Aus dem
CharitéCentrum 15 für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie
Klinik für Neurochirurgie
Direktor: Professor Dr. med. P. Vajkoczy

Habilitationsschrift

Untersuchungen zur vaskulären Pathophysiologie bei cerebraler Ischämie

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Neurochirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Johannes Woitzik
geboren am 15.02.1971, in Homberg/Efze

Eingereicht: **10/2007**

Dekan: **Professor Dr. med. M. Paul**

Gutachter: **Professor Dr. med. W. Wick**

Gutachter: **Prof. Dr. med. H. W. S. Schroeder**

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis **2**

Abkürzungsverzeichnis **4**

Einleitung **5**

Methodenbeschreibung **9**

Tierexperimentelle Untersuchungsmethoden 9

Fadenokklusion der Arteria Cerebri Media 9

Bilaterale Okklusion der Arteria Carotis Communis 10

Hypoxic Preconditioning 10

Latex-Perfusion 10

14C Iodo-Antipyrin Autoradiographie 11

Bestimmung der Reservekapazität 11

Histologie und Immunohistologie 12

Klinische Untersuchungsmethoden 12

Indocyaningrün-Videoangiographie 12

Subdurale Elektrocorticographie 13

Ergebnisse – Eigene Arbeiten **14**

Teil 1: Untersuchungen zur Behandlung eines akuten Schlaganfalls 14

Darstellung der Penumbra mittels Indocyaningrün-Videoangiographie 14

[1] Woitzik J, Pena-Tapia PG, Schneider UC, Vajkoczy P, Thome C. Cortical perfusion measurement by indocyanine-green videoangiography in patients undergoing hemicraniectomy for malignant stroke. Stroke 2006;37:1549-51.

Etablierung der Fadenokklusions-Methode zur Induktion einer experimentellen Ischämie 19

[2] Woitzik J, Schilling L. Control of completeness and immediate detection of bleeding by a single laser-Doppler flow probe during intravascular middle cerebral artery occlusion in rats. J Neurosci Methods 2002;122:75-8.

[3] Woitzik J, Schneider UC, Thome C, Schroeck H, Schilling L. Comparison of different intravascular thread occlusion models for experimental stroke in rats. J Neurosci Methods 2006;151:224-31.

Behandlung der experimentellen Ischämie durch Verbesserung der Sauerstofftransportkapazität 33

[4] Woitzik J, Weinzierl N, Schilling L. Early administration of a second-generation perfluorochemical decreases ischemic brain damage in a model of permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. Neurol Res 2005;27:509-515.

Teil 2: Untersuchungen zur prophylaktischen Behandlung bei Einschränkung der cerebralen Hämodynamik 41

Intraoperative Kontrolle der Funktion eines extra-intrakraniellen Bypasses 41

[5] Woitzik J, Horn P, Vajkoczy P, Schmiedek P. Intraoperative control of extracranial-intracranial bypass patency by near-infrared indocyanine green videoangiography. J Neurosurg 2005;102:692-8.

Stimulierung der endogenen Ausbildung eines Kollateralkreislaufs 50

Stimulation der Durchmesser von leptomeningealen Anastomosen mittels Hypoxic-Preconditioning 50

[6] Woitzik J, Hecht N, Schneider UC, Pena-Tapia PG, Vajkoczy P. Increased vessel diameter of leptomeningeal anastomoses after hypoxic preconditioning. Brain Res 2006;1115:209-12.

Stimulation eines Kollateralkreislaufes mittels GM-CSF bei chronischer Ischämie ... 56

[7] Schneider UC, Schilling L, Schroeck H, Nebe CT, Vajkoczy P, Woitzik J. GM-CSF-Induced Vessel Growth Restores Cerebral Blood Supply after Bilateral Carotid Artery Occlusion. Stroke 2007;38:1320-8.

Teil 3: Untersuchungen zum Auftreten von Spreading Depolarizations bei Patienten mit verzögerten ischämischen Defiziten nach Subarachnoidalblutung 67

[8] Dreier JP*, Woitzik J*, Fabricius M*, Bhatia R, Major S, Drenckhahn C, Lehmann TN, Sarrafzadeh A, Willumsen L, Hartings JA, Sakowitz OW, Seemann JH, Thieme A, Lauritzen M, Strong AJ. Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarizations. Brain 2006;129:3224-37.

Diskussion **83**
Zusammenfassung **90**
Literaturverzeichnis **94**
Danksagung **105**
Eidesstattliche Erklärung **106**

Abkürzungsverzeichnis

PET	- Positronen-Emissions-Tomographie
GM-CSF	- Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
VEGF	- Vascular Endothelial Growth Factor
α-SMA	- α-Smooth Muscle Actin

Einleitung

Die cerebrale Ischämie ist mit einer Inzidenz von 250-400 pro 100 000 Personen und einer Mortalität von etwa 30% die dritthäufigste Todesursache in industrialisierten Ländern. Die schwerwiegende Behinderung vieler Überlebender mit häufig dauerhafter Invalidität führt – medizin-ökonomisch betrachtet – zu enormen finanziellen Belastungen (Taylor *et al*., 1996). In Deutschland schätzt man, dass derzeit etwa 800 000 Menschen an den Folgen eines Schlaganfalls leiden. Von den Überlebenden erholt sich etwa nur ein Drittel der Patienten so gut, dass sie ohne Einschränkungen wiederhergestellt sind. Ein weiteres Drittel der Patienten kann wieder selbstständig einfache Dinge verrichten, benötigt aber soviel Unterstützung, dass dieser Anteil an Patienten nicht mehr am Berufsleben teilnehmen kann. Der Rest der Patienten bleibt dauerhaft pflegebedürftig.

Die mit etwa 80% häufigste Ursache für einen Schlaganfall ist ein ischämischer Infarkt, welche auf eine Durchblutungsstörung zurückzuführen sind. Man unterscheidet den Verschluss oder die hochgradige Stenose von kleinen marklagerperforierenden Endarterien (Mikroangiopathie) von thrombembolisch oder hämodynamisch bedingten Makroangiopathien. Mikroangiopathien beruhen meist auf durch Atherome und Lipohyalinose hervorgerufenen Gefäßveränderungen, welche auf dem Boden eines arteriellen Hypertonus entstehen (Lodder *et al*., 1990). Die aufgrund einer Mikroangiopathie entstehenden lakunären Infarkte machen etwa 30% der ischämischen Infarkte aus. Weitere 60% sind auf autochthone arterio-arterielle Embolien, kardiale Embolien oder auch lokale Thrombosen der großen Gefäße zurückzuführen. Hierbei kommt es durch Verschlüsse von meist größerer intrakranieller Arterien oder distaler Endarterien zu größeren Territorialinfarkten. Vom akuten thrombembolischen Ereignis ist eine Stenose oder ein Verschluss von extra- oder intrakraniellen Arterien abzugrenzen, bei der eine unzureichende Kollateralisation zur Ausschöpfung der hämodynamischen Reserve führt. Hämodynamisch bedingte Infarkte liegen typischerweise in der Grenzzone zwischen der Arteria cerebri media und Arteria cerebri anterior oder der Arteria cerebri media und der Arteria cerebri posterior und machen nur etwa 10% der ischämischen Infarkte aus.

Während die Entstehung eines thrombembolischen oder lakunären Infarktes durch eine Verbesserung der lokalen Durchblutung nicht beeinflusst werden kann, kann das Auftreten eines Schlaganfalls auf dem Boden einer hämodynamischen Beeinträchtigung durch eine Steigerung der regionalen Durchblutung wahrscheinlich verhindert werden. Das Risiko

für das Auftreten eines hämodynamisch bedingten Schlaganfalls scheint dabei mit dem Ausmaß der hämodynamischen Beeinträchtigung zu korrelieren. Während bei Patienten mit einseitigem Verschluss der Arteria carotis interna das Risiko für einen ipsilateralen Schlaganfall bei etwa 5,9% pro Jahr liegt (Hankey and Warlow, 1991), steigt das Risiko bei gleichzeitig ausgeschöpfter cerebrovaskulärer Reservekapazität auf bis zu 57% an (Yonas *et al*., 1993).

Für die Behandlung von Schlaganfällen oder deren Prophylaxe ist die Kollateralversorgung von entscheidender Bedeutung. Hierzu zählen vor allem: Kollateralen zwischen extra- und intrakraniellen Gefäßen (Verbindungen zwischen der Arteria facialis oder Arteria temporalis superficialis und der Arteria ophthalmica sowie Verbindungen zwischen der Arteria occipitalis und Arteria vertebralis), Kollateralen des Circulus arteriosus Willisii, sowie leptomeningeale Anastomosen. Aufgrund des meist sehr weit distal liegenden Verschlusses bei thrombembolischen Infarkten besteht in den leptomeningealen Anastomosen häufig die einzig mögliche nennenswerte Kollateralversorgung (Maeda *et al*., 1999; Nallet *et al*., 1999). Inwiefern die Anzahl und der Durchmesser der leptomeningealen Anastomosen und damit das Ausmaß der Kollateralisation zur Therapie eines akuten thrombembolischen Infarkts beitragen ist bislang jedoch umstritten (Brozici *et al*., 2003). Im Gegensatz dazu kann bei sich langsam entwickelnden hämodynamischen Veränderungen wie bei der stenookklusiven cerebrovaskulären Erkrankung eine Adaptation der Gefäße stattfinden, was signifikant zur Aufrechterhaltung der Durchblutung beitragen kann (Brozici *et al*., 2003).

Obwohl das Gehirn nur 2% des Körpergewichts ausmacht, benötigt es etwa 20% des gesamten Sauerstoffbedarfs. Wird die Sauerstoffzufuhr nicht gewährleistet so wird die Funktion zunächst reversibel eingestellt und erst bei einer weiteren Reduktion der Sauerstoffzufuhr kommt es zu einem irreversiblen strukturellen Schaden (Astrup *et al*., 1981). Bei Stenosierung oder Verschluss eines hirnversorgenden Gefäßes kommt es zu einem starken Abfall des cerebralen Blutflusses im Zentrum des Infarktes während im Randbereich aufgrund der Kollateralisation die Gewebefunktion beeinträchtigt ist, ohne dass es hierbei bereits zu einem strukturellen Schaden gekommen ist. In Anlehnung an den Halbschatten bei partiell geblocktem Licht wird dieser Bereich als Penumbra bezeichnet und ist klassischerweise definiert durch einen Bereich mit reduziertem Blutfluss, aufgehobener elektrokortikographischer Aktivität aber erhaltener Membranhomöostase (Astrup *et al*., 1981). Typischerweise liegt der Blutfluss der Penumbra in einem Bereich zwischen 20% und 40% der normalen Durchblutung (Ginsberg, 2003) und eine frühzeitige Wiederherstellung der Perfusion kann für den strukturellen und funktionellen Erhalt des Gewebes sorgen. Bislang

wurde eine Vielzahl an vasoaktiven Substanzen getestet, um die Hämodynamik in der Penumbra zu verbessern, was jedoch ohne Erfolg blieb (Hossmann, 1982; Lindley and Warlow, 1992).

Neben den ischämischen Ereignissen sind intracerebrale Blutungen für etwa 10% bis 15% der Schlaganfälle in den USA und Europa verantwortlich. Mehr als 1/3 der intrakraniellen Blutungen sind auf spontane Subarachnoidalblutungen zurückzuführen. Die Inzidenz wird mit etwa 10-20 pro 100 000 Personen angegeben, wobei Frauen häufiger betroffen sind als Männer (1,5:1). Die Subarachnoidalblutung tritt am häufigsten in der 5. und 6. Lebensdekade auf. Die Prognose der Subarachnoidalblutung ist deutlich schlechter als für Patienten mit einem ischämischen Schlaganfall. Man schätzt, dass 1/3 der Patienten sterben, bevor sie dass Krankenhaus erreichen. Weitere 20% sterben während des stationären Aufenthaltes und von den restlichen Überlebenden bleibt die Hälfte dauerhaft behindert.

