

Aus der Klinik für Neurochirurgie der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
unter Leitung von Prof. Dr. Joachim Oertel

Sowie dem Institut für experimentelle Neurochirurgie der Universität des Saarlandes,
Homburg/Saar unter Leitung von Prof. Dr. Steffi Urbschat

**Die dekompressive Kraniektomie nach Schädel-Hirn-Trauma:
Welchen Einfluss hat die Größe der Trepanation?
Eine funktionelle und histologische Untersuchung im
Mausmodell**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2021**

vorgelegt von: Yannik Bullinger

geb. am: 16.01.1995 in Kaiserslautern

Tag der Promotion: 08.09.2021

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Oertel

Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Volk

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
ZUSAMMENFASSUNG/ABSTRACT	1
1. EINLEITUNG	4
1.1 Epidemiologie und Ätiologie des Schädel-Hirn-Traumas	4
1.2 Einteilung des Schädel-Hirn-Traumas	5
1.3 Pathophysiologie des Schädel-Hirn-Traumas	6
1.3.1 Anstieg des intrakraniellen Drucks	6
1.3.2 Zerebrale Perfusion	7
1.3.3 Das posttraumatische Hirnödem	9
1.4 Therapieoptionen nach Schädel-Hirn-Trauma	10
1.4.1 Konservative Therapiemaßnahmen	10
1.4.2 Intrakranielle Druckmessung	10
1.4.3 Hirndrucksenkende Maßnahmen	11
1.4.4 Dekompressive Kraniektomie	11
1.4.5 Größe einer Kraniektomie	12
1.5 Histologische Veränderungen nach Schädel-Hirn-Trauma	13
1.5.1 Ödem-Marker nach Schädel-Hirn-Trauma	13
1.5.2 Neuroinflammation nach Schädel-Hirn-Trauma	13
1.5.3 Apoptose nach Schädel-Hirn-Trauma	14
1.6 Studienlage hinsichtlich Kraniektomie-Größe im Tiermodell	15
2. EIGENE FRAGESTELLUNG	16
3. MATERIAL UND METHODEN	17
3.1 Versuchstiere	17
3.2 Operativer Versuchsabschnitt	18
3.2.1 Applikation des Traumas	19

3.2.2	Implantation der intrakraniellen Drucksonde	20
3.2.3	Dekompressive Kraniektomie	21
3.2.4	Narkoseausleitung	23
3.3	Gewichtsdokumentation	24
3.4	Erhebung des funktionellen Status	25
3.4.1	Neurological Severity Score (NNS)	25
3.4.2	Beam Balance Score (BBS)	26
3.4.3	Beam Balance Time (BBT)	27
3.5	Euthanasie	28
3.5.1	Intrakardiale Formaldehydperfusion	28
3.5.2	Entnahme des Gehirns	28
3.6	Histologische Aufbereitung	28
3.6.1	Einbettung und Anfertigen der Paraffinschnitte	28
3.6.2	Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (HE)	30
3.6.3	Färbung nach Nissl	31
3.6.4	Immunhistochemische Färbung	31
3.6.4.1	Material Immunhistochemie	31
3.6.4.2	Indirekte Immunhistochemie	32
3.6.4.3	Zielstrukturen	32
3.6.4.4	Vorgang immunhistochemische Färbung	33
3.7	Mikroskopie der Präparate	34
3.8	Mikroskopische Auswertung	34
3.8.1	Qualitative Auswertung	34
3.8.2	Quantitative Auswertung	34
3.9	Statistische Auswertung	35
4.	ERGEBNISSE	37
4.1	Ergebnisse der funktionellen Untersuchung	37
4.2	Ergebnisse der histologischen Untersuchung	40
4.2.1	Qualitative Beurteilung der nach HE und Nissl gefärbten Präparate	40
4.2.2	Ergebnisse der Färbung nach Nissl	42
4.2.3	Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse des Ödem-Markers Aquaporin-4	44

4.2.4 Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse des Inflammationsmarkers GFAP	47
4.2.5 Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse der Apoptose-Marker	50
4.3 Mortalität	53
4.4 Perioperative Temperaturmessung	53
4.5 Perioperative intrakranielle Druckmessung	53
4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse	54
5. DISKUSSION	55
5.1 Verwendete Methodik	55
5.2 Histomorphologisches Schädigungsmuster	57
5.3 Scores zur Erhebung des funktionellen Outcomes	59
5.4 Dekompressive Kraniektomie und der Einfluss ihrer Größe	61
5.6 Schlussfolgerung	69
6. BIBLIOGRAPHIE	70
7. TABELLEN- UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	81
8. PUBLIKATIONEN	83
9. AUSBLICK	85
10. DANK	86
11. CURRICULUM VITAE	87

Abkürzungsverzeichnis

ABC: Avidin-Biotin-Komplex (*avidin biotin complex*)

ANOVA: Varianzanalyse (*analysis of variance*)

AQP-4: Aquaporin-4

ATP: Adenosintriphosphat

Bax: *Bcl-2-associated X protein*

BBS: Beam Balance Score

BBT: Beam Balance Time

Bcl-2: *B-cell lymphoma 2*

BHS: Blut-Hirn-Schranke

CA: Ammonshorn (*cornu ammonis*)

Ca²⁺: Kalzium-Ion

Caspase: *cysteiny-l-aspartate specific protease*

CBF: Zerebraler Blutfluss (*cerebral blood flow*)

CD: *cluster of differentiation*

CFR: *case fatality rate*

CHI: *Closed head injury*

CPP: Zerebraler Perfusionsdruck (*cerebral perfusion pressure*)

CSF: Liquor cerebrospinalis (*cerebrospinal fluid*)

CT: Computertomografie

DC: Dekompressive Kraniektomie (*decompressive craniectomy*)

DECRA: Decompressive Craniectomy in Patients with Severe Traumatic Brain Injury

ΔP: Druckänderung

ΔV: Volumenänderung

DESTINY: Decompressive Surgery for the Treatment of malignant Infarction of the middle cerebral artery

DNA: Desoxyribonukleinsäure (*desoxyribonucleic acid*)

EEG: Elektroenzephalografie

GCS: Glasgow Coma Skala (*Glasgow Coma Scale*)

GFAP: Saures Gliafaserprotein (*glial fibrillary acidic protein*)

H⁺: Wasserstoff-Ion

H₂O₂: Wasserstoffperoxid

HE: Hämatoxilin-Eosin

ICP: Intrakranieller Druck (*intracranial pressure*)

IL: Interleukin

K⁺: Kalium-Ion

M.: Musculus

MAP: Mittlerer arterieller Blutdruck (*mean arterial pressure*)

mRNA: *messenger ribonucleic acid*

MRT: Magnetresonanztomografie

Mx: *Doppler mean flow index*

Na⁺: Natrium-Ion

NaCl: Natriumchlorid

NCL: Gruppe ohne Trauma und mit großer Kraniektomie (*no trauma / craniectomy large*)

NCS: Gruppe ohne Trauma und mit kleiner Kraniektomie (*no trauma / craniectomy small*)

NN: Sham-Gruppe (*no trauma / no craniectomy*)

NO: Stickstoffmonoxid

NSS: Neurological Severity Score

p: p-Wert (*propability*)

PRx: *Pressure Reactivity Index*

RESCUE-ICP: *Randomized Evaluation of Surgery with Craniectomy for Uncontrollable Elevation of Intracranial Pressure*

ROS: Reaktive Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*)

SHT: Schädel-Hirn-Trauma

TBI: *Traumatic brain injury*

TCL: Gruppe mit Trauma und mit großer Kraniektomie (*trauma / craniectomy large*)

TCS: Gruppe mit Trauma und mit kleiner Kraniektomie (*trauma / craniectomy small*)

TN: Gruppe mit Trauma und ohne Kraniektomie (*trauma / no craniectomy*)

TNF α : Tumornekrosefaktor α

TUNEL: *TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling*

W: Watt

ZNS: Zentrales Nervensystem

Zusammenfassung/Abstract

Zusammenfassung

Das Schädel-Hirn-Trauma gehört zu den führenden Todesursachen im jungen Erwachsenenalter. Endet es nicht letal, so folgen oftmals lebenslange physische und psychische Beeinträchtigung sowie die Notwendigkeit einer kostenintensiven Rehabilitation und Betreuung.

Neben konservativen Maßnahmen stellt die dekompressive Kraniektomie eine operative Therapieoption dar. Diese wird aufgrund ihrer Invasivität jedoch kontrovers diskutiert und ist Gegenstand intensiver Forschung.

In diversen Vorarbeiten unserer Forschungsgruppe konnte im gezeigt werden, dass die Durchführung einer Kraniektomie Einfluss auf die Erholung nach Schädel-Hirn-Trauma im Mausmodell hat. Nun gingen wir (der auch klinisch relevanten) Frage nach, ob die Dekompressionsgröße hierbei einen Einfluss auf funktionelle Erholung sowie strukturellen Hirnschaden hat. Der Einfluss wurde im Anschluss auch ohne vorangegangenes Trauma untersucht.

Sechs Wochen alte, männliche CD-1-Mäuse wurden in sechs verschiedene Gruppen randomisiert: Zunächst in eine Sham-Gruppe ohne Trauma (NN) und in eine reine Trauma-Gruppe (TN), nachfolgend dann in Gruppen, die entweder ein Trauma mit anschließender großer/kleiner Kraniektomie (TCL)/(TCS) oder kein Trauma, sondern nur die große/kleine Kraniektomie (NCL)/NCS), erhielten. Für die große Kraniektomie wurde hierbei eine fronto - parieto-squamosale Trepanation der Größe 5x8 mm, für die kleine Kraniektomie eine parietale Trepanation der Größe 3x5 mm durchgeführt.

24 Stunden postoperativ wurden die Tiere einem neurologischen Assessment, bestehend aus drei Testungen (Neurological Severity Score, Beam Balance Score und Beam Balance Time), unterzogen. Anschließend wurden die Hirne aufbereitet, einer immunhistochemischen Färbung unterzogen und ausgewertet.

In allen funktionellen Testungen schnitt die Gruppe TN am schlechtesten ab. Die Durchführung der großen Kraniektomie (TCL) führte posttraumatisch zum besten funktionellen Outcome. Sowohl im Vergleich zur nicht-operierten Trauma-Gruppe (BBS: TCL: $2,500 \pm 0,51$ vs. TN: $4,733 \pm 0,12$; $p=0,01$; *), als auch zur klein-kraniektomierten Trauma-Gruppe (BBS: TCL: $2,500 \pm 0,51$ vs. TCS: $4,476 \pm 0,37$; $p=0,017$; *; BBT: TCL: $54,67 \pm 20,12$ vs. TCS: $12 \pm 3,57$; $p=0,0452$; *) zeigten sich signifikant bessere Ergebnisse, wenn die größere Kraniektomie durchgeführt wurde.

Die große Kraniektomie senkte posttraumatisch außerdem die Expression der Apoptose-Marker Bax (TN: $85,60 \pm 9,553$ vs. TCL: $38,50 \pm 12,28$; $p=0,0168$; *) und Caspase-3 (TN: $156,4 \pm$ vs. TCL: $70,50 \pm 13,11$; $p=0,0494$; *) sowie des Ödem-Markers Aquaporin-4 (TN: $2,450 \pm 0,24$ vs. TCL: $1,500 \pm 0,17$; $p=0,027$; *) verglichen mit Gruppe TN signifikant. Die Durchführung der kleinen Kraniektomie reduzierte die Expression dieser Marker nicht signifikant. Die Mortalität war in TCL (76%) allerdings höher als in TCS (41,67%).

Die Eingriffe selbst, ohne vorheriges Trauma, führten im Vergleich zur Sham-Gruppe zu einem schlechteren neurologischen Outcome (NSS: NN: $0,5000 \pm 0,5000$ vs. NCS: $3,333 \pm 0,56$; $p=0,023$; * und NCL: $4,000 \pm 1,29$; $p=0,025$; *). Apoptose- und Ödem-Marker wurden durch den Eingriff selbst nicht signifikant beeinflusst.

Insgesamt zeigte eine nach Schädel-Hirn-Trauma durchgeführte dekompressive Kraniektomie im Maus-Modell positive Effekte auf die funktionelle Erholung und histologische Marker sekundärer Hirnschädigung. Eine größer angelegte Kraniektomie erzielte im Vergleich zur kleinen Kraniektomie signifikant bessere Ergebnisse, möglicherweise durch die suffizientere Dekompression des anschwellenden Hirngewebes. Dieser positive Effekt geht jedoch mit einer höheren Mortalität einher, vermutlich durch die größere Operation und den damit verbundenen Risiken.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit untermauern den therapeutischen Nutzen der Entlastungskraniektomie nach Schädel-Hirn-Trauma. Auch konnten positive Effekte größerer Kraniektomien gezeigt werden.

Die durch den größeren Eingriff gesteigerte Mortalitätsrate muss dabei jedoch genauer untersucht werden, um durch deren Reduktion die Therapie weiter zu optimieren.

Abstract

“Decompressive craniectomy after skull-brain-trauma: which influence has trepanation size? A functional and histological investigation in a mouse model”

Traumatic brain injury (TBI) is still one of the leading causes for death in young adults. If it does not end fatally, lifelong physical and mental impairment as well as expensive rehabilitation and care might follow. Beside conservative treatment options, the decompressive craniectomy (DC) is a surgical technique. Because of its invasiveness it is discussed controversial and subject of intensive research.

In preliminary work we were able to demonstrate an influence of craniectomy on recovery after skull-brain-injury in a mouse model. Here, we investigated the influence of decompression size on functional recovery as well as on structural brain damage (which is also clinically relevant). The influence was also tested without previous trauma.

