

Aus dem  
CharitéCentrum 15 für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie  
Klinik und Poliklinik für Neurologie  
Direktor: Professor Dr. med. Matthias Endres

## **Habilitationsschrift**

# **Die Rolle des Gehirnbloodflusses bei Schlaganfall, Hypothermie und intrakranieller Drucksteigerung**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Neurologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Georg Royl**

**geboren am 8. März 1973 in Hinsdale / USA**

Eingereicht:	Dezember 2011
Dekanin:	Professorin Dr. med. Annette Grüters-Kieslich
1. Gutachter	Professor Dr. rer. nat. Rudolf Graf / Köln
2. Gutachter	Professor Dr. med. Guido Stoll / Würzburg

*Meiner Frau Andrea  
und meinen Kindern Matilda und Tammo*

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen .....	4
1. Einleitung.....	5
1.1 Bedeutung des CBF für das Gehirn .....	5
1.2 Zerebrovaskuläre Regulation .....	6
1.3 Methoden zur Messung des CBF .....	11
1.4 CBF unter externen Stressoren.....	14
1.5 Hypothesen .....	16
1.6 Tiermodelle.....	17
2. Eigene Veröffentlichungen zur Bearbeitung der Hypothesen .....	18
2.1 CBF und fokale zerebrale Ischämie .....	18
2.2 CBF und Hypothermie .....	49
2.3 CBF und intrakranielle Hypertension.....	60
3. Diskussion .....	82
3.1 Perfusionsgewichtete MRT beim Patienten und im Tiermodell.....	82
3.2 CBF unter externen Stressoren: gemeinsame Muster und Besonderheiten.....	84
3.3 Umkehr des funktionellen deoxy-Hb-Signals unter erhöhtem ICP .....	85
3.4 CBF als zerebraler Stressormarker: klinische Perspektiven .....	87
3.5 Schlussfolgerungen.....	91
4. Zusammenfassung.....	93
5. Literaturangaben .....	95
Danksagung .....	99
Erklärung .....	100

## Abkürzungen

ASL	Arterial Spin Labeling
BOLD-Signal	Blood Oxygenation Level Dependent – Signal
BOLD-fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie mittels BOLD-Signal
CBF	zerebraler Blutfluss
CBV	zerebrales Blutvolumen
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CMRO <sub>2</sub>	zerebrale Sauerstoffverbrauchsrate
deoxy-Hb	deoxygeniertes Hämoglobin
EEG	Elektroenzephalogramm
FAIR-MRT	Flow Sensitive Alternating Inversion Recovery - MRT
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
fNIRS	funktionelle Nahinfrarotspektroskopie
IAP	<sup>14</sup> C-Iodoantipyrin
ICP	intrakranieller Druck
LASCA	Laser Speckle Contrast Analysis
LDF	Laser Doppler Flowmetry
MABP	mittlerer arterieller Blutdruck
MCAO	middle cerebral artery occlusion
MRT	Magnetresonanztomographie
NIRS	Nahinfrarotspektroskopie
oxy-Hb	oxygeniertes Hämoglobin
PDE-V	Phosphodiesterase V
Q <sub>10</sub>	Temperaturkoeffizient bei 10 °C Temperaturunterschied
SEP	somatosensorisch evoziertes Potential

## 1. Einleitung

Viele Erkrankungen des Gehirns werden durch eine Störung des zerebralen Blutflusses (CBF) hervorgerufen. Hierzu zählen unter anderem der ischämische Hirninfarkt, die vaskuläre Demenz und eine Reihe von unterschiedlichen Erkrankungen, die ein Hirnödem hervorrufen können. Neben dieser pathophysiologischen Relevanz hat der CBF aber auch in der Erforschung der Gehirnphysiologie durch funktionelle Bildgebung große Bedeutung. Im Folgenden werden Arbeiten zusammengefasst, deren gemeinsames Thema das Verhalten des CBF unter pathophysiologischen Bedingungen ist. Hierbei wurde die Auswirkung von zerebraler Ischämie, Hypothermie und intrakranieller Hypertension untersucht. Als Einführung wird zunächst auf verschiedene Aspekte des Blutflusses im Gehirn eingegangen, dann werden Methoden zur Messung des CBF erläutert und schließlich die methodischen und präparatorischen Aspekte der zusammengestellten Arbeiten und die wesentlichen Hypothesen im Zusammenhang mit dieser Habilitationsschrift vorgestellt.

### 1.1 Anatomische und physiologische Besonderheiten des CBF

Das Gehirn weist in seiner Blutzirkulation einige Eigenarten auf, wie die effektive Kollateralversorgung über den *Circulus arteriosus Willisii*, die Blut-Hirn-Schranke, die anatomische Lage oberhalb des Herzniveaus und die Sinus als starrwandige venöse Blutleiter. Hinzu kommen spezielle Anforderungen an Druck- und Thermoregulation aufgrund des umgebenden knöchernen Schädels. Weiterhin unterliegt der CBF systemischen und lokal-adaptiven Regelprozessen, die bislang nur zum Teil verstanden sind.

Das Gehirn des Menschen ist trotz seiner hohen Effizienz (z.B. im Vergleich zu einem Computer) ein Organ, das viele Ressourcen verbraucht. Sein hoher Energieverbrauch geht vor allem auf die Wiederherstellung von Ionengradienten über die Zellmembran zurück, die für die Generierung von synaptischen Potentialen und Aktionspotentialen benötigt werden [1]. Es beansprucht in Ruhe etwa 20% des gesamten Energiebedarfs im menschlichen Organismus, obwohl es nur 2% des Körpergewichts ausmacht [2]. Dabei ist Glukose unter Normalbedingungen der einzige verwertbare Brennstoff (während Fastenperioden ist eine Umstellung auf Ketonkörper möglich). Täglich verbraucht das Gehirn etwa 120 g Glukose, was einer Leistung von 20 W bzw. einer Energiemenge von 1750 kJ entspricht, verfügt aber selbst nur über etwa 2,3 g Glukose und Glykogen als Brennstoffreserven [3]. Ohne weitere Zulieferung von Glukose aus dem Blut sind diese theoretisch bereits nach ca. 28 min aufgebraucht. Diese Zeitspanne lässt sich experimentell nachvollziehen, z.B. bei in-vitro Versuchen am Sehnerven der Ratte, der seine Funktion nach 30 min Unterbrechung der Glukosezufuhr einstellt [4]. Noch zeitkritischer bei der Blutzufuhr ist jedoch die Versorgung

mit Sauerstoff, ohne den schon nach wenigen Minuten eine irreversible Schädigung auftritt, da dann die Glukose nur anaerob abgebaut werden kann. Die Abhängigkeit des Gehirns von einer kontinuierlichen Zufuhr von Glukose und Sauerstoff spiegelt sich in der globalen und lokalen Regulation des CBF wider. Daneben besitzt das Blut im Gehirn die Aufgaben, die es auch in den anderen Teilen des Organismus erfüllt: den Transport von Metaboliten (v.a. CO<sub>2</sub>), Hormonen und Zellen der Immunabwehr sowie die Elektrolyt- und Temperaturregulation. Weiterhin kommt eine Regulation des intrakraniellen Drucks (ICP) hinzu, die sich durch das rigide Kompartiment des Schädels ergibt.

## **1.2 Zerebrovaskuläre Regulation**

Die Steuerung des CBF wird kontrovers diskutiert und ist nicht im Detail bekannt, auch wenn zwei hauptsächliche Regulationsebenen als gesichert gelten. Die eine ist die Ebene der zerebrovaskulären Autoregulation, die zwischen systemischer und zerebraler Zirkulation vermittelt [5]. Die andere Ebene ist die der neurovaskulären Kopplung, die innerhalb des Gehirns eine weitere regionale Umverteilung des CBF bewirkt, die dynamisch ist und von der momentanen lokalen neuronalen Aktivität abhängt [6]. Die neurovaskuläre Kopplung bildet die Grundlage für die auf dem „Blood Oxygenation Level Dependent“-Signal (BOLD) beruhende funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT), die den CBF zwar nicht direkt misst, aber die durch ihn bewirkten Oxygenierungsveränderungen detektieren kann [7]. Diese wiederum unterliegen einer komplexen lokalen Interaktion von CBF, zerebralem Blutvolumen (CBV) und zerebraler Sauerstoffverbrauchsrate (CMRO<sub>2</sub>).

### **1.2.1 Autoregulation der Hirndurchblutung**

Der systemische Blutdruck des Menschen ist nicht konstant, sondern unterliegt Schwankungen, u.a. im Zusammenhang mit dem Wechsel von Systole und Diastole, mit der Atmung, mit der zirkadianen Periodik und mit nicht-rhythmischen Faktoren wie psychischem Stress, orthostatischer Reaktion, Nahrungsaufnahme oder Schmerz. Diese Schwankungen führen aber nicht zu einem potentiell gefährdenden Blutflussabfall bzw. Blutflussanstieg im Gehirn, da dieses wie die Niere über eine Autoregulation verfügt [5]. Interessant dabei ist, dass sowohl das Gehirn als auch die Niere wesentlich an der systemischen Blutdruckregulation beteiligt sind. Der Sinn dieser Autoregulation ist also neben dem Schutz der Organe selbst möglicherweise auch die Aufrechterhaltung einer partiellen Autonomie gegenüber dem systemischen Kreislauf, den sie kontrollieren. Die untere und obere Grenze der zerebralen Autoregulation liegen nach verschiedenen Studien und Modellberechnungen bei einem mittleren arteriellen Blutdruck (MABP) von 70 mmHg und 160 mmHg [8]. Außerhalb dieser Grenzen korreliert der CBF mit dem MABP, wobei sich die Beziehung mit

zunehmender Entfernung vom Autoregulationsbereich einem linearen Verhältnis annähert [9]. Innerhalb dieser Grenzen ist der CBF vom MABP unabhängig, was eine lokale Adaptation voraussetzt. Als Mechanismus wird zum einen eine vaskulär-endothelial vermittelte druckinduzierte Kaskade unter Vermittlung von Phospholipase C und 20-Hydroxy-Eicosatriensäure angenommen [10]. Zum anderen wird die Autoregulation dem endothelunabhängigen Bayliss-Effekt zugeschrieben, einem schon 1902 beschriebenen Phänomen, bei dem kleine Arterien und Arteriolen auf eine intravaskuläre Druckerhöhung mit einer Vasokonstriktion reagieren [11]. Als Mechanismus wird dabei eine mechanische Aktivierung von unselektiven Kationenkanälen in der Myozytenmembran angenommen [12]. Während also die systemische Autoregulation des CBF wahrscheinlich auf der Ebene der arteriellen Gefäßwand (mit oder ohne endotheliale Beteiligung) stattfindet, ist die Regulation innerhalb des Gehirns komplexer, da sie auch an die neuronale Aktivität gekoppelt ist.

### **1.2.2 Lokale zerebrovaskuläre Regulation und neurovaskuläre Kopplung**

Neben einer systemischen Autoregulation besitzt das Gehirn die Eigenschaft, den CBF lokal anzupassen und einzustellen, ein Phänomen, das als neurovaskuläre Kopplung bezeichnet wird [6]. Bereits 1890 von Roy und Sherrington postuliert [13], besteht ihr mutmaßlicher Sinn darin, die neuronale Funktion aufrechtzuerhalten und eine Unterversorgung mit Sauerstoff und / oder Glukose zu vermeiden. Möglicherweise hat sie zudem auch eine Bedeutung in der lokalen Temperaturregulation [14]. Der Mechanismus der neurovaskulären Kopplung ist nicht im Detail verstanden. In einer aktuellen Übersichtsarbeit haben Attwell et al. die vielen zum Teil widersprüchlichen experimentellen Befunde zusammengetragen [2]. Dabei zeigt sich wenig Evidenz für einen Feedback-Mechanismus, bei dem die CBF-Zunahme bei neuronaler Aktivierung durch einen metabolischen Trigger im lokalen Gefäßsystem ausgelöst wird, z.B. wenn die Sauerstoff- oder Glukosekonzentration abnimmt, oder vermehrt CO<sub>2</sub> anfällt. Vielmehr deuten die experimentellen Befunde auf ein Feedforward-System hin, bei dem der CBF über Neurotransmitter, vor allem Glutamat, gesteuert wird. Diese Steuerung wird vornehmlich über die Astrozyten vermittelt. Die Glutamatausschüttung bei neuronaler Aktivierung führt demnach zur Freisetzung von NO aus Neuronen und Arachidonsäurederivaten aus Astrozyten, die beide von Region und Sauerstoffspannung abhängig den CBF erhöhen können [2]. Auch ist nicht klar, ob die Blutflussregulation nur auf arteriolärer Ebene stattfindet, oder ob auch Perizyten in den Kapillaren eine Rolle spielen [15]. Die genauen Mechanismen der neurovaskulären Kopplung sind demnach nicht geklärt, obwohl das Phänomen, das sie hervorruft, die sogenannte vaskuläre Antwort, mit vielen Messmethoden charakterisiert worden ist [6]. Allerdings sind auch der dynamische Ablauf dieser funktionellen Hyperämie, ihre Auswirkung auf die lokale Oxygenierung und ihr Verhältnis zur CMRO<sub>2</sub> Gegenstand von Kontroversen.

### 1.2.3 Die vaskuläre Antwort und die Post-Stimulus-Antwort

Um die neurovaskuläre Kopplung zu untersuchen, verwenden die meisten Experimente einen externen oder vom Probanden selbst erzeugten Stimulus, der dann im Gehirn eine vaskuläre Antwort hervorruft [6]. Diese lässt sich mit mehreren Methoden durch eine repetitive Messung mit hoher zeitlicher Auflösung messen, wobei jeweils unterschiedliche Facetten der vaskulären Antwort detektiert werden. Zum einen kann der CBF mit verschiedenen Methoden direkt in seiner Dynamik gemessen werden. Zum anderen gibt es Verfahren, die die Konzentration von bestimmten Blutkomponenten im Messvolumen bestimmen. Dabei gibt es das oxygenierungsunabhängige CBV, das in einem nicht-linearen Zusammenhang mit dem Blutfluss steht, und die Konzentration des oxygenierten und deoxygenierten Hämoglobins (oxy-Hb und deoxy-Hb), die zusätzlich von Sauerstoffpartialdruck und  $CMRO_2$  abhängt. Das deoxy-Hb besitzt dabei die größte Bedeutung in der funktionellen Bildgebung des Gehirns: Aufgrund seiner paramagnetischen Eigenschaften fungiert es als endogenes MRT-Kontrastmittel und ermöglicht die funktionelle Bildgebung mit BOLD-fMRT [7,16]. Gleichzeitig ist die dynamische Konzentrationsveränderung des deoxy-Hb eine sehr komplexe Größe, weil sie von CBF, CBV, Sauerstoffpartialdruck,  $CMRO_2$  und Hämatokrit abhängig ist. Zudem weist das deoxy-Hb einen Konzentrationsgradienten zwischen Arterien und Venen auf. Deshalb kommt es im Messvolumen neben dem komplexen Zusammenspiel innerhalb eines Gefäßabschnittes auch zu Kompartimentverschiebungen innerhalb des arterio-kapillär-venösen Systems. Bei der Konzentrationsmessung des deoxy-Hb trifft mit der BOLD-fMRT eine nichtinvasive, einfach zu implementierende Methode auf ein vielschichtiges Signal, dessen Interpretation immer wieder zu Kontroversen führt [17]. Dynamische Messungen des CBF sind andererseits meist invasiv oder mit hohem methodischem Aufwand verbunden, liefern dafür aber eine direktere, leichter zu verstehende Facette der vaskulären Antwort. In der Kombination von CBF, deoxy-Hb und CBV lassen sich neurovaskuläre Kopplung (neuronale Aktivität – Blutfluss) und neurometabolische Kopplung (neuronale Aktivität – Sauerstoffverbrauch) im Zeitverlauf quantifizieren, was in den Arbeiten P4 und P5 für verschiedene Fragestellungen bei der Interpretation des BOLD-Signals genutzt wird.

