

ORIGINALARBEIT

Ultraschallkontrastmittel Levovist[®] steigert den thrombolytischen Effekt von niederfrequentem Ultraschall

Max Nedelmann¹, B.-Martin Eicke¹, Felicitas Nolle¹, Ernst-G. Lierke¹, Oliver Kempfski²

ZUSAMMENFASSUNG

□ **Hintergrund:** Die therapeutische Anwendung von Ultraschall zur Rekanalisation eines akuten thrombotischen oder embolischen Gefäßverschlusses stellt eine vielversprechende Alternative bzw. Ergänzung existierender Therapieoptionen dar. Neuere Studien belegen eine thrombolytische Effizienz von Ultraschall in alleiniger Anwendung und in Kombination mit rt-PA. Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob sich durch Zugabe des Ultraschallkontrastmittels Levovist[®] eine Steigerung der ultraschallinduzierten Thrombolyse erreichen lässt.

□ **Material und Methoden:** Untersucht wurde der thrombolytische Effekt von niederfrequentem (20,5 kHz) cw-(Continuous-Wave-)Ultraschall. In einzelnen Versuchsgruppen von je zehn bis 18 Thromben (Thrombusalter zwischen 3 und 6 h) wurde das Ausmaß der Thrombolyse mit und ohne Zugabe von rt-PA (3 µg/ml) und Levovist[®] (2 mg/ml) evaluiert. Das Ausmaß der Thrombolyse wurde über den Gewichtsverlust der einzelnen Thromben ermittelt. Die Experimente wurden in entgastem Natriumphosphatpuffer bei 37 °C und einer Flussrate von 15 ml/min in einem Flussmodell durchgeführt.

□ **Ergebnisse:** Es zeigte sich ein signifikanter thrombolytischer Effekt bei alleiniger Anwendung von Ultraschall (41,8% Gewichtsverlust) im Vergleich zur Kontrollgruppe (24,2%). Die Zugabe von Levovist[®] während der Ultraschallexposition führte zu einer diskreten Steigerung des Effekts auf 44,7% (nicht signifikant). In Kombination von Ultraschall mit rt-PA fand sich jedoch eine signifikante Zunahme der Thrombolyse von 65,8% (ohne Levovist[®]) auf 74,2% nach Zugabe von Levovist[®] ($p < 0,05$).

□ **Schlussfolgerung:** Die Daten dieser Studie zeigen, dass sich die thrombolytische Effizienz von niederfrequentem Ultraschall in Kombination mit rt-PA durch die Zugabe von Levovist[®] steigern lässt.

Schlüsselwörter: Ultraschall · Echokontrastmittel · Levovist[®] · Thrombolyse · rt-PA · Schlaganfall

Med Klin 2002;97:216–20.
DOI 10.1007/s00063-002-1147-7

ABSTRACT

Echo Contrast Agent LevovistTM Enhances Thrombolytic Efficacy of Low-Frequency Ultrasound

□ **Background:** Therapeutic application of ultrasound is a promising tool to develop an alternative or additional treatment modality of acute vessel occlusion. It has previously been shown that ultrasound enhances the effect of pharmacologic thrombolytic agents and has a thrombolytic potential in “stand-alone” therapy. The purpose of this study was to determine, whether the presence of

Von den verschiedenen Faktoren, die das Ausmaß der ischämischen Schädigung beim akuten thrombotischen oder embolischen Gefäßverschluss beeinflussen, ist die Zeit bis zur Rekanalisation des Gefäßes von besonderer Bedeutung. Als effektive Therapieoption im Rahmen einer peripheren Gefäßokklusion, eines Myokardinfarkts oder eines ischämischen Schlaganfalls existiert die pharmakologische Thrombolyse mit rt-PA. Allerdings ist der Nutzen dieser Methode begrenzt. Bei der systemischen Thrombolyse zeigt sich eine unvollständige Rekanalisationsrate, die bei zerebraler Gefäßokklusion zwischen 34 und 47% [22] und an den Koronararterien bei bis zu 70% liegt [20]. Zum Teil kommt es zu erheblichen Nebenwirkungen. Problematisch ist insbesondere die Situation beim ischämischen Schlaganfall. Lediglich eine Studie zeigte eine signifikante Überlegenheit von rt-PA innerhalb eines 3-stündigen Zeitfensters [23]. Andere Studien fanden lediglich einen nichtsignifikanten Trend [12, 13] bzw. zeigten keinen Vorteil der Thrombolyse außerhalb des 3-h-Fensters [8]. Im Gegensatz zum intrakraniellen Gefäßverschluss besteht bei der Okklusion der Koronararterien und peripheren Gefäße zudem die Möglichkeit einer invasiven mechanischen Intervention, z.B. mittels eines Ballonkatheters. Bei der kathetergestützten Angioplastie liegt die Rekanalisationsrate deutlich höher als bei der pharmakologischen Thrombolyse. Voraussetzung ist allerdings die Verfügbarkeit eines Katheterlabors mit erfahrener Personal, was die Anwendung auf wenige spezialisierte Zentren beschränkt. Diese Begrenztheit der existierenden Möglichkeiten erfordert die Suche nach ergänzenden oder alternativen Therapieansätzen.