Six-week-old, male CD-1-mice were randomly assigned into six different groups: firstly in sham without trauma (NN) and TBI only (TN), later in groups who received traumatic brain injury following large/small craniectomy (TCL)/(TCS) as well as groups without injury but with large/small craniectomy (NCL)/(NCS). For large craniectomy, a fronto-parieto-squamosal trepanation of 5x8mm, for small craniectomy a parietal trepanation of 3x5mm was performed. 24 hours after surgery, neurological impairment was rated by neurological severity score (NSS), beam balance score (BBS) and beam balance time (BBT). Thereafter, brains were subjected to histopathological analysis.

In all functional tests animals with trauma only (TN) showed the most profound impairment. Performance of a large craniectomy (TCL) led to the best functional outcome after trauma. Compared to TN (BBS: TCL: $2,500 \pm 0,51$ vs. TN: $4,733 \pm 0,12$; $p=0,01$; *) as well as to TCS (BBS: TCL: $2,500 \pm 0,51$ vs. TCS: $4,476 \pm 0,37$; $p=0,017$; *; BBT: TCL: $54,67 \pm 20,12$ vs. TCS: $12 \pm 3,57$; $p=0,0452$; *), significantly better outcomes were observed when the large craniectomy was performed.

Performing the large craniectomy after trauma also lowered the expression of apoptotic markers Bax (TN: $85,60 \pm 9,553$ vs. TCL: $38,50 \pm 12,28$; $p=0,0168$; *) and Caspase-3 (TN: $156,4 \pm$ vs. TCL: $70,50 \pm 13,11$; $p=0,0494$; *) as well as of the edema-marker Aquaporin-4 (TN: $2,450 \pm 0,24$ vs. TCL: $1,500 \pm 0,17$; $p=0,027$; *) significantly, compared to TN.

Performance of the small DC reduced the expression of these markers not significantly.

Mortality in TCL (76%) was higher compared to TCS (41,67%).

Surgery itself, without previous trauma, led to worse functional outcome compared to sham-group (NSS: NN: $0,5000 \pm 0,5000$ vs. NCS: $3,333 \pm 0,56$; $p=0,023$; * und NCL: $4,000 \pm 1,29$; $p=0,025$; *). Apoptosis- and edema-markers were not influenced significantly through surgery itself.

All in all, a posttraumatic decompressive craniectomy showed positive effects on functional outcome and histological markers of secondary brain damage in our murine model. A larger craniectomy led, compared to smaller one, to significantly better results, possibly through the more sufficient decompression of the swelling brain tissue. But, his positive effect is associated with a higher mortality rate, probably because of the greater surgery and the related risks.

The demonstrated results support the findings of benefits of decompressive surgery after traumatic brain injury. Also positive effects of larger craniectomies were demonstrated. The increased mortality rate through greater surgery needs to be investigated more closely for therapy optimization.

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie und Ätiologie des Schädel-Hirn-Traumas

Weltweit erleiden jährlich etwa 69 Millionen Menschen ein Schädel-Hirn-Trauma (SHT). Es stellt global eine der Hauptursachen für Tod und Behinderung, unabhängig vom Alter der Betroffenen, dar [34]. Auf jeweils 100 000 Einwohner gerechnet gab es im Jahre 2015 in Nordamerika 1299, in Europa 1012, in Südostasien 948 und in Afrika 801 Fälle [34]. Aufgrund des weitaus größeren Bevölkerungsaufkommens in den letztgenannten, entwicklungsschwachen Regionen der Erde, finden sich dort die größten absoluten Fallzahlen. Die Mortalität des SHT liegt weltweit bei 10,5 / 100.000. Die „Case fatality rate“ (CFR) aller SHT-Schweregrade wird mit 0,9 - 7,6 / 100 Patienten angegeben, betrachtet man sie sich isoliert beim schweren SHT liegt sie bei 29 - 55 / 100 [79].

Am häufigsten findet man das SHT in zwei Altersgruppen: Beim jungen Erwachsenen (< 25 Jahre) sowie im fortgeschrittenen Alter (> 75 Jahre) [79]. In den Industrieländern scheint das Durchschnittsalter seines Auftretens langsam zu steigen [88].

Die beiden Altersgipfel erklären sich durch die für das SHT hauptursächlichen Pathomechanismen: Während in den Industrienationen Stürze die Hauptursache darstellen, so sind es in Entwicklungsländern vor allem Unfälle im Straßenverkehr [79].

In Südostasien und Afrika sind 56 % aller Schädel-Hirn-Verletzungen auf Verkehrsunfälle zurückzuführen, in den USA macht dieser Unfallmechanismus nur 25 % aus [34].

Es lässt sich jedoch ein Trend erkennen: frühere, vor dem Jahre 2000 durchgeführte Studien beschrieben insbesondere Verkehrsunfälle als Hauptursache des SHT. Aktuellere, hauptsächlich auf Industrieländer bezogene Arbeiten, machen vermehrt Sturzgeschehen für seine Entstehung verantwortlich [79].

Dies lässt sich zum einen durch die enormen Fortschritte in Sachen Fahrzeug- und Straßensicherheit erklären, zum anderen steigt in Industrieländern der Bevölkerungsanteil älterer und somit sturzgefährdeter Menschen. Nicht zu vernachlässigen ist der Anteil von Gewalt als Ursache des SHT. Dieser liegt bei 7 - 10 % und zeigt sich weltweit steigend. Als Mechanismus kommen körperliche Gewalt sowie Schuss- und Explosionsverletzungen infrage. Letztere spielen im Rahmen militärische Konflikte und Terrorismus zunehmend eine Rolle [12,66].

Abgesehen vom vielen Leid der Betroffenen und deren Familien gehen die Akutbehandlung sowie die anschließende, oft lebenslange Betreuung dieser Menschen mit enormen Kosten einher, die nicht zuletzt auch ein sozioökonomisches Problem darstellen. So beziffern Thurman et al. die jährlichen Therapiekosten für Patienten mit SHT in den USA auf 60 Milliarden Dollar [107]. In einer europäischen Auflistung unfallbedingter Therapiekosten findet sich die Behandlung Schädel-Hirn-Verletzter unter den Top drei wieder [81].

1.2 Einteilung des Schädel-Hirn-Traumas

Das Schädel-Hirn-Trauma lässt sich nach verschiedenen Gesichtspunkten einteilen. Eine Unterscheidung lässt sich anhand des Zustandes bestimmter anatomischer Strukturen treffen. Ist die das Hirn umgebende harte Hirnhaut (Dura mater) unverletzt, so spricht man von einem geschlossenen SHT. Von einem offenen SHT redet man entsprechend, wenn diese Struktur eröffnet ist. Dies kommt gehäuft durch knöcherne Begleitverletzungen des Schädels zustande, wie etwa bei Schädelbasis-Frakturen oder penetrierenden Schädel-Hirn-Verletzungen. Ein Hinweis auf ein vorliegendes offenes SHT kann der Austritt von Liquor cerebrospinalis (CSF) sein. Dieser fließt in den inneren und äußeren Liquorräumen des Gehirns und Rückenmarks und dient unter anderem als mechanischer Puffer. Das offene SHT geht mit einer erhöhten Rate an Infektionen des zentralen Nervensystems (ZNS) einher [91,125].

Eine weitere, in der Klinik geläufigere Einteilung des Schädel-Hirn-Traumas, orientiert sich an der Glasgow-Coma-Scale (GCS). Mit Hilfe dieses Scores wird der neurologische Zustand eines Patienten anhand seiner jeweils besten verbalen und motorischen Reaktion auf einen bestimmten Reiz beurteilt. Der bestmögliche Wert ist ein GCS von 15, im schlechtesten Fall erreicht der Patient nur 3 Punkte.

Definitionsgemäß spricht man bei einem GCS von 13 – 15 von einem leichten, bei einem Wert von 9 – 12 von einem mittleren und bei einem GCS-Wert von 3 - 8 von einem schweren Schädel-Hirn-Trauma [91]. Ab einem GCS-Wert von ≤ 8 geht man beim Patienten vom Verlust der Schutzreflexe aus, weshalb eine sofortige Intubation erfolgen sollte. Zusätzlich sollte immer der Pupillen- sowie Reflexstatus geprüft werden [91].

Punkte	Augenöffnen	Beste verbale Antwort	Beste motorische Reaktion
1	Kein Öffnen	Keine Antwort	Keine Reaktion
2	Auf Schmerzreiz	Unverständliche Laute	Strecksynergismen
3	Auf Ansprache	Inadäquate Äußerungen	Beugesynergismen
4	Spontan	Desorientiert	Ungezielte Abwehrreaktion
5	-	Orientiert	Gezielte Abwehrreaktion
6	-	-	Gezielt nach Aufforderung

Tabelle 1: Glasgow-Coma-Scale (GCS) nach [91]

1.3 Pathophysiologie des Schädel-Hirn-Traumas

Der erlittene Schaden durch ein Schädel-Hirn-Trauma lässt sich in eine primäre, unmittelbar an den Unfall geknüpfte und eine sekundäre, sich nachfolgend entwickelnde Hirnschädigung unterteilen.

Die primäre Hirnschädigung geschieht unmittelbar durch Gewalteinwirkung während des Traumas. Er ist somit direkt abhängig von Art und Intensität der auf den Patienten einwirkenden Kraft. Als initiale Schädigungsmuster finden sich somit häufig Schädelfrakturen und lokale Kontusionen. Der Einfluss von Scherkräften verursacht häufig diffuse axonale Schädigungen sowie Gefäßzerreißen mit möglichen intrakraniellen Blutungen. Der primäre Hirnschaden ist keiner Therapie zugänglich und kann lediglich durch protektive Maßnahmen, wie dem Tragen von Helmen, günstig beeinflusst werden [91,97,127].

Die sekundäre Hirnschädigung schließt sich der primären Schädigung unmittelbar an und setzt sich über Stunden und Tage fort. Auch in Hirnregionen, die weit vom Ort der eigentlichen Krafteinwirkung entfernt liegen, kann es durch diesen Mechanismus zum Untergang von Gewebe kommen. Diese Form des Schadens beruht auf verschiedenen pathophysiologischen Veränderungen, die sich gegenseitig bedingen und als Reaktionskaskade betrachtet werden können. Hauptbestandteil der Pathophysiologie der sekundären Hirnschädigung ist der Anstieg des intrakraniellen Drucks. Dieser resultiert aus einer posttraumatischen Störung der Blut-Hirn-Schranke sowie einer durch Gewebeschädigung hervorgerufenen Entzündungsreaktion, welche dann zu weiterem Gewebeuntergang führt. Durch die intrakranielle Druckerhöhung werden die hirnersorgenden Blutgefäße komprimiert, wodurch der zerebrale Blutfluss (CBF) sinkt und es aufgrund von Sauerstoffmangel zum weiteren Untergang von Nervenzellen kommt. Dies fördert wiederum die Vergrößerung des Hirnödems. Die sekundäre Hirnschädigung ist als eine Art Teufelskreis aus intrakraniellm Druckanstieg, Minderperfusion, Entzündungsreaktion, Zelluntergang und Ödembildung zu verstehen.

Hier setzt das medizinische Behandlungskonzept an, um das Ausmaß der sekundären Hirnschädigung zu minimieren [12,86,91,127].

1.3.1 Anstieg des intrakraniellen Drucks

Physiologisch liegt der intrakranielle Druck (ICP) eines Erwachsenen unter 10-15 mmHg und kann durch bestimmte Manöver wie dem Husten oder Niesen kurzzeitig auf bis zu 110 mmHg ansteigen [95,128]. Alle längerfristigen Werte über 20 mmHg gelten als pathologisch und sollten behandelt werden [16].

Das sich im knöchernen Schädel befindliche Volumen ist unter physiologischen Bedingungen konstant und verteilt sich auf die Kompartimente Hirngewebe, Liquor cerebrospinalis und Blut.

Die Druck-Volumen-Beziehung der drei volumenbildenden Kompartimente innerhalb des vom knöchernen Schädel vorgegebenen Raumes wurde durch Monroe (1783) und Kellie (1824) beschrieben. Die nach ihnen benannte Monroe-Kellie-Doktrin besagt folgendes: Kommt es posttraumatisch zu einer Expansion eines oder mehrerer dieser Kompartimente, wie beispielsweise durch Blutungen, Hirnödeme oder einen sich entwickelnden Hydrozephalus, so kann dies bis zu einem bestimmten Grad durch die Verdrängung von Reserveräumen kompensiert werden. Expandiert das intrakranielle Volumen weiter, so steigt der ICP. Durch Infarzierung von Hirngewebe und Drosselung zerebraler Perfusion vergrößert sich das Hirnödem, was eine weitere intrakranielle Volumenzunahme mit verbundener ICP-Erhöhung nach sich zieht. Eine Negativkaskade im Sinne eines Circulus vitiosus kann die Folge sein [38,73,91,95,126].

Klinisch manifestiert sich ein erhöhter ICP an Symptomen, die von Kopfschmerzen, Übelkeit und Erbrechen über Bewusstseinsstörungen bis hin zu autonomen Regulationsstörungen und Dezerebrationszeichen reichen können [59,126].

Die Druck-Volumen-Beziehung innerhalb des knöchernen Schädels ist durch eine nichtlineare, hyperbolische Funktion charakterisiert ($\Delta P/\Delta V$).

Eine determinierte Volumenzunahme ΔV bei einem niedrigem Ausgangsdruck führt demnach zu einem geringen Anstieg des ICP (ΔP_1). Bei initial erhöhtem Druck steigt bei gleicher Volumenzunahme ΔV der ICP (ΔP_2) deutlich steiler an [38,89,126].

1.3.2 Zerebrale Perfusion

Der zerebrale Perfusionsdruck (CPP) ist von ICP und arteriellen Mitteldruck (MAP) abhängig und steht mit diesen Parametern in folgender Beziehung:

$$\text{CPP} = \text{MAP} - \text{ICP}$$

Aus diesem Zusammenhang lässt sich schlussfolgern, dass bei konstant bleibendem MAP und gleichzeitig erhöhtem ICP die Perfusion des Hirngewebes abnimmt. Übersteigt der ICP im Verlauf sogar den systemischen Blutdruck, so findet keine Hirnperfusion mehr statt. Man spricht dann vom Zustand der globalen zerebralen Ischämie [38,91,127].