Auch wenn die vaskuläre Antwort Besonderheiten aufweisen kann, die durch Spezies, Kortexareal, Anästhesie und andere Faktoren bedingt sind, ist ihr prinzipieller vaskulär-metabolischer Ablauf in den meisten Fällen ähnlich. Abb. 1a zeigt schematisch den Zeitverlauf von CBF, CBV,  $CMRO_2$  und deoxy-Hb im somatosensorischen Kortex der Ratte während einer elektrischen Stimulation der kontralateralen Vorderpfote. Nach Beginn der Stimulation nimmt der CBF im Messvolumen zu, bis er nach ca. 4-5 s ein Plateau erreicht. Nach dem Stimulationsende kehrt der CBF wieder zum Ausgangsniveau zurück. Das CBV



zeigt eine ähnliche Kinetik, bildet sich aber etwas träger zum Ausgangsniveau zurück. Die Konzentration des deoxy-Hb fällt während der Stimulation ab und steigt nach dem Stimulationsende auf Werte oberhalb des Ruhenniveaus. Das BOLD-Signal (als T2\*-gewichtetes MRT-Signal) verhält sich umgekehrt proportional zu diesem Konzentrationszeitverlauf, da es vom paramagnetischen deoxy-Hb abgeschwächt wird. Hier kommt es zu einem Anstieg unter Stimulation und einem Abfall unter Ruhewerte nach dem Stimulationsende, dem sogenannten BOLD Post-Stimulus-Undershoot (BOLD-Signal hier nicht abgebildet). Die  $CMRO_2$  kann aus CBF, CBV und deoxy-Hb berechnet werden und zeigt typischerweise einen Anstieg während der Stimulation. Als Marker neuronaler Aktivität können bei der Vorderpfotenstimulation somatosensorisch evozierte Potentiale abgeleitet werden (Abb. 1b). Während die vaskuläre Antwort unter physiologischen Bedingungen stereotyp abläuft, ist ihr Verhalten unter pathophysiologischen Umständen unklar. Ihre Veränderung unter Hypothermie und erhöhtem intrakraniellen Druck zu untersuchen ist ein Aspekt dieser Arbeit. Die prinzipielle Relevanz einer solchen Studie ergibt sich aus drei Aspekten. Erstens lassen sich Rückschlüsse auf das Zusammenspiel von CBV, CBF,  $CMRO_2$  und arteriovenöser Kompartimentalisierung ziehen. Zweitens ist es wichtig, zu eruieren, ob die vaskuläre Antwort unter pathophysiologischen Veränderungen erhalten bleibt, oder ob die fMRT bei entsprechenden Patienten möglicherweise nicht valide ist. Drittens lassen sich etwaige Veränderungen in der vaskulären Antwort unter Umständen prinzipiell nutzen, um diese pathophysiologischen Zustände bei Patienten zu detektieren.

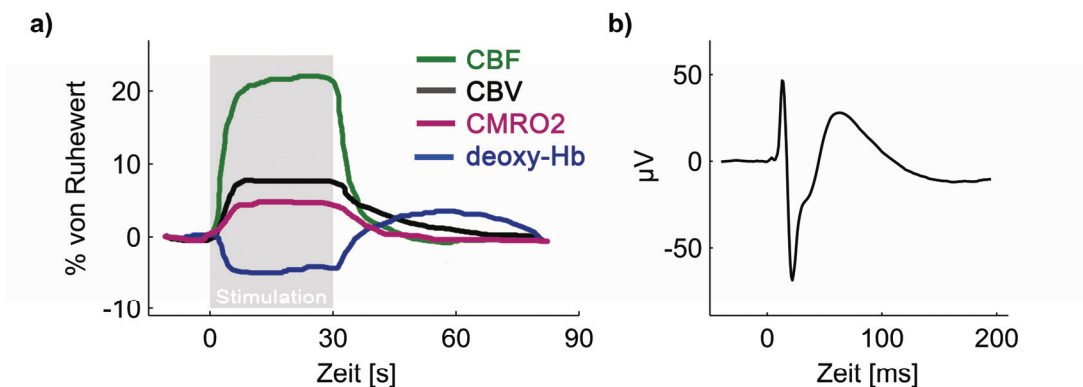


Abbildung 1: Vaskuläre Antwort im somatosensorischen Kortex der Ratte (schematisch)

- a) Während einer 30 s dauernden elektrischen Vorderpfotenstimulation (graue Fläche) kommt es zum Anstieg von CBF, CBV und  $CMRO_2$ . Die deoxy-Hb-Konzentration fällt ab (Korrelat des BOLD-Signals). Nach dem Stimulationsende kommt es zu einem transienten Überschießen der deoxy-Hb-Konzentration (Korrelat des BOLD Post-Stimulus-Undershoots).
- b) somatosensorisch evoziertes Potential (SEP), gemittelt über alle Vorderpfotenstimulationen während des 30 s - Trains, als elektrophysiologisches Korrelat neuronaler Aktivität

Im Zentrum dieser Kontroverse steht der BOLD Post-Stimulus-Undershoot, die Antwort nach dem Stimulationsende, die sich regelmäßig im BOLD-fMRT zeigt. Hier wurden verschiedene Hypothesen formuliert, wonach dieses Signal einem CBF-CBV Missverhältnis [18,19], einer erhöhten  $CMRO_2$  nach Stimulationsende [20-22] oder einem CBF undershoot [23-25] entspricht. Eine multimodale Messung der vaskulären Antwort mit und ohne artifizielle Steigerung des ICP lieferte im Rahmen der Teilstudie P5 wichtige Befunde im Hinblick auf die Validität dieser verschiedenen Hypothesen. Sie erlaubt zudem Rückschlüsse darauf, ob und wie der CBF an die lokale  $CMRO_2$  gekoppelt ist.

#### **1.2.4 Verhältnis von CBF und $CMRO_2$**

Zum lokalen Konzentrationsabfall des deoxy-Hb (mit Anstieg des BOLD-Signals) während neuronaler Aktivierung kommt es, weil der CBF bei neuronaler Aktivierung relativ zur  $CMRO_2$  überproportional ansteigt. Für diese exzessive Blutflussantwort gibt es prinzipiell zwei Erklärungsmodelle. Das eine führt das Missverhältnis von CBF und  $CMRO_2$  darauf zurück, dass der gesamte Sauerstoff, der die Kapillaren verlässt, stets verbraucht wird, und die Sauerstoffversorgung des Gewebes somit diffusionslimitiert ist [26]. Eine Steigerung der Menge an Sauerstoff, die ins Gewebe diffundiert, kann demnach nur unter einer Blutflusszunahme erfolgen, die dysproportional hoch ist, da mit dem Blutfluss die kapilläre Transitzeit und damit die Sauerstoffextraktionsfraktion sinkt. Die andere Erklärung sieht in der überproportionalen Blutflussantwort einen möglichen Sicherheitsfaktor. Ein quantitativer Sicherheitsabstand zwischen Versorgung und Bedarf ist für viele physiologische und biochemische Systeme bekannt, wobei Sicherheitsfaktoren im Bereich von 1.2 bis 10 gefunden wurden [27]. Diese Hypothese wird unterstützt von Daten, die eine Entkopplung von  $CMRO_2$  und CBF zeigen [28,29]. Sie ergibt physiologisch gesehen Sinn, da Neurone und Gliazellen bei einer Unterversorgung von Glukose und Sauerstoff durch das Blut schon nach wenigen Minuten ihre Funktion verlieren und dann geschädigt werden bzw. absterben [30]. In diesem weitergefassten Sinne wäre die neurovaskuläre Kopplung eine endogene primärpräventive Maßnahme gegen einen Funktionsverlust von Hirngewebe infolge einer nicht ausreichenden zusätzlichen Sauerstoffversorgung während erhöhter neuronaler Aktivität. Die Bedeutung der lokaladaptiven Kapazitäten des CBF zeigt sich nicht zuletzt im *Circulus arteriosus Willisii*, dem arteriellen Gefäßring, der eine schnelle Rekrutierung von Kollateralgefäßen erlaubt. Aus diesem Grund steht die Messung des CBF methodisch im Zentrum sowohl von experimentellen Studien zur neurovaskulären Kopplung als auch von experimentellen Studien zum ischämischen Schlaganfall. Im Folgenden sollen die in den Studien dieser Arbeit eingesetzten Verfahren zur CBF-Messung kurz zusammengestellt werden.

### 1.3 Methoden zur Messung des CBF

Der zerebrale Blutfluss CBF ergibt sich aus dem Verhältnis von Blutvolumen CBV pro Zeit t, meist bezogen auf die Masse m des Messvolumens.

$$CBF = \frac{CBV}{(m * t)}$$

Die Einheit kann dann in ml / (g\*min) angegeben werden. Es gibt dabei Schwellenwerte, deren Unterschreitung das Überleben von Gehirngewebe sehr unwahrscheinlich machen [31]. Die beiden prinzipiellen Probleme der CBF-Messung sind die zeitliche Dynamik und die Quantifizierung. Die in dieser Arbeit eingesetzten Methoden haben unterschiedliche Stärken und Schwächen, was ihre Invasivität, ihre zeitliche Auflösung, ihre Quantifizierbarkeit und ihre Übertragbarkeit auf analoge Methoden am Menschen betrifft.

#### 1.3.1 Autoradiographischer Ansatz: <sup>14</sup>C-Iodoantipyrin-Autoradiographie

Die Methode der <sup>14</sup>C-Iodoantipyrin(IAP)-Autoradiographie erfordert eine histologische Aufarbeitung des Gehirngewebes und kann daher ausschließlich im Tiermodell eingesetzt werden. In der Studie P1 wird sie als quantitativer Goldstandard verwendet, um eine magnetresonanztomographische CBF-Messung an der Maus zu validieren. Das Prinzip besteht darin, dass die radioaktive Substanz <sup>14</sup>C-Iodoantipyrin über eine Pumpe intravenös infundiert wird [32]. Während dieser Zeit wird frisch entnommenes arterielles Blut periodisch auf Papierfilter gegeben. Am Ende der einminütigen Infusionsperiode werden die Tiere dekapitiert und die entnommenen Gehirne eingefroren, koronar geschnitten, getrocknet und auf einen Röntgenfilm gegeben, zusammen mit präkalibrierten Autoradiographie-Standards. Unter Annahme von Korrekturen für An- und Abflutzeiten und eines Gehirn-Blut-Verteilungskoeffizienten lässt sich so der Blutfluss quantifizieren. Der Vorteil dieser Methode besteht in ihrer hohen räumlichen Auflösung und in ihrer genauen Quantifizierung. Der Nachteil ist, dass es sich um eine letale Methode handelt, d.h. sie erlaubt die Messung zu einem Zeitpunkt unter nachfolgender Tötung des Tieres, so dass über die CBF-Messung hinaus keine weiteren in-vivo oder in-vitro Untersuchungen am Gehirn erfolgen können. Mit der <sup>15</sup>O-Wasser-PET-Methode gibt es eine ähnliche nichtletale und am Menschen einsetzbare nuklearmedizinische Methode, die jedoch aufgrund des hohen Aufwands keine Bildgebungsmethode der klinischen Routine darstellt [33]. Es gibt für die CBF-Messung mit IAP-Autoradiographie damit eine translationale Perspektive, die aber nicht in der Breite z.B. der klinischen Schlaganfall-Bildgebung nutzbar ist.

### **1.3.2 Magnetresonanztomographischer Ansatz: FAIR-MRT**

Die MRT bietet verschiedene Ansätze der nichtinvasiven CBF-Messung. Hierbei kann man unterscheiden zwischen Methoden, die die Injektion eines Kontrastmittels erfordern, und den sogenannten „Arterial Spin Labeling“-Techniken (ASL), bei denen kein Kontrastmittel injiziert werden muss. Die in den Arbeiten P1-P3 an der Maus eingesetzte Flow Sensitive Alternating Inversion Recovery-MRT (FAIR-MRT) ist eine solche ASL-Methode [34,35]. Dabei wird die T1-Relaxationskurve im Bildschnitt mittels einer Inversion Recovery-Sequenz gemessen, wobei der Inversionspuls einmal selektiv, d.h. auf das Messvolumen (den abzubildenden Gehirnschnitt) begrenzt und einmal nichtselektiv ist. Während die nichtselektive Messung durch den CBF nicht verändert wird (da im Idealfall sämtliches Blut, das ins Gehirn fließt, genauso markiert ist wie das umliegende Gehirngewebe), zeigt die selektive Messung eine Blutflusswichtung, da nicht invertierte Protonen über den Blutfluss ins Messvolumen strömen und die effektive T1 verkürzen. Aus diesem T1-Unterschied lässt sich unter der Annahme eines Gehirn-Blut-Verteilungskoeffizienten für Wasser der CBF quantifizieren [36]. Die FAIR-MRT verfügt über eine vergleichsweise geringe räumliche Auflösung, ist anfällig gegenüber Artefakten und nicht so genau in der Quantifizierung wie autoradiographische Methoden. Sie bietet maximale Nichtinvasivität, da sie nicht nur wiederholte Messungen erlaubt, sondern darüber hinaus auch keine intravenöse Injektion von Kontrastmittel erfordert. Weiterhin ist sie absolut quantifizierbar, weshalb sie auch in longitudinalen Studien eingesetzt werden kann. Sie lässt sich mit wenigen Abweichungen auch beim Menschen anwenden und hat somit eine starke translationale Perspektive.

### **1.3.3 Laseroptischer Ansatz**

Bei den optischen Verfahren zur CBF-Messung haben Laser eine große Bedeutung, weil ihre Kohärenz durch das bewegte Blut gestört wird und diese Störung zur CBF-Messung genutzt werden kann. Die beiden prinzipiellen Methoden hierfür sind die Laser Doppler Flowmetry (LDF) und die Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA). Sie kommen bei den vorliegenden Studien P4-P6 im invasiven Präparationsaufbau (kraniales Fenster) am Rattenmodell zum Einsatz. Bei beiden Methoden wird der Hirnkortex mit Laserlicht im unteren Nahinfrarotbereich (bei den vorliegenden Studien  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ) beleuchtet. Bei der LDF-Methode wird das resultierende zurückgestreute Licht vom Messvolumen mittels einer Glasfaseroptik detektiert. Das Licht wird durch unbewegtes Gewebe und durch bewegte Blutzellen gestreut. Während Laserlicht, das durch unbewegtes Gewebe gestreut wird, unverändert bleibt, führt die Streuung durch bewegte Blutzellen zu einer Doppler-Frequenzverschiebung. Der Index, der sich aus der Multiplikation dieser Frequenzverschiebung mit dem Anteil des Lichtes, das ihr unterliegt, ergibt, ist zum CBF

proportional, wobei nur relative Veränderungen bestimmt werden können [37]. Bei der LASCA-Methode werden Bilder der laserbeleuchteten Kortexoberfläche von einer digitalen Kamera aufgenommen [38]. Laser Speckles sind zufällige Interferenzmuster, die auftreten, wenn kohärentes Laserlicht von einem diffusen Medium (wie Hirngewebe) gestreut wird. Aufgrund von kleinen Unterschieden in der zurückgelegten Weglänge differieren die Lichtstrahlen in ihrer Phase und können sich bei Addition somit verstärken oder abschwächen [39]. Ein Bild einer laserilluminierten Oberfläche erscheint deshalb gekörnt („speckled“). Bewegte Blutzellen führen zu einer erhöhten zeitlichen Intensitätsvarianz innerhalb eines Pixels, die sich entlang vorgegebender Pixelquadrate quantifizieren lässt. Der so genannte Speckle-Kontrast lässt sich unter Berücksichtigung der Belichtungszeit in relative Werte des CBF innerhalb des analysierten Pixelquadrates umrechnen. LDF und LASCA haben den Nachteil, dass sie eine invasive Präparation erfordern. Weiterhin sind sie nur reliabel in der Bestimmung von relativen Blutflusswerten. Aus präparatorischen Gründen und aufgrund fehlender absoluter Quantifizierbarkeit sind diese laseroptischen Methoden nicht für longitudinale Studien mit repetitiven Messungen geeignet. Die LASCA erlaubt eine zweidimensionale CBF-Bildgebung in einem kleinen Kortexareal, während die LDF keine räumliche Auflösung besitzt. Der Vorteil der laseroptischen Methoden besteht in ihrer hohen zeitlichen Auflösung, ihrer guten Implementierbarkeit und ihrer relativen Robustheit gegenüber Artefakten. Weiterhin lässt sich die LDF-Methode mit einer simultanen optischen Spektroskopie verbinden, um zusätzliche blutflussassoziierte Konzentrations- und Oxygenierungsveränderungen im Hämoglobin zu erfassen.