Eine vielversprechende Therapiemethode ist die ultraschallinduzierte Thrombolyse. Für die transluminale, kathetergestützte, lokale Ultraschallanwendung konnte in zwei klinischen Studien eine effektive und sichere An-

¹Klinik und Poliklinik für Neurologie und

²Institut für Neurochirurgische Pathophysiologie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

wendung beim Myokardinfarkt gezeigt werden [15, 26]. Allerdings gilt auch hierbei die Begrenzung auf spezialisierte Zentren. Die nichtinvasive Behandlung mit Ultraschall, in alleiniger Anwendung und in Kombination mit einem Fibrinolytikum, bietet das Potential einer leicht verfügbaren und somit breit anwendbaren Therapiealternative. Die Applikation erfolgt hierbei transkutan, im Fall einer zerebralen Ischämie transkranial, über eine größere Distanz zum okkludierten Gefäß. Zahlreiche Studien, in vitro sowie in vivo im Tiermodell, deuten auf eine Wirksamkeit beim Myokardinfarkt [28], im peripheren Okklusionsmodell [18, 19, 29] sowie in vitro bei der transkraniellen Applikation hin [1, 4]. Eine klinische Pilotstudie fand für die enzymatische Thrombolysen des akuten zerebralen Gefäßverschlusses mit rt-PA einen wirksamkeitssteigernden Effekt, wenn parallel zum pharmakologischen Einsatz von rt-PA ein Monitoring der Thrombolysen mit einem diagnostischen 2-MHz-Doppler-Ultraschallgerät erfolgte [2]. Allerdings dienten als Kontrollgruppe historische Daten der NINDS-Studie [23], so dass die Ergebnisse in einer randomisierten, kontrollierten Studie überprüft werden müssen.

Um die bei der nichtinvasiven Applikation benötigte Ultraschallintensität, und somit das Risiko von intensitätsabhängigen Nebenwirkungen im Gewebe, zu minimieren, erscheint die adjuvante Gabe eines lokal im Gefäß wirksamkeitssteigernden Pharmakons sinnvoll. Mehrere Studien weisen auf eine verbesserte thrombolytische Effizienz von Ultraschall bei gleichzeitiger Gabe eines Echocontrastmittels hin. Verwendet wurden luftgefüllte Mikrobubbles, gebunden an Albumin [30], sowie perfluorogashaltige Mikrobubbles [5, 9, 24, 25].

Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob sich auch durch Zugabe des lungengängigen, kommerziell erhältlichen Echocontrastmittels Levovist®, einem luftgefüllten Kontrastmittel auf Saccharidbasis, eine Steigerung des thrombolytischen Effekts von Ultraschall erzielen lässt.

Material und Methoden

Zu Beginn jeder Versuchsreihe wurde Vollblut von einem gesunden Probanden durch Venipunktion gewonnen, in

the echo contrast agent Levovist™ further increases the thrombolytic efficacy of ultrasound.

□ **Material and Methods:** Thrombolytic efficacy of low-frequency (20.5 kHz) continuous-wave ultrasound was evaluated. Fresh human blood clots (age 3–6 h) were sonicated for 10 min at an intensity of 0.35 W/cm². The thrombolytic effect of ultrasound alone and in combination with rt-PA (3 µg/ml) was assessed with and without addition of Levovist™ (2 mg/ml). Loss in weight of each blood clot was used to measure the extent of thrombolysis. The number of thrombi in each group was between ten and 18. Experiments were carried out in sodium phosphate buffer, at a temperature of 37 °C, in a flow system with a flow rate of 15 ml/min.

□ **Results:** The use of ultrasound alone showed a significant thrombolytic effect (41.8% weight loss), as compared to a control group (24.2%). The addition of Levovist™ further increased thrombolysis to 44.7%, which was not significant. However, in combination with rt-PA, ultrasound-mediated thrombolysis could be significantly increased from 65.8% to 74.2%, when Levovist™ was added ($p < 0.05$).