Neben der initialen Schädigung durch die Blutung ist das Auftreten von verzögert ischämischen Defiziten für das schlechte Outcome nach spontaner Subarachnoidalblutung hauptsächlich mitverantwortlich. Verzögerte ischämische Defizite sind eine spezielle Form der ischämischen Infarkte, die innerhalb der Gruppe mit intracerebralen Blutungen fast ausschließlich nach stattgefundener Subarachnoidalblutung auftreten. Typischerweise findet sich eine Latenz von einigen Tagen zwischen Blutungsereignis und dem Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits mit einem Gipfel um den sechsten und siebten Tag (Vermeulen *et al.*, 1984). Die großen multizentrisch durchgeführten Tirilazad-Mesylat-Studien fanden in 33-38% der Patienten mit aneurysmatischer Subarachnoidalblutung ein verzögertes ischämisches Defizit und in 10-13% neue Infarkte in der Computertomographie (Haley, Jr. *et al.*, 1997; Lanzino *et al.*, 1999). Das Risiko ein verzögertes ischämisches Defizit zu entwickeln korreliert mit der Menge des subarachnoidalen Blutes im initialen Computertomogramm (Brouwers *et al.*, 1993; Kistler *et al.*, 1983) und koinzidiert mit dem Erscheinen von Blutabbauprodukten im Subarachnoidalraum (Pluta *et al.*, 1998). Diese Ergebnisse führten zu der These, dass erythrozytäre Abbauprodukte die hauptverantwortlichen Auslöser für das Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits sind. Der hierfür postulierte primäre Mechanismus ist die Induktion eines Vasospasmus der proximalen Gefäße, welcher mittels digitaler Subtraktionsangiographie oder transkranieller Dopplersonographie nachgewiesen werden kann. Allerdings ist der positive prädiktive Wert der digitalen Subtraktionsangiographie oder der transkraniellen Dopplersonographie für das Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits niedrig (Unterberg *et al.*, 2001; Vora *et al.*, 1999). Neben dem bekannten Vasospasmus der großen proximalen Hirngefäße konnten

tierexperimentelle Studien zeigen, dass Cortical Spreading Depolarizations in Anwesenheit von erythrozytären Abbauprodukten an der Kortexoberfläche sehr anhaltend einen Spasmus der kleinen leptomenigealen Gefäße induzieren können (Dreier *et al*., 2000), so dass neben dem klassischen proximalen Vasospasmus auch angiographisch nicht nachweisbare Mikrogefäße wesentlich an der Entstehung von verzögerten ischämischen Defiziten beteiligt sein könnten.

Zielsetzung der Arbeit war es zu klären,

- inwiefern bei Patienten mit einem malignen ischämischen Schlaganfall intraoperativ eine Penumbra mittels Indocyaningrün-Videoangiographie nachweisbar ist,
- inwiefern die Entwicklung eines ischämischen Schadens durch Erhöhung des intravasalen Sauerstoffgehaltes beeinflusst werden kann,
- inwiefern leptomeningeale Anastomosen durch hypoxische Vorbehandlung zur Verbesserung der Durchblutung beim Schlaganfall beitragen können,
- inwiefern bei der langsam fortschreitenden stenookklusiven cerebrovaskulären Erkrankung die Ausbildung eines Kollateralnetzwerkes mittels GM-CSF stimuliert werden kann, und
- inwiefern Cortical Spreading Depolarizations mit verzögerten ischämischen Defiziten nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung assoziiert sind.

Methodenbeschreibung

Tierexperimentelle Untersuchungsmethoden

Fadenokklusion der Arteria Cerebri Media

Die vorliegenden Studien wurden im Einvernehmen mit der Ethikkommission (Regierungspräsidium) Karlsruhe durchgeführt. Für die Versuche wurden männliche Sprague-Dawley Ratten mit einem Gewicht von 290 bis 350 Gramm verwendet, welche nach Inhalationsnarkose mit 2% Isofluran auf einem körpertemperaturregulierten Heiztisch fixiert wurden. Zunächst wurde der Kopf in einen Stereotaxierahmen eingespannt und eine Bohrlochtrepanation (Durchmesser ca. 1 mm) über dem rechten Mediastromgebiet angelegt. Anschließend wurden eine Laser-Doppler-Flusssonde (Moor-Instruments, Devon, England) und/oder eine Gewebesauerstoffpartialdrucksonde (Oxford-Optronix, Oxford, England) positioniert und mit Zahnzement fixiert. Der regionale cerebrale Blutfluss und/oder der Gewebesauerstoffpartialdruck wurden kontinuierlich mit einem LabView®-basierenden multimodalen Monitoring-System (National Instruments, München, Deutschland) aufgezeichnet. Nach Befestigung der Messsonden wurde das Tier aus dem Stereotaxierahmen genommen und in Rückenlage eine Inzision im Halsbereich angelegt. Die Arteria carotis communis, die Arteria carotis interna und Arteria carotis externa wurden in mikrochirurgischer Technik präpariert und vom umliegenden Gewebe disseziert. Die Arteria lingualis und maxillaris wurden ligiert und scharf durchtrennt. Anschließend wurde ein Silicon- oder Epoxid-beschichteter Polyamid-Faden über die Arteria carotis communis oder retrograd über die Arteria carotis externa in die Arteria carotis interna vorgeschoben. Hierbei wurde der Abgang der Arteria pterygopalatina visualisiert, um ein weiteres Vorschieben entlang der Arteria carotis interna zu gewährleisten. Ein scharfer Abfall des Laser-Doppler-Fluss-Signals auf etwa 20% des Ausgangswertes zeigte die richtige Positionierung des Fadens an, welcher anschließend mit resorbierbarem Nahtmaterial an der Inzisionsstelle fixiert wurde. Abschließend bekamen die Tiere 5 µg/100 g Körpergewicht Atropin (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) und 3 µg/100 g Körpergewicht Temgesic (Essex Pharma, München, Deutschland) subkutan injiziert, um den Speichelfluss zu reduzieren und eine postoperative Analgesie zu gewährleisten.

Bilaterale Okklusion der Arteria Carotis Communis

Für die bilaterale Okklusion der Arteria carotis communis wurden die Tiere ebenfalls mittels Inhalationsnarkose mit 2%igem Isofloran narkotisiert und die Körpertemperatur auf einem temperaturrückgekoppelten Heiztisch bei 37° gehalten. Die Tiere wurden in Rückenlage fixiert und die Arteria carotis communis über eine Mittellinieninzision in mikrochirurgischer Technik zunächst auf der rechten Seite legiert. Nach subkutaner Injektion von 5 µg/100 g Körpergewicht Atropin (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) und 3 µg/100 g Körpergewicht Temgesic (Essex Pharma, München, Deutschland) wurde den Tieren eine Adaptationszeit von einer Woche gegeben, bevor die linke Arteria carotis communis in gleicher Weise okkludiert wurde.

Hypoxic Preconditioning

Um ein Preconditioning zu induzieren, wählten wir ein Modell mit hypoxischer Vorbehandlung, welches von Prass *et al*. adaptiert wurde (Prass *et al*., 2003). Hierzu wurden 18-22 g schwere Mäuse in einer Hypoxygenationskammer mit 8% Sauerstoff gehalten. Die 8 l messende Kammer wurde mit einem konstanten Fluss von 500 ml/min 92% N_2 und 8% O_2 durchflossen und der Sauerstoffgehalt mit einem Sauerstoffmessgerät (GOEL 369S, Greisinger, Regenstauf, Deutschland) kontrolliert. Für die Kontrolltiere wurde die Kammer mit normaler Luft geflutet.

Latex-Perfusion

Unter Injektionsnarkose mit 3,3 mg/kg Körpergewicht Xylazine und 66 mg/kg Körpergewicht Ketamin wurde die Aorta mit einem Perfluorethylenpropylen-Schlauch (Vasofix-Braunüle, Braun, Melsungen, Deutschland) kanüliert und anschließend eine subletale Dosis von Papavarin-Hydrochlorid (50 mg/kg Körpergewicht) injiziert, um eine maximale Vasodilatation zu erzielen. Ein Latexgemisch (Chicago Latex Product No. 563, Chicago Latex Products, Christal Lake, USA) wurde mit 20 µl/ml Carbon black (Derussol N25/L, Degussa, Frankfurt, Deutschland) gemischt und 10:2 mit isotoner Kochsalz-Lösung verdünnt. Dieses Gemisch wurde retrograd in die Aorta mit einem konstanten Druck von 150 mm Hg injiziert. Direkt nach Infusion wurde die Vena cava inzidiert. Weitere fünf Minuten später wurde das Tier in eiskaltes Wasser transferiert, um hier eine Aushärtung des Latex-Gemisches zu erzielen. 20 Minuten später wurden die Gehirne entnommen und die basale und dorsale

Angioarchitektur mit einem Operationsmikroskop mit 14facher Vergrößerung fotografiert. Die leptomeningealen Anastomosen wurden identifiziert, indem man die distalen Äste der Arteria cerebri anterior und Arteria cerebri media nach peripher bis zu ihrem Confluens-Punkt auf der dorsalen Hemisphäre verfolgt hat. Anschließend wurde der Durchmesser und die Anzahl der leptomeningealen Anastomosen bestimmt. Weiterhin wurde auf der basalen Hirnseite der Durchmesser der Arteria carotis interna, Arteria cerebri anterior, Arteria cerebri media, Arteria cerebri posterior, Arteria communicans posterior und der Basilararterie mittels freeware Bildanalyse Software (Scion Imaging) ausgemessen.

14C Iodo-Antipyrin Autoradiographie

Nach Induktion einer Inhalationsnarkose mit 2%igem Isofloran wurde bei den Tieren die Femoralarterie und -Vene kanüliert. Anschließend wurden die Tiere zur Erholung von der Narkose in einen Tunnel (Braintree Scientific) gesetzt und der arterielle Blutdruck und die arteriellen Blutgaswerte kontinuierlich kontrolliert. Eine Stunde später erfolgte eine intravenöse Infusion von 125 µCi/kg Körpergewicht 14C Iodo-Antipyrin (Biotrend) mit steigender Infusionsrate über eine Minute. Während der Infusion wurden 12-16 arterielle Bluttropfen gesammelt, um den Zeitverlauf der intravasalen 14C Iodo-Antipyrin-Konzentration bestimmten zu können. Direkt nach Beendigung der Infusion wurden die Tiere dekapitiert und die Gehirne in vorgekühltem Isopentan gefroren. Von den Gehirnen wurden koronare 20 µm dicke Gefrierschnitte angefertigt, welche zusammen mit einem 14C-Standard auf einem Kodak MRDM-1 Röntgenfilm für 14 Tage exponiert wurden. Der regionale cerebrale Blutfluss wurde anhand der optischen Dichte der einzelnen Gewebestrukturen und dem zeitlichen Verlauf der 14C Iodo-Antipyrin-Konzentration im Blut kalkuliert, wobei ein Blut-Hirn Partitionskoeffizient von 0,9 benutzt wurde. Die optischen Dichten in den verschiedenen Hirnregionen wurden mittels eines Bildanalysesystems (MCID, Imaging Research Inc.) analysiert.

Bestimmung der Reservekapazität

Zur Austestung der cerebrovaskulären Reservekapazität wurden die Tiere mit 400 mg/kg Körpergewicht Chloralhydrat welches intraperitoneal appliziert wurde narkotisiert und auf einem körpertemperaturgesteuerten Wärmetisch gelagert. Anschließend wurde der Kopf in einem Stereotaxierahmen eingespannt und eine Bohrlochtrepanation 2 mm lateral vom

Bregma über jeder Hemisphäre angelegt. Hierbei wurde die Dura intakt gelassen und anschließend eine 400 µm durchmessende Laser-Doppler-Flusssonde (DRT4, Moor-Instruments, Devon, England) auf der Dura mit einem Mikromanipulator positioniert. Nach Erfassung der basalen regionalen Blutflusswerte wurde den Tieren 20 µg/kg Körpergewicht Acetazolamid (Diamox, Lederle) intraperitoneal injiziert und das Laser-Doppler-Flusssignal kontinuierlich für 20 Minuten erfasst. Aus dem Anstieg verglichen zu den Ausgangswerten wurde die relative Reservekapazität ermittelt.

Histologie und Immunohistologie

Zur Bestimmung des Gesamtnekrosevolumens wurden im 500 µm-Intervall 20 µm dicke koronare Gefrierschnitte angefertigt, welche anschließend an der Luft getrocknet wurden und mittels des von Vogel *et al*. beschriebenen Silbernitrat-Färbeprotokolls gefärbt (Vogel *et al*., 1999). Die Nekrosefläche wurde mittels freeware Bildanalyse Software (Scion Imaging) analysiert. Andere Färbeprotokolle beinhalteten Standard-HE-Färbungen, die Darstellung der Kapillaren mittels intravenös appliziertem 2%igem Evans blue sowie immunhistochemische Färbungen für α-SMA, CD-68 und Nitrotyrosin.

Klinische Untersuchungsmethoden

Indocyaningrün-Videoangiographie

Zur intraoperativen Indocyaningrün-Videoangiographie wurde ein kommerziell erhältlichen Laser-Fluoreszenz-Videorekorder (IC-View, Pulsion Medical Systems, München, Deutschland), bestehend aus einer Infrarot-Laser-Lichtquelle und einem infrarotsensitiven digitalen Camcorder, welcher mit einem Fluoreszenzfilter ausgestattet war, verwendet. Zur Aufzeichnung des Indocyaningrün-Videoangiogramms wurde ein Bolus von etwa 20 mg (0,3 mg/kg Körpergewicht) Indocyaningrün intravenös verabreicht und die Fluoreszenz über dem Operationsfeld mit Hilfe des Fluoreszenz-Videorekorders aufgezeichnet. Die Videosequenzen konnten anschließend mit Hilfe von IC-CALC 1.1-Software (Pulsion Medical Systems, München, Deutschland) verarbeitet werden und ein Blutfluss-Index aus der Differenz der Fluoreszenzintensität pro Zeiteinheit errechnet werden (Kuebler *et al*., 1998).