#### **1.3.4 Optische Spektroskopie**

Hämoglobin, der Farbstoff der Erythrozyten, verändert sein Absorptionsspektrum je nach Oxygenierung, weshalb es z.B. unter Hypoxie zu einer Blaufärbung der Lippen kommt (Zyanose). Nach dem Prinzip des Lambert-Beerschen Gesetzes lassen sich die Konzentrationen von oxy-Hb und deoxy-Hb in einer Küvette über die Abschwächung des Lichtes entlang der Pfadlänge der Küvette errechnen. Im streuenden Hirngewebe gilt dieses Prinzip auch, allerdings unter der Voraussetzung, dass die Pfadlänge aufgrund der unterschiedlichen Eindringtiefen für jede Wellenlänge korrigiert wird [40,41]. Bei den Arbeiten P4 und P5 wurde simultan zur LDF-Messung eine spektroskopische Messung durchgeführt. Die beiden Glasfaser-Lichtleiter für die LDF-Messung werden kombiniert mit zwei weiteren Glasfaser-Lichtleitern, von denen einer die Kortexoberfläche mit weißem Licht (450 – 700 nm) beleuchtet und der andere das zurückgestreute Licht innerhalb dieser Wellenlängen detektiert und einem Spektrometer zuführt. Durch Kalibrierung mit einer Bariumsulfat-Reflektions-Probe und unter Einsatz eines speziellen iterativen Algorithmus können so Zeitverläufe der absoluten Konzentrationen von oxy-Hb und deoxy-Hb im Messvolumen

bestimmt werden [42]. Hieraus lässt sich die relative Veränderung von CBV zum Zeitpunkt  $t$  errechnen:

$$CBV_{rel}(t) = \frac{oxy-Hb(t) + deoxy-Hb(t)}{oxy-Hb_0 + deoxy-Hb_0}$$

wobei  $oxy-Hb_0$  und  $deoxy-Hb_0$  die Konzentrationen von oxy-Hb und deoxy-Hb zum Referenzzeitpunkt (z.B. Ruhebedingung vor Stimulation) enthalten.

Weiterhin lässt sich unter Hinzunahme des parallel durch LDF gemessenen CBF die relative Veränderung der  $CMRO_2$  bestimmen, indem die Produktion von deoxy-Hb stöchiometrisch quantifiziert wird [43]:

$$CMRO2_{rel}(t) = CBF_{rel}(t) \times \frac{deoxy-Hb_{rel}(t)}{CBV_{rel}(t)}$$

Die optische Spektroskopie liefert keine direkte CBF-Messung sondern bestimmt indirekt mit dem CBF zusammenhängende komplementäre Größen. Das Verhältnis von CBV zu CBF wird von der Compliance des Gefäßsystems im Messvolumen bestimmt [19]. Die  $CMRO_2$  beinhaltet Informationen über die neurometabolische Kopplung. Das deoxy-Hb ist das optisch messbare Korrelat zum BOLD-Signal und liefert eine translational übertragbare Größe für die BOLD-fMRT. Die optische Spektroskopie ist invasiv und hat keine räumliche Auflösung, gibt aber über die Anwendung von Referenzspektren quantitative Werte. Der Vorteil dieser Methode besteht bei Kombination mit der LDF in ihrer multimodalen Aussagekraft, ihrer translationalen Perspektive und ihrer hohen zeitlichen Auflösung.

#### 1.4 CBF unter externen Stressoren

Der CBF wird als dynamische Größe sowohl unter Ruhebedingungen als auch im Rahmen von funktionellen Veränderungen durch pathophysiologische Veränderungen im Gehirn wesentlich beeinflusst, wobei die Details dieser Veränderungen in vielen Teilen ungeklärt sind. Im Folgenden soll kurz auf den Stand der Forschung hinsichtlich der CBF-Messung in den verschiedenen in-vivo-Modellen eingegangen werden, aus dem sich die Hypothesen dieser Arbeit ergeben.

### **1.4.1 Reperfusion nach akuter zerebraler Ischämie**

Dem ischämischen Schlaganfall liegt definitionsgemäß eine akute lokale Reduktion des CBF zugrunde, wobei es hier Schwellenwerte gibt, unterhalb derer das entsprechende Gehirngewebe infarziert [31]. Zwischen dem Infarktkern und dem normalperfundierten Gewebe kann es minderperfundiertes Gewebe geben, das durch Reperfusion gerettet werden kann, im Sinne einer ischämischen Penumbra [44]. Als magnetresonanztomographisches Korrelat dieser Penumbra dienen – mit Einschränkungen – Areale, die ein Perfusionsdefizit, aber keine Diffusionsstörung aufweisen [45,46]. Die auf eine Reperfusion abzielende Lysetherapie mit einem Plasminogen-Aktivator ist bislang die einzige zugelassene Akuttherapie für Patienten mit ischämischem Schlaganfall [47]. Im Gegensatz dazu gibt es zahlreiche Therapien, die im Tiermodell der zerebralen Ischämie wirksam sind [48], aber aus verschiedenen, zum Teil nicht geklärten Gründen keine vergleichbar positive Wirkung in klinischen Studien an Schlaganfallpatienten aufwiesen. Dies hat Fragen hinsichtlich der Qualität von experimentellen Schlaganfallstudien aufgeworfen [49]. Teil der vorliegenden Arbeit war die Etablierung und Anwendung einer quantitativen magnetresonanztomographischen CBF-Messung mit FAIR-MRT. Neben einer Validierungsstudie (P1) ging es dabei auch darum, das Verhalten des CBF in der Reperusionsphase von Neuroprotektionsstudien zu untersuchen. Mit Kreatin (P2) und Vardenafil (P3), einem Inhibitor der Phosphodiesterase V (PDE-V), wurden dabei Substanzen eingesetzt, bei denen es Hinweise darauf gibt, dass eine etwaige Neuroprotektion vaskulär vermittelt wird [50,51].

### **1.4.2 Hypothermie**

Bei Patienten, die eine zerebrale Hypoxie unter Herz-Kreislaufstillstand überleben, ist die induzierte Hypothermie als neuroprotektive Therapie mittlerweile Standard geworden [52]. Hierbei kommt es wahrscheinlich zu einer relativ erhöhten Energieversorgung des Gehirns, weil der Abbau von Adenosintriphosphat mehr reduziert wird als seine Synthese [53]. Im Prinzip handelt es sich um eine Verlangsamung von chemischen Reaktionen, die allgemein eine Temperaturabhängigkeit aufweisen. Der Faktor, um den eine Reaktion bei einem Temperaturanstieg um 10 °C schneller wird, wird als  $Q_{10}$  bezeichnet. Auch im Gehirn ist die  $Q_{10}$  für die  $CMRO_2$  in verschiedenen Spezies bestimmt worden [54,55]. Unklar ist, ob die neurovaskuläre Kopplung unter Hypothermie intakt bleibt. Das würde heißen, dass sich eine evozierte vaskuläre Antwort (z.B. gemessen mit fNIRS) unter diesen Umständen im bewusstlosen Patienten unter Hypothermie zum Monitoring der neurovaskulären Integrität heranziehen lassen könnte. Zum anderen kann die bekannte Temperaturabhängigkeit der  $CMRO_2$  dafür genutzt werden, eine experimentelle  $CMRO_2$ -Bestimmung mit LDF und optischer Spektroskopie zu validieren.

### **1.4.3 Intrakranielle Hypertension**

Seit den frühen Arbeiten von Seymour Kety ist bekannt, dass eine Erhöhung des intrakraniellen Drucks eine Erhöhung im systemischen Blutdruck hervorruft, die den zerebralen Perfusionsdruck stabil hält [56]. Was eine intrakranielle Hypertension aber lokal bewirkt und wie sie die neurovaskuläre Kopplung beeinflusst, ist weitgehend unklar. Die Tatsache, dass die BOLD-fMRT deoxy-Hb als intrinsisches Kontrastmittel benötigt und dieses vermehrt in den Venen vorhanden ist, macht eine Veränderung des BOLD-Signals unter ICP-Erhöpfung wahrscheinlich. Diese zu untersuchen hat physiologische Relevanz, zum einen weil es immer wieder Debatten über die venöse Wichtung der BOLD-fMRT gibt, die so genannte „brain vs. vein debate“ [57]. Zum anderen, weil der BOLD Post-Stimulus-Undershoot, sollte er nicht durch eine CMRO<sub>2</sub>-Zunahme, sondern durch eine träge Rückbildung des CBV nach dem Stimulationsende bedingt sein, mit zunehmendem ICP kleiner werden müsste. Der Einfluss des ICP auf die neurovaskuläre Kopplung hat auch klinische Relevanz. Die BOLD-fMRT wird in der prächirurgischen Diagnostik von Hirntumorpatienten eingesetzt, um so genannte eloquente Hirnareale zu lokalisieren und bei der Operation zu schützen [58]. Gleichzeitig haben Patienten mit einem Hirntumor oft einen erhöhten Hirndruck [59]. Bislang ist aber nicht gezeigt, ob die BOLD-fMRT unter erhöhtem ICP überhaupt funktionelle Bildgebung leisten kann. Es gibt Arbeiten, die eine Reduktion des funktionellen BOLD-Signals bei Patienten mit Hirntumoren beschreiben [60-62], wobei aber nicht zu differenzieren war, ob diese durch eine ICP-Erhöpfung oder durch eine tumorbedingte Zerstörung von Neuronen bedingt war. Das Verhalten der neurovaskulären Kopplung unter ICP-Erhöpfung ist demnach kritisch für wesentliche physiologische und klinische Fragestellungen im Hinblick auf die BOLD-fMRT.

## **1.5 Hypothesen**

Die Anwendung moderner Methoden zur Blutflussmessung erfolgte bei den verschiedenen pathophysiologischen Modellen zur Bearbeitung der folgenden Hypothesen.

### **1.5.1 CBF und fokale zerebrale Ischämie**

- a) Die FAIR-MRT erlaubt eine valide quantitative Messung des CBF bei der Maus.
- b) Kreatin wirkt neuroprotektiv und steigert die zerebrale Reperfusion.
- c) Der PDE-V-Inhibitor Vardenafil wirkt neuroprotektiv und steigert die zerebrale Reperfusion.



### 1.5.2 CBF und Hypothermie

- a) Die neurovaskuläre Kopplung bleibt unter Hypothermie erhalten, die Amplituden der funktionellen Aktivierung werden aber reduziert.
- b) Mittels optischer Verfahren lässt sich die  $CMRO_2$  ermitteln, validiert durch die  $Q_{10}$  der  $CMRO_2$ -Temperaturabhängigkeit.

### 1.5.3 CBF und intrakranielle Hypertension

- a) Die der vaskulären Antwort folgende Erhöhung der lokalen deoxy-Hb-Konzentration – Korrelat des BOLD Post-Stimulus-Undershoots - ist ein passiv-vaskuläres Phänomen, denn sie wird durch eine ICP-Steigerung supprimiert, nicht durch eine Erhöhung der  $CMRO_2$  hervorgerufen und von einer vorübergehenden Erhöhung des CBV begleitet.
- b) Der CBF ist dem deoxy-Hb als Bildgebungssignal überlegen, weil er auch unter moderater ICP-Erhöhung funktionelle Antworten zeigt und mikrovaskuläre Areale im Gehirn hervorhebt.

## 1.6 Tiermodelle

Für die Bearbeitung der Hypothesen unter 1.5.1 wurde ein Mausmodell, für die Bearbeitung der Hypothesen unter 1.5.2 und 1.5.3 ein Rattenmodell verwendet. Der prinzipielle präparatorische Aufbau dieser Modelle wird im Folgenden kurz beschrieben.

### 1.6.1 Mausmodell des ischämischen Schlaganfalls

An männlichen Mäusen der Stämme 129S6/SvEv (P1, P2) bzw. C57BL/6 (P3) wurde eine experimentelle fokale zerebrale Ischämie erzeugt. Dabei wurde die etablierte „middle cerebral artery occlusion“ (MCAO)-Methode durchgeführt [63]. Unter Anästhesie mit Isofluran oder Halothan wurde ein Monofilament in die linke *Arteria carotis communis* eingeführt und bis zum Abgang der *Arteria cerebri media* vorgeschoben. Bei den Studien P2 und P3 wurde der Faden nach 45 min wieder entfernt und somit die Perfusion der *Arteria cerebri media* wiederhergestellt.

### 1.6.2 Rattenmodell der neurovaskulären Kopplung im somatosensorischen Kortex

Männliche Ratten (Stamm Wistar) wurden zunächst mit einem Gasgemisch aus Isofluran,  $O_2$  und  $N_2O$  anästhesiert. Die linke *Arteria femoralis* wurde kanüliert, um den MABP zu überwachen und periodisch Blutgasanalysen durchzuführen. Zudem wurde ein Zugang zur linken *Vena femoralis* gelegt für die Umstellung der Anästhesie auf eine Injektionsnarkose mit  $\alpha$ -Chloralose nach Abschluss der Präparation. Die Tiere wurden tracheotomiert, intubiert

und für die weitere Dauer des Experiments mit einem Nagetier-Respirator beatmet. Nach Fixation in einem stereotaktischen Rahmen wurde ein kraniales Fenster über dem rechten somatosensorischen Kortex implantiert. Zur Ableitung eines Elektroenzephalogramms (EEG) wurde eine Silberballelektrode über dem Fenster platziert. Die optischen Messungen im somatosensorischen Kortex wurden bei der Studie P6 durch den ausgedünnten Schädelknochen und bei der Studie P4 unter Entfernung des Knochens durch die Dura vorgenommen, wobei begrenzt durch eine Wachswand ein Reservoir mit Kochsalzlösung auf das Fenster gegeben wurde. Bei der Studie P5 wurde zusätzlich die Dura eröffnet, es wurden Katheterschläuche für den Zu- und Abfluss von artifiziellem *Liquor cerebrospinalis* gelegt, das Fenster mittels Deckgläschen geschlossen, mit Wachs abgedichtet und mit Knochenzement stabilisiert. Zudem wurde bei dieser Studie durch ein weiteres Bohrloch eine Kanüle in die *Cisterna magna* gelegt, um hier bei Druckerhöhung über dem kranialen Fenster einen Gegendruck aufbauen zu können. Während des Experiments erfolgte eine kontinuierliche Überwachung und ggf. Korrektur der physiologischen Basisparameter (Temperatur, MABP, arterielle Blutgase). Die neuronale Aktivierung im somatosensorischen Kortex erfolgte durch eine elektrische Stimulation an der kontralateralen Vorderpfote mit unterschiedlicher Länge und Amplitude.

## **2. Eigene Veröffentlichungen zur Bearbeitung der Hypothesen**

Im Folgenden werden die Arbeiten dieser Habilitationsschrift aufgeführt, wobei jeweils eine kurze Zusammenfassung im Hinblick auf die unter 1.5 aufgeführten Hypothesen erfolgt.

### **2.1 CBF und fokale zerebrale Ischämie**

#### a) Die FAIR-MRT erlaubt eine valide quantitative Messung des CBF bei der Maus.

In der folgenden Arbeit (P1) wurde die quantitative Blutflussmessung mit FAIR-MRT mit der IAP-Autoradiographie im MCAO-Modell der Maus verglichen. Im Ergebnis konnte gezeigt werden, dass die FAIR-MRT repetitive quantitative Messungen des hemisphäriellen Blutflusses erlaubt. Die Hypothese konnte somit gestützt werden, wenn auch die räumliche Auflösung nur eine hemisphärielle Analyse zulässt. Diese Methodvalidierung ist relevant für die Interpretation der Befunde hinsichtlich der Hypothesen b) und c).