□ **Conclusion:** These data show that the thrombolytic efficacy of low-frequency continuous-wave ultrasound in combination with rt-PA is augmented in the presence of Levovist™.

Key Words: Ultrasound · Echo contrast agent · Levovist™ · Thrombolysis · Tissue plasminogen activator · Stroke

Med Klin 2002;97:216–20.
DOI 10.1007/s00063-002-1147-7

1-ml-Insulinspritzen gefüllt und mit 10 IE Thrombin vermischt (Fa. Amersham Pharmacia, USA; 1 IE entspricht 0,2 N.I.H. Units). Um stabile Thromben zu erhalten, wurden die Spritzen für 3 h bei Raumtemperatur auf einem Rotator (15 rpm) belassen. Jeder Thrombus wurde zu Beginn des Experiments aus der Spritze entnommen und dreimal in Natriumphosphatpuffer gewaschen. Überstehender Puffer wurde vorsichtig entfernt und das Thrombusgewicht bestimmt. Das mittlere Gewicht der Thromben vor Versuchsbeginn lag bei 550 ± 47 mg. Nach Durchführung des Versuchs wurde das Gewicht erneut bestimmt. Das Ausmaß der Thrombolysen wurde aus dem prozentualen Gewichtsverlust der Thromben berechnet.

Die Experimente wurden mit einem 20,5-kHz-Continuous-Wave-(cw-)Ultraschallgenerator der Firma KLN, Heppenheim, durchgeführt. Verwendet wurde ein unfokussierter, planer Schwinger (Oberfläche 3,5 cm²), der in einer Distanz von 3 cm oberhalb des Thrombus arrangiert wurde. Die Versuche wurden in einem beheizbaren Wassertank (24 cm Länge, 20 cm Breite, 16 cm Höhe) durchgeführt. Als Ver-

suchskammer diente ein in den Wassertank getauchter Glaszylinder (3,5 cm Innendurchmesser, 7 cm Höhe), an dessen unterem Ende der Thrombus auf einer dünnen, schalldurchlässigen Polyethylenmembran platziert wurde (Abbildung 1). Als Medium diente entgaster 0,02-M-Natriumphosphatpuffer (pH 7,4), die Temperatur am Thrombus wurde auf 37 °C eingestellt. Dieser Puffer wurde gewählt, da rt-PA darin eine thrombolytische Potenz aufweist [10]. Im Glaszylinder wurde ein konstanter Zufluss des Mediums von 15 ml/min eingestellt, der Abfluss erfolgte in den Wassertank. Die Thromben in allen Versuchsgruppen und in der Kontrollgruppe wurden für 20 min in der Versuchskammer belassen. Die Ultraschallexposition erfolgte über 10 min (Ausgangsintensität des Ultraschallgerätes 0,35 W/cm²). Die Inkubation mit rt-PA (Actilyse®, Fa. Boehringer Ingelheim) erfolgte über 20 min, wobei rt-PA dem zufließenden Puffer kontinuierlich in einer Konzentration von 3 µg/ml zugegeben wurde. Diese Konzentration wurde gewählt, da sie der Blutkonzentration von rt-PA während einer üblichen intravenösen Behand-

ORIGINALARBEIT

lung entspricht (0,9 mg/kg Körpergewicht, 10% Bolus, den Rest über 60 min i.v. [27]). Levovist® (Fa. Schering, Berlin) wurde dem Puffer ebenfalls kontinuierlich in einer Konzentration von 2 mg/ml zugegeben.

In jeder Versuchsgruppe wurden zwischen zehn und 18 Thromben getestet. Alle Versuche wurden einzeln durchgeführt, mit jeweils einem Thrombus in der Versuchskammer. Folgende Versuchsgruppen wurden im Rahmen dieser Arbeit miteinander verglichen: alleinige Exposition mit Ultraschall (n = 18), Kombination von Ultraschall mit Levovist® (n = 18), alleinige Exposition mit rt-PA (n = 10), Kombination von Ultraschall mit rt-PA (n = 12), Kombination von Ultraschall und rt-PA mit Levovist® (n = 12) und alleinige Anwendung von Levovist® (n = 10). Als Kontrollgruppe dienten zehn Thromben, die in der Versuchskammer dem Puffer exponiert wurden, ohne Zugabe von Ultraschall, rt-PA oder Levovist®. Das Alter der Thromben lag zu Versuchsbeginn zwischen 3 und 6 h. Um die Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Versuchsgruppen zu gewährleisten, wurden die Thromben in den verschiedenen Gruppen alterskorreliert.

