

Aus der Klinik für Neurologie
(Direktor: Prof. Dr. med. H.-J. Heinze)
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

**Stadienabhängige Progression der zerebralen Mikroangio-
pathie als Teil einer altersassoziierten Systemerkrankung –
eine longitudinale Studie an der „Spontaneously Hyperten-
sive Stroke-Prone Rat“**

Habilitationsschrift

Zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. habil

(doctor medicinae habilitatus)

an der Medizinischen Fakultät

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von	Dr. med. Stefanie Schreiber
aus	Magdeburg
Magdeburg	21.05.2013

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	II
Erklärung	IV
Danksagung	V
Auflistung der Publikationen	VII
Zusammenfassung der Publikationen P1, P2, P6, P7, P9, P11, P12, P13 und P17	1
1 Humane zerebrale Mikroangiopathie (Cerebral small vessel disease)	1
2 Das Modell der „Spontaneously Hypertensive Stroke-Prone Rat“ (SHRSP)	7
3 Initiale mikrovaskuläre Dysfunktion	9
4 Mikroangiopathische Kaskade	19
5 Hypertensive Nephropathie	24
6 Zerebrale Mikroangiopathie und Hypertensive Nephropathie	28
7 Zusammenfassung und Ausblick	33
Abbildungsverzeichnis	38
Tabellenverzeichnis	39

Abkürzungen

A β	Amyloid β
AUC	Area under the Curve
CAA	Zerebrale Amyloidangiopathie
CTA	computertomographischer Angiographie
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
IgG	Immunglobulin G
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
HITS	High-Intensity Transient Signals
LDL	Low Density Lipoprotein
MRT	Magnetresonanztomographie
MRA	Magnetresonanzangiographie
NaCl	Natriumchlorid
NG2	Neurales Gliaantigen 2/Chondroitinsulfatproteoglycan 4
ROC-Kurve	Receiver-Operating-Characteristic-Kurve
SHR	Spontaneously Hypertensive Rat
SHRSP	Spontaneously Hypertensive Stroke-Prone Rat
SMA	α -Smooth-Muscle-Actin
SPECT	Einzelphoton-Emissionscomputertomographie, single photon emission computed tomography
SPIO	Eisenoxidnanopartikel, superparamagnetic iron oxide
STL	Solanum Tuberosum Lectin
Thrombo	Thrombozyten

TOF	Time-of-Flight
201-TI-DDC	201-Thallium-Diethyldithiocarbamat
vWF	von Willebrand Faktor

Erklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät zur Habilitation eingereichte Habilitationsschrift mit dem Titel *Stadienabhängige Progression der zerebralen Mikroangiopathie als Teil einer altersassoziierten Systemerkrankung – eine longitudinale Studie an der „Spontaneously Hypertensive Stroke-Prone Rat“* in der Klinik für Neurologie selbständig erarbeitet und angefertigt habe. Die mir zuteil gewordene Hilfe ist in der Danksagung aufgeführt.

Bei der Abfassung der Habilitationsschrift sind Rechte Dritter nicht verletzt worden. Ich habe die Habilitationsschrift bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule/Universität zur Habilitation eingereicht.

Ich übertrage der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg das Recht, weitere Kopien meiner Habilitationsschrift anzufertigen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 21.05.2013

Danksagung

Zu tiefstem Dank verpflichtet bin ich Herrn Professor Dr. med. Hans-Jochen Heinze, der mir die der Habilitation zugrunde liegende Datenerhebung im Sinne der Projektinitiierung und –finanzierung ermöglichte, mir die hierfür notwendigen Freiräume ließ und mich kontinuierlich begleitete, ermutigte und motivierte, den eingeschlagenen wissenschaftlichen Weg zu beschreiten und fortzuführen.

Danken möchte ich darüber hinaus Herrn Prof. Dr. rer. nat. Klaus Reymann für den Aufbau einer sehr guten und dauerhaft tragfähigen Verbindung zwischen den am Projekt beteiligten klinischen Partnern und Grundlagenforschern, für die kontinuierliche Projektbegleitung und –finanzierung, die fachliche Beratung und die Möglichkeit zur Nutzung der vorhandenen Infrastruktur und Expertise.

Besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Michael Görtler für die Heranführung an das wissenschaftliche Arbeiten, gemeinsame wissenschaftliche Vorarbeiten auf dem Gebiet der makroangiopathisch-vaskulären Neurologie, die Mitebnung der Wege zur Habilitation sowie für die Unterstützung bei der Initiierung des vorliegenden Grundlagenprojektes.

Mein tiefer Dank gilt Frau Cornelia Garz, die einen großen Teil der vorliegenden Daten erhoben, das Grundlagenprojekt im Labor im gemeinsamen Sinne und in fortwährender Rückmeldung an mich mit koordiniert und organisiert hat. Zu sehr großem Dank verpflichtet bin ich darüber hinaus Frau Celine Zoe Büche, die große Anteile der immunhistochemischen Daten erhoben hat und Herrn Dr. rer. nat. Holger Braun, der mir ein sehr guter Diskussions- und Projektpartner bei der Interpretation und Präsentation der Daten war.

Danken möchte ich darüber hinaus Herrn Prof. Dr. rer. nat. Siegfried Kropf für die Aufarbeitung der Daten unter Verwendung komplexer statistischer Verfahren, Frau Dr. rer. nat. Stine Mencl und Herrn Prof. Dr. med. Christoph Kleinschnitz, Universitätsklinikum Würzburg, für die Durchführung der Magnetresonanztomographien, Herrn Dr. Alan Morris, Frau Dr. Roxana Carare und Frau Dr. Cheryl Hawkes, Southampton, für die Überlassung der elektronenmikroskopischen Daten und die Hilfestellungen bei der Durchführung der Anti-Amyloid- β -Färbungen, Frau Solveig Niklaß (2-Photon-Mikroskopie) und Frau Friederike Held, die mittels eigener Daten-

erhebungen das begonnene Projekt weiterentwickeln sowie allen Kollegen, die zur Ergebnisfindung, dem Gelingen des Projektes und der Möglichkeit des Erwerbes der Voraussetzungen zur Habilitation beigetragen haben (in alphabetischer Reihenfolge): Frau Prof. Dr. med. Kerstin Amann (Erlangen), Herr Prof. Dr. rer. nat. Frank Angenstein, Herr Dr. med. Jürgen Goldschmidt, Frau Ines Heinemann, Frau PD Dr. med. Dörthe Küster, Herr Prof. Dr. med. Christian Mawrin, Herr Prof. Dr. med. Peter Mertens, Herr Dr. med. Andreas Oldag, Herr Prof. Dr. med. Stefan Vielhaber, Herr Cheng Zhu.

Ein ganz persönlicher Dank gilt meiner Familie, die meinen wissenschaftlichen Werdegang zu jeder Zeit bedingungslos unterstützt hat.

Auflistung der Publikationen

(nach Erscheinungsdatum geordnet)

P1. Bueche CZ, Garz C, Kropf S, Bittner D, Li W, Goertler M, Heinze HJ, Reymann KR, Braun H, Schreiber S. NAC changes the course of cerebral small vessel disease in SHRSP and reveals new insights for the meaning of stases. *Exp Transl Stroke Med.* 2013 Apr 15;5(1):5.

P2. Schreiber S, Bueche CZ, Garz C, Braun H. Blood brain barrier breakdown as the starting point of cerebral small vessel disease? - New insights from a rat model. *Exp Transl Stroke Med.* 2013 Mar 14;5(1):4.

P3. Schreiber S, Oldag A, Kornblum C, Kollwe K, Kropf S, Schoenfeld A, Feistner H, Jakubiczka S, Kunz WS, Scherlach C, Tempelmann C, Mawrin C, Dengler R, Schreiber F, Goertler M, Vielhaber S. Sonography of the median nerve in CMT1A, CMT2A, CMTX and HNPP. *Muscle Nerve.* 2013 Mar;47(3):385-95. **IF 2011: 2.367.**

P4. Vielhaber S, Debska-Vielhaber G, Peeva V, Schoeler S, Kudin AP, Minin I, Schreiber S, Dengler R, Kollwe K, Zuschratter W, Kornblum C, Zsurka G, Kunz WS. Mitofusin 2 mutations affect mitochondrial function by mitochondrial DNA depletion. *Acta Neuropathol.* 2013 Feb;125(2):245-56. **IF 2011: 9.320.**

P5. Oldag A, Schreiber S, Schreiber S, Heinze HJ, Meyer F, Weber M, Halloul Z, Goertler M. Risk of wound hematoma at carotid endarterectomy under dual antiplatelet therapy. *Langenbecks Arch Surg.* 2012 Dec;397(8):1275-82. **IF 2011: 1.807.**

P6. Oldag A, Goertler M, Bertz AK, Schreiber S, Stoppel C, Heinze HJ, Kopitzki K. Assessment of Cortical Hemodynamics by Multi-Channel Near-Infrared Spectroscopy in Steno-Occlusive Disease of the Middle Cerebral Artery. *Stroke.* 2012 Nov;43(11):2980-5. **IF 2012: 5.729.**

P7. Schreiber S, Garz C, Bueche C, Kuester D, Kropf S, Westphal S, Isermann B, Oldag A, Heinze HJ, Goertler M, Reymann K, Braun H. Do basophile structures as age-dependent phenomenon indicate small vessel wall damage? *Microvasc Res.* 2012 Nov;84(3):375-7. **IF 2011: 2.985.**

- P8.** Matzke M, Schreiber S, Eloff E, Metz I, Mawrin C, Heinze HJ, Sailer M. Natalizumab-associated central nervous system lymphoma? - another patient. *Mult Scler.* 2012 Nov;18(11):1653-4. **IF 2011: 4.255.**
- P9.** Braun H, Bueche CZ, Garz C, Oldag A, Heinze HJ, Goertler M, Reymann KG, Schreiber S. Stases are associated with blood-brain barrier damage and a restricted activation of coagulation in SHRSP. *J Neurol Sci.* 2012 Nov 15;322(1-2):71-6. **IF 2011: 2.441.**
- P10.** Matzke M, Schreiber S. Methylprednisolon in Kombination mit Interferon β -1b bei einer Patientin mit persistierender entzündlicher Aktivität nach Mitoxantrontherapie. *Akt Neurol* 2012; 39(S 01): S43-S45. **IF 2011: 0.318.**
- P11.** Schreiber S, Bueche CZ, Garz C, Kropf S, Angenstein F, Goldschmidt J, Neumann J, Heinze HJ, Goertler M, Reymann KG, Braun H. The pathologic cascade of cerebrovascular lesions in SHRSP: is erythrocyte accumulation an early phase? *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012 Feb;32(2):278-90. **IF 2011: 5.008.**
- P12.** Schreiber S, Bueche CZ, Garz C, Kropf S, Kuester D, Amann K, Heinze HJ, Goertler M, Reymann KG, Braun H. Kidney pathology precedes and predicts the pathological cascade of cerebrovascular lesions in stroke prone rats. *PLoS One.* 2011;6(10):e26287. **IF 2011: 4.092.**
- P13.** Schreiber S, Schreiber F, Glaser M, Skalej M, Heinze HJ, Goertler M. Detecting artery occlusion and critical flow diminution in acute ischemic stroke - methodological pitfalls of common vascular diagnostics. *Ultraschall Med.* 2011 Jun;32(3):274-80. **IF 2011: 2.398.**
- P14.** Schreiber S, Bernstein HG, Fendrich R, Stauch R, Ketzler B, Dobrowolny H, Steiner J, Schreiber F, Bogerts B. Increased density of GAD65/67 immunoreactive neurons in the posterior subiculum and parahippocampal gyrus in treated patients with chronic schizophrenia. *World J Biol Psychiatry.* 2011 Feb; 12(1):57-65. **IF 2011: 2.385.**

P15. Schreiber S, Prox-Vagedes V, Eloff E, Brueggemann I, Gademann G, Galazky I, Bartels C. Bilateral posterior RION after concomitant radiochemotherapy with temozolomide in a patient with glioblastoma multiforme: a case report. ***BMC Cancer.*** 2010 Oct 1;10:520. **IF 2012: 3.15.**

P16. Schreiber S, Schoof J, Heinze HJ, Kozian A, Huth C, Kropf S, Goertler M. Implementation and efficacy of selective sonographic screening for carotid disease before cardiac surgery. ***Ann Vasc Surg.*** 2010 Apr;24(3):382-7. **IF 2011: 1.236.**

P17. Schreiber S, Serdaroglu M, Schreiber F, Skalej M, Heinze HJ, Goertler M. Simultaneous occurrence and interaction of hypoperfusion and embolism in a patient with severe middle cerebral artery stenosis. ***Stroke.*** 2009 Jul; 40(7): e478 – 480. **IF 2012: 5.729.**

Zusammenfassung der Publikationen P1, P2, P6, P7, P9, P11, P12, P13 und P17

1 Humane zerebrale Mikroangiopathie (Cerebral small vessel disease)

Die Mikroangiopathie ist eine Erkrankung der Kapillaren, Arteriolen und Venolen und tritt altersabhängig als Systemerkrankung mit Schädigung multipler Organe auf („systemic arteriolar dysfunction“) (Thompson et al. 2009; Wardlaw et al. 2013). Strukturelle mikrovaskuläre Veränderungen sind dabei vor allem in Retina, Niere und Gehirn, aber auch in Leber, Herz und Lunge zu finden (Thompson et al. 2009; Cheung et al. 2010). Klinisch-funktionelle Symptome manifestieren sich in Form von Sehstörungen, Niereninsuffizienz, akuten Schlaganfällen als Folge von Infarkten in strategisch wichtigen Hirnarealen oder in Form kognitiver Defizite (Wardlaw et al. 2003; Bidani et al. 2004; Thompson et al. 2009; Hamann et al. 2012; Smith et al. 2012).

Im Rahmen einer zunehmenden Überalterung der Industrienationen kommt es aktuell und perspektivisch zu einer exponentiell-rasanten Zunahme von an einer Demenz erkrankten Patienten in Deutschland, wobei Alzheimer, vaskuläre und gemischte Demenz die führend auftretenden Subtypen darstellen (Deuschl et al. 2009). Neben einer hohen individuellen emotionalen und finanziellen Belastung der betroffenen Patienten und derer sie oftmals pflegenden Angehörigen, haben die hohen Prävalenzen und Inzidenzen von Demenzerkrankungen erhebliche sozioökonomische Folgen für die gesamte Bevölkerung (Deuschl et al. 2009). Eine Einflussnahme auf diese Entwicklung erfordert ein detailliertes Verständnis der diesen Demenzformen zugrunde liegenden Pathophysiologien, um präventive, diagnostische und therapeutische Maßnahmen zu entwickeln, die einem kognitiven Verfall vorbeugen, diesen frühzeitig erkennen und/oder dessen Progredienz aufhalten könnten.

Human erfolgt die apparative Diagnosestellung der zerebralen Mikroangiopathie anhand des in der Magnetresonanztomographie (MRT) kombinierten Nachweises pathognomonischer struktureller Veränderungen inklusive von akuten lakunären Infarkten (axialer Durchmesser maximal 20 mm), Lakunen (Durchmesser 3 bis 15 mm), vornehmlich symmetrischer T2- und FLAIR(Fluid Attenuated Inversion Recovery)-hyperintenser Läsionen periventrikulär, pontin und innerhalb der zerebralen und zerebellären Hemisphären sowie von T2*-hypointenser Mikroblutungen definiert anhand einen maximalen Durchmesser von 10 mm (Thompson et al. 2009; Patel et al.

2011; Hamann et al. 2012; Smith et al. 2012; Park et al. 2013; Provenzano et al. 2013; Wardlaw et al. 2013). Erweiterte, vermehrt mit Liquor gefüllte perivaskuläre Räume werden darüber hinaus in T1- und T2-gewichteten Sequenzen in den Basalganglien, der subkortikalen weißen Substanz sowie im lateralen Frontal-, Temporal- und Parietallappen gefunden (Wardlaw et al. 2013).

T2- und FLAIR-hyperintense Läsionen der weißen Substanz sowie Mikroblutungen werden nicht nur im Zusammenhang mit der klinisch diagnostizierbaren klassischen subkortikalen vaskulären Demenz nachgewiesen, sondern sind auch mit dem Auftreten primär neurodegenerativ-kortikaler Erkrankungen, wie der Alzheimer-Krankheit assoziiert (Deuschl et al. 2009; Park et al. 2013; Provenzano et al. 2013). Mikro- und Miniblutungen (nur mikroskopisch nachweisbar), lakunäre Infarkte und Mikroinfarkte (nur mikroskopisch nachweisbar) sowie Veränderungen der subkortikalen weißen Substanz werden postmortal darüber hinaus bei der frontotemporalen und der Lewy-Body-Demenz gefunden (De Reuck et al. 2011; Smith et al. 2012).

Die bisherigen pathophysiologischen Vorstellungen der zerebralen Mikroangiopathie orientieren sich im Wesentlichen an dem Verständnis der Pathogenese der zerebralen Makroangiopathie. Die zerebrale Makroangiopathie stellt eine Erkrankung der extrakraniellen hirnzuführenden Arterien, der intrakraniellen Arterien der Schädelbasis (Circulus arteriosus Willisii) sowie der distalen das Hirnparenchym penetrierenden tiefen (lenticulostriata, thalamoperforata) und oberflächlichen, sich aus den leptomeningealen Gefäßen verzweigenden Arterien dar und ist, neben seltenen Ursachen wie Dissektionen oder Vaskulitiden, vornehmlich die Folge einer langjährigen Einwirkung von (kombiniert auftretenden) vaskulären Risikofaktoren inklusive von Nikotinkonsum, arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus und Fettstoffwechselstörungen mit nachfolgender Arteriosklerose. Die Bedeutung der vaskulären Risikofaktoren für die Entwicklung einer zerebralen Mikroangiopathie wird hingegen, mit weitgehender Ausnahme der regelmäßig mit dem Auftreten von T2- und FLAIR-hyperintenser Marklagerläsionen assoziierten arteriellen Hypertonie, kontrovers diskutiert (Lammie et al. 1997; Wardlaw et al. 2013).