(P1)

Leithner C, Gertz K, Schröck H, Priller J, Prass K, Steinbrink J, Villringer A, Endres M, Lindauer U, Dirnagl U, **Royl G** (2008) *A flow sensitive alternating inversion recovery (FAIR)-MRI protocol to measure hemispheric cerebral blood flow in a mouse stroke model*. Exp Neurol 210:118-27.

b) Kreatin wirkt neuroprotektiv und steigert die zerebrale Reperfusion.

In der multimodalen Studie P2 wurde der Einfluss von Kreatin auf das MCAO-Maus-Modell der zerebralen Ischämie untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass eine Nahrungsergänzung mit Kreatin die Infarktgröße um etwa 40% reduziert und dieser Effekt eher auf eine Besserung der zerebrovaskulären Funktion als auf einen veränderten bioenergetischen Status der Neurone zurückzuführen ist. Für diese Schlussfolgerung waren neben einer Konzentrationsmessung des Kreatins und seiner Metabolite im Gewebe (mit nicht relevanter Veränderung) eine verbesserte vasodilatatorische Funktion in den isolierten Präparaten der *Arteria cerebri media* und ein gesteigerter CBF in der Reperusionsphase (gemessen mit FAIR-MRT) maßgeblich.

(P2)

Prass K, **Royl G\***, Lindauer U, Freyer D, Megow D, Dirnagl U, Stockler-Ipsiroglu G, Wallimann T, Priller J (2007) *Improved reperfusion and neuroprotection by creatine in a mouse model of stroke*. J Cereb Blood Flow Metab 27: 452-459. (\* gleichberechtigter Erstautor)

c) Der PDE-V-Inhibitor Vardenafil wirkt neuroprotektiv und steigert die zerebrale Reperfusion.

Diese Hypothese konnten nicht gestützt werden. Die Studie P3 untersuchte den Einfluss des PDE-V-Inhibitors Vardenafil auf das MCAO-Mausmodell der zerebralen Ischämie. Hierbei kam besonders der Messung des CBF eine zentrale Bedeutung zu, da sich im Rattenmodell der zerebralen Ischämie eine solche CBF-Zunahme gezeigt hatte [51]. Pathophysiologisch ist dies auch gut erklärbar: PDE-V ist hochspezifisch für die Hydrolyse von cyclischem Guanosinmonophosphat (cGMP) und führt zu einer intrazellulären Konzentrationszunahme von cGMP. Erhöhte cGMP-Konzentrationen bewirken wiederum eine Dilatation von zerebralen Gefäßen. Entgegen dieser Annahmen zeigte sich aber kein Unterschied im CBF zwischen behandelten und Placebotieren. Wie auch in den Arbeiten anderer Gruppen waren die Infarktgrößen nicht reduziert, darüber hinaus fand sich kein Unterschied in der Verhaltenstestung. Auch wenn ein Trend in Richtung einer verminderten hemisphäriellen Atrophie bei den mit Vardenafil behandelten Tieren zu sehen war, hat diese Substanz nach diesen Daten keinen funktionell relevanten neuroprotektiven Effekt im Mausmodell des ischämischen Schlaganfalls.

(P3)

**Royl G**, Balkaya M, Lehmann S, Lehnardt S, Stohlmann K, Lindauer U, Endres M, Dirnagl U, Meisel A (2009) *Effects of the PDE5-inhibitor vardenafil in a mouse stroke model*. Brain Res. 1265, 148-157.

## 2.2 CBF und Hypothermie

a) Die neurovaskuläre Kopplung bleibt unter Hypothermie erhalten, die Amplituden der funktionellen Aktivierung werden aber reduziert.

b) Mittels optischer Verfahren lässt sich die  $CMRO_2$  ermitteln, validiert durch die  $Q_{10}$  der  $CMRO_2$ -Temperaturabhängigkeit.

Beide Hypothesen konnten mittels der Studie P4 im Rattenmodell der neurovaskulären Kopplung im somatosensorischen Kortex bestätigt werden. Hypothermie ist ein etabliertes neuroprotektives Verfahren nach Herzstillstand und Reanimation [64] und wird auch beim ischämischen Schlaganfall gegenwärtig in Studien evaluiert [65]. In dieser Arbeit konnte erstmals gezeigt werden, dass die neurovaskuläre Kopplung unter Abkühlung des Gehirns um 10 °C zwar amplitudenreduziert, aber im Verhältnis erhalten bleibt, was ihre Verwendbarkeit als Monitoring-Signal in diesen Patienten prinzipiell möglich erscheinen lässt. Darüber hinaus haben wir mit dieser Studie eine Methode zur Quantifizierung der relativen  $CMRO_2$  validiert, die auf einer kombinierten optischen Messung von CBF (LDF) und Hämoglobinkonzentration (Optische Spektroskopie) mit einer Sonde basiert: Die bekannte Temperaturabhängigkeit der  $CMRO_2$  ( $Q_{10}$ ) ließ sich in vivo reproduzieren. Dies war Voraussetzung für den Einsatz dieser Methode bei der folgenden Hypothese. In der Arbeit (P5) konnte so das Verhalten der  $CMRO_2$  in der Post-Stimulus-Undershoot-Phase nach dem Stimulationsende untersucht werden.

(P4)

**Royl G**, Fächtemeier M, Leithner C, Megow D, Offenhauser N, Steinbrink J, Kohl-Bareis M, Dirnagl U, Lindauer U (2008) *Hypothermia effects on neurovascular coupling and cerebral metabolic rate of oxygen*. Neuroimage 40, 1523-1532.

### 2.3 CBF und intrakranielle Hypertension

a) Die der vaskulären Antwort folgende Erhöhung der lokalen deoxy-Hb-Konzentration – Korrelat des BOLD Post-Stimulus-Undershoots - ist ein passiv-vaskuläres Phänomen, denn sie wird durch eine ICP-Steigerung supprimiert, nicht durch eine Erhöhung der CMRO<sub>2</sub> hervorgerufen und von einer vorübergehenden Erhöhung des CBV begleitet.

In der Studie P5 wurde mit einem umfassenden multimodalen Ansatz der Frage nachgegangen, was der Erhöhung des deoxy-Hb nach dem Stimulationsende zugrunde liegt, dem Korrelat des in der fMRT beobachteten BOLD Post-Stimulus-Undershoot. Dabei konnten wir die Hypothese in allen drei Teilen bestätigen. Hierfür wurde am Rattenmodell der neurovaskulären Kopplung im somatosensorischen Kortex eine kombinierte optische Messung von CBF und Hämoglobinkonzentration durchgeführt. Diese lieferte neben den relativen Veränderungen der relevanten Größen CBF, CBV und deoxy-Hb zusätzlich die in der Arbeit P4 validierte Bestimmung der CMRO<sub>2</sub>. Während der Messungen wurde in einer Gruppe der ICP durch eine subarachnoidale und intrazisternale Infusion von künstlichem *Liquor cerebrospinalis* angehoben. Hierunter war die erhöhte deoxy-Hb-Konzentration nach dem Stimulationsende reduziert bzw. eliminiert. Gleichzeitig kam es unter Normotension zu einem zeitlichen Missverhältnis zwischen CBF und CBV. Die CMRO<sub>2</sub> war trotz der erhöhten Konzentration von deoxy-Hb nach dem Stimulationsende nicht erhöht. Damit liefert diese Studie entscheidende experimentelle Evidenz für das postulierte „Balloon“ bzw. „Windkessel“-Modell [18,19], das den BOLD Post-Stimulus-Undershoot als passiv-vaskuläres compliancebedingtes Phänomen erklärt. Das Ergebnis bietet zudem die Grundlage für Folgestudien, die untersuchen, ob sich der BOLD Post-Stimulus-Undershoot möglicherweise klinisch als nichtinvasiver Marker für den intrakraniellen Druck nutzen lässt.

(P5)

Füchtemeier M, Leithner C, Offenhauser N, Foddis M, Kohl-Bareis M, Dirnagl U, Lindauer U, **Royl G** (2010). *Elevating intracranial pressure reverses the decrease in deoxygenated hemoglobin and abolishes the post-stimulus overshoot upon somatosensory activation in rats*. Neuroimage 52: 445-454.

b) CBF ist dem deoxy-Hb als Bildgebungssignal überlegen, weil er auch unter moderater ICP-Erhöhung funktionelle Antworten zeigt und mikrovaskuläre Areale im Gehirn hervorhebt.

Bei der Arbeit P5 hatte die Erhöhung des ICP einen weiteren bis dahin nicht beschriebenen Effekt auf die neurovaskuläre Kopplung. Zwar blieb die funktionelle Blutflussantwort nach somatosensorischer Stimulation auch bei einem ICP von 28 mmHg nahezu unverändert, die sie begleitende Konzentrationsveränderung im deoxy-Hb zeigte jedoch eine deutliche Veränderung. Vor Erhöhung des ICP kam es zum erwarteten Konzentrationsabfall des deoxy-Hb während der Blutflussantwort. Dieses Signal bildet die Grundlage der BOLD-fMRT. Bei Anhebung des intrakraniellen Druckes auf 7 mmHg war die entsprechende Amplitude jedoch auf etwa die Hälfte reduziert, bei weiterer Erhöhung auf 14 mmHg nivelliert. Überträgt man diesen Befund auf die BOLD-fMRT, so würde sich hier trotz eines erhaltenen CBF-Anstiegs keine Veränderung im aktivierten Areal zeigen, es käme zu einem falsch-negativen Befund. Bei einer weiteren Erhöhung auf einen ICP von 28 mmHg kehrte sich das deoxy-Hb-Signal sogar um, es kam zu einem deoxy-Hb-Anstieg unter Stimulation. Dies entspricht einem umgekehrten, d.h. negativen BOLD-Signal. Klinisch bedeutsam ist dies unter anderem deshalb, weil die BOLD-fMRT genutzt wird, um bei Patienten mit einem Hirntumor eloquente Gehirnareale zu identifizieren, mit dem Ziel, sie während der Operation zu schützen [58]. Diese Patienten haben häufig einen erhöhten intrakraniellen Druck, der dann auch zur typischen Symptomatik mit Kopfschmerzen führt [59]. Die Schlussfolgerung liegt nahe, dass die BOLD-fMRT unter Umständen bei diesen Patienten eigentlich vorhandene neuronale Aktivität nicht detektiert, mit der entsprechenden intraoperativen Gefährdung des betreffenden Gehirngewebes. Dies ist ein weiterer, neuer Punkt in der Kritik an der BOLD-fMRT, die in den letzten Jahren zunehmend formuliert wurde [66]. Das BOLD-Signal ist durch seine komplexe Entstehung oft vieldeutig und deshalb kontrovers diskutiert. Es ist das Resultat einer Interaktion von CBF, CBV und  $CMRO_2$ , dreier Größen, die ihrerseits während der neuronalen Aktivierung einer heterogenen zeitlichen Dynamik folgen. Andererseits kann das BOLD-Signal nur da entstehen, wo eine größere Konzentration von deoxygeniertem Hämoglobin vorhanden ist. Wie schon in den frühen Jahren der Methode in der sogenannten „brain-versus-vein“-Debatte diskutiert, gewichtet die BOLD-fMRT deshalb grundsätzlich das venöse Kompartiment stärker, mit entsprechender leichter Verschiebung des dargestellten Areals [57]. Alternativ zum deoxy-Hb basierten BOLD-Signal lässt sich aber auch der CBF direkt abbilden, mit perfusionsgewichteter MRT oder – wie in den letzten Jahren neu entwickelt – mit LASCA. Die Arbeit P6 fasst die Ergebnisse einer Anwendung dieser Methode am Rattenmodell des somatosensorischen Kortex zusammen. Neben einer Validierung mittels der etablierten LDF-Methode konnte dabei auch gezeigt werden, dass eine CBF-Bildgebung mit LASCA die kortikalen Areale der Mikrozirkulation hervorhebt, mit einem geringeren Beitrag von größeren pialen Gefäßen. In Zusammenschau mit den

Befunden der Arbeit P5 wird somit der zweite Teil dieser Hypothese bestätigt. Das CBF-Signal ist physiologisch und methodisch als Marker für die neuronale Aktivität geeigneter, weil es räumlich und zeitlich genauer und zuverlässiger ist. Dies gilt insbesondere für die LASCA-Methode, während die Perfusionsmessung mit dem MRT zwar vielversprechende Ergebnisse beim Brain Mapping liefern kann (z.B. Darstellung kortikaler Kolumnen in [67]), sich aber bislang nicht etabliert hat. Für eine robustere, auch einer ICP-Erhöhung standhaltenden funktionellen Bildgebung des Gehirns wäre demnach eine Optimierung der CBF-basierten fMRT Methoden hin zu kürzeren Scan-Zeiten und verbessertem Signal to Noise erstrebenswert.

(P6)

**Royle G**, Leithner C, Sellien H, Müller JP, Megow D, Offenhauser N, Steinbrink J, Kohl-Bareis M, Dirnagl U, Lindauer U (2006) *Functional imaging with laser speckle contrast analysis: vascular compartment analysis and correlation with laser Doppler flowmetry and somatosensory evoked potentials*. Brain Res 1121: 95-103.



### **3. Diskussion**

Im Folgenden sollen die Ergebnisse der vorangegangenen Arbeiten kurz zusammengestellt werden, mit dem Ziel einer dann geführten übergreifenden Diskussion unter ausgewählten Gesichtspunkten. Gemeinsamer Ansatz der Studien war es, das zerebrovaskuläre System im Tiermodell einem pathophysiologischen Stressor auszusetzen und die Auswirkungen auf den CBF mit modernen Methoden zu untersuchen. Der Gefäßverschluss im MCAO-Modell der Maus führt als Schlaganfallmodell zu einer Ischämie in der ipsilateralen Hemisphäre. Diese lässt sich mittels FAIR-MRT zuverlässig quantifizieren (P1). Die Messung des CBF trug entscheidend dazu bei, die Wirkung zweier pharmakologischer Interventionen auf das MCAO-Modell der Maus zu charakterisieren. Während der neuroprotektive Effekt von Kreatin auf eine verbesserte Reperfusion zurückgeführt werden konnte (P2), blieb der PDE-V-Inhibitor Vardenafil ohne Wirkung auf CBF und Infarktgröße (P3). Dies zeigt, wie der Befund im zerebrovaskulären System im in-vivo-Modell vom durch ex-vivo-Befunde erwarteten Effekt differieren kann, andererseits unterstreicht es die Bedeutung der CBF-Messung für das pathophysiologische Verständnis in der präklinischen Schlaganfallforschung. Als weitere Stressoren untersuchten wir Hypothermie (P4) und intrakranielle Hypertension (P5) im Rattenmodell der neurovaskulären Kopplung im somatosensorischen Kortex. Die funktionelle CBF-Zunahme blieb unter beiden Bedingungen erhalten. Die Amplitude des deoxy-Hb-Konzentrationsanstiegs nach dem Stimulationsende nahm mit dem ICP ab. Die CMRO<sub>2</sub> nach dem Stimulationsende war nicht erhöht. Beide Resultate sprechen für ein passiv-vaskuläres Phänomen als Erklärung für den BOLD Post-Stimulus-Undershoot. Die funktionelle deoxy-Hb-Abnahme während der Stimulation blieb unter Hypothermie ein reliabler Marker für neuronale Aktivität. Unter Bedingungen eines erhöhten ICP hingegen zeigte sich dieses Signal als reduziert, nicht nachweisbar, oder sogar qualitativ verändert. Das CBF-Signal ist demnach unter Bedingungen eines erhöhten ICP dem deoxy-Hb-Signal überlegen. Es hat überdies, wie durch funktionelle Bildgebung mit LASCA gezeigt (P6), den Vorteil, dass mikrovaskuläre Areale hervorgehoben werden, und somit von einer besseren räumlichen Auflösung mit engem Bezug zur neuronalen Aktivität ausgegangen werden kann.

