

4 Diskussion

4.1 Schädel-Hirn-Trauma-Modelle

Je nach bearbeiteter Fragestellung bedient man sich verschiedener Modelle zur experimentellen Imitation des SHT. Ein jedes von ihnen betont einen anderen pathophysiologischen Teilaspekt, bzw. deren Kombination. Die wichtigsten Teilaspekte sind die fokale Kontusion, die traumatische Blutung, die Ischämie, das Hirnödem sowie der diffuse Axonschaden (Bullock, 1997). Die Problematik der Modelle besteht im Anspruch, einerseits ein sehr komplexes humanes Krankheitsbild möglichst detailgetreu in ein tierexperimentelles Modell zu übertragen und andererseits einzelne Teilaspekte möglichst isoliert einer Untersuchung zugänglich zu machen. Aus diesem Grund existieren seit Jahren verschiedene Traumamodelle, die ein pathophysiologisches Verständnis des SHT ermöglichen.

In den letzten Jahren haben sich zunehmend Versuche an Nagetieren durchgesetzt, vor allem mit Ratten. Die damit zusammenhängenden Vor- und Nachteile werden wie folgt benannt (Dixon und Hayes, 1997):

- Vorteile:
1. Unkomplizierte anästhetische und chirurgische Handhabung während der Versuchsdurchführung,
 2. Fundiertes Wissen um Normwerte in einer Vielzahl von physiologischen Variablen,
 3. Kompatibilität mit einer Vielzahl von neurochemischen und histologischen Techniken mit großem Erfahrungsschatz,
 4. hohe Infektionsresistenz,
 5. präzise Daten über Alter, Gewicht und genetischen Hintergrund der Tiere,
 6. Beschaffung und Versorgung der Tiere mit geringem finanziellen Aufwand,
 7. Effizienz und Ökonomie im Einsatz von Pharmaka und Reagenzien aufgrund des geringen Körpergewichts.

Als Nachteile werden genannt:

1. Unterschiede der neuroanatomischen Strukturen und der Massenrelationen von Hirngewebe, Schädel und extrakraniellen Weichteilen im Vergleich zum Menschen,
2. notwendige Modifikation der Untersuchungsmethoden durch kleinere anatomische Strukturen,
3. unzureichende Erfassung von komplexeren neurologischen Ausfällen.

Im Folgenden sollen die etablierten Tiermodelle des SHT in Kürze mit dem CCII-Modell verglichen werden. Dazu sollen das Modell der fokalen Kälteläsion, das "Weight Drop Injury"-Modell (WDI) und das "Fluid Percussion Injury"-Modell (FPI) herangezogen werden. Tabelle 5 zeigt die Ausprägung einzelner Teilaspekte des SHT bei den drei diskutierten Modellen im Vergleich zum CCII.

	Kälteläsion	Weight Drop	Fluid Percussion	CCII
Kontusion	-	-	-/+	+++
Subdurales Hämatom	-	-	-	+
Subarachnoidalblutung	-	++	+	+
Intrazerebrales Hämatom	+	+	++	++
Neuronaler Zellschaden	+++	+	++	+++
Axonschaden	-	+++	++	+
BHS-Störung	+++	-/+	++	++
Perfusionsstörungen	+	++	++	++

Tabelle 5: Ausprägung einzelner pathologischer und pathophysiologischer Aspekte des SHT bei den drei diskutierten Modellen im Vergleich zum CCII (modifiziert nach Povlishok, 1997); BHS = Blut-Hirn-Schranke.

4.1.1 Modell der kortikalen Kälteläsion

Die kortikale Kälteläsion ist das älteste Modell einer experimentell induzierten Hirnläsion (Klatzo et al., 1958; Klatzo et al., 1967). Durch Applikation eines Kältestempels auf den freigelegten Kortex wird eine Kältenekrose induziert, die von einer Zone mit gestörter Blut-Hirn-Schranke (BHS) umgeben ist. Im Vordergrund steht hier der Teilaspekt des BHS-Schadens mit Ausprägung eines „vasogenen“ (extrazellulären) Hirnödems (Vorbrodt et al., 1985; Kamada et al., 1995). Als Kritikpunkt des Modells ist die fehlende mechanische Einwirkung als Läsionsursache zu nennen, denn diese imponiert mit einer betont „zytotoxischen“ (intrazellulären)

Ödemgenese (Unterberg et al., 1996). Daher ist nur eine bedingte direkte Übertragbarkeit auf die klinische Situation des SHT gegeben.

4.1.2 Weight Drop Injury Modell (WDI)

Das WDI zeichnet sich durch eine diffuse Schädigung des Gehirns ohne fokalen Defekt aus und ist das jüngste der Modelle (Marmarou et al., 1994). Ein Gewicht fällt in einer Führungsschiene auf den intakten Schädel. Das Trauma verursacht diffuse neuronale, axonale und mikrovaskuläre Schäden und kein (Kita und Marmarou, 1994) bzw. wenig posttraumatisches Hirnödem (Van den Brink et al., 1990). Das WDI betont den Teilaspekt der diffusen Hirnschädigung, wobei der diffuse Axonschaden im Vordergrund steht (Foda und Marmarou, 1994). Die Quantifizierung des posttraumatischen Hirnschadens ist aus diesem Grund nur bedingt möglich. Das Modell ist deshalb nur schwer mit dem in dieser Arbeit verwendeten Traumamodell vergleichbar und sollte am ehesten eine Ergänzung zur CCII darstellen.

4.1.3 Fluid Percussion Injury Modell (FPI)

Das FPI imitiert eine Vielzahl von Teilaspekten des menschlichen SHT und ist daher das in jüngster Zeit am weitesten verbreitete Modell in der experimentellen Traumaforschung. Durch ein Pendel wird ein Bewegungsimpuls über einen flüssigkeitsgefüllten Zylinder auf den Kortex übertragen. Es resultiert eine diffuse Hirnschädigung, die um eine kontusionelle Komponente erweitert werden kann (McIntosh et al., 1989). Posttraumatisches Hirnödem (Soares et al., 1992) und Perfusionsveränderungen (Dewitt et al., 1989) wurden beobachtet. Ein entscheidendes Charakteristikum des FPI ist der diffuse Axonschaden im cervico-medullären Übergangsbereich, der das Modell von den anderen Traumamodellen abgrenzt (Dixon et al., 1987; Shima und Marmarou, 1991). Dieser Aspekt stellt gleichzeitig den größten Kritikpunkt am Modell dar: diese traumaassoziierte Läsion des Hirnstamms wird beim Menschen nicht als typischer Teilaspekt vom Verletzungsmuster nach SHT beobachtet (Dixon und Hayes, 1997). Der große Vorzug des Modells liegt in der Möglichkeit, einen diffusen, mechanisch induzierten neuronalen Zelluntergang und die damit verbundenen metabolischen Alterationen zu untersuchen.

4.1.4 CCII

Beim CCII werden viele Aspekte des SHT berücksichtigt. Im Vordergrund steht die kortikale Kontusion mit einer fokalen, hämorrhagischen Nekrose. Im Gegensatz zu vergleichbaren Traumamodellen ist hier keine diffuse Hirnschädigung nachweisbar. Neben der charakteristischen Kontusion sind auch alle mit dem Trauma in Verbindung zu bringenden Blutungstypen bei der CCII präsent. Bei mittlerer Traumastärke ist immer eine subdurale Einblutung zu beobachten. Des Weiteren treten im Bereich unterhalb des Traumas SABs sowie in Kortex und Marklager ICBs auf. Ein axonaler Schaden kann ausschließlich in Arealen nachgewiesen werden, die der Kontusion direkt benachbart sind. Die Kontusion umfasst den Kortex und das subkortikale Marklager, ipsilateralen Hippokampus und Thalamus (Chen et al., 2002). Das Kontusionsareal kann aufgrund neuronaler Zellschädigungen und Zelluntergänge gut vom übrigen Gewebe abgegrenzt und seine Größenausdehnung mit morphometrischen Methoden quantifiziert werden. Die maximale Ausdehnung des Läsionsvolumens kann 24 h nach Trauma beobachtet werden und nimmt danach kontinuierlich bis unter Ausgangswerte ab (Başkaya et al., 2000).