Die komplexe Histopathologie der Arteriosklerose ist durch Intimaproliferation, die Akkumulation von proinflammatorisch aktiven T-Lymphozyten, Makrophagen und Makrophagen-ähnlichen mit Lipiden beladenen Schaumzellen, eine subendotheliale Ansammlung von Low-Density-Lipoprotein (LDL)-Cholesterol, verkalkte wand-

ständige Plaque mit einem nekrotischen Kern aus apoptotischen Zellen und Cholesterolkristallen gekennzeichnet, die in ihrer Kombination in einer zunehmenden Zerstörung der Gefäßwand mit lokalen, sekundär hämorrhagischen Wandrupturen, Stenosen und partiellen/kompletten Thrombosen resultieren (Grinberg et al. 2010; Weber et al. 2011).

Pathophysiologisch führt die zerebrale Makroangiopathie durch eine poststenotische und/oder postokklusive Minderperfusion des angrenzenden Hirngewebes sowie über die Ablösung von wandständigem (emboligenen) (Plaque-) Material in das poststenotische arterielle Stromgebiet zu Infarkten (Siebler et al. 1993; Siebler et al. 1995; Daffertshofer et al. 1996; Ries et al. 1996; Siebler et al. 1996; Momjian-Mayor et al. 2005). Die Hirninfarktkonfiguration kann einer vornehmlich emboligenen (Territorialinfarkt) oder einer vornehmlich hämodynamischen, mit einer zerebralen Minderperfusion einhergehenden (Infarkte der inneren und äußeren/kortikalen Grenzzonen, „Watershed Infarctions“, Momjian-Mayor et al. 2005) Ätiologie entsprechen; Infarktkonfigurationen, die mit einer kombinierten Ätiologie aus Embolien und Minderperfusionsen vereinbar sind, werden im klinischen Alltag regelhaft nachgewiesen (Caplan et al. 1998; Sedlaczek et al. 2005; Caplan et al. 2006, **P17**). Ein möglicher Erklärungsansatz für das parallele Auftreten von embolischer und hämodynamischer Infarktgenese ist der reduzierte Abtransport („Washout“/“Clearance“, Caplan et al. 1998) von embolischem Material, das sich aus dem makroangiopathisch veränderten Gefäß in dessen nachgeschaltete minderperfundierte Äste abgelöst hat (Caplan et al. 1998; Sedlaczek et al. 2005; Caplan et al. 2006, **P17**).

Emboligene sowie hämodynamische Relevanz und Potenz einer zerebralen Makroangiopathie lassen sich anhand eines breiten Spektrums an bildgebenden Verfahren, inklusive von Angiographie, Ultraschall und Nahinfrarotspektroskopie sowie deren sinnvoll kombiniertem Einsatz unter Berücksichtigung der Limitationen der einzelnen Techniken inzwischen hervorragend diagnostizieren (**P6, P13**). Dabei sei auf die eingeschränkte bis fehlende Nachweisbarkeit einer poststenotischen/-okklusiven Blutflussreduktion, einer prästenotischen/-okklusiven Blutflussszillation und/oder eines langstreckig-makroangiopathisch veränderten Gefäßes mittels des alleinigen Einsatzes von computertomographischer Angiographie (CTA) oder Magnetresonanztomographie (MRA, Time-of-Flight(TOF)- und Kontrastgestützte Technik) sowie auf eine Methodenspezifische Artefaktanfälligkeit und den noch im klinischen Alltag zu eta-

blierenden Parametern zur Detektion einer zerebralen Minderperfusion der Nahinfra-
rotspektroskopie hingewiesen (**P6, P13**). Eine parallele Diagnostik mittels vaskulärem
Ultraschall ermöglicht nicht nur die sichere Detektion von Blutflussreduktion und –
oszillation (**P13**), sondern erlaubt anhand von Messungen der zerebrovaskulären
Reservekapazität (Bestimmung der mittleren Strömungsgeschwindigkeit der distal
einer zerebralen Makroangiopathie gelegenen Gefäßabschnitte unter Hypo- und Hy-
perkapnie) und der von Mikroembolisignalen entsprechenden High-Intensity Tran-
sient Signals (HITS) den kombinierten Nachweis von einer mit der zerebralen Makro-
angiopathie assoziierten Minderperfusion und emboligenen Potenz (Goertler et al.
1999; Goertler et al. 2001; Goertler et al. 2002; Blaser et al. 2004; Goertler et al.
2005; Schoof et al. 2007, **P17**).

Im Gegensatz zur zerebralen Makroangiopathie gründet das pathophysiologische
Verständnis der zerebralen Mikroangiopathie aufgrund der im klinischen Alltag weit-
gehend fehlenden Möglichkeiten der direkten intravitalen Darstellung der kleinen
Hirngefäße auf wenigen systematischen Autopsiestudien. Degenerative Wandverän-
derungen umfassen eine Arteriosklerose der intrazerebralen kleinen Gefäße der
weißen Substanz, der Basalganglien und im Verlauf auch des Hirnstammes; die ätio-
pathogenetische und histologische Abgrenzbarkeit der Arteriosklerose zu der paral-
lel und in den gleichen Hirnregionen nachweisbaren Lipohyalinose ist unzureichend
definiert (Lammie et al. 1997; Lammie 2002; Grinberg et al. 2010). Es wird beschrie-
ben, dass die Arteriosklerose histopathologische Ähnlichkeiten mit der Arterioskle-
rose aufweist und in intrazerebralen Arteriolen und Arterien mit einem Durchmesser
von 40 bis 150 µm auftritt, während die Lipohyalinose historisch mit einer als un-
scharf definierten „fibrinoiden“, nicht inflammatorischen Gefäßwandnekrose mit ei-
nem Verlust der glatten Muskulatur der Tunica muscularis, Fibrinablagerungen (ins-
gesamt als „leuchtend rotes fibrinoides Material/amorphe dunkelrote Masse“ in der
Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung nachweisbar, Fisher 1968) und einer wandständigen
Akkumulation von Plasmaproteinen einhergeht sowie Gefäße mit einem Durch-
messer von 40 bis 300 µm affiziert (Grinberg et al. 2010). Die inzwischen als histo-
risch einzuordnende „segmental arterial disorganization“ (Fisher 1968) weist neben
einer Erweiterung der Gefäßwand und perivaskulären Hämorrhagien histopathologi-
sche Phänomene sowohl der Arteriosklerose (Schaumzellen) als auch der Lipohya-
linose („fibrinoides Material“) auf und lässt, aufgrund ihrer Nachweisbarkeit direkt in-
nerhalb von Lakunen an eine Thrombose der kleinen Gefäße als Ursache dieser In-

farktresiduen denken (Fisher 1968; Wardlaw et al. 2013). Eine in Analogie zur makroangiopathischen Arteriosklerose mögliche emboligene Potenz der mikroangiopathisch veränderten Gefäße wird inzwischen als wenig bedeutsam für die Entstehung von lakunären Infarkten und Lakunen angesehen (Wardlaw et al. 2013).

Darauf, dass sowohl Thrombosebildung als auch Embolien keinen ausreichenden Erklärungsansatz für die Entstehung von mikroangiopathischen Infarkten darstellen, weist die fehlende Wirksamkeit einer kombinierten, bei prädominant emboligener zerebraler Makroangiopathie hochwirksamen, Therapie mit den Thrombozytenaggregationshemmern Acetylsalicylsäure und Clopidogrel in der Schlaganfallsekundärprophylaxe bei Patienten mit zerebraler Mikroangiopathie hin (Benavente et al. 2012; Manchak et al. 2012; Diener et al. 2013).

Der Vollständigkeit halber sei die zerebrale Amyloidangiopathie (CAA) als weitere im Rahmen einer zerebralen Mikroangiopathie, einer vaskulären oder Alzheimer Demenz nachweisbaren degenerativen Wandveränderung erwähnt (Grinberg et al. 2010). Die CAA ist die Folge von Amyloid- β (A β)-Akkumulationen innerhalb der endothelialen Basalmembranen und, soweit vorhanden, innerhalb der Basalmembranen der Tunica muscularis und Tunica adventitia von Kapillaren, kleinen Arterien und Venolen; sie betrifft im Gegensatz zur Arteriolosklerose und Lipohyalinose vornehmlich kortikale und leptomeningeale Gefäße und soll in Analogie zur zerebralen Makroangiopathie mit einer Minderperfusion des angrenzenden Hirnparenchyms einhergehen (Weller et al. 2008a; Weller et al. 2008b; Weller et al. 2009a; Weller et al. 2009b; Grinberg et al. 2010; Hawkes et al. 2011).

Inwiefern und in welchem Ausmaß histologische Funde der zerebralen Mikroangiopathie und deren in der zerebralen Bildgebung nachweisbaren Pathologien miteinander korrelieren ist nicht abschließend untersucht. Gemeinsam ist allen Veränderungen jedoch deren bereits fortgeschrittener Charakter, während die das Vollbild der humanen zerebralen Mikroangiopathie initiierenden Phänomene weitgehend unbekannt sind, deren Kenntnis und Verständnis jedoch von herausragender Bedeutung für Prävention und Therapie wären.

Klinisch zeigen sich darüber hinaus eindeutige Assoziationen zwischen einer zerebralen Mikroangiopathie und einer Niereninsuffizienz, nachweisbar anhand signifikanter Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von zerebralen Marklagerläsionen,

lakunären Infarkten, Mikroblutungen, vaskulärer und Alzheimer Demenz und einer Reduktion der glomerulären Filtrationsrate, einem erhöhten Serumkreatinin sowie einer Proteinurie (Khatri et al. 2007; Ikram et al. 2008; Shima et al. 2009; Thompson et al. 2009; Cho et al. 2009; Ovbiagele et al. 2010; Oksala et al. 2010; Helmer et al. 2011).

Ungeklärt und für Prävention, Früherkennung und Therapie der zerebralen Mikroangiopathie von hoher klinischer Relevanz sind die Fragen, inwiefern die Schweregrade der zerebralen Mikroangiopathie mit dem Stadium der Niereninsuffizienz korrelieren und, ob anhand der Kenntnis über das Vorliegen einer renalen Schädigung auf die Ausprägung der Hirnveränderungen geschlossen werden kann.

2 Das Modell der „Spontaneously Hypertensive Stroke-Prone Rat“ (SHRSP)

Eine systematische Aufarbeitung der Chronologie histopathologischer Phänomene, das Verständnis eines der zerebralen Mikroangiopathie möglicherweise zugrunde liegenden Initialphänomens und Verlaufsstudien zur Assoziation zwischen zerebraler Mikroangiopathie und Nephropathie sind nur unter Verwendung eines longitudinalen experimentellen Ansatzes am Tier möglich.

In der Literatur wird die Eignung einzelner Modelle zur Darstellung mikroangiopathischer Hirnveränderungen kontrovers diskutiert (Hainsworth et al. 2008; Bailey et al. 2009). Die „Spontaneously Hypertensive Stroke-Prone Rat“ (SHRSP) kann dabei, aufgrund der Kombination aus vaskulärem Risikoprofil mit genetisch verankerter arterieller Hypertonie (Okamoto et al. 1974; Yamori et al. 1976; Judy et al. 1976; Yamori et al. 1977; McGiff et al. 1981; Inagami et al. 1991; Obata et al. 2000; Savage et al. 2002), mikroangiopathisch typischer Histologie und spontaner Infarktentwicklung (Yamori et al. 1976; Fredriksson et al. 1985; Tagami et al. 1987; Fredriksson et al. 1987; Fredriksson et al. 1988b) als valides Tiermodell zur Untersuchung der zerebralen Mikroangiopathie eingeschätzt werden (Hainsworth et al. 2008; Bailey et al. 2009; Wardlaw et al. 2013). Darüber hinaus entwickeln die Tiere eine Nephropathie mit eingeschränkter glomerulärer Filtrationsrate, erhöhten Serumkreatininwerten, Protein- und Glukosurie sowie eine Insulinresistenz mit Hyperinsulinämie und zeigen erhöhte freien Fettsäuren im Serum (Feld et al. 1977; Swislocki et al. 1993, **P12**).

Die SHRSP wurde aus der „Spontaneously Hypertensive Rat“ (SHR) gemäß der Kriterien einer signifikant höheren spontanen Infarkt- und Schlaganfallinzidenz gezüchtet und weist eine altersabhängig-progrediente arterielle Hypertonie mit initialen systolischen Blutdruckwerte um 140 mmHg auf (5. Lebenswoche, Männchen & Weibchen), die sich in der 20. (Männchen) bzw. 30. (Weibchen) Lebenswoche asymptotisch einem Wert von etwa 220 mmHg nähern (Okamoto et al. 1974; Yamori et al. 1976; Yamori et al. 1977). Histopathologische Funde in der SHRSP umfassen degenerative Wandveränderungen kleiner Gefäße mit Akkumulationen von Plasmaproteinen, Blut-Hirn-Schranken-Störungen, Thrombosen, Infarkte in Basalganglien und kortikalen Regionen, intrazelluläre Ödeme in Neuronen und Astrozyten sowie zys-

tisch-transformierte, häufig von Astrozyten umgebene Läsionen in der grauen und weißen Substanz (Okamoto et al. 1974; Fredriksson et al. 1985; Tagami et al. 1987; Fredriksson et al. 1987; Fredriksson et al. 1988a; Fredriksson et al. 1988b; Henning et al. 2010).

Der im Rahmen vieler Studien an der SHRSP erfolgte Zusatz von 1%igem Natriumchlorid (NaCl) in das Trinkwasser der Tiere mit assoziierter maligner arterieller Hypertonie und konsekutivem Auftreten primär intrazerebraler Blutungen wird mit dem Ziel eingesetzt, die Inzidenz zerebrovaskulärer Läsionen weiter und rasch zu erhöhen und in den untersuchten Tiergruppen zeitlich zu homogenisieren (Nagaoka et al. 1976; Fredriksson et al. 1987; Ushiogi et al. 1991; Guerrini et al. 2002; Lee et al. 2007). Diese unphysiologisch akzelerierte Pathogenese dürfte dem Spontanverlauf der zerebralen Mikroangiopathie nicht entsprechen, weshalb im Rahmen der vorliegenden Datenerhebungen an männlichen SHRSP grundsätzlich auf derartige Modifizierungen der Ernährung verzichtet wurde.

3 Initiale mikrovaskuläre Dysfunktion

Bereits im Stadium einer noch nicht chronisch persistierenden arteriellen Hypertonie (12. Lebenswoche) entwickeln SHRSP intravasale Erythrozytenakkumulationen, die initial vornehmlich das Kapillarbett der Basalganglien und des Hippokampus betreffen und den Blutstasen kleiner Gefäße gleichen, die renal nach einem Volumenmangelschock (mündliche Kommunikation mit Frau PD Dr. med. Dörthe Küster, Institut für Pathologie, Otto-von-Guericke Universität Magdeburg), in humanem nicht perfundierten Autopsiegewebe (mündliche Kommunikation mit Herrn Prof. Dr. med. Christian Mawrin, Institut für Neuropathologie, Otto-von-Guericke Universität Magdeburg) sowie im Tiermodell nach transientem Verschluss der A. cerebri media („No-Reflow-Phänomen“, Yemisci et al. 2009) gefunden werden (Abbildung 1A, **P11**). Altersabhängig kommt es zu einer progredienten Ausdehnung der Erythrozytenakkumulationen in die Arteriolen aller Hirnregionen, wobei hiervon vornehmlich kortikale Areale und nur sporadisch die weiße Substanz und das Kleinhirn betroffen sind (Abbildung 1B-D, **P9 & P11**). Die Erythrozytenaggregate sind in der konventionellen Histologie mit strukturellen Veränderungen von Endothel und myogenem Wandtonus assoziiert und zeigen Übertritte in das perivaskuläre Parenchym (Diapedesen, Abbildung 1B-D, **P11**).

Ätiologisch sind früheste elektronenmikroskopisch nachweisbare Endothelschädigungen (Abbildung 2G) mit nachfolgender Störung der Integrität der Blut-Hirnschranke bei immunhistochemischem Nachweis von Plasmaproteinablagerungen (Detektion mittels Anti-Immunglobulin-G(IgG)- und Anti-Fibronektin-Antikörpern) in Gefäßwand und perivaskulärem Parenchym zu diskutieren; eine konsekutive Aktivierung der Gerinnungskaskade führt zur Bildung eines intraluminalen Netzes aus Thrombozyten und des von Willebrand Faktors (vWF), welches von den in der konventionellen Histologie nachweisbaren Erythrozytenaggregaten durchsetzt ist (Abbildung 1E-I, **P1, P2, P7, P9 & P11**). Die Erythrozyten adhärieren an den sich beginnend bildenden Thrombus und stabilisieren diesen (Abbildung 1G & H, Steffen et al. 2011; Nguyen et al. 2011).

