

**Posttraumatische Veränderungen
nach experimenteller kortikaler Kontusion und
deren Bedeutung für Therapiestudien**

Charité Centrum für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie
Klinik für Neurochirurgie
mit Arbeitsbereich Pädiatrische Neurochirurgie
Direktor der Klinik für Neurochirurgie: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. M. Brock
Leiter des Arbeitsbereiches PD Dr. med. H. Haberl

Habilitationsschrift

**Posttraumatische Veränderungen nach experimenteller kortikaler
Kontusion und deren Bedeutung für Therapiestudien**

Zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach

Neurochirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät Charité
Universitätsmedizin Berlin

Von
Herrn Dr. Ulrich-Wilhelm Nikolaus Thomale
geboren am 12.12.1970 in Braunschweig

Eingereicht am: 14.11.2006

Dekan: Prof. Dr. Martin Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. Wolf-Peter Sollmann
2. Gutachter: Prof. Dr. Gabriele Schackert

Meiner Frau und
meinen Töchtern gewidmet

Inhaltsverzeichnis:

Vorwort	6
Abkürzungsverzeichnis	7
Teil I	
1. Einleitung	8
1.1. Epidemiologie und Therapierichtlinien.....	8
1.2. Das experimentelle Schädel-Hirn-Trauma.....	10
1.3. Posttraumatisches Hirnödem.....	14
1.3.1. Vasogenes Hirnödem	15
1.3.2. Zytotoxisches Hirnödem	15
1.3.3. Osmotisches Hirnödem	17
1.3.4. Spezifische Aspekte des posttraumatischen Hirnödems	17
1.4. Posttraumatischer Zelltod.....	20
1.5. Bedeutung von Therapiestudien beim Schädel-Hirn-Trauma.....	24
Teil II	
2. Fragestellung	27
2.1. Zusammenfassung der eigenen Ergebnisse.....	28
2.2. Technische Voraussetzung zur Untersuchung der Mikrozirkulation.....	28
Thomale UW et al., J Neurosci Methods. 2001 Jul 15;108(1):85-90.	
2.3. Veränderungen der Mikrozirkulation nach fokaler Kontusion	35
Thomale UW et al., J Neurotrauma. 2002 Apr; 19(4):403-13.	
2.4. Veränderungen des Energiemetabolismus nach Controlled Cortical Impact (CCI)	48
Thomale UW et al., Neurol Res. 2007; 29: 594-603.	
2.5. Lokale Immunreaktion nach CCI.....	60
2.5. Therapiestudien nach fokaler Hirnkontusion	64
2.5.1. Hyperonkotisch hyperosmotische Therapie	64
Thomale UW et al., J Neurotrauma. 2004 Dec; 21(12):1737-46.	
2.5.2. Anti-oxidative Therapie	75
Thomale UW et al., Intensive Care Med. 2006 Jan; 32(1):149-55.	
2.5.3. Anti-inflammatorische Therapie	83
Thomale UW et al., Immunobiology, 2007, 212, 567-576.	

2.6. Zusammenfassung	94
2.7. Fazit.....	95
2.8. Literaturverzeichnis	96
2.9. Danksagung	103
2.10. Eidesstattliche Erklärung	104

Vorwort:

Diese Habilitation beruht im Wesentlichen auf dem Inhalt der nachfolgend aufgelisteten Publikationen (P1-P6). Danach wird die nach der neuen Habilitationsordnung vom 9. Juni 2005 gegebene Möglichkeit zur Vorlage einer kumulativen Habilitationsschrift, die sich „auf eigene publizierter Forschungsergebnisse stützt, die in Form von Originalarbeiten in die Habilitationsschrift einbezogen sind“ genutzt. Weitere Publikationen des Habilitanden, die nicht in dieser Arbeit verwendet wurden, sind im separaten Schriftverzeichnis des Curriculum Vitae aufgeführt. Thematisch behandeln die folgenden Arbeiten die posttraumatischen Veränderungen nach experimenteller kortikaler Kontusion und dessen Bedeutung für Therapiestudien:

P1: Thomale UW, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF. Visualization of rat pial microcirculation using the novel orthogonal polarized spectral (OPS) imaging after brain injury. *J Neurosci Methods*. 2001 Jul 15;108(1):85-90.

P2: Thomale UW, Kroppenstedt SN, Beyer TF, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF. Temporal profile of cortical perfusion and microcirculation after controlled cortical impact injury in rats. *J Neurotrauma*. 2002 Apr;19(4):403-13.

P3: Thomale UW, Griebenow M, Kroppenstedt SN, Unterberg AW, Stover JF. Small volume resuscitation with HyperHaes improves pericontusional perfusion and reduces lesion volume following controlled cortical impact injury in rats. *J Neurotrauma*. 2004 Dec;21(12):1737-46.

P4: Thomale UW, Griebenow M, Kroppenstedt SN, Unterberg AW, Stover JF. The effect of N-acetylcysteine on posttraumatic changes after controlled cortical impact in rats. *Intensive Care Med*. 2006 Jan;32(1):149-55.

P5: Thomale UW, Griebenow M, Mautes A, Beyer TF, Dohse NK, Stroop R, Sakowitz OW, Unterberg AW, Stover JF. Heterogeneous regional and temporal energetic impairment following controlled cortical impact injury in rats. *Neurol Res*. 2007; 29: 594-603.

P6: Thomale UW, Bender M, Casalis P, Rupprecht S, Griebenow M, Woiciechowsky C, Unterberg AW, Stover JF. Tacrolimus reduces local cellular inflammatory response after focal cortical contusion in rats. *Immunobiology*, 2007, 212:567-576.

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm	M	molare Lösung (1 mol/l)
µl	Mikroliter	m/s	Meter/Sekunde
µm	Mikrometer	MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
°C	Grad Celsius	Min.	Minute
AANS	American Association of Neurological Surgeons	ml	Milliliter
ACC	N-Acetylcystein	mm	Millimeter
Abb.	Abbildung	mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
ADC	apparent water diffusion coefficient	mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
AMPA	α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolprionat	MRT	Magnetresonanztomographie
aPCO ₂	arterieller Kohlendioxid-Partialdruck	ms	Millisekunden
aPO ₂	arterieller Sauerstoff-Partialdruck	n	Anzahl der Versuchstiere
atm	Atmosphären	N ₂	Stickstoff
ATP	Adenosinriphosphat	Na	Natrium
BHS	Blut-Hirn-Schranke	NaCl	Natriumchlorid
bzw.	beziehungsweise	ng	Nanogramm
Ca	Kalzium	NIH	National Institute of Health
ca.	Circa	nm	Nanometer
CBF	Zerebraler Blutfluss	NMDA	N-methyl-D-aspartat
CCI	Controlled Cortical Impact	NO	Stickoxyl
CCT	kraniales Computertomogramm	OH	Hydroxyl
cm	Zentimeter	OPS	Optical Polarized Spectral Imaging
CPP	zerebraler Perfusionsdruck	P	hydrostatischer Druck
CT	Computertomogramm	p	Signifikanzniveau
d.h.	das heißt	pH	Wasserstoffionenkonzentration (-log[H ⁺])
DGNC	Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie	r	Korrelationskoeffizient
DNA	Desoxiribonukleinsäure	rt-PCR	real-time polymerase chain reaction
DWI	diffusionsgewichtete Bildgebung	s	Sekunde
EB	Evans Blue	s.o.	siehe oben
EBIC	European Brain Injury Consortium	s.u.	siehe unten
FG	Feuchtgewicht	SEM	Standardfehler der Mittelwerte
ggf.	gegebenenfalls	SHT	Schädel-Hirn-Trauma
H	Wasserstoff	sog.	so genannt
HAES	Hydroxyäthylstärke	Std.	Stunde
HE	Hämatoxilin-Eosin	STD	Standardabweichung
HHES	HyperHAES	Tab.	Tabelle
i.m.	intramuskulär	TG	Trockengewicht
i.v.	intravenös	TNF	Tumor Nekrose Faktor
ICP	intrakranieller Druck	TTC	2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid
IFN	Interferon	TUNEL	in situ dUridintriphosphat end labeling
IL	Interleukin	u.a.	unter anderem
Inj.	Injektion	V.	Vena
K	Kalium	v.a.	vor allem
kg	Kilogramm	vs	versus
KG	Körpergewicht	WHO	World Health Organization
l	Liter	z.B.	zum Beispiel

Teil I

Posttraumatische Veränderungen nach experimenteller kortikaler Kontusion und deren Bedeutung für Therapiestudien.

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie und Therapierichtlinien

Das Trauma ist in allen industrialisierten Ländern der Welt die wichtigste Ursache für Mortalität und Morbidität im Lebensalter von 20-40 Jahren. Entsprechend der „World Health Organisation“ (WHO) starben allein 1998 5,8 Millionen Menschen an den Folgen eines Schädel-Hirn-Traumas (SHT). In den USA wird als ursprüngliche Todesursache das SHT jährlich bei 50 bis 75 Tausend Patienten angegeben und 6 Millionen Menschen leiden zum jetzigen Zeitpunkt an den Folgen einer traumatischen Hirnverletzung (NIH, 1999; Thurmann und Guerrero 1999). Auf Basis einer Literaturzusammenfassung wird die europäische Inzidenz bei 235 hospitalisierten SHT-Patienten pro 100.000 Einwohner geschätzt (Tagliaferri et al., 2006). In Deutschland werden jährlich zwischen 266.000 bis 276.000 Menschen wegen eines SHT hospitalisiert. Die Inzidenz schwer Schädel-Hirn verletzter Patienten liegt aktuell bei rund 33,5 Patienten auf 100.000 Einwohner. Die Mortalität ist dank verbesserter Therapie und Prävention in den letzten Jahren kontinuierlich gesunken. Sie lag 1972 bei 27,2 und im Jahre 2000 bei 9 Sterbefällen pro 100.000 Einwohner (Steudel et al., 2005).

In diesem Zusammenhang sind in den letzten Jahren beträchtliche Erfolge erzielt worden, die Therapie des SHT zu standardisieren, um eine Verringerung der Morbidität und Mortalität zu erreichen. In den Vereinigten Staaten, Europa und Deutschland sind in den Jahren 1995-2000 Therapierichtlinien der „Association of American Neurological Surgeons“ (AANS), des „European Brain Injury Consortiums“ (EBIC) und der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie (DGNC) zur Behandlung von schwer Schädel-Hirn-traumatisierten Patienten veröffentlicht worden (Brain Trauma Foundation, 2000; Bullock et al., 1996; Jantzen und Piek, 1997; Maas et al., 2000; Maas et al., 1997). Sie basieren auf einer systematische Auswahl und Bewertung bis dahin veröffentlichter Therapiestudien. Nach diesen Therapierichtlinien ist das Patienten-Management v.a. darauf ausgerichtet, sekundäre Komplikationen nach SHT zu verhindern. Es legt entsprechende Vorgaben für die intensivmedizinische und operative Therapie folgender Punkte fest: respiratorische und

zirkulatorische Stabilisierung des Patienten, Vermeidung von Hypoxie, Hypotension, Hyper- und Hypokapnie, Hyperthermie, Hyper- und Hypoglykämie, Hybernatriämie, Behandlung des intrakraniellen Druckes, operative Entlastung von Raumforderungen oder die dekompressive Kraniektomie (Sahuquillo und Arkan, 2006). Eine Verbesserung und erhöhte Verfügbarkeit der neurotraumatologischen Primär- und Sekundärversorgung ist Voraussetzung für die erfolgreiche und breite Anwendung dieser Therapierichtlinien. Auch für die Nachsorge der Patienten sind Verbesserungen in Bezug auf die standardisierte medikamentöse Therapie der Spätfolgen festgelegt worden (Warden et al., 2006).

Für die Entwicklung neuer Therapieverfahren ist das Verständnis pathophysiologischer Vorgänge nach Schädel-Hirn-Trauma wichtig. Die Grundlage hierfür ist das Konzept der Unterscheidung zwischen primärem und sekundärem Hirnschaden. Der zerebrale Primärschaden ist definiert als die Läsion, die verursacht wird durch die traumatisch bedingte, mechanische Einwirkung auf das Hirngewebe. Diese ist therapeutisch nicht zu beeinflussen. Der Sekundärschaden ist der durch extra- oder intrakranielle Ursachen verzögert zusätzlich zum Primärschaden einsetzende Zelluntergang. Als Ursachen hierfür kommen im Rahmen des Krankheitsbildes auftretende klinische Komplikationen oder im Gewebe ablaufende pathophysiologische Kaskaden in Frage. Als häufig bei polytraumatisierten Patienten auftretende klinische Komplikationen sind Hypoxie oder arterielle Hypotension zu nennen. Die durch den Primärschaden im Gewebe ausgelösten Kaskaden sind die unkontrollierte Freisetzung und Wirkung von sog. Mediatorsubstanzen wie z.B. exzitatorischen Aminosäuren (wie Glutamat), freien Radikalen, Stickoxyd, Arachidonsäure und anderen inflammatorischen Mediatorsubstanzen wie Zytokinen, die an der Ausbildung des posttraumatischen Sekundärschadens beteiligt sind. Dieser mediatorvermittelte Sekundärschaden kann durch das Auftreten sekundärer Insulte wie einer systemischen arteriellen Hypotension oder einer Hypoxie verstärkt werden.

Die Beeinflussung solcher mediatorvermittelten Kaskaden ist das Ziel der sog. „neuroprotektiven“ Therapie. Trotz einer großen Anzahl von viel versprechenden Ergebnissen aus vornehmlich experimentellen Studien ist es bis heute nicht gelungen, eine neuroprotektive Therapie in der Klinik zu etablieren. Die erwähnten Therapierichtlinien des schweren SHT beinhalten nur indirekt einen neuroprotektiven Ansatz. Sie haben das Ziel, den intrakraniellen Druck zu senken und einen ausreichenden zerebralen Perfusionsdruck zu erhalten. So ist die Identifikation und Etablierung von neuroprotektiven Substanzen zur Prävention des

mediatorvermittelten Zelluntergangs für SHT-Patienten nach wie vor Ziel der aktuellen Untersuchungen.

1.2. Das experimentelle Schädel-Hirn-Trauma

Zum besseren Verständnis des SHT dient die experimentelle Neurotraumatologie als Grundlage und Ergänzung des Verständnisses von biomechanischen und pathophysiologischen Folgen dieses Krankheitsbildes. Die ersten größeren Studien wurden mit Primaten von Denny-Brown und Russel durchgeführt und im Jahre 1945 publiziert. Die Untersuchungen verglichen die Auswirkungen eines reproduzierbaren Einschlages sowohl auf den frei beweglichen als auch den befestigten Kopf von Affen. Es konnte gezeigt werden, dass der frei bewegliche Kopf, der einer Beschleunigung ausgesetzt war, einen stärkeren Schaden erlitt als der unbewegliche Kopf. Damit wurde die Bedeutung der Beschleunigung des Hirngewebes für die Entstehung des Hirnschadens nachgewiesen (Denny-Brown, 1945; Denny-Brown und Russel, 1945). Gurdijan und Mitarbeiter bestimmten in den 50er Jahren anhand eines den frei beweglichen Kopf eines Primaten treffenden Gewichtes den Schwellenwert der Traumastärke, bei denen ein komatöser Zustand, Kontusionen und Contrecoup-Kontusionen verursacht werden (Gurdjian et al., 1954). Ommaya und Mitarbeiter untersuchten in einem ähnlichen Modell erstmalig die Auswirkungen des Traumas auf den intrakraniellen Druck, andere systemisch-physiologische Parameter, den zerebralen Metabolismus, die histopathologischen Veränderungen und das neurologische Verhalten der traumatisierten Primaten (Ommaya et al., 1966). In der weiteren Entwicklung verließ man die Primatenforschung und es wurden vermehrt Nager als Versuchstiere eingesetzt. 1958 wurde von Klatzo das Modell der kortikalen Kältenekrose bei der Ratte vorgestellt, und 1965 beschrieb Lindgren erstmals das Fluid Percussion-Modell für das Kaninchen (Klatzo et al., 1958; Lindgren und Rinder, 1965). Diese Modelle trugen entscheidend zum Verständnis von Mediatoren des zerebralen Hirnschadens bei.