Liegt der CPP im physiologischen Rahmen (zwischen 60 und 160 mmHg), so resultiert daraus ein zerebraler Blutfluss (CBF) von 50 ml / 100 g Hirngewebe / Minute. Durch die Fähigkeit zur Autoregulation kann gesundes Hirngewebe den CBF konstant halten.

Diese Autoregulation geschieht durch Konzentrationsveränderungen von Stickstoffmonoxid und anderen Stoffwechselprodukten sowie durch myogene Autoreaktivität, die in den

hirnversorgenden Gefäßen zur Vasokonstriktion beziehungsweise Vasodilatation führt. Klinisch lässt sich das Vorhandensein der zerebrovaskulären Autoregulation durch eine transkranielle Doppleruntersuchung prüfen. Hierfür werden bei gleichzeitiger kontinuierlicher ICP-Messung der *Doppler mean flow index* (Mx) und der *pressure reactivity index* (PRx) erhoben. Der *Doppler mean flow index* beurteilt die Korrelation zwischen der mittleren zerebralen Blutflussgeschwindigkeit und dem zerebralen Perfusionsdruck. Ist die Korrelation dieser beiden Parameter negativ, so geht man von einer erhaltenen Autoregulation aus, ist er positiv liegt eine Autoregulationsstörung nahe. Auch der *pressure reactivity index* macht sich die Beurteilung einer Korrelation zunutze und zeigt auch bei positiver Korrelation eine Autoregulationsstörung an, es werden hier jedoch die Parameter MAP und ICP betrachtet [31]. Eine gestörte zerebrovaskuläre Autoregulation geht mit einer schlechteren Prognose einher [13,29,30,33].

Bei reduziertem CBF und somit sinkendem zerebralen Sauerstoffangebot hat das Gehirn über einen weiteren Regulationsmechanismus die Möglichkeit zur Erhöhung der Sauerstoffextraktion aus dem Blut. Ist auch dieser Kompensationsmechanismus erschöpft spricht man von einer zerebralen Minderperfusion mit zerebraler Hypoxie. Klinisch präsentiert sich dieser Zustand durch Schwindel und Bewusstseinsminderung bis hin zum Koma [19,20,52].

Die Aufhebung dieser Autoregulationsmechanismen nach SHT führt dazu, dass der CPP stärker vom arteriellen Mitteldruck abhängig wird und dessen Schwankungen unterliegt.

Um einerseits eine adäquate Hirnperfusion zu gewährleisten und zum anderen die Gefahr des Atemstillstandes durch zu hohe Drücke zu reduzieren, sollte laut deutscher Leitlinie Schädelhirntrauma im Erwachsenenalter bei gleichzeitiger Hirndruckmessung ein CPP von 50 mmHg nicht unterschritten, ein Wert von 70 mmHg jedoch auch nicht überschritten werden [40]. Die Brain Trauma Foundation empfiehlt aus selben Gründen CPP-Werte zwischen 60 mmHg und 70 mmHg [16].

Erhöhte ICP-Werte (> 20 mmHg) sowie ein reduzierter CPP (> 60 mmHg) nach SHT sind so mit einer schlechteren Prognose assoziiert [38,91,96].

In der intensivmedizinischen Behandlung Schädel-Hirn-Verletzter gilt es also den systemischen Blutdruck dahingehend einzustellen, dass eine ausreichende zerebrale Perfusion gewährleistet ist. Hierbei sind grobe Schwankungen zu vermeiden und die Werte der jeweiligen Patientensituation anzupassen [7,10,14,36,37,45].

1.3.3 Das posttraumatische Hirnödeme

Die posttraumatische Schwellung des Hirngewebes kommt durch verschiedene, meist parallel ablaufende Mechanismen zustande. Im Fokus stehen hierbei insbesondere das vasogene sowie das zytotoxische Hirnödeme, in der Literatur werden jedoch auch ein osmotisches und ein hydrozephalas Hirnödeme beschrieben.

Sie folgen auf die posttraumatische Ausschüttung verschiedener Mediatoren wie freien Sauerstoffradikalen (ROS), Glutamat, Lactat, NO sowie H^+ -, Ca^{2+} - und K^+ - Ionen [8,113].

Das vasogene Hirnödeme entsteht durch die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke (BHS). Diese kann auf mechanischem Wege während des Traumas oder durch posttraumatische Akkumulation destrukturierender Mediatoren hervorgerufen werden. Zudem kann eine posttraumatische Immunreaktion eine Hyperpermeabilität der BHS verursachen. Es entsteht ein proteinreiches Extravasat. Dieses ist osmotisch wirksam und kann zu weiterem Flüssigkeitseinstrom führen [113].

Das zytotoxische Hirnödeme ist von der BHS unabhängig und bildet sich bereits im frühen Krankheitsverlauf. Es entsteht durch zelluläre Elektrolytverschiebungen. Zum einen steigt posttraumatisch die Permeabilität der Zellmembranen für Na^+ und K^+ . Weiterhin bedingt eine zelluläre Störung der Glukoseverwertung mit konsekutivem ATP-Mangel eine Insuffizienz der membranständigen Na^+ - K^+ -ATPase. Eine intrazelluläre Na^+ -Akkumulation ist die Folge. Da diese Ionen osmotisch wirksam sind, kommt es zum Wassereinstrom nach intrazellulär. Die posttraumatisch häufig als Komplikation auftretende Ischämie kann diesen Effekt verstärken.

Das osmotische Hirnödeme entsteht durch zu rasche und dadurch nicht mehr durch das Hirn kompensierbare Osmolaritätsschwankungen. Da zerebrale Ischämie einen hyperosmolaren Zustand des hiervon betroffenen Gewebes hervorruft, muss die Gabe isotoner Flüssigkeiten kritisch betrachtet werden. Vom hydrozephalas Ödeme spricht man bei periventrikulären CSF-Austritten infolge mechanischer Verlegungen von Liquorwegen [11,113].

Im Fokus experimenteller Forschung steht der im Nervengewebe ubiquitär vorkommende Wasserkanal Aquaporin-4 (AQP-4). Dieser findet sich vor allem auf Astrozytenfortsätzen und ermöglicht dort den Ein- und Ausstrom von Wasser entlang des osmotischen Gradienten [115]. Einige Studien beschreiben eine posttraumatisch erhöhte Expression dieses Kanals und sprechen ihm eine bedeutende Rolle in der Entstehung des Hirnödems zu [48,63,75].

In anderen Studien konnte durch medikamentöse Blockade von AQP-4 beziehungsweise durch Experimente an AQP-4-knock-out-Mäusen eine verringerte Ödembildung nachgewiesen werden [67,70,120].

Die Durchführung einer dekompressiven Kraniektomie (DC) bewirkte im Tierversuch einen positiven Effekt auf die zerebrale Ödembildung nach SHT: Verglichen mit der Kontrollgruppe

zeigten kraniektomierte Tiere geringere AQP-4-Expressionen sowie einen verminderten kortikalen Wassergehalt [110].

1.4 Therapieoptionen nach Schädel-Hirn-Trauma

Der primäre Hirnschaden ist unmittelbar abhängig von den zum Unfallzeitpunkt auf den Patienten einwirkenden Kräften und somit keiner Therapie zugänglich. Lediglich präventive Maßnahmen können helfen, diesen Schaden zu begrenzen. Therapeutisches Ziel ist die Minimierung des sekundären Hirnschadens. Es wird versucht, die Negativkaskade zu durchbrechen, um möglichst viel vitales Hirngewebe zu erhalten.

1.4.1 Konservative Therapiemaßnahmen

Schon die präklinische Behandlung nach Schädel-Hirn-Trauma hat auf das spätere Outcome großen Einfluss. Wird ein GCS ≤ 8 erhoben, so besteht die Indikation zur sofortigen Intubation. Zusätzlich sollten Pupillenreaktion und die motorischen Funktionen jeder einzelnen Extremität ermittelt werden. Liegt ein SHT als Ursache der Bewusstseinsbeeinträchtigung nahe, sollte aufgrund potentiell erhöhter ICP-Werte ein hochnormaler MAP angestrebt werden, um eine zerebrale Perfusion zu gewährleisten. Ein MAP ≤ 90 mmHg sowie eine Sauerstoffsättigung ≤ 90 % während der Behandlung gehen mit einem schlechteren Outcome einher, weshalb diese Werte nicht unterschritten werden sollten. Eine bildgebende Untersuchung mittels CT sollte innerhalb der ersten Stunde nach Trauma angestrebt werden, um potenziell lebensbedrohliche epidurale Blutungen rechtzeitig erkennen und behandeln zu können [9,41,87].

1.4.2 Intrakranielle Druckmessung

Die Brain Trauma Foundation empfiehlt die invasive Hirndruckmessung in ihrer aktuellen Leitlinie (2016) in folgenden Situationen: Bei GCS-Werten ≤ 8 und sichtbaren Pathologien im zerebralen CT nach SHT sowie, falls sich keine Pathologien im CT darstellen lassen, bei Patienten mit GCS ≤ 8 plus mindestens zwei der folgenden Risikofaktoren: Alter ≥ 40 Jahre, uni- oder bilaterales fokales neurologisches Defizit oder systolischer Blutdruck ≤ 90 mmHg [16]. Es konnte gezeigt werden, dass die kontinuierliche ICP-Messung mit einer geringeren Mortalität einher geht [5,16,39].

Zur Messung stehen die intraparenchymal zu platzierende Drucksonde und die externe Ventrikeldrainage (EVD) zur Verfügung. Die Letztgenannte bietet den zusätzlichen Vorteil, dass über sie das Ablassen von Liquor cerebrospinalis möglich ist, wodurch eine sofortige

Druckentlastung erreicht werden kann [38,40,127]. Laut Leitlinie der Brain Trauma Foundation von 2016 gilt es ICP-Werte ≥ 22 mmHg zu therapieren [16].

1.4.3 Hirndrucksenkende Maßnahmen

Zur Behandlung kritisch erhöhter ICP-Werte kommen verschiedene Methoden in Betracht. Zum einen kann der Oberkörper des Patienten um 30° hochgelagert werden, was extrem hohe Werte senken kann [38]. Zum anderen kann eine osmotische Therapie mit Mannitol 20% oder einer hyperosmolaren Kochsalzlösung zur ICP-Senkung eingesetzt werden [26]. Diese Therapieform sollte nur für eine begrenzte Zeit eingesetzt werden, da die dadurch herbeigeführte Veränderung der Serum-Osmolarität negative Folgen haben kann [26,38,40]. Die therapeutische Hyperventilation kommt bei passageren Hirndruckkrisen kurzfristig zur Anwendung. Diese Maßnahme führt zur Vasokonstriktion zerebraler Gefäße und mindert so den CBF. Dies dient einerseits der ICP-Senkung, birgt andererseits jedoch die Gefahr der zerebralen Minderperfusion und Ischämie. Bei hämodynamisch stabilen Patienten kann unter kontinuierlicher EEG-Ableitung die Gabe von Barbituraten erwogen werden. Folgen sind ein verminderter zerebraler Energiebedarf und eine sinkende Hirnperfusion. Auf diese Weise kann einer anderweitig nicht beherrschbaren ICP-Krise entgegengewirkt werden. Die Gabe von Glukokortikoiden geht mit einer signifikant erhöhten 14-Tage-Letalität einher und sollte deshalb nicht erfolgen [6,16,40]. Geht das SHT mit Verletzungen der Schädelbasis und Liquorrhoe einher, so kann eine antibiotische Therapie erwogen werden [40].

1.4.4 Dekompressive Kraniektomie

Die operative Entfernung raumfordernder intrakranieller Blutungen ist eine effektive Behandlungsoption in der Therapie des SHT. Die sogenannte Entlastungskraniektomie (DC) mit Duraerweiterungsplastik und deren Einfluss auf Überleben und neurologische Erholung bleiben nach wie vor Gegenstand aktueller Forschung. Bei dem Eingriff wird ein Knochenstück aus dem Schädel entfernt, um dem anschwellenden Hirngewebe die Möglichkeit zu bieten, sich über seine eigentliche anatomische Begrenzung auszudehnen. Dieser, oft als ultima ratio gesehene Methode, wird jedoch die größte Wirksamkeit bezüglich Hirndrucksenkung zugesprochen. Gängige Formen der DC sind die bifrontale Kraniektomie und die temporoparietale Hemikraniektomie [16,40,91,109,127].

Dennoch bleibt die dekompressive Kraniektomie umstritten. Verschiedene, kleinere Studien konnten einen positiven Effekt auf Überleben und Outcome zeigen [108,112]. Die groß angelegte, randomisierte DECRA-Studie aus dem Jahr 2011 hingegen konnte im Vergleich zur konservativen Therapieform keinen positiven Effekt auf diese Parameter nachweisen.

Die Kraniektomie-Gruppe zeigte im Langzeitverlauf sogar ein schlechteres neurologisches Ergebnis [27]. In dieser Studie konnte auch gezeigt werden, dass die Durchführung einer DC mit einer erhöhten Komplikationsrate einher geht. Die zwischen 2004 und 2014 durchgeführte RESCUE-ICP-Studie wies nach, dass die Therapie mittels Kraniektomie (37% temporo-parietale Hemikraniektomie, 63% bifrontale Kraniektomie) zwar zu einer geringeren Mortalitätsrate führt, die überlebenden Patienten jedoch im Vergleich zur konservativ behandelten Gruppe häufiger in einem Vegetativstatus oder mit schwerer Behinderung verbleiben. Für das Outcome „vollständige Erholung“ beziehungsweise „leichte Behinderung“ konnten zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden [49]. Die Leitlinien der Brain Trauma Foundation von 2016 empfehlen die Durchführung einer DC bei nicht anderweitig beherrschbaren, insgesamt über 15 Minuten innerhalb einer Stunde bestehenden ICP-Werten >20 mmHg [16].