Zur Deskription der Versuchsreihen wurden nichtparametrische Lagemaße (Median, Quartile) verwendet, die graphische Darstellung erfolgt entsprechend mittels Boxplots. Da in einigen Versuchsreihen statistische Ausreißer auftraten, wurde zum paarweisen Vergleich der Messreihen der unverbundene Wilcoxon-Test verwendet, die resultierenden p-Werte sind nicht multipel adjustiert, sondern belegen für $p < 0,05$ statistische Signifikanz. Die Analysen wurden mit SPSS (Version 10.0 unter Windows) erstellt.

Ergebnisse

Der prozentuale mittlere Gewichtsverlust der Thromben in den verschiedenen Versuchsgruppen ist graphisch in Abbildung 2 dargestellt. Eine Übersicht über die Mittel- und Medianwerte der Versuchsgruppen gibt Tabelle 1. In der Kontrollgruppe, in der keinerlei Behandlung der Thromben erfolgte, fand sich über die Inkubationszeit von 20 min ein spontaner Gewichtsverlust von $24,2 \pm 8,5\%$. Im Vergleich hierzu zeig-

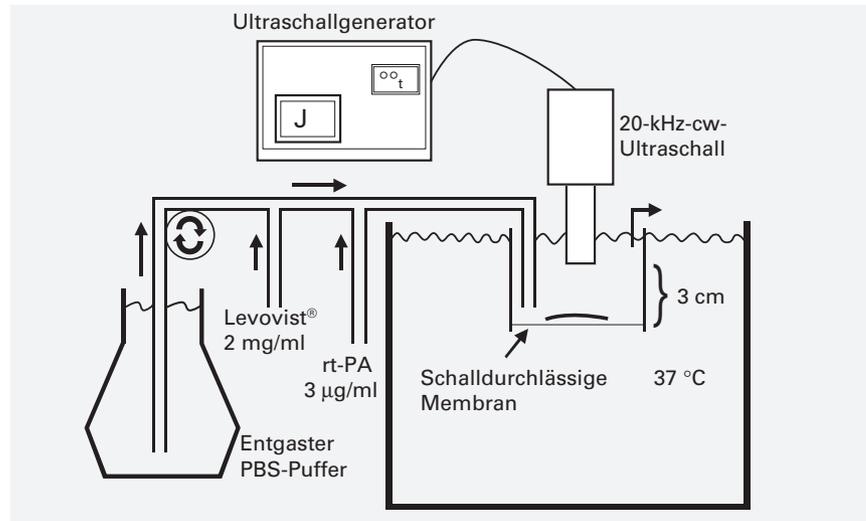


Abbildung 1. Schematisierter Versuchsaufbau.

te sich nach alleiniger Behandlung mit Ultraschall (Gewichtsverlust $41,8 \pm 13\%$) ein statistisch signifikanter thrombolytischer Effekt ($p < 0,001$). Auch die alleinige Behandlung mit rt-PA führte zu einem statistisch signifikanten Gewichtsverlust der Thromben ($49,1 \pm$

$7,6\%$; $p < 0,001$). Die Kombination von rt-PA und Ultraschall (Gewichtsverlust $65,8 \pm 11,2\%$) war signifikant effektiver als die jeweilige Einzelbehandlung ($p < 0,001$ im Vergleich zur alleinigen rt-PA-Behandlung). Um sicherzustellen, dass die alleinige Zugabe

