

Aus dem CharitéCentrum 15 für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie  
mit dem Arbeitsbereich für Pädiatrische Neurochirurgie und dem Institut für  
Neuropathologie

Klinik für Neurochirurgie mit dem Arbeitsbereich für Pädiatrische  
Neurochirurgie

Direktor: Prof. Dr. med. Peter Vajkoczy

## **Habilitationsschrift**

# **Inflammatorische und vasokonstriktive Veränderungen nach Subarachnoidalblutung**

zur Erlangung der Lehrbefugnis  
für das Fach Neurochirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Ulf Christoph Schneider  
aus Heidelberg

Eingereicht: März 2016

Dekan: Prof. Dr. Axel R. Pries

1. Gutachter: Prof. Dr. J. Meixensberger

2. Gutachter: Prof. Dr. D. Hänggi

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>1</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>Einleitung</b> .....	<b>5</b>
<b>Subarachnoidalblutung – Epidemiologie</b> .....	<b>5</b>
<b>Pathophysiologie der Subarachnoidalblutung</b> .....	<b>5</b>
<b>Klinische Einteilung der Subarachnoidalblutung</b> .....	<b>7</b>
<b>Subarachnoidalblutung – Diagnostik</b> .....	<b>7</b>
<b>Subarachnoidalblutung – Therapie</b> .....	<b>8</b>
Mikrochirurgisches Clipping .....	8
Endovaskuläre Versorgung .....	9
Konservative Therapie .....	9
<b>Subarachnoidalblutung – Komplikationen</b> .....	<b>10</b>
Zerebraler Vasospasmus.....	10
Nachblutung.....	12
Hydrozephalus.....	12
<b>Aktueller wissenschaftlicher Stand</b> .....	<b>13</b>
Zerebraler Vasospasmus.....	13
Entzündliche Veränderungen im Zentralnervensystem .....	14
Inflammation nach Subarachnoidalblutung.....	15
<b>Fragestellung</b> .....	<b>17</b>
<b>Eigene Arbeiten</b> .....	<b>18</b>
<b>1. Der Nutzen von „Nicardipine Prolonged Release Implants (NPRI)“ bei</b> <b>mikrochirurgischem Aneurysmaclipping nach Subarachnoidalblutung: Vergleich mit</b> <b>endovaskulärem Vorgehen</b> .....	<b>18</b>

<b>2. Die funktionelle Analyse pro-inflammatorischer Eigenschaften im Liquor zerebrospinalis nach Subarachnoidalblutung in vivo und in vitro.....</b>	<b>27</b>
<b>3. Änderungen des Blutdrucks nach Subarachnoidalblutung haben eine Verbindung zum Auftreten eines zerebralen Vasospasmus und zum klinischen Verlauf .....</b>	<b>39</b>
<b>4. Mikroglia verursachen eine sekundäre Hirnschädigung nach Subarachnoidalblutung</b>	<b>46</b>
<b>5. Das zerebrale MRT an der Maus kann keine Veränderungen im Gehirnvolumen nach experimenteller Subarachnoidalblutung nachweisen. ....</b>	<b>65</b>
<b>Diskussion .....</b>	<b>72</b>
<b>Integration und Zusammenfassung der eigenen Ergebnisse.....</b>	<b>72</b>
<b>Erläuterung der klinischen Ergebnisse im Kontext des aktuellen klinischen Standards..</b>	<b>73</b>
<b>Diskussion der inflammatorischen Prozesse im Subarachnoidalraum nach Subarachnoidalblutung .....</b>	<b>74</b>
<b>Diskussion der zellulären Immunreaktion im Gehirngewebe .....</b>	<b>75</b>
<b>Das Fadenperforationsmodell für die experimentelle Subarachnoidalblutung.....</b>	<b>78</b>
<b>Kernspintomographische Hirnvolumetrie nach experimenteller Subarachnoidalblutung .....</b>	<b>78</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>81</b>
<b>Literatur .....</b>	<b>83</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>91</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>93</b>

## Abkürzungsverzeichnis

aCOM	–	anterior Communicating artery (A. communicans anterior)
APP	-	Amyloid precursor protein
BBB	–	Blood Brain Barrier (Blut-Hirnschranke)
CBF	–	Cerebral Blood Flow (Zerebraler Blutfluss)
CCA	–	Common carotid artery (A. carotis communis)
CD	–	Cluster of differentiation
CSD	–	Cortical Spreading Depolarisation (sich ausbreitende/wandernde kortikale Depolarisation)
CT	–	Computertomografie
DMEM	-	Dulbecco's modified eagle medium
DSA	–	Digitale Subtraktionsangiografie
ECA	–	External carotid artery (A. carotis externa)
EVD	–	Externe Ventrikeldrainage
FACS	–	Fluorescence activated cell sorter
GFP	–	Green fluorescent Protein
Gy	–	Gray (Energiedosis ionisierender Strahlung)
H&H	–	Hunt und Hess Gradierung
HSVTK	–	Herpes simplex virus thymidine kinase
HUVEC	–	human umbilical cord vein endothelial cells
Iba-1	-	Ionized calcium-binding adaptor molecule-1
ICA	–	Internal carotid artery (A. carotis interna)
ICAM	–	Inter cell adhesion molecule
ICB	–	Intracerebral Hemorrhage (intrazerebrale Blutung)
ICP	–	Intracranial Pressure (intrakranieller Druck)
IL	-	Interleukin
IL-R	-	Interleukin-Rezeptor
i.p.	–	intraperitoneal
i.v.	–	intravenös
MACS	–	Magnetically activated cell sorter

MG	–	Mikroglia
pCom	–	posterior communication artery (A. communicans posterior)
PCR	-	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
PSGL	–	P-selectin glycoprotein
SAB	–	Subarachnoidalblutung
TCD	–	Transkranielle Dopplersonografie
TGF	–	Tumor Growth Factor
TNF	-	Tumor Nekrose Faktor
WFNS	–	World Federation of Neurological Surgeons
ZNS	–	Zentralnervensystem

## **Einleitung**

### **Subarachnoidalblutung – Epidemiologie**

Der Schlaganfall zählt zu den drei häufigsten Ursachen für Behinderung und Tod in den westlichen Ländern. Unter den Schlaganfällen nehmen die hämorrhagischen Formen mit ca. 15% eine wichtige Rolle ein, da sie chirurgisch therapiert werden können. Ihre Entstehung unterscheidet sich maßgeblich von der ischämischer Schlaganfälle. Die Subarachnoidalblutung (SAB) als Sonderform der hämorrhagischen Schlaganfälle (ca. 1/3) entsteht durch die Ruptur eines intrakraniellen Aneurysmas, welche dann zu einer charakteristischen Blutverteilung in den basalen Zisternen führt. Mit einer Inzidenz von ca. 1:100000 Einwohnern sind in Deutschland ca. 8000 Menschen jedes Jahr betroffen<sup>1</sup> (Zahlen extrapoliert aus Daten des statistischen Bundesamtes vor der Wiedervereinigung). Insbesondere schwer wiegt die Tatsache, dass – anders als bei den anderen Formen der Schlaganfälle – vor allem jüngere Patienten (in der 4.-6. Lebensdekade) vornehmlich betroffen sind. Hierdurch führt die SAB nicht nur zu einer hohen Rate an Behinderungen und Todesfällen bei jungen Patienten, sondern verursacht auch einen erheblichen sozio-ökonomischen Schaden durch den Wegfall von Arbeitskraft und die Belastung der Kranken- und Rentenversicherungen<sup>2-4</sup>. Ca. ein Drittel der Patienten verstirbt an der SAB, ein weiteres Drittel überlebt die Blutung mit einer maßgeblichen Behinderung, und nur ein Drittel übersteht die Blutung in einer Form, dass ein selbständiges Leben oder die Wiederaufnahme der beruflichen Tätigkeit möglich ist<sup>2</sup>.

### **Pathophysiologie der Subarachnoidalblutung**

Die akute nicht-traumatische Subarachnoidalblutung entsteht in der Regel durch die Ruptur eines intrakraniellen Aneurysmas, obgleich auch andere Blutungsquellen im Subarachnoidalraum zu einer SAB führen können. Das Kardinalsymptom ist ein plötzliches Kopfschmerzereignis ungekannter Intensität, wobei auch leichtere Kopfschmerzen, Nackenschmerzen, Meningismus, fokale neurologische Symptome, unerklärliches Koma oder sogar unspezifische Symptome wie Schwindel, Übelkeit oder Erbrechen prinzipiell an eine

SAB denken lassen müssen. Risikofaktoren für die Ruptur eines Aneurysmas sind ein arterieller Hypertonus, die Einnahme oraler Kontrazeptiva, Nikotin-, oder Kokainabusus und eine Schwangerschaft oder Geburt<sup>5</sup>. Ein Alleinstellungsmerkmal der SAB unter allen anderen Formen der Schlaganfälle ist, dass die Schädigung nicht innerhalb des Gehirnparenchyms auftritt. Bei ischämischen Schlaganfällen kommt es zu einem direkten Hirngewebeuntergang durch die unterbrochene Durchblutung im Gefäßbereich - ebenso wie es bei einer intrazerebralen Blutung (ICB) zu einer direkten Hirngewebeschädigung durch das Blutvolumen innerhalb des Parenchyms kommt. Im Gegensatz dazu ereignet sich die SAB – von wenigen Ausnahmefällen abgesehen – im Subarachnoidalraum, außerhalb des Gehirnparenchyms und umgibt das Gehirn, beziehungsweise liegt unterhalb des Gehirns. Die Schädigung des Gehirns gliedert sich hierbei in zwei Schritte – eine frühe oder direkte Hirnschädigung und eine verzögerte oder indirekte Hirnschädigung.

Die Mechanismen der frühen Hirnschädigung nach SAB sind gut untersucht. Durch den plötzlichen Anstieg des intrakraniellen Volumens steigt der intrakranielle Druck (ICP). Hierdurch kommt es zu einer Minderung der zerebralen Perfusion und des zerebralen Blutflusses (CBF). Das Hirngewebe erleidet eine Hypoxie und nimmt Schaden<sup>6,7</sup>. Zusätzlich kommt es zu direkten schädigenden Wirkungen des subarachnoidal lokalisierten Blutes auf das Gehirn, was zu einer Schwellung und damit zu einer weiteren Erhöhung des ICP und damit sukzessiven Senkung des CBF führt<sup>7,8</sup>.

Die sekundäre Hirnschädigung nach SAB kann verschiedene Ursachen haben. Als eine der häufigsten ist hier der zerebrale Vasospasmus zu nennen (nähere Ausführung unter Komplikationen nach Subarachnoidalblutung), welcher einen maßgeblichen Anteil an einem schlechten klinischen Verlauf haben kann. Als weitere Ursachen für eine sekundäre Hirnschädigung nach SAB sind eine Störung der Blut-Hirnschranke (BBB), das Auftreten kortikaler wandernder Depolarisationen (CSD) oder eine Störung der zerebrovaskulären Autoregulation mit konsekutiver Hypo- oder Hyperperfusion zu nennen<sup>4,9-12</sup>. Im Jahr 2007 wurde von einer internationalen Expertengruppe im Rahmen eines Konzeptpapiers die Idee der inflammatorischen Schädigung des Gehirns im Rahmen einer SAB erstmalig diskutiert<sup>13</sup>. Bereits früher gab es Hinweise auf eine Aktivierung des Immunsystems nach SAB, dass eine

Immunantwort mit direktem Einfluss auf das Zentralnervensystem (ZNS) vorliegen könnte war bislang nicht nachgewiesen.

## **Klinische Einteilung der Subarachnoidalblutung**

Die klinische Einteilung erfolgt nach zwei Bewertungssystemen in jeweils fünf Schweregrade: 1.) der Gradierung nach Hunt & Hess von 1 (wach und ohne fokales Defizit – nur Kopfschmerz) bis 5 (komatös) und 2.) nach der World Federation of Neurological Surgeons (WFNS) GCS-basiert von 1 (GCS 15 ohne neurologisches Defizit) bis 5 (GCS 3-6 – also komatös). Welches Gradingssystem in der jeweiligen Institution angewandt wird hat meist historische Ursprünge; prinzipiell sind aber beide recht gut vergleichbar<sup>5</sup>. Die initiale klinische Präsentation ist prognostisch relevant für den weiteren Verlauf und ist Prädiktor für das klinische Outcome.

## **Subarachnoidalblutung – Diagnostik**

Durch die klinische Verdachtsdiagnose ausgelöst ist die Notfalldiagnostik der Wahl für die Subarachnoidalblutung eine native Computertomographie des Kopfes. In dieser kann eine SAB mit 95-prozentiger Wahrscheinlichkeit diagnostiziert werden, wenn das Blutungsereignis noch nicht mehr als 48 Stunden zurück liegt. Zu einem späteren Zeitpunkt wird das Blut sukzessive durch die Liquorzirkulation aus dem Subarachnoidalraum ausgewaschen, so dass die Sensitivität der nativen CCT deutlich sinkt.