Intravasal regelmäßig nachweisbare Hämolysen (Abbildung 5D) potenzieren über toxische Hämoglobinabbauprodukte eine endotheliale Gefäßwandschädigung (Sukumari-Ramesh et al. 2010).

Erhöhte Plasmaproteinkonzentrationen mit assoziierter Zunahme der Blutviskosität können darüber hinaus eine häufig in der SHRSP beobachtete „Geldrollenbildung“ der intravasal akkumulierten Erythrozyten induzieren (Blut-„Sludge“(Schlamm)-Hypothese von Melvin Henry Knisely, schriftliche Kommunikation mit Prof. Dr. med. William I. Rosenblum, Neuropathology Medical Collage of Virginia/Virginia, USA, Abbildung 1B) und über eine lokale Reduktion der Blutflussgeschwindigkeit eine Zunahme der aktivierten Gerinnung begünstigen.

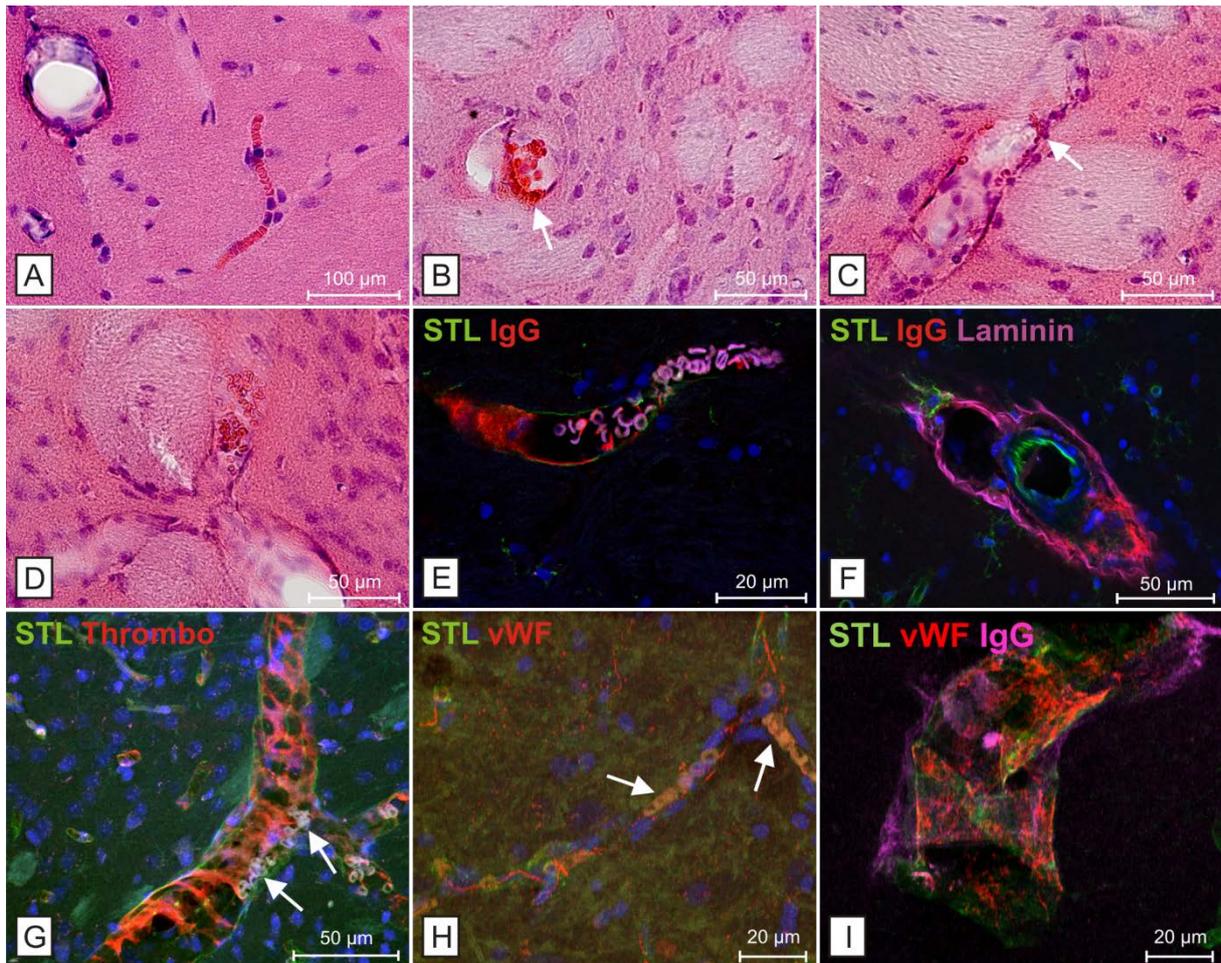


Abbildung 1. Erythrozytenakkumulationen und initiale mikrovaskuläre Dysfunktion in SHRSP (aus P2).

Intravasale Erythrozytenakkumulationen in einer Kapillare (A, Hippokampus) und Arteriolen (B-D, Basalganglien), assoziierte Plasmaproteinablagerungen (IgG) innerhalb der Gefäßwand (E & F) und im perivaskulären Gewebe (I) sowie Austritte von Erythrozyten in das perivaskuläre Parenchym (Diapedesen, weiße Pfeile in B & C) insgesamt als Ausdruck einer Integritätsstörung der Blut-Hirn-Schranke zu werten, in Folge derer es zu einer Aktivierung der Gerinnungskaskade kommt (G-I). Nebenbefundlich Störungen des myogenen Wandtonus der von Erythrozytenakkumulationen betroffenen Gefäße, hier in Form von Dilatationen einer arteriolen Trifurkation in den Basalganglien (D). A–D Hämatoxylin-Eosin(HE)-Färbung. STL - Solanum Tuberosum Lectin - Endothelmarkierung, Laminin – Darstellung der Basalmembran, Thrombo – Thrombozyten, vWF – von Willebrand Faktor. Autofluoreszenz der Erythrozyten in E & G (magenta) und H.

Die endotheliale Dysfunktion und eine nachfolgende Störung der Integrität der Blut-Hirn-Schranke mit konsekutiv progredienten Plasmaproteinablagerungen innerhalb der Gefäßwände von Arteriolen und kleinen Arterien scheinen zudem mitursächlich für die auch in der SHRSP regelmäßig nachweisbaren degenerativen Gefäßwandveränderungen in Form von Arteriosklerose, Lipohyalinose und Proliferation der Extrazellulärmatrix zu sein (Abbildung 2A-E, **P2**, Grinberg et al. 2010). Die Blut-Hirn-Schranken-Störung im Bereich des Kapillarnetzes, die elektronenmikroskopisch ihren Ausdruck in einer altersabhängigen Verdickung der kapillären endothelialen Basalmembranen findet (Abbildung 2F), müsste hypothetisch bei fehlender Muskelschicht in diesem Bereich der Mikrovaskulatur zu einem raschen Übertritt der Plasmabestandteile in den perivaskulären Raum und das angrenzende Hirnparenchym führen (Wardlaw et al. 2013). Die frühe Störung der Integrität der Blut-Hirn-Schranke könnte somit einen zentralen Erklärungsansatz für das mit einer zerebralen Mikroangiopathie assoziierte Auftreten von erweiterten perivaskulären Räumen, von T2- und FLAIR-Hyperintensitäten im Sinne von Marklagerläsionen/vasogenem Ödem sowie für die in der SHRSP in histologischen Vorarbeiten beschriebene progrediente intra(Neurone, Astrozyten)- und extrazelluläre Ödementwicklung innerhalb des Kortex, der tiefen grauen und weißen Substanz darstellen (Fredriksson et al. 1985; Fredriksson et al. 1987; Wardlaw et al. 2013).

Radiär anmutende Plasmaproteinaustritte imitieren in diesem Rattenmodell A β -ähnliche Plaqueablagerungen (Abbildung 2H); Thioflavin-S-Färbungen und Färbungen mit humanen und Rattenspezifischen Anti-A β -Antikörpern ergeben jedoch allenfalls unspezifische Befunde bzw. führen zur Detektion von Blut-Hirn-Schrankenstörungen und intravasalen Erythrozytenakkumulationen (Abbildung 2I, nicht publizierte Daten).

Eine CAA lässt sich in der SHRSP in keinem Lebensalter nachweisen (mündliche Kommunikation mit und Sichtung von mit Kongorot gefärbten koronaren Hirnschnitten durch Herrn Prof. Dr. med. Christian Mawrin, Institut für Neuropathologie, Otto-von-Guericke Universität Magdeburg).

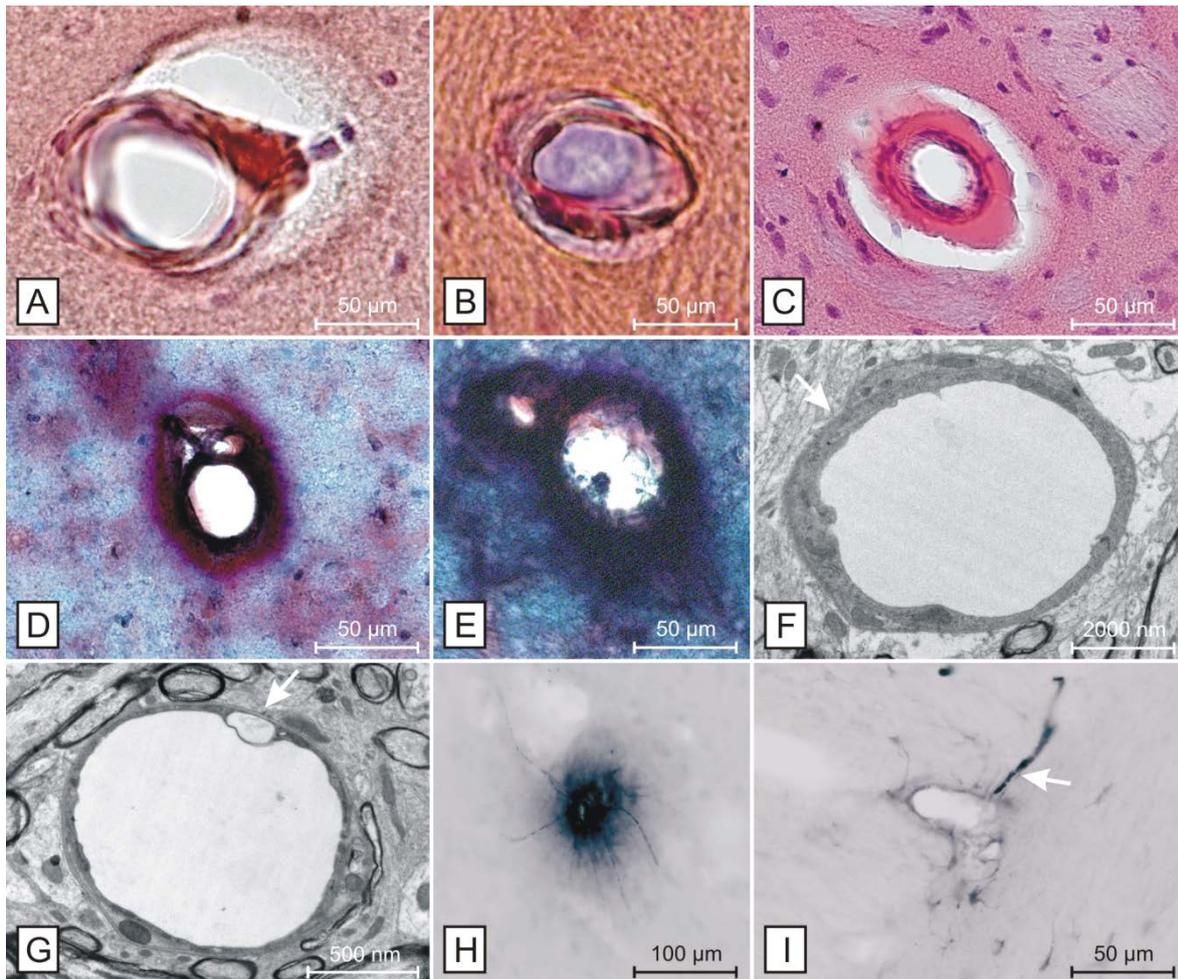


Abbildung 2. Blut-Hirn-Schranken-Störungen und Gefäßwandveränderungen.

Degenerative Wandveränderungen in der SHRSP umfassen Arteriolsklerose (**A & B**) und Lipohyalinose (**C**) mit einer assoziierten Erweiterung der perivaskulären Räume (**A-C**) sowie Proliferationen der arteriolen Extrazellulärmatrix (**D & E**), kapilläre Basalmembranverdickungen (weißer Pfeil in **F**, Hippokampus) und Endothelschäden (weißer Pfeil in **G**, Thalamus). Radiär austretende Plasmaproteine (Fibronektin) aus Gefäßen mit einer Blut-Hirn-Schranken-Störung imitieren morphologisch Amyloid- β -Proteinablagerungen (**H**, Kortex). Anti-Amyloid- β -Antikörper detektieren jedoch nur unspezifisch die geschädigte Gefäßwand und intravasale Erythrozytenaggregate (weißer Pfeil in **I**, Kortex). **A & B** Kongorot-Färbung, **C** HE-Färbung, **D & E** Movat-Färbung, **F & G** Elektronenmikroskopie; Dank an Dr. Alan Morris, Clinical and Experimental Sciences, sowie Dr. Roxana Carare und Dr. Cheryl Hawkes, General Hospital, jeweils University of Southampton, United Kingdom, für die Überlassung der elektronenmikroskopischen Abbildungen und für die Überlassung der Daten aus **H & I**. **A-E** aus **P2**.

Immunhistochemisch und elektronenmikroskopisch ergeben sich erste Hinweise, dass Perizyten (Detektion mittels Antikörpern gegen α -Smooth-Muscle-Actin (SMA) und gegen Neurales Gliaantigen 2 (NG2)/Chondroitinsulfatproteoglycan 4) maßgeblich an den in von Erythrozytenakkumulationen betroffenen Kapillaren und Arteriolen gehäuft nachweisbaren lokalen Wandkonstriktionen („sausage-/node-like constrictions“, Yemisci et al. 2009) beteiligt sind (**P11**). Perizyten umgeben mit ihren zytoplasmatischen Fortsätzen langstreckig kapilläre und arterioläre Endothelzellen und regulieren als kontraktile Elemente der sogenannten neurovaskulären Einheit den zerebralen Blutfluss in diesen Gefäßen; der Untersuchung ihrer Wertigkeit im Rahmen des Auftretens neurodegenerativer Erkrankungen wie der Alzheimer Demenz wird zunehmend Bedeutung beigemessen (Zlokovic 2008).

Vergleichbare, höchstwahrscheinlich durch mittels Ischämie und Reperfusion geschädigte Perizyten hervorgerufene segmental-lokale Stenosen des Kapillarbettes mit sekundär akkumulierenden Erythrozyten („entrapped erythrocytes“, Yemisci et al. 2009) lassen sich nach transientem Verschluss der A. cerebri media im experimentellen Mausmodell nachweisen (Yemisci et al. 2009). Es wird angenommen, dass die mikrovaskuläre Plasmassage trotz der Erythrozytenakkumulationen möglich sei; dieses würde zu einer erhaltenen Versorgung des Gewebes mit Glukose bei eingeschränkter bis aufgehobener Oxygenierung führen (Yemisci et al. 2009). Dieser Fund wird als „No-Reflow-Phänomen“ interpretiert und könnte erklären, weshalb es trotz Wiedereröffnung eines großen Gefäßes im Rahmen der makroangiopathischen Schlaganfallakuttherapie zur fehlenden Reperfusion der Mikrovaskulatur und damit zu schweren neurologischen Defiziten kommt.

Korrespondierend zu diesen makroangiopathisch experimentellen Daten finden sich in der SHRSP in Angrenzung an die von Erythrozytenakkumulationen betroffenen Gefäße regelhaft basophile Neurone als Ausdruck einer möglicherweise reversiblen Oxygenierungsstörung (Abbildung 3D, Fredriksson et al. 1988a).

Mittels Einzelphoton-Emissionscomputertomographie (SPECT) gelang der Nachweis einer intravital verminderten Aufnahme von ^{201}Tl -Diethyldithiocarbamat (^{201}Tl -DDC) in eine von Erythrozytenakkumulationen (ohne territoriales Verteilungsmuster) betroffene Hemisphäre in SHRSP (Abbildung 3A & B). Dieser Befund lässt sich möglicherweise als eine funktionelle Pathologie im Sinne einer reduzierten Aktivität/eines gestörten Kalium-Metabolismus dieser morphologisch veränderten Nerven-

zellen interpretieren (Abbildung 3C & D). Hinweise für klassische hypoxische Neurone mit eosinophilem Plasma, dunklen pyknotischen Zellkernen und einer Schrumpfung des Zellkörpers (Zille et al. 2012) oder für Infarkte in Angrenzung an von Erythrozytenakkumulationen betroffene Gefäße finden sich hingegen nicht.

