zellen (*Immunoreactive-score* (IRS) Methode); 15-fache Vergrößerung.
- Abb. 14** Endovasale Immunadhäsion mit *Carcinoembryonic-antigen-related cell adhesion molecule 1* (CEACAM1) positiven Immunzellen am Endothel; 10-fache Vergrößerung
- Abb. 15** Altersverteilung der Gesamtkohorte, geordnet nach Altersklassen
- Abb. 16** Altersverteilung geordnet nach Subgruppen
- Abb. 17** Exakte Lokalisation der Arteriovenösen Malformation (AVM) im Gesamtkollektiv (n = 58)
- Abb. 18** Spetzler-Martin-Grad in den Geschlechtsgruppen (n=58)
- Abb. 19** Spetzler-Martin-Grad in Abhängigkeit von der Blutungsanamnese (n=58)
- Abb. 20** Zusammenhang zwischen parenchymaler Immuninfiltration und Blutungsanamnese
- Abb. 21** Zusammenhang zwischen parenchymaler Immuninfiltration und Operationszeitpunkt
- Abb. 22** Zusammenhang zwischen endovasaler Immunadhäsion und Blutungsanamnese
- Abb. 23** Zusammenhang zwischen endovasaler Immunadhäsion und Operationszeitpunkt
- Abb. 24** Zusammenhang zwischen CEACAM1-Expression am und Alter
- Abb. 25** Zusammenhang zwischen Endothelexpression und Blutungsanamnese
- Abb. 26** Zusammenhang zwischen Endothelexpression und Operationszeitpunkt

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei allen, die mich bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Zunächst bei der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg für die Möglichkeit einer externen Promotion.

Herrn Professor Dr. I.Erol Sandalcioglu danke ich für den Anstoß zu dieser Dissertation und die Vergabe des Themas.

Besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Klaus-Peter Stein für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit, auch über die räumliche Distanz von 350km hinweg.

Ebenso danke ich Frau Dr. rer. nat. Claudia Dumitru und Herrn PD Dr. Belal Neyazi, außerdem Herrn Prof. Dr. Christian Hartmann sowie Herrn Prof. Dr. Ludwig Wilkens ohne deren Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Vielen Dank auch an die Erwin-Röver-Stiftung, deren Förderprogramm einige Grundvoraussetzungen für diese Arbeit geschaffen hat.

Ich danke Freunden und Familie, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen, wann immer es nötig war. Meinem Mann Matthias und meinem kleinen Sohn Karl möchte ich ganz besonders danken, da sie an so vielen Tagen und Abenden meine Aufmerksamkeit teilen mussten.

Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel „Die Expression von CEACAM 1 in cerebralen Arteriovenösen Malformationen und ihre potentielle Bedeutung für eine Blutung“ in der Neurochirurgischen Klinik der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg unter Betreuung von PD Dr. med. Klaus-Peter Stein ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Diese Studie entstand im Rahmen eines Forschungsprojekts, das durch die Erwin-Röver-Stiftung (Adelheidstraße 4 / 5, 30171 Hannover) unterstützt wurde.

Teile der Ergebnisse dieser Dissertation wurden unter folgendem Titel bereits publiziert:

Neyazi B, Herz A, Stein KP, Gawish I, Hartmann C, Wilkens L, Erguen S, Dumitru CA, & Sandalcioglu IE: Brain arteriovenous malformations: implications of CEACAM1-positive inflammatory cells and sex on hemorrhage. Neurosurg rev. 40(1), 129–34 (2017)

Dortmund, den _____

Angelika Herz