Bei klinischem Verdacht auf eine Subarachnoidalblutung und negativer CCT ist eine Lumbalpunktion mit der Suche nach Hämosiderophagen obligat. Diese ist die sensitivste Untersuchung zum Nachweis, bzw. zum Ausschluss einer stattgehabten Blutung im Subarachnoidalraum. Mögliche Fehlerquelle ist hier allerdings das Risiko einer traumatischen Punktion, durch welche ein falsch positiver Befund erhoben werden kann, indem eine peridurale Vene vor dem Durchstechen des Duralschlauches verletzt wird. Zusätzlich kann durch eine Lumbalpunktion eine Meningitis als mögliche Differentialdiagnose ebenfalls ausgeschlossen werden. Es besteht ein geringes Risiko dass durch Liquordrainage in Folge

eines kurzfristig negativen Drucks im Subarachnoidalraum eine Nachblutung aus dem Aneurysma begünstigt wird.

Zur Lokalisation der Blutungsquelle eignet sich in der Notfalldiagnostik die moderne CT-Angiographie in Dünnschichttechnik mit Möglichkeit der dreidimensionalen Rekonstruktion. Der Goldstandard ist jedoch noch immer die invasive Diagnostik mittels digitaler Subtraktionsangiographie. Diese verfügt über die höchste Sensitivität und Spezifität zur Aneurysmasuche und gibt zeitgleich Aufschluss über die zerebrale vaskuläre Hämodynamik (inklusive zerebraler Vasospasmen – siehe dort).

Als weitere diagnostische Modalität eignet sich die MRT – sowohl zur Diagnose der Blutung selbst als auch zur Suche der Blutungsquelle (MR-Angiographie). In Hämosiderin-sensitiven Sequenzen wie beispielsweise der FLAIR- oder SWI-Bildgebung können auch Wochen nach der stattgehabten Blutung noch Residuen derselben aufgezeigt werden. Die Logistik für ein MRT ist allerdings hoch, so dass es in der Notfallsituation nur selten Anwendung findet<sup>5</sup>.

## **Subarachnoidalblutung – Therapie**

### **Mikrochirurgisches Clipping**

Als althergebrachte Standard-Operationsmethode eines zerebralen Aneurysmas ist das direkte Clipping, die Platzierung eines Clips über die Basis des Aneurysmas zur kompletten Ausschaltung des Aneurysmasacks aus dem Blutkreislauf mit Einführung des Operationsmikroskops und mikrochirurgischen Instrumentariums seit den 70er-Jahren eine signifikante Veränderung erlebt. Doch auch innerhalb der vergangenen Jahre haben technische Entwicklungen zu einer Verbesserung bekannter operativer Strategien beigetragen. Intraoperative Gefäßdarstellung, Verschlusskontrolle des Aneurysmas, bzw. Kontrolle der Perfusion des tragenden Gefäßes, sowie Techniken zur Behandlung komplexer Aneurysmen (Rapid Ventricular Pacing, Adenosin, Cardiac Arrest, nonokklusive Bypass-Techniken) sind hierbei ebenso wichtig wie die Verringerung der Invasivität des Eingriffs an sich durch die Weiterentwicklung der „Schlüssellochchirurgie“. Nach wie vor weist von allen verfügbaren Behandlungsmethoden für ein intrakranielles Aneurysma das mikrochirurgische

Clipping die höchste Stabilität und Dauerhaftigkeit, sowie die geringste Rate für erneutes Aneurysmawachstum und Nachblutung auf<sup>14,15</sup>.

Mit einem minimal erhöhten Risiko für ein unvorteilhaftes Outcome (6,9% Unterschied zum endovaskulären Coiling im kurzfristigen Verlauf) bei Aneurysmen der vorderen Zirkulation kann das mikrochirurgische Clipping in Einzelfällen der endovaskulären Versorgung hinten angestellt werden. In jedem Fall sollte die Entscheidung über das geeignetste Therapieverfahren von einem multidisziplinären Team mit Erfahrung in der operativen und interventionellen Versorgung auf Einzelfallbasis getroffen werden. Hierfür spielen neben Aneurysmagröße, -lokalisierung und -konfiguration auch Alter und Begleiterkrankungen des Patienten und Schwere sowie Konfiguration der Blutung eine Rolle. Ebenso sollten zeitliche und personelle Verfügbarkeit und individuelles Interventionsrisiko der beiden therapeutischen Optionen gegeneinander abgewogen werden.

### **Endovaskuläre Versorgung**

Bei der endovaskulären Versorgung ist das Füllen des Aneurysmas mit Guglielmi Detachable Coils (GDC), vorgeformter Platinspiralen variabler Größe und Konfiguration die am häufigsten verwendete Technik. Zusätzlich kann eine Assistenz mit intravaskulären Stents vorgehalten werden, was allerdings zu einer signifikanten Erhöhung des intraprozeduralen Risikos für Schlaganfälle führt. Günstige Aneurysmakonfigurationen für ein endovaskuläres Vorgehen sind ein hohes Dom-zu-Basis Verhältnis, eine mittlere Aneurysmagröße (>5mm und kleiner 15mm) und ein möglichst proximales Trägergefäß, sowie der auf geradem Wege endovaskulär erreichbare aber chirurgisch mit hohem Aufwand zu versorgende Basilariskopf.

### **Konservative Therapie**

Die konservativen Therapiemaßnahmen nach einer stattgehabten SAB umfassen eine konsequente Einstellung des Blutdrucks, um Blutdruckspitzen oder gar -krisen zu vermeiden und so das Risiko einer Nachblutung zu senken. Hierfür ist die Anlage einer invasiven Blutdruckmessung sinnvoll. Komatöse Patienten müssen zuerst eine Atemwegssicherung und Aspirationsprophylaxe erfahren und sollten daher intubiert werden. Gute Analgesie und

Oxygenierung, Oberkörper-Hochlagerung bis 30 Grad, Normothermie, Normovolämie, Normokapnie und strenge Bettruhe sollten ebenso beachtet werden wie leichte abführende Maßnahmen (um ein Pressen zu vermeiden), Sedierung falls notwendig und die frühe Einleitung einer antivasokonstriktiven Therapie (siehe unter Komplikationen – Vasospasmus). Trotz weitreichender Möglichkeiten moderner Intensivmedizin und Operationsmethoden kann bei schwerkranken Patienten mit massiver Blutung und klinisch infauster Prognose die Entscheidung gegen eine Versorgung des Aneurysmas in Einklang mit dem mutmaßlichen oder geäußerten Patientenwillen (Beispielsweise im Rahmen einer Patientenverfügung) im Einverständnis mit den Angehörigen getroffen werden und eine palliativ-supportive Therapie eingeleitet werden. In diesen Fällen sollte auf Grund der meist ausschließlich vorliegenden Gehirnschädigung die Möglichkeit einer Konditionierung für eine Organtransplantation angesprochen werden.

## **Subarachnoidalblutung – Komplikationen**

### **Zerebraler Vasospasmus**

Der zerebrale Vasospasmus in Form einer Kontraktion der basalen Hirngefäße bis zu drei Wochen im Anschluss an eine Subarachnoidalblutung ist neben medizinischen Komplikationen wie kardiale, pulmonale oder infektiologische Probleme der größte Risikofaktor für Morbidität und Mortalität nach SAB. Mit dem Auftreten eines Vasospasmus muss ab Tag 3 nach der Blutung gerechnet werden. Das Maximum findet sich ca. 7-9 Tage nach SAB; selten tritt ein Vasospasmus später als 17 Tage nach SAB ein. Die Inzidenz des angiographischen Vasospasmus beträgt ca. 30-70%, wobei aber die Rate der Patienten bei denen der Vasospasmus klinisch relevant wird nur ca. 20-30% beträgt. Durch das Auftreten eines Vasospasmus kommt es zu einer eingeschränkten Perfusion im abhängigen Bereich und dem Auftreten verzögerter neurologischer Defizite die reversibel aber auch dauerhaft sein können, und die ihrerseits signifikant zu Morbidität und Mortalität beitragen. Risikofaktoren für einen Vasospasmus sind ein arterieller Hypertonus, Hypovolämie, hohes Alter und Nikotinabusus, aber insbesondere ein höherer Hunt & Hess- oder WFNS-Grad und eine ausgedehnte Blutverteilung entlang der Hirnbasisgefäße (eingeteilt nach Fisher<sup>16</sup>).

Die Pathogenese des zerebralen Vasospasmus ist trotz jahrzehntelanger Forschung nicht hinreichend geklärt. Die direkte Wirkung von Blut an der Gefäßwand im Subarachnoidalraum scheint bestätigt, so dass das Ausspülen des Blutes während der Aneurysmaversorgung eine Senkung des Vasospasmusrisikos erbringt. Endothelin 1 ist ein möglicher Mediator<sup>17-19</sup>.

Für die Früherkennung des Vasospasmus ist eine engmaschige neuro-intensivmedizinische klinische Überwachung notwendig. Zusätzlich kann durch eine regelmäßig durchgeführte transkraniale Dopplersonographie der Hirnbasisarterien als bettseitig durchführbare Untersuchung ein Hinweis auf einen Vasospasmus erhalten werden (bei mittlerer Blutflussgeschwindigkeit über 200cm/s oder einem Anstieg von 50cm/s innerhalb von 24 Stunden, oder einem Lindegaard-Index >3 – konstante Untersuchungsbedingungen vorausgesetzt). Bei Verdacht auf einen Vasospasmus, regelhaft jedoch an Tag 7-9 nach der Blutung sollte eine Gefäßdarstellung angestrebt werden. Obwohl in der Kombination von CT-Angiographie und CT-Perfusion auch das Auftreten eines Vasospasmus quantitativ beurteilt werden kann, ist die digitale Subtraktionsangiographie nach wie vor die sensitivste Untersuchungsmethode zur Quantifizierung des Vasospasmus<sup>5</sup>.

Die Therapie des zerebralen Vasospasmus geschieht noch immer symptomatisch. Zur Standardtherapie gehört die HHH (triple-H)-Therapie, die Hypertension, Hypervolämie und Hämodilution umfasst, und bei der durch Katecholamine, HAES und Elektrolytlösungen eine Erhöhung des prästenotischen Drucks und eine Verbesserung der Rheologie erreicht werden sollen. Zur Standardtherapie bei rupturierten Aneurysmen gehört die Verschreibung des Kalziumantagonisten Nimodipin zur Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur. Dieser ist seit jeher traditioneller Teil der Standardprophylaxe des Vasospasmus, obgleich er keinen nachgewiesenen Effekt auf den radiographischen Vasospasmus oder auf die Mortalität hat. Dennoch führt die Behandlung zu einem verbesserten Outcome<sup>5</sup>.

Auf Grund des Zusammenhangs mit Endothelin 1 wurden in der näheren Vergangenheit große Anstrengungen unternommen aus dieser experimentellen Erkenntnis einen klinischen Nutzen zu ziehen. Mit der Gruppe der Endothelin-Antagonisten zur Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur wurde in internationalen multizentrischen Studien eine wirkungsvolle non-invasive Behandlungsoption gefunden durch welche die Inzidenz des zerebralen Vasospasmus und der assoziierten neuen Infarkte signifikant gesenkt werden konnte.

Überraschender Weise führte dieser signifikante Therapieerfolg in diesen Studien aber nicht zu einer Verbesserung des klinischen Ergebnisses bei den Patienten<sup>20,21</sup>. Seit Veröffentlichung der Ergebnisse dieser CONSCIOUS-Studien wird daher an alternativen Erklärungskonzepten für das schlechte klinische Ergebnis nach SAB gearbeitet.

### **Nachblutung**

Solange die Blutungsquelle nicht ausgeschaltet ist besteht bei Aneurysmen nach stattgehabter Blutung ein hohes Risiko für eine Nachblutung. Dieses beträgt innerhalb der ersten zwei Wochen ca. 20% (4% am ersten Tag und ca. 1,5% pro Folgetag). Innerhalb der ersten sechs Monate nach SAB beträgt das Nachblutungsrisiko bei unversorgtem Aneurysma 50%. Die meisten Nachblutungen sind schwerer als die Erstblutung. Je schwerer die initiale Blutung, desto höher ist das Risiko für eine Nachblutung<sup>5</sup>.