Bei der Testung von neuroprotektiven Substanzen im Rahmen des SHT ist die Vielschichtigkeit dieses Krankheitsbildes zu berücksichtigen. Wichtige Teilaspekte des SHT sind die fokale Kontusion, das Hirnödem, die intrakranielle Blutung, die Perfusionsstörung und der mechanische Nervenfaserschaden (diffuser Axonschaden). Bei Patienten liegen diese Teilaspekte kombiniert in jeweils unterschiedlicher Ausprägung vor. Die Teilaspekte sind therapeutisch unterschiedlich zugänglich und können tierexperimentell in verschiedenen Modellen imitiert werden. Dafür werden die Modelle der fokalen oder globalen Ischämie (Smith et al., 1984; Tamura et al., 1981) und die Modelle des subduralen oder intrazerebralen

Hämatoms (Bullock et al., 1984; Miller et al., 1990) in der Schädel-Hirn-Trauma-Forschung eingesetzt. In jüngster Zeit sind zwei weitere Trauma-Modelle entwickelt worden, die an Bedeutung gewonnen haben: das Weight Drop-Modell (Marmarou et al., 1994) und das Controlled Cortical Impact Injury-Modell (Dixon et al., 1991; Lighthall, 1988). Alle Modelle dienen der Erforschung von pathophysiologischen Mechanismen, die an der Entstehung des zerebralen Sekundärschadens beteiligt sind.

Die Anforderungen an ein tierexperimentelles Trauma-Modell sind abhängig von der bearbeiteten Fragestellung. Nach Bullock sind die wichtigsten Teilaspekte die fokale Kontusion, die traumatische Blutung, die Ischämie und der diffuse Axonschaden (Bullock, 1997). Das posttraumatische Hirnödem kann als weiterer Teilaspekt hinzugefügt werden. Zum Verständnis des SHT anhand tierexperimenteller Untersuchungen ist es wichtig, zum einen eine möglichst vollständige Nachahmung des komplexen Krankheitsbildes zu gewährleisten und zum anderen einzelne Teilaspekte getrennt voneinander zu untersuchen. Deshalb haben sich in den letzten Jahren verschiedene Trauma-Modelle parallel etabliert. Tierexperimentelle Trauma-Modelle sind jedoch häufig ein Kompromiss zwischen einer möglichst vollständigen Imitation des menschlichen Schädel-Hirn-Traumas und der Nachahmung eines beim SHT wichtigen Teilaspekts. Erst das Zusammenfügen verschiedener Ergebnisse mehrerer Modelle kann langfristig ein besseres Verständnis des Krankheitsbildes SHT ermöglichen.

Die am häufigsten verwendeten Modelle sind an Ratten durchgeführt worden. Im Folgenden werden die vier wichtigsten Modelle des Schädel-Hirn-Trauma noch einmal charakterisiert: 1. Modell der kortikalen Kälteläsion, 2. das sog. „Weight Drop“-Modell und 3. das „Fluid Percussion“-Modell und 4. das von uns verwendete „Controlled Cortical Impact“-Modell (Dixon et al., 1987; Dixon et al., 1991; Klatzo et al., 1958; Marmarou et al., 1994).

Die kortikale Kälteläsion wurde von Klatzo (Klatzo et al., 1958; Klatzo et al., 1967) eingeführt, und unter den hier beschriebenen ist es das älteste Modell einer experimentellen Hirnläsion. Es galt lange Zeit als ein einfaches, standardisiertes und relevantes SHT-Modell und wurde in vielen Aspekten untersucht (Eriskat et al., 1994; Schneider et al., 1994; Unterberg et al., 1994; von Berenberg et al., 1994). Hierbei wurde auf den freigelegten Kortex der Ratte ein Kältestempel mit definierter Temperatur, Größe und Zeit gesetzt. Es entsteht eine kortikale Kältenekrose, die von einer Grenzzone mit geschädigtem Endothel und damit

gestörter Blut-Hirn-Schranke umgeben ist. Dieses bewirkt die Entstehung eines vasogenen Hirnödems, welches aufgrund der erhöhten Permeabilität der Gefäße für Albumin und andere Plasmaproteine durch ein proteinreiches Exsudat charakterisiert ist. Die Durchführung dieser Methode ist einfach und es bewirkt einen hohen Grad an konsistenter Datenerhebung, jedoch ist aufgrund der fehlenden mechanischen Einwirkung eine eingeschränkte Übertragung auf das Schädel-Hirn-Trauma möglich.

Das Weight Drop-Modell wurde von Marmarou und Mitarbeitern entwickelt (Marmarou et al., 1994). Hierbei fällt ein definiertes Gewicht, geführt durch eine Plexiglasschiene, aus einer definierten Höhe mit Erdbeschleunigung auf den intakten Schädel. Der Schädel wird dabei durch eine 8 mm im Durchmesser große Stahlplatte bedeckt, die auf der Mittellinie zwischen Bregma und Lambda direkt am Knochen fixiert ist. Dadurch wird eine Schädelfraktur vermieden. Fallhöhe und Masse des Gewichtes sowie die Konsistenz und Elastizität eines Schaumstoffblocks, auf dem der Kopf des Tieres gelagert ist, bestimmen die Traumastärke. Das Trauma verursacht eine diffuse Schädigung des Hirngewebes mit leichten, petechialen Einblutungen im Hirnstamm, einer subarachnoidalen Blutung in den basalen Zisternen und intraventrikulären Einblutungen (Foda und Marmarou, 1994; Kita und Marmarou, 1994). Das Trauma bewirkt eine diffus ausgedehnte, neuronale, axonale und mikrovaskuläre Schädigung, wobei der diffuse Axonschaden im Vordergrund steht (Foda und Marmarou, 1994). Das Modell von Marmarou und Mitarbeitern stellt den Aspekt der diffusen Hirnschädigung in den Vordergrund.

Das Fluid Percussion-Modell wurde 1987 von Dixon und Mitarbeitern sowie von McIntosh und Mitarbeitern in Zusammenhang mit Ratten als Versuchstiere vorgestellt (Dixon et al., 1987; McIntosh et al., 1987). Es ist eine Modifikation des erstmals 1965 vorgestellten Trauma-Modells beim Kaninchen (Lindgren und Rinder, 1965). Die Funktion des Modells beruht auf einem Pendel, das mit einem definierten Gewicht, aus einer definierten Höhe auf das Ende eines mit Flüssigkeit gefüllten Zylinders schlägt. Dadurch entsteht ein Flüssigkeitsimpuls, der über ein erweitertes Bohrloch direkt auf die Kortexoberfläche übertragen wird. Dieser bewirkt einen kurzzeitigen, intrakraniellen Druckanstieg und eine Deformation des Hirngewebes. Die Stärke des Druckimpulses wird über eine im Zylinderinneren lokalisierte Drucksonde erfasst und in Atmosphären (atm) gemessen. Dadurch ist die Kontrolle der Traumastärke möglich, die durch Schlaghöhe und Gewicht des Pendels reguliert werden kann. Das Fluid Percussion-Modell nach Dixon, bei dem die

Applikation des Druckimpulses im Bereich der Mittellinie erfolgt, produziert ein diffuses Trauma des Hirngewebes. Eine fokale Kontusion wird nicht beobachtet. Vielmehr finden sich diffuse Nervenfaserschäden im Kortex, in den Basalganglien und im Hirnstamm. Intraparenchymatöse, petechiale Blutungen finden sich im Kortex, Marklager, Hippokampus, in den Basalganglien und im Hirnstamm. Subarachnoidales Blut wird vereinzelt im Bereich der Konvexität beobachtet, während eine Subduralblutung nicht nachweisbar ist. Nekrotische Veränderungen sind v.a. im Kortex lokalisiert (Dixon et al., 1987). Bei der seitlichen Applikation des Fluid Percussion Traumas, wie sie von McIntosh und Mitarbeitern (McIntosh et al., 1989) durchgeführt wird, sind die Merkmale einer Kontusion deutlicher zu beobachten. Hier ist der Anteil der intraparenchymatösen Blutung sowie des nekrotischen Zellunterganges auf den ipsilateralen Kortex konzentriert. Jedoch sind auch hier diffuse Läsionen der Basalganglien und des Hirnstamms beschrieben worden.

Das Controlled Cortical Impact (CCI) ist ein Modell der pneumatisch gesteuerten mechanischen Kontusion und ist zunächst als Modell des spinalen Traumas vorgestellt worden (Andersen, 1982; Kearney et al., 1988). Lighthall und Mitarbeiter beschrieben 1988 die modifizierte Version des traumatischen Hirnschadens beim Frettchen (Lighthall, 1988). Dixon und Mitarbeiter modifizierten das Modell für die Ratte, so wie es in den hier dargestellten Untersuchungen verwendet wurde (Dixon et al., 1991). Die Applikationsform durch den starren pneumatisch gesteuerten Schlagbolzen erlaubt eine exakte und zuverlässige Traumatisierung der Kortexoberfläche. Die messbaren Daten wie Geschwindigkeit, Deformationstiefe und Kontaktzeit des Schlagbolzens gewährleisten eine hinreichende Kontrolle über die Reproduzierbarkeit des Modells. Die kontrollierbare Variation der Parameter liefert die Möglichkeit einer weiten Spanne unterschiedlicher Traumastärken. Bei diesem Modell steht der Teilaspekt der Kontusion im Vordergrund. Damit assoziiert sind auch alle mit dem Trauma in Verbindung zu bringenden Blutungstypen. Bei hoher Traumastärke ist eine ausgeprägte subdurale Blutung zu beobachten. An der Kortexoberfläche befinden sich subarachnoidale Blutungen und im Kortex sowie im Marklager intraparenchymatöse Blutungen. Das Kontusionsareal ist histologisch anhand neuronaler Zellschädigungen und Zelluntergänge vom übrigen Gewebe gut abgrenzbar, so dass dessen Größenausdehnung gut durch morphometrische Methoden quantifiziert werden kann. Im Gegensatz zu den vergleichbaren Trauma-Modellen wird eine diffuse Hirnschädigung nicht verursacht. In einzelnen Fällen lässt sich bei höherer Traumastärke in der kontralateralen Hemisphäre eine Contrecoup-Läsion nachweisen, der jedoch eine deutlich geringere

Ausdehnung besitzt als die Kontusion. Es werden vereinzelt neuronale Schädigungen im Hippokampus beobachtet, die nach zwei Wochen in den CA1 und CA3 Regionen zunehmen. Diese Regionen gelten als besonders vulnerabel gegenüber einer zerebralen Minderperfusion (Colcios et al., 1996; Goodman et al., 1994). Ein axonaler Schaden ist nur in direkt perikontusionellen Arealen zu beobachten. Diese sind in der kontralateralen Hemisphäre und dem Hirnstamm nicht zu sehen. In der Beurteilung des posttraumatischen Ödems lässt sich ein signifikanter Anstieg des Wassergehalts sowie der posttraumatischen hemisphären Schwellung nachweisen. Ein Blut-Hirn-Schrankenschaden und damit der Anteil des vasogenen Hirnödems konnte durch Extravasation von Evans Blue gezeigt werden. Der posttraumatische zerebrale Blutfluss ist innerhalb der Kontusion im Vergleich zum gesunden Gewebe signifikant reduziert (Cherian et al., 1994; Forbes et al., 1997).

1.3. Posttraumatisches Hirnödem

Die Definition des Hirnödems nach Pappius ist die Erhöhung des Hirngewebewassergehalts, die zur Erhöhung des Hirngewebevolumens führt (Pappius, 1974). Entsprechend der Monroe-Kellie-Doktrin (Kellie, 1824; Monroe, 1783) führt die Expansion einer der vier intrakraniellen Kompartimente (Intrazellulärraum, extrazellulärer Gewebeanteil, Blut- und Liquorvolumen) zunächst zu einer kompensatorischen Verdrängung der anderen Kompartimente. Nach Erreichen der Kompensationsgrenze ist ein intrakranieller Druckanstieg die konsequente Folge. Beim Hirnödem entsteht dementsprechend die intrakranielle Volumenzunahme aus der Zunahme des Wassergehalts des Intra- und Extrazellulärraums.

Die Einteilung des Hirnödems erfolgte durch den Neuropathologen Igor Klatzo (Klatzo et al., 1958; Klatzo, 1967). Er unterscheidet zwischen dem so genannten „vasogenen“ und dem „zytotoxischen“ Hirnödem. Beim vasogenen Hirnödem kommt es bei gestörter Integrität der Passagebarriere zwischen Intravasalraum und Hirngewebe, der so genannten „Blut-Hirn-Schranke“, zum Übertritt von freiem Wasser und Plasmaproteinen in das Hirngewebe. Dadurch kommt es zur Erhöhung des extrazellulären Wassergehalts im Gewebe. Beim zytotoxischen Hirnödem ist der Wassergehalt vornehmlich im Intrazellulärraum erhöht. Dies ist unter anderem bedingt durch einen direkten Schaden der Zellmembran sowie durch eine gestörte Regulation des Ionenaustausches zwischen Intra- und Extrazellulärraum.

1.3.1. Vasogenes Hirnödem

Das vasogene Hirnödem ist eine häufige Komplikation bei einem zerebrovaskulärem Insult, Trauma, bei Tumoren und inflammatorischen Prozessen. Voraussetzung des vasogenen

Hirnödems ist die gestörte Blut-Hirn-Schranke (BHS). Elektronenmikroskopische Untersuchungen beschreiben die Anatomie der Blut-Hirn-Schranke als ein durch so genannte „tight junctions“ (Membranverschmelzungen im Interzellulärspalt) eng verbundenes, von einer Basalmembran bedecktes und von Astrozytenfortsätzen umlagertes Endothel. Dieses Endothel besitzt keine transendothelialen Kanäle und keine pinozytische Aktivität (Reese und Karnovsky, 1967). Die BHS stellt eine Passagebarriere zwischen Intravasalraum und Hirngewebe dar. Die Menge der passierenden Substanzen hängt unter physiologischen Bedingungen von der bedingt variablen Permeabilität der BHS und der Kapillaroberfläche ab. Des Weiteren wird die Schrankenpassage von Molekülgröße, Lipidlöslichkeit, Konzentration und Zeit, in der eine Substanz im Plasma enthalten ist, beeinflusst (Bradbury, 1979; Betz et al., 1986).

Für das vasogene Hirnödem werden verschiedene Mediatorsysteme verantwortlich gemacht. Die Arachidonsäure wird z.B. als Mediator des vasogenen Hirnödems angesehen. Sie bewirkt eine unspezifische Öffnung der Blut-Hirn-Schranke für nieder- und hochmolekulare Plasmaproteine (Unterberg et al., 1984). Nach Trauma konnten signifikant erhöhte Arachidonsäure-Konzentrationen in der Ödemflüssigkeit nachgewiesen werden. (Staub et al., 1994). Die Entstehung von freien Radikalen wurde ebenfalls als Ursache des vasogenen Hirnödems diskutiert. Hierfür wird die Oxidation von ungesättigten Fettsäuren des vaskulären Endothels als Ursache angenommen (Hall und Braugher, 1991; Kontos und Povlishock, 1986). Es wurde gezeigt, dass die zunehmende Permeabilität der BHS nach experimenteller kortikaler Kontusion mit einem Anstieg von Hydroxidradikalen verbunden ist (Smith et al., 1994). Des Weiteren wurde das Kallikrein-Kinin-System mit seinem aktiven Polypeptid Bradykinin als Mediator des vasogenen Hirnödems verantwortlich gemacht. Bradykinin löst bei direkter extravaskulärer Applikation eine BHS-Störung und eine Ödementstehung aus. Darüber hinaus wird die Bedeutung von biogenen Aminen wie Serotonin und Histamin für die Entstehung des vasogenen Hirnödems diskutiert (Wahl et al., 1988).

1.3.2. Zytotoxisches Hirnödem

Klatzo definierte das zytotoxische Hirnödem als Schwellung des Intrazellulärraums mit gleichzeitiger Abnahme des extrazellulären Volumens bei intakter endothelialer Zellstruktur der Blut-Hirn-Schranke (Klatzo, 1967). Der Ursprung des Begriffs „zytotoxisch“ ist darauf zurückzuführen, dass Klatzo erstmals den Zustand der intrazellulär lokalisierten Wassereinlagerung mittels einer toxischen Substanz (Triethyl-Zinn) auslösen konnte. Charakteristisch ist die Volumenzunahme im Intrazellulärraum. Der Zustand des daher auch

zellulär bezeichneten Ödems wird nach zerebraler Ischämie, Hypoxie oder Trauma beobachtet. Die Zellschwellung wird als akute Reaktion auf ein pathologisches Ereignis verstanden, welches in den ersten drei Stunden bis zu drei Tagen nach Trauma gesehen wurde (Bullock et al., 1991). Primär handelt es sich dabei um eine physiologische Antwort auf die entsprechende Noxe und wird erst bei Dekompensation endogener Schutzmechanismen zellschädigend (Kempski und Volk, 1994). An der Entstehung des zytotoxischen Ödems sind neben Neuronen vor allem auch die Astrozyten entscheidend beteiligt (Bullock et al., 1991; Kimelberg und Ransom, 1986). Die Astrozyten erscheinen morphologisch in der akuten Phase nach Trauma als vergrößerte und als zytoplasmatisch blasse Zellen mit verminderter Dichte.