Subdurale Elektrocorticographie

Bei Patienten mit schwerer Subarachnoidalblutung, bei denen eine Kraniotomie zur Ausschaltung des Aneurysmas oder zur Evakuation einer intracerebralen Blutung notwendig war, wurde eine subdurale 6-Kontakt-Streifenelektrode (Wyler, Ad-Tech Medical, Racine, WI, USA) mit einem Interelektrodenabstand von 1 cm über dem ipsilateralen Kortex platziert. Die erste Elektrode diente als Referenzelektrode, wohingegen die Elektroden 2-6 sequenziell an einen GT205-Verstärker (ADInstruments, New South Wales, Australien) konnektiert wurden. Mit Hilfe der fünf Elektroden wurden vier bipolare Ableitungen mit einer Frequenz von 200 Hz mit Hilfe eines Power-Lap 16/SP Analog/Digitalwandlers und Chart-5-Software (ADInstruments, New South Wales, Australien) aufgezeichnet. Spreading Depolarizations wurden definiert über langsame polyphasische Potentialänderungen, welche sequenziell in benachbarten Kanälen auftraten (Fabricius *et al*., 2006). Die gleichzeitig registrierte elektrokortikographische Depression wurde definiert über eine plötzliche Reduktion der Power der elektrokortikographischen Amplitude von mindestens 50% (Fabricius *et al*., 2006; Strong *et al*., 2002a).

Ergebnisse – Eigene Arbeiten

Teil 1: Untersuchungen zur Behandlung eines akuten Schlaganfalls

Darstellung der Penumbra mittels Indocyaningrün-Videoangiographie

[1] Woitzik J, Pena-Tapia PG, Schneider UC, Vajkoczy P, Thome C. Cortical perfusion measurement by indocyanine-green videoangiography in patients undergoing hemicraniectomy for malignant stroke. Stroke 2006;37:1549-51.

Die Penumbra ist typischerweise mit einer Flussreduzierung auf 20-40% der normalen Perfusion charakterisiert. Bislang gibt es unterschiedliche Aussagen von PET und Xenon-Computertomographie-Untersuchungen bzgl. des Vorhandenseins einer Penumbra bei einem Schlaganfall des Menschen (Baron, 1999; Kaufmann *et al*., 1999). Problematisch bei den Untersuchungsmethoden mittels PET und Xenon-Computertomographie ist es, dass aufgrund des geringen Kontrastunterschiedes die räumliche Auflösung nur moderat gut ist. Die Adaptation eines kommerziell erhältlichen Fluoreszenz-Videoangiographie-Systems für neurochirurgische Eingriffe (Raabe *et al*., 2003; Woitzik *et al*., 2005) erlaubt es, die kortikale Perfusion mit hoher räumlicher Auflösung darzustellen. Ziel war es daher, bei Patienten mit einem malignen Mediainfarkt, welcher operativ durch eine dekompressive Hemikraniektomie versorgt wurde, die Perfusion mittels der Indocyaningrün-Videoangiographie darzustellen, um anschließend über eine Berechnung von relativen Blutfluss-Indizes eine Blutfluss-Kartierung über den durch die Kraniotomie freigelegten Kortex zu erhalten. Die Evaluation der Indocyaningrün-Videoangiographie sollte klären, inwiefern diese Methode geeignet ist, kritisch perfundiertes Gewebe darzustellen und ob eine Penumbra bei einem malignem Schlaganfall des Menschen vorhanden ist.

In unserer Pilotstudie wurden insgesamt sechs Patienten im Alter zwischen 27 und 56 Jahren eingeschlossen, worunter die meisten nach einem rechtsseitigen malignen Mediainfarkt entlastungstrepaniert wurden. Die Zeit zwischen dem *Onset* des Schlaganfalls bis zur Entlastungskraniektomie betrug 8-84 Stunden. Das Infarktvolumen betrug zwischen 29% und 58% der Hemisphäre. Nach Durchführung einer Indocyaningrün-Videoangiographie, welche bei allen Patienten ohne Nebenwirkungen gut toleriert wurde, wurde eine Blutfluss-Kartierung mittels IC-CALC-Software erstellt. Hier zeigte sich eine

heterogene Perfusion des Kortex. 10-45% der freigelegten Fläche zeigten typische Core-Blutflusswerte (relativer Blutfluss < 20%) und 15-38% der freigelegten Hemisphäre zeigten einen typischen Penumbra-Blutfluss mit einem relativen Blutfluss-Index zwischen 20% und 40%. Aufgrund der hohen räumlichen Auflösung mit exzellentem Signal-Rausch-Verhalten konnten wir eine sehr hohe räumliche Auflösung erzielen und relativ große Areale mit typischen Penumbra-Fluss-Werten beim malignen ischämischen Schlaganfall des Menschen selbst 84 Stunden nach *Onset* des Schlaganfalles nachweisen.

[2] Woitzik J, Schilling L. Control of completeness and immediate detection of bleeding by a single laser-Doppler flow probe during intravascular middle cerebral artery occlusion in rats. J Neurosci Methods 2002;122:75-8.

[3] Woitzik J, Schneider UC, Thome C, Schroeck H, Schilling L. Comparison of different intravascular thread occlusion models for experimental stroke in rats. J Neurosci Methods 2006;151:224-31.

Zur Induktion einer intrakraniellen experimentellen Ischämie hat sich das Fadenokklusions-Modell, welches erstmals von Koizumi *et al*. beschrieben wurde (Koizumi *et al*., 1986), weit verbreitet durchgesetzt. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, eine reproduzierbare fokale Ischämie induzieren zu können, ohne dabei den Schädel eröffnen zu müssen. Das Problem der Methode ist jedoch, dass zum einen ungewollt in 10-40% der Fälle eine Subarachnoidalblutung induziert werden kann (Schmid-Elsaesser *et al*., 1998), zum anderen erlitt das Modell sehr unterschiedliche Modifikationen: Teils mit Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media und der ipsilateralen Arteria carotis communis oder auch nur mit selektiver Okklusion der Arteria cerebri media. Daher sollte zum einen untersucht werden, ob durch die online-Registrierung des regionalen cerebralen Blutflusses mittels Laser-Doppler-Flussmessung frühzeitig eine ungewollt induzierte Subarachnoidalblutung detektiert werden kann, um diese Tiere frühzeitig aus dem Studienprotokoll ausschließen zu können, zum anderen sollte untersucht werden, ob eine Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media, Arteria communicans posterior und Arteria carotis communis oder eine selektive Okklusion der Arteria cerebri media hinsichtlich der Ausdehnung des Schlaganfalls und der Heterogenität vorteilig erschien.

Durch ein kontinuierliches Monitoring des regionalen cerebralen Blutflusses mittels einer über dem ipsilateralen Kortex angebrachten Laser-Doppler-Flusssonde konnten wir zeigen, dass bei Tieren mit regelrechter Okklusion der Arteria cerebri media und mit ungewollter Induktion einer Subarachnoidalblutung der Blutfluss jeweils akut auf 20% zum Ausgangswert abfiel. Bei Tieren mit regelrechter Okklusion der Arteria cerebri media erholte sich der Blutfluss innerhalb der nächsten 100 sec auf etwa 30% der Ausgangswerte. Im Gegensatz dazu zeigten Tiere mit einer ungewollten Subarachnoidalblutung einen kontinuierlich weiteren Abfall auf etwa 7% des Ausgangswertes, so dass man am Verlauf des

regionalen cerebralen Blutflusses frühzeitig erkennen konnte, ob beim Vorschieben des intaluminalen Silicon-beschichteten Fadens ungewollt eine Subarachnoidalblutung induziert oder ob eine regelrechte Okklusion der Arteria cerebri media erzielt wurde.

Zur Austestung der Ischämieentwicklung bei verschiedenen Fadenokklusionsmodellen wurden drei verschiedene experimentelle Gruppen untersucht: zum einen wurde mittels eines Silicon-beschichteten 4.0er-Polyamid-Fadens eine Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media, Arteria communicans posterior und Arteria carotis communis erzielt, in einer weiteren experimentellen Gruppe wurde mit einem Epoxid-Kleber und Hitze abgerundetem 5.0-Polyamid-Faden eine kombinierte Okklusion der Arteria cerebri media und Arteria carotis communis induziert und schließlich in einer dritten Gruppe über eine retrograde Einführung des Fadens über die Arteria carotis externa in die Arteria carotis interna eine selektive Okklusion der Arteria cerebri media induziert. Die Messung des regionalen cerebralen Blutflusses mittels Laser-Doppler-Flusssonde zeigte zunächst einen gleich ausgeprägten Abfall des cerebralen Blutflusses in allen experimentellen Gruppen. Dies war dadurch bedingt, dass auch in der Gruppe mit selektiver Okklusion der Arteria cerebri media die Arteria carotis communis technisch bedingt temporär ausgeschaltet werden musste. Mit Wiedereröffnung der Arteria carotis communis kam es bei den Tieren mit selektiver Okklusion der Arteria cerebri media zu einem weniger ausgeprägten Abfall des cerebralen Blutflusses über dem ipsilateralen Kortex im Vergleich zu beiden anderen Gruppen, wohingegen der subkortikal gemessene Blutfluss (entspricht dem Core-Blutfluss) auf vergleichbare Werte in allen drei Gruppen abfiel. Die physiologischen Messwerte – wie Körpergewicht, Temperatur, mittlerer arterieller Blutdruck und Blutgaswerte – unterschieden sich in den Gruppen nach 8 und 24 Stunden nicht. In einzelnen Hirnregionen konnten wir einen ausgeprägteren Abfall des regionalen cerebralen Blutflusses mittels 14C Iodo-Antipyrin Autoradiographie bei Tieren mit Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media, Arteria communicans posterior und Arteria carotis communis im Vergleich zu Tieren mit selektiver Okklusion der Arteria cerebri media nachweisen. Das Nekrose-Volumen war nach selektiver Okklusion der Arteria cerebri media vor allem in dorsalen Hirnabschnitten nach 8 und 24 Stunden weniger ausgeprägt, was sich auch in einem weniger ausgeprägten neurologischen Defizit widerspiegelte. Insgesamt zeigten jedoch alle experimentellen Gruppen eine gute Reproduzierbarkeit mit geringer Standardabweichung.

Behandlung der experimentellen Ischämie durch Verbesserung der Sauerstofftransport-kapazität

[4] Woitzik J, Weinzierl N, Schilling L. Early administration of a second-generation perfluorochemical decreases ischemic brain damage in a model of permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. Neurol Res 2005;27:509-515.

Um zu untersuchen, inwiefern eine Erhöhung der intravasalen Sauerstofftransportkapazität zu einer besseren Oxygenierung und damit zu einer Reduktion des Schlaganfallvolumens führt, wurde bei Tieren mit Fadenokklusion der Arteria cerebri media ein neuerer artifizieller Sauerstoffträger (Oxycyte), welcher eine Sauerstofftransportkapazität von 20 Volumenprozent bei 1 bar Sauerstoffpartialdruck aufweist, verabreicht. Da der Sauerstoffträger O_2 physikalisch löst und somit mit steigendem Sauerstoffpartialdruck die Transportkapazität linear zunimmt, wurden die Tiere zusätzlich in ein Sauerstoffzelt gesetzt. Als Kontroll-Tiere dienten Tiere mit Oxycyte-Infusion, welche normale Raumluft atmeten, Tiere mit Applikation von isotoner Kochsalz-Lösung, welche in ein Sauerstoffzelt gesetzt wurden und schließlich Tiere mit isotoner Kochsalz-Lösung, welche normale Raumluft atmeten. Bis auf den arteriellen Sauerstoffpartialdruck zeigten die Tiere keinen Unterschied bei den Blutgasanalysen. Der Abfall des regional gemessenen intracerebralen Blutflusses mittels Laser-Doppler-Flusssonde war in allen Gruppen gleich ausgeprägt. Tiere, die mit dem artifiziellen Sauerstoffträger Oxycyte behandelt wurden und unter ein Sauerstoffzelt gesetzt wurden, zeigten eine ca. 15%ige Reduktion des Ischämievolumens.

Teil 2: Untersuchungen zur prophylaktischen Behandlung bei Einschränkung der cerebralen Hämodynamik

Intraoperative Kontrolle der Funktion eines extra-intrakraniellen Bypasses

[5] Woitzik J, Horn P, Vajkoczy P, Schmiedek P. Intraoperative control of extracranial-intracranial bypass patency by near-infrared indocyanine green videoangiography. J Neurosurg 2005;102:692-8.