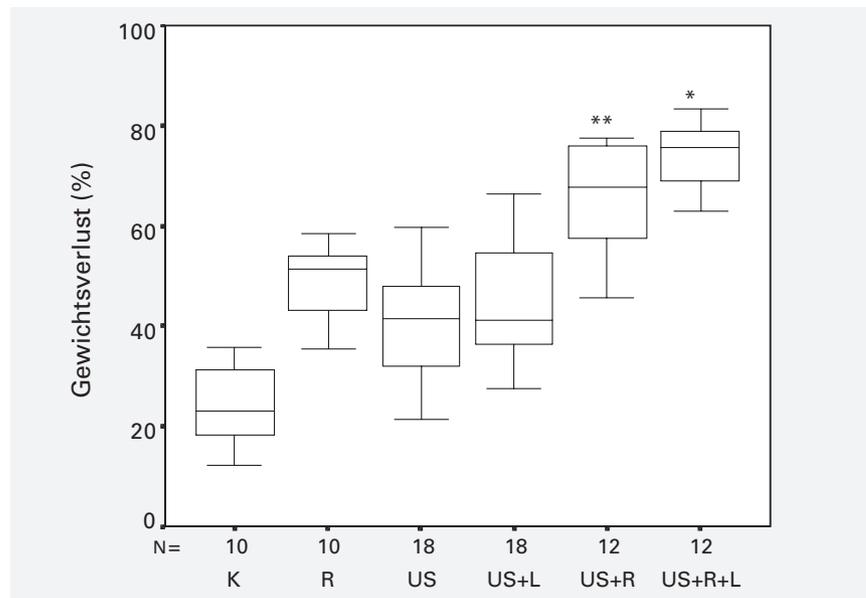


Abbildung 2. Effekt von Ultraschall (US) in alleiniger Anwendung sowie in Kombination mit rt-PA (R) und Levovist® (L). Das Ausmaß der Thrombolysen wird als prozentualer Gewichtsverlust der Thromben vor und nach Behandlung angegeben (Boxplots). In allen Versuchsgruppen findet sich ein statistisch signifikanter thrombolytischer Effekt im Vergleich zur Kontrollgruppe (K).

* Es zeigt sich ein statistisch signifikanter wirksamkeitssteigernder Effekt durch Zugabe von Levovist® zu einer kombinierten Behandlung mit Ultraschall und rt-PA ($p < 0,05$). ** $p = 0,002$ im Vergleich zur alleinigen Behandlung mit rt-PA.

Tabelle 1. Einfluss verschiedener Therapieschemata auf das Ausmaß der Thrombolyse. Angegeben sind die Mittel- und Medianwerte des prozentualen Gewichtsverlusts der Thromben in den verschiedenen Versuchsgruppen (Levo: Levovist®; SD: Standardabweichung; US: Ultraschall).

Versuchsgruppe	n	Mittelwert (± SD)	Median (Perzentile)		
			25 (Q1)	50 (Median)	75 (Q3)
Kontrolle	10	24,2 ± 8,5	16,9	23,1	32,0
Levo	10	23,2 ± 7,3	18,3	22,1	27,8
US	18	41,8 ± 13,0	31,5	41,6	48,7
rt-PA	10	49,1 ± 7,6	42,1	51,4	54,5
US + Levo	18	44,7 ± 11,9	36,0	41,4	55,4
US + rt-PA	12	65,8 ± 11,2	57,3	67,9	76,5
US + Levo + rt-PA	12	74,2 ± 6,6	69,0	75,9	79,0

von Levovist® zu keinem thrombolytischen Effekt führt, wurden in einer Versuchsgruppe die Thromben ohne sonstige Behandlung dem Kontrastmittel exponiert. Hierbei zeigte sich ein mit der Kontrollgruppe in etwa vergleichbarer Gewichtsverlust ($23,2 \pm 7,3\%$).

Bei gleichzeitiger Ultraschallbehandlung führte die konstante Infusion von Levovist® in die Versuchskammer zu einer leichten Zunahme des thrombolytischen Effekts ($44,7 \pm 11,9\%$) im Vergleich zur alleinigen Ultraschallbehandlung. Dieser Effekt erreichte jedoch keine statistische Signifikanz.

In der kombinierten Behandlung mit Ultraschall sowie mit rt-PA kam es zu einem deutlichen Gewichtsverlust der Thromben von $65,8 \pm 11,1\%$. Nach zusätzlicher Infusion von Levovist® ließ sich dieser Effekt statistisch signifikant steigern auf $74,2 \pm 6,6\%$ ($p < 0,05$; Abbildung 2).

DISKUSSION

Die Daten dieser Studie zeigen, dass sich unter den gewählten Versuchsbedingungen mit alleiniger Anwendung von niederfrequentem Ultraschall eine signifikante Thrombolyse erzielen lässt. Die Kombination von Ultraschall mit rt-PA ist den jeweiligen Einzelbehandlungen statistisch signifikant überlegen. Es ließ sich zeigen, dass die Zugabe des luftbasierten Ultraschallkontrastmittels Levovist® zu einer Zunahme der thrombolytischen Effizienz von Ultraschall führt. Hierbei findet sich ein Trend zu einer verbesserten Wirksamkeit, wenn die Behandlung mit Ultraschall in Gegenwart von Levovist® durchgeführt wird. Die Zugabe von Levovist® führt zu einem statistisch signifi-

kanten Effekt, wenn die Behandlung der Thromben kombiniert mit Ultraschall und rt-PA durchgeführt wird.