Das posttraumatische Hirnödem lässt sich über den signifikanten Anstieg des hemisphärischen Wassergehalts und die posttraumatische Schwellung quantitativ leicht charakterisieren. Ein Ödem ist bereits 2 h nach Trauma in der kontusionierten Hemisphäre nachweisbar (Başkaya et al., 1997). Es erreicht seine maximale Ausdehnung 24 h nach Trauma (Kochanek et al., 1995). Im weiteren Verlauf verringert sich das Hirnödem kontinuierlich. Bis zum dritten posttraumatischen Tag ist eine signifikante Erhöhung gegenüber den Ausgangswerten zu beobachten, am siebten posttraumatischen Tag ist jedoch keine statistisch signifikante Erhöhung gegenüber den Ausgangswerten mehr nachweisbar. Die kontralateral zur Kontusion gelegenen Hemisphäre weist bei moderater Traumastärke (2 mm Eindringtiefe, 5 mm Bolzendurchmesser, 3 m/s Bolzengeschwindigkeit) zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Veränderung des Wassergehaltes auf (Başkaya et al., 2000). Hohe Traumastärken können eine Schädigung der kontralateralen Hemisphäre durch eine contre-coup Läsion bewirken. Beim beobachteten posttraumatischen Hirnödem spielt die vasogene Komponente eine geringere Rolle als die zytotoxische Ödemgenese (Unterberg et al., 1997). Dieser Sachverhalt imitiert das beim Menschen beobachtete

perikontusionelle zytotoxische Ödem besser als die anderen diskutierten Traumamodelle.

Der lokale zerebrale Blutfluss ist posttraumatisch innerhalb der Kontusion und perikontusionell im Vergleich zum gesunden Gewebe signifikant reduziert (Cherian et al., 1994; Forbes et al., 1997; Thomale et al., 1999). Die perikontusionellen Areale zeigen eine Hypoperfusionsphase in den ersten Stunden nach Trauma, die bereits 30 Minuten nach Traumaapplikation nachweisbar ist (Sutton et al., 1994; Bryan et al., 1995). Die Flusswerte sinken gegenüber den Ausgangswerten auf 75 % (30 min nach Trauma) und erreichen ihr Minimum 4-6 h posttraumatisch mit 60 % der Basiswerte (Thomale et al., 2002). Nach 24 und 48 h steigen die lokalen Flusswerte bis auf das Dreifache der Ausgangswerte an (Thomale et al., 1999; Thomale et al., 2002). Der Kontusion benachbarte Hirnareale – z.B. der frontale Kortex, die Basalganglien, der Thalamus und der Hippokampus - sind posttraumatisch ebenfalls minderperfundiert (Bryan et al., 1995; Kochanek et al., 1995). In der kontralateralen Hemisphäre können bei moderatem Trauma zu keinem Zeitpunkt Veränderungen des lokalen Blutflusses festgestellt werden.

Die Reproduzierbarkeit des Traumas lässt sich mittels der messbaren mechanischen Daten wie Geschwindigkeit, Deformationstiefe und Kontaktzeit des Bolzens während der Traumaapplikation kontrollieren. Unterschiedliche Traumastärken lassen sich durch Variation der Parameter in weiter Spanne ermöglichen.

Das CCII Modell besitzt den Vorteil einer gut quantifizierbaren traumatischen Läsion, was die Anwendung des Modells in vergleichenden Studien ermöglicht.

Die Schwachstellen des Modells umfassen Parameter, deren Kontrolle bei der Versuchsdurchführung nicht sicher objektivierbar scheint:

1. Winkel zwischen Schlagbolzen und Kortexoberfläche,
2. Größe und Lokalisation der Kraniektomie,
3. Definition der "Nullposition" des Bolzens im Verhältnis zur Hirnoberfläche,
4. Narkoseprotokoll und Beatmungshilfen (Dixon und Hayes, 1997).

Um einer Ergebnisstreuung zu begegnen, wurden alle Arbeiten während der Studie von derselben Person ausgeführt. Des Weiteren wurde vor Studienbeginn ein festes Regime bezüglich Narkoseprotokoll, Beatmungshilfen, Tischposition, Bolzeneinschlagwinkel, Bolzengeschwindigkeit und Kontaktzeit vereinbart, um Störfaktoren zu minimieren und eine Standardisierung zu gewährleisten.

Alles in allem stellt das CCII-Modell eine Methode dar, die für den Untersucher gut reproduzierbare Daten liefert und somit für vergleichende Therapiestudien geeignet ist (Thomale et al., 2002).

4.2 *Narkose*

Alle Versuchstiere erhielten eine Maskennarkose mit Isofluran in N₂O/O₂-Gemisch bei erhaltener Spontanatmung zu allen Versuchszeitpunkten. Isofluran (1-Chloro-2,2,2-Trifluoroethyl-Difluoro-methylether) ist ein volatiles Anästhetikum mit gut kontrollierbarer Narkosetiefe. Es ermöglicht eine schnelle Narkoseeinleitung und kurze Aufwachphase und wird komplett respiratorisch eliminiert.

Isofluran beeinflusst nur geringfügig kardiale Parameter wie Herzfrequenz, cardiac output und den koronaren Blutfluss, induziert aber einen Blutdruckabfall durch Senkung des systemischen Gefäßwiderstandes (Hrapkiewicz et al., 1998). Gegenüber einer Opiatnarkose konnten nach CCII eine verbesserte zerebrale Perfusion, ein verringertes Kontusionsvolumen sowie eine erhöhte Zahl überlebender Neurone in der CA 1 Region des Hippokampus gezeigt werden (Statler et al., 2000). Weitere potentiell neuroprotektive Vorzüge von Isofluran sind die Inhibition von Glutamatrezeptoren (Harada et al., 1999), ein verringerter Ca²⁺-Influx am NMDA-Rezeptor (Bickler et al., 1994), ein Verhindern neuronaler Übererregung durch Potenzierung GABAerger Neurotransmission (Bickler et al., 2003) sowie eine Vasodilatation (Hendrich et al., 2001), die der posttraumatischen Hypoperfusion entgegen wirken kann. Die beschriebene Vasodilatation kann jedoch über ein erhöhtes intrakranielles Blutvolumen (Lenz et al., 1999) zu einem erhöhten ICP führen, der den neuroprotektiven vaskulären Effekt egalisiert bzw. die Ödemgenese fördert (Smith et al., 1976). Weiterhin wurden nach Isoflurannarkose erhöhte

Plasmakonzentrationen von Glutamat (Stover et al., 2000) und anderen exzitatorischen Aminosäuren gefunden (Horber et al., 1988).

N₂O (Lachgas) fungiert als NMDA-Rezeptor-Antagonist und führt zur Schwellung von Mitochondrien sowie endoplasmatischem Retikulum (Jevtovic-Todorovic, 1998). Diese Zellschäden sind jedoch bei Kurznarkosen reversibel bzw. können bei längerer Exposition durch Zugabe von GABA-Mimetika – z.B. Isofluran – verhindert werden (Jevtovic-Todorovic, 2003). Insgesamt bietet N₂O den Vorteil geringer Depression des kardiovaskulären und respiratorischen Systems, allerdings bei niedriger anästhetischer Potenz (Hrapkiewicz et al., 1998).

Zusätzlich scheinen Narkosezeitpunkt und –dauer für die Ausprägung des Hirnödems und Gewebsschadens nach CCII eine entscheidende Rolle zu spielen. So konnte gezeigt werden, dass Isoflurankurznarkosen keinen Einfluss auf Ödemformation und NMDA-Rezeptorbindung hatten, während eine Narkosedauer von 4 Stunden erhöhte Glutamatspiegel in Plasma, Liquor und Hirnparenchym nach sich zog, die nur partiell reversibel waren (Stover et al., 2004). Eine kurze Narkosedauer wie in unseren Versuchsreihen scheint daher keine Auswirkung auf die Ödemformation zu besitzen, könnte jedoch durch Induktion erhöhter Plasma- und Hirngewebskonzentration von Glutamat zur Ausweitung des sekundären Hirnschadens beitragen. Bei dieser Betrachtung ist jedoch Vorsicht angeraten, da einige pathophysiologische Reaktionskaskaden nach CCII auch durch volatile Anästhetika aktiviert werden und Interferenzen angenommen werden können.