### **Hydrozephalus**

Durch eine Liquorzirkulations- oder -abflussstörung kann es in ca. 15-20% der Patienten nach SAB zu einem Hydrozephalus kommen, der sich klinisch durch einen Einbruch der Vigilanz im Verlauf oder durch eine Zunahme der Kopfschmerzen, sowie im schlimmsten Fall Zeichen der oberen Einklemmung äußern kann. Risikofaktoren für einen posthämorrhagischen Hydrozephalus sind hohes Alter, intraventrikuläres Blut auf dem initialen CT, eine große Blutmenge im Subarachnoidalraum, ein vorbestehender arterieller Hypertonus und Aneurysmen in der hinteren Zirkulation. Aneurysmen der A. cerebri media haben ein geringeres Risiko für einen Hydrozephalus. Zur akuten Therapie des Hydrozephalus muss eine vorübergehende externe Liquorableitung angelegt werden. Nach Normalisierung des Blut- und Proteingehaltes kann diese dann (bei Persistenz der Malresorption) in einen dauerhaften Shunt mit meist peritonealer oder kardialer Ableitung umgewandelt werden<sup>5</sup>.

## **Aktueller wissenschaftlicher Stand**

### **Zerebraler Vasospasmus**

Als mögliche (Mit-)Verursacher des zerebralen Vasospasmus wurden in der jüngeren Vergangenheit Cortical Spreading Depolarisations, toxische Effekte des Hämoglobinabbaus und dessen Metabolite, Mikrothrombosen und eine Störung der Blut-Hirnschranke diskutiert<sup>11,22-25</sup>. Auf dem Boden dieser und weiterer klinischer Ergebnisse aus meist kleineren, monozentrischen Studien (viele aus Japan), wurde die Forschung auf einige intravenös oder intraarteriell verabreichbare Pharmaka präzisiert. Die Folge hieraus ist jedoch, dass es eher zu einer Zerfaserung der Therapieentscheidungen kommt und dass an vielen Institutionen eine gewisse „Hausregel“ Vorrang hat. Mögliche Beispiele für diese Pharmaka oder Therapieformen sind: Magnesium, Nicardipin, intrathekale Fibrinolyse, Angioplastie (auch wiederholt), Antioxidantien, MAP-Kinase-Inhibitoren, Phosphodiesterasehemmer, Nitroprusside, Erythropoietin, lumbale Liquordrainage, Aspirin, Serumproteaseinhibitoren, NO-Donatoren, Neurostimulationsverfahren und viele mehr. In den vergangenen Jahren sind keine größeren randomisierten multizentrischen Studien zur Therapie des Vasospasmus erschienen, es macht den Anschein, dass wahrlich neue Ideen fehlen, wodurch die Forschungsbemühungen etwas wenig zielgerichtet erscheinen. Ein lohnenswerter Ansatz scheint die lokale Gabe von Nicardipin in niedrig konzentrierter Form über einen definierten Zeitraum hinweg direkt am bedrohten Gefäß, beispielsweise in Form sogenannter Prolonged-Release Pellets. Diese Therapie wurde in experimentellen Studien entwickelt und in mehreren klinischen Studien evaluiert. Sie bietet erwiesenermaßen einen Vorteil in der Bekämpfung des Vasospasmus und der assoziierten Infarkte, welcher den großen Endothelin-1-Antagonisten-Studien vergleichbar ist, ohne zu einer Zunahme des internistischen Risikos zu führen. Damit ist in den dazu veröffentlichten Studien auch stets eine Verbesserung des klinischen Outcome verbunden gewesen<sup>19,26-31</sup>. Derzeit wird das Ergebnis der NEWTON-Studie erwartet, welche eine gelförmige Weiterentwicklung dieser Pellets untersucht hat, welche nicht nur im Rahmen einer Kraniotomie, sondern auch bei endovaskulär behandelten Patienten eingesetzt werden könnte.

Eine wahre Richtlinie zur Behandlung des zerebralen Vasospasmus hat sich bisher nicht international etablieren lassen. Hierzu kann in Zukunft eventuell die internationale Konferenz

zerebrovaskulärer Ereignisse nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung beitragen, welche wechseljährig in den USA, Europa und Japan ausgerichtet wird.

### **Entzündliche Veränderungen im Zentralnervensystem**

Entzündliche Veränderungen im ZNS, welche auch für eine über die zu Grunde liegende Pathologie hinaus reichende Schädigung des Gehirns verantwortlich sind, sind im Rahmen anderer ZNS-Erkrankungen bereits beschrieben. Hier sind zuvorderst die Gruppe der entzündlichen ZNS-Erkrankungen, die Alzheimer-Erkrankung, Hirntumore oder ischämische Schlaganfälle zu nennen<sup>32-35</sup>. All diesen Erkrankungen ist gemein, dass sie – anders als die SAB – ihren Ursprung innerhalb des Gehirngewebes haben, und somit die BBB nicht zu einem Schutz des Gehirngewebes vor den entzündlichen Veränderungen beitragen kann. Darüber hinaus ist eine Aktivierung der ZNS-eigenen Immunzellen, der Mikroglia (MG), ohne einen Signalweg über die BBB einfach denkbar.

MG sind das wesentliche zelluläre Element, welches an inflammatorischen Prozessen bei ZNS-Erkrankungen beteiligt ist. Neben ihnen gibt es wenige andere Zellarten, die inflammatorische Prozesse auslösen, unterhalten oder unterstützen können. Zu diesen zählen die perivaskulären Makrophagen und die Makrophagen des peripheren Blutpools, die sekundär über die BBB in das Gehirnparenchym einwandern können. Grundsätzlich handelt es sich bei all diesen Zellen um myeloide Zellen hämatopoetischen Ursprungs. Während zirkulierende Monozyten auf einen ausreichenden Stimulus hin jederzeit das Blutgefäßsystem verlassen können, werden MG früh während der Embryogenese in das ZNS implementiert<sup>36-38</sup>. Sie sind die ZNS-eigenen Makrophagen und haben neben Endozytose und Phagozytose auch die Aufgabe des Schutzes der Neurone und Astrozyten. Die Rolle der MG bei inflammatorischen Erkrankungen scheint weiterhin nicht vollständig geklärt. Während viele Gründe für eine protektive Position der MG zum Schutz der Neurone sprechen gibt es Befürworter schädigender Effekte die von MG ausgehen können<sup>39-41</sup>. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre dass Kollateralschäden bei der Bekämpfung schädigender Einflüsse entstehen, die ihrerseits zu einer Bedrohung für die Neurone werden können<sup>39,40,42</sup>.

Auch Makrophagen aus dem peripheren Blutpool können zu einer inflammatorischen Reaktion bei ZNS-Erkrankungen beitragen. Ihr Auftreten scheint etwas später als die MG Aktivierung zu erfolgen, und scheint etwas gerichtet der Räumung zellulärer Überreste und Antigene zu gelten, obgleich es auch hier Hinweise auf eine weitere neuronale Schädigung gibt, die beispielsweise durch Sekretion inflammatorischer Zytokine und Chemokine erfolgen kann<sup>42,43</sup>.

### **Inflammation nach Subarachnoidalblutung**

Allgemeine entzündliche Veränderungen nach SAB wurden bereits frühzeitig beobachtet. Neben Fieber und einer Leukozytose im peripheren Blut sind auch der Nachweis inflammatorischer Zytokine im lumbalen Liquor und deren Einfluss auf das klinische Outcome oder den zerebralen Vasospasmus geführt<sup>44-47</sup>. In unserer Arbeitsgruppe konnten im Vorfeld bei Patienten nach SAB im Rahmen einer Mikrodialyse-Studie erhöhte Werte inflammatorischer Zytokine (Interleukin-6 (Il-6)) im Liquor und im Gehirnparenchym nachgewiesen werden. Hierbei fand sich eine Korrelation der Werte mit einem schlechten klinischen Outcome der Patienten<sup>48</sup>. Eine Erhöhung des ICP im Rahmen einer SAB hatte nachweislich Einfluss auf die Menge an Il-6 welches im Liquor und im Mikrodialysat gemessen wurde<sup>48</sup>. Zusätzlich konnten wir ebenfalls nach SAB eine Depression der peripheren Infektabwehr aufzeigen, bei der es insbesondere zu einer Minderung der T-Lymphozyten und des Spiegels an Interferon-Gamma kam. Diese Patienten litten signifikant häufiger an Pneumonien und anderen Krankenhaus-assoziierten Infektionen<sup>49</sup>. Eine inflammatorisch Belastung des Organismus nach SAB war also schon frühzeitig nachgewiesen. Das extraparenchymatöse Kompartiment des ZNS, der Subarachnoidalraum ist offenbar ebenfalls von inflammatorischen Vorgängen betroffen. Unklar war geblieben, ob die beobachteten Veränderungen primär auf dem Boden der SAB basierten, oder ob der durchaus deutlich erhöhte Stresslevel sekundär zu diesem inflammatorischen Status des Gesamtorganismus beigetragen haben könnte. Auch die Auswirkung der peripheren Inflammation und der Immunaktivierung im Subarachnoidalraum auf das ZNS selbst blieb unklar. Ob nun tatsächlich in der Folge einer SAB eine intrinsische Inflammation innerhalb

ZNS auftritt und inwiefern diese selbst zu einer sekundären Hirnschädigung beitragen kann wurde erstmals 2007 in einem Konzeptpapier hinterfragt<sup>13</sup>.

## **Fragestellung**

Ziel der vorgelegten Arbeit ist die Beantwortung der Frage, ob und in welchem Zeitintervall es nach SAB zu einer Aktivierung des intrinsischen Abwehrsystems des ZNS kommt, in welchen Kompartimenten des ZNS diese stattfindet, und welche Elemente daran beteiligt sind (zellulär, subzellulär). Weiterhin sollen die Auswirkungen einer Aktivierung des Immunsystems innerhalb des ZNS auf klinische, funktionelle, histologische und molekulare Verlaufparameter untersucht werden. Ursächlich beteiligte Elemente sollen identifiziert werden, Mechanismen in der Aktivierungskaskade sollen aufgedeckt werden. Der Einfluss inflammatorischer Reize auf den zerebralen Vasospasmus, sowie dessen Früherkennung und Möglichkeiten der Behandlung sollen behandelt werden. Auf klinischer Ebene soll eine praktikable Methode zur Früherkennung von Patienten mit erhöhtem Vasospasmusrisiko evaluiert werden. Im Rahmen einer klinischen Studie soll ein Medikament, welches beim mikrochirurgischen Clipping intrazisternal zur Vasospasmusprophylaxe eingesetzt werden kann im Vergleich zu vergleichbaren Kontrollgruppen ohne Medikament und nach endovaskulärer Behandlung evaluiert werden.

## Eigene Arbeiten

### **1. Der Nutzen von „Nicardipine Prolonged Release Implants (NPRI)“ bei mikrochirurgischem Aneurysmaclipping nach Subarachnoidalblutung: Vergleich mit endovaskulärem Vorgehen**

Ulf C. Schneider, Stefanie Dreher, Karl-Titus Hoffmann, Peter Schmiedek und Peter Vajkoczy Acta Neurochirurgica 2011<sup>50</sup>

Bei Patienten mit Subarachnoidalblutung kann es im Verlauf der Erkrankung (Maximum des Auftretens zwischen Tag 7 und 10 nach der Blutung) zu einem zerebralen Vasospasmus kommen. Dieses reaktive Zusammenziehen der extrazerebralen Blutgefäße auf einen bislang noch nicht vollständig geklärten Stimulus – mutmaßlich im Subarachnoidalraum – ist Hauptrisikofaktor für die Entwicklung zerebraler Infarkte im weiteren Verlauf. Durch das Einbringen Nicardipin-freisetzender Implantate entlang der basalen Hirngefäße konnte in experimentellen Arbeiten und ersten klinischen Einsätzen eine signifikante Reduktion des zerebralen Vasospasmus gezeigt werden. In unserer Arbeit haben wir die Implantation dieser NPRI nach Aneurysmaclipping mit einem operativen Vorgehen ohne NPRI sowie mit der Vasospasmus- und Infarktinzidenz nach endovaskulärer Versorgung verglichen.

In einer Fall-Kontroll Studie haben wir drei Gruppen a 27 Patienten (1. Mikrochirurgische Behandlung mit NPRI, 2. Mikrochirurgische Behandlung ohne NPRI, 3. Endovaskuläre Behandlung) untersucht, die mit einer aneurysmatischen SAB in unserer Klinik behandelt wurden. Inzidenzen von angiographischem Vasospasmus und neuen zerebralen Infarkten wurden dokumentiert. Die Inzidenz des zerebralen Vasospasmus war in der ersten Gruppe signifikant geringer als in den beiden anderen Gruppen (11% vs. 44% vs. 48%). Subsequent war auch die Rate an neuen Infarkten nach NPRI-Behandlung deutlich geringer (7% vs. 22% vs. 28%).