Für die Entstehung des zellulären Ödems werden drei Mechanismen verantwortlich gemacht (Baethmann et al., 1988): 1. Erhöhte Permeabilität der Zellmembran für Natrium mit konsekutivem Na^+ -Einstrom; 2. Dysfunktion der ATP-abhängigen Natrium/Kalium-Pumpe; 3. Aufhebung des Membranpotentials gefolgt von einem Funktionsverlust der aktiven Ionen-Pumpen.

Es wird vermutet, dass Natrium aufgrund seiner osmotischen Wirkung bei der Entstehung des zellulären Ödems eine zentrale Rolle spielt. Vereinfacht kann die Ödementstehung mit einem gestörten Gleichgewicht der intra-/extrazellulären Natrium-Konzentration charakterisiert werden. Unter physiologischen Bedingungen wird ein Einstrom von Na^+ -Ionen durch den nach extrazellulär verlaufenden Transport energieabhängiger Pumpen (z.B. Na^+/K^+ -Pumpe) ausgeglichen. Diese erhalten das Membran-Potential und vermeiden die intrazelluläre Anhäufung von osmotisch aktiven Substanzen, welche einen sekundären Einstrom von Wassermolekülen zur Folge hätten. Unter pathologischen Bedingungen ist die Permeabilität der Zellmembran gegenüber Na^+ -Ionen unkontrolliert. Das hat einen Na^+ -Einstrom zur Folge. Das Energiedefizit, welches häufig bei Ischämie oder Trauma durch mangelnde Gewebepfusion entsteht, verhindert den Einsatz energieabhängiger Pumpen. Dadurch bleibt die intrazelluläre Na^+ -Ionen-Konzentration erhöht und verursacht durch den erhöhten intrazellulären osmotischen Druck den Einstrom von Wassermolekülen und damit die Zellschwellung (Baethmann und Kempski, 1997).

Für die erhöhte Na^+ -Permeabilität werden verschiedene Mechanismen verantwortlich gemacht. Zunächst ist die posttraumatische Freisetzung von exzitatorischen Aminosäuren wie Glutamat und Aspartat von besonderer Bedeutung (Baethmann et al., 1989; Choi, 1992; Kempski et al., 1988; Kimelberg, 1995; Schneider et al., 1992). Die posttraumatisch erhöhte Konzentration von Glutamat im Extrazellulärraum (Palmer et al., 1993; Stover et al., 1999)

verursacht durch die Kopplung an den Glutamatrezeptor eine Öffnung von Na^+ -Kanälen mit konsekutivem Na^+ -Einstrom. Zusätzlich trägt die posttraumatische beobachtete Abnahme von Glutamat-Transportern zu einem Überangebot von extrazellulärem Glutamat bei (van Landeghem, 2001). Daher müssen die Astrozyten ihre Clearance-Rolle gegenüber extrazellulär überschüssigen Aminosäuren vermehrt wahrnehmen. Der aktive Transport von einem Glutamat-Molekül ist dabei mit dem Einstrom von 2-3 Na^+ -Ionen verbunden, wodurch ebenfalls die intrazelluläre Na^+ -Konzentration und damit dessen osmotische Wirksamkeit gegenüber extrazellulärem Wasser erhöht wird. Neben Natrium wird auch der Einstrom von Wasserstoff, Kalzium- und Chlorid-Ionen bewirkt, welches die intrazelluläre Ödementstehung noch verstärkt (Amara und Fontana, 2002).

1.3.3. Osmotisches Hirnödem

Die Entstehung eines osmotischen Hirnödems ist von der Dynamik der Entstehung osmotische Ungleichgewichte abhängig. Im Rahmen des Syndroms der inadäquaten Sekretion des antidiuretischen Hormons (SIADH) kommt es im Rahmen einer ausgeprägten Serum-Hypoosmolarität zu einem Gradienten, der ein Hirnödem zur Folge hat. Andererseits kann es auch bei einer Gewebe-Hyperosmolarität, wie es bei Hirngewebesbeschädigungen mit Reperfusion zu beobachten ist, zu einem vermehrten Wassereinstrom in das Gewebe kommen. Eine solche Hyperosmolarität konnte bei SHT-Patienten anhand von Gewebeproben aus dem inneren von Hirnkontusionen nachgewiesen werden (Katayama und Kawamata, 2003).

1.3.4. Spezifische Aspekte des posttraumatischen Hirnödems

Durch die Magnetresonanz-Tomographie (MRT) hat sich eine neue Methode zur longitudinalen Untersuchung des posttraumatischen Hirnödems ergeben. Mit der sog. „diffusionsgewichteten MRT“ (DWI) kann der Anteil des zytotoxischen Hirnödems untersucht werden. Hierfür wird die molekulare Bewegung von Wasser gemessen und in Form des sog. „apparent diffusion coefficient“ (ADC) quantifiziert. Der ADC gibt die Bewegungsfreiheit von Wassermolekülen in den gemessenen Arealen an. Ein niedriger ADC deutet dabei auf die intrazelluläre Lokalisation von Wassermolekülen und damit auf das zytotoxische Hirnödem hin. Demgegenüber entspricht ein hoher ADC-Wert extrazellulären Wasseranteilen mit hoher Bewegungsfreiheit, also einem extrazellulären Hirnödem mit vasogenem oder osmotischem Ursprung. Diese Methode wurde anhand der Klatzo-Modelle der Kälteläsion (vasogenen Hirnödem) und der Triethyl-Zinn Toxizität (zytotoxisches

Hirnödem) geprüft. Hierbei konnte die gute Korrelation der beiden Hirnödemtypen mit den ADC-Werten nachgewiesen werden (Ebisu et al., 1993). Beim posttraumatischen Schaden nach Controlled Cortical Impact Injury konnte mittels der DWI im zentralen Bereich der Kontusion ein erniedrigter ADC gemessen und damit die Existenz eines zytotoxischen Ödems beschreiben werden (Stroop et al., 1998). Anhand des „Weight drop“ Modells wurde die zeitliche Dynamik des ADC beschrieben. Hier kommt es nur in der frühen Phase zu einem vorübergehenden Anstieg des ADC als Ausdruck extrazellulärer Wasseransammlung. Im weiteren Verlauf bleibt der ADC bis nach 7 Tagen gering. Man muss davon ausgehen, dass sich die Bedeutung des extrazellulären Ödems ausschließlich in der Frühphase zeigt und sich zugunsten einer Dominanz des intrazellulären Ödems in der Spätphase verschiebt (Barzo et al., 1997; Marmarou et al., 2003). Auch die klinischen Daten unterstützen die höhere Bedeutung eines zellulären Ödems nach Schädel-Hirn-Trauma. MRT Untersuchungen in den ersten 24 Stunden nach Trauma konnten keine Existenz einer Blut-Hirn-Schranken Störung nachweisen. In Kontusionen zeigte sich ein erhöhter ADC ausschließlich im Zentrum der Läsion, also im Bereich der Nekrose. In den perifokalen Regionen war der ADC erniedrigt (Kawamata et al., 2000; Maeda et al., 2003). Interessanterweise zeigen sich in diesen perifokalen Arealen Werte des zerebralen Blutflusses deutlich oberhalb des ischämischen Schwellwertes (Marmarou et al., 2003). Obwohl keine endgültigen Schlussfolgerungen aufgrund dieser Daten möglich sind, ergibt sich doch ein klarer Hinweis darauf, dass das zelluläre Hirnödem nach Trauma von signifikanter Bedeutung ist (Unterberg et al., 2004).

In diesem Zusammenhang bleibt die Bedeutung einer sekundären Ischämie bei Patienten mit SHT kontrovers. Autopsien zeigten in vielen Fällen ischämische Areale im traumatisierten Hirngewebe (Graham et al. 1989). Untersuchungen des zerebralen Blutflusses (CBF) konnten in der sehr frühen Phase nach Trauma vermehrt Ischämien nachweisen (Bouma et al., 1992), während jedoch neuere Untersuchungen anhand der Positronenemissionstomographie keine kritisch reduzierten CBF-Werte zeigen konnte (Diringer et al., 2000; Diringer et al., 2002). Anstelle, dass ein posttraumatisches Hirnödem als zelluläres Ödem im Rahmen einer Ischämie entsteht, werden aktuell andere Mechanismen diskutiert. Ein Mechanismus ist die mechanische Beeinträchtigung der mitochondrialen Funktion unabhängig von der zerebralen Perfusion. N-Acethylaspartat, eine spezifischer Metabolit, der mitochondrial synthetisiert wird, sowie ATP sind signifikant reduziert nach fokaler Kontusion (Signoretti et al., 2001). Dieses ATP Defizit führt mit dem Ausfall von energieabhängigen Ionen-Pumpen zu einem Verlust des Elektrolyt-Gradienten und zu einer unkontrollierten Öffnung der mitochondrialen

Membranen. Das hat wiederum die unkontrollierte Schwellung von Neuronen und Astrozyten zur Folge.

Darüber hinaus werden jüngst vermehrt die bidirektionalen, transmembranösen Wasserkanäle, auch Aquaporine genannt, diskutiert. Aquaporin 4 (AQP4) ist in Astrozyten lokalisiert und bewirkt unter physiologischen Bedingungen die Entfernung von Wasser zusammen mit Kalium-Ionen in das Synzium (Nagelhus et al., 1999). Hierbei ist es auch möglich Wassermoleküle unabhängig von Kalium entsprechend des osmotischen Gradienten bidirektional zu bewegen. AQP4 scheint bei der Ödementstehung eine Rolle zu spielen, da sich bei AQP4-knock-out Mäusen eine geringere Ödemintensität nach zerebraler Ischämie zeigte (Manley et al., 2000). Nach traumatischer Hirnschädigung führte die Inaktivierung von AQP4 durch Proteinkinase C zu einer Verringerung von radioaktiv markiertem Na^+ (Na^{22}) und dem posttraumatischen Wassergehalt des Hirngewebes (Amorini et al., 2003). Da Na^{22} nach Trauma ohne therapeutische Beeinflussung im Hirngewebe mit erhöhter Konzentration nachgewiesen werden konnten, gleichzeitig aber nicht im Mikrodialysat, also im Extrazellulärraum, auftauchte, ist von einer rein intrazellulären Lokalisation auszugehen. (Marmarou et al., 2003). Schlussfolgernd ist AQP4 für beide, Wasser und Natrium, ein abhängiger Transportweg in Astrozyten und trägt zur Ausbildung des Ödems bei. Im zeitlichen Verlauf zeigt sich nach zerebraler Ischämie eine reduzierte mRNA Expression von AQP4 innerhalb von 48 Stunden nach Insult (Sato et al., 2000) während es zu späteren Zeitpunkten zu einer Hochregulation kommt (Taniguchi et al., 2000). Nach Controlled Cortical Impact zeigte sich eine ähnliche, stufenweise Reduktion bis 48 Stunden nach Trauma von AQP4 in der Immunhistologie (Kiening et al., 2002). Die genaue Bedeutung von Aquaporinen bezüglich eines therapeutischen Ansatzes zur Reduktion des Hirnödems ist noch nicht eindeutig geklärt und bedarf weiterer Untersuchungen.

1.4. posttraumatischer Zelltod

Am posttraumatischen Zelluntergang sind primäre und sekundäre Mechanismen beteiligt. Man unterscheidet verschiedene Formen des sekundären, neuronalen Zelltodes: die Nekrose und die Apoptose. Beide sind nach traumatischer Hirnschädigung nachgewiesen worden (Clark et al., 2000; Conti et al., 1998; Eldadah und Faden, 2000).

Die *Nekrose* ist ein durch äußere Stimuli hervorgerufener primärer oder sekundärer Zellschaden, der zum Zelluntergang führt. Als primäre Ursache nach zerebralem Trauma ist die mechanische Einwirkung auf das Hirngewebe zu verstehen, die zu einem direkten Untergang von Neuronen führt. Diesen Untergang bezeichnet man als sog.

„Mechanoporation“ (Graham und Gennarelli, 1997). Über die Größe dieses Anteils am gesamten traumatischen Gewebsschaden besteht Uneinigkeit. Maxwell und Povlishock postulierten, dass der unmittelbare, primäre Untergang von Neuronen und der Schaden an Axonen eher ungewöhnlich sind (Maxwell et al., 1991; Maxwell et al., 1993; Povlishock, 1992). Stärkere Bedeutung soll demnach der sekundäre Zellschaden haben. Er entwickelt sich in Minuten, Stunden bis Tagen nach dem Traumaereignis. Die Ursachen für den progressiven Zelluntergang sind mechanischer, hämodynamischer, respiratorischer und metabolischer Art. Sutton und Mitarbeiter haben eine Progression nach Controlled Cortical Impact Injury nachweisen können (Sutton et al., 1993). Im Verlauf von 30 Tagen ist ein kontinuierlicher Zuwachs des Kontusionsvolumens von ca. 15 mm³ (6 Std.) auf 50 mm³ (30 Tage nach Trauma) gezeigt worden. Es ist jedoch nicht bekannt, wie groß der Anteil des sekundären Zellschadens ist, der reversibel ist und damit therapeutisch zugänglich bleibt.

Die Nekrose ist morphologisch gekennzeichnet durch Veränderungen der Kernstruktur und des Zytoplasmas. Die morphologischen Kernveränderungen werden als Karyolyse, Pyknose und Karyorrhesis bezeichnet. Veränderungen des Zytoplasmas beinhalten Eosinophilie (Azidophilie), Strukturverlust und Fragmentation. Die Zelle erscheint in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung zunächst leicht geschrumpft. Das Zytoplasma ist eosinophil und der Zellkern dunkel und oft dreieckig geformt. Das Zytoplasma wird im Verlauf strukturlos und verliert an Volumen. Der Kern schrumpft weiter, so dass zuletzt nur noch eine zerklümmte Kernstruktur ohne Zytoplasma erkennbar ist (Kreutzberg et al., 1997). Diese Merkmale weisen eher auf einen irreversiblen Untergang von Neuronen hin und sind stets mit einem Abbau aus dem Zellverband mit Hilfe von Makrophagen verbunden (Auer et al., 1985a; Auer et al., 1985b). Spezifisch für die Nekrose ist, dass es sich um Verbände betroffener Zellen handelt und nicht, wie bei der Apoptose, um einzelne Zelluntergänge.

Die Ursachen der Nekrose sind bis heute nicht vollends geklärt. Verschiedene Mechanismen werden als Auslöser für den irreversiblen Untergang von Zellen verantwortlich gemacht. Als eine mechanische Ursache wird die bereits erwähnte „Mechanoporation“ diskutiert. Das mechanische Trauma verursacht dabei einen Defekt der zweischichtigen Phospholipidstruktur in der zellulären Membran. Die dabei entstehende Lösung der Membranstruktur von den stabileren Proteinstrukturen, wie z.B. der Elektronenkanäle, verursacht einen unkontrollierten Austausch zwischen Extra- und Intrazellulärraum, v.a. von Elektrolyten, was den Zusammenbruch des Membranpotentials verursacht und schließlich den Zelltod zur Folge hat (Graham und Gennarelli, 1997).

Im Rahmen der sekundären Zellschädigung wird eine Reihe von Mediatorsubstanzen für die Entstehung des Zelluntergangs mitverantwortlich gemacht. Bei den Vorgängen, die den Zelluntergang verursachen, handelt es sich nicht um getrennt ablaufende Kaskaden einzelner Mediatorsysteme, vielmehr sind es komplexe, sich gegenseitig beeinflussende Prozesse, die den progressiven Untergang des Hirngewebes bewirken (Hall, 1997). Kalzium-Ionen besitzen eine zentrale Rolle bei der intrazellulär ablaufenden, sekundären Schädigung von Neuronen nach Trauma oder Ischämie. Die Freisetzung von intrazellulärem Kalzium wird häufig auch als der letzte Schritt für den einsetzenden Zelltod bezeichnet. Kalzium gilt als vielfältiger Mediator verschiedener Prozesse, die die Autodigestion der Zelle einleiten bzw. bewirken. So aktivieren Ca^{2+} -Ionen intrazelluläre Enzyme, die Proteine, Lipide und Nukleinsäuren auflösen. Aktivierte Proteasen führen zur Zerstörung von funktionellen (ATPase, Superoxiddismutase) und strukturellen Proteinen wie Neurofilament oder Myelin (Banik et al., 1985; Faden et al., 1987; Pant und Gainer, 1980; Seddick und Habib, 1991). Aktivierte Phospholipasen spalten Membran-Phospholipide, wobei Arachidonsäure freigesetzt wird, aus denen sich wiederum vasoaktive und inflammatorische Prostaglandine und Leukotriene bilden (D'Avella et al., 1990; Young, 1992). Aktivierte Nukleasen führen zur direkten Schädigung zellulärer DNA (Joseph et al., 1993; Pittman et al., 1993).