Die thrombolytische Wirksamkeit von therapeutischem Ultraschall, in alleiniger Anwendung und in Kombination mit einem Fibrinolytikum, konnte in zahlreichen Studien belegt werden. Getestet wurden verschiedene Frequenzen (19,5 kHz bis 10 MHz), Expositionszeiten und Ultraschallintensitäten. Ultraschall verschiedener Frequenzen zeigt hierbei das Potential, eine enzymatische Fibrinolyse durch rt-PA oder Urokinase zu verstärken [4, 7, 16, 18, 19, 21, 28, 29]. Ein direkter Vergleich zur Bestimmung der optimalen Frequenz ist bisher noch nicht erfolgt. Bezüglich eines thrombolytischen Ultraschalleffekts in alleiniger Anwendung scheint der niederfrequente Bereich von Vorteil zu sein [3, 5, 14]. Der niederfrequente Bereich bietet zudem Vorteile bezüglich der Eindringtiefe im Gewebe sowie der Transmission durch den Schädelknochen, was für eine nichtinvasive Anwendung von Bedeutung ist [1, 4]. Da beim nichtinvasiven therapeutischen Ansatz eine Beschallung des Gefäßes über eine größere Distanz durch Gewebe erfolgt, sind die applizierbare Ultraschallintensität und die Expositionszeit vor dem Hintergrund von möglichen Nebenwirkungen begrenzt.

Um Nebenwirkungen zu minimieren, erscheint daher der Einsatz eines Adjuvans sinnvoll, das zu einer lokalen, also intravasalen Verstärkung des Ultraschalleffekts führt. Für diesen Zweck bieten sich gasbasierte Ultraschallkontrastmittel an.

Die Daten dieser Studie zeigen, dass sich Levovist® für diese Anwendung eignet. Der wirkungssteigernde Effekt

zeigte sich hierbei bei Anwendung von Ultraschall über eine Distanz von mehreren Zentimetern, was Voraussetzung für eine nichtinvasive Anwendung ist.

Bei Levovist® handelt es sich um galaktosestabilisierte, luftgefüllte Mikrobläschen. Ein 0,1%iger Zusatz von Palmitinsäure ermöglicht eine stabile Passage des Lungenkapillarbettes und somit den Eintritt des Kontrastmittels in die arterielle Zirkulation.

Eine Wirksamkeitsverbesserung der ultraschallinduzierten Thrombolyse konnte auch für andere Echokontrastmittel gezeigt werden. Mehrere Arbeiten beschreiben einen guten Effekt von perfluorgashaltigen Substanzen, wie z.B. Optison™, in vitro und auch in vivo in einem Arteria-femorales-Verschlussmodell [6, 24]. Tachibana & Tachibana konnten eine Wirksamkeit proteingebundener Luftmikrobläschen (Albunex®, Fa. Molecular Biosystems, San Diego, USA) in vitro demonstrieren [30]. Zwei Studien beschäftigten sich mit dem Vergleich von perfluorgashaltigen mit luftgefüllten, proteingebundenen Mikrobläschen. Porter et al. fanden eine Überlegenheit der perfluorgashaltigen Substanz, wobei diese im Vergleich zur luftgefüllten Substanz deutlich höher dosiert war, was den direkten Vergleich erschwert [25]. Dhond et al. demonstrieren eine Überlegenheit des perfluorgashaltigen Kontrastmittels in Kombination mit Urokinase, unter Verwendung von niederfrequentem Ultraschall in einer sehr hohen Intensität von 36 W/cm^2 [9]. Als mögliche Ursache für die bessere Wirksamkeit des perfluorgashaltigen Kontrastmittels diskutieren die Autoren die geringere Wasserlöslichkeit, was zu einer längeren Verfügbarkeit der Mikrobläschen im Schallfeld führt.

Die Daten dieser Studie demonstrieren erstmals, dass sich ein klinisch weit verbreitetes Ultraschallkontrastmittel auf Saccharidbasis für die Anwendung bei der ultraschallinduzierten Thrombolyse eignet. Die Stabilität der Substanz in der Lungenpassage bietet für einen potentiellen klinischen Einsatz die Möglichkeit einer intravenösen Applikation.

Als Wirkmechanismus wird ein direkter, durch Kavitationen induzierter mechanischer Effekt angenommen [5, 24, 25, 30]. Gasgefüllte Mikrobläschen

ORIGINALARBEIT

stellen „Kavitationsnuklei“ dar, durch deren Gegenwart im Schallfeld es zu einer Absenkung der Kavitationsschwelle, also der benötigten Energie zur Auflösung von Kavitationen, kommt [17]. Bei Kavitationen handelt es sich um durch Ultraschall induzierte gasförmige Hohlräume, die je nach Beschaffenheit rasch kollabieren (transiente Kavitationen) oder im Schallfeld oszillieren können (stabile Kavitationen). Hierdurch wird Energie freigesetzt, die zum einen direkt, möglicherweise aber auch durch akustische Induktion einer Mikroströmung (und hierdurch bedingtes „Abscheren“ von Thrombusmaterial) zu mechanischen Effekten am Thrombus führt [5, 11].