1.4.5 Größe einer Kraniektomie

Der Einfluss verschiedener DC-Größen auf Mortalität, Pathophysiologie und neurologisches Outcome ist Gegenstand aktueller Forschung. Eine ausreichend große Trepanation ist für den Operationserfolg von Nöten [4]. Falls eine zu kleine Kraniektomie durchgeführt wird, kann dies zu einer Herniation mit konsekutiver Hirngewebs-Strangulation an den knöchernen Kraniektomie-Rändern führen. Außerdem kann durch die Kompression zuführender Gefäße vitales Hirnparenchym irreversibel geschädigt werden [4]. Weitere Komplikationen ergeben sich durch die zur Kraniektomie-Seite verlagernden Seitenventrikel des Gehirns. Die hierdurch veränderte Hydrodynamik des CSF kann einen Hydrozephalus bedingen. Die Kehrseite der Medaille bildet die größere Operationsfläche mit den damit einhergehenden höheren Risiken für intraoperative Komplikationen wie strukturelle Verletzungen und Infektion.

In der Literatur lassen sich zwei klinische Studien finden, die sich mit den Auswirkungen verschiedener Kraniektomie-Größen befassen. In diesen wurden Patienten in jeweils zwei Gruppen randomisiert: Eine Gruppe erhielt eine unilaterale, fronto-parieto-temporale Kraniektomie (12x15 cm), die andere Gruppe eine routinemäßig für intrakranielle Eingriffe durchgeführte temporo-parietale Kraniektomie (6x8 cm). Die Studie von Jiang et al. (n=486) kam zu dem Ergebnis, dass die Gruppe der großen DC eine signifikant bessere neurologische Langzeitfunktion hatte als die Vergleichsgruppe mit kleinerer DC [51].

Die Studie von Qiu et al. (n=74) kam zu einem ähnlichen Ergebnis. Auch dort erzielte die größere Kraniektomie bessere Langzeitergebnisse, jedoch einhergehend mit einer höheren Komplikations- und Re-Operationsrate [82].

Sich auf diese Studien berufend gibt die Brain Trauma Foundation in ihrem neuesten Leitlinien-Update von 2020 eine zu favorisierende Kraniektomie-Größe vor. Diese sollte nicht unter 12x15 cm beziehungsweise 15 cm im Durchmesser liegen [46]. Laut der Foundation sind für

die endgültige Klärung der zu favorisierenden Kraniektomie-Größe jedoch weitere, höherwertige Studien durchzuführen, die diese Ergebnisse stützen [46].

1.5 Histologische Veränderungen nach Schädel-Hirn-Trauma

1.5.1 Ödem-Marker nach Schädel-Hirn-Trauma

Im Fokus experimenteller Forschung bezüglich der Entstehung des Hirnödems steht der im Nervengewebe ubiquitär vorkommende Wasserkanal Aquaporin-4 (AQP-4). Dieser findet sich vor allem auf Astrozytenfortsätzen und ermöglicht dort den Ein- und Ausstrom von Wasser entlang des osmotischen Gradienten [115]. Einige Studien beschreiben eine posttraumatisch erhöhte Expression dieses Kanals und sprechen ihm eine bedeutende Rolle in der Entstehung des Hirnödems zu [48,63,75].

In anderen Studien konnte durch medikamentöse Blockade von AQP-4 beziehungsweise durch Experimente an AQP-4-knock-out-Mäusen eine verringerte Ödembildung nachgewiesen werden [67,70,120].

Die Durchführung einer dekompressiven Kraniektomie (DC) bewirkte im Tierversuch einen positiven Effekt auf die zerebrale Ödembildung nach SHT: Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten kraniektomierte Tiere eine geringere Expression von AQP-4 und einen verminderten kortikalen Wassergehalt [110].

1.5.2 Neuroinflammation nach Schädel-Hirn-Trauma

Im Prozess der sekundären Hirnschädigung spielt auch Inflammation eine Rolle. Diese wird zum Teil durch Permeabilitätsstörungen der BHS und der Expression verschiedener Entzündungsmediatoren verursacht. Zudem können periphere Immunzellen in geschädigtes Hirngewebe migrieren und sich an diesem Prozess beteiligen. Die Expression von $TNF\alpha$, ROS und verschiedener Interleukine (insbesondere IL-4 und IL-6) führt zur Aktivierung und Stimulation von Astrozyten und Gliazellen, welche die Entzündungsreaktion weiter unterhalten. Dieser Prozess hat positive und negative Effekte. Zum einen werden eventuell eingedrungene Antigene bekämpft und die Zellregeneration gefördert, zum anderen werden apoptotische Prozesse induziert. Dieser Zustand kann sich selbst in traumafernen Hirnregionen manifestieren und dort einen Zelluntergang induzieren [11,32,62,74].

Eine zentrale Rolle nehmen hierbei aktivierte Gliazellen ein. Einerseits induzieren diese die Defektheilung, andererseits führen sie durch die Ausschüttung von Entzündungsmediatoren und reaktiver Sauerstoffspezies zu weiterer Inflammation und zum Untergang teilweise noch vitalen Gewebes.

Charakteristisch für aktivierte Astrozyten sind ihre amöboide Form und das Vorkommen von saurem Gliafaserprotein (GFAP) auf ihrer Oberfläche [62].

1.5.3 Apoptose nach Schädel-Hirn-Trauma

Zum posttraumatischen Zelluntergang kommt es durch verschiedene Mechanismen [86]. Zeitlich zuerst einzuordnen ist dabei der direkte Zelluntergang durch physikalische Kräfte während des Traumas. Während der sekundären Hirnschädigung spielen andere Mechanismen wie die beschriebene Hypoxie, die inflammatorische Gewebeantwort und die Ödembildung eine übergeordnete Rolle. Diese induzieren sich teilweise gegenseitig [76,78,86]. Der Zelluntergang selbst geschieht über zwei unterschiedliche Wege: Nekrose und Apoptose [84,86]. Dabei sind diese Pathomechanismen nicht an die unmittelbare Traumaregion gebunden, sondern können diffus im gesamten Hirnparenchym verteilt auftreten [2,25,86].

Apoptose ist der Vorgang des programmierten Zelltodes. Er ist zunächst ein physiologischer Prozess, der posttraumatisch jedoch extrem induziert werden kann. Identifizieren kann man sich in Apoptose befindende Zellen durch zellmorphologische Veränderungen, die Expression apoptotischer Proteine auf ihren Oberflächen oder den Nachweis von DNA-Strangabbrüchen [11].

Hypoxie, Ischämie, intrazellulärer Anstieg von Ca^{2+} -Ionen sowie das nach mitochondrialer Schädigung freiwerdende Cytochrom C können sogenannte Initiator-Caspasen (insbesondere Caspase-8 und -9) aktivieren. Diese aktivieren kaskadenartig sogenannte Effektor-Caspasen (Caspase-3), welche dann zur Spaltung von DNA und Apoptose führen [61,86,122]. Der Familie der Bcl-2-Proteine wird eine zentrale Rolle im neuronalen Zelluntergang zugesprochen. Sie regulieren die Freisetzung von Cytochrom C aus Mitochondrien, weshalb indirekt auch die Regulation der Caspasen von den Bcl-2-Proteinen abhängt. Das zu dieser Familie gehörende Bax hat eine proapoptotische Wirkung, dem entgegen gesetzt wirkt Bcl-2. Ursächlich dafür ist die entgegengesetzte Wirkung dieser beiden Marker auf die Mitochondrien-Membran: Während Bcl-2 einen stabilisierenden Effekt auf die mitochondriale Membran hat, führt Bax zu einer Destabilisierung dieser. Der Destabilisierung folgt der Übertritt von Caspase-aktivierendem Cytochrom C ins Zytosol, wodurch der Apoptose-Prozess induziert wird [76].

Experimentell konnte gezeigt werden, dass apoptotische Zellen einen erhöhten Gehalt an Bax-Protein und -mRNA, gleichzeitig aber einen verminderten Gehalt von Bcl-2 aufweisen. Transgene Mäuse, deren Nervenzellen Bcl-2 übermäßig exprimierten, erlitten posttraumatisch einen signifikant niedrigeren Neuronenverlust als die Vergleichsgruppe ohne Bcl-2-

Überexpression, weshalb diesem Protein ein neuroprotektiver, antiapoptotischer Effekt nachgesagt wird [11,55,69,83,84,86,122].

1.6 Studienlage hinsichtlich Kraniektomie-Größe im Tiermodell

Im tierexperimentellen Rahmen gibt es bezüglich des Einflusses von Kraniektomie-Größen auf die beschriebenen Parameter noch keine Erkenntnisse. Zwar kommt es in solch translationalen Modellen zu ähnlichen pathophysiologischen Vorgängen, jedoch können durch andere anatomische Verhältnisse Differenzen zustande kommen. So sollte auch im translationalen Mausmodell der Einfluss verschiedener Kraniektomie-Größen nach SHT auf Mortalität, ICP, neurologische Funktion und histologische Merkmale untersucht werden, um etwaige Einflüsse auf Studienergebnisse nachzuweisen.

2. Eigene Fragestellung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Untersuchung des Einflusses verschiedener Trepanationsgrößen auf den funktionellen Status sowie histologische Merkmale nach Schädel-Hirn-Trauma im Mausmodell. Hierbei untersuchten wir folgende Fragen:

1. Wie wirkt sich ein Schädel-Hirn-Trauma auf den funktionellen Status der Versuchstiere aus?
2. Inwieweit beeinflusst die Durchführung einer kleinen bzw. großen dekompensiven Kraniektomie nach Trauma den funktionellen Status des Tieres? Gibt es Unterschiede zwischen diesen beiden Therapieoptionen?
3. Inwieweit wirkt sich die Durchführung der verschiedenen Dekompressionen selbst (ohne vorangegangenes Trauma) auf den funktionellen Status aus?
4. Wie wirken sich das Trauma selbst sowie die verschiedenen Kraniektomien nach Trauma auf strukturelle Hirnschädigung, Neuronenverlust, zerebrale Inflammation, Ödembildung sowie Apoptose-Marker aus?
5. Hat der chirurgische Eingriff selbst einen Einfluss auf Neuronenverlust, zerebrale Inflammation, Ödembildung sowie Apoptose-Marker?

Ziel der Arbeit ist die Untersuchung, ob die Durchführung einer größeren Kraniektomie durch suffizientere Dekompression, oder die einer kleineren Trepanation durch eventuell geringere Invasivität, einen Vorteil hinsichtlich funktionellem Ergebnis und zerebraler Pathophysiologie im Mausmodell bietet.

3. Material und Methoden

Diesen Fragestellungen gingen wir im Folgenden mit einem Tiermodell nach. In diesem wurde über die sogenannte weight drop impact-Methode ein SHT simuliert. Anschließend wurden dessen Auswirkungen mittels funktioneller Testungen sowie Immunhistochemie untersucht. Zwei verschieden große Kraniektomien wurden eine Stunde nach Trauma durchgeführt und deren Einfluss untersucht. Um den Einfluss der Operation selbst zu untersuchen, führten wir den Eingriff außerdem an nicht traumatisierten Vergleichstieren durch.

3.1 Versuchstiere

Verwendet wurden männliche CD-1-Mäuse (Firma Charles River). Diese waren gemittelt sechs Wochen alt und hatten ein Gewicht von 39.2 ± 4.32 Gramm.

Untergebracht waren die Tiere im Institut für klinisch-experimentelle Chirurgie, wo sie unter tierärztlicher Leitung versorgt wurden.

Die Tiere wurden in insgesamt sechs verschiedene Versuchsgruppen randomisiert (**Tab. 2**), angestrebt wurde eine Gruppengröße von sieben überlebenden Tieren.

Nummer	Versuchsgruppe	Kürzel	Erläuterung
1	Trauma + große Kraniektomie	TCL	Therapiegruppe mit Trauma und großer Kraniektomie
2	Sham	NN	Kontrollgruppe ohne Trauma und ohne Kraniektomie
3	Trauma	TN	Kontrollgruppe mit Trauma und ohne Kraniektomie
4	Kleine Kraniektomie	NCS	Kontrollgruppe ohne Trauma und kleiner Kraniektomie
5	Trauma + kleine Kraniektomie	TCS	Therapiegruppe mit Trauma und kleiner Kraniektomie
6	Große Kraniektomie	NCL	Kontrollgruppe ohne Trauma und großer Kraniektomie

Tabelle 2: Versuchsgruppen-Übersicht

3.2 Operativer Versuchsabschnitt

Das Ausgangsgewicht jedes Tieres wurde sowohl präoperativ sowie 24 Stunden nach OP erfasst mit einer Waage (Siens Plus, Soehnle) erfasst. Anschließend wurden sie unter einen Trichter verbracht, welcher mit 3% Isofluran (Baxter) angereichertem Sauerstoff (1 Liter pro Minute) geflutet wurde. Nach Eintritt in die Schlafphase und Ausfall der Schutzreflexe wurde das Tier auf eine beheizte Platte (TCAT - 2LV, Phystemp Instruments Inc.) gelegt und seine Schnauze in einem zurechtgeschnittenen Schlauch positioniert, über welchen es während des restlichen operativen Versuchsabschnittes mit Isofluran angereichertem Sauerstoff erhielt. Die Konzentration des Narkosemittels und die Flussmenge des Sauerstoffs wurden an die individuellen Bedürfnisse des Tieres während des Versuchs angepasst. Im Schnitt wurde einer Menge zwischen 0,5 und einem Liter Sauerstoff pro Minute bei einer Isofluran-Konzentration zwischen 1,5% und 3% zugeführt.

Der Schädel der Maus wurde in einen stereotaktischen Rahmen gespannt, die Fixierpunkte lagen im Meatus acusticus externus beider Seiten.