Die Bedeutung der exzitatorischen Neurotransmitter als Mediatoren des sekundären Zellschadens ist dabei häufig diskutiert worden. Die posttraumatische Freisetzung von Glutamat ist nach experimentellem Trauma in erhöhter Konzentration im Gewebe und im Liquor nachgewiesen worden (Palmer et al., 1993; Globus et al., 1995). Es scheint gesichert, dass es nach Glutamat-Freisetzung zu einer unkontrollierten Aktivierung von verschiedenen Rezeptoren kommt. Als Glutamat-Rezeptoren sind der NMDA- (N-Methyl-D-Aspartat), der AMPA- (α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propionat) und der Quisqualat-Rezeptor identifiziert worden. Durch deren Aktivierung werden vermutlich intrazelluläre Mechanismen ausgelöst, die zum Zelltod führen. Die Blockierung dieser Rezeptoren bewirkt unter experimentellen Bedingungen die Reduktion des posttraumatischen Hirnschadens (Kroppenstedt et al., 1998; Shapira et al., 1990; Shohami et al., 1993). Bei Patienten mit schwerem SHT sind erhöhte Glutamat Werte über einen längeren Verlauf nachgewiesen worden (Bullock et al., 1995; Vespa et al., 1998) und sie korrelieren mit dem Auftreten sekundärer Ischämien, fokaler Kontusionen und epileptischer Aktivität (Bullock et al., 1998).

Als weiterer Faktor des sekundären Hirnschadens nach Trauma wird der sog. „oxidative Stress“ diskutiert, bei der es zur Freisetzung freier Radikale im Gewebe kommt (Globus et al.,

1995; Lewen et al., 2001; Mikawa et al., 1996). Eine große Bedeutung hat hierbei vermutlich das Radikal Superoxid ($O_2^{\bullet-}$). Man geht davon aus, dass sich an dessen Entstehung eine Reihe von weiteren Mechanismen anschließt, die eine Lipidperoxidation bewirken und aufrechterhalten. Für die Entstehung der freien Radikale nach SHT werden verschiedene Ursachen diskutiert. Dazu gehören die Arachidonsäure-Kaskade (Prostaglandin-Synthetase, 5-Lipoxygenase-Aktivität), die enzymatische Autooxidation von biogenen Aminen (Dopamin, Noradrenalin, Serotonin), die Xanthin-Oxidase-Aktivität und die Oxidation des nach extravasal übergetretenen Hämoglobins. Inflammatorische Reaktionen im Rahmen von einer aktivierten Mikroglia, infiltrierenden neutrophilen Granulozyten und Makrophagen können ebenfalls an der Entstehung von freien Radikalen beteiligt sein (Hall, 1997; Leker und Shohami, 2002). Neben Superoxid ist auch auf die Bedeutung von Stickoxyl Radikalen (NO^{\bullet}) hingewiesen worden (Radi et al., 1991; Wada et al., 1998). Beide sind an der Entstehung des reaktionsfreudigeren Hydroxyl-Radikals (OH^{\bullet}) beteiligt, das als direkter Initiator der Lipidperoxidation gilt. Die posttraumatische Entstehung von Hydroxylradikalen konnte nach Controlled Cortical Impact Injury in Form eines vorübergehenden Anstiegs nachgewiesen werden. Dabei wurde der Höchstwert 5-15 Minuten nach Trauma erreicht, während ein kontinuierlicher Anstieg der Lipidperoxidation innerhalb der ersten Stunde nach Trauma gemessen wurde (Smith et al., 1994). In experimentellen Studien können Antioxidantien und Radikalfänger, wie z.B. Melatonin und Tirilazad, das Kontusionsvolumen verringern und das neurologische Outcome der Versuchstiere verbessern (Kawamata et al., 2002; Sarrafzadeh et al., 1997; Smith et al., 1994).

Die inflammatorische Reaktion nach Trauma ist äußerst komplex und bis heute besteht in Bezug auf deren Beteiligung an der Neurotoxizität keine Einigkeit. Prinzipiell wird postuliert, dass die Immunreaktion in der Frühphase an der Entstehung des Sekundärschadens beteiligt ist und die spät einsetzenden Mechanismen reparative Bedeutung haben (Bethea und Dietrich, 2002; Kersteiner et al., 1999). Dies wird dadurch unterstützt, dass eine Reduktion der akuten Immunreaktion durch Antikörper Behandlung und Hypothermie eine neuroprotektive Wirkung zeigte (Carlos et al., 1997; Chazipanteli et al., 2000). Jedoch ist ein klarer Zusammenhang zwischen Immuzellinvasion bzw. -aktivierung und sekundärer Zellschädigung nie hergestellt worden (Emerich et al., 2002). Demnach sind weitere Untersuchungen notwendig sind, um zu klären, inwiefern die Beeinflussung der neuroinflammatorischen Reaktion nach Trauma einen gangbaren therapeutischen Weg aufzeigen kann (Leker und Shohami, 2002).

Die *Apoptose* ist eine Form des Zelluntergangs, die durch intrazelluläre Mechanismen gesteuert wird. Sie kann spontan oder durch eine exogene Ursache ausgelöst werden. Nach Schädel-Hirn-Trauma ist die Apoptose vermehrt beschrieben worden (Eldadah und Faden, 2000; Kaya et al., 1999; Keane et al., 2001; Raghupathi et al., 2000). Die Bezeichnung Apoptose leitet sich aus dem Griechischen ab (apo - "von", ptosis - "der Fall") und verwendet das Bild eines vom Baum fallenden Blattes als determinierter Vorgang des Absterbens. Man spricht auch von dem programmierten Zelltod. Die Apoptose ist durch eine Veränderung in der Morphologie der Kernstruktur gekennzeichnet (Kerr et al., 1972). Diese läuft in verschiedenen Stadien ab, welche zunächst durch die Entwicklung von Pseudopodien der Kernmembran gekennzeichnet ist (Zeiosis). Daraufhin entsteht eine Fragmentation der DNA, die durch Kondensation des Kern-Chromatins entsteht und die die für die Apoptose typischen sog. „apoptotic bodies“ bildet. Im Unterschied zur Nekrose erkennt man im Zytoplasma eine Schwellung der Mitochondrien. Es ist für die Apoptose typisch, dass sie nicht in Zellverbänden abläuft, sondern nur einzelne Zellen betrifft (Kreutzberg et al., 1997). Die Apoptose läuft unter genetischer Kontrolle ab und ist deshalb mit einer nachweisbaren de-novo-Expression von Regulationsproteinen wie z.B. bcl-2 und bax verbunden. Anhand der sog. TUNEL Technik, die das morphologische Korrelat der Apoptose in Form der Fragmentation von DNA nachweist, konnte die Existenz apoptotisch untergehender Zellen nach experimentellem Trauma in Zusammenhang mit Caspase-3 Aktivität bestätigt werden (Clark et al., 2000; Keane et al., 2001). Genauso wurde der Nachweis apoptotischer Neurone in Hirnbiopsien von Patienten mit SHT möglich (Clark et al., 1999). Zusätzlich ist eine altersabhängige Bedeutung der Apoptose nachgewiesen worden, wobei sich mit höherem Alter der Anteil apoptotischer Zellen nach zerebraler Ischämie verringert (Hu et al., 2000). Verschiedene Proteine sind identifiziert worden, die einer Apoptose nach Trauma entgegenwirken, so genannte „inhibitors of apoptosis“ (IAP). Diese könnten eine Rolle für therapeutische Ansätze spielen (Keane et al., 2001; Lotocki und Keane, 2002). Neben der Caspase-Aktivität wird auch die Bedeutung von Calpain für die Apoptose diskutiert (Buki et al., 1999; Wang, 2000). Hierbei kommt es zu einer Calcium-induzierten, Calpain-vermittelten Proteolyse. Letztendlich ist jedoch nach wie vor ungeklärt, wie groß der tatsächliche apoptotische Anteil des sekundären Zelluntergangs nach traumatischer Hirnschädigung ist und welche Bedeutung therapeutische Interventionsmöglichkeiten haben.

1.5. Bedeutung von Therapiestudien des Schädel-Hirn-Traumas

Die Erweiterung der Therapie des SHT zur gezielten Behandlung spezifischer Mechanismen des sekundären Hirnschadens ist nach wie vor eine Herausforderung. Die heute in der klinischen Routine angewendeten Therapie-Strategien richten sich nach den Guidelines der „American Association of Neurological Surgeons“ (AANS) und des „European Brain Injury Consortiums“ (EBIC) (Brain Trauma Foundation, 2000; Bullock et al., 1995; Maas et al., 1997). Demnach beschränkt sich nach aktueller Datenlage die Intensivtherapie des SHT auf die klinische Stabilisierung des Patienten, die Senkung des intrakraniellen Druckes, die Aufrechterhaltung der zerebralen Perfusion sowie die Vermeidung und Therapie eventueller Komplikationen, wie der arteriellen Hypotension, der Hypoxie oder von Infektionen etc.. Der Routine-Einsatz von neuroprotektiven Substanzen, die die pathophysiologischen Mechanismen von Mediatorsystemen des sekundären Hirnschadens hemmen, ist bis heute nicht möglich. Es sind in den letzten Jahren zwar deutliche Fortschritte gemacht worden, die pathophysiologischen Vorgänge des sekundären Hirnschadens nach SHT besser zu verstehen. In diesem Zusammenhang konnten unter experimentellen Bedingungen in der jüngeren Vergangenheit eine Reihe von Substanzen identifiziert werden, die in der Lage sind die Entstehung des posttraumatischen Schadens nach kortikaler Kontusion zu reduzieren. Dabei wurden verschiedener Mediatorsysteme wie die Glutamat- sowie Caspase-Freisetzung oder die Entstehung des oxidativen Stresses gehemmt, welches eine neuroprotektive Wirkung zur Folge hatte (Movsesyan und Faden, 2006; Abrahamson et al., 2006; Stover et al., 2003; Dempsey und Raghavendra, 2003; Aoyama et al., 2002; Kroppenstedt et al., 1998; Sarrafzadeh et al., 1997). Genauso sind eine Reihe von Substanzen entwickelt worden, die sich aufgrund viel versprechender Ergebnisse im Rahmen von experimentellen Studien den Weg bis zur klinischen Testung gebahnt haben. Die daraufhin doppel-blind durchgeführten, prospektiven, randomisierten Multicenter Studien haben jedoch für keine Substanz eine Rechtfertigung für den Einsatz in der klinischen Routine finden können (Maas et al., 2006; Marmarou et al., 2005; Yurkewicz et al., 2005; Bullock et al., 1995; Marshall et al., 1995).

Diese Tatsache hat nach Bullock und Faden folgende Gründe: Ein zu allgemein gehaltenes Studiendesign schließt häufig jedes schwere SHT ohne Berücksichtigung der einzelnen vorliegenden pathologischen Teilaspekte ein. Das Studienziel wird häufig auf die allgemeine Verbesserung des klinischen Outcomes der Patienten ausgerichtet. Dieses ungezielte Vorgehen ist äußerst teuer, benötigt einen enormen Zeitaufwand und eine sehr hohe Anzahl von Patienten. Es besteht die Gefahr, dass solche Studien fälschlicherweise einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen verpassen, nur weil die Anzahl der Patienten zu klein war (Bullock, 1997; Faden, 1997; Doppenberg et al., 2004). Ein weiteres

Problem ist, dass die Auswahl einer Substanz für die klinische Testung mit nur unzureichenden experimentellen Daten gerechtfertigt wurde (Bullock, 1997).

Mit dem Ziel, einerseits eine sinnvolle experimentelle Basis für geplante klinische Studien zu liefern und andererseits die Vereinfachung der Studien zu erreichen beschreibt Bullock vier wesentliche Punkte zur Verbesserung der klinischen Erprobung neuroprotektiver Substanzen (Bullock, 1997; Doppenberg et al., 2004):

Erstens: Definition eines Studienziels, bei dem der Einfluss einer Substanz auf einen der Teilaspekte des SHT als Studienendpunkt festgelegt wird. Dieser Studienendpunkt sollte nachweislich ein Prediktor des klinischen Outcomes für das SHT sein.

Zweitens wird die Patientenselektion anhand der von Bullock definierten Teilaspekte des Hirngewebeschadens nach SHT genannt. Es beinhaltet die Punkte Hämatom, Kontusion, diffuser Axonschaden, Ischämie und wäre noch um den Punkt Hirnödem zu erweitern. Diese Teilaspekte treten im Rahmen eines SHT nie isoliert auf. Im Einzelfall nehmen jedoch einzelne Teilaspekte eine führende Rolle in dem Krankheitsverlauf ein.

Drittens: Die suffiziente tierexperimentelle Testung potentiell neuroprotektiver Substanzen zur Differenzierung der optimalen Wirkung auf eines der Teilaspektes nach SHT entsprechend unterschiedlicher Tiermodelle. Grundlage hierfür ist eine der oben erwähnten Kritikpunkte, die den zu schnellen Einstieg in die klinische Studie betrifft, ohne eine ausreichende tierexperimentelle Evaluation vorzuschalten.

Viertens: Die Bedeutung von Phase II Studien soll zukünftig aufgewertet werden, um anhand einer kleineren Patientenzahl eine klare Richtung für eine gezielte Therapie von Patientensubtypen erreichen zu können. Nur nach erfolgreichem Abschluss einer Phase II Studie ist der Schritt in eine Phase III Studie zu rechtfertigen.

Basis für die klinischen Studien bleiben die experimentellen Untersuchungen im Tierversuch. Die hierfür verwendeten Modelle sollten die Teilaspekte des SHT abdecken. Es hat sich gezeigt, dass die Nachstellung der Komplexität des SHT mit einem Modell alleine nicht machbar ist. Jedoch kann mit einer Kombination der wichtigsten Trauma-Modelle eine gute Daten-Basis für weitere Untersuchungen gelegt werden (Laurer et al., 2000; Statler et al., 2001; Thompson et al., 2005). Eine Literatur Recherche in den Jahren 1991 bis 2004 definiert die drei wichtigsten Modelle entsprechend ihrer Bewertung der Publikationen (Kazanis, 2005): Das Weight Drop Modell, das Fluid Percussion Modell und das Controlled Cortical Impact (CCI). Hierunter ist das CCI, dessen Publikationen mit dem höchsten Zitat-Index und der durchschnittlich höchsten Impact-Faktor Beurteilung versehen ist, am bedeutendsten. Das

CCI stellt ein tierexperimentelles Trauma-Modell dar, welches viele Aspekte des SHT imitiert. Der Aspekt der traumatischen Kontusion und der damit verbundenen Blutungstypen steht dabei im Vordergrund. Für eine erfolgreiche experimentelle Testung einer potentiell neuroprotektiven Substanz ist dennoch die Kombination mehrerer Therapiestudien anhand aller drei Modelle optimal. Basierend auf positiven Ergebnissen aus solchen Untersuchungen, kann eine Teilaspekt-orientierte Therapiestudie der Phase II angestrebt werden. Erst hiernach ist die prospektive, randomisierte, doppelblind durchzuführende Multicenter Studie gerechtfertigt. Um einen solchen optimalen Weg einschlagen zu können, ist die optimale Vernetzung verschiedener Studiocenter mit standardisierten experimentellen Untersuchungsverfahren und optimierten Planungsabsprachen für den Schritt in die klinische Testung notwendig. Hierfür sind die bereits bestehenden guten technischen Möglichkeiten der elektronischen Kommunikation eine deutliche Verbesserung. Die organisierte Standardisierung der Untersuchungsmethoden auf experimenteller Ebene und der offene Austausch zur optimierten Planung klinischer Studien bleibt die Herausforderung.

Teil II

2. Fragestellung

Für die vorliegenden Untersuchungen steht das „Controlled Cortical Impact“ (CCI) Modell zur Verfügung. Es war das Ziel hiermit einerseits ein besseres pathophysiologisches Verständnis für die kortikale Kontusion zu erhalten und andererseits die Wirkung von potentiell neuroprotektiv wirksamen Substanzen auf den Hirngewebschaden nach CCI zu testen. Zunächst sollte eine neuartige Untersuchungsmethode zur Darstellung der kortikalen Mikrozirkulation evaluiert werden. Basierend darauf sollte der Frage nachgegangen werden, welche Veränderungen die zerebrale Perfusion im zeitlichen Verlauf nach Trauma in der perikontusionellen Zone erleidet. Die weitere Charakterisierung des posttraumatischen Schadens beinhaltete einerseits die Veränderung des Energiemetabolismus im Hirngewebe und andererseits die immunologischen Veränderungen auf zellulärer und mediatorischer Ebene. In weiteren Untersuchungen sollte die jeweilige Wirkung einer verbesserten Hirngewebeperfusion, einer Hemmung des oxidativen Stresses und einer Unterdrückung immunologischer Reaktionen auf den posttraumatischen Schaden des Hirngewebes geklärt werden.