#### **3.1 Perfusionsgewichtete MRT im Tiermodell und im klinischen Einsatz**

Mehr als andere bildgebende Verfahren ist die zerebrale Perfusionsbildgebung immer wieder in der Kritik, vor allem in ihrer klinischen Anwendung, aber auch bei ihrem Einsatz im Tiermodell. Die diskutierten Mängel sind vielfältig: Signal-to-Noise-Ratio, Probleme bei Analyse und Quantifizierung, lange Messzeiten, zum Teil aufwändigere Aufnahmeverfahren, die eine zweite Spule erforderten, und nicht zuletzt auftretende Schwierigkeiten bei individuellen Patienten, z.B. mit Carotisstenose [68]. Beim Mausmodell stellen zudem das

kleine Gehirnvolumen und Anästhesieeffekte zusätzliche Herausforderungen dar. Dennoch konnte gezeigt werden, dass mittels FAIR-MRT zuverlässig quantifizierbare CBF-Messungen möglich sind (P1). Derartige CBF-Messungen stellen einen wichtigen Beitrag zur tierexperimentellen Schlaganfallforschung dar. Die räumliche Auflösung ist deutlich geringer als in der IAP-Autoradiographie, die aussagekräftigste und im Sinne der Zielmessgröße reliabelste Methode. Weiterhin treten bei der MR-Perfusionsbildgebung häufig Artefakte auf, nicht zuletzt weil sie als relaxometrische Sequenz viele Aufnahmen mit variierenden Parametern erfordert (im Falle der FAIR-MRT unterschiedlich lange Inversionszeiten zur Ermittlung der T1-Relaxation). Von diesen Einschränkungen abgesehen hat die MR-Perfusionsbildgebung an der Maus einige Vorteile. Zum einen ist sie nicht letal und erlaubt damit repetitive Messungen und Folgeuntersuchungen mit anderen Methoden (z.B. Verhaltenstestung, Histologie, Molekularbiologie) im gleichen Tier. Zum anderen folgt die Methode dem gleichen Prinzip wie bei der Messung am Menschen und stellt damit einen wichtigen translationalen Brückenschlag zur klinischen Situation dar. Dieser hat gerade im Akut-MRT-Bereich in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen.

Im Zentrum der klinischen Aufmerksamkeit steht die Perfusionsbildgebung bei der Definition von Schlaganfallpatienten mit einer Penumbra im Sinne eines tissue at risk, d.h. Gewebe, das zwar kritisch minderperfundiert, aber prinzipiell noch zu retten ist. Die erste klinische Phase-III-Studie, die dieses Konzept zur Selektion von Therapiekandidaten für eine Lyse mit dem gerinnungshemmenden Enzym Desmoteplase eingesetzt hat, war negativ [69]. Als Ursache hierfür wurden neben bildgebend-methodischen Gründen auch klinische Selektionskriterien in Betracht gezogen. Die Darstellung von Penumbra-Gewebe mittels Perfusionsbildgebung gilt deshalb weiterhin als der Schlüssel, mit dem Patienten jenseits der 4,5 h - Grenze einer therapeutischen Thrombolyse zugeführt werden können [70]. Im Kontext einer verbesserten Translation vom Tiermodell zur klinischen Therapie gab es in den letzten Jahren eine Diskussion über eine verbesserte Qualität der tierexperimentellen Studien [49]. Die Parallelisierung der Methoden ist ein wichtiger Schritt, um den Schlaganfall im Tiermodell mit dem Schlaganfall im Patienten vergleichen zu können. Dem MRT kommt dabei eine wichtige Rolle zu, weil es im Tiermodell und beim Menschen den Schlaganfall sowohl akut (mit perfusions- und diffusionsgewichteter MRT) als auch im Verlauf der Infarktentwicklung und -rückbildung charakterisieren kann. Zusammengefasst ist die Perfusions-MRT demnach ein wichtiger Baustein in der tierexperimentellen Forschung, da es – wie auch in unseren Arbeiten gezeigt – quantifizierbare Werte liefert und zusätzliche Aufschlüsse über pathophysiologische Mechanismen geben kann. Wenn die Grenzen der Methode hinsichtlich signal-to-noise und räumlicher Auflösung beachtet werden ist es ein wichtiges Komplementärverfahren, das über die Blutflussmessung als pathophysiologische

Zusatzgröße hinaus eine translationale Funktion für den Bereich der klinischen Schlaganfallforschung ausfüllen kann.

### **3.2 CBF unter externen Stressoren: gemeinsame Muster und Besonderheiten**

Die hohe Bedeutung, die der CBF für das Gehirn hat, spiegelt sich in einem komplexen autoregulatorischen System wider, mit dem das zerebrovaskuläre System auf externe Stressoren reagiert. Eine solche reflektorische Anpassung der Blutversorgung des Gehirns ist bereits Ende des 19. Jahrhunderts von Roy und Sherrington [13] postuliert worden. Für die Stressoren, die in den vorliegenden Studien untersucht wurden, lässt sich als gemeinsames Muster ebenfalls der Versuch einer Stabilisierung des zerebrovaskulären Systems mit einer Anpassung an den situativen Bedarf erkennen: durch Rekrutierung von Kollateralen bei der Ischämie bzw. kompensatorische Hyperperfusion nach Ischämie, durch CBF-Reduktion unter Hypothermie und durch CBF-Steigerung bei intrakranieller Hypertension. Bei dem jeweiligen mutmaßlichen Regulationsmechanismus weisen unsere Untersuchungen auf Unterschiede hin. Im MCAO-Mausmodell der fokalen Ischämie fällt der hemisphärielle CBF unter dem Gefäßverschluss im Randgebiet der MCA nicht auf Null (P1, P2). Wie beim Menschen kann hier eine Kollateralversorgung über den *Circulus arteriosus Willisii* den Gefäßausfall teilkompensieren [71]. Bei Wiederherstellung des CBF nach Reperfusion zeigte sich in der Arbeit P2 eine verbesserte Reperfusion bei kreatinbehandelten Tieren. Die in dieser Arbeit zusätzlich durchgeführten in-vitro-Versuche an der isolierten Arterie unter den Bedingungen eines ischämischen Milieus lieferten einen Beleg dafür, dass nicht eine bessere Kollateralversorgung, sondern eine intrinsische Eigenschaft im Blutgefäß für diese verbesserte Reperfusion verantwortlich ist. Derartige intrinsische Effekte fanden sich auch beim pathophysiologischen Kopplungsmodell der Spreading Depression [72] und verdeutlichen die intrinsische, das heißt nicht unmittelbar neuronal gekoppelte Fähigkeit der Blutgefäße, auf externe Stressoren zu reagieren. Betrachtet man den externen Stressor der Hypothermie, wie er in unserer Arbeit P4 untersucht wurde, so zeigt sich hier eine Abnahme des zerebralen Blutflusses um etwa 50% bei einer Abkühlung um 10 °C. Diese korreliert mit einer Abnahme der spontanen neuronalen Aktivität, die wir durch eine spektrale quantitative EEG-Analyse messen konnten. Dabei stellt sich prinzipiell die Frage, ob die neuronale Aktivität sekundär abnimmt, im Sinne einer vaskulo-neuronalen Kopplung. Dagegen spricht, dass Studien an isolierten Hirnarterien auf Hypothermie mit einer Dilatation und nicht mit einer Konstriktion reagierten [73]. Zusammen mit dem parallel gemessenen Abfall der CMRO<sub>2</sub> weist dies darauf hin, dass nicht intrinsisch-vaskuläre sondern neurovaskuläre Kopplungsmechanismen für die Vasokonstriktion unter Hypothermie verantwortlich sind. Bei der dritten pathophysiologischen Exposition, der intrakraniellen Drucksteigerung, kam es zu einer Erhöhung des CBF um bis zu 75%. Da das

CBV hierbei nicht mit dem ICP korrelierte, muss diesem Blutflussanstieg eine alleinige Erhöhung der Blutflussgeschwindigkeit zugrunde liegen, ohne begleitende Dilatation der postarteriellen Gefäße im Messvolumen. Dies ist auch bei LDF-Messungen in der pialen Mikrozirkulation unter intrakranieller Hypertension beschrieben [74] und ist prinzipiell gut vereinbar mit der erwarteten reduzierten Compliance des Gefäßsystems. In der Literatur finden sich Studien, die während einer Erhöhung des ICP keine relevante Veränderung des CBF gemessen haben [75,76]. Im Gegensatz dazu berichten andere Arbeiten von einer CBF-Zunahme um bis zu 70% und stehen damit im Einklang mit unseren Befunden [77,78]. Weiter unterstützt wird dies durch Arbeiten, die eine Abnahme des zerebrovaskulären Widerstandes unter Erhöhung des ICP gefunden haben [79,80]. Ob die CBF-Zunahme unter Erhöhung des ICP intrinsisch-vaskulär oder neurovaskulär gesteuert ist, bleibt dabei unklar. Ihr Zweck könnte darin bestehen, bei erhöhtem ICP einen Kollaps der Brückenvenen zu verhindern. Zusammengefasst lässt sich somit sagen, dass es bei allen drei in diesen Arbeiten untersuchten Stressoren Hinweise auf eine dynamische Anpassung des zerebrovaskulären Systems gibt, wobei diese Regulation auf endogen-vaskulärer oder auf neurovaskulärer Ebene geschehen kann.

### **3.3 Umkehr des funktionellen deoxy-Hb-Signals unter erhöhtem ICP**

Bei der neurovaskulären Kopplung unter Hypothermie (P4) fand sich eine parallele Reduktion von stimulationsinduzierter neuronaler Aktivität, CBF, CBV und deoxy-Hb. Das heißt, dass unter diesen Bedingungen das deoxy-Hb-Signal, und damit auch das BOLD-Signal, in der Lage sein sollte, die neuronale Aktivität abzubilden. Brain mapping mit BOLD-fMRT unter Hypothermie ist also prinzipiell möglich. Bei der ICP-Erhöhung (P5) kam es hingegen zu einer unerwarteten Entkopplung von CBF und deoxy-Hb. Wir fanden bei nicht signifikant veränderter CBF-Antwort eine ICP-abhängige Umkehr des deoxy-Hb-Signals. Im Folgenden soll auf die möglicherweise zugrunde liegenden Prozesse während der ICP-Erhöhung und die klinische Relevanz des Befundes eingegangen werden.

#### **3.3.1 Hypothese zum pathophysiologischen Mechanismus: Vergleich mit Hypothermie**

Zur Interpretation der Veränderungen im deoxy-Hb-Signal unter Hypothermie und intrakranieller Hypertension lassen sich die jeweiligen globalen Veränderungen von CBF, CBV und deoxy-Hb heranziehen. Während Abkühlung des Gehirns nahm die Sauerstoffsättigung im Gewebe zu, umgekehrt zum CBF, der um ~50% abnahm (P4). Dies ist auch Korrelat der CMRO<sub>2</sub>-Abnahme mit der bekannten quantitativen Q<sub>10</sub>-Beziehung. In Zusammenschau mit der Abnahme der neuronalen Spontanaktivität im EEG spricht dies für eine enge Kopplung von neuronaler, metabolischer und vaskulärer Aktivität, die alle eine

Reduktion unter Hypothermie erfahren. Unter diesen Bedingungen blieb die funktionelle Aktivierung unter Stimulation ebenfalls in allen Parametern (CBF, CBV, deoxy-Hb) erhalten. Im Gegensatz dazu zeigten die globalen Veränderungen während ICP-Erhöhung ein anderes Muster. Unter intrakranieller Hypertension kam es zu einer Zunahme des CBF bei unverändertem CBV, parallel dazu stieg die Sauerstoffsättigung im Gewebe an. Wir postulieren daher, dass die Umkehr des Oxygenierungssignals durch ein Ausspülen von deoxy-Hb zustande kommt. Da das CBV nicht ansteigt, wird die CBF-Zunahme nur durch die longitudinale Blutflusszunahme (d.h. die Flussgeschwindigkeit der Erythrozyten) bewirkt. Bei unveränderter  $CMRO_2$  führt dies über die Abnahme der kapillären Transitzeit mit verminderter Sauerstoffextraktion zu einem Anstieg der Sauerstoffsättigung im Messvolumen. Etwaige Zunahmen der  $CMRO_2$  werden dann „demaskiert“, da die Nettoproduktion von deoxy-Hb die kompensatorische Arterialisierung durch die CBF-Zunahme übersteigt. Dies spricht gegen die Theorie eines streng diffusionslimitierten Sauerstofftransportes im Gehirngewebe, eine frühe mechanistische Hypothese für die überschießende Blutflussantwort [26]. Vielmehr liefert der Befund Evidenz für die Alternativhypothese eines Sicherheitsfaktors im System der neurovaskulär gekoppelten Blutflussantwort, wie er sich auch in einer anderen Arbeit unserer Arbeitsgruppe darstellen ließ [29].

### **3.3.2 Konsequenzen für die Anwendung der BOLD-fMRT am Patienten**

Die Relevanz der Umkehr des funktionellen deoxy-Hb-Signals unter ICP-Erhöhung wird bei Übertragung auf die funktionelle Bildgebung mit BOLD-fMRT deutlich. Bei unveränderter zugrunde liegender neuronaler Aktivität ergäbe sich bei leichter ICP-Erhöhung (7 mmHg) ein reduziertes BOLD-Signal, bei moderater ICP-Erhöhung (14 mmHg) ein nicht detektierbares BOLD-Signal. Das heißt, dass die BOLD-fMRT unter diesen Umständen keine neuronale Aktivierung darstellen kann. Bei weiterer ICP-Erhöhung (28 mmHg) ergäbe sich ein negatives BOLD-Signal, das unter Umständen als Inhibitionssignal fehlinterpretiert würde. Dieser Befund besitzt große Relevanz für den klinischen Einsatz der fMRT, nicht nur in der prächirurgischen Hirntumordiagnostik [58], die mit der BOLD-fMRT eloquente Hirnareale schützen will, diese aber möglicherweise übersieht. Die Anwendung der BOLD-fMRT nimmt auch in anderen klinischen Bereichen zu, so wird sie mittlerweile auch bei Patienten mit einer schweren Hirnschädigung und einem apallischen Syndrom eingesetzt, um eine Restfunktion mit willkürlicher Modulation der Gehirnaktivität darzustellen [81]. Um falschen Rückschlüssen von den inzwischen weit verbreiteten BOLD-fMRT-Studien an kontrollierten und gesunden Probanden auf Patienten mit einer Gehirn- oder anderen Erkrankung vorzubeugen, sind systematische Studien erforderlich, die den Einfluss der intrakraniellen Homöostase auf das BOLD-Signal untersuchen. Das impliziert zum einen die Notwendigkeit von weiteren

experimentellen Studien an entsprechenden Tiermodellen (z.B. Schädel-Hirn-Trauma, neurodegenerative Erkrankungen, pharmakologische Studien), zum anderen aber auch die Translation dieser Studien in die klinische Situation. Im Hinblick auf das BOLD-Signal bietet sich dabei eine Studie mit BOLD-fMRT und funktioneller Nahinfrarotspektroskopie (fNIRS) an Patienten mit intrakranieller Hypertension (z.B. auf der neurologisch-neurochirurgischen Intensivstation entsprechend überwachte Patienten oder Patienten mit einem *Pseudotumor cerebri*) an.

### **3.4 CBF als zerebraler Stressormarker: klinische Perspektiven**

Im Folgenden sollen weitere Perspektiven hinsichtlich der klinischen Relevanz unserer Ergebnisse diskutiert werden. Dabei geht es zum einen um potentielle methodische Innovationen bzw. Optimierungen für Patienten und zum anderen um die Frage, ob sich die neurovaskuläre Kopplung dafür eignen könnte, pathophysiologische Einflussgrößen am Patienten zu erfassen und zu überwachen.