Da die Tiere narkosebedingt die Fähigkeit zum Lidschluss verloren, wurde um einer cornealen Austrocknung vorzubeugen dort eine anfeuchtende Salbe (Bepanthen Augen- und Nasensalbe, Bayer) aufgetragen.

Während des gesamten operativen Versuchsabschnittes wurde die Körperkerntemperatur über eine im Rektum platzierte Messsonde erfasst. Über eine Kopplung mit der beheizten Platte sowie mit einer im Abstand von 25 Zentimetern auf das Tier gerichteten Infrarotlampe (25 W, Philips) wurde die Aufrechterhaltung einer physiologischen Körperkerntemperatur von 37° Celsius angestrebt.

Nach erneuter Überprüfung der Sedierungstiefe durch Nachweis des Ausfalls der Zwischenzehenreflexe begann der mikrochirurgische Teil der Operation, für den zur optischen Vergrößerung des OP-Gebietes ein Operationsmikroskop (SuperLux 300, Zeiss) eingeschwenkt wurde.

Es erfolgten Hautdesinfektion (Octenisept, Schülke) und Hautinzision mittels Skalpell (Braun). Die Schnittführung begann frontal zwischen den Augen des Tieres und wurde entlang der Saggitalachse bis occipital zum Ansatz der Nackenmuskulatur fortgesetzt. Die sich darstellende Galea wurde mit einem scharfen Löffel abgetragen, wodurch die Schädelkalotte inklusive Sutura sagittalis und Sutura coronalis sichtbar wurde. Es wurde der Punkt, an dem sich die Sutura sagittalis und die Sutura coronalis treffen (Bregma) aufgesucht und der Trauma-Punkt mittels eines wasserfesten Stiftes (OHPen, Stabilo) markiert. Er befand sich einen Millimeter links der Sutura sagittalis sowie zwei Millimeter occipital des Bregmas.

3.2.1 Applikation des Traumas

Die Tiere der entsprechenden Gruppen (TN, TCS, TCL) wurden erneut auf eine ausreichende Sedierungstiefe überprüft, aus dem stereotaktischen Rahmen ausgespannt und zur Applikation des Traumas unter die dafür vorgesehene Apparatur verbracht. Hierfür musste auch die rektal eingeführte Temperaturmesssonde kurzzeitig entfernt werden.

Verwendet wurde ein Aufbau (**Abb. 1**), welcher der bereits etablierten „weight drop impact“-Methode nach Chen et al. entspricht [18,42]. Auch in verschiedenen Publikationen unserer Arbeitsgruppe lieferte diese Methode zur Trauma-Applikation valide Werte [99–101,104,105]. Die Maus wurde unter einem Metall-Konus so positioniert, dass dessen Spitze exakt auf dem vorher markierten Trauma-Punkt zum Liegen kam. Nach Betätigung eines Hebels fiel ein 75 Gramm schweres Gewicht aus 30 Zentimetern Höhe senkrecht auf den Stift, welcher die Kraft isoliert auf den Trauma-Punkt übertrug.

Die nicht für ein Trauma vorgesehenen Tiere wurden ebenfalls erneut auf Sedierungstiefe überprüft, kurz von der Temperatur-Messsonde befreit, aus dem stereotaktischen Rahmen ausgespannt und unter die Trauma-Apparatur verbracht. In diesem Fall wurde der „weight-drop“ jedoch nicht ausgelöst.

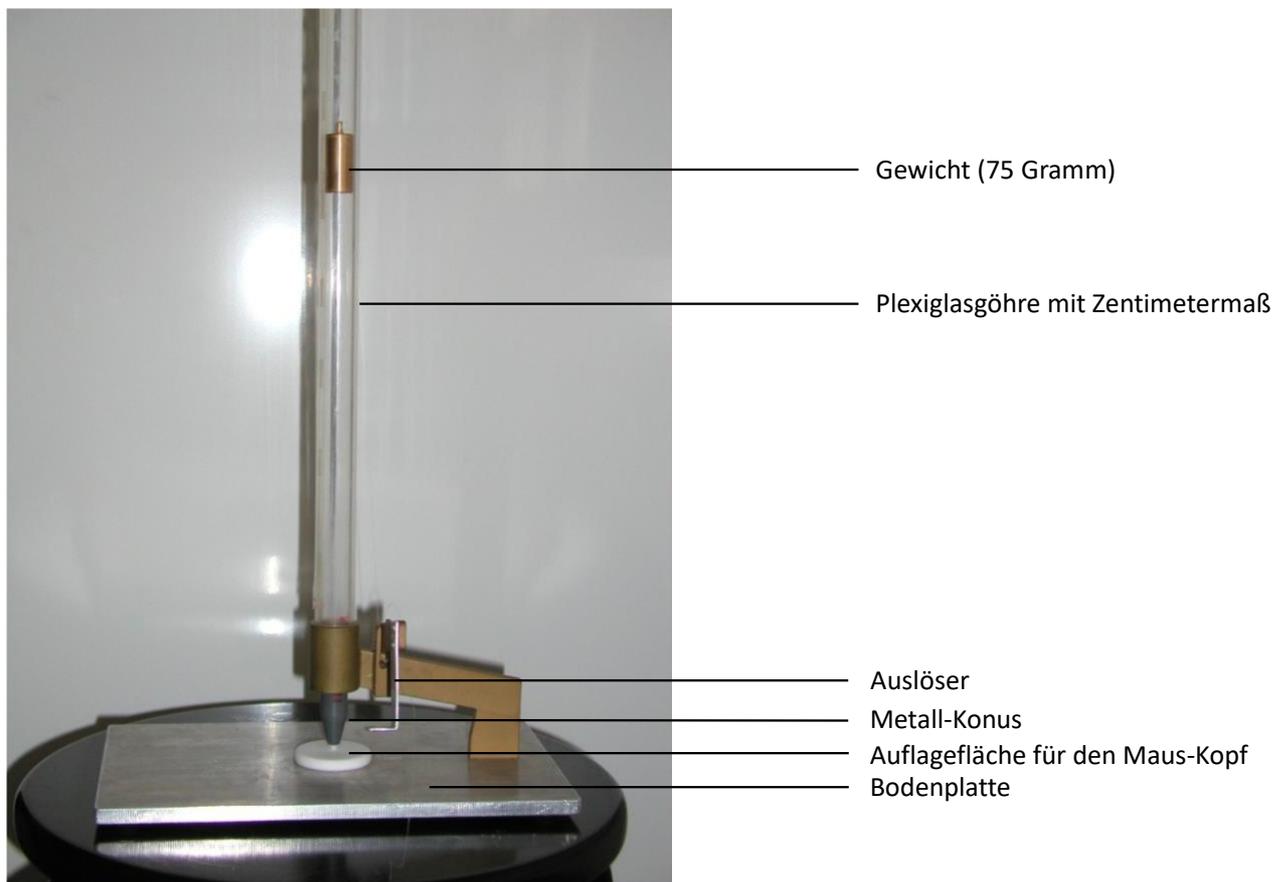


Abbildung 1: Trauma-Vorrichtung

Im Anschluss wurden die Tiere wieder in den Rahmen gespannt und mit der rektalen Temperatur-Messsonde versehen. Weiterhin wurde ihnen die Haut medial des rechten Ohres inzidiert, um so eine Temperatur-Messsonde im rechten Musculus temporalis zu versenken. Gemessen wurde damit die isolierte Kopftemperatur des Tieres. Durch die oben bereits erläuterten Maßnahmen zur Steuerung der Temperatur sollte eine Temperatur von 37° Celsius erreicht werden.

3.2.2 Implantation der intrakraniellen Drucksonde

Zur Implantation einer intrakraniellen Drucksonde (PP-M200-X-80SC.2.0PTFE-XN-50PIT3-P1, opSens) wurde 6 mm frontal des Bregmas sowie 2 mm links der Sutura sagittalis mittels eines Diamantbohrers (MicroTRON, Aesculap) ein im Durchmesser 1,5 Millimeter messendes Loch in den Schädel gebohrt. Die sich darstellende Dura mater wurde mit einer Kanüle (Sterican, Braun) eröffnet. In das Bohrloch wurde ein Tropfen Natriumchlorid (Braun) gegeben. Die Spitze der Drucksonde wurde in diesen NaCl-Tropfen getaucht und der gemessene Wert als Null definiert. Im Anschluss wurde die Sonde 1,5 Millimeter tief in das Hirnparenchym vorgeschoben, am stereotaktischen Rahmen fixiert und die Live-Aufzeichnung des intrakraniellen Druckes gestartet. Die gemessenen Werte konnten direkt am Messgerät (fiber optic sensor, opSens) abgelesen werden, wurden gleichzeitig aber auch auf ein Computerprogramm (opSENS) übertragen, welches die Werte in einem Graphen darstellte.

Unter kontinuierlicher Messung der Werte von Körperkerntemperatur, Kopftemperatur und intrakraniell Druck wurde das Verstreichen einer Stunde ab dem Zeitpunkt der Trauma-Applikation abgewartet. Die Werte wurden in einem Abstand von 15 Minuten notiert, die Daten der Drucksonde wie oben erwähnt zusätzlich in Echtzeit auf einen Graphen übertragen.

3.2.3 Dekompressive Kraniektomie

Die dekompressive Kraniektomie wurde bei den Tieren der Versuchsgruppen TCL, NCS, TCS und NCL eine Stunde nach Trauma-Applikation begonnen. Die Dauer dieser Prozedur belief sich auf 45 bis 60 Minuten.

Für die große Kraniektomie (Gruppen TCL, NCL) wurde auf der Trauma-Seite mittels Diamantbohrer (1,5 mm Durchmesser) das komplette Os parietale, das angrenzende Drittel des Os frontale sowie Teile des Os squamosum abgefräst und mit einem Haken geborgen. Die frei liegende Dura wurde mit einem Skalpell eröffnet.

Für die kleine Kraniektomie (Gruppen NCS, TCS) wurde mit selbigem Gerät lediglich die an die Saggitalnaht grenzende Hälfte des Os parietale entnommen. Auch hier wurde die Dura im Anschluss eröffnet.

Die Größe des entnommenen Schädelstücks lag bei etwa 5 mm x 8 mm (große Kraniektomie) beziehungsweise 3 mm x 5 mm (kleine Kraniektomie).

Die Kopfhaut wurde nach ausreichender Blutstillung (Zellstoff, Braun) mittels Einzelknopfnähten (Premilene 6-0, Braun) verschlossen. Hierbei wurde besonders auf die ICP-Sonde geachtet, welche sich noch im Tier befand.

Die nicht für eine Kraniektomie vorgesehenen Tiere (NN, TN) wurden nach der ersten Stunde für eine weitere Stunde überwacht, ehe auch sie zugenäht wurden.

Unmittelbar nach Wundverschluss wurde allen Mäusen eine auf ihre Körpertemperatur erwärmte 0,9% Kochsalzlösung (Braun) intraperitoneal appliziert. Die Menge belief sich auf 0,2 ml / g Körpergewicht.

Alle Tiere erhielten ein opioides Schmerzmittel (Buprenorphin, Temgesic 0,3 mg/ml) in der Dosierung 0,1 mg/kg Körpergewicht sowie ein nicht-steroidales Antiphlogistikum (Carprofen, Rimandyl 50 mg/ml) in der Dosierung 5 mg/kg Körpergewicht subkutan.

Eine weitere Stunde wurde unter Messung der genannten Parameter abgewartet.

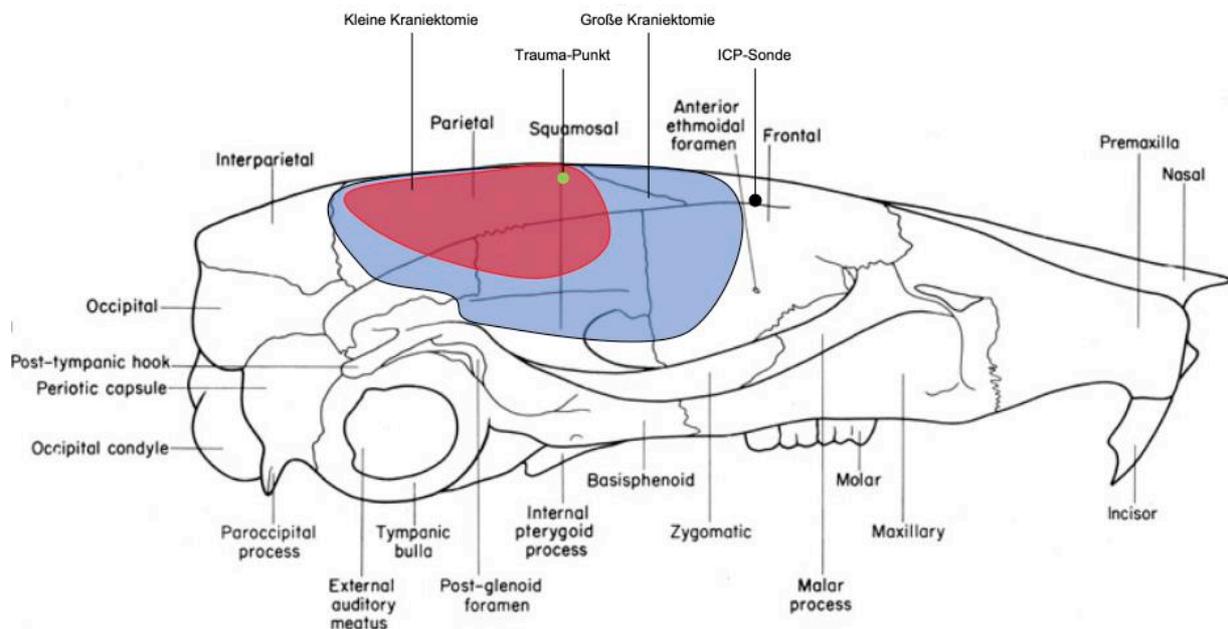
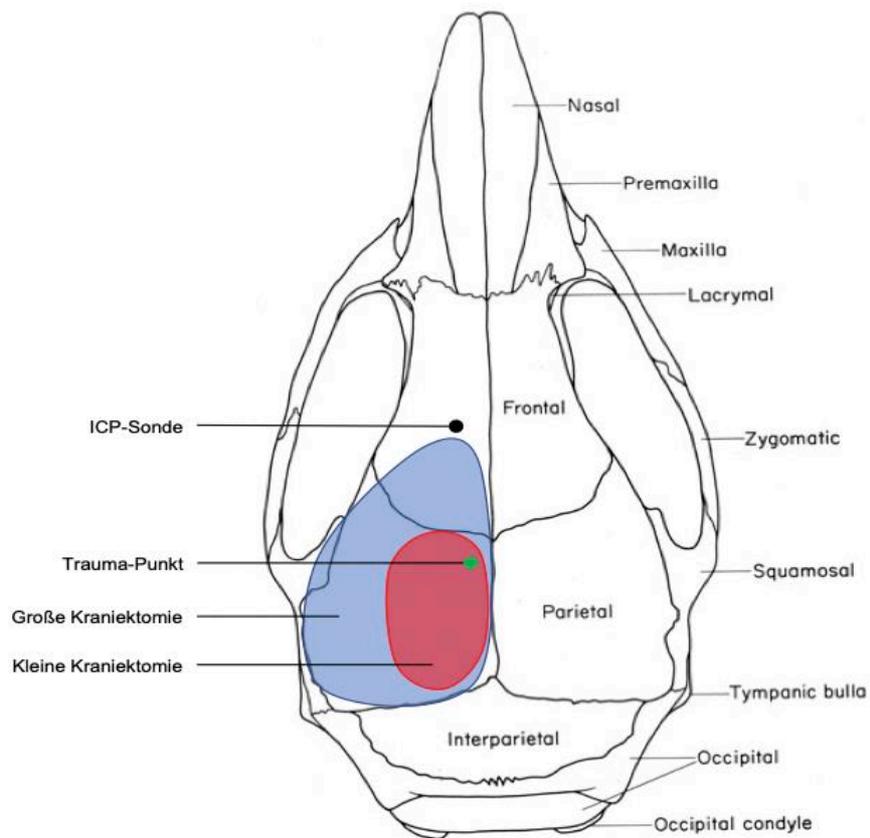