Die derzeit einzig zur Verfügung stehende therapeutische Option bei Patienten mit eingeschränkter cerebraler Hämodynamik auf dem Boden einer stenookklusiven cerebrovaskulären Erkrankung ist die Anlage eines extra-/intrakraniellen Bypasses (Schmiedek *et al*., 1994). Ein derzeit kritischer Schritt bei der erfolgreichen Anlage eines extra-/intrakraniellen Bypasses ist die intraoperative Überprüfung der Bypassfunktion. Die alleinige intraoperative Inspektion führt zu einer postoperativen Rate mit offenem extrakraniellen/intrakraniellen Bypass von nur 90% bis 96% (The EC/IC Bypass Study Group, 1985; Mendelowitsch et al., 2004; Schmiedek et al., 1994; Sundt, Jr. et al., 1976). Techniken wie die intraoperative Durchführung einer digitalen Subtraktionsangiographie oder Ultraschall wurden propagiert, sind aber eher kostspielig und zeitaufwändig oder sind bzgl. Bildqualität und Auflösungsvermögen bislang nicht überzeugend gewesen. In der Etablierung der intraoperativen Fluoreszenz-Angiographie mittels Indocyaningrün wurde das erste Mal eine kosteneffiziente und rasch durchführbare Methode angewandt, welche Gefäße mit einem Durchmesser < 0,5 mm mit hoher Genauigkeit darstellen kann. Daher untersuchten wir, inwiefern mit der Indocyaningrün-Videoangiographie die Bypass-Funktion intraoperativ aussagekräftig überprüft werden kann.

In unserer Studie wurden 40 Patienten, 11 davon mit arteriosklerotisch bedingter stenookklusiven Krankheit, 18 mit Moya-Moya-Erkrankung und 11 mit komplexen Aneurysmen behandelt. Dabei wurde 35mal eine Standard extra-/intrakranieller Bypass zwischen der Arteria temporalis superficialis und einem peripheren Ast der Arteria cerebri media angelegt. Bei 2 Patienten wurde ein Standard-Bypass zwischen der Arteria temporalis superficialis und der Arteria cerebri posterior angelegt und bei weiteren 8 Patienten wurde ein High-flow Bypass mit Veneninterponat zur Ausschaltung eines großen oder komplexen Aneurysmas angelegt. Nach Anlage der Bypass-Anastomose wurde eine Indocyaningrün-Videoangiographie durchgeführt. In allen Fällen gelang eine exzellente Darstellung der cerebralen Arterien und des angelegten Bypasses, wobei keine Nebenwirkungen bei den

Patienten zu verzeichnen waren. Bei 4 Patienten konnte ein nichtdurchgängiger Bypass zwischen der Arteria temporalis superficialis und einem peripheren Ast der Arteria cerebri media gefunden werden, welcher in allen Fällen erfolgreich chirurgisch revidiert wurde. In 2 weiteren Fällen mit einem Vena saphena High-flow Bypass zeigte die Indocyaningrün-Videoangiographie eine relevante Stenose an der proximalen Anastomose, welche ebenfalls erfolgreich revidiert werden konnte. Abschließend konnten die intraoperativen Ergebnisse der Indocyaningrün-Videoangiographie positiv mit konventionellen digitalen Subtraktionsangiographien und/oder Computertomographie-Angiographien abgeglichen werden.

Stimulierung der endogenen Ausbildung eines Kollateralkreislaufs

Alternativ zur chirurgischen Kollateralisierung über einen extra-/intrakraniellen Bypass ist die endogene Stimulierung zur Ausbildung eines Kollateralkreislaufes denkbar, wobei hier zwei Möglichkeiten vorstellbar sind: Zum einen kann bei einer vorhersehbaren akuten Ischämie – wie z.B. vor einem chirurgischen Eingriff, bei dem die cerebrale Durchblutung temporär geblockt werden muss – eine Vorbehandlung durchgeführt werden; zum anderen kann bei langsam ablaufenden gefäßstenotischen Prozessen – wie bei der arteriosklerotisch bedingten stenookklusiven Erkrankung oder dem Moya-Moya-Syndrom – die endogene Ausbildung eines Kollateral-Netzwerkes stimuliert werden.

Stimulation der Durchmesser von leptomeningealen Anastomosen mittels Hypoxic-Preconditioning

[6] Woitzik J, Hecht N, Schneider UC, Pena-Tapia PG, Vajkoczy P. Increased vessel diameter of leptomeningeal anastomoses after hypoxic preconditioning. Brain Res 2006;1115:209-12.

Beinahe jeder schädigende Stimulus welcher unterhalb seiner schädigenden Schwelle appliziert wird, bewirkt im darunter liegenden Gewebe einen Schutz vor einer nachfolgenden Gewebeschädigung. Für das Gehirn sind mehrere solcher Stimuli, wie eine fokale oder globale Ischämie (Barone *et al*., 1998; Chen *et al*., 1996; Simon *et al*., 1993), Hypoxie (Prass *et al*., 2003), Inflammation (Dawson *et al*., 1999a) oder sogar Spreading Depression (Matsushima *et al*., 1996) beschrieben. Traditionell sind die schützenden Mechanismen bei einem solchen Preconditioning verschiedenen biochemischen und molekularen Prozessen auf glialer und neuronaler Ebene zugeschrieben (Chen and Simon, 1997; Dirnagl *et al*., 2003; Trendelenburg and Dirnagl, 2005). In einer kürzlich publizierten Studie konnte erstmalig auch ein Einfluss des cerebralen Blutflusses auf die Protektion beim ischämischen Preconditioning nachgewiesen werden (Zhao and Nowak, Jr., 2006). Daher interessierte uns, inwiefern die leptomeningealen Anastomosen, welche das vornehmliche anatomische Korrelat für den Kollateralblutfluss bei der fokalen Ischämie mittels Okklusion der Arteria cerebri media darstellen, beeinflusst werden.

Nach Induktion eines hypoxischen Preconditioning für vier Stunden konnten wir 72 Stunden später eine signifikante Zunahme der Durchmesser der leptomeningealen Anastomosen um etwa 27% im Vergleich zu Tieren ohne Preconditioning beobachten. Die großen zuführenden intrakraniellen Gefäße zeigten nur eine sehr geringe Zunahme ihres Durchmessers.

[7] Schneider UC, Schilling L, Schroeck H, Nebe CT, Vajkoczy P, Woitzik J. GM-CSF-Induced Vessel Growth Restores Cerebral Blood Supply after Bilateral Carotid Artery Occlusion. Stroke 2007;38:1320-8.

Bei Patienten mit stenookklusiver cerebrovaskulärer Erkrankung kommt es zunächst nur zu einem milden Abfall des cerebralen Blutflusses unter Ruhebedingungen. Unter belastenden Situationen kann dabei die cerebrale Blutzufuhr jedoch nicht ausreichend sein, so dass es vorübergehend zu neurologischen Ausfallserscheinungen kommen kann. Klinisch kann der eingeschränkte Regulationsmechanismus für den cerebralen Blutfluss durch Bestimmung der cerebrovaskulären Reservekapazität nach Injektion von Acetazolamid bestimmt werden (Gibbs *et al*., 1984). Bei aufgehobener cerebrovaskulärer Reservekapazität besteht ein hohes Schlaganfallrisiko, so dass eine therapeutische Intervention zur Verbesserung der Blutzufuhr indiziert ist. Neben den zuvor beschriebenen chirurgischen Maßnahmen wäre hier eine Stimulation der endogenen Kollateralbildung wünschenswert.

Das vaskuläre Netzwerk unterliegt unter pathophysiologischen aber auch unter physiologischen Bedingungen einer ständigen Modulation, um sich dem benötigten Blutbedarf anzupassen. Die Adaptation bedient sich hierbei vornehmlich drei verschiedener Mechanismen: Der Vaskulogenese, der Angiogenese und der Arteriogenese. Die Vaskulogenese beschreibt die früheste morphogenetische Form der vaskulären Adaptation und findet sich vor allem im embryonalen Gewebe (Risau, 1997). Kürzlich konnte die Vaskulogenese auch im adulten Gewebe nachgewiesen werden, wobei sie sich dem Rekruitment von endothelialen Vorläuferzellen bedient (Rumpold *et al*., 2004). Die Angiogenese beschreibt das Aussprossen von neuen Kapillaren und wird vor allem durch Hypoxie, VEGF und Angiopoetine stimuliert (Carmeliet and Jain, 2000; Risau, 1997). Die Arteriogenese hingegen beschreibt die Ausbildung von Arterien oder Arteriolen von vorbestehenden Mikrogefäßen mit Anbindung an ein vaskuläres Netzwerk (Schaper *et al*., 1976). Die Arteriogenese wird vor allem durch entstehenden Shear-Stress und einer Hochregulation von Adhäsionsmolekülen aktiviert (Buschmann and Schaper, 2000; Seiler C et al., 2001). Für Makrophagen, welche vaskulotrophe Faktoren sezernieren, konnte gezeigt werden, dass sie eng an wachsende Kollateralgefäße assoziiert sind (Arras *et al*., 1998; Scholz *et al*., 2001). Zytokine – wie GM-CSF – welche die Lebenszeit der Monozyten erhöhen,

konnten signifikant zur Ausbildung eines Kollateralnetzwerkes bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit und bei koronaren Herzerkrankung beitragen (Arras et al., 1998; Scholz et al., 2001; Seiler C et al., 2001). Daher waren wir interessiert, inwiefern GM-CSF zur Ausbildung eines cerebralen Kollateralnetzwerkes bei eingeschränkter cerebraler Hämodynamik beitragen kann.

Hierzu wurde nach bilateraler Okklusion der Arteria carotis communis den Tieren täglich 10 µg/kg Körpergewicht GM-CSF subkutan injiziert. Tiere, welche mit isotoner Kochsalz-Lösung behandelt wurden, dienten als Kontrolle. Eine weitere Kontrollgruppe bestand in einer Sham-Operation. Fünf Wochen später zeigten alle experimentelle Gruppen einen nahezu gleichen cerebralen Blutfluss unter Ruhebedingungen gemessen mittels 14C Iodo-Antipyrin Autoradiographie. Die cerebrovaskuläre Reservekapazität war bei Kontroll-Tieren im Gegensatz zu Sham-operierten Tieren stark eingeschränkt. Durch die Behandlung mit GM-CSF erholte sich die cerebrovaskuläre Reservekapazität auf normale Werte. Auf struktureller Ebene konnten wir zeigen, dass die Verbesserung der Reservekapazität mit einer Zunahme der Gefäßdurchmesser der basalen Hirngefäße des Circulus arteriosus Willisii verbunden war. Deutlich ausgeprägter zeigte sich jedoch eine Zunahme der Anzahl der leptomeningealen Anastomosen und der pialen und intraparenchymalen Gefäße mit vorhandenen Gefäßmuskelzellen, welche immunhistochemisch positiv für α-SMA färbten.

Teil 3: Untersuchungen zum Auftreten von Spreading Depolarizations bei Patienten mit verzögerten ischämischen Defiziten nach Subarachnoidalblutung

[8] Dreier JP*, Woitzik J*, Fabricius M*, Bhatia R, Major S, Drenckhahn C, Lehmann TN, Sarrafzadeh A, Willumsen L, Hartings JA, Sakowitz OW, Seemann JH, Thieme A, Lauritzen M, Strong AJ. Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarizations. Brain 2006;129:3224-37.

*authors contributed equally

Im Jahr 1944 beschrieb der brasilianische Physiologe Leão das erste Mal eine „*Spreading Depression*“ der elektrokortikographischen Aktivität am cerebralen Kortex des Kaninchens (Leão, 1944). Weiterhin konnte er zeigen, dass mit der Depression der elektrokortikographischen Aktivität ein langsamer Shift des extrazellulären Gleichstrompotentials einherging (Leão, 1944). Auf zellulärer Ebene wird dem Spreading Depolarization eine sich ausbreitende Massendepolarisation von Neuronen und Astrozyten zugeschrieben (Martins-Ferreira *et al*., 2000; Somjen, 2001)). Diese Massendepolarisation geht mit ausgeprägten Veränderungen der intra- und extrazellulären Ionenkonzentrationen einher (Hansen and Zeuthen, 1981; Kraig and Nicholson, 1978). Die Wiederherstellung der Ionenhomöostase und damit der elektrokortikographischen Aktivität ist energieabhängig (Somjen, 2001). Daher steigt bei einem Spreading Depolarization der regionale cerebrale Blutfluss an, um dem geforderten Energiebedarf gerecht zu werden (Lauritzen, 1994). Wenn aber in einem vorgeschädigten Gewebe – wie z.B. im Randbereich einer Ischämie – der Energiebedarf nicht gedeckt werden kann, so kann ein Spreading Depolarization deutlich zur Ausbreitung des geschädigten Areale beitragen (Busch *et al*., 1996; Takano *et al*., 1996). Je länger die Wiederherstellung der Ionenhomöostase als Konsequenz der fehlenden Energiesubstrate dauert, desto länger hält die elektrokortikographische Depression bei einem Spreading Depolarization an.

Mit der Entdeckung, dass ein Spreading Depolarization in Anwesenheit von Blutabbauprodukten ein sehr starker Auslöser für einen mikroarteriellen Spasmus sein kann (Dreier *et al*., 1998; Dreier *et al*., 2000) und der Entdeckung, dass Spreading Depolarizations auch beim läsionierten Gehirn des Menschen vorkommen (Strong *et al*., 2002b), stellten wir uns die Frage, inwiefern bei Patienten mit Subarachnoidalblutung cortical Spreading Depolarizations auftreten und inwiefern diese mit einem verzögerten ischämischen Defizit vergesellschaftet sind.