4.3 HHAES-Gruppe

4.3.1 Zeitpunkt der Infusion

In der vorliegenden Arbeit wurde HHAES innerhalb von 15 Minuten nach Trauma als Kurzinfusion über 2-4 Minuten verabreicht. Dieses Zeitfenster simuliert die klinische Situation in der Bundesrepublik Deutschland, in der professionelle Hilfskräfte ca. 6-8 Minuten nach Alarmierung am Unfallort eintreffen (Bouillon et al., 1999; Biewener et al., 2000), setzt jedoch voraus, dass zwischen Unfallzeitpunkt und Alarmierung weniger als 5 Minuten verstreichen. Dennoch ist zu bedenken, dass die posttraumatische Hypoperfusionsphase bereits Minuten nach Trauma beginnt und über mehrere Stunden nach Trauma nachweisbar bleibt (Thomale et al., 2001). Da sich die Halbwertszeit von HHAES zwischen 4 und 6 Stunden bewegt, überschneiden sich Wirkungszeitraum und der Zeitpunkt maximal reduzierter perikontusioneller Perfusion auch bei sehr früh nach Trauma gewählter Applikationszeit. Daher kann von einem adäquaten therapeutischen Zeitfenster der Substanzgabe zur Untersuchung der Wirkung von HHAES ausgegangen werden.

Es sollte jedoch bedacht werden, dass bei Applikation am Unfallort bzw. in der erstversorgenden Klinik wichtige Zeit ohne therapeutische Intervention im Vergleich zu unserem Versuchsaufbau verstreicht. Der Effekt der Länge dieses posttraumatischen Zeitfensters mit Minderperfusion auf die Größe des Sekundärschadens kann mit dieser Studie nicht beleuchtet werden.

4.3.2 Physiologische Parameter

Die Parameter der BGA zeigen zu allen Versuchszeitpunkten eine Normoventilation der Tiere.

Die Werte der Plasmahämoglobinkonzentration waren nach Applikation von HHAES signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Dieser „Verdünnungseffekt“ beruht auf der osmotischen Wirkung des Pharmakons, das eine Bewegung von Wasser aus den intrazellulären Kompartimenten in den Intravasalraum induziert, z.B. aus zirkulierenden Erythrozyten, ödematösen Endothel- und Gliazellen sowie dem Interstitium (Kempski et al., 1996). Je nach Infusionsgeschwindigkeit ist innerhalb

von 10 Sekunden eine Abnahme der Hämatokritwerte bis auf 65% des Ausgangswertes nachweisbar (Mazzoni et al., 1988). Dabei spielt es keine Rolle, ob die Tiere vor Therapiebeginn normo- oder hypovolämisch waren (Mazzoni et al., 1988; Nolte et al., 1992).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass trotz der Verdünnungseffekte durch HHAES keine Verschlechterung der Blutgerinnung gegenüber einer Volumenersatztherapie mit NaCl bewirkt wurde (Petrioanu et al., 2003), obwohl Hinweise auf eine Veränderung der Thrombozytenfunktion nach HHAES-Gabe bestehen (Stöger Müller et al., 2000).

4.3.3. Hirnödem und ICP

Per definitionem ist das Hirnödem eine Erhöhung des Hirnwassergehaltes, die zur Erhöhung des Hirngewebevolumens führt (Pappius, 1974). Gemäß der Monroe-Kellie-Doktrin (Monroe, 1783; Kellie, 1824) führt die Volumenzunahme eines der vier intrakraniellen Kompartimente (Intra- und Extrazellulärraum, Liquorsystem, Blutvolumen) zunächst zur kompensatorischen Verdrängung eines der anderen Kompartimente und im weiteren zum intrakraniellen Druckanstieg. Beim Hirnödem entsteht die intrakranielle Volumenzunahme aus der Volumenexpansion des Intrazellulärraumes (=zytotoxisches Ödem) sowie des Extrazellulärraumes (=vasogenes Ödem). Diese bewusste Trennung der Komponenten erfolgte erstmals durch Igor Klatzo (Klatzo et al., 1958; Klatzo, 1967).

Die intakte BHS stellt eine Passagebarriere zwischen Intravasalraum und Hirngewebe dar. Ihr morphologisches Korrelat sind durch „tight junctions“ verbundenen Endothelzellen. Die BHS erlaubt kaum parazellulären Transport von Substanzen bzw. Wasser. Auf diese Weise werden freie Plasmaproteine im Intravasalraum zurückgehalten, die durch ihren kolloidosmotischen Druck eine Verschiebung von freiem Wasser aus dem Gewebe in den Plasmaraum zur Folge hätten. Dieser Diffusion entgegen wirkt der intravasale hydrostatische Druck, welcher die Bewegung von freiem Wasser in Richtung Extravasalraum bewirkt. Unter physiologischen Bedingungen besteht eine gegenseitige Regulation beider

Druckgradienten, wodurch der Gewebewassergehalt im Gleichgewicht gehalten wird (Rapoport, 1979; Cserr und Patlak, 1991).

Bei gestörter BHS geht diese Regulation verloren, woraus die Entstehung des Hirnödems resultiert. Der hydrostatische Druck bewirkt den Übertritt von Plasmaproteinen und anderen osmotisch aktiven Substanzen, z.B. Ionen, in Verbindung mit Wasser in das Hirngewebe (Extravasation). Infolgedessen wird der kolloidosmotische Gradient zwischen Intra- und Extravasalraum verringert bzw. aufgehoben - das Gegengewicht zum hydrostatischen Druck entfällt und es resultiert eine Erhöhung des extrazellulären Wassergehaltes im Gewebe (Kimmelberg, 1995). Das Ausmaß der Ödembildung ist demnach abhängig vom intravaskulären hydrostatischen Druck (=MAD), dem umliegenden Gewebedruck (=ICP), sowie der Differenz der kolloidosmotischen Drücke in Plasma und Hirngewebe (Klatzo et al., 1967; Klatzo et al., 1994).

Als weitere Komponenten der vasogenen Ödemgenese sind verschiedene Mediatorsubstanzen beschrieben. So wird die Entstehung freier Radikale als Ursache diskutiert, die im Endothel ungesättigte Fettsäuren oxidieren und die Zellmembran schädigen (Kontos und Povlishock, 1986; Hall und Braughler, 1991). Weiterhin wurde die zunehmende Permeabilität der BHS nach experimenteller kortikaler Kontusion mit einem Anstieg von Hydroxylradikalen in Verbindung gebracht (Smith et al., 1994). Der experimentelle Einsatz von Antioxidantien und Lipidperoxidase-Hemmern wie Tirilazad konnte eine Verringerung der Ausdehnung des vasogenen Hirnödems nachweisen (Smith, 1996). Als weitere Mediatoren werden Arachidonsäure und deren Metaboliten sowie Substanzen des Kallikrein-Kinin-Systems, z.B. Bradykinin, angesehen (Unterberg et al., 1984).

Das zytotoxische Hirnödem imponiert mit einer Zunahme des intrazellulären Wassergehalts. Diese wird von direkten Schäden der Zellmembran sowie durch gestörte Regulation des Ionenübertritts zwischen Intra- und Extrazellulärraum bedingt. Klatzo definierte das zytotoxische Hirnödem als Schwellung des Intrazellulärraums mit gleichzeitiger Abnahme des Extrazellulärraumvolumens bei intakter endothelialer Zellstruktur der BHS (Klatzo, 1967).

Zellschwellung muss als akute Reaktion auf ein pathologisches Ereignis verstanden werden, welches bis zu drei Tage nach Trauma beobachtet wurde

(Bullock et al., 1991). Erst bei Dekompensation dieser endogenen Schutzreaktion als physiologische Antwort auf die entsprechende Noxe wird die intrazelluläre Schwellung zellschädigend (Kempski und Volk, 1994).

Unter pathologischen Bedingungen, z.B. nach Trauma oder Ischämie, führt die erhöhte Permeabilität der Zellmembran gegenüber Na^+ -Ionen zu einem Na^+ -Einstrom. Dieser kann durch Einsatz energieabhängiger Pumpen nicht kompensiert werden, da wegen mangelnder Gewebepfusion ein Energiedefizit besteht. Aufgrund der erhöhten intrazellulären Osmolarität folgt passiv der unkontrollierte Einstrom von Wassermolekülen in die Zelle und führt zur Zellschwellung (Baethmann und Kempski, 1997).