Abbildung 2: Interventions-Punkte und -Flächen am Mausschädel, Ansicht von oben und von links lateral (Anatomische Abbildung: The Anatomy of the Laboratory Mouse; Margaret J. Cook)

Die rote Fläche wurde im Rahmen der kleinen Kraniektomie entfernt, die blaue Fläche im Rahmen der großen Kraniektomie (NCL, TCL); Grüner Punkt: Trauma-Punkt; Schwarzer Punkt: Implantationspunkt der intrakraniellen Drucksonde.

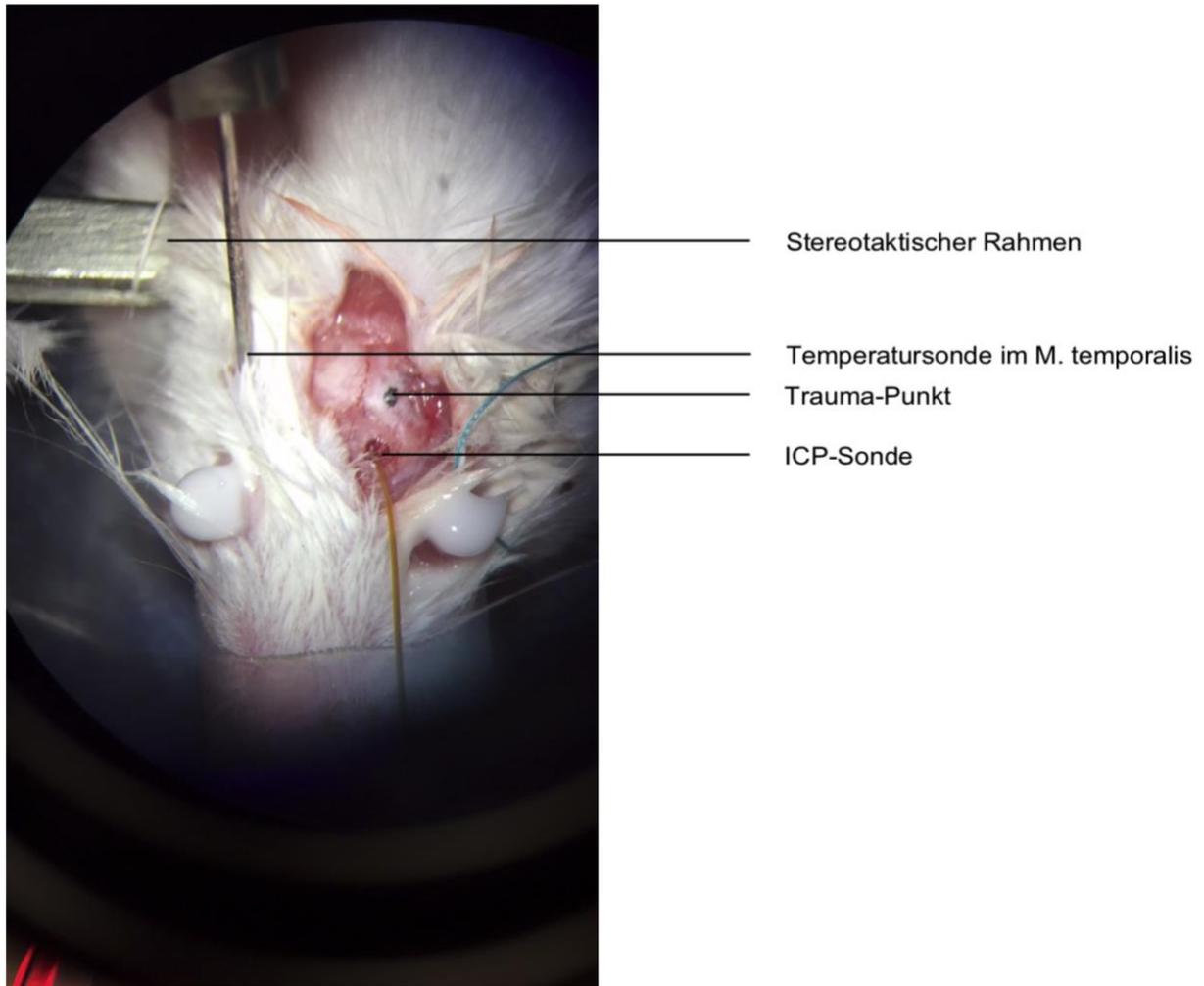


Abbildung 3: Blick durch das Operationsmikroskop

3.2.4 Narkoseausleitung

Nach Verstreichen der dritten Stunde wurden die Temperatursonden sowie die ICP-Sonde entfernt und die Isofluran-Beimischung unterbrochen. Unter Gabe von einem Liter Sauerstoff pro Minute wurde das Erwachen des Tieres abgewartet. Im Anschluss wurde es in seinen vorher ausgepolsterten Käfig gebracht und bis zur ersten Nahrungsaufnahme beobachtet. Um das Tier vor Unterkühlung zu schützen wurde in dieser Zeit die Infrarot-Lampe in den Käfig gerichtet.

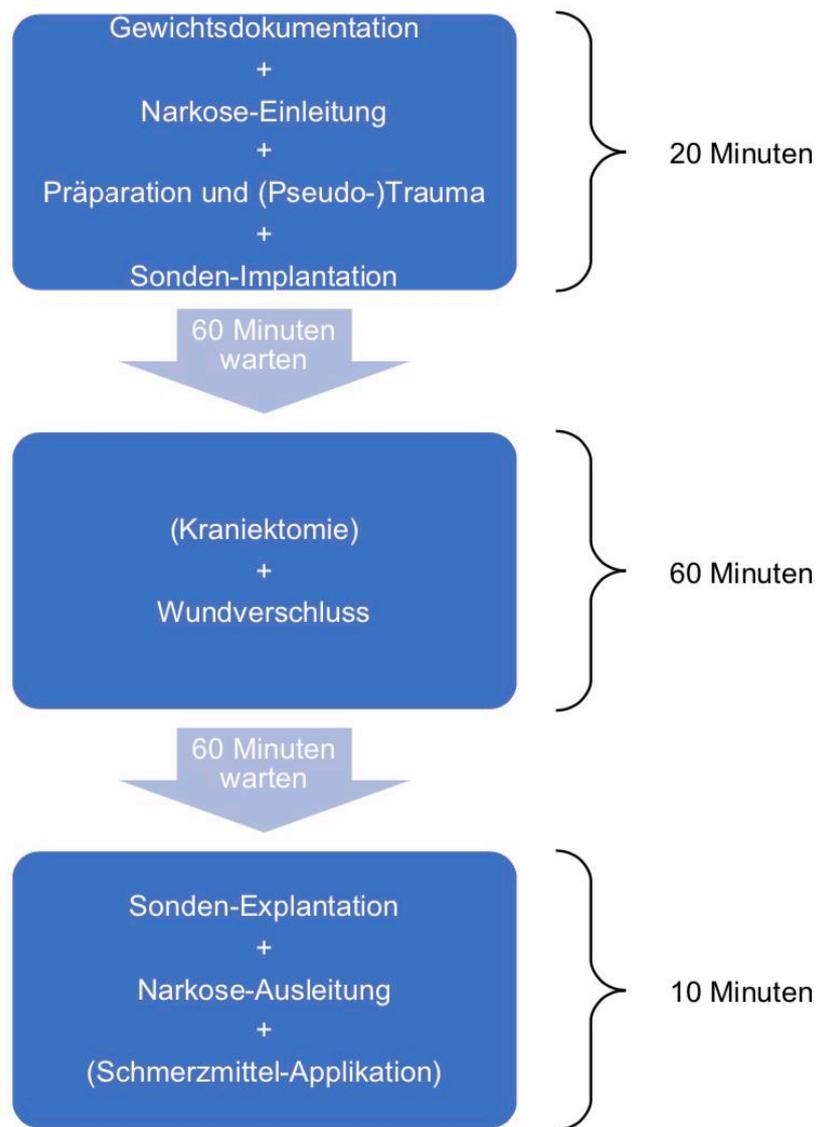


Abbildung 4: Übersicht operativer Versuchsabschnitt

3.3 Gewichtsdokumentation

Die Tiere wurden zu Beginn des operativen Versuchsabschnitts sowie 24 Stunden danach (vor Erhebung des neurologischen Status) gewogen (Siena Plus, Soehnle) und das Gewicht dokumentiert.

3.4 Erhebung des funktionellen Status

24 Stunden postoperativ wurden die Tiere neurologischen Untersuchungen unterzogen, um etwaige Einschränkungen festzustellen. Zwischen allen Teiluntersuchungen wurde jedem Tier eine Erholungsphase von 60 Sekunden gewährt, in welcher es auch die Möglichkeit zur Flüssigkeitsaufnahme hatte.

Erhoben wurden der Neurological Severity Score (NSS), der Beam Balance Score (BBS) sowie die Beam Balance Time (BBT), angelehnt an die Versuche von Chen et al. [18].

Diese Untersuchungsmethoden haben sich bereits in diversen Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe bewährt [101,102].

3.4.1 Neurological Severity Score (NNS)

Der NNS setzt sich aus einer Reihe von Untersuchungen zusammen, bei welchen die Maus für nicht zufriedenstellende Aktionen einen Strafpunkt erhielt. Bei zehn durchgeführten Tests lag das bestmögliche Ergebnis also bei null Punkten, im schlechtesten Fall wurden 10 Punkte erreicht.

Für die Erhebung durchlief das Versuchstier drei Stationen. Die erste Station stellte ein mit einer Öffnung versehenes, rundes Behältnis dar. In dieses wurde die Maus hineingesetzt und beobachtet, ob sie innerhalb von 60 Sekunden die Öffnung findet (Circle exit finding) und zu entkommen versucht. Beurteilt wurden in dieser Zeit das Suchverhalten (seeking behavior), die Fähigkeit geradeaus zu laufen (straight walk) und etwaige Mono- oder Hemiparesen. Innerhalb der 60 Sekunden klatschte der Untersucher einmal laut in die Hände. Beurteilt wurde daraufhin ob das Tier eine Schreckreaktion (startle reflex) zeigt.

Test	Vorhanden	Nicht Vorhanden
Circle exit finding	0 Punkte	1 Punkt
Mono- / Hemiparese	1 Punkt	0 Punkte
Straight walk	0 Punkte	1 Punkt
Startle reflex	0 Punkte	1 Punkt
Seeking behavior	0 Punkte	1 Punkt

Tabelle 3: NNS-Score, Station 1

An Station zwei musste die Maus auf einem runden und anschließend auf einem eckigen Stab für jeweils 60 Sekunden balancieren. Fiel die Maus vor Ablauf der Zeit herunter, so erhielt sie einen Strafpunkt.

Test	60 Sekunden geschafft	60 Sekunden nicht geschafft
Balancieren runder Stab	0 Punkte	1 Punkt
Balancieren eckiger Stab	0 Punkte	1 Punkt

Tabelle 4: NNS-Score, Station 2

An der dritten und letzten Station zur Erhebung des NNS-Scores wurde die Maus auf insgesamt drei Laufstege unterschiedlicher Breite gesetzt. An beiden Enden des jeweiligen Laufstegs befanden sich Plateaus. Die Maus hatte wieder 60 Sekunden Zeit um eines dieser Plateaus zu erreichen.