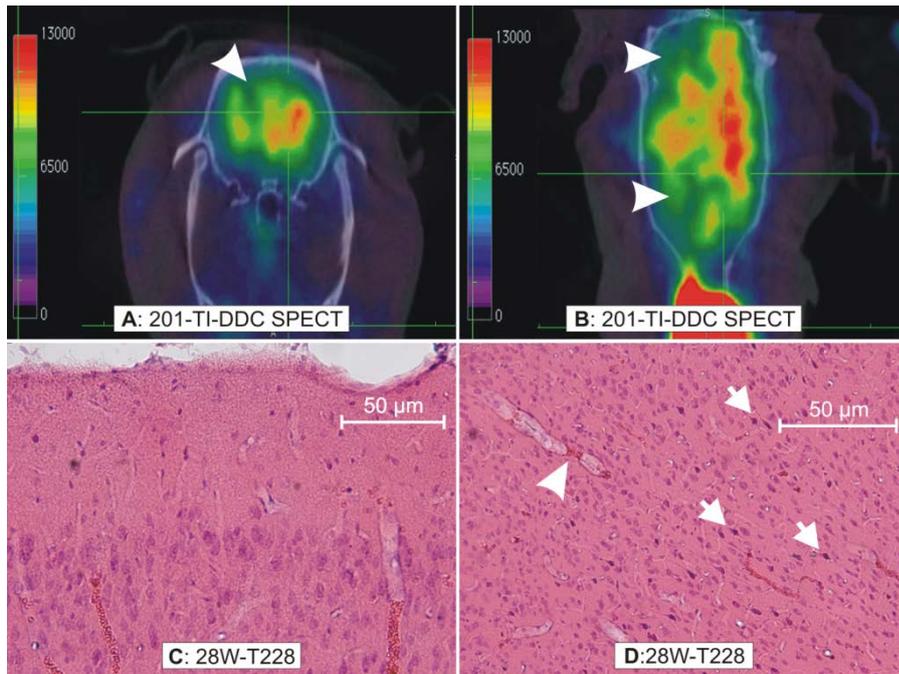


Abbildung 3. Gestörter Kalium-Metabolismus der an Gefäßen mit intravasalen Erythrozytenakkumulationen angrenzenden Neurone.

A, B – 201-TI-DCC SPECT (transversale [**A**] und axiale [**B**] Schnittebene) einer 28 Wochen alten SHRSP mit intravasalen Erythrozytenakkumulationen in den Kapillaren und Arteriolen des linken frontalen und parietalen Kortex (**C, D**), Hippokampus und der Basalganglien; die weiße Pfeilspitzen in **A & B** kennzeichnen die reduzierte Aufnahme von 201-TI-DDC in die von intravasalen Erythrozytenakkumulationen betroffene linke Hemisphäre. **D** – Die weißen Pfeile markieren dunkel gefärbte, basophile Neurone in unmittelbarer Umgebung von Gefäßen mit intravasalen Erythrozytenakkumulationen. Diese dunkel gefärbten Neurone sind möglicherweise Ausdruck einer reversiblen Nervenzellschädigung (Fredriksson et al. 1988a). Nebenbefundlich lokale Gefäßwandverengung einer Arteriole mit intravasalen Erythrozytenakkumulationen (weiße Pfeilspitze). **A, B** - Hohe Werte in der Farbskala (rot) sind mit einer hohen neuronalen Aufnahme von 201-TI-DDC (Thallium), niedrige Werte (grün) mit einer reduzierten neuronalen Aufnahme von 201-TI-DDC assoziiert. **C, D** - HE-Färbung. W – Lebensalter in Wochen, T – Tiernummer. Dank an Herrn Dr. med. Jürgen Goldschmidt, Leibniz-Institut für Neurobiologie (LIN), und Frau Ines Heinemann, Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE), jeweils in Magdeburg, für die Durchführung der zerebralen Bildgebung und die Überlassung der Daten.

In ersten Experimenten unter Verwendung der 2-Photon-Mikroskopie, im Sinne einer Pilotstudie, erscheint der intravitale Nachweis der Erythrozytenakkumulationen in kortikalen Kapillaren und Arteriolen an der lebenden SHRSP möglich (Abbildung 4). Weitere intravitale Untersuchungen mit dem Ziel, eine möglicherweise mit den Erythrozytenaggregaten assoziierte Reduktion des lokalen Blutflusses nachzuweisen, sind geplant.

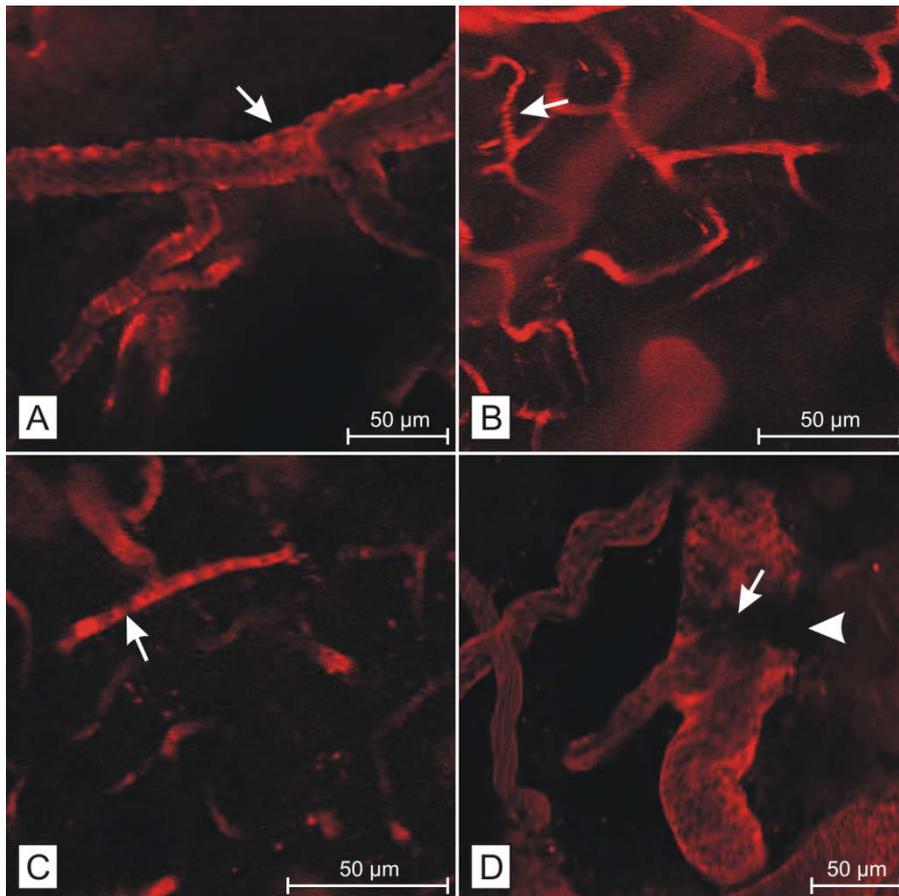


Abbildung 4. Intravitale 2-Photon-Mikroskopie zum Nachweis von intravasalen Erythrozytenakkumulationen in der SHRSP.

In SHRSP und Kontrolltieren zeigen sich intraluminal (weiße Pfeile in **B**, **C** & **D**) und wandadhärente (weißer Pfeil in **A**) Aussparungen des Dextran (70kDa)-markierten Blutflusses in kortikalen Kapillaren (**B** & **C**) und Arteriolen (**A** & **D**), die intravasalen Erythrozytenakkumulationen entsprechen könnten. Die fehlende Wandkontrastierung in **D** (weiße Pfeilspitze) kann als Ausdruck einer endothelialen Schädigung der dargestellten Arteriole interpretiert werden.

In longitudinalen Untersuchungen mittels Magnetresonanztomographie verschiedener Feldstärken (3 Tesla, 4,7 Tesla), Anfertigung mehrerer Sequenzen und Injektion von Gadolinium als Kontrastmittel ließ sich kein Korrelat für die intravasalen Erythrozytenakkumulationen nachweisen (**P11**, nicht publizierte Daten). Da die größten von Erythrozytenakkumulationen betroffenen Gefäße nur einen intraluminalen Durchmesser von maximal 60 µm aufweisen, sind weitere Untersuchungen mit höheren Feldstärken unter Verwendung von in der kooperierenden Arbeitsgruppe um Prof. Dr. med. Christoph Kleinschnitz, Neurologische Klinik und Poliklinik, Universitätsklinikum Würzburg, etablierter superparamagnetischer Eisenoxidhaltiger Kontrastmittel (SPIO) geplant (Kleinschnitz et al. 2003; Kleinschnitz et al. 2005).

Intravasale Erythrozytenakkumulationen wurden in weiblichen SHRSP als Folge einer Kompression der kleinen Gefäße durch ein angrenzendes (vasogenes) Infarkt-ödem beschrieben, innerhalb dessen sich eine Reduktion des zerebralen Blutflusses zeigte (Henning et al. 2010). Eigene Pilotstudien an Weibchen ergaben, dass auch hier intravasale Erythrozytenakkumulationen geschlechtsunabhängig als initiale vasculäre Pathologie, jedoch im Vergleich zu den SHRSP-Männchen tendenziell in einem höheren Lebensalter auftreten und nicht durch ein Ödem verursacht werden (nicht publizierte Daten).

Methodische Unzulänglichkeiten, im Sinne einer insuffizienten transkardialen Perfundierung, als Ursache für den Nachweis intravasaler Erythrozytenakkumulationen können aufgrund der assoziierten histopathologischen Phänomene, inklusive altersabhängiger Befundprogredienz, Blut-Hirn-Schranken-Störung, Gerinnungsaktivierung, Wandtonusveränderungen, erster Hinweise für deren intravitale Detektierbarkeit mittels 2-Photon-Mikroskopie sowie des Verlustes einer intakten neuronalen Morphologie im angrenzenden Hirngewebe, die in ihrer Summe die pathologische Wertigkeit der Erythrozytenaggregate belegen sowie signifikanter Gruppenunterschiede zwischen SHRSP und Kontrolltieren ausgeschlossen werden (**P11**).

4 Mikroangiopathische Kaskade

Die Vaskulopathie kleiner Hirngefäße entwickelt sich altersabhängig chronologisch, wobei Endothelverletzungen mit nachfolgender Blut-Hirn-Schranken-Störung und konsekutiver Aktivierung der Gerinnungskaskade das eine mikroangiopathische Kaskade (Abbildung 5) einleitende Initialstadium darstellen, das sich in der konventionellen Histologie in Form von intrakapillären und -arteriolären Erythrozytenansammlungen nachweisen lässt (Abbildung 5A-C, **P2**, **P9** & **P11**). Intravasale Hämolysen, Austritte einzelner Erythrozyten aus dem Gefäßlumen in das perivaskuläre Parenchym (Diapedesen) und degenerative Gefäßwandveränderungen stellen Begleitphänomene und Folgestadien dar, deren Detektion mittels konventioneller Färbungen ebenfalls problemlos gelingt (Abbildung 5D-F, **P2**, **P7** & **P11**).

Nach einem Zeitintervall von mehreren Wochen kommt es zu kleinen perivaskulären Sicker- oder Rupturblutungen in Kortex, Hippokampus und Basalganglien, die in Folge einer zunehmenden Gefäßwanddegeneration entstehen und einen Maximaldurchmesser von knapp 400 µm aufweisen (Abbildung 5G, **P1** & **P11**). Sie werden mit der bisher durchgeführten bildgebenden Diagnostik (Magnetresonanztomographie mit 3 und 4,7 Tesla) nicht erfasst und stellen somit definitionsgemäß nur mikroskopisch detektierbare Mini- (in Analogie zu Mikroinfarkten, Smith et al. 2012) und (noch) keine Mikroblutungen dar (De Reuck et al. 2011). Eine reaktive Aktivierung der plasmatischen Gerinnung ist in SHRSP mit einer hohen Inzidenz von Miniblutungen zu beobachten (nicht publizierte Daten).

Nahezu zeitgleich oder allenfalls um wenige Wochen zeitlich versetzt kommt es zu Okklusionen von Arteriolen und kleiner Arterien im Sinne der Entstehung „klassischer“ Fibrinthromben mit konsekutiver Infarzierung des angrenzenden Gewebes (Abbildung 5H). Die regelmäßig hämorrhagisch durchsetzten Infarktareale (Abbildung 5H) weisen eine Reduktion des zerebralen Blutflusses, eine Störung des neuronalen Kaliummetabolismus, eine vaskuläre Neogenese mit Reintegration der Blut-Hirn-Schranke (Nachweis einer Expressionssteigerung von Angiopoietin 1, nicht publizierte Daten) sowie histologisch verschiedene Stadien der Infarzierung auf (**P11**). Dieses ist neben der im Rahmen longitudinaler Untersuchungen mittels zerebraler Bildgebung (MRT) detektierbaren, über Wochen progredienten Ausdehnung von Signalveränderungen (Abbildung 6) hinweisend für mehrzeitig auftretende Ereignisse. Grö-

ßere Infarkte entstehen folglich am ehesten aus konfluierenden kleinen Infarkten. Eine konkurrierende makroangiopathische Infarktgenese erscheint, insbesondere auch bei fehlenden territorialen Verteilungsmustern und hierfür nicht typischer Histologie, höchst unwahrscheinlich. Die Thrombenbildung der kleinen Gefäße muss als Reaktion auf die zeitlich früher auftretenden perivaskulären Miniblutungen in Betracht gezogen werden (**P2 & P11**). Während Kortex und Basalganglien regelmäßig von Infarkten betroffen sind, ließen sich diese in keiner der untersuchten SHRSP in der weißen Substanz oder im Kleinhirn nachweisen (**P9 & P11**).

Nur in 2 SHRSP (1,2%) wurden in der zerebralen Bildgebung nachweisbare Makroblutungen in Kortex und Hippokampus beobachtet; diese stellen das Terminalstadium der zerebralen Mikroangiopathie dar und entsprechen am ehesten den humanen primär intrazerebralen Hämorrhagien (Abbildung 5I, nicht publizierte Daten, Lammie 2002).

Im Gruppenvergleich entwickeln Kontrolltiere signifikant seltener Miniblutungen bis zu einem Maximaldurchmesser von 125 µm; Infarkte und große Hämorrhagien werden nicht beobachtet (**P11**, nicht publizierte Daten).

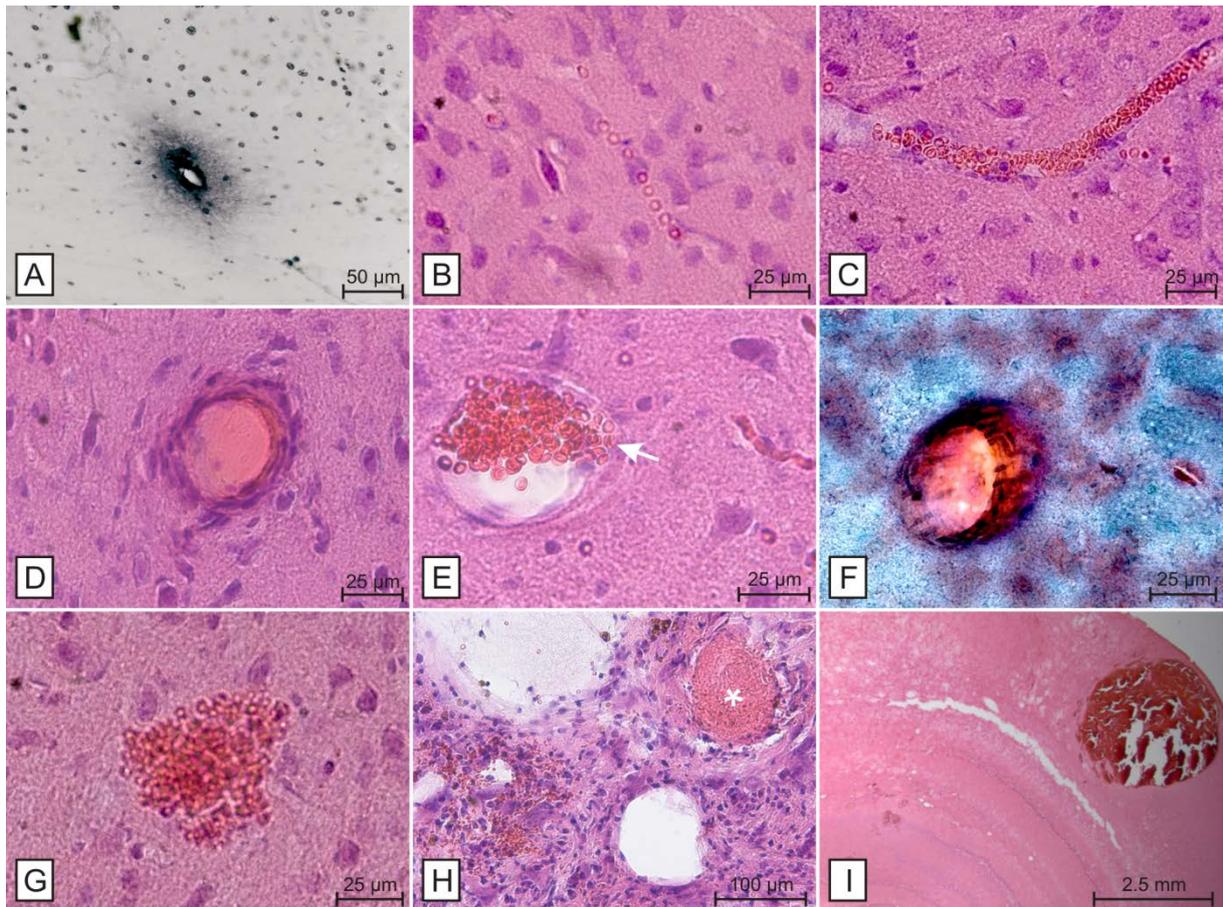


Abbildung 5. Kaskade der zerebralen Mikroangiopathie in SHRSP.