Hierzu untersuchten wir 18 Patienten mit Subarachnoidalblutung im Alter zwischen 31 und 68 Jahren. Nach operativer Versorgung des gebluteten Aneurysmas oder einer intracerebralen Blutung wurde eine subdurale Streifenelektrode auf den Kortex aufgelegt und für eine Zeitdauer von über 240 Stunden die elektrokortikographische Aktivität registriert. Bei einer insgesamten Aufzeichnungszeit von 2110 Stunden wurden 298 Spreading Depolarizations bei 13 von 18 Patienten (72%) mit einer durchschnittlichen Ausbreitungsgeschwindigkeit von 2 mm/min registriert. Das Outcome war bei Patienten mit einer anhaltenden Depression der elektrokortikographischen Aktivität (> 10 Minuten) – verglichen mit den anderen Patienten – deutlich schlechter. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass mit neu auftretenden repetitiven Spreading Depolarizations eine klinische Verschlechterung (vor allem eine Vigilanzminderung) einherging. Der positive protektive Wert von häufig auftretenden Spreading Depolarizations für das Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits war 86%. Weiterhin fanden wir, dass bei 4 Patienten mit sehr anhaltender Depression der elektrokortikographischen Aktivität das Auftreten eines neuen Infarktes vergesellschaftet war.

Diskussion

Die vorliegende Arbeit hat sich mit verschiedenen Gesichtspunkten zur vaskulären Pathophysiologie bei cerebraler Ischämie beschäftigt. Im Einzelnen konnte gezeigt werden,

- dass bei einem malignen Mediainfarkt des Menschen intraoperativ 15-37% der freigelegten Hemisphäre typische Penumbra-Flusswerte aufweisen,

- dass die Erhöhung der intravasalen Sauerstofftransportkapazität mit einer Verringerung des Nekrosevolumens bei der fokalen Ischämie einhergeht,

- dass man mit Hilfe der Indocyaningrün-Videoangiographie bereits intraoperativ die Funktion eines extra-/intrakraniellen Bypasses zuverlässig prüfen kann, so dass durch diese Methode die chirurgische Revaskularisierung verbessert werden konnte, da gegebenenfalls direkt intraoperativ eine Revision vorgenommen werden kann,

- dass ein Hypoxic Preconditioning zu einer deutlichen Zunahme der Gefäßdurchmesser der leptomeningealen Anastomosen führt,

- dass bei der chronischen cerebralen Ischämie das Kollateralwachstum mit dem Zytokin GM-CSF stimuliert werden kann und

- dass mit einer Sonderform der cerebralen Ischämien, den verzögert ischämischen Defiziten nach Subarachnoidalblutung, Spreading Depolarizations vergesellschaftet sind.

Bislang gibt es durch Messungen des cerebralen Blutflusses mittels PET oder Xenon-Computertomographie unterschiedliche Aussagen darüber, ob eine nennenswerte Penumbra beim Schlaganfall des Menschen existiert oder nicht (Baron, 1999; Kaufmann *et al.*, 1999). Etwas problematisch bei diesen Untersuchungen ist die aufgrund des geringen Kontrastunterschiedes geringe räumliche Auflösung. Mit Hilfe der Indocyaningrün-Videoangiographie und nachfolgender Erstellung einer Blutflusskartierung durch Berechnung multipler Blutfluss-Indizes konnten wir eine hochauflösende Darstellung des cerebralen

Blutflusses über die freigelegte Hemisphäre nach Dekompression bei Patienten mit einem malignen Schlaganfall generieren. Aufgrund des sehr hohen Kontrastunterschiedes bei der Indocyaningrün-Videoangiographie erhielten wir eine sehr hohe räumliche Auflösung und konnten bei 15-37% der freigelegten Hemisphäre typische Penumbra-Flusswerte nachweisen. Diese Methode eignet sich weiterhin sehr gut, um kritisch perfundiertes Gewebe intraoperativ zu identifizieren, um dieses anschließend mittels verschiedener invasiver Messtechniken überwachen zu können. Kritisch bemerkt werden muss, dass mit Hilfe der Indocyaningrün-Videoangiographie keine Aussage über die Vitalität des darunterliegenden Gewebes getroffen werden kann, so dass wir zwar relativ viel Gewebe mit typischen Penumbra-Flusswerten beim malignen Schlaganfall des Menschen nachweisen konnten, jedoch keine Aussage darüber machen können, ob das Gewebe zu diesem Zeitpunkt noch vital oder bereits abgestorben war.

Im Weiteren haben wir uns mit der Etablierung eines fokalen Schlaganfall-Modells beschäftigt. Hierzu wurde die seit langem vielfach beschriebene intravasale Fadenokklusionsmethode angewandt. Durch kontinuierliche Aufzeichnung des regionalen cerebralen Blutflusses über der ipsilateralen Hemisphäre kann zuverlässig eine gelungene Okklusion der Arteria cerebri media oder auch eine ungewollte Induktion einer Subarachnoidalblutung vorhergesagt werden. Dieses Verfahren erlaubt es, frühzeitig Tiere aus dem weiteren Studienprotokoll auszuschließen. Weiterhin haben wir drei verschiedene Okklusionsmodelle mit (I) Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media, Arteria carotis communis und Arteria communicans posterior, (II) Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media und Arteria carotis communis sowie (III) selektive Okklusion der Arteria cerebri media verglichen und fanden hierbei einen weniger ausgeprägten Abfall des cerebralen Blutflusses im Randbereich bei Tiere mit selektiver Okklusion der Arteria cerebri media. In allen drei Modellen zeigen sich reproduzierbare Ischämievolumen nach 8 und 24 Stunden, wobei sich die Größe der Ischämie unterschied: Mit zunehmender Anzahl der okkludierten Gefäße fand sich eine Zunahme des Nekrosevolumens. Einhergehend mit der Zunahme des Ischämievolumens fand sich ein zunehmendes neurologisches Defizit. Insgesamt erschienen uns alle drei Modelle zur Induktion einer fokalen Ischämie akzeptabel, wobei die Überlebensrate bei selektiver Okklusion der Arteria cerebri media besser war. Weiterhin war auch die relative Infarktzunahme zwischen 8 und 24 Stunden ausgeprägter, so dass uns dieses Modell für die Durchführung von Therapiestudien vorteilhafter erschien.

Der bislang einzige in die klinische Praxis transferierte neuroprotektive Ansatz ist die frühe Rekanalisation mittels intravasaler Lysetherapie (Rother *et al.*, 2002). Allerdings qualifizieren sich aufgrund der ausschließlichen Wirksamkeit innerhalb der ersten Stunden nur relativ wenige Patienten für diese Therapie. Andere Versuche, die hämodynamische Penumbra durch Anhebung des Blutdruckes oder Verbesserung der Hämodynamik zu beeinflussen, waren bislang erfolglos (Hossmann, 1982; Lindley and Warlow, 1992). Wir haben getestet, inwiefern die Anhebung der intravasalen Sauerstofftransportkapazität zur Therapie bei der fokalen Ischämie angewandt werden kann. Hierzu haben wir eine so genannte 2. Generation Perfluorocarbon-Emulsion, Oxycyte, verwendet, welche aufgrund von Fortschritten in der Emulsionstechnik eine sehr hohe Sauerstofftransportkapazität aufweist. Frühere Studien konnten bereits zeigen, dass mit artifiziellen Sauerstoffträgern die Gewebeoxygenierung verbessert werden kann oder dass es zu einer besseren funktionellen Erholung in transienten Ischämiemodellen kommt (Peerless *et al.*, 1981; Sutherland *et al.*, 1984; Suzuki *et al.*, 1984), wobei auch negative Ergebnisse berichtet werden (Kolluri *et al.*, 1986; Pereira *et al.*, 1988). Obwohl eine topische Applikation mittels ventriculo-zisternaler Perfusion eine deutliche Reduktion des Ischämievolumens zeigt (Bose *et al.*, 1986; Osterholm *et al.*, 1984), wurde bis jetzt noch nicht quantifiziert, inwiefern eine systemisch applizierte Perfluorocarbon-Emulsion zu einer Verminderung des ischämischen Hirnschadens führt. Da Perfluorocarbon-Emulsionen Sauerstoff physikalisch lösen, ist im Gegensatz zum Hämoglobin die Sauerstofftransportkapazität von einem hohen Sauerstoffpartialdruck abhängig. Daher wurden die therapierten Tiere bei unserem Versuch unter einem Sauerstoffzelt gehalten. Ein weiterer Vorteil der Perfluorocarbon-Emulsion könnte in der sehr kleinen Partikelgröße liegen: Mit zunehmender Ischämiezeit kommt es zu einer zunehmenden Schwellung der Endothelzellen und anhaftender Astrozyten (Liu *et al.*, 2001). Dies führt zu einer zunehmenden Dysfunktion der Mikrozirkulation mit Obstruktion von Mikrogefäßen, so dass Erythrozyten aufgrund ihrer Größe diese Gefäße nicht mehr perfundieren können. Durch die geringe Größe der Perfluorocarbonpartikel (< 0,2 µm) können diese weiterhin solche Mikrogefäße perfundieren und für eine Sauerstoffversorgung im nachgeschaltetem Gewebe sorgen. Inwiefern die Behandlung mit einem artifiziellen Sauerstoffträger auch über einen längeren Zeitraum hinaus effektiv ist und/oder ob damit eine frühe Therapieoption besteht, um Patienten mit noch vorhandener hämodynamischer Penumbra für eine eventuelle Lyse-Therapie zu rekrutieren, muss noch in weiteren Studien untersucht werden.

Für Patienten mit hämodynamischer Einschränkung der cerebralen Perfusion auf dem Boden einer stenookklusiven cerebrovaskulären Erkrankung ist derzeit die einzig zur Verfügung stehende Therapieoption die chirurgische Anlage eines extra-/intrakraniellen Bypasses. Mit Hilfe der Indocyaningrün-Videoangiographie haben wir eine kosteneffiziente und einfach zu handhabende Methodik entwickelt, um frühzeitig die Bypassfunktion überprüfen zu können. Die Funktion eines Bypasses ist dabei abhängig vom Durchmesser des Spendergefäßes, dem Ausmaß der arteriosklerotischen Veränderung im Spendergefäß, dem Blutflussbedarf und von der Flussrichtung (Antidrom oder Syndrom) in welcher der Bypass eingeschlossen wurde (Vajkoczy *et al*., 1999). Eine unerkannte Dysfunktion eines angelegten Bypasses bedingt die Gefahr einer cerebralen Ischämie, woraus die erhöhte Morbidität der extra-/intrakraniellen Bypass-Chirurgie resultiert. Daher bietet die intraoperative Kontrolle der Bypassfunktion durch die Indocyaningrün-Videoangiographie eine optimale Methode, um das chirurgische Risiko zu reduzieren.

Fluoreszenz-Angiographien wurden initial von Ophthalmologen beschrieben, um den retinalen Blutfluss mittels Fluoreszein zu evaluieren (Norton and Gutman, 1965; Russell *et al*., 1966). Feindel und seine Mitarbeiter (Feindel *et al*., 1967a; Feindel *et al*., 1967b) waren die ersten, die das Konzept der Fluoreszenz-Angiographie zur Visualisierung von cerebralen Gefäßen verwendet haben. Neben den anfänglich guten Ergebnissen fand die Fluoreszenz-Angiographie keine weitere klinische Akzeptanz bei neurovaskulären Chirurgen. Mit der Einführung der Indocyaningrün-Videoangiographie wurde das erste Mal ein kompaktes System angewendet, welches auf moderner Videotechnologie basiert. Gleichzeitig hat der Farbstoff Indocyaningrün den Vorteil eines deutlich geringeren Nebenwirkungsspektrums. Raabe und seine Mitarbeiter waren die ersten, welche die Indocyaningrün-Videoangiographie während neurovaskulärer Operationen einsetzten, um die Gefäßdurchgängigkeit bei Aneurysmaoperationen und die vollständige Aneurysmaausschaltung zu überprüfen (Raabe *et al*., 2003). Aufgrund des sehr hohen Kontrastunterschiedes ist es möglich, auch sehr kleine kortikale Gefäße zu untersuchen. Die Bypassfunktion kann anhand der frühen Füllung des angelegten Bypasses mit dem Fluoreszenzfarbstoff verifiziert werden. Die initiale Durchgängigkeitsrate für die bei uns untersuchten Standardbypässe zwischen der Arteria temporalis superficialis und einem peripheren Ast der Arteria cerebri media betrug 87%. Durch die direkte chirurgische Revision konnte die Offenheitsrate auf 100% gesteigert werden. Verglichen mit anderen Techniken, welche die Bypassfunktion überprüfen - wie die konventionelle Angiographie, Magnetresonanz-Angiographie, Computertomographie-Angiographie oder Ultraschall – bietet die Indocyaningrün-Videoangiographie eine einfach

handhabbare und kosteneffiziente Technik für die direkte intraoperative Überprüfung der Bypassfunktion mit hoher Bildqualität und exzellenter räumlicher Auflösung.