Eine durch die mechanischen Effekte bedingte „Gefügelockerung“ des Thrombus könnte zudem zu einer verbesserten Verfügbarkeit von rt-PA am Thrombus führen. Dies würde erklären, warum sich in unserer Studie eine ausgeprägtere Wirkung von Levovist® bei kombinierter Behandlung mit rt-PA und Ultraschall gezeigt hat.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen also, dass das Echokontrastmittel Levovist® das Potential für eine Wirksamkeitssteigerung einer durch Ultraschall induzierten Thrombolysen besitzt. Durch den lokalen, intravasalen Wirkmechanismus des Kontrastmittels ergeben sich insbesondere für einen nichtinvasiven therapeutischen Ansatz Vorteile, da sich die für einen thrombolytischen Effekt benötigte Ultraschalldosis senken ließe. Dies könnte sich in Hinblick auf durch die Ultraschallbehandlung bedingte, dosisabhängige Nebenwirkungen als günstig erweisen. Die Wirksamkeit von Levovist® und die Sicherheitsaspekte der nichtinvasiven therapeutischen Anwendung von Ultraschall bedürfen vor einer humanen Anwendung einer Evaluation in vivo im Tiermodell. Dies gilt insbesondere für die Anwendung beim Schlaganfall, da bisher wenig bekannt ist über mögliche biologische Nebenwirkungen von niederfrequentem Ultraschall am Hirngewebe.

Danksagung

Die Autoren danken Herrn Rudolf Großbach und Herrn Laszlo Kopacz für die technischen Hilfestellungen sowie Herrn Frank Krummenauer für die Hilfe bei der statistischen Analyse.