Initiale mikrovaskuläre Dysfunktion mit Blut-Hirn-Schranken-Störungen detektierbar in Form von perivaskulären Plasmaproteinansammlungen (hier Fibronektin, **A**, Kortex) und assoziierten intravasalen Erythrozytenakkumulationen (**B**, Kapillare, **C**, Arteriole) mit konsekutiven Diapedesen durch die geschädigte Gefäßwand (weißer Pfeil in **E**) und intraluminale Hämolyse (**D**). Degenerative Wandveränderungen stellen eine mögliche Folge der Plasmaproteinablagerungen dar (**F**). Miniblutungen (**G**) und reaktive Thrombosen von Arteriolen und kleinen Arterien (weißer Stern in **H**) mit nachfolgend zystischer und hämorrhagisch transformierter Gewebeeinfärbung (**H**) sind Folge- und Spätstadien der zerebralen Mikroangiopathie. Terminal treten selten Makrohämorrhagien auf (**I**, Hippokampus). **B-E & G-I** - HE-Färbung, **F** – Movat-Färbung. **E** aus **P11**.

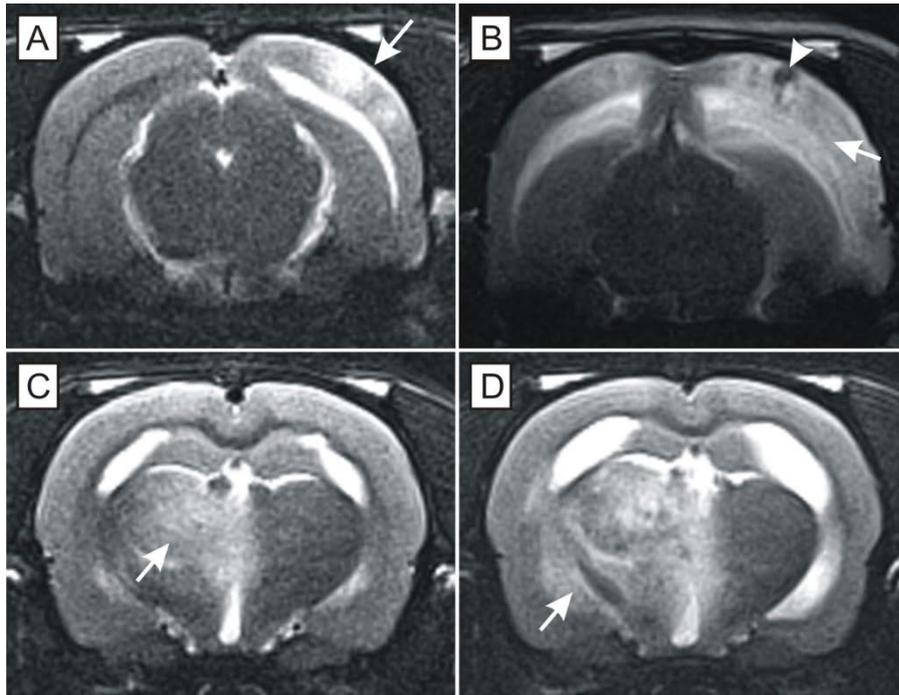


Abbildung 6. Longitudinale magnetresonanztomographische Messungen mit Nachweis einer progredienten Infarktausdehnung in SHRSP.

Kortikale Infarktentwicklung (weiße Pfeile in **A & B**) und Infarkt in den Basalganglien (weiße Pfeile in **C & D**) mit progredienter Größenzunahme und Ödembildung über einen Zeitraum von jeweils 2 Wochen. **A & B** – SHRSP Tiernummer K1R2 mit Messzeitpunkten am 19.06.2012 (Tieralter 40 Wochen, **A**) und am 03.07.2012 (Tieralter 42 Wochen, **B**). **C & D** – SHRSP Tiernummer K2R2 mit Messzeitpunkten am 23.04.2012 (Tieralter 32 Wochen, **C**) und am 07.05.2012 (Tieralter 34 Wochen, **D**). Beide Tiere zeigen histologisch zystisch transformierte und hämorrhagisch durchsetzte Nekrosen mit Hinweisen auf eine mehrzeitige Entwicklung der Infarktareale. Nebenbefundlich größere Einblutung in das kortikale Infarktareal der SHRSP K1R2 (weiße Pfeilspitze in **B**). **A-D** - Koronare T2-Sequenzen. Dank an Frau Dr. rer. nat. Stine Mencl und an Prof. Dr. med. Christoph Kleinschnitz, jeweils Neurologische Klinik und Poliklinik, Universitätsklinikum Würzburg, für die Durchführung der zerebralen Bildgebung und die Überlassung der Daten.

Die zeitliche Progression der mikroangiopathischen Kaskade lässt sich in der SHRSP höchstwahrscheinlich modifizieren, so wie beispielhaft anhand einer täglichen Gabe von N-Acetylcystein, einem in die zelluläre und plasmatische Gerinnung sowie in den Glutathionstoffwechsel eingreifenden Antioxidans (Jepsen et al. 1994; Anfossi et al. 2001; Berndt et al. 2011; Al Ahmad et al. 2012), gezeigt werden konnte (**P1**). Unter der Medikation kommt es zu einer Reduktion der Inzidenz von Thrombosen der Arteriolen und kleinen Arterien mit assoziiert seltener und erst in einem höheren Lebensalter auftretenden Infarkten bei gleichzeitiger signifikanter Zunahme von Miniblutungen (**P1**). Pathophysiologisch sind medikamentöse Einwirkungen auf die Intaktheit der Gerinnungsaktivität des von Willebrand Faktors zu diskutieren, die in einer nachfolgend insuffizienten Abdichtung endothelialer Defekte mit Ausbreitung der spontan und altersabhängig auftretenden Blut-Hirn-Schranken-Störung (siehe 3) resultieren und in konsekutiven perivaskulären kleinen Blutungen münden (**P1**). Eine protektive Wirkung des N-Acetylcysteins auf Infarktentwicklung und –ausdehnung wurde bereits am makroangiopathischen Tiermodell beschrieben (Jepsen et al. 1994; Carroll et al. 1998; Sekhon et al. 2003; Khan et al. 2004; Saiki et al. 2009) und kann möglicherweise auf eine erhöhte Glutathionbereitsstellung in Astrozytenendfüßen zurück geführt werden (**P1**).

5 Hypertensive Nephropathie

Eine hypertensive Nephropathie entwickelt sich in der SHRSP in einer der zerebralen Mikroangiopathie vergleichbaren chronologischen Kaskade, wobei auch renal in der konventionellen Histologie nachweisbare intravasale Erythrozytenakkumulationen im peritubulären Gefäßsystem/Kapillarnetz (Abbildung 7A) sowie den glomerulären Arteriolen (Vasa afferentes) das Initialstadium der strukturellen Nierenpathologie darstellen. Diese gleichen den intrazerebralen Erythrozytenaggregaten und sind ebenfalls mit intravasalen Hämolysen und Diapedesen mit nachfolgenden kleinen Parenchymblutungen assoziiert. Die intrakapillären Erythrozytenakkumulationen führen zu einer Minderversorgung der angrenzenden Nierentubuli mit assoziierter Atrophie der Tubulusepithelien und der Ansammlung von intratubulären hyalinen Proteinzyklindern (eingedicktes Tamm-Horsfall-Protein, „pseudothyroid areas“ (Meyrier et al. 1998; Hill 2008), Abbildung 7B) als Ausdruck einer frühen tubulointerstitiellen Nierenschädigung (**P12**).

Diese frühe tubulointerstitielle Schädigung, die durch das kombinierte Auftreten von peritubulären Erythrozytenansammlungen und von tubulären Proteinzyklindern definiert ist, zeigt eine signifikant altersabhängige Progredienz und dehnt sich innerhalb von etwa 8 Wochen auf große Anteile des Nierenmarks- und -kortex aus (Abbildung 8, Tabelle 1, **P12**). Die in den Kontrolltieren zu beobachtende initiale tubulointerstitielle Nephropathie zeigt eine im Vergleich zur SHRSP-Gruppe statistisch signifikant geringere Zunahme mit dem Lebensalter (Abbildung 8, **P12**).

Höchstwahrscheinlich sind die Erythrozytenakkumulationen in den glomerulären Vasa afferentes mit einer arteriolären Autoregulationsstörung, einer Reduktion des Blutflusses und einem verminderten glomerulären Perfusionsdruck (Anderson 1994; Hayashi et al. 1996) sowie einer regulierend-kompensatorischen Vasokonstriktion der Vasa afferentes (Gattone et al. 1983) assoziiert. Die Folge ist eine (ischämische) Schädigung des glomerulären kapillären Endothels, dessen nachfolgend erhöhte Permeabilität zur Freisetzung von Erythrozyten und Leukozyten aus den Lumina der glomerulären Kapillare in das perikapilläre Lumen der Bowmanschen Kapsel und in das intraglomeruläre Mesangium („Erythrozyten- und Leukozytensticking“, mündliche Kommunikation mit Frau Prof. Dr. med. Kerstin Amann, Nephropathologische Abteilung, Universitätsklinikum Erlangen, Abbildung 7C) führt. Darüber hinaus ist häufig

eine Verdickung des parietalen Blattes der Bowmanschen Kapsel zu beobachten (Abbildung 7C & D). Der verminderte glomeruläre Perfusionsdruck kann in einer vermehrten Reninfreisetzung mit nachfolgender Zunahme der arteriellen Hypertonie resultieren (Laragh 1991).

Zum kombinierten Auftreten von peritubulären, intravasalen Erythrozytenakkumulationen, Blutungen und intratubulären Proteinzyllindern tritt im Verlauf eine kortikale segmentale und globale Glomerulosklerose (Abbildung 7D, E & H, Tabelle 1) mit Obliteration des glomerulären Kapillarbettes, einer Exsudation von Plasma, einer hyalinen Proliferation der Mesangiumzellen und einer Adhärenz des hyalinen Materials an den Blättern der Bowmanschen Kapsel (Rosen et al. 1981). Darüber hinaus kommt es zur Arteriolsklerose mit arteriolären, z.T. hämorrhagisch durchsetzten, konzentrischen Wandverdickungen und konsekutiven Thrombosen der Gefäßlumina („Thrombotische Mikroangiopathie“, mündliche Kommunikation mit Frau Prof. Dr. med. Kerstin Amann, Nephropathologische Abteilung, Universitätsklinikum Erlangen, Abbildung 7F-I). Eine begleitende interstitielle Nephritis (Meyrier et al. 1998) findet ihren Ausdruck in perivaskulären Leukozyteninfiltrationen, die auch in Angrenzungen an die sklerosierten Glomeruli sowie in fibrotisch verändertem intertubulärem Parenchym nachweisbar sind (Abbildung 7E, G & H). Glomerulosklerose, thrombotische Mikroangiopathie und interstitielle Nephritis stellen Terminalstadien der hypertensiven Nephropathie dar (**P12**). In Kontrollratten werden weder eine Glomerulosklerose noch eine thrombotische Mikroangiopathie beobachtet.

Eine Medikation mit N-Acetylcystein scheint die Ausdehnung der initialen tubulointerstiellen Schädigung, inklusive von kapillären Erythrozytenakkumulationen und tubulären Proteinzyllindern zu begrenzen und die Inzidenz einer Glomerulosklerose in der SHRSP zu senken (nicht publizierte Daten). Inwiefern vergleichbar zu den zerebralen Funden unter dieser Medikation vermehrt kleine renale Blutungen auftreten, lässt sich histologisch aufgrund einer nicht validen Abgrenzbarkeit von intrakapillären Erythrozytenakkumulationen und perivaskulären Blutungen derzeit nicht ausreichend abschätzen (nicht publizierte Daten).

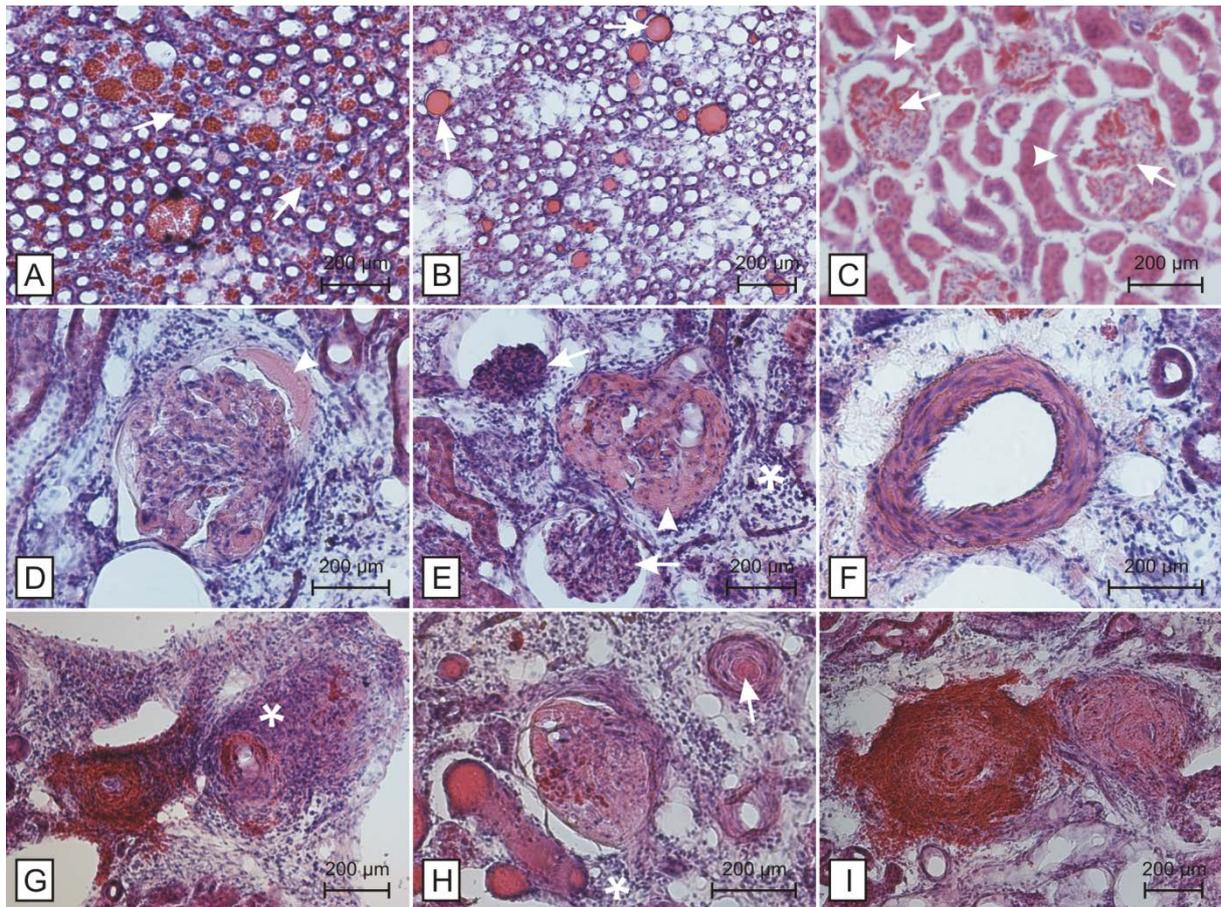


Abbildung 7. Kaskade der hypertensiven Nephropathie in SHRSP.

Die Initialstadien der strukturellen Nierenveränderungen in SHRSP sind durch intravasale Erythrozytenakkumulationen im peritubulären Kapillarnetz und Gefäßsystem (weiße Pfeile in **A**), intratubuläre Proteinzyliner (weiße Pfeile in **B**) als Ausdruck einer Schädigung der Tubulusepithelien und durch über das kapilläre glomeruläre Endothel in das Lumen der Bowman'schen Kapsel austretende Erythrozyten („Erythrozytensticking“, weißer Pfeil in **C**) gekennzeichnet. Folge- und Terminalstadien der hypertensiven Nephropathie zeigen typischerweise zusätzlich eine segmentale (**D**) bis globale Glomerulosklerose (**E & H**) mit hyaliner Proliferation der Mesangiumzellen (weiße Pfeilspitze in **E**), eine Atrophie der Glomeruli (weiße Pfeile in **E**) sowie eine thrombotische Mikroangiopathie mit konzentrischer (**F**), häufig hämorrhagisch durchsetzter Wandverdükung (**G & I**) und Verschlüssen (**H & I**) der kleinen Arterien. Begleitende Entzündungsreaktion (interstitielle Nephritis) um die sklerosierten Glomeruli (weißer Stern in **E**), perivaskulär (weißer Stern in **G**) sowie im intertubulären Parenchym (weißer Stern in **H**). Nebenbefundlich Verdickung des parietalen Blattes der Bowman'schen Kapsel (weiße Pfeilspitzen in **C & D**). **A-I** - HE-Färbung.