#### **3.4.1 Rolle der Perfusions-MRT beim klinischen Schlaganfallmonitoring**

In der Studie P2 zeigte die CBF-Messung mit FAIR-MRT eine verbesserte Reperfusion bei kreatinbehandelten Tieren, ein Befund, der einen Teil der postulierten Schutzkaskade untermauerte (Verbesserung der vaskulären Funktion, Reduktion der Infarktgröße). Die CBF-Messung mit MRT hat im tierexperimentellen Bereich in den letzten Jahren erheblich an Bedeutung gewonnen. So konnten Pham et al. eine Schlaganfallprotektion in Mäusen zeigen, denen der intrinsische Gerinnungsfaktor XII fehlte, und diese mittels Perfusions-MRT auf eine verbesserte kortikale Reperfusion nach MCAO zurückführen [82]. Wie bereits diskutiert, spielt das klinische Perfusions-MRT im Bereich der akuten Schlaganfall-Bildgebung eine zunehmend wichtige Rolle, vor allem in der Definition von Penumbrawebe, das von einer Therapie profitieren könnte, wobei die Quantifizierung der Methode Optimierungsbedarf hat [31]. Anders als bei dem von uns verfolgten Ansatz einer ASL-Technik werden im klinischen Bereich aus Gründen der besseren signal-to-noise ratio eher Techniken verwendet, die auf der Injektion eines Kontrastmittels basieren (dynamic susceptibility imaging). Kritisch für die Reliabilität und Quantifizierung ist dabei unter anderem die „arterial input function“, für die üblicherweise ein Ast der *Arteria cerebri media* gewählt wird [83]. Die Erkenntnisgewinne aus den tierexperimentellen Daten geben Anlass zur Hoffnung, dass die Perfusions-MRT auch über die Penumbra-Definition hinaus wertvolle klinische Verlaufsinformationen liefern kann. Dabei könnte es zum einen darum gehen, im weiteren Monitoring des Patienten erneute sekundäre Ischämien zu detektieren, wie sie zum Beispiel im Rahmen sogenannter Peri-Infarkt-Depolarisationen auftreten können [84]. Zum

anderen aber lassen sich möglicherweise Unterschiede in der pathophysiologischen Kaskade zwischen Tiermodell und Patient eruieren, die für eine mangelnde Translation einer im Tiermodell neuroprotektiven Therapie verantwortlich sind [85]. Zusammengefasst ist die Perfusions-MRT ein wichtiges Hilfsmittel in der tierexperimentellen Forschung zur Erfassung und Beschreibung pathophysiologischer Kaskaden, das überdies eine zur klinischen Situation analoge Methode darstellt und somit eine bessere Vergleichbarkeit von tierexperimentellen und klinischen Studien erlaubt.

### **3.4.2 Messung der vaskulären Antwort unter Hypothermie als Integritätsmarker**

Der Einfluss der Hypothermie auf die neurovaskuläre Kopplung, wie er in unserer Arbeit P4 untersucht wurde, hat abgesehen von den physiologischen Implikationen auch klinische Relevanz, da die Hypothermie bei immer mehr Patienten als Therapie zum Einsatz kommt. Bei komatösen Patienten nach Herz-Kreislauf-Stillstand und kardiopulmonaler Reanimation ist sie als Standardverfahren etabliert, seit sich ein positiver Effekt auf das neurologische Outcome und die Mortalität gezeigt hat [52,86]. Zudem gibt es Hinweise auf einen protektiven Effekt bei Patienten mit einer traumatischen Hirnverletzung [87] oder einer intrazerebralen Blutung [88] sowie bei Neugeborenen mit perinataler Hypoxie [89]. Im Tiermodell fanden sich weitere Hinweise auf einen neuroprotektiven Effekt, wie zum Beispiel in einem Rattenmodell mit einer epiduralen Raumforderung, bei dem die Hypothermie einem sekundären ICP-Anstieg entgegenwirkte [90]. Wesentliche Anstrengungen bestehen derzeit in der Erforschung von Hypothermie als neuroprotektive Therapie beim akuten Schlaganfall [65]. Hier gibt es eine große Anzahl von Studien und Daten aus dem tierexperimentellen Bereich, die einen robusten positiven Effekt der Hypothermie auf Infarktgröße und klinisches Outcome gezeigt haben [91]. Für die Translation dieser Befunde in die Klinik fehlen bislang randomisierte Studien, die eine standardmäßige Etablierung der Hypothermie beim akuten Schlaganfall rechtfertigen [92]. Gegenwärtige Studien versuchen, die Methode hierfür zu optimieren, vor allem im Hinblick auf Zieltemperatur, Dauer, Behandlung des Muskelzitterns und Selektion geeigneter Patienten [93]. Hier können unsere Befunde Ansatzpunkt für die Etablierung einer bed-side Methode mit fNIRS sein, die die neurovaskuläre Kopplung als Integritätsmarker der intrakraniellen Homöostase nutzt.

Die NIRS hat sich in den letzten beiden Dekaden parallel zur Entwicklung des fMRT etabliert, als billige („photons are cheap“), nichtinvasive (auch bei Patienten mit Herzschrittmacher oder Metall im Körper durchführbar) und auch bei unkooperativen Patienten (z.B. Kindern) durchführbare Methode der funktionellen Bildgebung [94]. In jüngster Zeit hat die NIRS entgegen früherer negativer Studien auch Potential für ihren klinischen Einsatz am Patienten gezeigt, wie beispielsweise in einer Arbeit, die sie zum Monitoring von Patienten mit

Subarachnoidalblutung und Gefäßspasmen verwendete [95]. Dabei wurde jedoch nicht die funktionelle Aktivierung mit vaskulärer Antwort untersucht, sondern Ruheveränderungen im Sinne einer zerebralen Pulsoxymetrie [96]. In einer anderen Arbeit wurde bei Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma die Ruhekonzentration des zerebralen Hämoglobins im Zeitverlauf mit NIRS untersucht und konnte in etwa der Hälfte der Fälle als indirekter Marker für die intrazerebrale vaskuläre Compliance genutzt werden [97]. Eine kürzlich erschienene Arbeit beschreibt eine zuverlässige Risikostratifizierung von Patienten vor Herzoperationen mittels der durch NIRS gemessenen zerebralen Oxygenierung [98]. Methodische Fortentwicklungen testen zudem eine Kombination von optischer Hämoglobinkonzentrations- und Oxygenierungsmessung mit einer CBF-Messung zum Monitoring von Patienten auf einer neurologischen Intensivstation [99]. Eine solche Kombinationsmethode könnte möglicherweise bei ausreichender Quantifizierbarkeit auch eine Bestimmung der  $CMRO_2$  am Patienten erlauben, mit dem in der Studie P4 verwendeten Ansatz einer stöchiometrischen Errechnung der deoxy-Hb-Konzentration. Eine derartige Innovation hätte hohe klinische Relevanz als erste bed-side-Methode zur Erfassung des zerebralen Sauerstoffmetabolismus.

Gegenwärtig beschränkt sich die klinische Verwendung der NIRS wie in den vorherigen Studien meist auf die Messung von Ruheveränderungen im CBV und in der zerebralen Blutoxygenierung. Als fNIRS-Methode zur Untersuchung von funktionellen Veränderungen findet sie nur vereinzelt Einsatz am Patienten, wie zum Beispiel begleitend zur Rehabilitation von kognitiven Einschränkungen [100] oder bei Patienten mit Absence-Epilepsie [101,102]. Unsere Untersuchungen aus der Studie P4 zeigen, dass fNIRS prinzipiell auch bei Patienten unter Hypothermie möglich ist. Im Gegensatz zu den Bedingungen unter erhöhtem ICP (P5) ist dabei die Stabilität der neurovaskulär gekoppelten Signale von CBV und deoxy-Hb gewährleistet, d.h. fNIRS kann über diese Messgrößen Veränderungen in der neuronalen Aktivität erfassen. Dies könnte zum einen hilfreich sein wegen des großen Bedarfs an Prädiktionsparametern bei reanimierten Patienten im Koma bei der Entscheidung für oder gegen eine Therapiebegrenzung. Derzeit werden hierfür Pupillen- und Kornealreflexe, motorische Schmerzreaktionen, das Vorhandensein von Myoklonien sowie die Serumkonzentration der neuronenspezifischen Enolase herangezogen, zudem wird die Messung von somatosensorisch evozierten Potentialen nach Medianus-Stimulation (Medianus-SEP) empfohlen [103-105]. Unsere Untersuchungen werfen hier die Frage auf, ob die fNIRS möglicherweise eine wichtige Ergänzung dieser bislang rein elektrophysiologischen Untersuchung darstellt. Dabei könnten Hämoglobin- und Oxygenierungsveränderungen, parallel zum Medianus-SEP aufgezeichnet, zum einen eine zweite Detektionsebene bilden, um vorhandene neuronale Aktivität nicht zu übersehen (und fälschlicherweise ein schlechtes Outcome anzunehmen). Dies müsste nach unseren



Untersuchungen (P4) auch unter Hypothermie möglich sein. Zum anderen könnte die neurovaskuläre Kopplung zusätzliche Informationen über die neurovaskuläre Integrität liefern, z.B. im Zusammenspiel von Blutvolumen und Oxygenierung, die ihrerseits auch einen prognostischen Wert haben könnten. Hierauf soll im folgenden Absatz noch einmal speziell im Hinblick auf den ICP eingegangen werden.

### **3.4.3 ICP-Messung im deoxy-Hb-Signal: eine neue Rolle für BOLD-fMRT und fNIRS?**

Neurovaskulär gekoppelte Veränderungen von CBF und Oxygenierung bilden nicht nur die Grundlage der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT), sie können auch pathophysiologische Informationen liefern. So konnten wir zeigen, dass die funktionelle CBF-Zunahme im somatosensorischen Kortex der Ratte unter Hypothermie reduziert ist (P4). Weiterhin fanden wir im gleichen Tiermodell heraus, dass eine ICP-Erhöhung deutliche Veränderungen im funktionellen deoxy-Hb-Signal bis hin zur Signalumkehr bewirken kann (P5). Betrachtet man dies unter klinischen Gesichtspunkten, so stellt sich die Frage, ob umgekehrt die Messung der Parameter der neurovaskulären Kopplung Aufschluss geben kann über pathophysiologische Veränderungen der intrakraniellen Homöostase.

Studien mit NIRS haben Ruheveränderungen der zerebralen Oxygenierung am Patienten untersucht, unter anderem um die zerebrale Autoregulation zu überwachen [106], um Prognoseparameter bei einem raumfordernden malignen Mediainfarkt zu identifizieren [107] oder Hinweise auf Vasospasmen nach Subarachnoidalblutung zu finden [108]. Zwar zeigen die mit NIRS aufgezeichneten Veränderungen diagnostisches Potential, sie bedürfen jedoch noch weiterer Optimierungen. Wie im vorherigen Kapitel erwähnt, gibt es nur einzelne Untersuchungen über die pathophysiologische Beeinflussung von funktionellen Veränderungen in der NIRS am Patienten. Im Hinblick auf die Veränderungen der neurovaskulären Kopplung durch einen erhöhten ICP gibt es keine einzige derartige Studie. Indirekte Hinweise auf eine Veränderung der funktionellen deoxy-Hb-Signals liefern Studien an Patienten mit einem Hirntumor, die ein abgeschwächtes oder erloschenes BOLD-Signal bei funktioneller Stimulation beschreiben [60-62,109]. Eine lokale Tumordinfiltration oder aber eine ICP-Erhöhung, analog zu den Befunden aus P5, können für diesen Effekt verantwortlich sein. Eine systematische Untersuchung der Auswirkungen einer ICP-Erhöhung auf die neurovaskuläre Kopplung beim Menschen könnte diese Frage klären. Gleichzeitig würde ein Zusammenhang von ICP und funktionellem deoxy-Hb-Signal abhängig von der Korrelationsstärke auch einen Ansatz zur nichtinvasiven ICP-Messung bieten.

Für die Untersuchungen kämen zum einen Patienten auf einer neurologisch-neurochirurgischen Intensivstation in Frage, bei denen eine invasive ICP-Überwachung

mittels einer intraventrikulären oder intraparenchymatösen Sonde durchgeführt wird. Diese könnten mittels fNIRS als bed-side Methode untersucht werden, parallel zu einer Ableitung von Medianus-SEP. Um die Korrelation von ICP und neurovaskulärer Kopplung am Patienten möglichst detailliert zu untersuchen, ließen sich bei Patienten auf einer Intensivstation mit einem intraparenchymatösen ICP-Monitoring auch simultane Messungen von ICP, CBF und Hämoglobinkonzentration durchführen. Eine entsprechende kombinierte Sonde wurde vor kurzem von einer Arbeitsgruppe aus Zürich vorgestellt [110]. Andererseits wären klinisch weniger beeinträchtigte Patienten mit einer idiopathischen intrakraniellen Hypertension geeignet. Bei dieser Erkrankung kommt es zu einer intrakraniellen Drucksteigerung ohne bekannte Ursache. Diese führt typischerweise zu Kopfschmerzen, Sehstörungen und Stauungspapillen, was die ältere Bezeichnung „*Pseudotumor cerebri*“ begründete [111]. Als therapeutische Maßnahme wird bei diesen Patienten regelmäßig eine Lumbalpunktion mit Druckmessung und Liquorablass durchgeführt. Daher könnten hier Messungen unter erhöhtem und normalisiertem ICP durchgeführt werden, sowohl mit fNIRS als auch mit fMRT.

Die Untersuchungen aus P5 haben eine deutliche Veränderung der deoxy-Hb-Antwort im somatosensorischen Kortex gezeigt, bei der je nach ICP-Erhöhung eine Reduktion bzw. Umkehr der Hyperoxigenierung unter Stimulation und eine Abschwächung bzw. Extinktion der Hypooxygenierung nach dem Stimulationsende auftrat. Diese Veränderungen könnten möglicherweise genutzt werden, um den ICP nichtinvasiv zu bestimmen. Gegenwärtig ist eine reliable ICP-Messung nur invasiv möglich, indem eine Drucksonde in das Gehirn eingeführt wird, mit dem Risiko von schwerwiegenden Komplikationen wie Infektionen oder Blutungen [112]. Eine nichtinvasive ICP-Messung wäre hier sehr hilfreich, weil sie diese Risiken eliminiert und auch außerhalb der Intensivstation durchgeführt werden könnte. Zusammengefasst stellt die ICP-bedingte Veränderung der deoxy-Hb-Antwort in der Arbeit P5 einen vielversprechenden Befund dar, dessen Reproduzierbarkeit und Potential für eine klinische Nutzbarkeit in Folgestudien evaluiert werden sollte.

### **3.5 Schlussfolgerungen**

Der CBF ist eine dynamische physiologische Größe, die globalen und lokalen Regulationsmechanismen untersteht und einerseits die neuronale Aktivität aufrechterhält, andererseits von ihr wesentlich mitgesteuert wird. Diese Arbeit hat moderne Verfahren zur CBF-Messung in pathophysiologischen Tiermodellen eingesetzt. Im MCAO-Modell der fokalen zerebralen Ischämie konnte mittels CBF-Messung mit FAIR-MRT gezeigt werden, dass ein neuroprotektiver Effekt des Kreatins auf eine verbesserte Reperfusion zurückführbar ist, während der PDE-V-Inhibitor Vardenafil hier keinen relevanten Effekt

zeigte. Da die FAIR-MRT (neben anderen Perfusions-MRT-Methoden) auch beim Patienten einsetzbar ist, und eine schnelle und effektive Reperfusion bislang den effektivsten Ansatz bei der Akuttherapie des ischämischen Schlaganfalls darstellt, bietet sich hier eine translationale Perspektive. Präklinische und klinische Neuroprotektionsstudien können mittels MRT vergleichbarer gemacht und Probleme bei der Translation durch multimodale Messungen (z.B. CBF, diffusionsgewichtete MRT, FLAIR) eventuell besser erklärt werden. Zudem ist die Reperfusion als Ziel der akuten Schlaganfalltherapie durch CBF-Messungen am Tiermodell untersuchbar geworden, wobei die FAIR-MRT hier auch repetitive, longitudinale Studien erlaubt. Neben dem Gefäßverschluss als maximale Manipulation des zerebrovaskulären Systems wurden auch Hypothermie und intrakranielle Hypertension in ihrer Auswirkung auf den CBF untersucht. Unter Hypothermie blieben neurovaskuläre und neurometabolische Kopplung für globale wie evozierte neuronale Aktivität erhalten. Ihre Erfassung mittels fNIRS bietet eine Perspektive für die klinische Überwachung von Patienten unter therapeutischer Hypothermie, als zusätzliche Detektionsebene für neuronale Aktivität bei der Ableitung von evozierten Potentialen und zur Beurteilung der neurovaskulären Integrität. Die intrakranielle Hypertension zeigte demgegenüber Veränderungen in der vaskulären Antwort, die physiologische und klinische Relevanz besitzen. Zum einen konnte gezeigt werden, dass dem Konzentrationsanstieg des deoxy-Hb nach dem Stimulationsende (Korrelat des BOLD Post-Stimulus-Undershoot) eine compliancebedingte träge Rückbildung des CBV zugrunde liegt. Zum anderen aber zeigte die deoxy-Hb-Antwort während Stimulation mit zunehmendem ICP eine Signalumkehr. Bei entsprechendem Nachweis dieses Phänomens im Patienten läge hier ein Ansatz für eine nichtinvasive ICP-Messung mittels fNIRS oder fMRT. Zudem stellt es die Validität der BOLD-fMRT bei der Lokalisierung von eloquenten Hirnarealen bei Patienten mit erhöhtem ICP in Frage. Funktionelle Hirnbildgebung unter pathophysiologischen Bedingungen sollte deshalb die Erfassung der CBF-Antwort ohne Oxygenierungswichtung zum Ziel haben.