2.1. Zusammenfassung der eigenen Ergebnisse

2.2. Technische Voraussetzung zur Untersuchung der Mikrozirkulation

Thomale UW, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF. Visualization of rat pial microcirculation using the novel orthogonal polarized spectral (OPS) imaging after brain injury. *J Neurosci Methods*. 2001 Jul 15;108(1):85-90.

Diese Arbeit etablierte eine neuartige intravitalmikroskopische Kamera, die sog. „Orthogonal Polarisation Imaging“ (OPS) Kamera, zur Visualisierung der pialen und kortikalen Mikrozirkulation im Zusammenhang mit den posttraumatischen Veränderungen nach CCI. Das Prinzip beruht auf der unterschiedlichen Reflektion von polarisiertem Licht in Gewebe-Arealen mit und ohne Hämoglobingehalt. Die Aufzeichnung der Reflektionsbilder durch das OPS System kann somit indirekt die Gefäßarchitektur der Kortexoberfläche und der Leptomeningen darstellen. Diese Technik erwies sich bei der Anwendung vor und nach Traumatisieren des Kortex vor allem deshalb als eine einfache Methode, da sie im Vergleich zu der Intravitalmikroskopie (IVM) keine aufwendige Präparation der meningealen Architektur verlangt. Dadurch sind longitudinale Untersuchungen möglich im zeitlichen Verlauf. Als Nachteil erweist sich jedoch, dass die Funktion der Fluoreszenzmikroskopie nicht implementierbar ist, womit die Möglichkeit fehlt, Untersuchungen des Blut-Hirn-Schranken Schadens oder der Leukozyten-Endothel-Interaktion wie bei der herkömmlichen IVM durchzuführen. Quantifiziert werden können die Gefäßdurchmesser und die Flussgeschwindigkeiten in einem Offline-Verfahren. Hierbei zeigte sich in der sehr frühen Phase, 30 Minuten nach fokaler kortikaler Kontusion, eine signifikante Reduktion der Mikrozirkulation im Vergleich zu nicht-traumatisiertem Gewebe. Diese beruhte in erster Linie auf einer Gefäßengstellung (ca. 28%) sowie einer Flussverlangsamung (ca. 50%) in den Venolen und Arteriolen. Intravaskuläre Ursachen waren die Bildung von Mikrothromben sowie die relative Lumenverengung durch Zellaggregation an den Gefäßwänden. Schlussfolgernd konnte festgestellt werden, dass durch das OPS System eine gute Bildqualität zur Untersuchung der Mikrozirkulation in dem perikontusionellen Gewebe erreicht wird. Das System ermöglicht longitudinale Untersuchungen der Mikrozirkulation nach fokalem traumatischen Hirnschaden, welche vor allem bei experimentellen Therapiestudien mit vasoaktiven Neuroprotektiva im Bereich der Neurotraumatologie von großer Bedeutung sein kann.

2.3. Veränderungen der Mikrozirkulation nach fokaler Kontusion

Thomale UW, Kroppenstedt SN, Beyer TF, Schaser KD, Unterberg AW, Stover JF.
Temporal profile of cortical perfusion and microcirculation after controlled cortical
impact injury in rats. *J Neurotrauma*. 2002 Apr;19(4):403-13.

Eine zu geringe zerebrale Perfusion nach einem traumatischen Gewebeschaden wird als Risikofaktor des sekundären Hirnschadens angesehen und muss somit bei der Anwendung von Therapien berücksichtigt werden. Vor allem eine sekundär andauernde arterielle Hypotension in der Phase, in der eine regionale Minderperfusion nachweisbar ist, kann hierbei eine lokale Ischämie provozieren. Diese Arbeit untersucht die perikontusionelle Perfusion, gemessen anhand des regionalen zerebralen Blutflusses und der Mikrozirkulation im zeitlichen Verlauf bis zu 48 Stunden nach fokaler Kontusion. Es sollte charakterisiert werden, wie stark eine mögliche Minderperfusion ausgeprägt ist und wie lange eine Phase der Hypoperfusion anhält. Bei dieser Untersuchung wurden die Auswirkungen von zwei verschiedenen Traumastärken miteinander verglichen. Zur Datenerfassung der Mikrozirkulation wurde die OPS-Intravitalmikroskopie eingesetzt und es konnten Flussgeschwindigkeiten sowie Gefäßdurchmesser quantifiziert werden. Im Vergleich dazu wurde der regionale zerebrale Blutfuß (CBF) mit Hilfe von Mikrolaser Doppler-Messungen erfasst und direkt mit dem Ergebnis der Mikrozirkulation korreliert. Hierbei konnte gezeigt werden, dass eine anhand von Laser Doppler Einheiten gemessene, maximale Reduktion des Blutflusses um 43% bis 62% der Ausgangswerte zum Zeitpunkt 4 Stunden nach Trauma vorliegt. Die Auswertung der Mikrozirkulation zeigt ursächlich für die Minderperfusion eine Verringerung der Gefäßdurchmesser sowie verringerte Flussgeschwindigkeiten in den Arteriolen. Neben Mikrovasospasmen zeigten sich thrombotische Gefäße sowie Anheftungen von Zellulären Bestandteilen an den Gefäßwänden, welche die Blutzirkulation einschränken. Zu den späteren Zeitpunkten, 24 und 48 Stunden nach Trauma, kommt es demgegenüber zu einer reaktiven Hyperperfusion im Gewebe, welche im zeitlichen Verlauf ansteigt. Es zeigt sich eine gute Korrelation der Werte aus der Intravitalmikroskopie mit denen der Laser-Doppler-Flowmetrie. Die Veränderungen in der frühen Phase nach Trauma waren in der Gruppe mit der höheren Traumastärke deutlicher ausgeprägt als bei dem geringeren Trauma, wobei es nach stärkerem Trauma zu einer weniger ausgeprägten reaktiven Hyperperfusion kommt. Die Veränderungen der Mikrozirkulation waren zu allen Zeitpunkten ein lokales Phänomen, da sich die systemischen Parameter der Hämodynamik nicht änderten. Dadurch

konnte gezeigt werden, dass die vulnerable Phase des Hirngewebes bei 4 Stunden nach Trauma liegt, in der es durch Schwankungen des systemischen Blutdruckes zu weiteren Schädigungen des Hirngewebes wie z.B. zu lokalen Ischämien kommen kann.

2.4. Veränderungen des Energiestoffwechsels nach CCI

Thomale UW, Griebenow M, Mautes A, Beyer TF, Dohse NK, Stroop R, Sakowitz OW, Unterberg AW, Stover JF. Heterogeneous regional and temporal energetic impairment following controlled cortical impact injury in rats. *Neurol Res.* 2007, 29: 594-603.

In dieser Arbeit wurden die Veränderungen des Energiestoffwechsels nach CCI untersucht. Es bestand hierfür eine Kooperation mit dem neurochirurgischen Labor der Universität Homburg/ Saar. Es ist bekannt dass der Energiestoffwechsel nach Schädel-Hirn-Trauma eingeschränkt ist. Über die genaue regionale Ausdehnung der metabolischen Veränderungen im Hirngewebe besteht jedoch Unklarheit. Dieser Untersuchung beschreibt das zeitliche Profil der Ausdehnung von Kontusion und Hirnödemen anhand der Magnetresonanztomographie. Eine Triphenyltetrazolium Chlorid (TTC) Färbung wurde gewählt, um die Ausdehnung der mitochondrialen enzymatischen Funktionseinschränkung darzustellen. Diese wurde mit der Darstellung des Metabolismus von ATP, Glukose und Laktat im Hirngewebe durch die Anwendung des Biolumineszenz-Verfahrens korreliert. Im Weiteren wurde die Mikrodialyse verwendet, um verschiedene energieabhängige Substrate, wie Glucose, Laktat und Hypoxanthin quantitativ im zeitlichen Verlauf zu vergleichen. Die Ergebnisse zeigten anhand der MRT die maximale Ausdehnung der Kontusion zum Zeitpunkt 24 Stunden nach Trauma. Der Anteil der Blut-Hirn-Schrankenstörung war flächenmäßig geringer als die Ausdehnung des erhöhten Wassergehalts in der T2-gewichteten Aufnahme. Die Ausdehnung der energieabhängigen, enzymatischen Funktionsstörung, die sich in der TTC Färbung zeigte, war 24 Stunden nach Trauma mit der Ausdehnung der Kontusion in der T2 gewichteten MRT kongruent. Demgegenüber zeigte die Biolumineszenz einen veränderten Metabolismus in Arealen, die über die Kontusion hinausgehend. So waren auch die Stammganglien und die kontralaterale Hemisphäre von den Veränderungen betroffen. Auffällig war, dass in den von der Kontusion entfernten Regionen ein erhöhtes Glukose-Niveau nachgewiesen werden konnte. Die Quantifizierung der einzelnen Parameter korrelierte weitgehend mit der Mikrodialyse. Hierbei erreichten Hypoxanthin und Laktat die höchsten Werte 6 Stunden nach Trauma. Beide Parameter fielen im weiteren Verlauf ab, Hypoxanthin jedoch behielt ein erhöhtes Niveau im Vergleich zum Ausgangswert. Glukose stieg 24 Stunden nach Trauma auf das Maximum an und blieb auch im weiteren Verlauf erhöht. Zusammenfassend lässt sich aus den Daten schlussfolgern, dass der gestörte Energiestoffwechsel auch nicht primär traumatisierte Bereiche des Gehirns erfasst. Man kann

vermuten, dass der erhöhte Energiebedarf in der Kontusion und in benachbarten Regionen von entfernten Arealen substituiert wird.

2.5. lokale Immunreaktion nach CCI

Zur Charakterisierung der immunologischen Reaktion nach fokaler Hirnkontusion durch das CCI bei der Ratte sollten in den folgenden Untersuchungen die Abhängigkeit der Zytokinexpression über die Zeit von einer variablen Traumstärke beschrieben werden. Zusätzlich sollte die Zellinfiltration von phagozytierenden Zellen, MHC-Klasse II aktivierten Zellen und neutrophilen Granulozyten quantifiziert werden.

Hierfür wurde bei 52 Sprague Dawley Ratten (300-350g) eine links parietale Trepanation durchgeführt und eine fokale Kontusion auf die intakte Dura mater mit einer standardisierten Geschwindigkeit von 7 m/s appliziert. In unterschiedlichen Gruppen wurden zwei Traumstärken anhand unterschiedlicher Deformationstiefen (2mm oder 2,5mm) der Kortexoberfläche differenziert. Parallel bestand eine Gruppe aus scheinoperierten Tieren (n=24), bei denen die Trepanation ohne Trauma-Applikation durchgeführt wurde. Als Endpunkte wurden 4, 24 und 96 Stunden gewählt, um die Tiere entsprechend zu entbluten und das Hirngewebe in toto zu entnehmen. Als Kontrollen diente eine Gruppe von Tieren (n=8), bei denen die Hirnentnahme ohne vorheriger Intervention erfolgte. Vor der entsprechenden Hirnentnahme wurden der intrakranielle Druck (ICP) und das Körpergewicht (KG) bestimmt. Um die Zytokinexpression zu charakterisieren wurden real-time-PCR Analysen für IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α und IFN- γ durchgeführt. Zur Darstellung der Immunzellinfiltration wurden immunhistochemische Färbungen angefertigt mit den Markern ED-1 für phagozytierende Zellen, Ox-6 für MHC-Klasse II aktivierte Zellen (antigenpräsentierende Zellen; APC) und His-48 für neutrophile Granulozyten. Die Anzahl der Zellen wurde in der kortikalen Region innerhalb der Kontusion und benachbart davon mittels der Zählkammer-Methode quantifiziert.

Bei den Ergebnissen zeigte sich, dass die Traumstärke sowohl mit der Abnahme des Körpergewichtes als auch mit der Steigerung des intrakraniellen Druckes korrelierte (Abb. 1 und Abb. 2).

Mittels "real time-PCR" wurde eine signifikante Hochregulation der Zytokin-mRNA von TNF- α , IL-6, IL-10 und IL-12 zu dem Zeitpunkt 4 Stunden nach Trauma gemessen. Ausschließlich IFN- γ zeigte keine signifikanten Veränderungen auf mRNA-Ebene. Es wurden keine Traumastärken abhängigen Veränderungen festgestellt (Abb. 3). Die Ergebnisse sind als relative Veränderungen zum sog. „housekeeping gene“ β -Actin als logarithmische Werte angegeben.

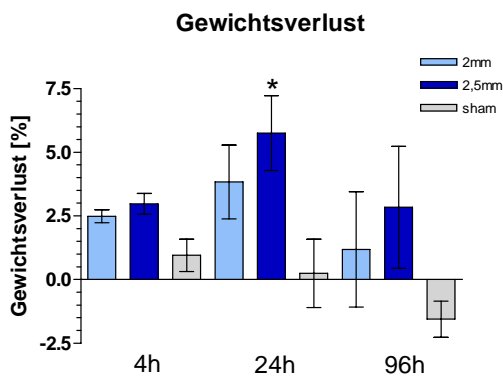


Abb. 1: Relative, mittlere Veränderungen des Körpergewichtes zum Zeitpunkt vor der Hirnentnahme im Vergleich zu den prätraumatischen Werten. Der Gewichtsverlust korreliert mit der Traumastärke. (n=8/Gruppe; * p<0.05 vs. Schein-OP)

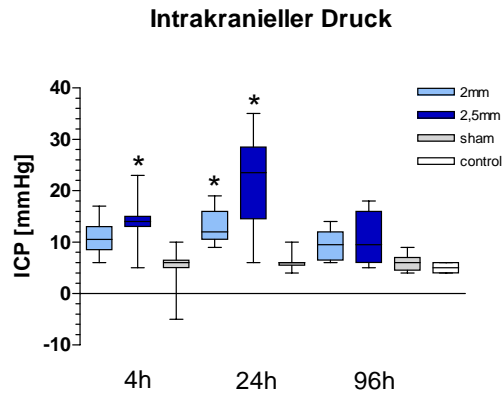


Abb. 2: Intrakranieller Druck (ICP) 4, 24 und 96 Stunden nach Trauma. Der ICP korreliert mit der Traumastärke und zeigte 24 Stunden nach dem schweren Trauma (2.5 mm) die höchsten Werte (n=8/Gruppe; * p< 0.05 vs. Schein-OP)

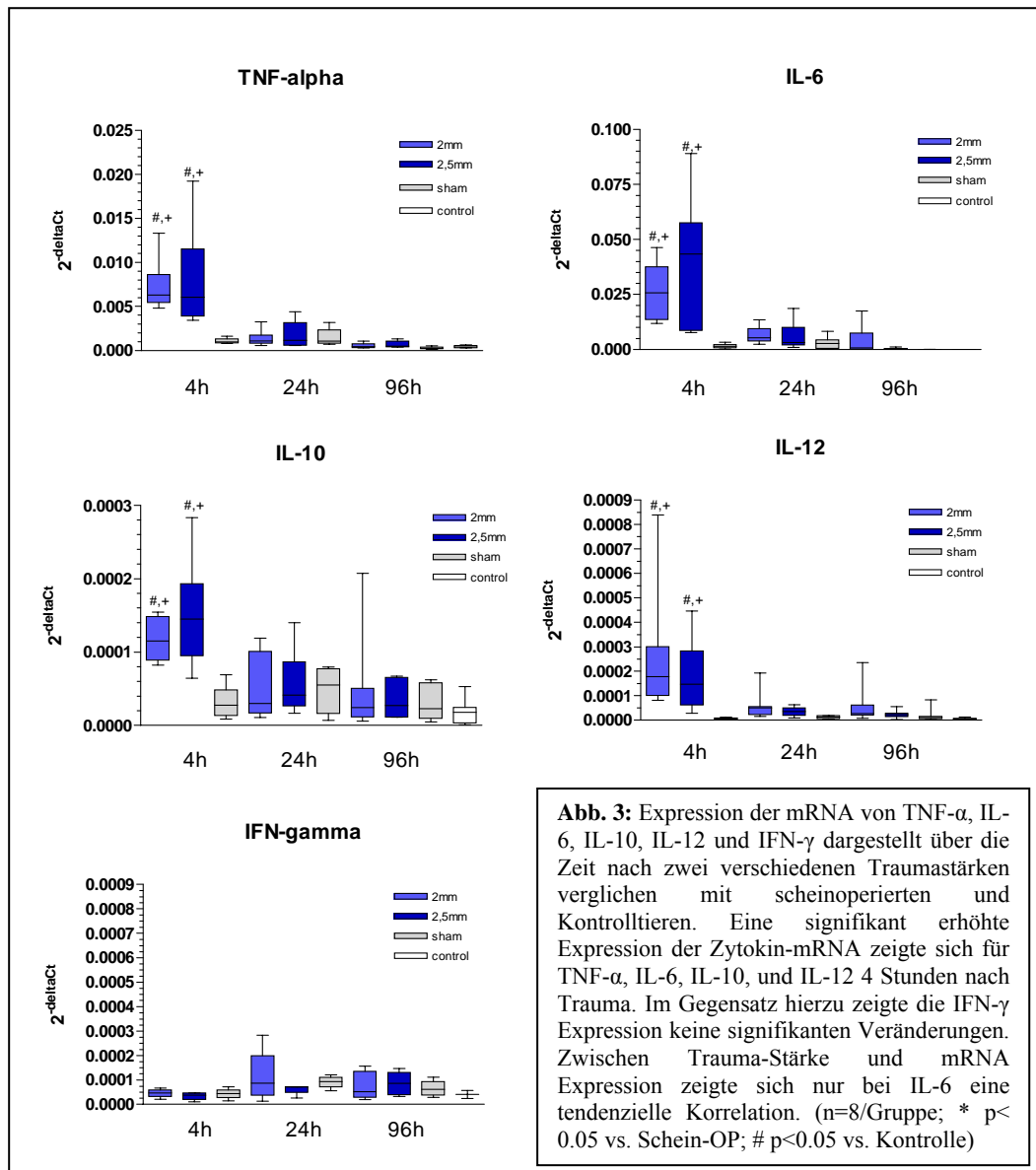


Abb. 3: Expression der mRNA von TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12 und IFN- γ dargestellt über die Zeit nach zwei verschiedenen Traumastärken verglichen mit scheinoperierten und Kontrolltieren. Eine signifikant erhöhte Expression der Zytokin-mRNA zeigte sich für TNF- α , IL-6, IL-10, und IL-12 4 Stunden nach Trauma. Im Gegensatz hierzu zeigte die IFN- γ Expression keine signifikanten Veränderungen. Zwischen Trauma-Stärke und mRNA Expression zeigte sich nur bei IL-6 eine tendenzielle Korrelation. (n=8/Gruppe; * p< 0.05 vs. Schein-OP; # p<0.05 vs. Kontrolle)