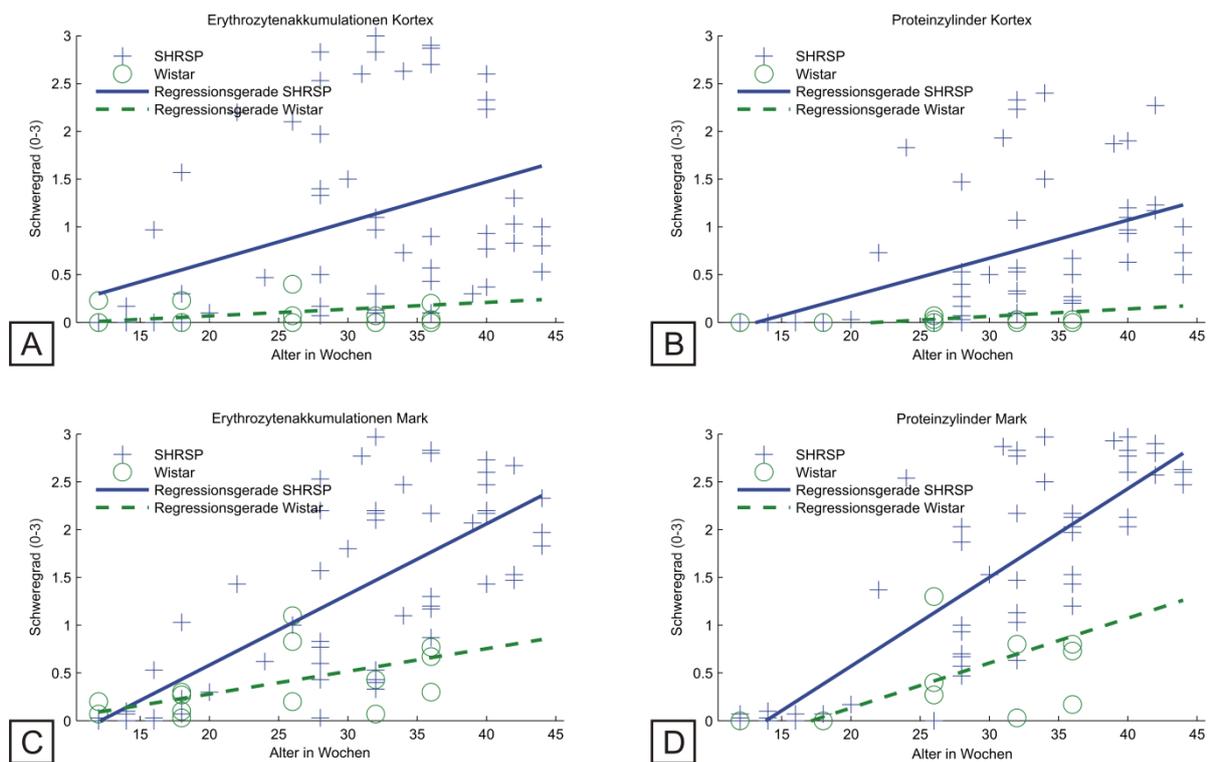


Abbildung 8. Altersabhängige Progredienz der renalen tubulointerstitiellen Schädigung in SHRSP und Kontrollratten (modifiziert aus P12).

Altersabhängige Zunahme der Ausdehnung von intrakapillären peritubulären Erythrozytenakkumulationen (**A & C**) und tubulären Proteinzyliindern (**B & D**) in Nierenmark (**C & D**) und –kortex (**A & B**) als Ausdruck einer Progression der Schwere der tubulointerstitiellen Schädigung in SHRSP und Wistarratten. Die SHRSP weist dabei im Gruppenvergleich eine signifikant raschere altersabhängige Progredienz des tubulointerstitiellen Schadens auf (**A–D**, **A** $p=0,045$, **B** $p=0,004$, **C & D** $p<0,001$). Das Nierenmark ist im Vergleich zum renalen Kortex sowohl in SHRSP als auch Kontrolltieren bereits in einem früheren Lebensalter und mit einer altersabhängig rascheren Progredienz von einer zunehmenden Schwere der tubulointerstitiellen Pathologie betroffen (**C & D**). Darstellung von Regressionsgeraden, x-Achse – Alter in Wochen, y-Achse – histopathologische Schweregrade der tubulointerstitiellen Pathologie in Abhängigkeit der Dichte von intrakapillären Erythrozytenansammlungen und tubulären Proteinzyliindern (**P12**), *SHRSP*: **A** - Regressionskoeffizient (β) 0,042, Konfidenzintervall (KI) 0,019-0,065, $p=0,001$, **B** - β 0,04, KI 0,025–0,055, $p<0,001$, **C** – β 0,074, KI 0,057–0,090, $p<0,001$, **D** - β 0,093, KI 0,079–0,107, $p<0,001$, *Wistar*: **A** - β 0,07, KI -0,001–0,015, $p=0,08$, **B** - β 0,008, KI 0,005–0,011, $p<0,001$, **C** - β 0,024, KI 0,014–0,034, $p<0,001$, **D** - β 0,047, KI 0,033–0,061, $p<0,001$.

6 Zerebrale Mikroangiopathie und Hypertensive Nephropathie

In der konventionellen Histologie stellen intravasale Erythrozytenakkumulationen in Kapillaren und Arteriolen sowohl im Gehirn als auch in der Niere der SHRSP das Initialstadium von zerebraler Mikroangiopathie und hypertensiver Nephropathie dar. Renal ist diese frühe Histopathologie mit einer tubulointerstitiellen Schädigung bei gleichzeitigem Nachweis einer Epithelatrophy der Tubuli assoziiert.

In einer parametrischen Testung ohne gleichzeitige Betrachtung des Lebensalters der untersuchten SHRSP-Gruppen ergeben sich statistisch signifikante Assoziationen zwischen den einzelnen histologischen Veränderungen der renalen tubulointerstitiellen Pathologie und dem Vorliegen zerebraler intravasaler Erythrozytenakkumulationen. Fließt hingegen das Lebensalter der einzelnen SHRSP als bekannter Parameter in die Berechnungen ein, zeigen sich statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen dem Alter und dem Auftreten der Initialstadien der zerebralen Mikroangiopathie und der vaskulären Nephropathie mit gleichzeitiger Aufhebung der Signifikanz der Zusammenhänge zwischen den Initialstadien der zerebralen und renalen Pathologie (**P12**). In den folgenden Lebenswochen kommt es zu einer parallel ablaufenden, altersabhängigen Progredienz der vaskulären Kaskaden in beiden Organen (Tabelle 1, **P11 & P12**). Betrachtet man das Lebensalter der SHRSP als Konstante, zeigen die histopathologischen Veränderungen der zerebralen Folge- und Terminalstadien ebenfalls eine signifikante Assoziation mit der Schwere des tubulointerstitiellen Nierenschadens (**P12**).

Die Nephropathie schreitet in SHRSP in ihrer Ausdehnung und Schwere schneller voran als die zerebrale Mikroangiopathie; die renalen Terminalstadien werden im Schnitt bis zu 10 Wochen vor Nachweisbarkeit der Endstadien der zerebralen Mikroangiopathie erreicht (Tabelle 1, **P12**). Folglich zeigen die histologischen Untersuchungen in SHRSP, die bereits Folge- und Terminalstadien der zerebralen Mikroangiopathie aufweisen, regelmäßig eine fortgeschrittene vaskuläre Nephropathie mit ausgedehntem, kombinierten tubulointerstitiellen Schaden, einer Glomerulosklerose und einer thrombotischen Mikroangiopathie (Tabelle 1, **P12**). In SHRSP mit vorherrschend zerebralen intravasalen Erythrozytenakkumulationen hingegen, treten in der Niere sowohl Initialstadien (intravasale Erythrozytenakkumulationen und/oder tubuläre Proteinzylinder) als auch Übergänge zwischen Initial- und Spätstadien (kombinierter

tubulointerstitieller Schaden, Glomerulosklerose) der Nephropathie auf (Tabelle 1, **P12**).

Unter Kenntnis der zeitlich früher progredienten Histopathologie der Niere ist statistisch mittels logistischer Regression eine Vorhersage der Stadien der zerebralen Mikroangiopathie möglich (Tabelle 2, **P12**). Dabei erlaubt die Kenntnis des Vorhandenseins der tubulointerstitiellen, insbesondere medullären Pathologie und einer Glomerulosklerose sowie deren jeweilige Ausprägungen die Vorhersage und Klassifikation der einzelnen Stadien der zerebralen Mikroangiopathie (Tabelle 2, **P12**). Ist neben der Kenntnis des Vorliegens der tubulointerstitiellen Pathologie und der einer Glomerulosklerose (sowie deren jeweiliger histopathologischer Schweregrad) noch das Alter der untersuchten SHRSP bekannt, steigt die Güte der Vorhersage und Klassifikation der Stadien der zerebralen Mikroangiopathie (Tabelle 2, **P12**).

Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen im Urin der SHRSP erhöhten Parametern (Proteine, Glucose, Erythrozyten, Leukozyten), der Glukosekonzentration im Serum und der renalen Histopathologie liegt für keine der Veränderungen der vaskulären Nephropathie vor (**P12**).

Alter in Wochen (Tierzahl)	Histopathologie Niere					Histopathologie Gehirn		
	Erythrozyten- akkumulationen	Protein- zylinder	Erythrozyten- akkumulationen	Protein- zylinder	Glomerulo- sklerose	Erythrozyten- akkumulationen	Miniblutungen	Thrombosen
	Kortex	Kortex	Mark	Mark				
SHRSP								
12 (6)	0.00	0.00	0.03	0.03	0	1	0	0
	0.00	0.00	0.03	0.07	0	1	0	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0	1	0	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0
14 (5)	0.17	0.00	0.07	0.03	0	0	0	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0	1	0	0
	0.00	0.00	0.10	0.10	0	0	0	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0
16 (3)	0.97	0.00	0.53	0.00	0	1	0	0
	0.00	0.00	0.03	0.07	0	0	0	0
	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0
18 (3)	0.00	0.00	0.07	0.07	0	1	0	0
	1.57	0.00	1.03	0.07	0	1	0	0
	0.30	0.00	0.23	0.07	0	1	0	0
20 - 26 (4)	0.10	0.03	0.30	0.17	0	1	0	0
	2.20	0.73	1.43	1.37	1	1	0	0
	0.47	1.83	0.62	2.54	1	1	0	0
	2.10	0.00	1.00	0.00	1	1	0	0
28 (8)	0.17	1.47	0.43	2.03	1	1	0	0
	1.33	0.27	0.60	0.70	1	1	0	0
	1.40	0.07	0.83	0.67	1	1	0	0
	2.53	0.17	2.20	0.93	1	1	0	0
	0.50	0.00	0.77	0.47	0	1	0	0
	0.07	0.53	0.03	1.87	1	1	0	0
	2.83	0.03	2.53	0.57	1	1	0	0
	1.97	0.40	1.57	1.00	1	1	0	0
30 - 32 (10)	1.50	0.50	1.80	1.53	1	0	0	0
	2.60	1.93	2.77	2.87	1	1	1	1
	3.00	2.23	2.97	2.77	1	0	1	0
	0.97	2.33	2.10	2.83	1	1	1	0
	1.10	0.33	2.17	1.47	1	1	1	0
	0.13	1.07	0.33	2.17	0	1	0	0
	0.30	0.10	0.43	1.13	0	1	0	0
	0.13	0.53	0.53	1.03	0	1	0	0
	0.10	0.57	0.40	1.13	0	1	0	0
	2.83	0.30	2.20	0.63	1	1	1	0
34 - 36 (9)	2.63	2.40	2.47	2.97	1	1	0	1
	0.73	1.50	1.10	2.50	1	1	0	0
	2.87	0.23	2.80	1.20	1	1	1	0
	0.10	0.20	0.87	1.43	1	1	1	0
	0.90	0.27	1.20	2.03	1	1	1	0
	0.43	0.50	1.17	1.97	1	1	0	0
	2.70	0.67	2.17	2.13	1	1	1	0
	2.90	0.23	2.83	1.53	1	1	1	0
	0.57	0.27	1.30	2.17	1	1	1	0
39 - 42 (10)	0.30	1.87	2.07	2.93	1	1	0	0
	2.60	1.10	2.60	2.77	1	1	0	0
	0.77	1.20	2.17	2.13	1	1	1	0
	2.33	0.97	2.73	2.60	1	1	0	0
	2.23	0.63	2.47	2.03	1	1	0	0
	0.93	1.90	2.20	2.97	1	1	1	1
	0.37	0.93	1.43	2.83	1	1	1	0
	1.03	1.23	1.53	2.57	1	1	0	0
	0.83	1.17	1.47	2.80	1	1	0	0
	1.30	2.27	2.67	2.90	1	1	1	1
44 (3)	0.80	1.00	2.33	2.47	1	1	1	0
	1.00	0.73	1.83	2.60	1	1	1	0
	0.53	0.50	1.97	2.63	1	1	1	0
	0.97	0.27	1.27	2.07	0	0	0	0

Schwere-
grad 0.00 0.01 -
 0.49 0.50 -
 0.99 1.00 -
 1.49 1.50 -
 1.99 2.00 -
 2.49 2.50 -
 3.00

Tabelle 1. Altersabhängig parallele Entwicklung von Nephropathie und zerebraler Mikroangiopathie in einzelnen SHRSP verschiedener Altersgruppen (modifiziert aus P12).

Angegeben sind der histopathologische Schweregrad der Nephropathie definiert anhand des Ausmaßes der tubulointerstitiellen Schädigung (Dichte der Erythrozytenakkumulationen und Proteinzyylinder in Nierenmark und Nierenkortex, siehe Abbildung 8, P12) und des positiven Nachweises einer Glomerulosklerose sowie das Vorliegen einer zerebralen Mikroangiopathie (histopathologische Stadien durch den Nachweis von Erythrozytenakkumulationen, Miniblutungen und Thrombosen kleiner Gefäße definiert) in einzelnen SHRSP verschiedener Altersgruppen. Die Abstufungen der Rottöne korrelieren mit der Schwere des tubulointerstitiellen Schadens, wobei dunkle Töne eine fortgeschrittene Nephropathie mit steigender Dichte von kapillären Erythrozytenakkumulationen und/oder tubulären Proteinzyindern anzeigen (siehe Legende in der Tabelle). Neben einer altersabhängigen Progredienz von Nephropathie und zerebraler Mikroangiopathie wird die parallele Entwicklung von Nieren- und Hirnschaden deutlich, wobei die renale Pathologie in ihrer Schwere und Ausdehnung der zerebralen Schädigung zeitlich voranschreitet. Initialstadien der Nephropathie korrelieren mit der Nachweisbarkeit früher Veränderungen der zerebralen Mikroangiopathie (Erythrozytenakkumulationen), während SHRSP mit zerebralen Folge- und Spätstadien (Miniblutungen, Thrombosen) regelhaft eine schwere Nierenschädigung aufweisen. 1 – vorhanden, 0 – nicht vorhanden.

Zielgröße	Einflussgröße	SHRSP					
		Logistische Regression ohne Alter			Logistische Regression mit Alter		
		AUC	Konfidenzintervall		AUC	Konfidenzintervall	
Zerebrale Intravasale Erythrozytenakkumulationen	Intravasale Erythrozytenakkumulationen Nierenmark	0.789	0.590	0.989	0.863	0.769	0.957
	Intravasale Erythrozytenakkumulationen Nierenkortex	0.764	0.558	0.970	0.844	0.731	0.958
	Intratubuläre Proteinzyylinder Nierenmark	0.796	0.630	0.962	0.864	0.763	0.964
	Intratubuläre Proteinzyylinder Nierenkortex	0.769	0.588	0.949	0.861	0.755	0.967
	Glomerulosklerose	0.753	0.590	0.916	0.850	0.737	0.963
Zerebrale Miniblutungen	Intravasale Erythrozytenakkumulationen Nierenmark	0.862	0.773	0.952	0.885	0.802	0.968
	Intravasale Erythrozytenakkumulationen Nierenkortex	0.783	0.611	0.865	0.877	0.791	0.964
	Intratubuläre Proteinzyylinder Nierenmark	0.815	0.710	0.919	0.873	0.788	0.959
	Intratubuläre Proteinzyylinder Nierenkortex	0.745	0.622	0.868	0.867	0.779	0.955
	Glomerulosklerose	0.767	0.653	0.882	0.877	0.791	0.962
Zerebrale Thrombosen kleiner Gefäße	Intravasale Erythrozytenakkumulationen Nierenmark	0.901	0.821	0.982	0.895	0.815	0.974
	Intravasale Erythrozytenakkumulationen Nierenkortex	0.774	0.625	0.923	0.816	0.712	0.920
	Intratubuläre Proteinzyylinder Nierenmark	0.991	0.000	1.000	0.991	0.000	1.000
	Intratubuläre Proteinzyylinder Nierenkortex	0.978	0.000	1.000	0.982	0.000	1.000
	Glomerulosklerose	0.702	0.509	0.894	0.768	0.607	0.928

Tabelle 2. Klassifikation der Stadien der zerebralen Mikroangiopathie anhand der Kenntnis des Vorliegens der renalen tubulointerstitiellen Pathologie und Glomerulosklerose in SHRSP (modifiziert aus P12).

Darstellung der AUC (Area Under the Curve) der ROC – Kurven (Logistische Regression mit Diskriminanzanalyse) als Maß für die Güte der Klassifikation der Stadien der zerebralen Mikroangiopathie (Zielgröße) anhand der Kenntnis des Vorliegens eines tubulointerstitiellen Schadens (intravasale Erythrozytenakkumulationen und intratubuläre Proteinzyylinder als Einflussgrößen) und einer Glomerulosklerose (Einflussgröße). Gegeben ist darüber hinaus das 95%-Konfidenzintervall. Unter zusätzlicher Kenntnis des Lebensalters der Tiere steigt die Güte der Klassifikation der Stadien der zerebralen Mikroangiopathie anhand der Stadien der vaskulären Nephropathie (Zunahme der AUC).