#### 4. Zusammenfassung

Das Gehirn besitzt nur minimale lokale Energiereserven und ist deshalb von einer kontinuierlichen Blutversorgung abhängig. Der zerebrale Blutfluss (CBF) wird über globale und lokale Regulationsebenen gesteuert, deren Mechanismen nur zum Teil verstanden sind und über deren dynamische Veränderungen bei lokalen Störungen der Homöostase bislang wenige Untersuchungen existieren. In der vorliegenden Arbeit wurden magnetresonanztomographische, laseroptische, spektroskopische und autoradiographische Methoden eingesetzt, um den CBF zu messen und sein Verhalten unter externen Stressoren zu untersuchen. Die CBF-Messung mit FAIR-MRT wurde in einem Schlaganfallmodell der Maus (Okklusion der *Arteria cerebri media*) etabliert und ihre Quantifizierung mit <sup>14</sup>C-Iododantipyridin-Autoradiographie validiert (P1). Eine Supplementierung mit Kreatin führte in diesem Tiermodell zu einer Reduktion der Hirninfarkt volumina im Vergleich zu Kontrolltieren. CBF-Messungen mit FAIR-MRT zeigten zudem, dass behandelte Tiere eine verbesserte Reperfusion aufwiesen. Weiterhin wiesen isolierte Präparate der *Arteria cerebri media* in behandelten Tieren eine höhere Kapazität zur Vasodilatation auf. In Zusammenschau konnte so eine verbesserte Reperfusion als wahrscheinliche Ursache der Neuroprotektion durch Kreatin ausgemacht werden (P2). Bei einer Neuroprotektionsstudie mit dem PDE-V-Inhibitor Vardenafil zeigte sich hingegen wider Erwarten kein Effekt auf den CBF und allenfalls ein minimaler Effekt bei der Neuroprotektion (P3). Im Rattenmodell der neurovaskulären Kopplung im somatosensorischen Kortex wurde der Einfluss von Hypothermie (P4) und Erhöhung des intrakraniellen Druckes (ICP, P5) auf globale und funktionelle CBF-Veränderungen untersucht. Der CBF wurde mit Laser Doppler Flowmetry gemessen, mit simultaner optisch-spektroskopischer Erfassung des lokalen zerebralen Blutvolumens (CBV) und der lokalen Konzentration des deoxygenierten Hämoglobins (deoxy-Hb), die das Signalkorrelat der BOLD-fMRT darstellt. Die CBF-Antwort konnte in beiden pathophysiologischen Zuständen neuronale Aktivierung im somatosensorischen Kortex signalisieren. Unter Hypothermie blieben die funktionellen Antworten auch im deoxy-Hb-Signal detektierbar. Die Ermittlung der zerebralen Sauerstoffverbrauchsrate (CMRO<sub>2</sub>) aus CBF, CBV und deoxy-Hb konnte durch den Temperaturabhängigkeitsquotienten Q<sub>10</sub> validiert werden. So konnte in der Studie P5 gezeigt werden, dass der deoxy-Hb-Erhöhung nach dem Stimulationsende (Korrelat des BOLD Post-Stimulus-Undershoot) keine erhöhte CMRO<sub>2</sub> zugrunde liegt. Gleichzeitig zeigte sich diese Post-Stimulus-Antwort unter zunehmender ICP-Erhöhung amplitudenreduziert. Zusammen mit einer trägen Rückbildung des CBV nach dem Stimulationsende spricht dies dafür, dass dem BOLD Post-Stimulus-Undershoot ein compliancebedingtes Missverhältnis bei der Rückbildung von funktionellen CBF- und CBV-Veränderungen zugrundeliegt. Auch das funktionelle deoxy-Hb-Signal während der Stimulation wurde durch die ICP-Erhöhung grundlegend verändert. Es zeigte mit

zunehmendem ICP eine allmählich Signalumkehr mit Amplitudenreduktion (ICP 7 mmHg), eine Nivellierung (ICP 14 mmHg) und schließlich eine Signalumkehr (ICP 28 mmHg), bei der die deoxy-Hb-Konzentration während der Stimulation einen Anstieg statt eines Abfalls zeigte. Die BOLD-fMRT ist möglicherweise bei Patienten mit erhöhtem ICP nicht valide, was Fragen hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit bei der prächirurgischen Diagnostik von Hirntumorpatienten zur Lokalisierung von eloquenten Hirnarealen aufwirft. Das funktionelle deoxy-Hb-Signal hält im Gegensatz zum funktionellen CBF-Signal einer ICP-Erhöhung nicht stand. In der Studie P6 konnte zudem mittels der CBF-Messung mit Laser Speckle Contrast Analysis gezeigt werden, dass das CBF-Signal mikrovaskuläre Areale hervorhebt und somit eine bessere räumliche Auflösung bei der Darstellung der neuronalen Aktivität erlaubt. Um die im Vergleich zur BOLD-fMRT größere Robustheit und räumliche Genauigkeit des neurovaskulär gekoppelten CBF-Signals zu nutzen, sollten CBF-basierte fMRT – Verfahren für den Routineeinsatz optimiert werden. Die Veränderung des deoxy-Hb-Signals unter ICP-Erhöhung eröffnet wiederum die Perspektive, mit einer solchen Signalerfassung umgekehrt auf den ICP im Patienten schließen zu können. Die Erforschung der komplexen Regulation des CBF unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen erfordert insbesondere im Bereich der MRT die weitere Verbesserung und Angleichung der perfusionsmessenden Verfahren, mit dem Ziel, über die parallele Verwendung an Mensch und Tier eine translationale Brücke in der präklinischen Forschung zu bauen.

## 5. Literaturangaben

- [1] Attwell D, Laughlin SB. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21: 1133-1145.
- [2] Attwell D, Buchan AM, Charkpak S, Lauritzen M, Macvicar BA, Newman EA. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature* 2010; 468: 232-243.
- [3] Stryer L. *Biochemie*. Heidelberg - Berlin - Oxford: Spektrum, 1994: p. 662.
- [4] Brown AM, Ransom BR. Neuroprotective effects of increased extracellular Ca(2+) during aglycemia in white matter. *J Neurophysiol* 2002; 88: 1302-1307.
- [5] Strandgaard S, Paulson OB. Cerebral autoregulation. *Stroke* 1984; 15: 413-416.
- [6] Villringer A, Dirnagl U. Coupling of brain activity and cerebral blood flow: basis of functional neuroimaging. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1995; 7: 240-276.
- [7] Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magn Reson Med* 1990; 14: 68-78.
- [8] Gao E, Young WL, Pile-Spellman J, Ornstein E, Ma Q. Mathematical considerations for modeling cerebral blood flow autoregulation to systemic arterial pressure. *Am J Physiol* 1998; 274: H1023-H1031.
- [9] Dirnagl U, Pulsinelli W. Autoregulation of cerebral blood flow in experimental focal brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990; 10: 327-336.
- [10] Harder DR, Narayanan J, Gebremedhin D. Pressure-induced myogenic tone and role of 20-HETE in mediating autoregulation of cerebral blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 300: H1557-H1565.
- [11] Bayliss WM. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J Physiol* 1902; 28: 220-231.
- [12] Davis MJ, Hill MA. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol Rev* 1999; 79: 387-423.
- [13] Roy C., Sherrington C. On the regulation of the blood supply to the brain. *J Physiol* 1890; 11: 85-108.
- [14] Yablonskiy DA, Ackerman JJ, Raichle ME. Coupling between changes in human brain temperature and oxidative metabolism during prolonged visual stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 7603-7608.
- [15] Fernandez-Klett F, Offenhauser N, Dirnagl U, Priller J, Lindauer U. Pericytes in capillaries are contractile in vivo, but arterioles mediate functional hyperemia in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 22290-22295.
- [16] Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, Goldberg IE, Weisskoff RM, Poncelet BP, Kennedy DN, Hoppel BE, Cohen MS, Turner R. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 5675-5679.
- [17] Buxton RB. The elusive initial dip. *Neuroimage* 2001; 13: 953-958.
- [18] Buxton RB, Wong EC, Frank LR. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn Reson Med* 1998; 39: 855-864.
- [19] Mandeville JB, Marota JJ, Ayata C, Zaharchuk G, Moskowitz MA, Rosen BR, Weisskoff RM. Evidence of a cerebrovascular postarteriole windkessel with delayed compliance. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 679-689.
- [20] Kruger G, Kleinschmidt A, Frahm J. Dynamic MRI sensitized to cerebral blood oxygenation and flow during sustained activation of human visual cortex. *Magn Reson Med* 1996; 35: 797-800.
- [21] Lu H, Golay X, Pekar JJ, Van Zijl PC. Sustained poststimulus elevation in cerebral oxygen utilization after vascular recovery. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004; 24: 764-770.
- [22] Frahm J, Baudewig J, Kallenberg K, Kastrup A, Merboldt KD, Dechent P. The post-stimulation undershoot in BOLD fMRI of human brain is not caused by elevated cerebral blood volume. *Neuroimage* 2008; 40: 473-481.
- [23] Chen JJ, Pike GB. Origins of the BOLD post-stimulus undershoot. *Neuroimage* 2009; 46: 559-568.
- [24] Hoge RD, Atkinson J, Gill B, Crelier GR, Marrett S, Pike GB. Stimulus-dependent BOLD and perfusion dynamics in human V1. *Neuroimage* 1999; 9: 573-585.
- [25] Logothetis NK. The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *Journal of Neuroscience* 2003; 23: 3963-3971.
- [26] Buxton RB, Frank LR. A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 64-72.
- [27] Diamond J. Quantitative evolutionary design. *Journal of Physiology-London* 2002; 542: 337-345.
- [28] Mintun MA, Lundstrom BN, Snyder AZ, Vlassenko AG, Shulman GL, Raichle ME. Blood flow and oxygen delivery to human brain during functional activity: theoretical modeling and experimental data. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 6859-6864.
- [29] Leithner C, Royl G, Offenhauser N, Fuchtemeier M, Kohl-Bareis M, Villringer A, Dirnagl U, Lindauer U. Pharmacological uncoupling of activation induced increases in CBF and CMRO2. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010; 30: 311-322.
- [30] Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci* 1999; 22: 391-397.
- [31] Heiss WD, Sobesky J, Hesselmann V. Identifying thresholds for penumbra and irreversible tissue damage. *Stroke* 2004; 35: 2671-2674.

- [32] Jay TM, Lucignani G, Crane AM, Jehle J, Sokoloff L. Measurement of local cerebral blood flow with [<sup>14</sup>C]iodoantipyrine in the mouse. *J Cereb Blood Flow Metab* 1988; 8: 121-129.
- [33] Raichle ME, Martin WR, Herscovitch P, Mintun MA, Markham J. Brain blood flow measured with intravenous H<sub>2</sub>(<sup>15</sup>O). II. Implementation and validation. *J Nucl Med* 1983; 24: 790-798.
- [34] Detre JA, Leigh JS, Williams DS, Koretsky AP. Perfusion imaging. *Magn Reson Med* 1992; 23: 37-45.
- [35] Kim SG. Quantification of relative cerebral blood flow change by flow-sensitive alternating inversion recovery (FAIR) technique: application to functional mapping. *Magn Reson Med* 1995; 34: 293-301.
- [36] Herscovitch P, Raichle ME. What is the correct value for the brain-blood partition coefficient for water? *J Cereb Blood Flow Metab* 1985; 5: 65-69.
- [37] Dirnagl U, Kaplan B, Jacewicz M, Pulsinelli W. Continuous measurement of cerebral cortical blood flow by laser-Doppler flowmetry in a rat stroke model. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989; 9: 589-596.
- [38] Dunn AK, Bolay H, Moskowitz MA, Boas DA. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21: 195-201.
- [39] Briers JD, Webster S. Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA): a non-scanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow. *Journal of Biomedical Optics* 1996; 1: 174-179.
- [40] Kohl M, Lindauer U, Royl G, Kuhl M, Gold L, Villringer A, Dirnagl U. Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals. *Phys Med Biol* 2000; 45: 3749-3764.
- [41] Lindauer U, Royl G, Leithner C, Kuhl M, Gold L, Gethmann J, Kohl-Bareis M, Villringer A, Dirnagl U. No evidence for early decrease in blood oxygenation in rat whisker cortex in response to functional activation. *Neuroimage* 2001; 13: 988-1001.
- [42] Kohl-Bareis M, Leithner C, Sellien H., Guertler R., Geraskin D, Rohrer B, Royl G, Dirnagl U., Lindauer U. System for the measurement of blood flow and oxygenation in tissue applied to neurovascular coupling in brain. *Proc SPIE* 2005; 5859.
- [43] Dunn AK, Devor A, Dale AM, Boas DA. Spatial extent of oxygen metabolism and hemodynamic changes during functional activation of the rat somatosensory cortex. *Neuroimage* 2005; 27: 279-290.
- [44] Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke* 1981; 12: 723-725.
- [45] Kucharczyk J, Mintorovitch J, Asgari HS, Moseley M. Diffusion/perfusion MR imaging of acute cerebral ischemia. *Magn Reson Med* 1991; 19: 311-315.
- [46] Mishra NK, Albers GW, Davis SM, Donnan GA, Furlan AJ, Hacke W, Lees KR. Mismatch-based delayed thrombolysis: a meta-analysis. *Stroke* 2010; 41: e25-e33.
- [47] Hacke W, Donnan G, Fieschi C, Kaste M, von Kummer R, Broderick JP, Brott T, Frankel M, Grotta JC, Haley EC, Jr., Kwiatkowski T, Levine SR, Lewandowski C, Lu M, Lyden P, Marler JR, Patel S, Tilley BC, Albers G, Bluhmki E, Wilhelm M, Hamilton S. Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. *Lancet* 2004; 363: 768-774.
- [48] O'Collins VE, Macleod MR, Donnan GA, Horkey LL, van der Worp BH, Howells DW. 1,026 experimental treatments in acute stroke. *Ann Neurol* 2006; 59: 467-477.
- [49] Dirnagl U. Bench to bedside: the quest for quality in experimental stroke research. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26: 1465-1478.
- [50] Perasso L, Cupello A, Lunardi GL, Principato C, Gandolfo C, Balestrino M. Kinetics of creatine in blood and brain after intraperitoneal injection in the rat. *Brain Res* 2003; 974: 37-42.
- [51] Gao F, Sugita M, Nukui H. Phosphodiesterase 5 inhibitor, zaprinast, selectively increases cerebral blood flow in the ischemic penumbra in the rat brain. *Neurol Res* 2005; 27: 638-643.
- [52] Bernard SA, Gray TW, Buist MD, Jones BM, Silvester W, Gutteridge G, Smith K. Treatment of comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia. *New England Journal of Medicine* 2002; 346: 557-563.
- [53] Erecinska M, Thoresen M, Silver IA. Effects of hypothermia on energy metabolism in Mammalian central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 513-530.
- [54] Greeley WJ, Ungerleider RM, Smith LR, Reves JG. The effects of deep hypothermic cardiopulmonary bypass and total circulatory arrest on cerebral blood flow in infants and children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 97: 737-745.
- [55] Hindman BJ, Dexter F, Cutkomp J, Smith T, Tinker JH. Hypothermic acid-base management does not affect cerebral metabolic rate for oxygen at 27 degrees C. A study during cardiopulmonary bypass in rabbits. *Anesthesiology* 1993; 79: 580-587.
- [56] Kety SS, SKENKIN HA, Schmidt CF. The effects of increased intracranial pressure on cerebral circulatory functions in man. *J Clin Invest* 1948; 27: 493-499.
- [57] Mandeville JB, Marota JJ. Vascular filters of functional MRI: spatial localization using BOLD and CBV contrast. *Magn Reson Med* 1999; 42: 591-598.
- [58] Vlioger EJ, Majoie CB, Leenstra S, den Heeten GJ. Functional magnetic resonance imaging for neurosurgical planning in neurooncology. *Eur Radiol* 2004; 14: 1143-1153.
- [59] Forsyth PA, Posner JB. Headaches in Patients with Brain-Tumors - A Study of 111 Patients. *Neurology* 1993; 43: 1678-1683.
- [60] Schreiber A, Hubbe U, Ziyeh S, Hennig J. The influence of gliomas and nonglial space-occupying lesions on blood-oxygen-level-dependent contrast enhancement. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000; 21: 1055-1063.
- [61] Holodny AI, Schulder M, Liu WC, Wolko J, Maldjian JA, Kalnin AJ. The effect of brain tumors on BOLD functional MR imaging activation in the adjacent motor cortex: implications for image-guided neurosurgery. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000; 21: 1415-1422.