Auch Astrozyten sind an der Entstehung des zytotoxischen Ödems beteiligt (Kimmelberg und Ransom, 1986; Bullock et al., 1991). Die Clearance extrazellulär überschüssiger Aminosäuren, z.B. Glutamat, erfolgt über aktive Carrier nach intrazellulär unter Cotransport von 2-3 Na^+ -Ionen pro Glutamatmolekül. Dieser kompensatorische Prozess verstärkt das zelluläre Ödem, wie auch der Austausch von Protonen (H^+) gegen Natrium (H^+/Na^+ -Antiport) bei erniedrigtem zellulären pH-Wert. Dieser wird durch O_2 -Mangel und vermehrt aktivierte anaerobe Glykolyse mit Laktatakkumulation bedingt (Staub et al., 1994). Dies führt zu zusätzlicher intrazellulärer Anreicherung von Natrium und wiederum zur Zellschwellung (Staub et al., 1996).

Des Weiteren schädigen posttraumatisch vermehrt generierte freie Radikale direkt die Zellmembran und verursachen durch Lipidperoxidation die Genese weiterer freier Radikale (Hall, 1997) sowie eine Dysfunktion membranständiger Ionenpumpen und weiteren Wassereinstrom nach intrazellulär. Das zytotoxische Ödem stellt einen Faktor des sekundären Hirnschadens nach Trauma dar. Es ist ein Zeichen der Zellschädigung und kann zur sekundären intrakraniellen Drucksteigerung führen.

Beim CCII-Modell ist davon auszugehen, dass die zytotoxische Komponente des posttraumatischen Hirnödems eine mindestens ebenso starke Bedeutung bei der Ödemgenese hat wie der vasogene Anteil. Diese Überlegungen werden durch die Magnetresonanztomographie (MRT) nach CCII unterstützt. Mittels „diffusion weighted imaging“ (DWI) und Berechnung des „apparent water diffusion coefficient“ (ADC) kann die Bewegungsfreiheit von Wassermolekülen quantifiziert werden. Im

zentralen Bereich der Kontusion konnte mittels DWI die Existenz eines zytotoxischen Ödems nach CCII nachgewiesen werden (Stroop et al., 1998). Die vasogene Ödemkomponente wurde durch die Extravasation von injiziertem Evans Blue nach CCII bestätigt und ist am ersten und dritten Tag nach Trauma maximal ausgeprägt (Baskaya et al., 1997). Vor allem in perikontusionellen Arealen zeigte sich eine deutliche BHS-Störung (Thomale et al., 2001). Anhand der Bestimmung des spezifischen Gewichts des Hirngewebes wurde die stärkste Ödemausbildung 24 Stunden nach Trauma festgestellt (Duvdevani et al., 1995).

Eine Reihe von Substanzen konnte im Tiermodell die Entstehung des posttraumatischen Hirnödems nach CCII reduzieren, z.B. die Behandlung mit den Antioxidantien und „Radikalfängern“ OPC-14117 und Melatonin sowie dem Glutamat-Rezeptor-Antagonisten Cerestat (Kawamata et al., 1997; Sarrafzadeh et al., 1997; Kroppenstedt et al., 1998). Die vasogene Ödemkomponente konnte durch die Hypothermie und antioxidative Substanzen wie Tirilazad reduziert werden (Smith et al., 1994; Smith, 1996).

Die Wirkung von HHAES lässt sich mit dem Aufbau eines osmotischen Gradienten zwischen ödematösen Endothel-/Gliazellen und Erythrozyten sowie dem Intravasalraum erklären, dem intrazelluläres Wasser passiv ins Gefäßlumen folgt. Die resultierende intravaskuläre Volumenzunahme verbessert die rheologischen Eigenschaften des Blutes und der Kapillarwiderstand wird reduziert. In Folge kommt es bei konstantem MAD zur Verbesserung lokaler Mikrozirkulation und trotz Hämodilution zu einem verbessertem O₂-Angebot für das Gewebe (Weidhase et al., 1998). Die Gefahr der Entwicklung eines vasogenen Hirnödems aufgrund hoher hydrostatischer Kapillardrücke ist bei der SVR geringer als bei normo-osmolaren Infusionslösungen mit deren resultierendem Volumeneffekt.

In beiden Versuchsgruppen war der Wassergehalt der traumatisierten linken Hemisphären signifikant höher als auf der Gegenseite. Dieser Umstand verdeutlicht, dass bei der gewählten Traumastärke die nichttraumatisierte rechte Hemisphäre von der Ausbreitung des Hirnödems weitgehend verschont bleibt und die Hirnschwellung klar traumatischen Ursprungs ist.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte jedoch keine signifikante Reduktion des posttraumatischen Hirnödems nach CCII nachgewiesen werden. Die

Diskrepanz zwischen vorhandenem neuroprotektiven Effekt (Reduktion des Kontusionsvolumens nach 7 d) bei fehlender Wirkung auf das akute posttraumatische Hirnödeme lässt sich mit methodologischen als auch pharmakodynamischen Betrachtungen erklären.

So ist der nachgewiesene Effekt von HHAES in Zusammenhang mit dem Untersuchungszeitpunkt des posttraumatischen Ödems nach SVR zu sehen: die in einigen Studien festgestellten statistisch signifikanten Unterschiede wurden zu einem sehr frühen Zeitpunkt nach Trauma ermittelt. Hier war die Substanz noch osmotisch wirksam bzw. der Effekt auf die *frühe* Ödemgenese noch nachweisbar (Gunnar et al., 1988; Schaser et al., 2000). Diese frühe Quantifizierung des antiödematösen Effektes lässt jedoch außer acht, dass die maximale Ausdehnung des Hirnödems nach CCII erst 24 h nach Trauma zu beobachten ist – dem Zeitpunkt unserer Untersuchungen. Da die Halbwertszeit von Hydroxyethylstärke (Molekulargewicht 200 kD) bei einmaliger Applikation etwa 5 Stunden beträgt, kann nur von einer kurz- bis mittelfristigen Wirkung der Substanz auf das posttraumatische Hirnödeme ausgegangen werden. Die niedermolekularen Anteile des Pharmakons werden ausgeschieden, die hochmolekularen werden durch Amylase partiell abgebaut und ein Massenmittel von HHAES oberhalb der Nierenschwelle stellt sich ein (Weidhase et al., 1998). Ein früherer Untersuchungszeitpunkt zur Wirkung auf die Ödemformation bzw. eine wiederholte Applikation von HHAES wären daher für kommende Studien in Erwägung zu ziehen.

Des Weiteren könnte ein möglicher Effekt von HHAES auf die Ausprägung des lokalen Hirnödems auch durch die Massenbestimmung der gesamten Hemisphäre verschleiert worden sein. Die Kontusion schließt bei der von uns verwendeten mittelschweren Traumastärke etwa 50% des ipsilateralen kortikalen Gewebes ein (Stroop et al., 1998), so dass ein vorhandener lokaler Effekt auf die Ödemformation möglicherweise durch Wiegen der gesamten Hemisphäre nicht nachgewiesen werden konnte.

Die beobachteten Effekte der HHAES-Therapie waren eventuell auch durch vorrangige Effekte der Substanz auf die vasogene Komponente des Hirnödems geringer als erwartet, die beim CCII weniger ausgeprägt ist als die intrazelluläre Komponente. Es sollte bedacht werden, dass HHAES die zytotoxische Komponente

des Hirnödems möglicherweise nur bedingt beeinflussen kann, da der nötige osmotische Gradient zwischen Hirnparenchym und Gefäßlumen durch einen Puffereffekt des Interstitiums reduziert wird.

Letztendlich sollte auch immer eine mögliche Extravasation von HHAES in Bereichen mit BHS-Störung erwogen werden, z.B. im Zentrum der Kontusion, analog zum postulierten „rebound effect“ bei Mannitolgabe. Durch den osmotischen Effekt könnte so Wasser im Interstitium gebunden werden, und einen potentiellen ödemreduzierenden Effekt in benachbarten kortikalen Strukturen maskieren.

Die ICP-Verläufe entkräften allerdings die Befürchtung, dass osmotisch aktive Substanzen aufgrund gestörter BHS-Permeabilität nach paravasal gelangen und freies Wasser mit sich in den Extrazellulärraum ziehen, was das Hirnödem verstärken und den ICP steigern würde. Ein konstant aufrecht gehaltener osmotischer Gradient verhindert möglicherweise die Transsudation von Flüssigkeit in Richtung Interstitium und dämmt trotz vorhandener BHS-Störung die Formation der vasogenen Ödemkomponente ein.