Bei geplanten chirurgischen oder interventionellen Eingriffen, welche mit einer temporären Ausschaltung der cerebralen Perfusion einhergehen, wie die operative Behandlung von komplexen Aneurysmata oder Carotisendarteriektomien könnte eine vorherige Ausbildung eines Kollateralnetzes das Ausmaß des Perfusionsdefizits reduzieren. Ein Preconditioning mittels milder Ischämie, Hypoxie oder auch eines anderen Stimulus bewirkt eine Toleranz gegenüber einer nachfolgenden Ischämie. Bislang wurden diese Effekte ausschließlich metabolischen Mechanismen auf neuronaler und glialer Ebene zugeschrieben. In der letzten Zeit konnten mehrere unabhängige Gruppen auch eine Verbesserung der Perfusion nach Preconditioning nachweisen (Dawson *et al.*, 1999b; Muramatsu *et al.*, 2004; Zhao and Nowak, Jr., 2006). Diese Perfusionsverbesserung vermag deutlich zur Protektion des gefährdeten Gewebes beitragen. Strukturelle Veränderungen konnten bislang jedoch nicht nachgewiesen werden. Mit der von Maeda *et al.* (Maeda *et al.*, 1998) adaptierten Latex-Perfusionstechnik konnten wir erstmalig zeigen, dass bei Tieren mit einem hypoxischen Preconditioning die Durchmesser der leptomeningealen Anastomosen um etwa 27% zunehmen. Diese Gefäßsegmente wurden erstmalig von Heubner (Heubner, 1874) beschrieben und stellen den wesentlichen Kollateralkreislauf bei Okklusion eines cerebralen Hauptgefäßes distal des Circulus arteriosus Willisii dar. Neben der signifikanten Zunahme der Gefäßdurchmesser konnten wir keine Veränderungen der Gefäßwand nachweisen. Bis jetzt konnten wir den Mechanismus für die Zunahme des Gefäßdurchmessers nicht klären, allerdings sind mehrere proangiogene Faktoren – wie VEGF oder Erythroprotein (Chen *et al.*, 2005; Prass *et al.*, 2003) beschrieben, welche nach hypoxischem Preconditioning hochreguliert werden. Dies könnte zu der von uns gefundenen vaskulären Remodellierung beitragen.

Für die Überprüfung, inwiefern die Stimulation des Kollateralwachstums am cerebralen Gefäßnetz bei chronischer Ischämie sinnvoll ist, verwendeten wir ein Zweigefäß-Okklusionsmodell mit einem Zeitintervall von einer Woche zwischen Okklusion der rechten und linken Arteria carotis communis. Mit Verwendung dieses Protokolls überlebten alle Tiere den chirurgischen Eingriff. Weiterhin fanden wir keine Anzeichen für eine neuronale Zellschädigung. Im Gegensatz dazu tritt bei gleichzeitiger Okklusion beider Arteriae carotis communis in einer erheblichen Anzahl von Tieren eine neurologische Schädigung, die bis zum Tod führen kann, auf (Andersen *et al.*, 1976; Coyle and Panzenbeck, 1990; Ulrich *et al.*,

1998). Mit Okklusion beider Arteriae carotes communes war die cerebrale Perfusion allein über die Basilararterie gewährleistet. Aufgrund einer spontanen Adaptation war der Ruheblutfluss nach fünf Wochen nur wenig beeinflusst. Wenn aber die cerebrovaskuläre Reservekapazität durch Stimulation mit Diamox getestet wurde, so war diese nach zwei und fünf Wochen erheblich eingeschränkt. Unter der Behandlung mit GM-CSF hat sich die cerebrovaskuläre Reservekapazität wieder auf Ausgangswerte erholt. Einen ähnlichen Effekt konnten Buschmann und seine Mitarbeiter an einem Dreigefäß-Okklusionsmodell der Ratte beschreiben (Buschmann *et al*., 2003). Die Erholung der cerebralen Perfusion ging mit einer Zunahme des Durchmessers der Arteria communicans posterior des Circulus arteriosus Willisii einher, wobei diese Zunahme auch bei unbehandelten Tieren weitestgehend beobachtet wurde (Busch *et al*., 2003; Buschmann *et al*., 2003). Es erschien uns unwahrscheinlich, dass die Wiederherstellung der cerebrovaskulären Reservekapazität auf eine sehr geringe zusätzliche Zunahme der Arteria communicans posterior zurückzuführen ist, daher untersuchten wir auch kleinere Gefäßsegmente und fanden eine signifikante Zunahme der leptomeningealen Anastomose. Weiterhin konnten wir durch immunhistochemische Färbungen für α-SMA zeigen, dass es zu einer deutlichen Zunahme von präkapillären Arteriolen kam. Diese Gefäßsegmente sind von besonderer Bedeutung, da sie mehr als die Hälfte des totalen cerebrovaskulären Widerstands ausmachen (Baumbach and Heistad, 1985). Die funktionelle Erholung der cerebrovaskulären Reservekapazität ist damit zum einen auf die Kollateralisierung und zum anderen auf die Reduktion des gesamt-peripheren Widerstandes zurückzuführen.

Die aneurysmatische Subarachnoidalblutung hat eine 30 Tage-Mortalität von etwa 45% (Broderick *et al*., 1993). Das Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits ist eine vorherrschende Komplikation nach Subarachnoidalblutungen und eine Hauptursache für die hohe Mortalität und Morbidität. Bislang gibt es keine durchgreifende therapeutische Option (van Gijn and Rinkel, 2001), was auf die komplexe und unvollständig verstandene Pathophysiologie zurückzuführen ist. Durch Aufzeichnung eines Elektrokortikogramms mittels einer subduralen 6-Kontakt Streifenelektrode konnten wir das erste Mal zeigen, dass ähnlich wie beim Tierexperiment (Busch *et al*., 1996; Hubschmann and Kornhauser, 1980) Spreading Depolarizations nach Subarachnoidalblutungen auftreten. Bei einer Gesamt-aufzeichnungszeit von 2110 Stunden wurden bei 13 von 18 Patienten 298 Spreading Depolarizations registriert, so dass Spreading Depolarizations hochfrequent nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung auftreten. Die Entwicklung eines erneuten

ischämischen Schlaganfalls war mit einer verlängerten Periode einer elektrokortikographischen Depression vergesellschaftet (Back *et al*., 1994; Hartings *et al*., 2006; Nedergaard and Hansen, 1993; Ohta *et al*., 2001). Ausschließlich Patienten mit einem verzögerten ischämischen Defizit zeigten eine statistisch signifikante Zunahme der Anzahl an Spreading Depolarizations pro Tag. Der positive prädiktive Wert von Spreading Depolarizations für das Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits war 86% und der negative prädiktive Wert 100%.

Ein Einschlusskriterium für die Studie war das Vorhandensein von viel Blut in der initialen Computertomographie (Fischer Grad III), da diese Patienten ein hohes Risiko für das Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits haben (Kistler *et al*., 1983). Vergleichbar zu tierexperimentellen Studien mag das Auftreten von Abbauprodukten von Erythrozyten im Subarachnoidalraum für das Auftreten von Spreading Depolarizations verantwortlich gewesen sein (Dreier *et al*., 1998; Dreier *et al*., 2000; Windmuller *et al*., 2005). Die Verwendung von Verstärkern mit einem Highpass Cut-Off von 0,01 Hz ermöglichte es, auch langsame Potentialänderungen, welche mit Spreading Depolarizations einhergingen, aufzuzeichnen. Allerdings konnten langsame Potentialänderungen, welche mit einer persistierenden Depolarisation einhergingen, wie bei einer anoxischen Depolarisation, nicht unterschieden werden. Die häufige Aufzeichnung von langsamen Potentialänderungen während Phasen mit einem elektrokortikographischen Aktivitätsausfall – ähnlich wie zuvor im Tierexperiment bei fokaler Ischämie beschrieben (Back *et al*., 1994; Hartings *et al*., 2006; Ohta *et al*., 2001) – zeigt jedoch, dass es sich vorwiegend um Spreading Depolarizations handelt. Wenn auch eine Diskrimination zwischen Spreading Depolarization, Anoxic Depolarizations und intermediären Formen nicht immer zuverlässig gelang, so war jedoch das Auftreten häufig vorhandener Spreading Depolarizations mit dem Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits verbunden. Da bei dieser Studie der regionale cerebrale Blutfluss nicht miterfasst wurde, können wir nur darüber spekulieren, ob das Auftreten von Spreading Depolarizations einen mikrovaskulären Spasmus induziert hat oder ob das Auftreten mehr hypoxiegetriggert durch einen Vasospasmus der proximalen Gefäße war. Das elektrokortikographische Monitoring bei Patienten mit einer schweren Subarachnoidalblutung waren dem klinischen Status, dem transkraniellen Dopplersonographie-Befund und der digitalen Subtraktionsangiographie ein wichtiger Beitrag zur Verlaufsbeurteilung der Kompensation der cerebralen Perfusion.

Zusammenfassung

Die cerebrale Ischämie stellt mit ihrer hohen Morbidität und Mortalität eine hohe Herausforderung an behandelnde Ärzte, die sozialen Strukturen, aber auch an die Erforschung zugrunde liegender Pathomechanismen und neuer Therapieoptionen. Definitionsgemäß liegt allen Formen der cerebralen Ischämie eine Gefäßstenose oder Okklusion mit daraus resultierender Minderperfusion im Hirngewebe zugrunde. In verschiedenen Studien wurden daher vaskuläre pathophysiologische Aspekte und eventuell daraus resultierende Therapieoptionen untersucht.

Für die akute, meist thrombembolisch bedingte, cerebrale Ischämie zeigen Blutflussmessungen mittels PET und Xenon-Computertomographie bislang widersprüchliche Ergebnisse, ob eine hämodynamische Penumbra einige Stunden nach der Entstehung des Schlaganfalls vorhanden ist. Problematisch bei diesen Untersuchungsmethoden ist die moderat gute räumliche Auflösung. Mittels der Indocyaningrün-Videoangiographie mit nachgeschalteter Berechnung relativer Blutfluss-Indizes und Erstellung einer Blutflußkartierung konnten wir bei Patienten mit dekompressiver Entlastungstrepanation aufgrund eines malignen Mediainfarkts die Penumbra hochauflösend nachweisen. 15-37% der freigelegten Hemisphäre zeigten typische Penumbra-Blutflusswerte. Diese Methode eignet sich weiterhin dazu, um direkt intraoperativ kritisch perfundiertes Gewebe zu identifizieren, um dieses spezifisch mittels verschiedener Verfahren (Sauerstoffpartialdruckmessung, Mikrodialyse, Blutflussmessung) kontinuierlich zu überwachen und um somit die nachfolgende Therapie zu optimieren.

Die Induktion einer fokalen cerebralen Ischämie mittels der Fadenokklusionsmethode geht mit einem 10-40%igem Risiko für eine ungewollte Induktion einer Subarachnoidalblutung einher. Mittels Online-Erfassung des regionalen cerebralen Blutflusses durch Laser-Doppler-Flussmessung konnten wir über einen weiteren Abfall des cerebralen Blutflusses eine ungewollte Subarachnoidalblutung frühzeitig mit hoher Zuverlässigkeit detektieren. Dies ermöglicht für Therapiestudien das Protokoll frühzeitig abzubrechen. Weiterhin wurden drei verschiedene Okklusionsmodelle mit (I) Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media, Arteria communicans posterior und Arteria carotis communis sowie (II) Tandem-Okklusion der Arteria cerebri media und Arteria carotis communis und schließlich (III) selektive Okklusion der Arteria cerebri media verglichen. Wir fanden in allen drei Modellen eine hohe Reproduzierbarkeit. Der Abfall des regionalen

cerebralen Blutflusses war bei Tieren mit selektiver Okklusion der Arteria cerebri media in peripheren Regionen jedoch weniger ausgeprägt, was eine geringere Ischämieentwicklung bei diesen Tieren zur Folge hatte.

Da eine Perfusionsverbesserung durch Anhebung des arteriellen Drucks oder durch Verbesserung der Hämodynamik bislang keine vielversprechenden Ergebnisse für die Behandlung der fokalen Ischämie zeigte und eine Stimulation des Kollateralwachstums aufgrund der zeitlichen Limitierung nicht erfolgversprechend erschien, wurde untersucht, inwiefern eine Erhöhung der intravasalen Sauerstofftransportkapazität zu einer Reduktion des Ischämievolumens führt. Hierzu verwendeten wir eine neue sogenannte 2. Generation Perfuorocarbon-Emulsion, welche eine sehr hohe Sauerstofftransportkapazität aufweist. Nach Behandlung mit 1 ml/100 g Körpergewicht zeigten die Tiere eine ca. 15%ige Reduktion ihres Schlaganfalls nach permanenter fokaler Ischämie.