- [62] Krings T, Reinges MH, Willmes K, Nuerk HC, Meister IG, Gilsbach JM, Thron A. Factors related to the magnitude of T2\* MR signal changes during functional imaging. *Neuroradiology* 2002; 44: 459-466.
- [63] Endres M, Meisel A, Biniszkiwicz D, Namura S, Prass K, Ruscher K, Lipski A, Jaenisch R, Moskowitz MA, Dirnagl U. DNA methyltransferase contributes to delayed ischemic brain injury. *J Neurosci* 2000; 20: 3175-3181.
- [64] Geocadin RG, Koenig MA, Stevens RD, Peberdy MA. Intensive care for brain injury after cardiac arrest: therapeutic hypothermia and related neuroprotective strategies. *Crit Care Clin* 2006; 22: 619-636.
- [65] Macleod MR, Petersson J, Norrving B, Hacke W, Dirnagl U, Wagner M, Schwab S. Hypothermia for Stroke: call to action 2010. *Int J Stroke* 2010; 5: 489-492.
- [66] Iannetti GD, Wise RG. BOLD functional MRI in disease and pharmacological studies: room for improvement? *Magn Reson Imaging* 2007; 25: 978-988.
- [67] Duong TQ, Kim DS, Ugurbil K, Kim SG. Localized cerebral blood flow response at submillimeter columnar resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10904-10909.
- [68] Barbier EL, Lamalle L, Decors M. Methodology of brain perfusion imaging. *J Magn Reson Imaging* 2001; 13: 496-520.
- [69] Hacke W, Furlan AJ, Al Rawi Y, Davalos A, Fiebich JB, Gruber F, Kaste M, Lipka LJ, Pedraza S, Ringleb PA, Rowley HA, Schneider D, Schwamm LH, Leal JS, Sohngen M, Teal PA, Wilhelm-Ogunbiyi K, Wintermark M, Warach S. Intravenous desmoteplase in patients with acute ischaemic stroke selected by MRI perfusion-diffusion weighted imaging or perfusion CT (DIAS-2): a prospective, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Neurol* 2009; 8: 141-150.
- [70] Donnan GA, Baron JC, Ma H, Davis SM. Penumbra selection of patients for trials of acute stroke therapy. *Lancet Neurol* 2009; 8: 261-269.
- [71] Firbas W, Sinzinger H, Schlemmer M. [Circulus arteriosus of the rat, mouse and golden hamster]. *Zentralbl Veterinarmed C* 1973; 2: 243-251.
- [72] Windmuller O, Lindauer U, Foddiss M, Einhaupl KM, Dirnagl U, Heinemann U, Dreier JP. Ion changes in spreading ischaemia induce rat middle cerebral artery constriction in the absence of NO. *Brain* 2005; 128: 2042-2051.
- [73] Mustafa S, Thulesius O. Cooling-induced carotid artery dilatation: an experimental study in isolated vessels. *Stroke* 2002; 33: 256-260.
- [74] Seki J, Sasaki Y, Oyama T, Yamamoto J. Effects of intracranial pressure on the pial microcirculation in rats studied by a fiber-optic laser-Doppler anemometer microscope. *Front Med Biol Eng* 1999; 9: 113-121.
- [75] Shulman K, Verdier GR. Cerebral vascular resistance changes in response to cerebrospinal fluid pressure. *Am J Physiol* 1967; 213: 1084-1088.
- [76] Hudetz AG, Feher G, Weigle CG, Knuese DE, Kampine JP. Video microscopy of cerebrocortical capillary flow: response to hypotension and intracranial hypertension. *Am J Physiol* 1995; 268: H2202-H2210.
- [77] Barbiro-Michaely E, Mayevsky A. Effects of elevated ICP on brain function: can the multiparametric monitoring system detect the 'Cushing Response'? *Neurol Res* 2003; 25: 42-52.
- [78] Johnston IH, Rowan JO, Harper AM, Jennett WB. Raised intracranial pressure and cerebral blood flow. I. Cisterna magna infusion in primates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1972; 35: 285-296.
- [79] Symon L, Crockard HA, Juhasz J, Branston NM. The effect of intracranial hypertension on cerebrovascular resistance--an experimental study. *Acta Neurochir (Wien)* 1976; 35: 221-232.
- [80] Kawamura S, Yasui N. Effects of Increased Intracranial-Pressure in Brain Surface Microcirculation in Rats. *Acta Neurochirurgica* 1994; 128: 21-25.
- [81] Monti MM, Vanhauudenhuysse A, Coleman MR, Boly M, Pickard JD, Tshibanda L, Owen AM, Laureys S. Willful modulation of brain activity in disorders of consciousness. *N Engl J Med* 2010; 362: 579-589.
- [82] Pham M, Kleinschnitz C, Helluy X, Bartsch AJ, Austinat M, Behr VC, Renne T, Nieswandt B, Stoll G, Bendszus M. Enhanced cortical reperfusion protects coagulation factor XII-deficient mice from ischemic stroke as revealed by high-field MRI. *Neuroimage* 2010; 49: 2907-2914.
- [83] Ebinger M, Brunecker P, Jungehulsing GJ, Malzahn U, Kunze C, Endres M, Fiebich JB. Reliable perfusion maps in stroke MRI using arterial input functions derived from distal middle cerebral artery branches. *Stroke* 2010; 41: 95-101.
- [84] Nakamura H, Strong AJ, Dohmen C, Sakowitz OW, Vollmar S, Sue M, Kracht L, Hashemi P, Bhatia R, Yoshimine T, Dreier JP, Dunn AK, Graf R. Spreading depolarizations cycle around and enlarge focal ischaemic brain lesions. *Brain* 2010; 133: 1994-2006.
- [85] van der Worp HB, Howells DW, Sena ES, Porritt MJ, Rewell S, O'Collins V, Macleod MR. Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Med* 2010; 7: e1000245.
- [86] Holzer M, Cerchiari E, Martens P, Roine R, Sterz F, Eisenburger P, Havel C, Kofler J, Oschatz E, Rohrbach K, Scheinecker W, Schorkhuber W, Behringer W, Zeiner A, Valentin A, De Meyer M, Takunen O, Tiainen M, Hachimi-Idrissi S, Huyghens L, Fischer M, Walger P, Bartsch A, Foedisch M, Cerchiari E, Bonizzoli M, Pagni E, Laggner AN, Kaff A, Schneider B, Mullner M. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *New England Journal of Medicine* 2002; 346: 549-556.
- [87] Peterson K, Carson S, Carney N. Hypothermia treatment for traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis. *J Neurotrauma* 2008; 25: 62-71.
- [88] Kollmar R, Staykov D, Dorfler A, Schellinger PD, Schwab S, Bardutzky J. Hypothermia reduces perihemorrhagic edema after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2010; 41: 1684-1689.



- [89] Jacobs S, Hunt R, Tarnow-Mordi W, Inder T, Davis P. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; CD003311.
- [90] Burger R, Bendszus M, Vince GH, Solymosi L, Roosen K. Neurophysiological monitoring, magnetic resonance imaging, and histological assays confirm the beneficial effects of moderate hypothermia after epidural focal mass lesion development in rodents. *Neurosurgery* 2004; 54: 701-711.
- [91] van der Worp HB, Sena ES, Donnan GA, Howells DW, Macleod MR. Hypothermia in animal models of acute ischaemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Brain* 2007; doi:10.1093/brain/awm083.
- [92] Den Hertog HM, van der Worp HB, Tseng MC, Dippel DW. Cooling therapy for acute stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; CD001247.
- [93] van der Worp HB, Macleod MR, Kollmar R. Therapeutic hypothermia for acute ischemic stroke: ready to start large randomized trials? *J Cereb Blood Flow Metab* 2010; 30: 1079-1093.
- [94] Obrig H, Villringer A. Beyond the visible--imaging the human brain with light. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 1-18.
- [95] Mutoh T, Ishikawa T, Suzuki A, Yasui N. Continuous cardiac output and near-infrared spectroscopy monitoring to assist in management of symptomatic cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* 2010; 13: 331-338.
- [96] Calderon-Arnulphi M, Alaraj A, Slavin KV. Near infrared technology in neuroscience: past, present and future. *Neurol Res* 2009; 31: 605-614.
- [97] Zweifel C, Castellani G, Czosnyka M, Helmy A, Manktelow A, Carrera E, Brady KM, Hutchinson PJ, Menon DK, Pickard JD, Smielewski P. Noninvasive monitoring of cerebrovascular reactivity with near infrared spectroscopy in head-injured patients. *J Neurotrauma* 2010; 27: 1951-1958.
- [98] Heringlake M, Garbers C, Kabler JH, Anderson I, Heinze H, Schon J, Berger KU, Dibbelt L, Sievers HH, Hanke T. Preoperative cerebral oxygen saturation and clinical outcomes in cardiac surgery. *Anesthesiology* 2011; 114: 58-69.
- [99] Kim MN, Durduran T, Frangos S, Edlow BL, Buckley EM, Moss HE, Zhou C, Yu G, Choe R, Maloney-Wilensky E, Wolf RL, Grady MS, Greenberg JH, Levine JM, Yodh AG, Detre JA, Kofke WA. Noninvasive Measurement of Cerebral Blood Flow and Blood Oxygenation Using Near-Infrared and Diffuse Correlation Spectroscopies in Critically Brain-Injured Adults. *Neurocrit Care* 2009.
- [100] Arenth PM, Ricker JH, Schultheis MT. Applications of functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) to Neurorehabilitation of cognitive disabilities. *Clin Neuropsychol* 2007; 21: 38-57.
- [101] Roche-Labarbe N, Zaaimi B, Berquin P, Nehlig A, Grebe R, Wallois F. NIRS-measured oxy- and deoxyhemoglobin changes associated with EEG spike-and-wave discharges in children. *Epilepsia* 2008; 49: 1871-1880.
- [102] Buchheim K, Obrig H, Pannwitz W, Muller A, Heekeren H, Villringer A, Meierkord H. Decrease in haemoglobin oxygenation during absence seizures in adult humans. *Neurosci Lett* 2004; 354: 119-122.
- [103] Wijdicks EF, Hijdra A, Young GB, Bassetti CL, Wiebe S. Practice parameter: prediction of outcome in comatose survivors after cardiopulmonary resuscitation (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2006; 67: 203-210.
- [104] Zandbergen EG, de Haan RJ, Stoutenbeek CP, Koelman JH, Hijdra A. Systematic review of early prediction of poor outcome in anoxic-ischaemic coma. *Lancet* 1998; 352: 1808-1812.
- [105] Leithner C, Ploner CJ, Hasper D, Storm C. Does hypothermia influence the predictive value of bilateral absent N20 after cardiac arrest? *Neurology* 2010; 74: 965-969.
- [106] Steiner LA, Pfister D, Strebel SP, Radolovich D, Smielewski P, Czosnyka M. Near-infrared spectroscopy can monitor dynamic cerebral autoregulation in adults. *Neurocrit Care* 2009; 10: 122-128.
- [107] Damian MS, Schlosser R. Bilateral near infrared spectroscopy in space-occupying middle cerebral artery stroke. *Neurocrit Care* 2007; 6: 165-173.
- [108] Bhatia R, Hampton T, Malde S, Kandala NB, Muammar M, Deasy N, Strong A. The application of near-infrared oximetry to cerebral monitoring during aneurysm embolization: a comparison with intraprocedural angiography. *J Neurosurg Anesthesiol* 2007; 19: 97-104.
- [109] Chen CM, Hou BL, Holodny AI. Effect of age and tumor grade on BOLD functional MR imaging in preoperative assessment of patients with glioma. *Radiology* 2008; 248: 971-978.
- [110] Keller E, Froehlich J, Muroi C, Sikorski C, Muser M. Neuromonitoring in Intensive Care: A New Brain Tissue Probe for Combined Monitoring of Intracranial Pressure (ICP) Cerebral Blood Flow (CBF) and Oxygenation. *Acta Neurochir Suppl* 2011; 110: 217-220.
- [111] Ball AK, Clarke CE. Idiopathic intracranial hypertension. *Lancet Neurol* 2006; 5: 433-442.
- [112] Bhatia A, Gupta AK. Neuromonitoring in the intensive care unit. I. Intracranial pressure and cerebral blood flow monitoring. *Intensive Care Medicine* 2007; 33: 1263-1271.

## Danksagung

Im Folgenden danke ich:

Prof. Dr. U. Dirnagl, der in mir die Begeisterung für die neurovaskuläre Kopplung und die Erforschung der Regulation des zerebralen Blutflusses mit modernen Methoden geweckt und meine experimentellen Arbeiten mit großem Interesse unterstützt hat. Von ihm habe ich wissenschaftliches Arbeiten gelernt, und er hat meine Stärken erkannt und mich mit Kritik und Motivation gefördert.

Prof. Dr. M. Endres und Prof. Dr. K. M. Einhäupl für das freundliche und auf das Wohl des Patienten ausgerichtete Klima in der Klinik für Neurologie, sowie die in gleichem Maße auf wissenschaftliche Arbeit und klinische Ausbildung ausgerichtete Förderung der Mitarbeiter.

Prof. Dr. C. J. Ploner für die inspirierende Unterstützung bei der Entwicklung von wissenschaftlichen Fragestellungen aus der klinischen Arbeit am Campus Virchow – Klinikum.

Dr. C. Leithner für die langjährige erfolgreiche Zusammenarbeit in Forschung und Klinik.

Außerdem den weiteren aktuellen und ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Zerebrovaskuläre Regulation:

C. Böttiger, M. Foddis, Dr. M. Füchtemeier, Dr. H. Kaasch, Prof. M. Kohl-Bareis, M. Kühl, Prof. U. Lindauer, Dr. E. Lobsien, P. Müller, Dr. N. Offenhauser, K. Stohlmann

Sowie allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung für Experimentelle Neurologie für die angenehme Arbeitsatmosphäre!

Außerdem danke ich Dr. Martina Füchtemeier, Dr. Christoph Leithner, Dr. Elmar Lobsien und Dr. Johannes Royl für die Durchsicht der Habilitationsschrift.

## **Erklärung**

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

Hiermit erkläre ich, dass

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

Berlin, den 21. Dezember 2011

Dr. med. Georg Royl