Aus diesen Daten schlossen wir, dass die Applikation der NPRI sicher und effektiv in der Behandlung von Patienten mit aneurysmatischer Subarachnoidalblutung waren und zu niedrigeren Vasospasmus- und Infarktraten führten. Leider ist diese Behandlungsmodalität

bislang auf operativ behandelte Patienten begrenzt, da die Implantate direkt an den extrazerebralen Gefäßen eingebracht werden müssen.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-011-1129-8>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-011-1129-8>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-011-1129-8>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-011-1129-8>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-011-1129-8>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-011-1129-8>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-011-1129-8>

Nachdem wir diese Beeinflussbarkeit der zerebralen Gefäßarchitektur klinisch und bildgebend nachgewiesen hatten, versuchten wir Rückschlüsse über die Ursachen des zerebralen Vasospasmus und der sekundären Hirnschädigung nach Subarachnoidalblutung zu gewinnen. Seit Veröffentlichung eines Perspektivenpapiers durch eine internationale Expertengruppe wurden inflammatorische Veränderungen nach Subarachnoidalblutung ebenfalls als mögliche Ursache für primäre und sekundäre Gehirnschäden hypothetisiert<sup>13</sup>. Um diesen Vorgängen weiter auf den Grund zu gehen und die Veränderungen in der zerebralen Mikrogefäßarchitektur mit inflammatorischen Vorgängen zu integrieren, begannen wir die klinischen Daten in experimentellen Anwendungen aufzuarbeiten.

## **2. Die funktionelle Analyse pro-inflammatorischer Eigenschaften im Liquor zerebrospinalis nach Subarachnoidalblutung in vivo und in vitro**

Ulf C. Schneider, Jennifer Schiffler, Nahid Hakiy, Peter Horn und Peter Vajkoczy  
*The Journal of Neuroinflammation* 2012<sup>51</sup>

Diese Arbeit haben wir mit dem Ziel durchgeführt, im Subarachnoidalraum, also im Liquor zerebrospinalis ein pro-inflammatorisches Milieu nachzuweisen, und zu evaluieren, ob der posthämorrhagische Liquor auch vasokonstriktive Eigenschaften ausbildet. Hierfür haben wir den ventrikulären Liquor (über eine externe Ventrikeldrainage (EVD)) von 10 Patienten nach schwerer SAB (WFNS Grad 3 oder schlechter) in zwei eigens dafür etablierten Bio-Assays untersucht und mit dem Liquor von gesunden Patienten verglichen, die sich einer diagnostischen lumbalen Myelographie unterzogen hatten.

Der Liquor wurde zum einen auf eine extra für den individuellen Patienten präparierte Rückenhautkammer an der Maus gegeben, welche die Beurteilung mikrovaskulärer Veränderungen als Reaktion auf das Superfusat zulässt und das Auftreten intravaskulärer inflammatorischer Veränderungen im Sinne einer gesteigerten Leukozyten-Endothelinteraktion in vivo zulässt. Intravitalmikroskopisch wurden mikrovaskuläre

Durchmesseränderungen, sowie die Anzahl rollender und haftender Leukozyten innerhalb der postkapillären Venolen gemessen. In einem in vitro Assay, in dem die Monozytentransmigrationsrate durch eine geschlossene Endothelzellschicht messbar war, haben wir ferner pro-inflammatorische Eigenschaften im Sinne einer Chemoattraktion von Immunzellen evaluiert.

Durch die Liquorsuperfusion kam es in der Rückenhautkammer der Maus ab ca. 4 Tagen nach der Blutung zu einer signifikanten Vasokonstriktion. Parallel hierzu induzierte der posthämorrhagische Liquor in der Mikrozirkulation eine signifikante Leukozyten-Endothelinteraktion im Sinne eines gesteigerten Rollens und Haftens der Leukozyten in den Venolen. Bei Patienten, bei denen ein zerebrales Ödem klinisch bildgebend apparent war, sahen wir zusätzlich eine erhöhte Extravasation der Fluoreszenzmarker als Hinweis auf eine gestörte Blutgefäßwandintegrität. Konkordant hiermit sahen wir in den in vitro-Versuchen eine deutlich höhere Monozytentransmigration auf den chemischen Reiz des posthämorrhagischen Liquors hin.

Zusammenfassend haben wir inflammatorische und vasospastische Eigenschaften des posthämorrhagischen Liquors im Verlauf einer Subarachnoidalblutung in vivo und in vitro gezeigt. Dieses so charakterisierte pro-inflammatorische Milieu des Subarachnoidalraumes könnte eine tragende Rolle in primärer und sekundärer Hirnschädigung nach SAB spielen, und trägt offenbar zur Ausprägung des zerebralen Vasospasmus im Verlauf dieser Erkrankung bei.

<http://dx.doi.org/10.1186/1742-2094-9-28>

Wir konnten also ein inflammatorisches Milieu im Subarachnoidalraum beschreiben, welches in zwei Assays deutliche Vasokonstriktionen auslöste. Um das klinische Phänomen des zerebralen Vasospasmus näher zu untersuchen, führten wir eine klinische Beobachtungsstudie durch, in der wir zur Früherkennung des zerebralen Vasospasmus spontane Blutdruckänderungen untersuchten.

### **3. Änderungen des Blutdrucks nach Subarachnoidalblutung haben eine Verbindung zum Auftreten eines zerebralen Vasospasmus und zum klinischen Verlauf**

Katharina Faust, Peter Horn, Ulf C. Schneider und Peter Vajkoczy.

**Clinical Neurology and Neurosurgery 2015<sup>52</sup>**

Der zerebrale Vasospasmus und aus ihm resultierende zerebrale Ischämien sind Teil der schwersten sekundären Komplikationen nach SAB. Die frühe Erkennung des zerebralen Vasospasmus ist nach wie vor eine der größten Herausforderungen in der Neuro-Intensivmedizin. Das Ziel dieser Studie war es daher frühe spontane Blutdruckveränderungen bei Patienten nach SAB auf ihre Relevanz bezüglich der Prädiktion des Vasospasmus und eines schlechten klinischen Verlaufes zu evaluieren.

In einer retrospektiven Studie untersuchten wir 98 Patienten nach SAB. Diese unterteilten wir in zwei Gruppen (mit Vasospasmus oder ohne Vasospasmus). Die Bestätigung des Vasospasmus geschah in einer routinemäßig an Tag 8 $\pm$ 1 durchgeführten zerebralen digitalen Subtraktionsangiographie, oder in einer solchen früher, falls klinische Zeichen eines Vasospasmus vorlagen. Systolische, diastolische und mittlere Blutdruckwerte wurden stündlich gemittelt und über die Zeitachse aufgetragen. Auf diese Weise wurde der Blutdruckverlauf mit dem Auftreten eines Vasospasmus und dem klinischen Verlauf korreliert. In beiden Patientengruppen kam es zu einem mehr oder minder ausgeprägten Blutdruckanstieg. Ab Tag 4 nach der Blutung kam es bei in der Patientengruppe mit Vasospasmus zu einem signifikant höheren Anstieg der systolischen, diastolischen und

mittleren Blutdruckwerte im Vergleich zu der Gruppe ohne Vasospasmus. Ein Anstieg von mehr als 20% innerhalb der ersten vier Tage war prädiktiv für die Entwicklung eines Vasospasmus. Ein Anstieg der mittleren Blutdruckwerte um mehr als 25% innerhalb der ersten Woche nach Blutung war prädiktiv für einen schlechten klinischen Verlauf.

Wir schlussfolgerten hieraus, dass eine aneurysmatische SAB zu spontanen Blutdruckveränderungen führt, welche in vielen Fällen die Vorhersage eines Vasospasmus erlaubt. Ein deutlicher Anstieg des mittleren arteriellen Drucks lässt sogar eine Aussage bezüglich eines schlechten klinischen Verlaufs zu.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clineuro.2014.06.023>

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clineuro.2014.06.023>

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clineuro.2014.06.023>

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clineuro.2014.06.023>

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clineuro.2014.06.023>

Nachdem wir ein pro-inflammatorisches Milieu extrazerebral darstellen konnten (Eigene Arbeit Nr.2), und hier Hinweise gewonnen hatten, dass die inflammatorischen Veränderungen durchaus einen Einfluss auf direkte und indirekte, oder primäre und sekundäre Hirnschädigung hatten, untersuchten wir im Rahmen weiterer experimenteller Studien, ob auch intrazerebrale inflammatorische Veränderungen nachweisbar sind, welcher Art diese sind und in wieweit sie quantitativ und mechanistisch zur Hirnschädigung nach SAB unabhängig vom zerebralen Vasospasmus beitragen.

#### **4. Mikroglia verursachen eine sekundäre Hirnschädigung nach Subarachnoidalblutung**

Ulf C. Schneider, Anja-Maria Davids, Susan Brandenburg, Annett Müller, Anna Elke, Salima Magrini, Etienne Atangana, Kati Turkowski, Tobias Finger, Angelika Gutenberg, Claire Gehlhaar, Wolfgang Brück, Frank Heppner und Peter Vajkoczy. *Acta Neuropathologica* 2015<sup>53</sup>

In dieser Arbeit konnten wir mehrere grundlegende neue Erkenntnisse gewinnen. Wir haben eine intrazerebrale Mikroglia-Akkumulation beschrieben, deren Zeitverlauf charakterisiert und durch Isolation der Mikroglia aus den Gehirnen der Mäuse das pro-inflammatorische Zytokinprofil definiert und so den aktivierten Status der Zellen bestätigt. Diese zelluläre Inflammationsreaktion benannten wir als „Cerebral Spreading Inflammation“. Zeitgleich mit der Mikroglia-Akkumulation im Gehirn konnten wir einen neuro-axonalen Schaden nachweisen. Da diese beiden Phänomene demselben Zeitverlauf folgten, adressierten wir einen potenziellen Mechanismus. Durch ein transgenes Mikroglia-Depletionsmodell an der Maus konnten wir nachweisen, dass nach signifikanter Mikroglia-Depletion der Verlust von Neuronen signifikant reduziert war und signifikant mehr vitale Neurone nachweisbar waren. Hieraus haben wir den Schluss abgeleitet, dass die Mikroglia-basierte „Cerebral Spreading Inflammation“ den neuronalen Zelluntergang verursacht. Denselben Verlauf an Mikroglia Akkumulation im Gehirngewebe haben wir an humanen Sektionspräparaten von Patienten

nach SAB ebenfalls nachweisen können, so dass es sich nicht um ein rein experimentelles Phänomen handelt, sondern beim Menschen ebenso auftritt. Diese „Cerebral Spreading Inflammation“ ist eine mögliche Erklärung für den schlechten klinischen Verlauf mancher SAB-Patienten.

Um einen klinischen in vivo Verlaufsparemeter für den strukturellen neuronalen Verlust im Verlauf nach SAB zu erreichen, hatten wir uns zunächst nach Möglichkeiten der neuropsychologischen Testung an der Maus umgesehen. Hier mussten wir leider feststellen, dass die Schäden, die eine SAB an der Maus verursacht offenbar zu subtil sind, um durch die doch noch sehr groben verfügbaren Messmethoden erfasst zu werden. Wir entschlossen uns daher für eine Gehirnvolumetrie mittels Kernspintomographie, um eine globale Hirnvolumenminderung, eine signifikante Zunahme des Liquorvolumens oder eine Minderung des Hippocampusvolumens als besonders sensibles Areal zu detektieren.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00401-015-1440-1>

## **5. Das zerebrale MRT an der Maus kann keine Veränderungen im Gehirnvolumen nach experimenteller Subarachnoidalblutung nachweisen.**

Etienne Atangana, David Homburg, Peter Vajkoczy und Ulf C. Schneider

*Acta Neurochirurgica* 2015<sup>54</sup>

In humanen MRT-Studien konnte eine generalisierte Gehirnatrophie nach Subarachnoidalblutung detektiert werden, welche als funktioneller Verlaufsparemeter für neuropsychologische Defizite erhalten könnte. Um herauszufinden, ob sich solche Änderungen des Gehirnvolumens auch in unseren experimentellen Modellen nachweisen lassen, führten wir Mäuse nach SAB einer repetitiven kernspintomographischen Untersuchung zu.