Literatur

1. Akiyama M, Ishibashi T, Yamada T, Furuhashi H. Low-frequency ultrasound penetrates the cranium and enhances thrombolysis in vitro. *Neurosurgery* 1998;43:828–33.
2. Alexandrov AV, Demchuk AM, Felberg RA, Christou I, Barber PA, Burgin WS, Malkoff M, Wojner AW, Grotta JC. High rate of complete recanalization and dramatic recovery during tPA infusion when continuously monitored with 2-MHz transcranial Doppler monitoring. *Stroke* 2000;31:610–4.
3. Atar S, Luo H, Birnbaum Y, Hansmann D, Siegel R. The use of transducer-tipped ultrasound catheter recanalization of thrombotic arterial occlusions. *Echocardiography* 2001;18:233–7.
4. Behrens S, Daffertshofer M, Spiegel D, Hennerici M. Low-frequency, low-intensity ultrasound accelerates thrombolysis through the skull. *Ultrasound Med Biol* 1999;25:269–73.
5. Birnbaum Y, Atar S, Luo H, Nagai T, Siegel RJ. Ultrasound has synergistic effects in vitro with tirofiban and heparin for thrombus dissolution. *Thromb Res* 1999;96:451–8.
6. Birnbaum Y, Luo H, Nagai T, Fishbein MC, Peterson TM, Li S, Kricsfeld D, Porter TR, Siegel RJ. Noninvasive in vivo clot dissolution without a thrombolytic drug. *Circulation* 1998;97:130–4.
7. Blinc A, Francis CW, Trudnowski J, Carstensen EL. Characterization of ultrasound-potentiated fibrinolysis in vitro. *Blood* 1993;81:2636–43.
8. Clark WM, Wissman S, Albers GW, Jhamandas JH, Madden KP, Hamilton S. Recombinant tissue-type plasminogen activator (alteplase) in ischaemic stroke 3 to 5 hours after symptom onset. The ATLANTIS Study: a randomized controlled trial. Alteplase thrombolysis in acute noninterventional therapy in ischaemic stroke. *JAMA* 1999;282:2019–26.
9. Dhond MR, Nguyen TT, Dolan C, Pulido G, Bommer WJ. Ultrasound-enhanced thrombolysis at 20 kHz with air-filled and perfluorocarbon-filled contrast biphases. *J Am Soc Echocardiogr* 2000;13:1025–9.
10. Electricwala A, Ling RJ, Sutton PM, Griffiths B, Riley PA, Atkinson T. In vitro studies on the fibrinolytic, thrombolytic and fibrinogenolytic properties of a tissue plasminogen activator from guinea pig keratocytes. *Thromb Haemost* 1985;53:201–3.
11. Frizzell LA. Biological effects of acoustic cavitation. In: Suslick KS, ed. *Ultrasound. Its chemical, physical and biological effects*. New York–Weinheim: VCH, 1988: 287–301.
12. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, Toni E, Lesaffre E, Kummer R von, Boysen G, Bluhmki E, Höxter G, Mahagne M, Hennerici M. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke (ECASS). *JAMA* 1995;274:1017–25.
13. Hacke W, Kaste M, Fieschi C, Kummer R von, Davalos A, Meier D, Larrue V, Bluhmki E, Davis S, Donnan G, Schneider D, Diez-Tejedor E, Trouillas P. Randomised double-blind placebo-controlled trial of thrombolytic therapy with intravenous alteplase in acute ischaemic stroke (ECASS II). *Lancet* 1998;352:1245–51.
14. Halkin A, Rosenschein U. Catheter-delivered ultrasound therapy for native coronary arterial thrombosis and occluded saphenous vein grafts. *Echocardiography* 2001;18: 225–31.
15. Hamm CW, Steffen W, Terres W, de Scheerder I, Reimers J, Cumberland P, Siegel RJ, Meinertz T. Intravascular therapeutic ultrasound thrombolysis in acute myocardial infarctions. *Am J Cardiol* 1997;80:200–4.
16. Harpaz D, Chen X, Francis CW, Meltzer RS. Ultrasound accelerates urokinase-induced thrombolysis and reperfusion. *Am Heart J* 1994;127:1211–9.
17. Holland CK, Apfel RE. Thresholds for transient cavitation production by pulsed ultrasound in a controlled nuclei environment. *J Acoust Soc Am* 1990;88:2059–69.
18. Kornowski R, Meltzer RS, Chermine A, Vered Z, Battler A. Does external ultrasound accelerate thrombolysis? Results from a rabbit model. *Circulation* 1994;89:339–44.
19. Lauer CG, Burge R, Tang DB, Bass BG, Gomez ER, Alving BM. Effect of ultrasound on tissue-type plasminogen activator-induced thrombolysis. *Circulation* 1992;86: 1257–64.
20. Lincoff AM, Topol EJ. Illusion of reperfusion: does anyone achieve optimal reperfusion during acute myocardial infarction? *Circulation* 1993;88:1361–74.
21. Luo H, Steffen W, Cercek B, Arunasalam S, Maurer G, Siegel RJ. Enhancement of thrombolysis by external ultrasound. *Am Heart J* 1993;125:1564–9.
22. Mori E, Yoneda Y, Tabuchi M. Intravenous recombinant tissue plasminogen activator in acute carotid artery territory stroke. *Neurology* 1992;42:976–82.
23. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 1995;333:1581–7.
24. Nishioka T, Luo H, Fishbein MC, Cercek B, Forrester JS, Kim CJ, Berglund H, Siegel RJ. Dissolution of thrombotic arterial occlusion by high intensity, low-frequency ultrasound and dodecafluoropentane emulsion: an in vitro and in vivo study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30:561–8.
25. Porter TR, LeVein RF, Fox R, Kricsfeld A, Xie F. Thrombolytic enhancement with perfluorocarbon-exposed sonicated dextrose albumine microbubbles. *Am Heart J* 1996; 132:964–8.
26. Rosenschein U, Roth A, Rassin T, Basan S, Laniado S, Miller HI. Analysis of coronary ultrasound thrombolysis endpoints in acute myocardial infarction (ACUTE trial). *Circulation* 1997; 95:1411–6.
27. Seifried E, Tanswell P, Ellbrueck D, Haerer W, Schmidt A. Pharmacokinetics and haemostatic status during consecutive infusions of recombinant tissue-type plasminogen activator in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1989;61:497–501.
28. Siegel RJ, Atar S, Fishbein MC, Brasch AV, Peterson TM, Nagai T, Pal D, Nishioka T, Chae JS, Birnbaum Y, Zanelli C, Luo H. Noninvasive, transthoracic, low-frequency ultrasound augments thrombolysis in a canine model of acute myocardial infarction. *Circulation* 2000;101: 2026–9.
29. Suchkova VN, Baggs RB, Francis CW. Effect of 40-kHz ultrasound on acute thrombotic ischemia in a rabbit femoral artery thrombosis model. *Circulation* 2000;101: 2296–301.
30. Tachibana K, Tachibana S. Albumin microbubble echo-contrast material as an enhancer for ultrasound accelerated thrombolysis. *Circulation* 1995;92:1148–50.

Korrespondenzanschrift

Dr. Max Nedelmann
Klinik und Poliklinik für Neurologie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Langenbeckstraße 1
55101 Mainz
Telefon (+49/6131) 17-3110
Fax -3271
E-Mail: nedelmann@
neurologie.klinik.uni-mainz.de