Immunhistologische Färbungen der posttraumatischen Hirngewebeschnitte mit den entsprechenden Antikörpern zeigten einen signifikanten Anstieg der Infiltration von neutrophilen Granulozyten (His-48) 24 Stunden nach Trauma innerhalb der Kontusion und des perikontusionellen kortikalen Areals (Abb. 4 und 5). ED-1-positive Zellen (phagozytierende Zellen) und Ox-6-positive Zellen (MHC-Klasse II positive Zellen) zeigen sich vornehmlich zum späten Zeitpunkt 96 Stunden nach Trauma-Ereignis (Abb. 5).

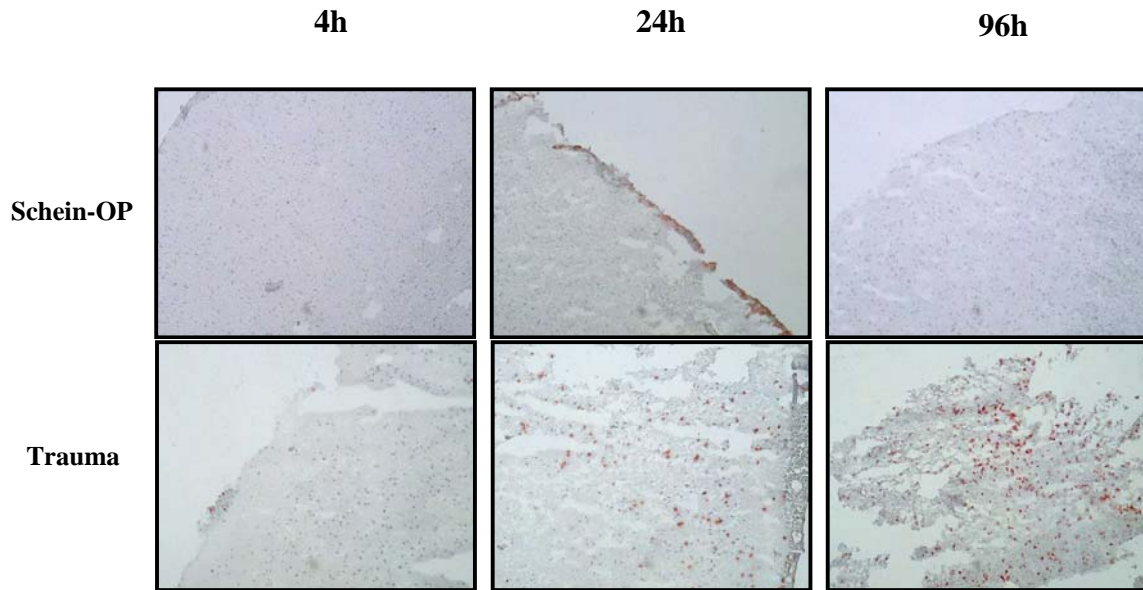


Abb. 4: Repräsentative immunohistologische Färbung mit dem His-48 Marker, welcher die Infiltration von neutrophilen Granulozyten innerhalb der Kontusion darstellt. Es zeigte sich die stärkste granulozytäre Infiltration 96 Stunden nach Trauma.

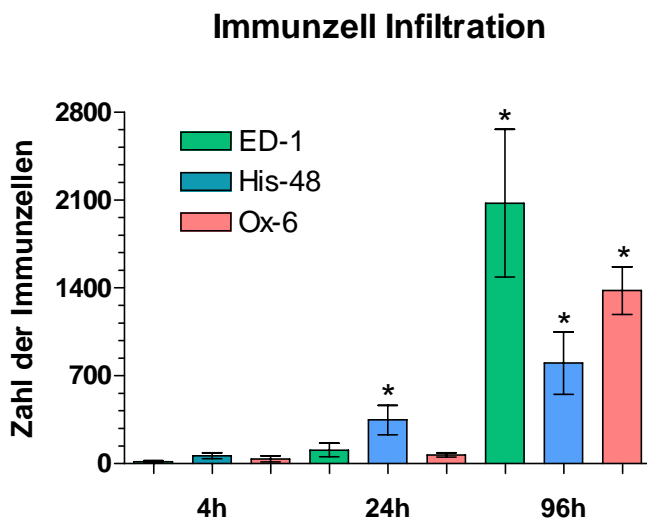


Abb. 5: Quantifizierung der infiltrierenden Immunzellen innerhalb der Kontusion und der perikontusionellen Region 4, 24 und 96 Stunden nach Trauma. Die Infiltration bzw. Aktivierung von neutrophilen Granulozyten (His-48, blau), phagozytierenden Zellen (ED-1, grün) und Antigen präsentierenden Zellen (MHC-II+; Ox-6, rot) sind dargestellt. Neutrophile Granulozyten sind bereits zum Zeitpunkt 24 Stunden nachweisbar, während die Immunzellinfiltration /Aktivierung von ED-1+ and Ox-6+ Zellen 96 Stunden nach Trauma dominiert (n=5/Gruppe; * p<0.05 vs. 4Stunden).

2.5. Therapiestudien nach fokaler Hirnkontusion

2.5.1. Hyperonkotisch-hyperosmotische Therapie

Thomale UW, Griebenow M, Kroppenstedt SN, Unterberg AW, Stover JF. Small volume resuscitation with HyperHaes improves pericontusional perfusion and reduces lesion volume following controlled cortical impact injury in rats. *J Neurotrauma*. 2004 Dec;21(12):1737-46.

Mit der Frage, ob die frühe Hypoperfusion 4 Stunden nach Schädel-Hirn-Trauma selbst ein Faktor ist, der zur sekundären Vergrößerung des primären, mechanisch bedingten Hirngewebeschadens beiträgt und damit neurodegenerativ wirkt, wurde folgende Studie unternommen. HyperHAES (HHES) ist eine Substanz, die in der Notfallmedizin zur schnellen Rekrutierung von Volumen aus dem Gewebe beim hypotensiven Schock Einsatz findet. Es hat sich zusätzlich gezeigt, dass diese hyperosmolar-hyperonkotisch wirksame Substanz eine Verbesserung der Mikrozirkulation in verschiedenen Gewebetypen bewirkt. Daher sollte untersucht werden, ob HyperHAES nach Schädel-Hirn-Trauma eine Verbesserung der Mikrozirkulation im Hirngewebe nach Trauma bewirken kann und ob dieses einen Effekt hat auf die Ausdehnung des Kontusionsvolumens hat. Nach der Gabe von 4ml/kg KG HHES 30 Minuten nach Applikation des Traumas wurde der regionale Blutfluss mittels Laser Doppler Flowmetrie gemessen. Zusätzlich wurden 24 Stunden nach Trauma der Wassergehalt zur Quantifizierung des Hirnödems und das Kontusionsvolumen berechnet, nachdem durch Planimetrie mehrerer enzymatisch gefärbter Hirnschnitte das demarkierte Kontusionsareal gemessen werden konnte. Bei den Ergebnissen zeigte sich, dass die frühzeitige Hypoperfusion 4 Stunden nach Trauma durch HHES-Gabe von 44% auf 85% signifikant angehoben werden konnte. Obwohl dies nahezu keine Auswirkung auf die Intensität des posttraumatischen Hirnödems und den intrakraniellen Druck hatte, konnte eine signifikante Reduktion des Kontusionsvolumens um 40% erreicht werden. Damit ergibt sich, dass die vulnerable Phase nach SHT, in der eine regionale Hypoperfusion in dem Gewebe gemessen werden kann, nicht nur ein Risiko aufgrund einer instabilen systemischen Hämodynamik sondern vielmehr ein eigener Risikofaktor für den sekundären Hirnschaden darstellt.

2.5.2. Anti-oxidative Therapie

Thomale UW, Griebenow M, Kroppenstedt SN, Unterberg AW, Stover JF. The effect of N-acetylcysteine on posttraumatic changes after controlled cortical impact in rats.

Intensive Care Med. 2006 Jan;32(1):149-55.

Eine ähnliche Fragestellung wie bei der HyperHAES-Studie war ebenfalls Ausgangspunkt der folgenden Untersuchung. Es ist immer wieder postuliert worden, dass die frühe Hypoperfusion nach Schädel-Hirn-Trauma unter anderem durch die unkontrollierte Freisetzung von freien Radikalen verursacht wird. Der damit verbundene oxidative Stress begünstigt die Entstehung von Vasospasmen in Arteriolen und hat damit eine Einschränkung der kortikalen Mikrozirkulation zur Folge. In diesem Zusammenhang sollte die Wirkung einer antioxidativ wirksamen Substanz auf die Folgen nach einer fokalen kortikalen Kontusion untersucht werden. N-acetylcystein (ACC) unterstützt die Produktion des körpereigenen Radikalfängers Gluthation und besitzt zusätzlich eigenes Potential freie Radikale in ihrer Wirkung zu bremsen. Es wurde nach dreimaliger intraperitonealer Gabe von 163 mg/kg KG ACC der regionale zerebrale Blutfluss durch Laser Doppler Flowmetrie im zeitlichen Verlauf bestimmt. Darüber hinaus wurde der posttraumatische Wassergehalt gravimetrisch gemessen und das Kontusionsvolumen anhand von TTC-gefärbten Hirnschnitten 24 Stunden nach Trauma ermittelt. Die Ergebnisse zeigen eine geringfügig, nicht signifikante Anhebung des regionalen Blutflusses 4 Stunden nach Trauma. Die Ausdehnung des posttraumatischen Wassergehalts ergab keine Veränderungen zwischen den Versuchsgruppen und bei der Ausdehnung des Kontusionsvolumens war eine nicht signifikante, tendenzielle Reduktion erkennbar. Zusammenfassend waren bei den untersuchten Parametern keine signifikanten Unterschiede durch ACC-Gabe im neuroprotektiven Sinne nachzuweisen. Schlussfolgernd kann angenommen werden, dass die freien Radikale einen nur geringeren Anteil an der Ausprägung der Hypoperfusion in der Frühphase nach Hirnkontusion haben könnten.

2.5.3. Antiinflammatorische Therapie

Thomale UW, Bender M, Casalis P, Rupprecht S, Griebenow M, Woiciechowsky C, Unterberg AW, Stover JF. Tacrolimus reduces local cellular inflammatory response after focal cortical contusion in rats. *Immunobiology*, 2007, 212: 567-576.

In einer jüngeren Arbeit werden lokale inflammatorische Reaktionen nach der traumatischen Hirngewebschädigung untersucht. Es besteht Uneinigkeit in wie weit die komplexe Freisetzung von Zytokinen und die Aktivierung, bzw. Invasion von Immunzellen in das Hirngewebe nach Trauma neurodegenerativ oder neuroprotektiv wirksam sind. In dieser Untersuchung setzten wir Tacrolimus (FK 506) als immunsuppressive Substanz nach CCI ein, um dessen Wirkung auf die zelluläre Inflammation nach fokaler Kontusion zu untersuchen. Es sollte geklärt werden, ob eine Veränderung der Immunzellaktivierung eine Auswirkung auf den Zelluntergang in Form des Kontusionsvolumens hat. In den Ergebnissen konnte gezeigt werden, dass es nach CCI zu einem signifikanten Anstieg im Hirngewebe von aktivierten Endothelzellen (ICAM-1), Granulozyten (His-48), phagozytierenden Zellen (ED-1) und Antigenpräsentierenden Zellen (MHC-Klasse II, Ox-6) zum Zeitpunkt 72 Stunden nach Trauma kommt. Dieser Anstieg kann in nahezu allen Zellreihen signifikant durch Tacrolimus gesenkt werden. In der Quantifizierung des Kontusionsvolumens konnte gezeigt werden, dass es keinen Einfluss auf die Ausdehnung des Gewebes Schadens hat. Schlussfolgernd ergibt sich dass die Invasion von Immunzellen 72 Stunden nach Trauma in das Gewebe keinen neurodegenerativen Effekt besitzt. In wieweit reparative Prozesse dadurch gefördert werden bleibt jedoch zurzeit noch ungeklärt.

2.6. Zusammenfassung

Die vorliegenden Untersuchungen weisen auf die Bedeutung der posttraumatisch gestörten Mikrozirkulation hin. Es konnte gezeigt werden, dass diese multifaktoriell durch Mikrothrombosen, zelluläre Adhäsionen und Vasokonstriktionen bedingt sind und sowohl auf arteriellem, wie auf venösem Schenkel nachweisbar sind. Die Hypoperfusion konnte zu dem Zeitpunkt 4 Stunden nach Trauma durch Mikrolaser-Doppler- sowie durch intravitalmikroskopische Untersuchungen bewiesen werden. Zur weiteren Charakterisierung der posttraumatischen Veränderungen nach fokaler Läsion wurden Mikrodialyseuntersuchungen mit Biolumineszenzuntersuchungen energieabhängiger Metabolite korreliert. Es zeigte sich eine gestörte, jedoch kompensierte energetische Versorgung, die 6 Stunden nach Trauma am stärksten ausgeprägt war und die durch einen vermehrten ATP und Glukose Verbrauch charakterisiert ist. Interessanterweise sind auch von der Kontusion entfernte Regionen von den Veränderungen betroffen, welche eventuell aufgrund vermehrter Bereitstellung von Substrat das Defizit ausgleichen. Die immunologischen Veränderungen nach Trauma sind durch eine frühe Zytokinexpression 4 Stunden nach Trauma charakterisiert, die sowohl anti- als auch pro-inflammatorische Ausrichtung besitzt. Unabhängig von der Zytokin Regulation kommt es erst sehr viel später ab 24 Stunden nach Trauma zu einer signifikanten Infiltration von Granulozyten in das Läsionsgebiet. Die Infiltration oder Aktivierung von phagozytierenden Zellen oder antigenpräsentierenden Zellen ist jedoch erst 96 Stunden nach Trauma nachweisbar.

In der Frage, ob die Verringerung des regionalen Blutflusses nicht nur eine vulnerable Phase für sekundäre Ischämien darstellt, sondern auch selbst als Faktor zur Vergrößerung des sekundären Hirnschadens nach traumatischer Läsion in Frage kommt, haben wir diesen Faktor therapeutisch ausgeschaltet. Durch HyperHAES, einer Kombination von Hydroxyäthylstärke und hyperosmolarer Kochsalzlösung konnte einerseits eine Verbesserung der regionalen Blutflusses 4 Stunden nach Trauma nachgewiesen und andererseits eine Verringerung der Hirngewebschädigung erreicht werden. Ob die Wirkung von Oxidantien auch einen Einfluss auf die gestörte Mikrozirkulation hat oder auf die Ausbreitung des Sekundärschadens wurde mit Hilfe von N-Acetylcystein untersucht. Hier konnte weder auf den Blutfluss noch auf die Ödembreite oder das Kontusionsvolumen ein signifikanter Einfluss beobachtet werden. Zur anti-inflammatorischen Therapie wurde Tacrolimus eingesetzt, welches als Immunsuppressivum nach Transplantationen klinisch im Gebrauch ist. Obwohl hier eine signifikante Reduktion der Immunzellinfiltration vor allem 72 Stunden nach

Trauma nachweisbar ist hatte dies keine Auswirkung auf die Ausbreitung des Kontusionsvolumens.