Weiterhin konnte durch hyperosmolare Lösungen unter experimentellen Bedingungen eine Senkung des ICP und die Resorption des vasogenen Hirnödems erreicht werden (Schneider et al., 1994). Diese Beobachtung konnte durch unsere Untersuchung bestätigt werden: die ICP-Werte nach Substanzgabe fielen gegenüber der Placebogruppe bei konstantem MABP signifikant geringer aus als bei den Kontrolltieren. Die Reduktion des ICP nach HHAES-Gabe in der vorliegenden Untersuchung deckt sich mit den Ergebnissen einer Patientenstudie (Kempski et al., 1996). Es sollte dennoch zur Kenntnis genommen werden, dass trotz statistisch signifikanter Unterschiede die Absolutwerte des ICP alle in einem Bereich von 5 mm Hg lagen, also keine großen absoluten Unterschiede aufwiesen.

Anders als direkt nach Substanzgabe konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede des ICP zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt 24h nach Trauma nachgewiesen werden. Dieser Unterschied kann wiederum mit der Elimination des Pharmakons begründet werden. Andere Arbeitsgruppen bestätigen diese Beobachtung mittels Nachweises der *kurzfristigen* ICP-Senkung (Qureshi et al., 1998) oder der Notwendigkeit einer wiederholten Applikation zur dauerhaften ICP-Reduktion (Shackford et al., 1998). Ein weiterer Grund für die fehlende späte ICP-

Reduktion besteht möglicherweise auch in der posttraumatischen Hyperperfusion zum Zeitpunkt 24h nach Trauma (Thomale et al., 2001) und dem resultierenden erhöhten intrakraniellen Blutvolumen, das laut Monroe-Kellie-Doktrin einen intrakraniellen Druckanstieg nach sich zieht (Monroe, 1783; Kellie, 1824).

4.3.4 MAD

Es ist bekannt, dass die Höhe des posttraumatischen CPP direkte Auswirkung auf das Kontusionsvolumen hat. Eine Minimierung des Sekundärschadens konnte bei CPP-Werten zwischen 70 und 100 mm Hg gezeigt werden (Kroppenstedt et al., 1999). In den vorliegenden Untersuchungen lagen die Werte des MAD zu allen Messzeitpunkten im Mittel zwischen 75 und 90 mm Hg. Somit war in allen Versuchsgruppen dauerhaft ein CPP zwischen 70 und 85 mm Hg gewährleistet. Dieser „unkritische“ CPP-Bereich stellt einen Vorteil der SVR gegenüber konventioneller Infusions- und Katecholamintherapie dar, da die posttraumatische zirkulatorische Stabilisation ohne Hypertension mit deren unerwünschten Nebeneffekten, z.B. perivaskulären Mikroeinblutungen, erreicht wird (van Landeghem et al., 2003).

In allen Versuchsgruppen kommt es direkt posttraumatisch zu einem bekannten Blutdruckabfall, dessen Tiefpunkt eine Minute nach Trauma erreicht ist. Dieses Phänomen wurde auch schon von anderen Arbeitsgruppen beschrieben (Dixon et al., 1991; Cherian et al., 1994) und war dort bis zu 30 Minuten nach Trauma zu beobachten.

In unseren Versuchen hatten sich die Werte in beiden Gruppen jedoch bereits drei Minuten nach Traumaapplikation wieder auf Ausgangsniveau stabilisiert. Direkt nach HHAES-Gabe konnte bei allen Tieren eine weitere kurzzeitige Reduktion des MAD beobachtet werden, die nach 2 Minuten ihren Tiefpunkt erreichte. Auch dieser Blutdruckabfall hatte nach 3 Minuten wieder annähernd Ausgangswerte erreicht und konnte durch langsamere Infusion gemildert werden. Da in der Kontrollgruppe kein Blutdruckabfall nach Substanzgabe beobachtet wurde, lässt sich diese Blutdruckreaktion mit der Wirkung des Pharmakons in Verbindung bringen.

Es ist bekannt, dass hypertone Lösungen den Arterioltonus senken (Gazitúa et al., 1971; Kien et al., 1991). Daher kann angenommen werden, dass der Abfall des MAD durch Relaxation der Widerstandsgefäße und Senkung des systemischen

Widerstandes nach HHAES-Infusion bedingt wird. Die von vielen Arbeitsgruppen beschriebenen makrohämodynamischen Veränderungen nach SVR mit imposanten Steigerungen des MAD und des kardialen Output wurden vornehmlich bei stark *hypovolämischen* Tieren beschrieben. In Einklang mit unseren Ergebnissen konnten mehrere Arbeitsgruppen keine Veränderungen des MAD bei *normovolämischen* Tieren nachweisen (Velasco et al., 1980; Nolte et al. 1992).

4.3.5 LDF

Es ist bekannt, dass nach CCII eine initiale Hypoperfusionsphase der perikontusionellen kortikalen Stromgebiete zu beobachten ist (Kochanek et al., 1995; Thomale et al., 2001). Diese wird einerseits durch mechanische Gefäßschäden und reaktive Vasokonstriktion, zum anderen durch Endothelschwellung mit erhöhtem kapillären Widerstand und Gefäßverschlüsse durch Mikrothromben verursacht. Diesen schlechten mikrozirkulatorischen Flussverhältnissen gilt es entgegenzuwirken, da das Hirn in der Frühphase nach Trauma besonders anfällig gegenüber sekundärer Hypoperfusion ist (Cherian et al., 1996; Kroppenstedt et al., 1999).

Die hypertone Kochsalzkomponente von HHAES führt zum schnellen Aufbau eines osmotischen Gradienten zwischen zirkulierenden Erythrozyten, ödematösen Endothel- und Gliazellen sowie dem Intravasalraum. Entlang dieses Gradienten diffundiert intrazelluläres Wasser passiv ins Gefäßlumen. Die resultierende intravaskuläre Volumenzunahme und die verringerte Erythrozytengröße verbessern die rheologischen Eigenschaften des Blutes. Durch „Abschwellen“ der ödematösen Endothelzellen sowie der Mobilisation von intrazellulärem Wasser aus Erythrozyten wird der Kapillarwiderstand reduziert und verschlossene Gefäße der Mikrozirkulation werden wiedereröffnet.

Früheren Arbeiten unserer Gruppe entsprechend (Thomale et al., 2001) zeigte sich bei den Placebotieren eine Abnahme des lokalen zerebralen Blutflusses (rCBF) im perikontusionellen Bereich zum Zeitpunkt 30 Minuten nach Trauma. Dem Perfusionsminimum 4 h nach Trauma schloss sich eine relative Hyperperfusionsphase zum Zeitpunkt 24 h nach Trauma an. In der HHAES-Gruppe fiel die posttraumatische rCBF-Reduktion wesentlich milder aus, jedoch konnte auch hier eine hyperperfusorische Phase 24 h nach Trauma beobachtet werden. Die deutliche Perfusionsverbesserung in der Verumgruppe kann mit Hämodilution, Reduktion des

Kapillarwiderstandes und antiödematösem Effekt von HHAES auf die Endothelzellen erklärt werden. Den längerfristigen Erhalt des notwendigen osmotischen Gradienten ermöglicht die zugesetzte Hydroxyethylstärke. Somit kann eine Perfusionsverbesserung noch 4 h nach Infusion nachgewiesen werden, wo Effekte der hypertonen Kochsalzkomponente nicht mehr anzunehmen sind. Die Wirksamkeit der Infusionslösung noch mehrere Stunden nach Trauma wird durch die konstante ICP-Senkung gegenüber den Kontrolltieren und pharmakokinetische Untersuchungen (Ferber et al., 1985) unterstrichen.

Des Weiteren kann von einer Perfusionsverbesserung aufgrund der Abnahme der Blutviskosität ausgegangen werden. Weidhase et al. berichten bei verringerter Erythrozytengröße von geringeren hydrodynamischen Störeffekten der Erythrozyten auf die vorbeigleitenden Flüssigkeitsschichten und resultierender Reduktion der Blutviskosität. In Folge kommt es außerdem zu einer Verbesserung der Sauerstoffversorgung des Gewebes, da durch die höhere Flussgeschwindigkeit die O₂-Verluste durch die Arteriolenwand reduziert werden und mehr Sauerstoff die kapillären Stromgebiete erreicht. Damit wird die Sauerstoffversorgung des Gewebes selbst dann verbessert, wenn durch Hämodilution der Sauerstoffpartialdruck des arteriellen Blutes gesenkt wurde (Weidhase et al., 1998).