In einem 7-Tesla-Nagetier-Scanner wurden sechs Mäuse an den Tagen 1, 2, 4, 21, 42 und 60 nach SAB gemessen. Die Gesamtvolumina der Hemisphären, des Liquorsystems und der Hippocampi beidseitig wurden erhoben und mit denen parallel gemessener Sham-Tiere verglichen. In den Auswertungen fanden wir eine extrem hohe Reproduzierbarkeit der Messergebnisse mit minimaler Standardabweichung vom Mittelwert. Nichtsdestotrotz konnten weder Veränderung des Gesamtvolumens des Gehirns noch der Hippocampi im Verlauf der zwei Monate nach SAB nachgewiesen werden. Auffällig war ein temporärer Anstieg des Liquorvolumens um Tag 2 nach der Blutung, was am ehesten Ausdruck eines vorübergehenden Hydrozephalus malresorptivus war.

Auf diese Weise konnten wir der verwendeten Methode keine neuen Erkenntnisse in puncto Gehirnatrophie abgewinnen, was unserer Ansicht nach nicht an der Sensitivität der Methodik lag. Eine mögliche Erklärung für dieses Ergebnis wäre der unterschiedliche strukturelle Aufbau des Nagergehirns im Vergleich zum humanen, welches ein wesentlich höheres Grau- zu-Weiß-Verhältnis aufweist, so dass ein neuronaler Verlust, der sich mutmaßlich zuerst in der grauen Substanz zeigt beim Menschen eher in Erscheinung tritt.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-014-2276-5>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-014-2276-5>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-014-2276-5>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-014-2276-5>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-014-2276-5>

<http://dx.doi.org/10.1007/s00701-014-2276-5>

## Diskussion

### Integration und Zusammenfassung der eigenen Ergebnisse

Zusammenfassend konnten wir in den vorgelegten Arbeiten die folgenden prinzipiellen neuen Erkenntnisse gewinnen:

- Nach Subarachnoidalblutung kommt es beim Menschen wie auch im experimentellen Setting bei der Maus zu einer intrazerebralen zellulären Immunantwort mit Höhepunkt an Tag 14.
- Die dieser Immunantwort zu Grunde liegende Zelle ist die Mikrogliazelle, die hirneigenen Immunabwehrzelle.
- Die Mikroglia befinden sich in einem Zustand der pro-inflammatorischen Aktivierung, beurteilt an ihrem inflammatorischen Zytokin-Expressionsprofil.

Diese Mikroglia-Welle, die durch das Gehirn wandert haben wir als „**Cerebral Spreading Inflammation**“ neu definiert

- Nach Subarachnoidalblutung kommt es zu einem ausgeprägten neuro-axonalen Schaden, welcher substanzuell zur sekundären Hirnschädigung nach SAB beiträgt.
- Die Mikroglia-Aktivierung liegt dem neuro-axonalen Schaden kausal zu Grunde. Durch Mikroglia-Depletion kann selbiger signifikant reduziert werden.

Die „Cerebral Spreading Inflammation“ ist kausal an der sekundären Hirnschädigung nach SAB beteiligt.

- Im posthämorrhagischen Liquor findet sich ein deutlich zum pro-inflammatorischen hin verändertes Millieu, welches zum einen vasokonstriktive Effekte auf arterielle Blutgefäße hat und zum anderen die transendotheliale Migration von Monozyten aus dem Gefäßsystem anregt.

Darüber hinaus haben wir in klinischem Setting die Vorhersehbarkeit, sowie die Beeinflussbarkeit des zerebralen Vasospasmus und des klinischen Verlaufs nach SAB untersucht, und hier ebenfalls wichtige Erkenntnisse gewonnen, die nun im klinischen Alltag bei der Behandlung der SAB angewandt werden. Ob die in unserer erstgenannten Studie verwendeten NPRI auch ein anti-inflammatorisches Potential haben bleibt bislang noch offen.

In unseren Arbeiten untersuchten wir vasokonstriktive oder inflammatorische Veränderungen nach Subarachnoidalblutung in drei verschiedenen Kompartimenten des Zentralnervensystems: 1.) In den extrazerebralen Gefäßen, 2.) Im Subarachnoidalraum welcher diese und auch das intrazerebrale Kompartiment umgibt und 3.) Innerhalb des Gehirnparenchyms selbst. Die Inflammation im Subarachnoidalraum geht der intrazerebralen Inflammation zeitlich voraus, wirkt damit möglicherweise im Sinne einer „Outside-In Aktivierung“ und triggert die intrazerebrale Inflammation und somit die sekundäre Hirnschädigung.

## **Erläuterung der klinischen Ergebnisse im Kontext des aktuellen klinischen Standards**

In zwei Arbeiten konnten wir zum einen den sehr leicht und routinemäßig überwachbaren klinischen Verlaufsparemeter des arteriellen Blutdrucks als Früherkennungsmerkmal für den zerebralen Vasospasmus festlegen und zum anderen ein neues Medizinprodukt zur effektiven Therapie des Vasospasmus und sekundärer zerebraler Ischämien untersuchen. Letzteres scheint neben der rein vasodilatativen Wirkung noch eine weitere zu haben, da bislang rein vasodilatativ wirkende Substanzen noch keine Besserung des klinischen Verlaufs beweisen konnten<sup>3,20</sup>. Dennoch ist der zerebrale Vasospasmus mit der wichtigste Faktor für einen schlechten klinischen Verlauf und muss weiterhin konsequent bekämpft werden<sup>4,21</sup>. Die etablierten Früherkennungssysteme können aber den Vasospasmus erst detektieren, wenn er bereits eingesetzt hat – allen voran die transkranielle Dopplersonographie, aber auch die zerebrale Mikrodialyse oder die intrazerebrale Sauerstoffsättigung mittels intrakranieller

Sonde. Eine für die Zukunft in randomisierten Studien weiter zu validierende Methode zur Prädiktion des Vasospasmus wäre daher extrem wertvoll – insbesondere, wenn sie so leicht, flächendeckend und kontinuierlich angewandt werden kann.

Bezüglich weiterer Entwicklungen zur lokalen Vasospasmustherapie sind die Ergebnisse unserer Arbeit vergleichbar mit Resultaten, die bereits zuvor in experimentellen Studien an Maus und Hund erhoben wurden<sup>26-28</sup>. Wir werden daher weiterhin daran arbeiten dieses Medizinprodukt kommerziell zu entwickeln und der breiten Öffentlichkeit zugänglich zu machen.

## **Diskussion der inflammatorischen Prozesse im Subarachnoidalraum nach Subarachnoidalblutung**

In unseren Studien haben wir das pro-inflammatorische Milieu des Subarachnoidalraumes nach stattgehabter SAB in vivo und in vitro funktionell charakterisiert. Wir haben zwei Assays beschrieben, in welchen wir vasokonstriktive und inflammatorischen Eigenschaften humanen posthämorrhagischen Liquors nachweisen konnten. In diesem experimentellen Setup konnten wir eine signifikante frühe Vasokonstriktion, sowie entzündliche Veränderungen im Patientenliquor nachweisen. Die arterioläre Vasokonstriktion und die erhöhte Leukozyten-Endothelinteraktion gingen der klinischen Diagnose des zerebralen Vasospasmus bei den Patienten voraus. Die gesteigerte Chemotaxis der Monozyten in unserem in vitro Assay bestätigte eine erhöhte trans-endotheliale Migration inflammatorischer Zellen auf den Stimulus des posthämorrhagischen Liquors.

Der Einfluss inflammatorischer Veränderungen auf die frühe Hirnschädigung nach SAB, das Auftreten und die Ausprägung des zerebralen Vasospasmus, sowie eine Auswirkung auf die sekundäre Hirnschädigung werden seit einiger Zeit in der Fachliteratur diskutiert<sup>7,13,18,55-61</sup>.

Ebenso existieren Hypothesen, dass inflammatorische Veränderungen in der Wand von Aneurysmen die Ruptur mitbedingen können<sup>62-64</sup>. Dennoch sind die Mediatoren dieser Inflammation bislang unklar. Therapeutische Ziele konnten bislang nicht entdeckt werden.

Unter der Annahme, dass posthämorrhagischer Liquor eine hohe Zahl inflammatorischer Zellen in den Subarachnoidalraum lockt, und dort auf diese Weise ein inflammatorisches

Millieu entsteht, könnte dieses entlang der basalen Hirngefäße einen Vasospasmus ebenso mitbedingen wie eine frühe oder sekundäre Hirnschädigung. Als möglicher Mediator wurde das Zytokin IL-6 bereits von uns und anderen diskutiert. Eine Erhöhung dieses Zytokins wurde bei Patienten mit SAB sowohl extraparenchymatös (Liquor) als auch intraparenchymatös (Mikrodialysat) gefunden<sup>48</sup>. Auch in unseren experimentellen Studien konnten wir IL-6 als einen der maßgeblich beteiligten Faktoren identifizieren<sup>53</sup>. Zusätzlich konnten wir zeigen, dass Monozyten im Subarachnoidalraum eine mögliche Quelle für Interleukinausschüttung sind<sup>65,66</sup>. Um diese Hintergründe weiter zu beleuchten tragen die beiden in unseren Arbeiten beschriebenen Assays zur bestehenden Literatur bei und sind nützliches Instrument für weitere wissenschaftliche Fragen<sup>51</sup>.

## **Diskussion der zellulären Immunreaktion im Gehirngewebe**

Das Konzept inflammatorischer Veränderungen nach SAB ist neu und war bislang maßgeblich beschränkt auf perivaskuläre Veränderungen und den Subarachnoidalraum, sowie die Bildung zerebraler Aneurysmen<sup>67-70</sup>. Erst in jüngster Zeit wurde die Modulation inflammatorischer Prozesse mit einem veränderten Outcome nach Subarachnoidalblutung in Verbindung gebracht<sup>70-73</sup>. Durch die Etablierung eines verlässlichen Mausmodells für eine SAB konnten wir eine intrazerebrale Mikroglia-Akkumulation nachweisen, welche an der Stelle der Gefäßperforation begann, vergleichbar dem Verlauf an humanen Gehirnschnitten von Patienten, die an einer SAB verstorben waren. Das Maximum der „Cerebral Spreading Inflammation“ wurde in unserer Patientenkohorte durch einen deutlichen Anstieg in der Mortalitätsrate begleitet. Dieses Phänomen war also nicht nur ein experimentelles, sondern scheint einen klinisch relevanten Beitrag zur sekundären Hirnschädigung nach SAB beizusteuern. Bei Patienten nach SAB kommt es häufig zu einer verzögerten Phase der Re-Orientierung, was bislang weithin durch den stattgehabten Anstieg des intrakraniellen Drucks mit subsequentem Abfall der zerebralen Perfusion erklärt wurde. Eine „Spreading Inflammation“ stellt eine weitere Erklärung dar für diesen eingeschränkten klinischen Zustand

der Patienten, dessen Ursache oft nicht durch Standard-Bildgebungsverfahren erklärt werden kann<sup>53</sup>.

Neben Mikroglia sind weitere mononukleäre Zellen innerhalb des ZNS im Rahmen verschiedener pathophysiologischer Prozesse beschrieben. Abgesehen von peripheren Makrophagen, welche in das ZNS einwandern können, wurden bereits perivaskuläre, choroidale und meningeale Makrophagen beschrieben<sup>53,74</sup>.

In unserem Mausmodell sehen wir perivaskuläre, choroidale und meningeale Iba-1-positive Zellen. Generell sind diese Zellen recht heterogen. Nur etwa die Hälfte exprimiert Mikroglia-Marker. Auch ist ihre Herkunft bislang ausschließlich in der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis beschrieben<sup>53,74</sup>. Während diese Makrophagen im Modell der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis offenbar aus dem peripheren Blutpool kommen<sup>75</sup>, scheinen sie nach SAB einen nicht-peripheren Ursprung zu haben, wie wir in unseren Chimären-Experimenten nachweisen konnten<sup>53</sup>. Nichts desto Trotz könnte die intrazerebrale Mikroglia Akkumulation durch diese Makrophagen Subtypen stimuliert oder propagiert werden, so wie es bereits in der Enzephalomyelitis beschrieben wurde<sup>76,77</sup>. Es bleibt die Frage, warum Mikroglia, die im Grunde die Abwehrzellen des Gehirns sind ein bereits beträchtlich unter Stress stehendes Gehirn zusätzlich schädigen sollten. Nicht nur als Hauptzelle des zerebralen Abwehrsystems, sondern auch als „Hausmeister“ des Zentralnervensystems spielen die Mikroglia eine wesentliche Rolle zwischen Synaptogenese und entwicklungsbedingter Apoptose. Dennoch, oder gerade deswegen sind die Mechanismen, die ihrer Dialektik unterliegen bislang noch weitestgehend ungeklärt. Einige Proteine (z.B. IL-6, TNF- $\alpha$ , BDNF, KARAP/DAP12) wurden bereits verdächtigt, das Gleichgewicht der Mikroglia in die eine oder andere Richtung zu beeinflussen<sup>78</sup>. Auf diese Weise könnten aktivierungsabhängige Veränderungen von Mikroglia-Funktionen auch eine unzureichende Produktion trophischer Faktoren umfassen, die gewöhnlich von MG produziert werden. Auf diese Weise könnte ein Zustand Mikroglia-spezifischen Verlustes von Brain-derived neurotrophic Factor entstehen, von welchem zuletzt gezeigt wurde, dass er eine wichtige Rolle bei Lernprozessen und Synaptogenese inne hat<sup>53,79</sup>.