2.7. Fazit

Die Untersuchungen unterstreichen die Vielseitigkeit der pathophysiologischen Veränderungen nach fokaler, traumatischer Hirnschädigung und weisen auf eine Notwendigkeit hin, dem Faktor der gestörten Mikrozirkulation klinisch eine größere Bedeutung zu geben. Die zusätzliche Testung in den weiteren Modellen des Schädel-Hirn-Traumas wie dem „Fluid percussion“- und dem „Weight drop“-Modell würde bei positiven Ergebnissen die klinische Testung von HyperHAES unterstreichen. Um die Signifikanz der anti-oxidativen sowie anti-inflammatorischen Therapie zu klären, bedarf es weiterer experimenteller Untersuchungen.

2.8. Literaturverzeichnis

- Abrahamson EE, Ikonovic MD, Ciallella JR, Hope CE, Paljug WR, Isanski BA, Flood DG, Clark RS, DeKosky ST. Caspase inhibition therapy abolishes brain trauma-induced increases in Abeta peptide: implications for clinical outcome. *Exp Neurol*. 2006 Feb;197(2):437-50.
- Amara SG, Fontana AC. Excitatory amino acid transporters: keeping up with glutamate. *Neurochem Int*. 2002 Nov;41(5):313-8.
- Amorini AM, Dunbar JG, Marmarou A. Modulation of aquaporin-4 water transport in a model of TBI. *Acta Neurochir Suppl*. 2003;86:261-3.
- Andersen TE (1982): A controlled pneumatic technique for experimental spinal cord contusion. *J Neurosci Meth* 6:327-333.
- Aoyama N, Katayama Y, Kawamata T, Maeda T, Mori T, Yamamoto T, Kikuchi T, Uwahodo Y. Effects of antioxidant, OPC-14117, on secondary cellular damage and behavioral deficits following cortical contusion in the rat. *Brain Res*. 2002 May 3;934(2):117-24.
- Auer RN, Kalmino H, Olsson Y, Siesjö BK (1985a): The temporal evolution of hypoglycemic brain damage I. Light and electron microscopic findings in the rat cerebral cortex. *Acta Neuropathol* 67:13-24.
- Auer RN, Kalmino H, Olsson Y, Siesjö BK (1985b): The temporal evolution of hypoglycemic brain damage II. Light and electron microscopic findings in the rat hippocampus. *Acta Neuropathol* 67:25-36.
- Baethmann A, Maier-Hauff K, Kempfski O, Unterberg A, Wahl M, Schürer L (1988): Mediators of brain edema and secondary brain damage. *Crit Care Med* 16:972-978.
- Baethmann A, Maier-Hauff K, Schürer L (1989): Release of glutamate and free fatty acids in vasogenic brain edema. *J Neurosurg* 70:578-591.
- Baethmann A, Kempfski OS (1997): Pathophysiologie des Hirnödems. *Zentralbl Neurochir* 58:20-29.
- Banik NL, McAlhaney WW, Hogan EL (1985): Calcium stimulated proteolysis in myelin: Evidence for a Ca^{2+} -activated neutral proteinase associated with purified myelin of rat CNS. *J Neurochem* 45:581-588.
- Barzo P, Marmarou A, Fatouros P, Hayasaki K, Corwin F. Contribution of vasogenic and cellular edema to traumatic brain swelling measured by diffusion-weighted imaging. *J Neurosurg*. 1997 Dec;87(6):900-7.
- Bethea JR, Dietrich WD. Targeting the host inflammatory response in traumatic spinal cord injury. *Curr Opin Neurol*. 2002 Jun;15(3):355-60.
- Betz AL, Iannotti F, Hoff JT (1986): Brain edema: a classification based on blood brain barrier integrity. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1:133-154.
- Bouma GJ, Muizelaar JP, Stringer WA, Choi SC, Fatouros P, Young HF. Ultra-early evaluation of regional cerebral blood flow in severely head-injured patients using xenon-enhanced computerized tomography. *J Neurosurg*. 1992 Sep;77(3):360-8.
- Brain Trauma Foundation. The American Association of Neurological Surgeons. The Joint Section on Neurotrauma and Critical Care. *J Neurotrauma*. 2000 Jun-Jul;17(6-7)
- Bradbury M (1979): The concept of blood brain barrier. Chichester: John Wiley.
- Bryan RM, Jr., Cherian L, Robertson C (1995): Regional cerebral blood flow after controlled cortical impact injury in rats. *Anesth Analg* 80:687-695.
- Bullock R, Zauner A, Woodward JJ, Myseros J, Choi SC, Ward JD, Marmarou A, Young HF. Factors affecting excitatory amino acid release following severe human head injury. *J Neurosurg*. 1998 Oct;89(4):507-18.
- Bullock R (1997): Experimental drug therapies for head injury. in: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds.), *Neurotrauma*, New York: McGraw-Hill, 375-391.
- Bullock R, Chesnut RM, Clifton G, Ghajar J, Marion DW, Narayan RK, Newell DW, Pitts LH, Rosner MJ, Wilberger JE (1996): Guidelines for the management of severe head injury. *J Neurotrauma* 13:639-734.
- Bullock R. Strategies for neuroprotection with glutamate antagonists. Extrapolating from evidence taken from the first stroke and head injury studies. *Ann N Y Acad Sci*. 1995a Sep 15;765:272-8

- Bullock R, Zauner A, Myseros JS, Marmarou A, Woodward JJ, Young HF. Evidence for prolonged release of excitatory amino acids in severe human head trauma. Relationship to clinical events. *Ann N Y Acad Sci.* 1995b Sep 15;765:290-7
- Bullock R, Maxwell WL, Graham DI, et al. (1991): Glial swelling following cerebral contusion: an ultrastructural study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54:427-434.
- Bullock R, Mendelow AD, Teasdale GM, Graham DI (1984): Intracranial haemorrhage induced at arterial pressure in the rat. Part 1: Description of technique, ICP changes and neuropathological findings. *Neurol Res* 6:184-188.
- Buki A, Siman R, Trojanowski JQ, Povlishock JT. The role of calpain-mediated spectrin proteolysis in traumatically induced axonal injury. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1999 Apr;58(4):365-75.
- Carlos TM, Clark RS, Francica-Higgins D, Schiding JK, Kochanek PM. Expression of endothelial adhesion molecules and recruitment of neutrophils after traumatic brain injury in rats. *J Leukoc Biol.* 1997 Mar;61(3):279-85.
- Chatzipanteli K, Alonso OF, Kraydieh S, Dietrich WD. Importance of posttraumatic hypothermia and hyperthermia on the inflammatory response after fluid percussion brain injury: biochemical and immunocytochemical studies. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2000 Mar;20(3):531-42.
- Cherian L, Robertson CS, Contant CF, Jr., Bryan RM, Jr. (1994): Lateral cortical impact injury in rats: cerebrovascular effects of varying depth of cortical deformation and impact velocity. *J Neurotrauma* 11:573-585.
- Choi DW (1992): Excitotoxic cell death. *J Neurobiol* 23:1261-1276.
- Clark RS, Kochanek PM, Watkins SC, Chen M, Dixon CE, Seidberg NA, Melick J, Loeffert JE, Nathaniel PD, Jin KL, Graham SH. Caspase-3 mediated neuronal death after traumatic brain injury in rats. *J Neurochem.* 2000 Feb;74(2):740-53
- Clark RS, Kochanek PM, Chen M, Watkins SC, Marion DW, Chen J, Hamilton RL, Loeffert JE, Graham SH. Increases in Bcl-2 and cleavage of caspase-1 and caspase-3 in human brain after head injury. *FASEB J.* 1999 May;13(8):813-21.
- Colcios MA, Dixon CE, Dash PK (1996): Delayed, selective neuronal death following experimental cortical impact injury in rats: possible role in memory deficits. *Brain Res* 739:111-119.
- Conti AC, Raghupathi R, Trojanowski JQ, McIntosh TK. Experimental brain injury induces regionally distinct apoptosis during the acute and delayed post-traumatic period. *J Neurosci.* 1998 Aug 1;18(15):5663-72.
- D'Avella D, Germano A, Santoro G, et al. (1990): Effect of experimental subarachnoid hemorrhage on CSF eicosanoids in the rat. *J Neurotrauma* 7:121-129.
- Dempsey RJ, Raghavendra Rao VL. Cytidinediphosphocholine treatment to decrease traumatic brain injury-induced hippocampal neuronal death, cortical contusion volume, and neurological dysfunction in rats. *J Neurosurg.* 2003 Apr;98(4):867-73.
- Denny-Brown D (1945): Cerebral concussion. *Physiol Rev* 25:296.
- Denny-Brown D, Russel WR (1945): Experimental cerebral concussion. *Brain* 64:93.
- Diringer MN, Videen TO, Yundt K, Zazulia AR, Aiyagari V, Dacey RG Jr, Grubb RL, Powers WJ. Regional cerebrovascular and metabolic effects of hyperventilation after severe traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 2002 Jan;96(1):103-8.
- Diringer MN, Yundt K, Videen TO, Adams RE, Zazulia AR, Deibert E, Aiyagari V, Dacey RG Jr, Grubb RL Jr, Powers WJ. No reduction in cerebral metabolism as a result of early moderate hyperventilation following severe traumatic brain injury. *J Neurosurg.* 2000 Jan;92(1):7-13.
- Dixon CE, Clifton GL, Lighthall JW, Yaghai AA, Hayes RL (1991): A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat. *J Neurosci Methods* 39:253-262.
- Dixon CE, Lyeth BG, Povlishock JT, et al. (1987): A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat. *J Neurosurg* 67:110-119.
- Doppenberg EM, Choi SC, Bullock R. Clinical trials in traumatic brain injury: lessons for the future. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2004 Jan;16(1):87-94. Review.
- Ebisu T, Naruse S, Horikawa Y, et al. (1993): Discrimination between different types of white matter edema with diffusion-weighted MR imaging. *J Magn Res Imag* 3:863-868.

- Eldadah BA, Faden AI. Caspase pathways, neuronal apoptosis, and CNS injury. *J Neurotrauma*. 2000 Oct;17(10):811-29.
- Emerich DF, Dean RL 3rd, Bartus RT. The role of leukocytes following cerebral ischemia: pathogenic variable or bystander reaction to emerging infarct? *Exp Neurol*. 2002 Jan;173(1):168-81.
- Eriskat J, Schürer L, Kempfski O, Baethmann A (1994): Growth kinetics of a primary brain tissue necrosis from a focal lesion. *Acta Neurochir* 60 (Suppl.):425-427.
- Faden AI (1997): Pharmacological treatment approaches for brain and spinal cord trauma. in: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds.), *Neurotrauma*, New York: McGraw-Hill, 1479-1490.
- Faden AI, Chan PH, Longar S (1987): Alteration in lipid metabolism, Na⁺/K⁺ ATPase activity and tissue water content of spinal cord following experimental traumatic injury. *J Neurochem* 48:1809-1816.
- Foda MA, Marmarou A (1994): A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. *J Neurosurg* 80:301-313.
- Forbes ML, Hendrich KS, Kochanek PM, et al (1997): Assessment of cerebral blood flow and CO₂ reactivity after controlled cortical impact by perfusion magnetic resonance imaging using arterial spin-labeling in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 17:865-874.
- Globus MY, Alonso O, Dietrich WD, Busto R, Ginsberg MD. Glutamate release and free radical production following brain injury: effects of posttraumatic hypothermia. *J Neurochem*. 1995 Oct;65(4):1704-11.
- Goodman JC, Cherian L, Bryan RM, Jr., Robertson CS (1994): Lateral cortical impact injury in rats: pathologic effects of varying cortical compression and impact velocity. *J Neurotrauma* 11:587-597.
- Graham DI, Gennarelli TA (1997): Trauma in: Graham DI, Lantos PL (eds.), *Greenfield's Neuropathology*, London, Sydney, Auckland: Arnold, 197-262.
- Graham DI, Ford I, Adams JH, Doyle D, Teasdale GM, Lawrence AE, McLellan DR. Ischaemic brain damage is still common in fatal non-missile head injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1989 Mar;52(3):346-50.
- Gurdjian ES, Lissner HP, Webster HP, Latimer FR, Haddad BF (1954): Studies on experimental concussion relation of physiologic effect time duration of intracranial pressure increase at impact. *Neurology* 4:674-681.
- Hall ED (1997): Injury mechanisms and therapies: Free radicals and lipid peroxidation. in: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds.), *Neurotrauma*, New York: McGraw-Hill, 1405-1419.
- Hall ED, Braughler JM (1991): Free radicals in CNS injury. in: Waxman SG (eds.), *Molecular and cellular approaches to the treatment of brain diseases*, New York: Raven Press, 81-105.
- Jantzen JP, Piek J (1997): Leitlinien zur Primärversorgung von Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma. *Anästhesiologie und Intensivmedizin* 2:89-93.
- Joseph R, Li W, Han E (1993): Neuronal death, cytoplasmic calcium and internucleosomal DNA fragmentation: Evidence of DNA fragments being released from cells. *Brain Res Mol Brain Res* 17:70-76.
- Katayama Y, Kawamata T. Edema fluid accumulation within necrotic brain tissue as a cause of the mass effect of cerebral contusion in head trauma patients. *Acta Neurochir Suppl*. 2003
- Kawamata T, Katayama Y, Aoyama N, Mori T. Heterogeneous mechanisms of early edema formation in cerebral contusion: diffusion MRI and ADC mapping study. *Acta Neurochir Suppl*. 2000;76:9-12.
- Kaya SS, Mahmood A, Li Y, Yavuz E, Goksel M, Chopp M. Apoptosis and expression of p53 response proteins and cyclin D1 after cortical impact in rat brain. *Brain Res*. 1999 Feb 6;818(1):23-33.
- Kazanis I. CNS injury research; reviewing the last decade: methodological errors and a proposal for a new strategy. *Brain Res Brain Res Rev*. 2005 Dec 15;50(2):377-86.
- Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Alonso OF, Aldana P, Dietrich WD. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001 Oct;21(10):1189-98.
- Kearney PA, Ridella SA, Viano DC, Andersen TW (1988): Interaction of contact velocity and cord compression in determining the severity of spinal cord injury. *J Neurotrauma* 5:187-208.
- Kellie G (1824): The kind of appearances observed in the dissection of two or three individuals ... with some reference to the pathology of the brain. *Trans Med Chi Edin* 1:84-169.
- Kempfski OS, Staub F, von Rosen F (1988): Molecular mechanisms of glial swelling in vitro. *Neurochem Pathol* 9:109-125.