Zusätzlich ist auch eine sekundäre Beteiligung von NO in Erwägung zu ziehen: die beobachtete Zunahme des regionalen Blutflusses könnte über eine Steigerung der Scherkräfte an der Gefäßwand eine Steigerung der endothelialen NO-Produktion bewirken (Buga et al., 1991). Dieser Effekt wirkt der posttraumatischen Vasokonstriktion entgegen und leistet einen Beitrag zur Normalisation lokaler Perfusion.

Weiterhin unterstreicht das verminderte Kontusionsvolumen in der HHAES-Gruppe 7 d nach Trauma, wie vulnerabel perikontusionelle Areale gegenüber Hypoperfusion in der Frühphase nach Trauma sind. Pharmakotherapeutische Intervention in der Frühphase nach Trauma hat demnach einen Effekt auf die Größe des Sekundärschadens.

4.3.6 Kontusionsvolumen

Die planimetrische Bestimmung des Kontusionsvolumens mittels der TTC-Färbung wurde erstmals 1997 für Traumamodelle evaluiert und stellt seitdem eine anerkannte

Methode zur Quantifizierung des posttraumatischen Hirnschadens dar (Perri et al., 1997). Für das CCII-Modell zeigte die methodische Evaluation eine maximale Ausbreitung des posttraumatischen Hirnödems und des Kontusionsvolumens nach 24 h (Başkaya et al., 2000). Başkaya et al. beschreiben außerdem das Phänomen einer falsch hohen Bestimmung des Kontusionsvolumens in morphometrischen Verfahren in den ersten posttraumatischen Tagen. Dieser Umstand erklärt sich durch die scheinbare Vergrößerung der Kontusion durch Ödemformation in histologischen Schnitten des Gehirns. Nach 7 d konnte eine „Minimierung“ des Kontusionsvolumens gezeigt werden, die dem tatsächlichen Läsionsvolumen am nächsten kommt. Diese Ergebnisse korrelieren gut mit einer Studie, die DWI mit der TTC-Färbung verglich (Assaf et al., 1997). Auch hier konnte eine gute Korrelation beider Methoden zum Zeitpunkt 7 d gezeigt werden. Es ist jedoch zu beachten, dass eine Korrektur des Kontusionsvolumens an Tag 7 aufgrund der Abräumreaktion nekrotischen Gewebes durch Zellen des Immunsystems erfolgen sollte (Başkaya et al., 2000).

Die zugrunde liegenden Mechanismen der Wirkung von HHAES wurden in den vorherigen Abschnitten schon ausführlich dargelegt. Die Substanz wirkt über Reduktion endothelialer Schwellung (Mazzoni et al., 1988), die daraus resultierende Abnahme des Kapillarwiderstandes (Messmer et al., 1989) und Hämodilution (Mittlmeier et al., 2000). Diese Komponenten verbessern die lokale Mikrozirkulation und ermöglichen so eine verbesserte Substratzufuhr für posttraumatisch minderperfundiertes Gewebe bzw. ermöglichen einen verbesserten Abtransport lokaler toxischer und proinflammatorischer Metaboliten. Die gezielte Verbesserung der frühen posttraumatischen Hypoperfusion hat gravierenden Einfluss auf die Größe des Kontusionsvolumens (Cherian et al., 1996; Kroppenstedt et al., 1999).

Neben der Perfusion wirkt HHAES auf die posttraumatische Ödemformation (s. Abschnitt 4.3.4) und somit auf den ICP, der wiederum die Höhe des CPP bestimmt. Weiterhin wird bei der SVR von einer geringeren Leukozyten-Endothel-Interaktion berichtet, als im Vergleich zu Kontrolltieren (Nolte et al., 1992). Außerdem ist die Expression des interzellulären Adhäsionsmoleküls-1 (ICAM-1) und E-Selectin vermindert, was einen substanzbedingten Schutz des Endothels vor Leukozytenvermitteltem Zellschaden nach sich zieht (Dieterich et al., 2003). Die Gabe von

HHAES könnte also auch über eine Verringerung der inflammatorischen Antwort nach Trauma Einfluss auf den sekundären Hirnschaden nehmen.

In unseren Untersuchungen zeigten die Kontusionsvolumina in der HHAES-Gruppe sowohl 24 h nach Trauma als auch 7 d posttraumatisch einen geringeren Grad der Ausprägung als in den plazebobehandelten Tieren. Diese Beobachtung spricht für eine Reduktion des sekundären Hirnschadens, da der primäre Gewebsschaden modellbedingt in allen Tieren annähernd gleich ausfällt.

Eine Wichtung der einzelnen Faktoren (Perfusion, intrakranielle Druckzunahme, inflammatorische Antwort) für die Reduktion des posttraumatischen Sekundärschadens kann mit dem vorliegenden Studiendesign allerdings nicht vorgenommen werden. Eine Grundaussage kann jedoch mit der Abnahme des Kontusionsvolumens 7 d nach HHAES-Therapie zweifellos getroffen werden: die posttraumatisch reduzierte Perfusion ist ein Faktor, der zur Entstehung des sekundären Hirnschadens beiträgt und eine therapeutische Intervention erforderlich macht. Mit der Gabe von HHAES kann trotz relativ kurzer Halbwertszeit ein deutlicher Effekt auf die Entwicklung der Größe des Sekundärschadens bewiesen werden. Dieser Fakt betont die Wichtigkeit *früher* therapeutischer Intervention nach SHT.

4.3.7 Histologie

Die Untersuchung der HE-gefärbten Hirnschnitte konnte keine mikroskopischen Unterschiede zu den plazebobehandelten Tieren aufdecken. Hierbei wurde das histologische Bild in der kontusionierten Hemisphäre insbesondere auf die Präsenz von Blutungsherden untersucht, da verschiedene Arbeitsgruppen eine Koagulopathie nach Infusion von Hydroxyethylstärke nachweisen konnten (Baldassare et al., 1997; Sefrin et al., 1998). Unsere Untersuchungen zeigten hingegen kein erhöhtes Auftreten von Blutungen in der HHAES-Gruppe. Dieser Fakt weist darauf hin, dass die verbesserte Rheologie und posttraumatische zirkulatorische Stabilisation nicht mit einer erhöhten Blutungsneigung „erkaufte“ werden. Diese Beobachtung deckt sich mit der von Weidhase et al. vorgenommenen vergleichenden Betrachtung der bislang publizierten Literatur bezüglich des Einflusses von Hydroxyethylstärke auf das Gerinnungssystem: alle Präparate mit einem mittleren Substitutionsgrad von 0.45 bis 0.55 (pro 100 Glukosemoleküle sind 45 bis 55 Hydroxyethylgruppen mit dem Stärkemolekül verknüpft) und einem mittleren Substitutionsmuster von 3 bis 7

(Verhältnis der Häufigkeit der Substitution der Hydroxyethylgruppe am C2-Atom des Glukosemoleküls gegenüber der Substitution am C6-Molekül) besitzen keinen über den Verdünnungseffekt hinausgehenden Einfluss auf das Gerinnungssystem. Außerhalb dieser Grenzen wird ein Effekt auf die Aktivität des Faktor VIII und auf den von-Willebrand-Faktor-Komplex diskutiert, jedoch steht eine pathophysiologische Erklärung hierfür noch aus.

4.4 NAC-Gruppe

4.4.1 Zeitpunkt der NAC-Applikation

In der vorliegenden Arbeit wurde NAC innerhalb von 15 Minuten nach Trauma dreimalig als intraperitoneale Injektion zu den Zeitpunkten direkt nach Trauma, sowie 2 h und 4 h nach Trauma verabreicht. Die gewählte Konzentration betrug analog zu den Arbeiten von Xiong, Knuckey und Ellis 163 mg / kg KG. Xiong et al. konnten zeigen, dass die Wirkung der Substanz bei Applikation bis 2 h nach Trauma einen positiven Effekt auf die mitochondrielle Funktion zeigt. Der durch oxidativen Stress verursachte Schaden scheint also sehr kurz nach Trauma aufzutreten. Die Wirkung konnte bei einmaliger Applikation auch 12 h nach Trauma noch nachgewiesen werden (Xiong et al., 1999). Um auch die inflammatorische Antwort (iNOS-Produktion) auf das Trauma beeinflussen zu können, entschieden wir uns für die dreimalige Applikation. Farr et al. berechneten eine Halbwertszeit bei intravenösem Applikationsweg von 13.5 min und zeigten mit radioaktiv markiertem NAC, dass die Substanz fast ausschließlich vom Hirnparenchym aufgenommen wird, und nur zu geringem Anteil vom Endothel (Farr et al., 2003). Die von uns gewählten Zeitabstände zwischen den Injektionen scheinen also eine ausreichende Plasma- und Gewebskonzentration bewirken zu können.