Test	Innerhalb 60 Sekunden geschafft	Innerhalb 60 Sekunden nicht geschafft
Laufsteg 3 cm breit	0 Punkte	1 Punkt
Laufsteg 2 cm breit	0 Punkte	1 Punkt
Laufsteg 1 cm breit	0 Punkte	1 Punkt

Tabelle 5: NNS-Score, Station 3

3.4.2 Beam Balance Score (BBS)

Um diesen Score zu erheben wurde das Tier auf der runden Stange platziert. Auf dieser musste es wieder für 60 Sekunden balancieren. Für Unsauberkeiten im Balance-Akt wurden Strafpunkte verteilt (**Tab. 6**). Der Ablauf wurde dreimal wiederholt, dazwischen wurde dem Tier eine Pause von 60 Sekunden gewährt. Der Mittelwert der erteilten Strafpunkte stellte dann den Gesamt-BBS-Score dar.

Verhalten auf der Stange	Strafpunkte
Sofortiges Hinunterfallen	5
Hängt an Vorderpfoten an der Stange	4
Hängt unterhalb der Stange	3
Rutscht herunter, klettert wieder herauf	2
Bleibt oben sitzen	1

Tabelle 6: Beam-Balance-Score

3.4.3 Beam Balance Time (BBT)

Während der oben beschriebenen Erhebung des Beam Balance Scores wurde die Zeit gemessen, in der sich das Tier auf oder an der Stange befand. Die addierten Zeiten der drei Durchgänge bildeten die Beam Balance Time. Der höchstmöglich erreichbare Wert war somit 180 Sekunden, der schlechteste Wert 0 Sekunden.

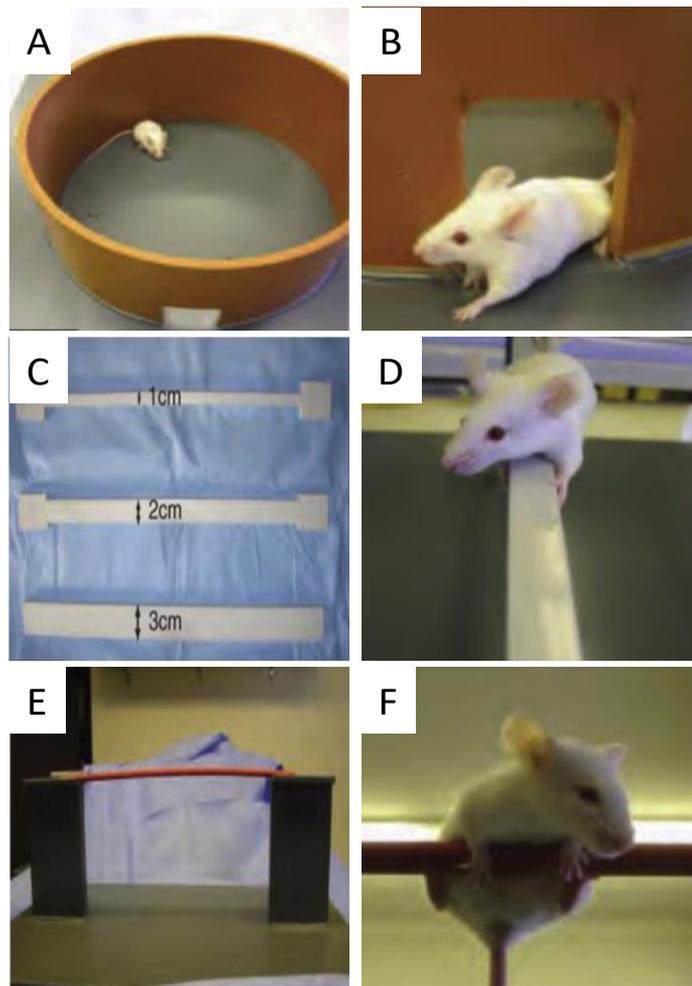


Abbildung 5: Funktionelle Untersuchung: Station 1 der NSS-Testung (A); Maus während Station 1 NSS-Testung (B); Station 3 der NSS-Testung (C); Maus während Station 3 der NSS-Testung (D); Aufbau für BBS- und BBT-Testung (E); Maus während BBS- beziehungsweise BBT-Testung (F)

(Bilder freundlicherweise von Dr. Szczygielski zur Verfügung gestellt)

3.5 Euthanasie

3.5.1 Intrakardiale Formaldehydperfusion

Für diesen Vorgang wurde das Tier mit einem Sauerstoff-Isofluran-Gemisch narkotisiert. Nach Ausfall der Schutzreflexe wurde eine letale Dosis (0,2 ml / 10 g Körpergewicht) eines Gemisches aus Ketamin (Ketavet, Zoetis) und Xylazin (Rompun, Bayer) intraperitoneal appliziert. Für das Gemisch (T 61) wurden 1 ml Ketamin, 0,5 ml Xylazin und 10 ml NaCl 0,9% (B. Braun) miteinander vermengt.

Die Sedierungstiefe wurde durch Setzen eines Schmerzreizes erneut überprüft. War diese ausreichend, so wurde das Tier auf den Rücken gelegt und an allen Vieren fixiert. Mit einer Schere wurden vorsichtig die Bauchhöhle und der Brustkorb eröffnet. Nach Identifikation des linken Ventrikels sowie des rechten Vorhofs wurde im linken Ventrikel des Tieres eine Kanüle (Sterican, B. Braun) platziert, über welche sodann eine NaCl 0,9%-Lösung infundiert wurde. Gleichzeitig wurde das rechte Atrium eröffnet um den Blutausfluss zu ermöglichen. Nach erfolgtem Entbluten, was durch die Farbänderung der Leber von braun auf weiß verifiziert werden konnte, wurde eine 4 % Formaldehyd-Lösung (AppliChem) für weitere 2 Minuten appliziert.

3.5.2 Entnahme des Gehirns

Direkt im Anschluss wurde der Schädel des Tieres mit einer Schere eröffnet und das Gehirn vorsichtig präpariert. Hierfür wurde die Dura mater eröffnet und das Gehirn vom Rückenmark und den Hirnnerven getrennt. Bis zur histologischen Aufbereitung wurde es in einer 4 % Formaldehyd-Lösung aufbewahrt.

3.6 Histologische Aufbereitung

3.6.1 Einbettung und Anfertigen der Paraffinschnitte

Die entnommenen Gehirne wurden einer Standardprozedur zur Entwässerung unterzogen ehe sie in Paraffinblöcke eingebettet werden konnten (Shandon Hypercenter XD, Histocenter 2).

Mittels des Atlas „The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates“ sowie der Website „The Allen Mouse Brain Atlas“ gelang die anatomische Orientierung während des gesamten Schneidevorgangs [57,116]. Hierfür wurde ein Schlittenmikrotom (CUT 5062 SLEE medical)

verwendet. Im Hippocampus wurden pro Schnittserie jeweils zehn coronare Schnitte im Abstand von 5 µm angefertigt.

Anschließend wurden sie in einem 40° Celsius warmen Wasserbad geglättet und auf silanisierte Objektträger aufgezogen.

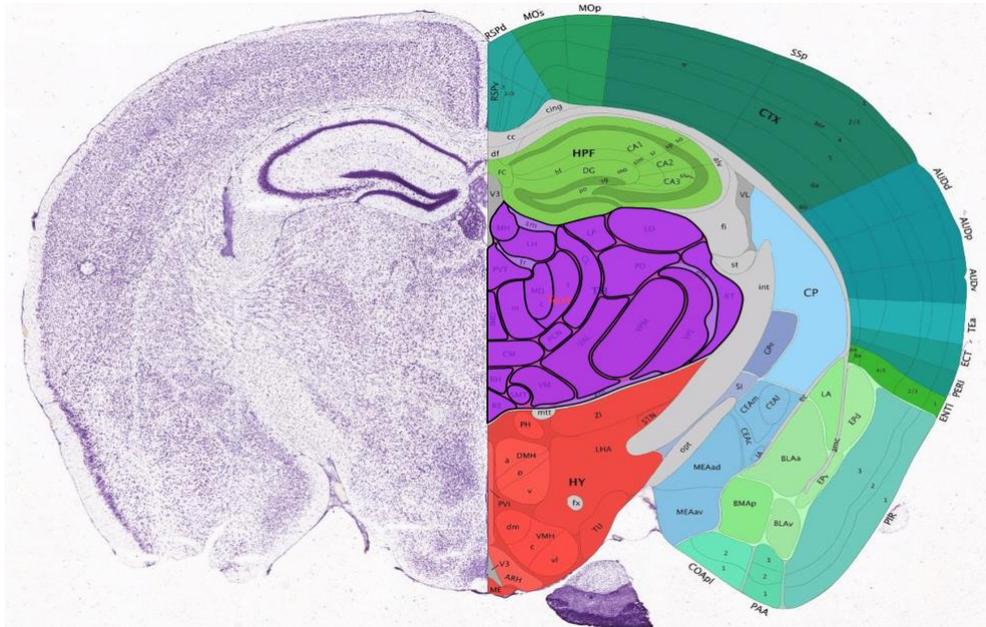


Abbildung 6: Murine Neuroanatomie, coronare Hippocampusregion [116]

Histologische Standardfärbungen

Pro Schnittserie wurde jeweils ein Präparat in den Übersichtsfärbungen Hämatoxylin-Eosin (HE) und Nissl gefärbt.

Um die Schnitte auf den Färbeprozess vorzubereiten wurden diese nach dem immer selben Schema entparaffiniert und rehydriert (**Tab. 7**).

Arbeitsschritt	Material	Dauer [Minuten]
Abschmelzen (60°C)	Wärmeschrank	30 Minuten
Eintauchen	Xylol	3 x 5 Minuten
Eintauchen	Ethanol 100%	2 Minuten
Eintauchen	Ethanol 96%	2 Minuten
Eintauchen	Ethanol 70%	2 Minuten
Eintauchen	Aqua dest.	2 Minuten

Tabelle 7: Entparaffinierung mit absteigender Alkoholreihe

Im Anschluss an den Färbeprozess wurden die Schnitte in umgekehrter Reihenfolge wieder entwässert. Zum Schutz und zur anschließenden Mikroskopie wurde ein Tropfen Einschlussmittel (Roti-Histokitt II, Carl Roth) und ein Deckglas aufgebracht (**Tab. 8**).

Arbeitsschritt	Material	Dauer [Minuten]
Eintauchen	Ethanol 70 %	2
Eintauchen	Ethanol 96 %	2
Eintauchen	Ethanol 100%	2
Eintauchen	Xylol	3 x 5
Eindecken	1 Tr. Roti-Histokitt; Deckglas	-

Tabelle 8: Dehydrierung und Eindecken

3.6.2 Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (HE)

Die Färbung mit Hämatoxylin-Eosin stellt eine histologische Standard-Färbung dar. Durch den basischen Farbstoff Hämatoxylin werden Zellkerne blau gefärbt, Zytoplasma wird durch den sauren Farbstoff Eosin rot. Diese Methode dient als Übersichtsfärbung, beispielsweise um sich anatomisch besser orientieren zu können. Außerdem eignet sie sich um die Morphologie des gefärbten Gewebes zu beurteilen [65] (**Tab. 9**).

Arbeitsschritt	Material	Dauer [Minuten]
Eintauchen	Mayer's Hämalaun (Carl Roth)	15
Bläuen	Fließendes Leitungswasser	10
Eintauchen	Aqua dest.	1
Eintauchen	Eosin 0,5% (Carl Roth)	2
Eintauchen	Aqua dest.	1

Tabelle 9: HE-Färbung

Diesen Arbeitsschritten schloss sich die beschriebene Dehydrierung und das Eindecken an.

3.6.3 Färbung nach Nissl

Die Färbemethode nach Nissl ist speziell in den Neurowissenschaften weit verbreitet, da vor allem die Perikarya von Neuronen dargestellt werden. Dies gelingt durch die dabei verwendeten basischen Farbstoffe [65] (Tab. 10).

Arbeitsschritt	Material	Dauer [Minuten]
Eintauchen	Kresylviolett (Merck)	10
Eintauchen	Natrium-Acetat-Puffer	1
Eintauchen	Isopropylalkohol 100 %	2
Eintauchen	Aqua dest.	1

Tabelle 10: Färbung nach Nissl

Auch hier waren die nächsten Schritte die Dehydrierung und das Eindecken.

3.6.4 Immunhistochemische Färbung

3.6.4.1 Material Immunhistochemie

Antikörper	Spezifität	Verdünnung	Hersteller
Anti-Bcl-2 (N-19)	Kaninchen	1:100	Santa Cruz Biotechnology (sc-492)
Anti-Bax	Kaninchen	1:100	Santa Cruz Biotechnology (sc-493)
Anti-Caspase-3	Kaninchen	1:100	Bioss Antibodies (bs-2593R)
Anti-GFAP (H-80)	Kaninchen	1:100	Abcam (ab-16997)
Anti-AQP4	Kaninchen	1:100	Santa Cruz Biotechnology (sc-20812)

Tabelle 11: Verwendete Primärantikörper

KIT	Hersteller
Vectastain Elite ABC HRP KIT (Peroxidase Rabbit IgG)	Vector Laboratories (PK-6101)
Avidin / Biotin Blocking KIT	Vector Laboratories (SP-2001)
Vector VIP Peroxidase (HRP) Substrate KIT	Vector Laboratories (SK-4600)

Tabelle 12: Verwendete KIT's

Lösung	pH	Verdünnung und Zusatz
Tris-Puffer	7,5	-
Tris-Gebrauchslösung	7,5	1:10 + 15 g NaCl
Tris-Spüllösung	7,5	Gebrauchslösung + 1 ml Tween 20
Citratpuffer	6	-
Citratpuffer-Gebrauchslösung	6	1:10

Tabelle 13: Gebrauchslösungen

3.6.4.2 Indirekte Immunhistochemie

Diese Methode bedient sich der hohen Bindungsaffinität vom Glykoprotein Avidin zum Vitamin Biotin. Im Vergleich zu anderen direkten oder indirekten Immun-Komplex-Methoden wird so eine höhere Sensitivität erreicht.