Gleichzeitig wurde aber ebenfalls beschrieben, dass eine fortgesetzte Mikroglia-Aktivierung in einer negativ-Feedback-Schleife und schließlich in einer über das Ziel hinaus schießenden

Reaktion enden kann, welche wie bei der Alzheimer'schen Erkrankung in einer prolongierten Immunaktivierung resultieren kann, und ebenfalls die dauerhafte Expression pro-inflammatorischer Zytokine, wie beispielsweise IL-12 und IL-13 verursachen, welche den Verlauf der Erkrankung verschlechtern<sup>33,53,80-82</sup>.

Interessanter Weise haben wir bei der Definition des Zytokin-Expressionsprofils unserer Mikroglia nicht nur eine hochregulierte Menge an pro-inflammatorischen Zytokinen gefunden, sondern auch eine hochregulierte Menge an deren Rezeptoren auf den Zellen, welche wiederum für eine erhöhte Sensibilität für das Ansprechen auf entsprechende Reize pro-inflammatorischer Zytokine Rechnung tragen, und welche eventuell sogar Hinweis geben auf eine parakrine, autokrine Stimulation. Im Rahmen unserer Experimente haben wir keine andere Quelle für IL-6- oder TNF- $\alpha$ -Produktion im ZNS gefunden, abgesehen von Mikroglia. Während der Anteil der Zellen, die IL-6 exprimierten deutlich geringer war, war der Anteil der Zellen, die TNF- $\alpha$  produzierten deutlich höher und lag bei ca. 30%<sup>53</sup>. Die Rolle beider Proteine bei Inflammation und Apoptose scheint sehr variabel zu sein. Beide können neben inflammatorischen auch Zelltodsignale bedingen<sup>80,83-85</sup>. Dennoch konnte von beiden Proteinen gezeigt werden, dass sie das neuronale Überleben unter bestimmten Voraussetzungen auch positiv beeinflussen können<sup>53,86-88</sup>.

In früheren Studien hatten wir bereits eine Hochregulation von IL-6 im Liquor und im Mikrodialysat bei Patienten nach SAB festgestellt und eine Korrelation mit der Schwere des klinischen Verlaufs hergestellt<sup>48</sup>. Später identifizierten wir die Mikroglia als zellulären Produzenten von IL-6. Da die Depletion der Mikroglia als Quelle beider Zytokine zu einer Verringerung des neuronalen Schadens geführt hat, scheint es dass beide, IL-6 und TNF- $\alpha$ , im Verlauf einer SAB eher eine schädigende Rolle spielen. Während wir an dieser Stelle nicht ausschließen können, dass weitere Zytokine eine Rolle in der inflammatorischen Kaskade spielen, welche wir nicht gezielt untersucht haben, ist bereits hier klar, dass auch das Wo und Wann von IL-6- und TNF- $\alpha$ -Angriffspunkten essentielle Determinanten für den Verlauf der Erkrankung darstellen<sup>53</sup>.

## **Das Fadenperforationsmodell für die experimentelle Subarachnoidalblutung**

Es existieren verschiedene Modelle für das Beibringen einer experimentellen Subarachnoidalblutung. Die beiden meist verwendeten sind das Blut-Injektionsmodell über eine Bohrlochtrepanation in die Zisterna magna und das Fadenperforationsmodell, dessen wir uns bedient haben<sup>89</sup>. Beim Injektionsmodell wird ein vorbestimmtes Volumen autologen Blutes unter konstantem Druck injiziert. Der Vorteil des Modells ist, dass durch Variation in Blutvolumen und -druck die Schwere der Blutung gut beeinflusst werden kann und ansonsten eine extrem hohe Konstanz bei deren Ausprägung gewährleistet ist. Beim Perforationsmodell ist die Ausprägung der Blutung nicht gleich schwer, so dass es in der direkten postoperativen Phase zu deutlich weniger Todesfällen kommt. Durch die Anlage einer Trepanation an sich kommt es jedoch bereits zu einer Entzündungsreaktion am Gehirngewebe<sup>90</sup>. Ferner ereignet sich die Blutung beim Perforationsmodell an derselben Stelle wie typischer Weise beim Menschen. Darüber hinaus ist es möglich, dass das Einreißen eines Gefäßes an sich bereits eine Rolle in den folgenden Pathomechanismen spielt<sup>91</sup>. Diese Gründe haben uns dazu bewogen das Fadenperforationsmodell für unsere Experimente heranzuziehen<sup>53</sup>.

In unseren Experimenten sahen wir eine einseitig beginnende Mikroglia-Ausbreitung, bevor die Reaktion auf beide Hemisphären übergriff. Eine gute Erklärung hierfür könnte ein direkter Schädigungsmechanismus sein. Dieser könnte beispielsweise chemisch weitergeleitet sein, z.B. durch Hämoglobinabbauprodukte, oder auch physikalisch durch Druckveränderungen an der Schädelbasis an der Blutungsstelle<sup>53</sup>. Eine weitere Erklärung wurde von Czosnyka und Mitarbeitern diskutiert, die eine asymmetrische Blutfluss-Autoregulation nach SAB nachweisen konnten<sup>10</sup>.

## **Kernspintomographische Hirnvolumetrie nach experimenteller Subarachnoidalblutung**

Im langfristigen Verlauf nach SAB zeigen viele Patienten bis zu einem gewissen Grad ein neuro-psychologisches Defizit, eine subtile Einschränkung oder sogar eine globale oder nur

lokale (Hippocampus) Hirnvolumenminderung<sup>92,93</sup>. Während wir diese Effekte durch unsere Daten des neuronalen Zelltodes untermauern können, bedarf es weiterer Untersuchungen, um die zu Grunde liegenden Mechanismen zu ergründen. Auch die Frage ob und in welcher Form kompensatorische Mechanismen greifen, um diese Defizite aufzuwiegen ist bislang nicht beantwortet. In unseren Arbeiten zu Hirnvolumenminderung, Verschiebung des Hirn-Liquor-Verhältnisses und Hippocampusvolumina im Mausmodell, untersucht in seriellen Kernspintomographie, konnten wir bislang keinen Hinweis auf eine messbare Einschränkung in unserem Mausmodell finden<sup>54</sup>. Mögliche Gründe hierfür sind unter anderem in der Methodik zu suchen, aber vorrangig und wahrscheinlicher im unterschiedlichen Aufbau des murinen und des humanen Gehirns. In der nahen Vergangenheit haben mehrere Gruppen begonnen von 2-dimensionaler MRT-Bildgebung bei der Volumetrie auf 3-dimensionale Bildgebung umzusteigen. Abgesehen von hübscheren Bildern sind auf diese Weise auch gezielte Untersuchungen bestimmter Kortexregionen möglich<sup>94,95</sup>. Das am häufigsten benutzte Verfahren ist jedoch nach wie vor die von uns angewandte 2-dimensionale Volumetrie und kann daher als Goldstandard angesehen werden<sup>96-98</sup>. Durch diese 2-dimensionale Messung, die wir benutzt haben konnten wir Veränderungen im Gesamtvolumen des Gehirns und des Liquors nachweisen welche nur wenige Mikroliter betragen, so dass wir davon ausgehen dürfen, dass diese Methode adäquat zur Beantwortung unserer Frage war. Abgesehen davon können neuere Methoden eventuell weitere wissenschaftliche Fragen in dieser Richtung beantworten.

Wahrscheinlicher ist also, dass die Gründe für die Tatsache, dass wir im Gegensatz zum Menschen in unseren Mäusen keine Atrophie nachweisen konnten im unterschiedlichen Aufbau der Gehirne zwischen den Spezies liegt. Die Relation von grauer zu weißer Substanz ist beim Menschen zugunsten der grauen Substanz höher als beim Nager. In vielen Studien in denen Gehirnatrophie in verschiedenen Krankheitsbildern beschrieben ist, wurde bestätigt, dass die graue Substanz deutlich schneller zugrunde geht als die weiße<sup>92,99-101</sup>. Bei Patienten mit subkortikalen Infarkten konnte sogar eine kortikale Atrophie im assoziierten Bereich gesehen werden<sup>102</sup>. Auf diese Weise könnte ein mehr gyriertes Gehirn leichter der Atrophie anheim fallen als ein weniger gyriertes<sup>54</sup>

Unser aktuelles Verständnis der inflammatorischen Prozesse nach SAB – basierend auf unseren aktuellen Ergebnissen – ist das einer Outside-In-Aktivierung. Zuerst kommt es zu einer Aktivierung der Leukozyten-Endothelinteraktion innerhalb des Gefäßsystems, außerhalb des Gehirns. Daran anschließend entsteht eine Akkumulation und Aktivierung von Mikroglia innerhalb des Gehirns, welche dann zu einem neuronalen Zelltod und subsequent zu einer deutlich reduzierten Zahl überlebender Neurone führt. Ob die effektive Behandlung des Vasospasmus durch NPRI in klinischen Studien auch eine anti-inflammatorische Wirkung hat bleibt bislang noch unklar. Die Patienten, die mit NPRI behandelt wurden zeigten allerdings nach 6 Monaten einen deutlich verbesserten klinischen Verlauf, was bislang durch die alleinige Bekämpfung des zerebralen Vasospasmus nicht erreicht werden konnte<sup>3,20</sup>

## Zusammenfassung

In den vorgelegten Arbeiten beschreiben wir vasokonstriktive oder inflammatorische Veränderungen nach Subarachnoidalblutung, die 1.) im Gefäßsystem, 2.) im Subarachnoidalraum, der die Gehirngefäße umscheidet, und 3.) in Form einer zellulären Immunantwort innerhalb des Gehirnparenchyms auftreten. Die intravaskuläre Inflammation ist von einer Vasokonstriktion begleitet, welche als klinisches Korrelat für einen zerebralen Vasospasmus angesehen werden kann. Die Kaskade der Inflammation läuft nach einem gut charakterisierten Schema ab. Zuerst kommt es ca. 2-4 Tage nach der Blutung zur Ausbildung eines inflammatorischen Milieus im Subarachnoidalraum welches sich durch eine gesteigerte Immunzellattraktion auszeichnet und ein erhöhtes Vasospasmuspotential bedingt. An zwei Bio-Assays konnten wir hier Patientenliquor nach SAB untersuchen, um diese Reaktionen in vivo und in vitro zu charakterisieren.

In klinischen Arbeiten konnten wir den Spontanverlauf des arteriellen Blutdrucks als Früherkennungsmerkmal für das Auftreten eines zerebralen Vasospasmus definieren und haben ein neues Medizinprodukt zur Verhinderung des Vasospasmus und zerebraler Ischämien nach SAB in der Anwendung am Patienten untersucht.

Im zeitlichen Verlauf etwas nach den inflammatorischen Reaktionen im Subarachnoidalraum kommt es zum Einsetzen einer intrazerebralen Immunzellakkumulation welche sich von Tag 4 bis Tag 14 nach der Blutung ausbreitet und dann bis Tag 28 gleichmäßig über beide Hemisphären verteilt. Die zu Grunde liegende Zelle konnten wir als Mikroglia identifizieren und dieser einen aktivierten, pro-inflammatorischen Status nachweisen. Dieses Phänomen haben wir erstmalig als „Cerebral Spreading Inflammation“ beschrieben. Ein im Verlauf der SAB fortschreitender neuronaler Zelltod mit einer signifikant verminderten Zahl vitaler Neurone konnte durch Depletion der Mikroglia in einem transgenen Mausmodell aufgehalten werden.

Als maßgeblich beteiligte pro-inflammatorische Cytokine konnten IL-6 und TNF- $\alpha$  identifiziert werden, die mitsamt ihrer Rezeptoren auf Mikroglia hochreguliert waren, die mit Hilfe einer magnetischen Sortierungsverfahrens aus Maushirnen isoliert wurden.

Wir haben in unseren Arbeiten deutlich den Einfluss inflammatorischer Veränderungen auf die sekundäre Hirnschädigung nach Subarachnoidalblutung in Tiermodellen und auch im menschlichen Organismus gezeigt, grundlegende Mechanismen beschrieben und zuvor unbekannte Reaktionen neu definiert. Durch unsere Studien sind darüber hinaus weitere wissenschaftliche Untersuchungen ermöglicht und neue diagnostische und therapeutische Ziele identifiziert worden.