- Kempinski OS, Volk C (1994): Neuron-glia interaction during injury and edema of the CNS. *Acta Neurochir* 60 (Suppl.):7-11.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR (1972): Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-257.
- Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE, Kolbeck R, Hoppe E, Oropeza-Wekerle RL, Bartke I, Stadelmann C, Lassmann H, Wekerle H, Hohlfeld R. Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med.* 1999 Mar 1;189(5):865-70.
- Kiening KL, van Landeghem FK, Schreiber S, Thomale UW, von Deimling A, Unterberg AW, Stover JF. Decreased hemispheric Aquaporin-4 is linked to evolving brain edema following controlled cortical impact injury in rats. *Neurosci Lett.* 2002 May 17;324(2):105-8.
- Kimelberg HK (1995): Current Concepts of brain edema. *J Neurosurg* 83:1051-1059.
- Kimelberg HK, Ransom BR (1986): Physiological and pathological aspects of astrocytic swelling. in: Fedoroff S, Vernadakis A (eds.), *Astrocytes*, Orlando, Fla: Academic Press, 129-166.
- Kita H, Marmarou A (1994): The cause of acute brain swelling after the closed head injury in rats. *Acta Neurochir* 60 (Suppl.):452-455.
- Klatzo I (1967): Neuropathological aspects of brain edema. *J Neuropath Exp Neurol* 26:1-14.
- Klatzo I, Piraux A, Laskowski EJ (1958): The relationship between edema, blood-brain-barrier, and tissue elements in a local brain injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 17:548-564.
- Kontos HA, Povlishock JT (1986): Oxygen radicals in brain injury. *CNS Trauma* 3:257-263.
- Kreutzberg GW, Blakemore WF, Graeber MB (1997): Cellular pathology of the central nervous system, in: Graham DI, Lantos PL (eds.), *Greenfield's Neuropathology*, London, Sydney, Aukland: Arnold, 85-156.
- Kroppenstedt S-N, Schneider G-H, Thomale U-W, Unterberg AW (1998): Protective effects of Aptiganel HCl (Cerestat) following Controlled Cortical Impact Injury in the rat. *J Neurotrauma* 15:191-197.
- Laurer HL, McIntosh TK. Experimental models of brain trauma. *Curr Opin Neurol.* 1999 Dec;12(6):715-21.
- Leker RR, Shohami E. Cerebral ischemia and trauma-different etiologies yet similar mechanisms: neuroprotective opportunities. *Brain Res Brain Res Rev.* 2002 Jun;39(1):55-73.
- Lewen A, Fujimura M, Sugawara T, Matz P, Copin JC, Chan PH. Oxidative stress-dependent release of mitochondrial cytochrome c after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001 Aug;21(8):914-20.
- Lighthall JW (1988): Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model. *J Neurotrauma* 5:1-15.
- Lindgren S, Rinder L (1965): Experimental studies of head injury I. Some factors influencing results of model experiments. *Biophysik* 2:20-329.
- Lotocki G, Keane RW. Inhibitors of apoptosis proteins in injury and disease. *IUBMB Life.* 2002 Nov;54(5):231-40.
- Maas AI, Dearden M, Teasdale GM, et al (1997): EBIC-guidelines for management of severe head injury in adults. European Brain Injury Consortium. *Acta Neurochir* 139:286-294.
- Maas AI, Dearden M, Servadei F, Stocchetti N, Unterberg A. Current recommendations for neurotrauma. *Curr Opin Crit Care.* 2000 Aug;6(4):281-292.
- Maas AI, Murray G, Henney H 3rd, Kassem N, Legrand V, Mangelus M, Muizelaar JP, Stocchetti N, Knoller N; Pharms TBI investigators. Efficacy and safety of dexamethasone in severe traumatic brain injury: results of a phase III randomised, placebo-controlled, clinical trial. *Lancet Neurol.* 2006 Jan;5(1):38-45.
- Maeda T, Katayama Y, Kawamata T, Koyama S, Sasaki J. Ultra-early study of edema formation in cerebral contusion using diffusion MRI and ADC mapping. *Acta Neurochir Suppl.* 2003;86:329-31.
- Manley GT, Fujimura M, Ma T, Noshita N, Filiz F, Bollen AW, Chan P, Verkman AS. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med.* 2000 Feb;6(2):159-63.
- Marmarou A, Guy M, Murphey L, Roy F, Layani L, Combal JP, Marquer C; American Brain Injury Consortium. A single dose, three-arm, placebo-controlled, phase I study of the bradykinin B2 receptor antagonist

- Anatibant (LF16-0687Ms) in patients with severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2005 Dec;22(12):1444-55.
- Marmarou A. Pathophysiology of traumatic brain edema: current concepts. *Acta Neurochir Suppl*. 2003;86:7-10.
- Marmarou A, Foda MA, van den Brink W, Campbell J, Kita H, Demetriadou K (1994): A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg* 80:291-300.
- Marshall LF, Maas AI, Marshall SB, Bricolo A, Fearnside M, Iannotti F, Klauber MR, Lagarrigue J, Lobato R, Persson L, Pickard JD, Piek J, Servadei F, Wellis GN, Morris GF, Means ED, Musch B. A multicenter trial on the efficacy of using tirilazad mesylate in cases of head injury. *J Neurosurg*. 1998 Oct;89(4):519-25.
- Maxwell WL, Irvine A, Graham DI, et al. (1991): Focal axonal injury: axon response to stretch. *J Neurocytol* 20:157-164.
- Maxwell WL, Watts C, Graham DI, et al. (1993): Ultrastructural evidence of axonal shearing as a result of lateral acceleration of the head in non human primates. *Acta Neuropath* 86:136-144.
- McIntosh TK, Noble L, Andrews B, Faden AI (1987): Traumatic brain injury in the rat: characterization of a midline fluid-percussion model. *Cent Nerv Syst Trauma* 4:119-134.
- McIntosh TK, Vink R, Noble L, et al. (1989): Traumatic brain injury in the rat: characterization of a lateral fluid-percussion model. *Neuroscience* 28:233-244.
- Mikawa S, Kinouchi H, Kamii H, Gobbel GT, Chen SF, Carlson E, Epstein CJ, Chan PH. Attenuation of acute and chronic damage following traumatic brain injury in copper, zinc-superoxide dismutase transgenic mice. *J Neurosurg*. 1996 Nov;85(5):885-91.
- Miller JD, Bullock R, Graham DI, Chen MH, Teasdale GM (1990): Ischemic brain damage in a model of acute subdural hematoma. *Neurosurgery* 27:433-439.
- Monroe A (1783): Observation on the structure and function of the nervous system. Creech and Johnson, Edinburgh, 5-6.
- Movsesyan VA, Faden AI. Neuroprotective effects of selective group II mGluR activation in brain trauma and traumatic neuronal injury. *J Neurotrauma*. 2006 Feb;23(2):117-27.
- Nagelhus EA, Horio Y, Inanobe A, Fujita A, Haug FM, Nielsen S, Kurachi Y, Ottersen OP. Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Muller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia*. 1999 Mar;26(1):47-54.
- NIH. Consensus conference. Rehabilitation of persons with traumatic brain injury. NIH Consensus Development Panel on Rehabilitation of Persons With Traumatic Brain Injury. *JAMA*. 1999 Sep 8;282(10):974-83.
- Ommaya AK, Hirsch AE, Flamm ES, Mahone RS (1966): Cerebral concussion in the monkey: An experimental model. *Science* 153:211.
- Palmer AM, Marion DW, Botscheller ML, Swedlow PE, Styren SD, DeKosky ST (1993): Traumatic brain injury-induced excitotoxicity assessed in a controlled cortical impact model. *J Neurochem* 61:2015-2024.
- Pant NC, Gainer H (1980): Properties of a calcium-activated protease in squid axoplasm which selectively degrades neurofilament proteins. *J Neurobiol* 11:1-12.
- Pappius HM (1974): Fundamental aspects of brain edema. in: Vinken PJ, Bruyn GW (eds.), *Handbook Clin Neurol*, New York: American Elsevier, 167-185.
- Pittman RN, Wang S, DiBenedetto AJ, Mills JC (1993): A system of characterizing cellular and molecular events in programmed neuronal cell death. *J Neurosci* 13:3669-3680.
- Povlishock JT (1992): Traumatically induced axonal injury: pathology and pathobiological implications. *Brain Pathol* 2:1-12.
- Radi R, Beckmann JS, Bush KM, Freemann BA (1991): Peroxynitrite induced membrane lipid peroxidation: The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 288:481-487.
- Raghupathi R, Graham DI, McIntosh TK. Apoptosis after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2000 Oct;17(10):927-38.
- Reese TS, Karnovsky MJ (1967): Fine structural localization of a blood brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol* 34:207-217.

- Sahuquillo J, Arikan F. Decompressive craniectomy for the treatment of refractory high intracranial pressure in traumatic brain injury. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Jan 25;(1):CD003983.
- Sarrafzadeh A, Thomale U-W, Kroppenstedt S-N, Unterberg A (1997): The role of melatonin following Controlled Cortical Impact Injury. *Zentralbl Neurochir (Suppl.)* P37:56.
- Sato S, Umenishi F, Inamasu G, Sato M, Ishikawa M, Nishizawa M, Oizumi T. Expression of water channel mRNA following cerebral ischemia. *Acta Neurochir Suppl.* 2000;76:239-41.
- Schneider GH, Baethmann A, Kempfski O (1992): Mechanisms of glial swelling induced by glutamate. *Can J Physiol Pharmacol* 70:334-343.
- Schneider GH, Hennig S, Lanksch WR, Unterberg A (1994): Dynamics of posttraumatic brain swelling following a cryogenic injury in rats. *Acta Neurochir* 60 (Suppl.):437-439.
- Seddick Z, Habib YA (1991): The prognostic value of the brain sodium potassium ATPase enzyme concentration in head injury. *Childs Nerv Syst* 7:135-138.
- Shapira Y, Yadid G, Cotev S, Niska A, Shohami E (1990): Protective effect of MK801 in experimental brain injury. *J Neurotrauma* 7:131-139.
- Shohami E, Novikov M, Mechoulam R (1993): A nonpsychotropic cannabinoid, HU-211, has cerebroprotective effects after closed head injury in the rat. *J Neurotrauma* 10:109-119.
- Signoretti S, Marmarou A, Tavazzi B, Lazzarino G, Beaumont A, Vagnozzi R. N-Acetylaspartate reduction as a measure of injury severity and mitochondrial dysfunction following diffuse traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2001 Oct;18(10):977-91.
- Smith ML, Auer RN, Siesjo BK (1984): The density and distribution of ischemic brain injury in the rat following 2-10 min of forebrain ischemia. *Acta Neuropathol Berl* 64:319-332.
- Smith SL, Andrus PK, Zhang JR, Hall ED (1994): Direct measurement of hydroxyl radicals, lipid peroxidation, and blood-brain barrier disruption following unilateral cortical impact head injury in the rat. *J Neurotrauma* 11:393-404.
- Statler KD, Jenkins LW, Dixon CE, Clark RS, Marion DW, Kochanek PM. The simple model versus the super model: translating experimental traumatic brain injury research to the bedside. *J Neurotrauma.* 2001 Nov;18(11):1195-206.
- Staub F, Winkler A, Peters J, Kembski OS, Kachel V, Baethmann A (1994): Swelling, acidosis and irreversible damage of glial cells from exposure to arachidonic acid in vitro. *J Cereb Blood Flow Metab* 14:1030-1039.
- Steudel WI, Cortbus F, Schwerdtfeger K. Epidemiology and prevention of fatal head injuries in Germany--trends and the impact of the reunification. *Acta Neurochir (Wien).* 2005 Mar;147(3):231-42
- Stover JF, Sakowitz OW, Beyer TF, Dohse NK, Kroppenstedt SN, Thomale UW, Schaser KD, Unterberg AW. Effects of LY379268, a selective group II metabotropic glutamate receptor agonist on EEG activity, cortical perfusion, tissue damage, and cortical glutamate, glucose, and lactate levels in brain-injured rats. *J Neurotrauma.* 2003 Apr;20(4):315-26.
- Stover JF, Morganti-Kosmann MC, Lenzlinger PM, Stocker R, Kempfski OS, Kossmann T (1999): Glutamate and taurine are increased in ventricular cerebrospinal fluid of severely brain-injured patients. *J Neurotrauma* 16:135-142.
- Stroop R, Thomale U-W, Päufer S, et al. (1998): Magnetic resonance imaging studies with cluster algorithm for characterization of brain edema after controlled cortical impact injury (CCII). *Acta Neurochir* 71 (Suppl.):303-305.
- Sutton RL, Lescaudron L, Stein DG (1993): Unilateral cortical contusion injury in the rat: vascular disruption and temporal development of cortical necrosis. *J Neurotrauma* 10:135-149.
- Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir (Wien).* 2006 Mar;148(3):255-68
- Taniguchi M, Yamashita T, Kumura E, Tamatani M, Kobayashi A, Yokawa T, Maruno M, Kato A, Ohnishi T, Kohmura E, Tohyama M, Yoshimine T. Induction of aquaporin-4 water channel mRNA after focal cerebral ischemia in rat. *Brain Res Mol Brain Res.* 2000 May 31;78(1-2):131-7.
- Tamura A, Graham DI, McCullough J (1981): Focal cerebral ischemia in the rat: II. Regional cerebral blood flow determined by ¹⁴C-iodantipyrine autoradiography following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1:61-69.

- Thompson HJ, Lifshitz J, Marklund N, Grady MS, Graham DI, Hovda DA, McIntosh TK. Lateral fluid percussion brain injury: a 15-year review and evaluation. *J Neurotrauma*. 2005 Jan;22(1):42-75.
- Thurman D, Guerrero J. Trends in hospitalization associated with traumatic brain injury. *JAMA*. 1999 Sep 8;282(10):954-7.
- Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL. Edema and brain trauma. *Neuroscience*. 2004;129(4):1021-9.
- Unterberg AW, Schneider GH, Gottschalk J, Lanksch WR (1994): Development of traumatic brain edema in old versus young rats. *Acta Neurochir* 60 (Suppl.):431-433.
- Unterberg AW, Wahl M, Baethmann A (1984): Effects of bradykinin on permeability and diameter of pial vessels in vivo. *J Cereb Blood Flow Metab* 4:574-585.
- van Landeghem FK, Stover JF, Bechmann I, Bruck W, Unterberg A, Buhner C, von Deimling A. Early expression of glutamate transporter proteins in ramified microglia after controlled cortical impact injury in the rat. *Glia*. 2001 Sep;35(3):167-79.
- von Berenberg P, Unterberg A, Schneider GH, Lanksch WR (1994): Treatment of traumatic brain edema by multiple doses of mannitol. *Acta Neurochir* 60 (Suppl.):531-533.
- Vespa P, Prins M, Ronne-Engstrom E, Caron M, Shalmon E, Hovda DA, Martin NA, Becker DP. Increase in extracellular glutamate caused by reduced cerebral perfusion pressure and seizures after human traumatic brain injury: a microdialysis study. *J Neurosurg*. 1998 Dec;89(6):971-82.
- Wada K, Chatzipanteli K, Busto R, Dietrich WD. Role of nitric oxide in traumatic brain injury in the rat. *J Neurosurg*. 1998 Nov;89(5):807-18.
- Wahl M, Unterberg A, Baethmann A, Schilling L (1988): Mediators of blood-brain-barrier dysfunction and formation of vasogenic brain edema. *J Cereb Blood Flow Metab* 8:621-634.
- Wang KK. Calpain and caspase: can you tell the difference? *Trends Neurosci*. 2000 Jan;23(1):20-6.
- Warden DL, Gordon B, McAllister TW, Silver JM, Barth JT, Bruns J, Drake A, Gentry T, Jagoda A, Katz DI, Kraus J, Labbate LA, Ryan LM, Sparling MB, Walters B, Whyte J, Zapata A, Zitnay G. Guidelines for the pharmacologic treatment of neurobehavioral sequelae of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2006 Oct;23(10):1468-501
- Young W (1992): Role of calcium in central nervous system injuries. *J Neurotrauma* 9:9-25.
- Yurkewicz L, Weaver J, Bullock MR, Marshall LF. The effect of the selective NMDA receptor antagonist traxoprodil in the treatment of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2005 Dec;22(12):1428-43.

2.9. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Professor Mario Brock, der meinen Werdegang seit Übernahme unserer Klinik im Jahre 2003 unterstützt hat. Seine Offenheit für innovative Gedanken sowie für den daraus entstehenden Tatendrang hat mir die Möglichkeit gegeben, aus meinen Ideen Ergebnisse zu schaffen. Dadurch wurden sowohl mein wissenschaftlicher als auch mein klinischer Werdegang sehr gefördert.

Mein Dank gilt besonders Herrn PD Dr. John Stover, der durch kritische Betrachtung von Methoden und Ergebnissen die Beantwortung von Fragestellungen verbessert hat und das Interesse für neue Überlegungen immer wieder befruchten konnte.

Mein Dank gilt vor allem den Mitarbeitern des neurochirurgischen Labors und der neuroimmunologischen Arbeitsgruppe, besonders Martin Griebenow und Pablo Casalis, die unerschöpflichem Enthusiasmus aufbringen, um neurotraumatologische Fragestellungen zu ergründen.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor Christian Woiciechowsky. Er hat mich darin maßgeblich unterstützt, die Ressourcen zur Umsetzung von wissenschaftlicher Arbeit ausfindig zu machen und durch viel Kreativität den Motor der kontinuierlich notwendigen Arbeit anzutreiben.

Für die Möglichkeit mich neben der klinischen Tätigkeit wissenschaftlicher Arbeit widmen zu können, danke ich meinen Kollegen und Kolleginnen der Neurochirurgischen Klinik und vor allem dem Leiter des Arbeitsbereiches Pädiatrische Neurochirurgie Herrn PD Dr. Hannes Haberl sowie Frau Dr. Karin Schwarz.

Für die technische Unterstützung bei der Umsetzung der Versuche möchte ich Frau Sabine Seidlitz, Jasmin Kopetzki, sowie den Kooperationspartnern Herrn Professor Andreas Unterberg, Frau Professor Angelika Mautes, Herrn Marcel Bender, Dr. Thomas Beyer, Dr. Nils Dohse, PD Dr. Stefan Kroppenstedt, Dr. Stefan Rupprecht, Dr. Oliver Sakowitz, Dr. Klaus-Dieter Schaser und Dr. Ralf Stroop danken.

2.10. Eidesstattliche 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