4.4.2 Physiologische Parameter

Die Parameter der BGA zeigen eine Normoventilation der Tiere zu allen Versuchszeitpunkten. Auch nach Applikation des Pharmakons waren alle aufgezeichneten Vitalparameter stabil.

4.4.3. Oxidativer Stress und Hirnödem nach Trauma

Auf die Genese und Pathophysiologie des posttraumatischen Hirnödems wurde bereits in Abschnitt 4.3.2 ausführlich eingegangen.

Neben der initialen Hypoperfusion spielt die posttraumatische lokale Entzündungsreaktion und vermehrte Genese von freien Radikalen eine entscheidende Rolle an der Entstehung des sekundären Hirnschadens. Nach Trauma führen pathophysiologische Reaktionskaskaden zur Entstehung von so genannten „reactive oxygen species“ (ROS). So wird beispielsweise O_2^- (Superoxid-Anion) mittels Cyclo-

Oxygenase (COX) aus Arachidonsäure in Gegenwart von Sauerstoff (O_2) gebildet. $HO\cdot$ (Hydroxylradikal) entsteht aus der Reaktion H_2O_2 (Wasserstoffperoxid) und dem Superoxidanion in Gegenwart von bestimmten Metallionen. HOCl (Hypochlorige Säure) wird durch die Oxidation von Chloridionen (Cl^-) mittels Myeloperoxidase aus neutrophilen Granulozyten in Gegenwart von H_2O_2 gebildet. H_2O_2 entsteht aus dem Superoxidanion mit Superoxid-Dismutase als Katalysator. Das hochreagible Peroxynitrit ($ONOO^-$) entsteht aus dem Superoxidanion und NO und ist beispielsweise für die Inaktivierung mitochondrialer Enzyme der Atmungskette verantwortlich. Durch die Reaktionsfreudigkeit der Moleküle kommt es zur oxidativen Schädigung zellulärer Kompartimente, beispielsweise als Peroxidation von Membranlipiden mit nachfolgendem Integritätsverlust der BHS und Ödemformation. Weiterhin kann die aus der Reaktion resultierende Denaturierung von Proteinen und Reaktion mit Nukleinsäuren zu Apoptose und Zellnekrose führen. Dieser direkte Zelluntergang vergrößert den sekundären Hirnschaden. Weiterhin induziert die Abräumreaktion der Gewebsmakrophagen eine inflammatorische Antwort, die zur weiteren lokalen Gewebsdestruktion führt und den sekundären Hirnschaden nochmals vergrößert.

Um diesem Pathomechanismus zu begegnen, gibt es eine Reihe physiologischer Mechanismen, der Schädigung durch ROS zu begegnen. Übersteigt die Produktion freier Radikale jedoch die Kapazität der endogenen Eliminationsmechanismen, beispielsweise durch Trauma, so kommt es zu einem Ungleichgewicht zwischen Radikalgenese und Schutzmechanismen. Dieses Ungleichgewicht wird als oxidativer Stress bezeichnet.

Unter oxidativem Stress kommt es zur Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , PAF, etc. Diese Mediatoren regulieren Expression und Aktivität der induzierbaren zellulären NO-Synthetase, die für eine kontinuierliche NO-Produktion verantwortlich ist, und somit die Produktion des hochreagiblen Peroxynitrit fördert, einem der potentesten Radikale der ROS. Wie eingangs bereits erwähnt, wird dem oxidativen Stress eine große Bedeutung in der Genese des posttraumatischen Sekundärschadens beigemessen.

Verschiedene endogene Schutzmechanismen wirken dem oxidativen Potential der posttraumatisch generierten freien Radikale entgegen, z.B. wie erwähnt die Superoxid-Dismutase, die die Reaktion vom Superoxid-Anion (O_2^-) zu

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) katalysiert, das in einem weiteren Schritt mittels Catalase zu H_2O und O_2 reagiert. Einen weiteren Mechanismus stellt der bereits beschriebene intrazelluläre Glutathionspeicher dar.

Wie eingangs erwähnt, entfaltet NAC seine Wirkung gegen oxidativen Stress durch direkte Radikalelimination (antioxidativ), Stimulation der Glutathionsynthese (antioxidativ), selektive Hemmung von iNOS (antiinflammatorisch und antioxidativ) sowie verminderte Leukozyteninfiltration ins Hirngewebe (antiinflammatorisch).

In den vorliegenden Untersuchungen konnte keine signifikante Reduktion des posttraumatischen Hirnödems nach CCII nachgewiesen werden, obwohl eine antiödematöse Wirkung von NAC nach zerebraler Ischämie demonstriert werden konnte (Cuzzocrea et al., 2000). In beiden Versuchsgruppen war der Wassergehalt der traumatisierten linken Hemisphären signifikant höher als auf der Gegenseite, was verdeutlicht, dass die nichttraumatisierte rechte Hemisphäre von der Ausbreitung des Hirnödems weitgehend verschont bleibt und die Hirnschwellung klar traumatischen Ursprungs ist.

Der fehlende Nachweis einer antiödematösen Wirkung von NAC lässt sich möglicherweise mit der nur limitierten bzw. fehlenden Wirkung auf die lokale Mikrozirkulation erklären, die durch Hypoperfusion zur Entstehung der zytotoxischen Komponente des Hirnödems führt. Dennoch scheint die Substanz trotz fehlender Wirkung auf die Ödemformation eine neuroprotektive Wirkung zu besitzen, da bei den Verum-Tieren eine verringerte Größe des Kontusionsvolumens zu beobachten ist. Es ist also davon auszugehen, dass NAC seinen Wirkort (perikontusionelles Parenchym) erreicht. Bei widersprüchlicher Studienlage zur BHS-Permeabilität (Farr et al., 2003; Gilgun-Sherky et al., 2003) kann ein Übertritt von NAC in das Hirnparenchym durch den posttraumatischen BHS-Schaden erklärt werden.

Ein weiterer Faktor für die fehlende Wirkung auf das Hirnödem könnte die vorrangige Beeinflussung der zytotoxischen Komponente des posttraumatischen Hirnödems durch verbesserten Energiestoffwechsel sein. Dieser Umstand würde weiterhin die viel versprechenden Ergebnisse der NAC-Gabe nach Ischämie erklären – hier steht die intrazelluläre (*zytotoxische*) Komponente des Ödems klar im Vordergrund. Beim CCII-Modell hingegen ist in der von uns untersuchten Frühphase nach Trauma vorrangig die *vasogene* Komponente für die Ödemformation

verantwortlich (Unterberg et al., 1997), die von NAC anscheinend nur geringgradig bis gar nicht beeinflusst werden kann. Zur Klärung dieses Umstandes wäre eine Substanzgabe über die posttraumatische Frühphase hinaus zu evaluieren.

4.4.4 MAD

Auch in der NAC-Gruppe kam es zum bekannten Trauma-bedingten Blutdruckabfall, mit einem Minimum eine Minute nach Trauma. Die Werte hatten sich jedoch maximal drei Minuten nach Trauma wieder stabilisiert. Direkt nach Injektion des Pharmakons sowie im weiteren Verlauf konnte, wie zu erwarten, keine Wirkung auf den Blutdruckverlauf festgestellt werden. Die intraperitoneale Injektion führt zu einer verzögerten Bioverfügbarkeit von NAC, die wahrscheinlich außerhalb des Zeitfensters unseres MAD-Monitorings lag. Außerdem konnte allenfalls mit einer Wirkung auf die Mikrozirkulation gerechnet werden, die nur eine geringgradige Beeinflussung des systemischen MAD erlaubt, wie auch die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen demonstrieren (Ellis et al., 1991; Knuckey et al., 1995; Khan et al., 2004). Beschriebene MAD-Veränderungen nach NAC-Gabe wurden im Zeitfenster 1-48 h nach Trauma beschrieben und dem Trauma selbst zugeschrieben (Xiong et al., 1997) oder lagen bei anderen schweren Erkrankungen vor, z.B. fulminantem Leberversagen (Ytreboø et al., 2001).