## Literatur

1. Hanafy KA. The role of microglia and the TLR4 pathway in neuronal apoptosis and vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Neuroinflammation*. 2013;10(1):83. doi:10.1186/1742-2094-10-83.
2. Dorsch NW, King MT. A review of cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid haemorrhage Part I: Incidence and effects. *J Clin Neurosci*. 1994;1(1):19-26.
3. Beck J, Raabe A. Clazosentan: prevention of cerebral vasospasm and the potential to overcome infarction. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;110(Pt 2):147-150. doi:10.1007/978-3-7091-0356-2\_26.
4. Macdonald RL. Delayed neurological deterioration after subarachnoid haemorrhage. *Nat Rev Neurol*. 2014;10(1):44-58. doi:10.1038/nrneurol.2013.246.
5. Greenberg MS. *Handbook of Neurosurgery*. Thieme; 2010.
6. Zhou Y, Martin RD, Zhang JH. Advances in experimental subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;110(Pt 1):15-21. doi:10.1007/978-3-7091-0353-1\_3.
7. Ostrowski RP, Colohan AR, Zhang JH. Molecular mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*. 2006;28(4):399-414. doi:10.1179/016164106X115008.
8. Ostrowski RP, Colohan ART, Zhang JH. Mechanisms of hyperbaric oxygen-induced neuroprotection in a rat model of subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(5):554-571. doi:10.1038/sj.jcbfm.9600048.
9. Enzmann G, Mysiorek C, Gorina R, et al. The neurovascular unit as a selective barrier to polymorphonuclear granulocyte (PMN) infiltration into the brain after ischemic injury. *Acta Neuropathol*. 2013;125(3):395-412. doi:10.1007/s00401-012-1076-3.
10. Budohoski KP, Czosnyka M, Smielewski P, et al. Cerebral autoregulation after subarachnoid hemorrhage: comparison of three methods. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33(3):449-456. doi:10.1038/jcbfm.2012.189.
11. Dreier JP, Major S, Manning A, et al. Cortical spreading ischaemia is a novel process involved in ischaemic damage in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Brain*. 2009;132(Pt 7):1866-1881. doi:10.1093/brain/awp102.
12. Bosche B, Graf R, Ernestus R-I, et al. Recurrent spreading depolarizations after subarachnoid hemorrhage decreases oxygen availability in human cerebral cortex. *Ann Neurol*. 2010;67(5):607-617. doi:10.1002/ana.21943.
13. Hansen-Schwartz J, Vajkoczy P, Macdonald RL, Pluta RM, Zhang JH. Cerebral vasospasm: looking beyond vasoconstriction. *Trends Pharmacol Sci*. 2007;28(6):252-256. doi:10.1016/j.tips.2007.04.002.
14. Molyneux AJ, Kerr RSC, Birks J, et al. Risk of recurrent subarachnoid haemorrhage, death, or dependence and standardised mortality ratios after clipping or coiling of an intracranial aneurysm in the International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT): long-term follow-up. *Lancet Neurol*. 2009;8(5):427-433. doi:10.1016/S1474-4422(09)70080-8.
15. Molyneux AJ, Birks J, Clarke A, Sneade M, Kerr RSC. The durability of

- endovascular coiling versus neurosurgical clipping of ruptured cerebral aneurysms: 18 year follow-up of the UK cohort of the International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT). *Lancet*. 2015;385(9969):691-697. doi:10.1016/S0140-6736(14)60975-2.
16. Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to subarachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery*. 1980;6(1):1-9.
  17. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332(6163):411-415. doi:10.1038/332411a0.
  18. Gaetani P, Rodriguez y Baena R, Grignani G, Spanu G, Pacchiarini L, Paoletti P. Endothelin and aneurysmal subarachnoid haemorrhage: a study of subarachnoid cisternal cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1994;57(1):66-72.
  19. Goto K, Kasuya Y, Matsuki N, et al. Endothelin activates the dihydropyridine-sensitive, voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86(10):3915-3918.
  20. Macdonald RL, Kassell NF, Mayer S, et al. Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1): randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 dose-finding trial. *Stroke*. 2008;39(11):3015-3021. doi:10.1161/STROKEAHA.108.519942.
  21. Macdonald RL, Higashida RT, Keller E, et al. Preventing vasospasm improves outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: rationale and design of CONSCIOUS-2 and CONSCIOUS-3 trials. *Neurocrit Care*. 2010;13(3):416-424. doi:10.1007/s12028-010-9433-3.
  22. Clark JF, Loftspring M, Wurster WL, Pyne-Geithman GJ. Chemical and biochemical oxidations in spinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *Front Biosci*. 2008;13:1806-1812.
  23. Park S, Yamaguchi M, Zhou C, Calvert JW, Tang J, Zhang JH. Neurovascular protection reduces early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2004;35(10):2412-2417. doi:10.1161/01.STR.0000141162.29864.e9.
  24. Stein SC, Browne KD, Chen X-H, Smith DH, Graham DI. Thromboembolism and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: an autopsy study. *Neurosurgery*. 2006;59(4):781-7-discussion787-8. doi:10.1227/01.NEU.0000227519.27569.45.
  25. Tiebosch IACW, Dijkhuizen RM, Cobelens PM, et al. Effect of interferon- $\beta$  on neuroinflammation, brain injury and neurological outcome after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2013;18(1):96-105. doi:10.1007/s12028-012-9692-2.
  26. Kasuya H, Kawashima A, Sasahara A, Onda H, Hori T. Development of nicardipine prolonged-release implants for preventing vasospasm. *Acta Neurochir Suppl*. 2001;77:217-220.
  27. Kasuya H, Onda H, Takeshita M, Okada Y, Hori T. Efficacy and safety of nicardipine prolonged-release implants for preventing vasospasm in humans. *Stroke*. 2002;33(4):1011-1015.
  28. Kasuya H, Onda H, Sasahara A, Takeshita M, Hori T. Application of nicardipine prolonged-release implants: analysis of 97 consecutive patients with acute subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2005;56(5):895-902; discussion895-discussion902.

29. Barth M, Capelle H-H, Weidauer S, et al. Effect of nicardipine prolonged-release implants on cerebral vasospasm and clinical outcome after severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a prospective, randomized, double-blind phase IIa study. *Stroke*. 2007;38(2):330-336. doi:10.1161/01.STR.0000254601.74596.0f.
30. Pluta RM, Hansen-Schwartz J, Dreier J, et al. Cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage: time for a new world of thought. *Neurol Res*. 2009;31(2):151-158. doi:10.1179/174313209X393564.
31. Thomé C, Seiz M, Schubert GA, et al. Nicardipine pellets for the prevention of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;110(Pt 2):209-211. doi:10.1007/978-3-7091-0356-2\_38.
32. Aungst SL, Kabadi SV, Thompson SM, Stoica BA, Faden AI. Repeated mild traumatic brain injury causes chronic neuroinflammation, changes in hippocampal synaptic plasticity, and associated cognitive deficits. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014;34(7):1223-1232. doi:10.1038/jcbfm.2014.75.
33. Berg Vom J, Prokop S, Miller KR, et al. Inhibition of IL-12/IL-23 signaling reduces Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline. *Nat Med*. 2012;18(12):1812-1819. doi:10.1038/nm.2965.
34. Heppner FL, Greter M, Marino D, et al. Experimental autoimmune encephalomyelitis repressed by microglial paralysis. *Nat Med*. 2005;11(2):146-152. doi:10.1038/nm1177.
35. Krabbe G, Halle A, Matyash V, et al. Functional impairment of microglia coincides with Beta-amyloid deposition in mice with Alzheimer-like pathology. Priller J, ed. *PLoS ONE*. 2013;8(4):e60921. doi:10.1371/journal.pone.0060921.
36. Ajami B, Bennett JL, Krieger C, McNagny KM, Rossi FMV. Infiltrating monocytes trigger EAE progression, but do not contribute to the resident microglia pool. *Nat Neurosci*. 2011;14(9):1142-1149. doi:10.1038/nn.2887.
37. Kierdorf K, Erny D, Goldmann T, et al. Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways. *Nat Neurosci*. 2013;16(3):273-280. doi:10.1038/nn.3318.
38. Ransohoff RM, Cardona AE. The myeloid cells of the central nervous system parenchyma. *Nature*. 2010;468(7321):253-262. doi:10.1038/nature09615.
39. Goldmann T, Wieghofer P, Müller PF, et al. A new type of microglia gene targeting shows TAK1 to be pivotal in CNS autoimmune inflammation. *Nat Neurosci*. 2013;16(11):1618-1626. doi:10.1038/nn.3531.
40. Prinz M, Priller J, Sisodia SS, Ransohoff RM. Heterogeneity of CNS myeloid cells and their roles in neurodegeneration. *Nat Neurosci*. 2011;14(10):1227-1235. doi:10.1038/nn.2923.
41. Michaud J-P, Rivest S. Anti-inflammatory Signaling in Microglia Exacerbates Alzheimer's Disease-Related Pathology. *Neuron*. 2015;85(3):450-452. doi:10.1016/j.neuron.2015.01.021.
42. Ritzel RM, Patel AR, Grenier JM, et al. Functional differences between microglia and monocytes after ischemic stroke. *J Neuroinflammation*. 2015;12(1):106. doi:10.1186/s12974-015-0329-1.
43. Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *J Leukoc Biol*. 2010;87(5):779-789. doi:10.1189/jlb.1109766.

44. Mathiesen T, Edner G, Ulfarsson E, Andersson B. Cerebrospinal fluid interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor-alpha following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1997;87(2):215-220. doi:10.3171/jns.1997.87.2.0215.
45. McGirt MJ, Mavropoulos JC, McGirt LY, et al. Leukocytosis as an independent risk factor for cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 2003;98(6):1222-1226. doi:10.3171/jns.2003.98.6.1222.
46. Tam AKH, Ildigwe D, Mocco J, et al. Impact of systemic inflammatory response syndrome on vasospasm, cerebral infarction, and outcome after subarachnoid hemorrhage: exploratory analysis of CONSCIOUS-1 database. *Neurocrit Care.* 2010;13(2):182-189. doi:10.1007/s12028-010-9402-x.
47. McDonald CT, Carter BS, Putman C, Ogilvy CS. Subarachnoid Hemorrhage. *Curr Treat Options Cardiovasc Med.* 2001;3(5):429-439.
48. Sarrafzadeh A, Schlenk F, Gericke C, Vajkoczy P. Relevance of cerebral interleukin-6 after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care.* 2010;13(3):339-346. doi:10.1007/s12028-010-9432-4.
49. Sarrafzadeh A, Schlenk F, Meisel A, Dreier J, Vajkoczy P, Meisel C. Immunodepression after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2011;42(1):53-58. doi:10.1161/STROKEAHA.110.594705.
50. Schneider UC, Dreher S, Hoffmann K-T, Schmiedek P, Kasuya H, Vajkoczy P. The use of nicardipine prolonged release implants (NPRI) in microsurgical clipping after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: comparison with endovascular treatment. *Acta Neurochir (Wien).* 2011;153(11):2119-2125. doi:10.1007/s00701-011-1129-8.
51. Schneider UC, Schiffler J, Hakiy N, Horn P, Vajkoczy P. Functional analysis of Pro-inflammatory properties within the cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage in vivo and in vitro. *J Neuroinflammation.* 2012;9(1):28. doi:10.1186/1742-2094-9-28.
52. Faust K, Horn P, Schneider UC, Vajkoczy P. Blood pressure changes after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and their relationship to cerebral vasospasm and clinical outcome. *Clin Neurol Neurosurg.* 2014;125:36-40. doi:10.1016/j.clineuro.2014.06.023.
53. Schneider UC, Davids A-M, Brandenburg S, et al. Microglia inflict delayed brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neuropathol.* May 2015:1-17. doi:10.1007/s00401-015-1440-1.
54. Atangana EN, Homburg D, Vajkoczy P, Schneider UC. Mouse cerebral magnetic resonance imaging fails to visualize brain volume changes after experimental subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir (Wien).* 2015;157(1):37-42. doi:10.1007/s00701-014-2276-5.
55. Gaetani P, Tartara F, Pignatti P, Tancioni F, Rodriguez y Baena R, De Benedetti F. Cisternal CSF levels of cytokines after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res.* 1998;20(4):337-342.
56. Gaetani P, Marzatico F, Renault B, et al. High-dose methylprednisolone and "ex vivo" release of eicosanoids after experimental subarachnoid haemorrhage. *Neurol Res.* 1990;12(2):111-116.
57. Gaetani P, Rodriguez y Baena R, Tartara F, et al. Metalloproteases and intracranial vascular lesions. *Neurol Res.* 1999;21(4):385-390.
58. Gaetani P, Tancioni F, Grignani G, et al. Platelet derived growth factor and