Im Gegensatz zu den akuten thrombembolischen Ischämien kann bei chronischen Verlaufsformen oder bei geplanten Ischämien im Rahmen von bevorstehenden operativen oder interventionellen Eingriffen das Kollateralnetzwerk stimuliert werden, um so die hämodynamische Situation zu verbessern. Die derzeit einzig zur Verfügung stehende Technik zur Induktion eines Kollateralkreislaufes ist die chirurgische Anlage eines extra-/intrakraniellen Bypasses. Die konventionelle Offenheitsrate wird für einen Standard extra-/intrakraniellen Bypass zwischen 90% und 96% beschrieben. Mit Hilfe der Indocyaningrün-Videoangiographie etablierten wir eine kosteneffektive und einfach zu handhabende Methodik, um die Funktion eines extra-/intrakraniellen Bypasses bereits intraoperativ präzise zu überprüfen. Durch die Möglichkeit einer direkten chirurgischen Revision erreichten wir bei insgesamt 45 durchgeführten Bypass-Prozeduren eine Offenheitsrate von 100%. Nebenwirkungen – wie allergische Reaktionen – wurden nicht beobachtet, so dass die Methodik zur erfolgreichen chirurgischen Revaskularisierung und zur Vorbeugung von operationsassoziierten Ischämien hilfreich erscheint.

Alternativ zum chirurgischen Vorgehen kann endogen das Wachstum eines Kollateralgefäßnetzes stimuliert werden. Für Patienten mit einem vorbestehenden Eingriff, welcher eine temporäre Ausschaltung der cerebralen Perfusion beinhaltet, ist seit langem experimentell der protektive Effekt eines Preconditionings beschrieben. Hierbei wird das cerebrale Gewebe einem Stimulus unterhalb der schädigenden Schwelle – wie Ischämie oder Hypoxie – ausgesetzt, welcher anschließend vor einem nachfolgenden Schaden schützt. Der primäre protektive Mechanismus wird bislang metabolischen Prozessen auf neuronaler und glialer Ebene zugeschrieben. Einige neuere Arbeiten konnten jedoch auch einen Effekt auf

hämodynamischer Ebene zeigen. Daher untersuchten wir, inwiefern nach einem hypoxischen Preconditioning die leptomeningealen Anastomosen, welche die Hauptkollateralversorgung nach Okklusion einer Arterie distal des Circulus arteriosus Willisii darstellen, beeinflusst werden und fanden eine deutliche Zunahme der Gefäßdurchmesser, ohne dass hierbei die Gefäßwand strukturelle Veränderungen aufwies. Die gefundenen strukturellen Veränderungen mit Zunahme der Gefäßdurchmesser der leptomeningealen Anastomosen mögen zur Kollateralisierung und damit zur besseren Perfusion, welche nach Preconditioning bei der fokalen Ischämie beschrieben wird, beitragen.

Bei der meist arteriosklerotisch bedingten stenookklusiven cerebrovaskulären Erkrankung unterliegt das cerebrale Gefäßnetz einer ständigen Adaptation, um sich dem benötigten Blutbedarf anzupassen. Einer der hier entscheidenden Mechanismen ist neben der Angio- und Vaskulogenese die Arteriogenese, welche die Ausbildung eines Kollateralnetzwerkes auf dem Boden von vorbestehenden Mikrogefäßen beschreibt. Das strukturelle Remodellieren der Gefäße wird hierbei vornehmlich durch Veränderungen des Shear-Stresses und einer Hochregulation von Adhäsionsmolekülen induziert. Eine bislang identifizierte Schlüsselrolle wird hierbei den Makrophagen, welche im perivaskulären Raum vaskulotrophe Faktoren sezernieren, zugeschrieben. An einem Zweigefäß-Okklusionsmodell zur chronischen Ischämie konnten wir zeigen, dass sich durch Stimulation der Anzahl von zirkulierenden Monozyten mittels GM-CSF die chronisch eingeschränkte cerebrovaskuläre Reservekapazität komplett erholte. Diese funktionellen Veränderungen gingen mit einer Zunahme der basalen Gefäße des Circulus arteriosus Willisii, aber vor allem auch der leptomeningealen und intraparenchymalen Mikrogefäße, einher. Diese präkapillären Gefäßsegmente machen mehr als 50% des gesamt-peripheren Widerstands aus. Damit scheint für die Wiederherstellung der Hämodynamik eine Zunahme des Kollateralnetzwerks und eine Senkung des gesamtperipheren Widerstands nach Behandlung mit GM-CSF verantwortlich zu sein.

Eine weitere Sonderform der cerebralen ischämischen Läsionen betrifft das Auftreten von verzögerten ischämischen Defiziten nach Subarachnoidalblutung. Bislang wurde das Auftreten dieser verzögerten ischämischen Defizite ausschließlich dem Auftreten eines proximalen Vasospasmus zugeschrieben. Tierexperimentelle Studien konnten jedoch zeigen, dass spontan auftretende Spreading Depolarizations in Verbindung mit Blutabbauprodukten im Subarachnoidalraum einen ausgeprägten und anhaltenden Spasmus der Mikrogefäße induzieren können. Mittels subduraler 6-Kontakt-Streifenelektroden konnten wir bei 13 von 18 untersuchten Patienten (27%) ein spontanes Auftreten von Spreading Depolarizations nach

stattgehabter Subarachnoidalblutung finden. Häufig auftretende Spreading Depolarizations und vor allem eine anhaltende Auslöschung der elektrokortikographischen Aktivität waren hierbei mit einer klinischen Verschlechterung und dem Auftreten von verzögerten Ischämien assoziiert. Der positive prädiktive Wert von Spreading Depolarizations für das Auftreten eines verzögerten ischämischen Defizits lag bei 85%, was damit deutlich über dem Aussagewert der transkraniellen Doppler-Sonographie oder einer digitalen Subtraktionsangiographie liegt. Somit mag das Auftreten von Spreading Depolarizations nach Subarachnoidalblutung neben dem proximalen Vasospasmus ein wichtiger Pathomechanismus für das Auftreten von verzögerten ischämischen Defiziten sein.

Literaturverzeichnis

Failure of extracranial-intracranial arterial bypass to reduce the risk of ischemic stroke. Results of an international randomized trial. The EC/IC Bypass Study Group. *N Engl J Med* 1985;313:1191-200.

Andersen P, Small JV, and Sobieszek A. Studies on the specificity of smooth-muscle antibodies. *Clin Exp Immunol.* 1976;26:57-66.

Arras M, Ito WD, Scholz D, Winkler B, Schaper J, and Schaper W. Monocyte activation in angiogenesis and collateral growth in the rabbit hindlimb. *J Clin Invest.* 1998;101:40-50.

Astrup J, Siesjo BK, and Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke* 1981;12:723-5.

Back T, Kohno K, and Hossmann KA. Cortical negative DC deflections following middle cerebral artery occlusion and KCl-induced spreading depression: effect on blood flow, tissue oxygenation, and electroencephalogram. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994;14:12-9.

Baron JC. Mapping the ischaemic penumbra with PET: implications for acute stroke treatment. *Cerebrovasc Dis* 1999;9:193-201.

Barone FC, White RF, Spera PA, Ellison J, Currie RW, Wang X, and Feuerstein GZ. Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression. *Stroke* 1998;29:1937-50.

Baumbach GL and Heistad DD. Regional, segmental, and temporal heterogeneity of cerebral vascular autoregulation. *Ann.Biomed.Eng.* 1985;13:303-310.

Bose B, Osterholm JL, Payne JB, and Chambers K. Preservation of neuronal function during prolonged focal cerebral ischemia by ventriculocisternal perfusion with oxygenated fluorocarbon emulsion. *Neurosurgery* 1986;18:270-6.

Broderick JP, Brott T, Tomsick T, Miller R, and Huster G. Intracerebral hemorrhage more than twice as common as subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1993;78:188-91.

Brouwers PJ, Dippel DW, Vermeulen M, Lindsay KW, Hasan D, and van Gijn J. Amount of blood on computed tomography as an independent predictor after aneurysm rupture. *Stroke* 1993;24:809-14.

Brozici M, van der Zwan A, and Hillen B. Anatomy and functionality of leptomeningeal anastomoses: a review. *Stroke* 2003;34:2750-62.

Busch E, Gyngell ML, Eis M, Hoehn-Berlage M, and Hossmann KA. Potassium-induced cortical spreading depressions during focal cerebral ischemia in rats: contribution to lesion growth assessed by diffusion-weighted NMR and biochemical imaging. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:1090-9.

Busch HJ, Buschmann IR, Mies G, Bode C, and Hossmann KA. Arteriogenesis in hypoperfused rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:621-8.

Buschmann I and Schaper W. The pathophysiology of the collateral circulation (arteriogenesis). *J Pathol* 2000;190:338-42.

Buschmann IR, Busch HJ, Mies G, and Hossmann KA. Therapeutic induction of arteriogenesis in hypoperfused rat brain via granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Circulation* 2003;108:610-5.

Carmeliet P and Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000;407:249-57.

Chen J, Graham SH, Zhu RL, and Simon RP. Stress proteins and tolerance to focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:566-77.

Chen J and Simon R. Ischemic tolerance in the brain. *Neurology* 1997;48:306-11.

Chen WJ, Chen HW, Yu SL, Huang CH, Wang TD, Chen JJ, Chien CT, Chen HY, Yang PC, and Lee YT. Gene expression profiles in hypoxic preconditioning using cDNA microarray analysis: altered expression of an angiogenic factor, carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1. *Shock* 2005;24:124-31.

Coyle P and Panzenbeck MJ. Collateral development after carotid artery occlusion in Fischer 344 rats. *Stroke* 1990;21:316-21.

Dawson DA, Furuya K, Gotoh J, Nakao Y, and Hallenbeck JM. Cerebrovascular hemodynamics and ischemic tolerance: lipopolysaccharide-induced resistance to focal cerebral ischemia is not due to changes in severity of the initial ischemic insult, but is associated with preservation of microvascular perfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999a;19:616-23.

Dawson DA, Sugano H, McCarron RM, Hallenbeck JM, and Spatz M. Endothelin receptor antagonist preserves microvascular perfusion and reduces ischemic brain damage following permanent focal ischemia. *Neurochem Res* 1999b;24:1499-505.

Dirnagl U, Simon RP, and Hallenbeck JM. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci* 2003;26:248-54.

Dreier JP, Ebert N, Priller J, Megow D, Lindauer U, Klee R, Reuter U, Imai Y, Einhaupl KM, Victorov I, and Dirnagl U. Products of hemolysis in the subarachnoid space inducing spreading ischemia in the cortex and focal necrosis in rats: a model for delayed ischemic neurological deficits after subarachnoid hemorrhage? *J Neurosurg* 2000;93:658-66.

Dreier JP, Korner K, Ebert N, Gorner A, Rubin I, Back T, Lindauer U, Wolf T, Villringer A, Einhaupl KM, Lauritzen M, and Dirnagl U. Nitric oxide scavenging by hemoglobin or nitric oxide synthase inhibition by N-nitro-L-arginine induces cortical spreading ischemia when K+ is increased in the subarachnoid space. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:978-90.

Fabricius M, Fuhr S, Bhatia R, Boutelle M, Hashemi P, Strong AJ, and Lauritzen M. Cortical spreading depression and peri-infarct depolarization in acutely injured human cerebral cortex. *Brain* 2006;129:778-90.

Feindel W, Yamamoto YL, and Hodge CP. Intracarotid fluorescein angiography: a new method for examination of the epicerebral circulation in man. *Can Med Assoc J* 1967a;96:1-7.

Feindel W, Yamamoto YL, and Hodge P. The human cerebral microcirculation studied by intra-arterial radio-active tracers, Coomassie Blue and fluorescein dyes. *Bibl Anat* 1967b;9:220-4.

Gibbs JM, Leenders KL, Wise RJ, and Jones T. Evaluation of cerebral perfusion reserve in patients with carotid-artery occlusion. *Lancet* 1984;1:182-6.

Ginsberg MD. Adventures in the pathophysiology of brain ischemia: penumbra, gene expression, neuroprotection: the 2002 Thomas willis lecture. *Stroke* 2003;34:214-23.

Haley EC, Jr., Kassell NF, Apperson-Hansen C, Maile MH, and Alves WM. A randomized, double-blind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in North America. *J Neurosurg* 1997;86:467-74.

Hankey GJ and Warlow CP. Lacunar transient ischaemic attacks: a clinically useful concept? *Lancet* 1991;337:335-8.

Hansen AJ and Zeuthen T. Extracellular ion concentrations during spreading depression and ischemia in the rat brain cortex. *Acta Physiol Scand* 1981;113:437-45.

Hartings JA, Tortella FC, and Rolli ML. AC electrocorticographic correlates of peri-infarct depolarizations during transient focal ischemia and reperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006;26:696-707.

Heubner O. Die leutischen Erkrankungen der Hirnarterien. *Leipzig, Germany: FC Vogel;* 1874;170-214.

Hossmann KA. Treatment of experimental cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1982;2:275-97.

Hubschmann OR and Kornhauser D. Cortical cellular response in acute subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1980;52:456-62.

Kaufmann AM, Firlik AD, Fukui MB, Wechsler LR, Jungries CA, and Yonas H. Ischemic core and penumbra in human stroke. *Stroke* 1999;30:93-9.

Kistler JP, Crowell RM, Davis KR, Heros R, Ojemann RG, Zervas T, and Fisher CM. The relation of cerebral vasospasm to the extent and location of subarachnoid blood visualized by CT scan: a prospective study. *Neurology* 1983;33:424-36.

Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, and Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema: 1. A new experimental model of cerebral embolsim in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke* 1986;8:1-8.

Kolluri S, Heros RC, Hedley-Whyte ET, Vonsattel JP, Miller D, and Zervas NT. Effect of Fluosol on oxygen availability, regional cerebral blood flow, and infarct size in a model of temporary focal cerebral ischemia. *Stroke* 1986;17:976-80.

Kraig RP and Nicholson C. Extracellular ionic variations during spreading depression. *Neuroscience* 1978;3:1045-59.

Kuebler WM, Sckell A, Habler O, Kleen M, Kuhnle GE, Welte M, Messmer K, and Goetz AE. Noninvasive measurement of regional cerebral blood flow by near-infrared spectroscopy and indocyanine green. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:445-56.

Lanzino G, Kassell NF, Dorsch NW, Pasqualin A, Brandt L, Schmiedek P, Truskowski LL, and Alves WM. Double-blind, randomized, vehicle-controlled study of high-dose tirilazad mesylate in women with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Part I. A cooperative study in Europe, Australia, New Zealand, and South Africa. *J Neurosurg* 1999;90:1011-7.

Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory. *Brain* 1994;117 (Pt 1):199-210.

Leão AAP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol* 1944;7:359-90.

Lindley RI and Warlow CP. Clinical trials in cerebrovascular disease. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1992;5:58-62.

Liu KF, Li F, Tatlisumak T, Garcia JH, Sotak CH, Fisher M, and Fenstermacher JD. Regional variations in the apparent diffusion coefficient and the intracellular distribution of water in rat brain during acute focal ischemia. *Stroke* 2001;32:1897-1905.

Lodder J, Bamford JM, Sandercock PA, Jones LN, and Warlow CP. Are hypertension or cardiac embolism likely causes of lacunar infarction? *Stroke* 1990;21:375-81.

Maeda K, Hata R, Bader M, Walther T, and Hossmann KA. Larger anastomoses in angiotensinogen-knockout mice attenuate early metabolic disturbances after middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999;19:1092-8.

Maeda K, Hata R, and Hossmann KA. Differences in the cerebrovascular anatomy of C57black/6 and SV129 mice. *Neuroreport* 1998;9:1317-9.

Martins-Ferreira H, Nedergaard M, and Nicholson C. Perspectives on spreading depression. *Brain Res Brain Res Rev* 2000;32:215-34.

Matsushima K, Hogan MJ, and Hakim AM. Cortical spreading depression protects against subsequent focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:221-6.

Mendelowitsch A, Taussky P, Rem JA, and Gratzl O. Clinical outcome of standard extracranial-intracranial bypass surgery in patients with symptomatic atherosclerotic occlusion of the internal carotid artery. *Acta Neurochir (Wien)* 2004;146:95-101.

Muramatsu H, Kariko K, and Welsh FA. Induction of tolerance to focal ischemia in rat brain: dissociation between cortical lesioning and spreading depression. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004;24:1167-71.

Nallet H, MacKenzie ET, and Roussel S. The nature of penumbral depolarizations following focal cerebral ischemia in the rat. *Brain Res* 1999;842:148-58.

Nedergaard M and Hansen AJ. Characterization of cortical depolarizations evoked in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13:568-74.

Norton EW and Gutman F. Diabetic retinopathy studied by fluorescein angiography. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1965;63:108-28.

Ohta K, Graf R, Rosner G, and Heiss WD. Calcium ion transients in peri-infarct depolarizations may deteriorate ion homeostasis and expand infarction in focal cerebral ischemia in cats. *Stroke* 2001;32:535-43.

Osterholm JL, Alderman JB, Triolo AJ, d'Amore BR, and Williams HD. Oxygenated fluorocarbon nutrient solution in the treatment of experimental spinal cord injury. *Neurosurgery* 1984;15:373-380.

Peerless SJ, Ishikawa R, Hunter IG, and Peerless MJ. Protective effect of Fluosol-DA in acute cerebral ischemia. *Stroke* 1981;12:558-563.

Pereira BM, Weinstein PR, and Rodriguez y Baena R. Effect of treatment with fluosol and mannitol during temporary middle cerebral artery occlusion in cats. *Neurosurgery* 1988;23:139-142.

Pluta RM, Afshar JK, Boock RJ, and Oldfield EH. Temporal changes in perivascular concentrations of oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and methemoglobin after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1998;88:557-61.

Prass K, Scharff A, Ruscher K, Lowl D, Muselmann C, Victorov I, Kapinya K, Dirnagl U, and Meisel A. Hypoxia-induced stroke tolerance in the mouse is mediated by erythropoietin. *Stroke* 2003;34:1981-6.

Raabe A, Beck J, Gerlach R, Zimmermann M, and Seifert V. Near-infrared indocyanine green video angiography: a new method for intraoperative assessment of vascular flow. *Neurosurgery* 2003;52:132-9.

Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997;386:671-4.

Rother J, Schellinger PD, Gass A, Siebler M, Villringer A, Fiebach JB, Fiehler J, Jansen O, Kucinski T, Schoder V, Szabo K, Junge-Hulsing GJ, Hennerici M, Zeumer H, Sartor K, Weiller C, and Hacke W. Effect of intravenous thrombolysis on MRI parameters and functional outcome in acute stroke <6 hours. *Stroke* 2002;33:2438-45.

Rumpold H, Wolf D, Koeck R, and Gunsilius E. Endothelial progenitor cells: a source for therapeutic vasculogenesis? *J Cell Mol Med* 2004;8:509-18.

Russell RW, Ffytche TJ, and Sanders MD. A study of retinal vascular occlusion using fluorescein angiography. *Lancet* 1966;2:821-5.

Schaper J, Konig R, Franz D, and Schaper W. The endothelial surface of growing coronary collateral arteries. Intimal margination and diapedesis of monocytes. A combined SEM and TEM study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 1976;370:193-205.

Schmid-Elsaesser R, Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, and Reulen HJ. A critical reevaluation of the intraluminal thread model of focal cerebral ischemia: evidence of inadvertent premature reperfusion and subarachnoid hemorrhage in rats by laser-Doppler flowmetry. *Stroke* 1998;29:2162-70.

Schmiedek P, Piepgras A, Leinsinger G, Kirsch CM, and Einhupl K. Improvement of cerebrovascular reserve capacity by EC-IC arterial bypass surgery in patients with ICA occlusion and hemodynamic cerebral ischemia. *J Neurosurg* 1994;81:236-44.

Scholz D, Cai WJ, and Schaper W. Arteriogenesis, a new concept of vascular adaptation in occlusive disease. *Angiogenesis* 2001;4:247-57.

Seiler C, Pohl T, Wustmann K, Hutter D, Nicolet PA, Windecker S, Eberli FR, and Meier B. Promotion of Collateral Growth by Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation* 2001;104:2012.

Simon RP, Niiro M, and Gwinn R. Prior ischemic stress protects against experimental stroke. *Neurosci Lett* 1993;163:135-7.

Somjen GG. Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. *Physiol Rev* 2001;81:1065-96.

Strong AJ, Fabricius M, Boutelle MG, Hibbins SJ, Hopwood SE, Jones R, Parkin MC, and Lauritzen M. Spreading and synchronous depressions of cortical activity in acutely injured human brain. *Stroke* 2002a;33:2738-43.

Strong AJ, Fabricius M, Boutelle MG, Hibbins SJ, Hopwood SE, Jones R, Parkin MC, Lauritzen M, and Somjen GG. Spreading and synchronous depressions of cortical activity in acutely injured human brain Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. *Stroke* 2002b;33:2738-43.

Sundt TM, Jr., Siekert RG, Piepgras DG, Sharbrough FW, and Houser OW. Bypass surgery for vascular disease of the carotid system. *Mayo Clin Proc* 1976;51:677-92.

Sutherland GR, Farrar JK, and Peerless SJ. The effect of Fluosol-DA on oxygen availability in focal cerebral ischemia. *Stroke* 1984;15:829-835.

Suzuki J, Fujimoto S, Mizoi K, and Oba M. The protective effect of combined administration of anti-oxidants and perfluorochemicals on cerebral ischemia. *Stroke* 1984;15:672-679.

Takano K, Latour LL, Formato JE, Carano RA, Helmer KG, Hasegawa Y, Sotak CH, and Fisher M. The role of spreading depression in focal ischemia evaluated by diffusion mapping. *Ann Neurol* 1996;39:308-18.

Taylor TN, Davis PH, Torner JC, Holmes J, Meyer JW, and Jacobson MF. Lifetime cost of stroke in the United States. *Stroke* 1996;27:1459-66.

Trendelenburg G and Dirnagl U. Neuroprotective role of astrocytes in cerebral ischemia: focus on ischemic preconditioning. *Glia* 2005;50:307-20.

Ulrich PT, Kroppenstedt S, Heimann A, and Kempski O. Laser-Doppler Scanning of local cerebral blood flow and reserve capacity and testing of motor and memory functions in a chronic 2-Vessel Occlusinon model in Rats. *Stroke* 1998;29:2412-2420.

Unterberg AW, Sakowitz OW, Sarrafzadeh AS, Benndorf G, and Lanksch WR. Role of bedside microdialysis in the diagnosis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2001;94:740-9.

Vajkoczy P, Horn P, and Schmiedek P. Standard superficial temporal artery-middle cerebral artery bypass surgery in hemodynamic cerebral ischemia: indication and technique. *Oper Techn Neurosurg* 1999;2:106-15.

van Gijn J and Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage: diagnosis, causes and management. *Brain* 2001;124:249-78.

Vermeulen M, Lindsay KW, Murray GD, Cheah F, Hijdra A, Muizelaar JP, Schannong M, Teasdale GM, van Crevel H, and van Gijn J. Antifibrinolytic treatment in subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med* 1984;311:432-7.

Vogel J, Mobius C, and Kuschinsky W. Early delineation of ischemic tissue in rat brain cryosections by high-contrast staining. *Stroke* 1999;30:1134-41.

Vora YY, Suarez-Almazor M, Steinke DE, Martin ML, and Findlay JM. Role of transcranial Doppler monitoring in the diagnosis of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1999;44:1237-47.

Windmuller O, Lindauer U, Foddis M, Einhaupl KM, Dirnagl U, Heinemann U, and Dreier JP. Ion changes in spreading ischaemia induce rat middle cerebral artery constriction in the absence of NO. *Brain* 2005;128:2042-51.

Woitzik J, Horn P, Vajkoczy P, and Schmiedek P. Intraoperative control of extracranial-intracranial bypass patency by near-infrared indocyanine green videoangiography. *J Neurosurg* 2005;102:692-8.

Yonas H, Smith HA, Durham SR, Pentheny SL, and Johnson DW. Increased stroke risk predicted by compromised cerebral blood flow reactivity. *J Neurosurg* 1993;79:483-9.

Zhao L and Nowak TS, Jr. CBF changes associated with focal ischemic preconditioning in the spontaneously hypertensive rat. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 2006;26:1128-1140.

Danksagung

Die wissenschaftliche Grundlage dieser Habilitationsschrift ist an der Neurochirurgischen Klinik am Univeritätsklinikum Mannheim entstanden. Daher möchte ich mich vor allem bei meinem langjährigen Chef und klinischem Mentor Herrn Professor Dr. Peter Schmiedek für die langjährige, großzügige Unterstützung und die notwendige konstruktive Kritik beim Erstellen dieser Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt weiterhin meinem derzeitigen Chef Herrn Professor Dr. Peter Vajkoczy, der mit nützlichen Diskussionen und fruchtbaren Ideen zum Gelingen der Habilitation beigetragen hat.

Herrn Professor Dr. Dr. Schilling als Leiter der Neurochirurgischen Forschung am Universitätklinikum Mannheim sei besonders gedankt, da er mich nach Abschluss meiner Promotion in sein Team integriert hat und bis heute kollegial zur Seite stand.

Ebenso möchte ich den MTA's und medizinischen Doktoranden meiner Arbeitsgruppe herzlichst Danken, ohne deren Engagement und motivierende Mitarbeit wären viele der vorliegenden Ergebnisse nicht möglich gewesen. Namentlich erwähnen möchte ich vor allem Nina Weinzierl, Elke Lassel, Ulf Schneider und Nils Hecht. Auch den klinischen Kollegen, PD Dr. Claudius Thomé, Dr. Pablo G. Peña-Tapia, und PD Dr. Peter Horn sei herzlich gedankt.

Als meinen Kooperationspartnern spreche ich meinen Dank Prof. Dr. Wolfgang Kuschinsky (Heidelberg), Dr. Helmut Schroeck (Heidelberg), Dr. Oliver Sakowitz (Heidelberg), PD Dr. Jens P. Dreier (Berlin) und Prof. Dr. Rudolf Graf (Köln) aus.

Schließlich sei Frau Faust für die Hilfe bei der Erstellung des Manuskripts gedankt.

ERKLÄRUNG

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

Hiermit erkläre ich, daß

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,

- welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte,

- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.

- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

....

Datum Unterschrift