4.4.5 LDF

In der Literatur finden sich mehrere Hinweise auf die Potenz von NAC zur Verbesserung der Flussverhältnisse in der Mikrozirkulation. Beschrieben sind wie eingangs erwähnt eine erhöhte Gewebe-Sauerstoffaufnahme nach fulminantem Leberversagen, eine Wiederherstellung der vasodilatatorischen Antwort auf Nitrate sowie eine Potenzierung der Wirkung von NO auf vaskuläre Myozyten. Die Selektivität für iNOS erlaubt den Erhalt des initialen „neuroprotektiven“ Effekts durch eNOS und nNOS in der Frühphase nach Trauma.

In den Laser-Doppler Flussmessungen der Verumgruppe konnte kein signifikanter Unterschied zu den plazebobehandelten Tieren nachgewiesen werden.

Eine mögliche Erklärung für die fehlende Antwort der Mikrozirkulation auf die Substanzgabe ist möglicherweise die kurze Zeitdauer der Wirkung von NAC auf hämodynamische Parameter. So konnte keine Wirkung von NAC auf O₂-Transport und -aufnahme zum Zeitpunkt 8h nach Leberversagen nachgewiesen werden (Ytrebø et al., 2001). Die optimistischen Ergebnisse anderer Arbeiten werden mit einer nur für 30 Minuten bestehenden Abnahme des systemischen vaskulären Widerstands nach NAC-Gabe und kompensatorischem Anstieg des kardialen Index erklärt (Ytrebø et al., 2001). In einer weiteren Studie konnte ebenfalls kein Effekt von NAC auf Perfusionsparameter nachgewiesen werden (Walsh et al., 1998). Unterstützend dazu konnte iNOS erst mit einer Latenz von 6 h nach Trauma nachgewiesen werden (Gahm et al., 2000), was die fehlende Wirkung der Substanz in dem von uns untersuchten Zeitfenster auf die Perfusion durch iNOS-Inhibition erklären könnte. Durch die kurze Halbwertszeit und die reaktive relative Hyperperfusion zum Zeitpunkt 24 h nach Trauma hätte so außerdem eine Wirkung auf die Mikrozirkulation durch die Wahl der Untersuchungszeitpunkte maskiert werden können.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung legen den Schluss nahe, dass die *antiinflammatorische* Potenz von NAC (iNOS-Inhibition) nur eine geringe Rolle in der Genese der frühen posttraumatischen perikontusionellen Hypoperfusion spielt - zumindest in dem von uns untersuchten Zeitfenster. Weiterhin kann der bekannte *antioxidative* Effekt der Substanz die bekannte Hypoperfusionsphase nicht beeinflussen. Trotz fehlender Wirkung auf die Perfusion besitzt die Substanz aber einen neuroprotektiven Effekt, wie durch das reduzierte Kontusionsvolumen 24h nach Trauma in der Verumgruppe nachgewiesen werden konnte. NAC scheint seine Wirkung also nicht über den Weg der Perfusionsverbesserung auszuüben.

4.4.6 Kontusionsvolumen

Die zugrunde liegenden Wirkmechanismen von NAC wurden in den voranliegenden Abschnitten schon angesprochen. Posttraumatisch kommt es aufgrund vermehrter Genese von freien Radikalen zu einem Verbrauch von Glutathion (GSH). Diesem Sachverhalt kommt besondere Bedeutung zu, da ein ausreichender Oxidationsschutz

durch den zellulären GSH-Pool aufgrund höheren GSH-Verbrauchs nicht gewährleistet ist. NAC eliminiert direkt Radikale und schont somit die GSH-Speicher der Zelle.

Proinflammatorische Zytokine regulieren Expression und Aktivität von iNOS, die eine kontinuierliche NO-Produktion bewirkt, gegenüber den konstitutiven Isoformen eNOS und nNOS, die nur kleine kurze „NO-bursts“ synthetisieren. Während iNOS calciumunabhängig arbeitet, zeigt die Syntheseleistung der beiden anderen Isoformen eine Abhängigkeit von der intrazellulären Calciumkonzentration, die durch NAC beeinflussbar ist (Xiong et al., 1999).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass NAC den posttraumatisch erhöhten mitochondrialen Ca^{2+} -Spiegel senken konnte (Xiong et al., 1999). Ein erhöhter mitochondrialer Ca^{2+} -Spiegel korreliert direkt mit einer Beeinträchtigung des Elektronentransfers in der Atmungskette und ist ein Zeichen insuffizienter ATP-Synthese (Xiong et al., 1997). Die Funktionseinschränkung der Mitochondrien ist bereits 1 h nach Trauma nachzuweisen und erreicht ihr Maximum nach 12 – 24 h. Auch 14 d posttraumatisch sind noch Veränderungen nachzuweisen (Xiong et al., 1997). In Mitochondrien von Traumapatienten konnte in vitro eine höhere Effizienz der ATP-Synthese anhand des P/O-ratio nach Zusatz von Calciumchelatoren nachgewiesen werden (Verweij et al., 2000). Die beiden Patienten mit der größten Verbesserung des P/O-ratio hatten auch das beste klinische outcome. Dieser Sachverhalt indiziert, dass die mitochondrielle Dysfunktion einer Therapie zugänglich ist und anfangs nur funktioneller, nicht aber struktureller Natur ist. Im traumatisierten Hirn scheint eine suffiziente Funktion der zellulären Atmungskette daher sehr wichtig zu sein, da andernfalls möglicherweise trotz adäquatem Substratangebot für den zellulären Energiestoffwechsel eine Insuffizienz der ATP-Synthese über Störung der Zellhomöostase zur Vergrößerung des Sekundärschadens führen könnte.

Die Kontusionsvolumina und der prozentuale Anteil des Schadens am gesamten Hemisphärenvolumen sind 24 h nach Trauma in der NAC-Gruppe tendenziell geringer ausgeprägt als in den plazebobehandelten Tieren.

Eine mögliche Erklärung für die nur eingeschränkt nachgewiesene Wirkung von NAC auf das Kontusionsvolumen ist die insuffiziente Beeinflussung der posttraumatischen Minderperfusion. Dieser limitierende Faktor erlaubt keine

ausreichende Substratzufuhr für das perikontusionelle Gewebe, obwohl unter Umständen der zelluläre Energiestoffwechsel durch NAC-Gabe verbessert werden konnte. Es sollte auch bedacht werden, dass in der Frühphase nach Trauma die Mechanismen der Neuroprotektion durch NAC vorrangig über die wiederhergestellte Calcium-Homöostase und die Reduktion von oxidativem Stress ablaufen, da die mitochondriellen GSH-Level erst 3 d nach Trauma sinken. Dieser Sachverhalt ist mit dem Import von GSH aus der Zellmatrix in die Mitochondrien zu erklären, die keine Eigensynthese aufweisen. Möglicherweise kann zu den untersuchten Zeitpunkten somit nur eine Wirkung auf den Zellstoffwechsel erreicht werden, während vasogene Ödemformation und Hypoperfusion unbeeinflusst bleiben.

Dem entgegen steht die beobachtete Wirkung von NAC in einem limitierten Zeitfenster innerhalb von 2 h nach Trauma – der durch oxidativen Stress verursachte Schaden scheint also sehr kurz nach Trauma aufzutreten (Xiong et al., 1999). Weiterhin kann die antiinflammatorische Wirkung über Inhibition von iNOS erst zu einem späteren Zeitpunkt stattfinden, da iNOS erst mit einer Latenz von 6 h nach Trauma nachgewiesen wurde (Gahm et al., 2000). Es erscheint also sinnvoll, eine NAC-Gabe über einen größeren Untersuchungszeitraum als von uns gewählt anzuschließen, um frühe und späte posttraumatische Effekte der Substanz zu erreichen.

Nach zerebraler Ischämie konnte im Tiermodell ein neuroprotektiver Effekt auf zellulärer Ebene (postischämisch überlebende hippocampale CA1 Neurone) durch NAC nachgewiesen werden (Knuckey et al., 1995; Cuzzocrea et al., 2000). Möglicherweise spielt sich der Effekt der Substanz vorrangig auf funktioneller bzw. zellulärer Ebene ab, ohne dass eine statistisch signifikante Beeinflussung der von uns erfassten Parameter zur Größe des Sekundärschadens vorliegt. Eine Evaluation der Wirkung auf zellulärer Ebene könnte Aufschluss über einen möglicherweise nicht erfassten neuroprotektiven Effekt von NAC nach Trauma geben.