- subarachnoid haemorrhage: a study on cisternal cerebrospinal fluid. *Acta Neurochir (Wien)*. 1997;139(4):319-324.
59. Gaetani P, Cafe C, Rodriguez y Baena R, et al. Superoxide dismutase activity in cisternal cerebrospinal fluid after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)*. 1997;139(11):1033-1037.
60. Rodriguez y Baena R, Gaetani P, Paoletti P. A study on cisternal CSF levels of arachidonic acid metabolites after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Sci*. 1988;84(2-3):329-335.
61. Rodriguez y Baena R, Gaetani P, Silvani V, Viganò T, Crivellari MT, Paoletti P. Cisternal and lumbar CSF levels of arachidonate metabolites after subarachnoid haemorrhage: an assessment of the biochemical hypothesis of vasospasm. *Acta Neurochir (Wien)*. 1987;84(3-4):129-135.
62. Tulamo R, Frösen J, Junnikkala S, et al. Complement activation associates with saccular cerebral artery aneurysm wall degeneration and rupture. *Neurosurgery*. 2006;59(5):1069-1076; discussion1076-1077. doi:10.1227/01.NEU.0000245598.84698.26.
63. Frösen J, Piippo A, Paetau A, et al. Remodeling of saccular cerebral artery aneurysm wall is associated with rupture: histological analysis of 24 unruptured and 42 ruptured cases. *Stroke*. 2004;35(10):2287-2293. doi:10.1161/01.STR.0000140636.30204.da.
64. Kataoka K, Taneda M, Asai T, Kinoshita A, Ito M, Kuroda R. Structural fragility and inflammatory response of ruptured cerebral aneurysms. A comparative study between ruptured and unruptured cerebral aneurysms. *Stroke*. 1999;30(7):1396-1401.
65. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, et al. Endothelin-1 in subarachnoid hemorrhage: An acute-phase reactant produced by cerebrospinal fluid leukocytes. *Stroke*. 2000;31(12):2971-2975.
66. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, et al. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2001;70(4):534-537.
67. Chalouhi N, Ali MS, Jabbour PM, et al. Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(9):1659-1676. doi:10.1038/jcbfm.2012.84.
68. Hasan DM, Chalouhi N, Jabbour P, et al. Evidence that acetylsalicylic acid attenuates inflammation in the walls of human cerebral aneurysms: preliminary results. *J Am Heart Assoc*. 2013;2(1):e000019. doi:10.1161/JAHA.112.000019.
69. Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, et al. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery*. 2003;53(1):123-33-discussion133-5.
70. Provencio JJ. Inflammation in subarachnoid hemorrhage and delayed deterioration associated with vasospasm: a review. *Acta Neurochir Suppl*. 2013;115(Chapter 42):233-238. doi:10.1007/978-3-7091-1192-5\_42.
71. Smithason S, Moore SK, Provencio JJ. Low-dose lipopolysaccharide injection prior to subarachnoid hemorrhage modulates Delayed Deterioration associated with vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*. 2013;115:253-258. doi:10.1007/978-3-7091-1192-5\_45.

72. Smithason S, Moore SK, Provencio JJ. Systemic administration of LPS worsens delayed deterioration associated with vasospasm after subarachnoid hemorrhage through a myeloid cell-dependent mechanism. *Neurocrit Care*. 2012;16(2):327-334. doi:10.1007/s12028-011-9651-3.
73. Provencio JJ, Altay T, Smithason S, Moore SK, Ransohoff RM. Depletion of Ly6G/C(+) cells ameliorates delayed cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *J Neuroimmunol*. 2011;232(1-2):94-100. doi:10.1016/j.jneuroim.2010.10.016.
74. Bogie JFJ, Stinissen P, Hendriks JJA. Macrophage subsets and microglia in multiple sclerosis. *Acta Neuropathol*. 2014;128(2):191-213. doi:10.1007/s00401-014-1310-2.
75. McMenemy PG, Wealthall RJ, Deverall M, Cooper SJ, Griffin B. Macrophages and dendritic cells in the rat meninges and choroid plexus: three-dimensional localisation by environmental scanning electron microscopy and confocal microscopy. *Cell Tissue Res*. 2003;313(3):259-269. doi:10.1007/s00441-003-0779-0.
76. Bauer J, Huitinga I, Zhao W, Lassmann H, Hickey WF, Dijkstra CD. The role of macrophages, perivascular cells, and microglial cells in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Glia*. 1995;15(4):437-446. doi:10.1002/glia.440150407.
77. Fabriek BO, Van Haastert ES, Galea I, et al. CD163-positive perivascular macrophages in the human CNS express molecules for antigen recognition and presentation. *Glia*. 2005;51(4):297-305. doi:10.1002/glia.20208.
78. Bessis A, Béchade C, Bernard D, Roumier A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia*. 2007;55(3):233-238. doi:10.1002/glia.20459.
79. Parkhurst CN, Yang G, Ninan I, et al. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell*. 2013;155(7):1596-1609. doi:10.1016/j.cell.2013.11.030.
80. Heneka MT, Kummer MP, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(7):463-477. doi:10.1038/nri3705.
81. Müller A, Brandenburg S, Turkowski K, Müller S, Vajkoczy P. Resident microglia, and not peripheral macrophages, are the main source of brain tumor mononuclear cells. *Int J Cancer*. 2014;137(2):278-288. doi:10.1002/ijc.29379.
82. Zhang B, Gaiteri C, Bodea L-G, et al. Integrated systems approach identifies genetic nodes and networks in late-onset Alzheimer's disease. *Cell*. 2013;153(3):707-720. doi:10.1016/j.cell.2013.03.030.
83. Aktas O, Smorodchenko A, Brocke S, et al. Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL. *Neuron*. 2005;46(3):421-432. doi:10.1016/j.neuron.2005.03.018.
84. Aktas O, Ullrich O, Infante-Duarte C, Nitsch R, Zipp F. Neuronal damage in brain inflammation. *Arch Neurol*. 2007;64(2):185-189. doi:10.1001/archneur.64.2.185.
85. Zipp F, Aktas O. The brain as a target of inflammation: common pathways link inflammatory and neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci*. 2006;29(9):518-527. doi:10.1016/j.tins.2006.07.006.
86. Hoffmann O, Priller J, Prozorovski T, et al. TRAIL limits excessive host immune responses in bacterial meningitis. *J Clin Invest*. 2007;117(7):2004-2013. doi:10.1172/JCI30356.

87. Leibinger M, Müller A, Gobrecht P, Diekmann H, Andreadaki A, Fischer D. Interleukin-6 contributes to CNS axon regeneration upon inflammatory stimulation. *Cell Death Dis.* 2013;4:e609. doi:10.1038/cddis.2013.126.
88. Tan Y, Uchida K, Nakajima H, et al. Blockade of interleukin 6 signaling improves the survival rate of transplanted bone marrow stromal cells and increases locomotor function in mice with spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2013;72(10):980-993. doi:10.1097/NEN.0b013e3182a79de9.
89. Titova E, Ostrowski RP, Zhang JH, Tang J. Experimental models of subarachnoid hemorrhage for studies of cerebral vasospasm. *Neurol Res.* 2009;31(6):568-581. doi:10.1179/174313209X382412.
90. Kozai TDY, Vazquez AL, Weaver CL, Kim S-G, Cui XT. In vivo two-photon microscopy reveals immediate microglial reaction to implantation of microelectrode through extension of processes. *J Neural Eng.* 2012;9(6):066001. doi:10.1088/1741-2560/9/6/066001.
91. Hashimoto T, Meng H, Young WL. Intracranial aneurysms: links among inflammation, hemodynamics and vascular remodeling. *Neurol Res.* 2006;28(4):372-380. doi:10.1179/016164106X14973.
92. Bendel P, Koivisto T, Niskanen E, et al. Brain atrophy and neuropsychological outcome after treatment of ruptured anterior cerebral artery aneurysms: a voxel-based morphometric study. *Neuroradiology.* 2009;51(11):711-722. doi:10.1007/s00234-009-0552-5.
93. Bendel P, Koivisto T, Hänninen T, et al. Subarachnoid hemorrhage is followed by temporomesial volume loss: MRI volumetric study. *Neurology.* 2006;67(4):575-582. doi:10.1212/01.wnl.0000230221.95670.bf.
94. Gazdzinski LM, Cormier K, Lu FG, Lerch JP, Wong CS, Nieman BJ. Radiation-induced alterations in mouse brain development characterized by magnetic resonance imaging. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;84(5):e631-e638. doi:10.1016/j.ijrobp.2012.06.053.
95. Grand'maison M, Zehntner SP, Ho M-K, et al. Early cortical thickness changes predict  $\beta$ -amyloid deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2013;54:59-67. doi:10.1016/j.nbd.2013.02.005.
96. Aerts A, Devolder I, Weinberg SM, et al. Haploinsufficiency of interferon regulatory factor 6 alters brain morphology in the mouse. *Am J Med Genet A.* 2014;164(3):655-660. doi:10.1002/ajmg.a.36333.
97. Gaberel T, Gakuba C, Hebert M, et al. Intracerebral hematomas disappear on T2\*-weighted images during normobaric oxygen therapy. *Stroke.* 2013;44(12):3482-3489. doi:10.1161/STROKEAHA.113.002045.
98. Loane DJ, Kumar A, Stoica BA, Cabatbat R, Faden AI. Progressive neurodegeneration after experimental brain trauma: association with chronic microglial activation. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2014;73(1):14-29. doi:10.1097/NEN.000000000000021.
99. Dietrich J. Chemotherapy associated central nervous system damage. *Adv Exp Med Biol.* 2010;678:77-85.
100. Firbank MJ, Burton EJ, Barber R, et al. Medial temporal atrophy rather than white matter hyperintensities predict cognitive decline in stroke survivors. *Neurobiol Aging.* 2007;28(11):1664-1669. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2006.07.009.

101. Wolf RC, Vasic N, Schönfeldt-Lecuona C, Ecker D, Landwehrmeyer GB. Cortical dysfunction in patients with Huntington's disease during working memory performance. *Hum Brain Mapp.* 2009;30(1):327-339. doi:10.1002/hbm.20502.
102. Duering M, Righart R, Csanadi E, et al. Incident subcortical infarcts induce focal thinning in connected cortical regions. *Neurology.* 2012;79(20):2025-2028. doi:10.1212/WNL.0b013e3182749f39.

## Danksagung

An vorderster Stelle danke ich meiner Frau Miriam für die kontinuierliche Unterstützung und die fortgesetzte Toleranz für langes Arbeiten in Labor und Klinik, welches mit wissenschaftlichem Arbeiten neben einer bereits hohen beruflichen Belastung in der Klinik verbunden war. Auch meinen beiden Kindern Antonia und Fiete gebührt mein Dank – aus demselben Grund – wenngleich sie die Hintergründe und Motive wahrscheinlich erst viel später begreifen werden.

Ich danke meinen Eltern für die Erziehung und Unterstützung, der ich mir in jeder Lebenslage sicher sein durfte. Erstgenannte hat nun hoffentlich die Früchte getragen, die bei der Erstellung dieser Arbeit unverzichtbar waren.

Überaus dankbar bin ich meinem Chef und Mentor Peter Vajkoczy, der mich in guten Zeiten in jeder Hinsicht unterstützt, in schwierigen Phasen zu neuem Mut angespornt, und mir wiederholt in Erinnerung gerufen hat, dass es keine Alternative zum Durchhalten gibt. Zusammen mit unserem ehemaligen Chef, Herrn Prof. Dr. Peter Schmiedek, ist er bereits extrem frühzeitig sehr verbindlich für mich eingetreten. Ohne ihn wäre ich sicher nicht in der heutigen Position und nicht in der Lage gewesen diese Arbeit abzugeben.

Meine Freunde und Kollegen Marcus Czabanka, Johannes Woitzik und Nils Hecht waren immer eine große Stütze, gleich ob es um wissenschaftlichen, klinischen, zeitlichen oder persönlichen Rat ging.

Mein Doktorvater Lothar Schilling hat - zusammen mit Johannes Woitzik - in mir den Drang zu wissenschaftlichem Nachfragen geweckt. Er stand mir immer und steht mir auch heute noch weit über das übliche Maß hinaus hilfreich zur Seite.

Ich danke allen Mitarbeitern in den beiden Laboren in Mannheim und Berlin in denen ich arbeiten durfte. Ohne die Unterstützung großartiger TAs, Biologen und Doktoranden ist kein sinnvolles Arbeiten neben der Klinik möglich.

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- Weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftler/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....

Datum

.....

Unterschrift