7 Zusammenfassung und Ausblick

Während die Pathophysiologie der arteriosklerotischen Makroangiopathie der hirnzu-führenden Arterien gut untersucht ist und im Wesentlichen aus einem Zusammen-spiel von emboligener Potenz des wandgeschädigten Gefäßes und einer poststeno-tischen/-okklusiven Minderperfusion des angrenzenden Hirnparenchyms besteht, ist die Datenlage zur Pathophysiologie der humanen zerebralen Mikroangiopathie ins-besondere auch aufgrund nicht etablierter Verfahren zur intravitalen Detektierbarkeit von Kapillaren, Arteriolen und Venolen unzureichend.

Die zerebrale Mikroangiopathie ist häufig mit dem (langjährigen) Vorliegen einer arte-riellen Hypertonie sowie einem hohen Lebensalter assoziiert und stellt eine der we-sentlichen Ursachen für akute Schlaganfälle in Folge lakunärer Infarkte sowie für die Entstehung progredienter kognitiver Defizite im Rahmen vaskulärer, Alzheimer und gemischter Demenz dar. Für die Entwicklung neuer Präventions- und Therapieansät-ze mit dem Ziel, die Neuerkrankungsrate und Progredienz der mit einer zerebralen Mikroangiopathie assoziierten Demenzen in einer zunehmend älter werdenden Be-völkerung zu senken, ist die genaue Kenntnis der Pathophysiologie der Erkrankung der kleinen Hirngefäße und deren Diagnostizierbarkeit von herausragender Bedeu-tung.

Die „Spontaneously Hypertensive Stroke-Prone Rat“ (SHRSP) entwickelt eine gene-tisch bedingte, progrediente arterielle Hypertonie sowie spontane zerebrale Infarkte und ist als valides Tiermodell zur Untersuchung der zerebralen Mikroangiopathie an-erkannt.

Die vorliegenden Ergebnisse einer Längsschnittstudie an 162 SHRSP und 51 Wistar-Kontrollratten unter Verwendung konventionell-histologischer, immunhistochemi-scher, elektronenmikroskopischer Verfahren und intravitaler Bildgebung inklusive der 2-Photon-Mikroskopie, Magnetresonanztomographie und Einzelphoton-Emissions-computertomographie (SPECT) erlauben die Beschreibung einer pathologischen va-skulären Kaskade der zerebralen Mikroangiopathie mit definierten Initial-, Folge- und Terminalstadien.

Eine mikrovaskuläre Dysfunktion mit endothelialer Schädigung, konsekutiver Blut-Hirn-Schranken-Störung mit wandständigen und perivaskulären Ablagerungen von Plasmaproteinen, nachfolgender Gerinnungsaktivierung und letztendlich, in der kon-

ventionellen Histologie als initiales Phänomen nachweisbarer, intrakapillärer, in einem Netzwerk aus Thrombozyten und des von Willebrand Faktors adhärrierender Ansammlung von Erythrozyten (Stasen, Abbildung 9A & B), leitet eine altersabhängig-progrediente Vaskulopathie der kleinen Gefäße ein und ist in etwa 90% aller SHRSP nachweisbar. Die Erythrozytenakkumulationen dehnen sich im Verlauf auf die Arteriolen aus, sind mit möglicherweise durch Perizytenkontraktionen ausgelösten Regulationsstörungen des Gefäßwandtonus (Abbildung 9C) und funktionellen Veränderungen der an die betroffenen kleinen Gefäße angrenzenden Neurone assoziiert. Diese Aspekte und deren, im Rahmen einer Pilotstudie unter Verwendung der 2-Photon-Mikroskopie, erfolgter intravitaler Nachweis schließen technische Unzulänglichkeiten als Ursache der Stasen aus.

Intravasale Hämolysen und progrediente Plasmaproteinakkumulationen innerhalb der Gefäßwände führen zu degenerativen Wandveränderungen (Abbildung 9B & C) mit nachfolgender Ruptur, konsekutiven perivaskulären Miniblutungen (Abbildung 9C) in etwa 30% der SHRSP, reaktiver Thrombosebildung der Arteriolen und kleinen Arterien (Abbildung 9D) sowie nachfolgender Gewebeinfarzierung in etwa 10% der SHRSP. Größere Infarktareale entstehen am ehesten als Folge mehrerer kleiner konfluierender Infarkte, sind regelmäßig hämorrhagisch transformiert und weisen eine Reduktion des zerebralen Blutflusses auf. Primär intrazerebrale Makroblutungen stellen ein Terminalstadium mit schnellem Tod der Tiere dar und werden in weniger als 2% der SHRSP nachgewiesen.

Abbildung 9. Initiale mikrovaskuläre Dysfunktion und Kaskade der zerebralen Mikroangiopathie in SHRSP.

Eine initiale endotheliale Dysfunktion (**A**) führt zu einer Störung der Integrität der Blut-Hirn-Schranke mit Freilegung von subendotheliale Kollagen, konsekutiver Adhäsion von Thrombozyten und Freisetzung des von Willebrand Faktors (vWF) aus Endothelzellen und subendothelialer Matrix (**B**). Bindungen zwischen Thrombozyten, vWF und subendotheliale Kollagen bilden ein „Netzwerk“, an das und innerhalb dessen Erythrozyten adhären und akkumulieren (**B**). Die roten Blutzellen stabilisieren den sich bildenden (inkompletten) Thrombus sekundär und sind in der konventionellen Histologie als kapilläre und arterioläre Stasen nachweisbar (**B**); diese „Stasengefäße“ sind gehäuft mit Regulationsstörungen des Wandtonus möglicherweise in Folge von Perizytenkontraktionen assoziiert (**C**). Parallel führt die Blut-Hirn-Schranken-Störung zum Austritt von Plasmaproteinen initial in die Wände der kleinen Gefäße mit nachfolgender Verdickung der kapillären Basalmembranen und arteriolären Basalmembranen/Tunica muscularis (**B**). Eine hieraus resultierende zunehmende Schädigung der Gefäßwände begünstigt den Übertritt von Plasma und Proteinen in das Gewebe mit konsekutiver Erweiterung der perivaskulären Räume (*) und extrazellulärer Ödembildung (**C**). Werden die Gefäßwände zunehmend fragiler kommt es zunächst zu einem Übertritt einzelner Erythrozyten in das Parenchym (Diapedesen, **B**), später zu Gefäßwandrupturen mit der Ausbildung perivaskulärer Miniblutungen (**C**). Erst die komplette Gefäßwandruptur führt zu einer raschen Vollendung der Gerinnungskaskade mit der Entstehung als reaktiv einzuschätzender („hyaliner“) Fibrinthromben (**D**).

Die Mikroangiopathie muss als Systemerkrankung betrachtet werden, die nicht nur zerebrale Gefäße betrifft sondern in der SHRSP auch in einer vaskulären Nephropathie resultiert. Diese entwickelt sich der zerebralen Mikroangiopathie vergleichbar in definierten Stadien, wobei auch renal intravasale Erythrozytenakkumulationen in peritubulären Kapillaren und glomerulären Arteriolen als Teil einer tubulointerstitiellen Schädigung das die Nephropathie einleitende histopathologische Stadium darstellen. Spätstadien der Nierenschädigung sind durch eine zusätzliche Glomerulosklerose und thrombotische Mikroangiopathie gekennzeichnet.

Anhand des Schweregrades der Nephropathie, die zeitlich vor der zerebralen Pathologie auftritt und eine histopathologisch raschere Progredienz zeigt, können Schweregrade und Stadien der zerebralen Mikroangiopathie altersabhängig mit hoher Sensitivität und Spezifität voraus gesagt werden.

Die zentralen Aussagen der vorliegenden Arbeit sind:

1. Die Mikroangiopathie stellt eine altersabhängige Systemerkrankung dar.
2. Es ist eine differente Pathophysiologie von zerebraler Makroangiopathie und zerebraler Mikroangiopathie anzunehmen.
3. Während die zerebrale Makroangiopathie sich in einer Kombination aus embolischer Potenz des veränderten Gefäßabschnittes und einer poststenotischen/-okklusiven Minderperfusion des nachgeschalteten Hirngewebes manifestiert, ist die Pathophysiologie der zerebralen Mikroangiopathie durch lokale Phänomene an den veränderten Gefäßabschnitten in Form einer pathologischen mikrovaskulären Kaskade einleitenden Blut-Hirn-Schranken-Störung (initiale mikrovaskuläre Dysfunktion) geprägt.
4. Diese initiale mikrovaskuläre Dysfunktion, die neben Blut-Hirn-Schranken-Störungen noch eine Gerinnungsaktivierung mit der Ausbildung von kapillären und arteriolären Blutstasen zuzuordnen ist, persistiert über viele Wochen, tritt mit einer hohen Prävalenz auf und ist nicht mit einer Gewebeschädigung in Form von Infarkten oder großen Hämorrhagien assoziiert.
5. Die zerebrale mikrovaskuläre Dysfunktion stellt damit einen hervorragenden Angriffspunkt für präventive und therapeutische Ansätze dar.
6. Nicht nur die zerebrale Mikroangiopathie sondern auch eine parallel auftretende vaskuläre Nephropathie entwickelt sich in definierten histopathologischen Initial-, Folge- und Terminalstadien.

7. Die Ausprägung der strukturellen Nephropathie ist dabei ein hochsensitiver und – spezifischer Prädiktor für die Schwere der zerebralen Mikroangiopathie.
8. Der Grad der vaskulären Nierenschädigung könnte damit einen hervorragenden Indikator für das Risiko der Entwicklung einer zerebralen Mikroangiopathie darstellen.

Ziel weiterer Untersuchungen soll die Testung der funktionellen Relevanz der initialen mikrovaskulären zerebralen Dysfunktion unter Verwendung zu etablierender Verfahren zur Testung des Verhaltens der Tiere sein. Parallel soll überprüft werden, ob weitere Organe eine vergleichbare histopathologisch voranschreitende mikroangiopathische Schädigung aufweisen und inwiefern diese mit den Stadien der zerebralen Mikroangiopathie in der SHRSP assoziiert ist bzw. diese voraussagen kann.

Im Rahmen translationaler Forschungsansätze müssen dann in einem ersten Schritt Methoden entwickelt werden, um zu untersuchen, ob human vergleichbare zerebrale und renale Initialpathologien nachgewiesen werden können und, inwiefern auch human der Nierenschaden prädiktiv für die zerebrale Pathologie ist. In Folge ist die Suche nach Biomarkern für die strukturelle Hirn- und Nierenpathologie ein wichtiger Forschungsansatz. Sollten dann Patienten, die ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer zerebralen Mikroangiopathie mit assoziierter dementieller Entwicklung aufweisen, entweder direkt anhand von Auffälligkeiten in der zerebralen Bildgebung oder indirekt anhand eines Biomarkers für die Schwere der renalen Pathologie, identifiziert werden können, sind in dieser Kohorte präventive und therapeutische Ansätze zu prüfen. Als wesentlicher zerebraler Angriffspunkt muss hier eine Restaurierung oder zumindest Stabilisierung der Blut-Hirn-Schranke inklusive der Perizyten diskutiert werden.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Erythrozytenakkumulationen und initiale mikrovaskuläre Dysfunktion in SHRSP (aus P2).	11
Abbildung 2. Blut-Hirn-Schranken-Störungen und Gefäßwandveränderungen.	13
Abbildung 3. Gestörter Kalium-Metabolismus der an Gefäßen mit intravasalen Erythrozytenakkumulationen angrenzenden Neurone.	16
Abbildung 4. Intravitale 2-Photon-Mikroskopie zum Nachweis von intravasalen Erythrozytenakkumulationen in der SHRSP.	17
Abbildung 5. Kaskade der zerebralen Mikroangiopathie in SHRSP.	21
Abbildung 6. Longitudinale magnetresonanztomographische Messungen mit Nachweis einer progredienten Infarktausdehnung in SHRSP.	22
Abbildung 7. Kaskade der hypertensiven Nephropathie in SHRSP.	26
Abbildung 8. Altersabhängige Progredienz der renalen tubulointerstitiellen Schädigung in SHRSP und Kontrollratten (modifiziert aus P12).	27
Abbildung 9. Initiale mikrovaskuläre Dysfunktion und Kaskade der zerebralen Mikroangiopathie in SHRSP.	35

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Altersabhängig parallele Entwicklung von Nephropathie und zerebraler Mikroangiopathie in einzelnen SHRSP verschiedener Altersgruppen (modifiziert aus P12). 31

Tabelle 2. Klassifikation der Stadien der zerebralen Mikroangiopathie anhand der Kenntnis des Vorliegens der renalen tubulointerstitiellen Pathologie und Glomerulosklerose in SHRSP (modifiziert aus P12). 32

Literaturverzeichnis

- Al Ahmad, A., Gassmann, M., Ogunshola, O. O.: Involvement of oxidative stress in hypoxia-induced blood-brain barrier breakdown. *Microvasc.Res.* 84:222-225 (2012)
- Anderson, W. P.: Is hypertrophy of the walls of pre-glomerular vessels responsible for hypertension in spontaneously hypertensive rats? *Blood Press Suppl* 5:57-60 (1994)
- Anfossi, G., Russo, I., Massucco, P., Mattiello, L., Cavalot, F., Trovati, M.: N-acetyl-L-cysteine exerts direct anti-aggregating effect on human platelets. *Eur.J Clin.Invest* 31:452-461 (2001)
- Bailey, E. L., McCulloch, J., Sudlow, C., Wardlaw, J. M.: Potential animal models of lacunar stroke: a systematic review. *Stroke* 40:e451-e458 (2009)
- Benavente, O. R., Hart, R. G., McClure, L. A., Szychowski, J. M., Coffey, C. S., Pearce, L. A.: Effects of clopidogrel added to aspirin in patients with recent lacunar stroke. *N.Engl.J Med.* 367:817-825 (2012)
- Berndt, M. C., Andrews, R. K.: Thrombotic thrombocytopenic purpura: reducing the risk? *J Clin.Invest* 121:522-524 (2011)
- Bidani, A. K., Griffin, K. A.: Pathophysiology of hypertensive renal damage: implications for therapy. *Hypertension* 44:595-601 (2004)
- Blaser, T., Glanz, W., Krueger, S., Wallesch, C. W., Kropf, S., Goertler, M.: Time period required for transcranial Doppler monitoring of embolic signals to predict recurrent risk of embolic transient ischemic attack and stroke from arterial stenosis. *Stroke* 35:2155-2159 (2004)
- Caplan, L. R., Hennerici, M.: Impaired clearance of emboli (washout) is an important link between hypoperfusion, embolism, and ischemic stroke. *Arch.Neurol* 55:1475-1482 (1998)
- Caplan, L. R., Wong, K. S., Gao, S., Hennerici, M. G.: Is hypoperfusion an important cause of strokes? If so, how? *Cerebrovasc.Dis.* 21:145-153 (2006)
- Carroll, J. E., Howard, E. F., Hess, D. C., Wakade, C. G., Chen, Q., Cheng, C.: Nuclear factor-kappa B activation during cerebral reperfusion: effect of attenuation with N-acetylcysteine treatment. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 56:186-191 (1998)
- Cheung, N., Mosley, T., Islam, A., Kawasaki, R., Sharrett, A. R., Klein, R., Coker, L. H., Knopman, D. S., Shibata, D. K., Catellier, D., Wong, T. Y.: Retinal microvascular abnormalities and subclinical magnetic resonance imaging brain infarct: a prospective study. *Brain* 133:1987-1993 (2010)
- Cho, A. H., Lee, S. B., Han, S. J., Shon, Y. M., Yang, D. W., Kim, B. S.: Impaired kidney function and cerebral microbleeds in patients with acute ischemic stroke. *Neurology* 73:1645-1648 (2009)

- Daffertshofer, M., Ries, S., Schminke, U., Hennerici, M.: High-intensity transient signals in patients with cerebral ischemia. *Stroke* 27:1844-1849 (1996)
- De Reuck, J., Deramecourt, V., Cordonnier, C., Leys, D., Pasquier, F., Maurage, C. A.: Prevalence of small cerebral bleeds in patients with a neurodegenerative dementia: a neuropathological study. *J.Neurol.Sci.* 300:63-66 (2011)
- Deuschl, G., Maier, W., Dodel, R., Fassbender, K., Frölich, L., Hüll, M., Jansen, S., Jessen, F., Schmidtke, K., Spottke, A., Kopp, I., Calabrese, P., Diener, H., Fritze, J., Gasser, T., Gertz, H., Gutzmann, H., Hamann, G., Hampel, H., Heinze, H., Heneka, M., Heuser, I., Hofmann, W., Ihl, R., Kornhuber, J., Kurz, A., Lang, C., Mielke, R., Nehen, H., Oertel, W., Otto, M., Pantel, J., Reichmann, H., Riepe, M., Romero, B., Schroeder, J., Schulz, J., von Arnim, C., Wallesch, C., Weih, M., Wiltfang, J., Graeßel, E., Peters, O., Bohlken, J., Bur, T., Evers-Grewe, B., Finckh, U., Forstmeier, S., Ganß, M., George, S., Gogol, M., Gospodarek, C., Hegeler, H., Hildebrandt, H., Hoffmann, W., Jahn, T., Keller, C., Koller, M., Lepper, H., Maercker, A., Meins, M., Mollenhauer, B., Mothes-Weiher, C., Muthesius, D., Paulus, W., Schreckenber, M., Urban, R., Varwig, D., and Kaleve, C.: *Diagnose und Therapie von Demenzen, S3-Leitlinie.* 2009
- Diener, H. C., Weber, R.: Clopidogrel added to aspirin adds no benefit but bleeding risk in patients with recent lacunar stroke. *Stroke* 44:861-863 (2013)
- Feld, L. G., Van Liew, J. B., Galaske, R. G., Boylan, J. W.: Selectivity of renal injury and proteinuria in the spontaneously hypertensive rat. *Kidney Int.* 12:332-343 (1977)
- Fisher, C. M.: The arterial lesions underlying lacunes. *Acta Neuropathol.* 12:1-15 (1968)
- Fredriksson, K., Auer, R. N., Kalimo, H., Nordborg, C., Olsson, Y., Johansson, B. B.: Cerebrovascular lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Acta Neuropathol.* 68:284-294 (1985)
- Fredriksson, K., Kalimo, H., Nordborg, C., Johansson, B. B., Olsson, Y.: Nerve cell injury in the brain of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Acta Neuropathol.* 76:227-237 (1988a)
- Fredriksson, K., Kalimo, H., Nordborg, C., Olsson, Y., Johansson, B. B.: Cyst formation and glial response in the brain lesions of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Acta Neuropathol.* 76:441-450 (1988b)
- Fredriksson, K., Kalimo, H., Westergren, I., Kahrstrom, J., Johansson, B. B.: Blood-brain barrier leakage and brain edema in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Effect of chronic sympathectomy and low protein/high salt diet. *Acta Neuropathol.* 74:259-268 (1987)
- Gattone, V. H., Evan, A. P., Willis, L. R., Luft, F. C.: Renal afferent arteriole in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 5:8-16 (1983)

- Goertler, M., Baeumer, M., Kross, R., Blaser, T., Lutze, G., Jost, S., Wallesch, C. W.: Rapid decline of cerebral microemboli of arterial origin after intravenous acetylsalicylic acid. *Stroke* 30:66-69 (1999)
- Goertler, M., Blaser, T., Guhr, S., Lotze, H., Heisinger, J., Kropf, S., Wallesch, C. W.: Reduced frequency of embolic signals in severe carotid stenosis with poststenotic flow velocity reduction. *Cerebrovasc.Dis.* 19:229-233 (2005)
- Goertler, M., Blaser, T., Krueger, S., Hofmann, K., Baeumer, M., Wallesch, C. W.: Cessation of embolic signals after antithrombotic prevention is related to reduced risk of recurrent arterioembolic transient ischaemic attack and stroke. *J Neurol Neurosurg.Psychiatry* 72:338-342 (2002)
- Goertler, M., Blaser, T., Krueger, S., Lutze, G., Wallesch, C. W.: Acetylsalicylic acid and microembolic events detected by transcranial Doppler in symptomatic arterial stenoses. *Cerebrovasc.Dis.* 11:324-329 (2001)
- Grinberg, L. T., Thal, D. R.: Vascular pathology in the aged human brain. *Acta Neuropathol.* 119:277-290 (2010)
- Guerrini, U., Sironi, L., Tremoli, E., Cimino, M., Pollo, B., Calvio, A. M., Paoletti, R., Asdente, M.: New insights into brain damage in stroke-prone rats: a nuclear magnetic imaging study. *Stroke* 33:825-830 (2002)
- Hainsworth, A. H., Markus, H. S.: Do in vivo experimental models reflect human cerebral small vessel disease? A systematic review. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 28:1877-1891 (2008)
- Hamann, G., Böhm, M., Diener, H., Dichgans, M., Fassbender, K., Förstl, H., Herbst, H., Hentschel, F., Parhofer, K., Schmidtke, K., Wallesch, C., Aichner, F., and Jung, S.: Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie. Vaskuläre Demenzen. 2012
- Hawkes, C. A., Hartig, W., Kacza, J., Schliebs, R., Weller, R. O., Nicoll, J. A., Carare, R. O.: Perivascular drainage of solutes is impaired in the ageing mouse brain and in the presence of cerebral amyloid angiopathy. *Acta Neuropathol.* 121:431-443 (2011)
- Hayashi, K., Epstein, M., Saruta, T.: Altered myogenic responsiveness of the renal microvasculature in experimental hypertension. *Journal of Hypertension* 14:1387-1401 (1996)
- Helmer, C., Stengel, B., Metzger, M., Froissart, M., Massy, Z. A., Tzourio, C., Berr, C., Dartigues, J. F.: Chronic kidney disease, cognitive decline, and incident dementia: the 3C Study. *Neurology* 77:2043-2051 (2011)
- Henning, E. C., Warach, S., Spatz, M.: Hypertension-induced vascular remodeling contributes to reduced cerebral perfusion and the development of spontaneous stroke in aged SHRSP rats. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 30:827-836 (2010)
- Hill, G. S.: Hypertensive nephrosclerosis. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.* 17:266-270 (2008)

- Ikram, M. A., Vernooij, M. W., Hofman, A., Niessen, W. J., van der, L. A., Breteler, M. M.: Kidney function is related to cerebral small vessel disease. *Stroke* 39:55-61 (2008)
- Inagami, T., Murakami, T., Higuchi, K., Nakajo, S.: Role of vascular wall renin: intracellular and extracellular mechanism. *Blood Vessels* 28:217-223 (1991)
- Jepsen, S., Hansen, A. B.: The influence of N-acetylcysteine on the measurement of prothrombin time and activated partial thromboplastin time in healthy subjects. *Scand.J Clin.Lab Invest* 54:543-547 (1994)
- Judy, W. V., Watanabe, A. M., Henry, D. P., Besch, H. R., Jr., Murphy, W. R., Hockel, G. M.: Sympathetic nerve activity: role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circ.Res.* 38:21-29 (1976)
- Khan, M., Sekhon, B., Jatana, M., Giri, S., Gilg, A. G., Sekhon, C., Singh, I., Singh, A. K.: Administration of N-acetylcysteine after focal cerebral ischemia protects brain and reduces inflammation in a rat model of experimental stroke. *J Neurosci.Res.* 76:519-527 (2004)
- Khatri, M., Wright, C. B., Nickolas, T. L., Yoshita, M., Paik, M. C., Kranwinkel, G., Sacco, R. L., Decarli, C.: Chronic kidney disease is associated with white matter hyperintensity volume: the Northern Manhattan Study (NOMAS). *Stroke* 38:3121-3126 (2007)
- Kleinschnitz, C., Bendszus, M., Frank, M., Solymosi, L., Toyka, K. V., Stoll, G.: In vivo monitoring of macrophage infiltration in experimental ischemic brain lesions by magnetic resonance imaging. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 23:1356-1361 (2003)
- Kleinschnitz, C., Schutz, A., Nolte, I., Horn, T., Frank, M., Solymosi, L., Stoll, G., Bendszus, M.: In vivo detection of developing vessel occlusion in photothrombotic ischemic brain lesions in the rat by iron particle enhanced MRI. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 25:1548-1555 (2005)
- Lammie, G. A.: Hypertensive cerebral small vessel disease and stroke. *Brain Pathol.* 12:358-370 (2002)
- Lammie, G. A., Brannan, F., Slattery, J., Warlow, C.: Nonhypertensive cerebral small-vessel disease. An autopsy study. *Stroke* 28:2222-2229 (1997)
- Laragh, J. H.: Discordant nephron function. A pathogenic factor in hypertension and its vascular complications of stroke and heart attack. *Am.J.Hypertens.* 4:2S-6S (1991)
- Lee, J. M., Zhai, G., Liu, Q., Gonzales, E. R., Yin, K., Yan, P., Hsu, C. Y., Vo, K. D., Lin, W.: Vascular permeability precedes spontaneous intracerebral hemorrhage in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 38:3289-3291 (2007)

- Manchak, M., Holloway, R.: ACP Journal Club. Adding clopidogrel to aspirin did not reduce recurrent stroke and increased bleeding in lacunar stroke. *Ann.Intern.Med.* 157:JC6-2 (2012)
- McGiff, J. C., Quilley, C. P.: The rat with spontaneous genetic hypertension is not a suitable model of human essential hypertension. *Circ.Res.* 48:455-464 (1981)
- Meyrier, A., Hill, G. S., Simon, P.: Ischemic renal diseases: new insights into old entities. *Kidney Int.* 54:2-13 (1998)
- Momjian-Mayor, I., Baron, J. C.: The pathophysiology of watershed infarction in internal carotid artery disease: review of cerebral perfusion studies. *Stroke* 36:567-577 (2005)
- Nagaoka, A., Iwatsuka, H., Suzuoki, Z., Okamoto, K.: Genetic predisposition to stroke in spontaneously hypertensive rats. *Am.J.Physiol* 230:1354-1359 (1976)
- Nguyen, D. B., Wagner-Britz, L., Maia, S., Steffen, P., Wagner, C., Kaestner, L., Bernhardt, I.: Regulation of phosphatidylserine exposure in red blood cells. *Cell Physiol Biochem.* 28:847-856 (2011)
- Obata, J., Nakamura, T., Takano, H., Naito, A., Kimura, H., Yoshida, Y., Shimizu, F., Guo, D. F., Inagami, T.: Increased gene expression of components of the renin-angiotensin system in glomeruli of genetically hypertensive rats. *J.Hypertens.* 18:1247-1255 (2000)
- Okamoto, K., Yamori, Y., Nagaoka, A.: Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR). *Circ.Res.* 34 and 35 (Suppl. 1):143-153 (1974)
- Oksala, N. K., Salonen, T., Strandberg, T., Oksala, A., Pohjasvaara, T., Kaste, M., Karhunen, P. J., Erkinjuntti, T.: Cerebral small vessel disease and kidney function predict long-term survival in patients with acute stroke. *Stroke* 41:1914-1920 (2010)
- Ovbiagele, B., Liebeskind, D. S., Pineda, S., Saver, J. L.: Strong independent correlation of proteinuria with cerebral microbleeds in patients with stroke and transient ischemic attack. *Arch.Neurol.* 67:45-50 (2010)
- Park, J. H., Seo, S. W., Kim, C., Kim, G. H., Noh, H. J., Kim, S. T., Kwak, K. C., Yoon, U., Lee, J. M., Lee, J. W., Shin, J. S., Kim, C. H., Noh, Y., Cho, H., Kim, H. J., Yoon, C. W., Oh, S. J., Kim, J. S., Choe, Y. S., Lee, K. H., Lee, J. H., Ewers, M., Weiner, M. W., Werring, D. J., Na, D. L.: Pathogenesis of cerebral microbleeds: In vivo imaging of amyloid and subcortical ischemic small vessel disease in 226 individuals with cognitive impairment. *Ann.Neurol* (2013)
- Patel, B., Markus, H. S.: Magnetic resonance imaging in cerebral small vessel disease and its use as a surrogate disease marker. *Int.J.Stroke* 6:47-59 (2011)
- Provenzano, F. A., Muraskin, J., Tosto, G., Narkhede, A., Wasserman, B. T., Griffith, E. Y., Guzman, V. A., Meier, I. B., Zimmerman, M. E., Brickman, A. M.: White Matter Hyperintensities and Cerebral Amyloidosis: Necessary and Sufficient for Clinical Expression of Alzheimer Disease? *JAMA Neurol* 11-7 (2013)

- Ries, S., Schminke, U., Daffertshofer, M., Hennerici, M.: High intensity transient signals (HITS) in patients with carotid artery disease. *Eur.J Med.Res.* 1:328-330 (1996)
- Rosen, S., Galvanek, E., Levy, M., Habib, R.: Glomerular disease. *Hum.Pathol.* 12:964-977 (1981)
- Saiki, R., Nishimura, K., Ishii, I., Omura, T., Okuyama, S., Kashiwagi, K., Igarashi, K.: Intense correlation between brain infarction and protein-conjugated acrolein. *Stroke* 40:3356-3361 (2009)
- Savage, P., Jeng, A. Y.: Upregulation of endothelin-1 binding in tissues of salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Can.J.Physiol Pharmacol.* 80:470-474 (2002)
- Schoof, J., Lubahn, W., Baeumer, M., Kross, R., Wallesch, C. W., Kozian, A., Huth, C., Goertler, M.: Impaired cerebral autoregulation distal to carotid stenosis/occlusion is associated with increased risk of stroke at cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J Thorac.Cardiovasc.Surg.* 134:690-696 (2007)
- Sedlaczek, O., Caplan, L., Hennerici, M.: Impaired washout--embolism and ischemic stroke: further examples and proof of concept. *Cerebrovasc.Dis.* 19:396-401 (2005)
- Sekhon, B., Sekhon, C., Khan, M., Patel, S. J., Singh, I., Singh, A. K.: N-Acetyl cysteine protects against injury in a rat model of focal cerebral ischemia. *Brain Res.* 971:1-8 (2003)
- Shima, H., Ishimura, E., Naganuma, T., Yamazaki, T., Kobayashi, I., Shidara, K., Mori, K., Takemoto, Y., Shoji, T., Inaba, M., Okamura, M., Nakatani, T., Nishizawa, Y.: Cerebral microbleeds in predialysis patients with chronic kidney disease. *Nephrol.Dial.Transplant.* (2009)
- Siebler, M., Nachtmann, A., Sitzer, M., Rose, G., Kleinschmidt, A., Rademacher, J., Steinmetz, H.: Cerebral microembolism and the risk of ischemia in asymptomatic high-grade internal carotid artery stenosis. *Stroke* 26:2184-2186 (1995)
- Siebler, M., Sitzer, M., Rose, G., Bendfeldt, D., Steinmetz, H.: Silent cerebral embolism caused by neurologically symptomatic high-grade carotid stenosis. Event rates before and after carotid endarterectomy. *Brain* 116 (Pt 5):1005-1015 (1993)
- Siebler, M., Sitzer, M., Rose, G., Steinmetz, H.: Microembolism in Carotid Artery Disease. *Echocardiography.* 13:529-536 (1996)
- Smith, E. E., Schneider, J. A., Wardlaw, J. M., Greenberg, S. M.: Cerebral microinfarcts: the invisible lesions. *Lancet Neurol* 11:272-282 (2012)
- Steffen, P., Jung, A., Nguyen, D. B., Muller, T., Bernhardt, I., Kaestner, L., Wagner, C.: Stimulation of human red blood cells leads to Ca²⁺-mediated intercellular adhesion. *Cell Calcium* 50:54-61 (2011)

- Sukumari-Ramesh, S., Laird, M. D., Singh, N., Vender, J. R., Alleyne, C. H., Jr., Dhandapani, K. M.: Astrocyte-derived glutathione attenuates hemin-induced apoptosis in cerebral microvascular cells. *Glia* 58:1858-1870 (2010)
- Swislocki, A., Tsuzuki, A.: Insulin resistance and hypertension: glucose intolerance, hyperinsulinemia, and elevated free fatty acids in the lean spontaneously hypertensive rat. *Am.J.Med.Sci.* 306:282-286 (1993)
- Tagami, M., Nara, Y., Kubota, A., Sunaga, T., Maezawa, H., Fujino, H., Yamori, Y.: Ultrastructural characteristics of occluded perforating arteries in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 18:733-740 (1987)
- Thompson, C. S., Hakim, A. M.: Living beyond our physiological means: small vessel disease of the brain is an expression of a systemic failure in arteriolar function: a unifying hypothesis. *Stroke* 40:e322-e330 (2009)
- Ushioji, Y., Takabatake, T., Haberle, D. A.: Blood pressure and tubuloglomerular feedback mechanism in chronically salt-loaded spontaneously hypertensive rats. *Kidney Int.* 39:1184-1192 (1991)
- Wardlaw, J. M., Sandercock, P. A., Dennis, M. S., Starr, J.: Is breakdown of the blood-brain barrier responsible for lacunar stroke, leukoaraiosis, and dementia? *Stroke* 34:806-812 (2003)
- Wardlaw, J. M., Smith, C., Dichgans, M.: Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging. *Lancet Neurol* 12:483-497 (2013)
- Weber, C., Noels, H.: Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat.Med.* 17:1410-1422 (2011)
- Weller, R. O., Boche, D., Nicoll, J. A. R.: Microvasculature changes and cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer's disease and their potential impact on therapy. *Acta Neuropathol.* 118:87-102 (2009a)
- Weller, R. O., Djuanda, E., Yow, H.-Y., Carare, R. O.: Lymphatic drainage of the brain and the pathophysiology of neurological disease. *Acta Neuropathol.* 117:1-14 (2008a)
- Weller, R. O., Preston, S. D., Subash, M., Carare, R. O.: Cerebral amyloid angiopathy in the aetiology and immunotherapy of Alzheimer disease. *Alzheimer's Research & Therapy* 1-6 (2009b)
- Weller, R. O., Subash, M., Preston, S. D., Mazanti, I., Carare, R. O.: Perivascular Drainage of Amyloid- β Peptides from the Brain and Its Failure in Cerebral Amyloid Angiopathy and Alzheimer's Disease. *Brain Pathol.* 18:253-266 (2008b)
- Yamori, Y., Horie, R.: Developmental course of hypertension and regional cerebral blood flow in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 8:456-461 (1977)
- Yamori, Y., Horie, R., Handa, H., Sato, M., Fukase, M.: Pathogenetic similarity of strokes in stroke-prone spontaneously hypertensive rats and humans. *Stroke* 7:46-53 (1976)

- Yemisci, M., Gursoy-Ozdemir, Y., Vural, A., Can, A., Topalkara, K., Dalkara, T.: Pericyte contraction induced by oxidative-nitrative stress impairs capillary reflow despite successful opening of an occluded cerebral artery. *Nat.Med.* 15:1031-1037 (2009)
- Zille, M., Farr, T. D., Przesdzing, I., Muller, J., Sommer, C., Dirnagl, U., Wunder, A.: Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 32:213-231 (2012)
- Zlokovic, B. V.: The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 57:178-201 (2008)