Im Laufe des Vorgangs wird zunächst das entsprechende Antigen mit einem selektiven Primärantikörper markiert. Im Anschluss folgt ein biotinylierter Sekundärantikörper, welcher am Primärantikörper bindet. Dieser biotinylierte Sekundärantikörper bildet mit einem im Anschluss aufgetragenen Avidin-Peroxidase-Komplex eine stabile Bindung, welche sich durch die Zugabe eines Peroxidase-Substrates enzymhistochemisch anfärbt [65,77].

So wurde pro Tier jeweils ein repräsentativer Schnitt der Schnittserie 2 mit allen fünf verschiedenen Antikörpern angefärbt. Diesem Vorgang schloss sich immer die Kernfärbung mittels Hämatoxylin sowie die Dehydrierung und das Eindecken an.

3.6.4.3 Zielstrukturen

Mit Hilfe der Immunhistochemie wurden verschiedene Zielstrukturen dargestellt. Der gegen Bcl-2 gerichtete Antikörper markierte das anti-apoptotisch wirksame Protein Bcl-2, der Antikörper Anti-Bax das gegenläufig wirkende, pro-apoptotische Bax-Protein. Die Effektor-Caspase (Caspase-3) wurde ebenfalls mittels Antikörper markiert und einer Auswertung unterzogen. Anti-GFAP färbte aktivierte Astrozyten reaktiv an.

Anti-AQP4 markierte posttraumatisch exprimiertes Aquaporin-4 und machte es so der mikroskopischen Auswertung zugänglich. Die Rollen der untersuchten Zielstrukturen in der Pathophysiologie des SHT wurden in der Einleitung näher erläutert.

3.6.4.4 Vorgang immunhistochemische Färbung

Arbeitsschritt	Material	Dauer [Minuten]
Antigendemaskierung	Citratpuffer- Gebrauchslösung	20
Spülen	Tris-Spüllösung	5
Blockierung der endogenen Peroxidase	198 ml Methanol + 2 ml H ₂ O ₂	15
Spülen	Tris-Spüllösung	2 x 5
Blockierung endogener Biotin- und Avidinbindungsstellen	Normalserum, Avidin/Biotin Blocking KIT, Tris-Gebrauchslösung	30
Auftragen des Primärantikörpers	Siehe Tabelle 12	Inkubation über Nacht (4° C)
Spülen	Tris-Spüllösung	2 x 5
Auftragen des Sekundärantikörpers	Vectastain Elite ABC HRP KIT (Peroxidase Rabbit IgG)	60
Spülen	Tris-Spüllösung	2 x 5
Auftragen der ABC-Reagenz	Vectastain Elite ABC HRP KIT (Peroxidase Rabbit IgG)	20
Spülen	Tris-Spüllösung	2 x 5
Komplexmarkierung (Peroxidase)	Vector VIP Peroxidase (HRP) Substrate KIT	20
Spülen	Aqua dest.	1
Kernfärbung	Hämatoxilin	1
Bläuen	Leitungswasser	10
Spülen	Aqua dest.	1

Tabelle 14: Immunhistochemische Färbung

Nach diesen Schritten wurden die Präparate in bekannter Weise entwässert und mit einem Deckglas versehen.

3.7 Mikroskopie der Präparate

Die Schnitte wurden über Nacht getrocknet und am Folgetag in den Vergrößerungen 4x, 10x und 20x mikroskopiert. Hierfür kam ein Lichtmikroskop (BX-43, Olympus Life Science) zur Anwendung. Über eine eingebaute Kamera (XC-30, Olympus Life Science) konnten Aufnahmen gemacht und mit einer Software (CellSens Dimension 1.9, Olympus Life Science) gespeichert werden. In 20-facher Vergrößerung wurden die für die Auswertung interessanten Areale CA1 und CA1 ipsi- und kontralateral zur Traumastelle aufgesucht und mittels Software (Adobe Photoshop Elements 2020) jeweils ein Rechteck der definierten Größe 100 x 50 µm eingefügt. Die Orientierung innerhalb des Präparates gelang erneut durch den Anatomieatlas „The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates“ sowie die Website „Allen Mouse Brain Atlas“ [57,116].

3.8 Mikroskopische Auswertung

3.8.1 Qualitative Auswertung

Von jedem Tier wurden aus der Schnittserie auf mittlerer Hippocampus-Höhe (siehe **Abb.6**) zwei Schnitte in den histologischen Standardfärbungen HE und Nissl sowie fünf weitere Schnitte in immunhistochemischer Technik mit oben aufgelisteten Antikörpern angefärbt. Die Präparate wurden in unterschiedlichen Vergrößerungen qualitativ beurteilt und die Ergebnisse zwischen den verschiedenen Gruppen verglichen.

3.8.2 Quantitative Auswertung

Die durch das Rechteck markierten Areale innerhalb der Regionen CA1 und CA3 ipsi- und kontralateral wurden softwareassistent (Image J, Java) ausgezählt.

Augenmerk dabei lag auf der Anzahl erhaltener neuronaler Perikarya (Nissl), der reaktiven Astrozytenreaktion (GFAP) sowie der Expression von Aquaporin-4 und der Proteine Bcl-2, Bax und Caspase-3.

Die Quantifizierung der immunhistochemischen Färbung von AQP4 erfolgte durch einen Score. Da dieser ein im Nervengewebe ubiquitär vorkommender, hauptsächlich jedoch in Astrozytenfortsätzen um Kapillare vorkommender Wasserkanal ist, ist eine Quantifizierung durch Auszählen schwierig. Deshalb entwickelten wir einen Score, der den Grad der Anfärbung widerzuspiegeln versucht- um das Aquaporin-4-Vorkommen letztendlich einer statistischen Auswertung zugänglich zu machen (**Tab. 15** und **Abb.7**).

Vorkommen / Anfärbung	Punktzahl
Vereinzelt	1
Leicht vermehrt	2
Vermehrt	3
Stark vermehrt	4

Tabelle 15: AQP4-Score (Nach Szczygielski et al.)

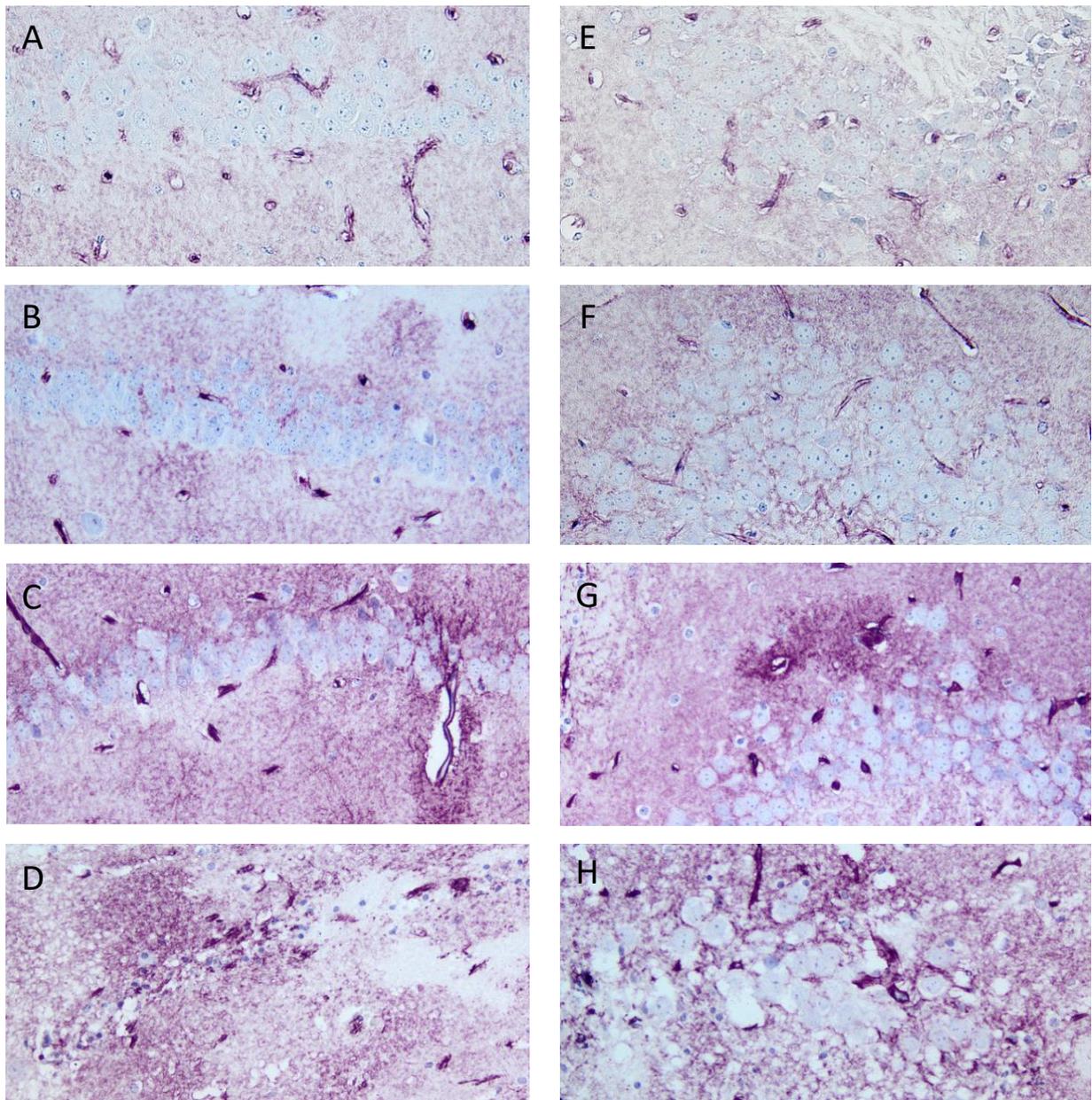


Abbildung 7: Beispiel-Bilder für den AQP4-Score in CA1 und CA3. Grad 1 (vereinzelt Vorkommen; A+E), Grad 2 (leicht vermehrtes Vorkommen; B+F), Grad 3 (vermehrtes Vorkommen; C+G) und Grad 4 (stark vermehrtes Vorkommen; D+H)

Die gesammelten Daten wurden mit dem Programm Graphpad Prism (Version 5.00, GraphPad Software) statistisch ausgewertet. Das Signifikanzniveau wurde bei $p = 0,05$ festgelegt.

Ein positives Votum der Ethikkommission (Tierversuchsantrag 01/2017) lag bereits vor Beginn der Versuchsreihe vor.

Der Verfasser dieser Arbeit qualifizierte sich im Vorfeld durch entsprechende Kurse zum Umgang mit Versuchstieren und erhielt von der Tierschutzbeauftragten eine Ausnahmegenehmigung zum selbstständigen Durchführen der operativen Maßnahmen.

4. Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse unserer Experimente präsentiert. Zunächst wird dabei auf das funktionelle Outcome eingegangen, anschließend auf das histomorphologische Schädigungsmuster.

Im Weiteren werden die histologischen Marker betrachtet. Dabei wird zunächst jeweils die Sham-Gruppe NN mit der Trauma-Gruppe TN verglichen, um den Einfluss des Traumas selbst darzustellen. Anschließend werden die beiden Kraniektomie-Gruppen nach Trauma mit der Gruppe TN zum einen, und zum anderen untereinander verglichen.

Zuletzt werden die nicht-traumatisierten, aber kraniektomierten Gruppen NCS und NCL untereinander sowie mit der Sham-Gruppe NN verglichen.

4.1 Ergebnisse der funktionellen Untersuchung

Die Erhebung der beiden Impairment-Scores (NSS und BBS) sowie der Beam Balance Time lassen Rückschlüsse auf die neurologische Funktion 24 Stunden nach Operation des jeweiligen Versuchstieres zu.

Für den ersten Teil der Fragestellung wurden die Auswirkung des Traumas selbst und für Teil zwei der mögliche Einfluss einer kleinen beziehungsweise großen Kraniektomie nach Trauma analysiert.

In allen funktionellen Tests erzielte die Trauma-Gruppe im Vergleich zur Sham-Gruppe schlechtere Ergebnisse. Sowohl im NSS (NN: $0,5000 \pm 0,5000$ vs. TN: $6,800 \pm 0,9695$; $p=0,0179$; *), als auch in der BBT (NN: $117,3 \pm 36,93$ vs. TN: $19,80 \pm 7,677$; $p=0,02$; *) unterschieden sich diese signifikant.

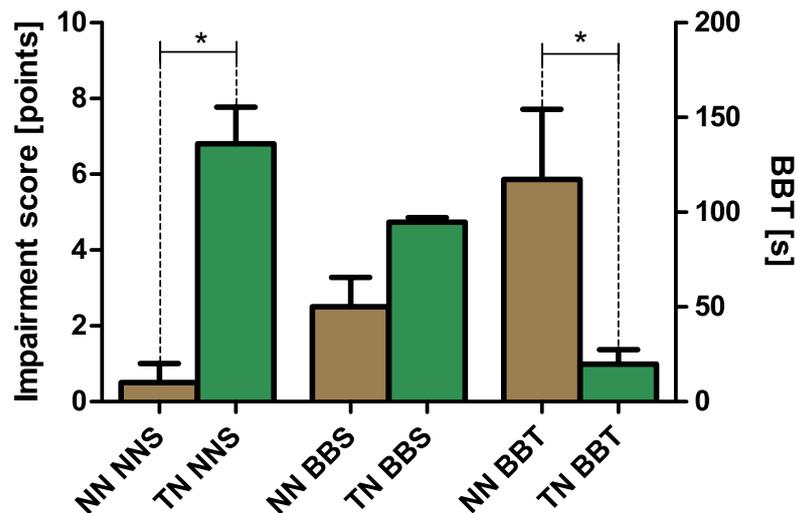


Abbildung 8: Vergleich der funktionellen Untersuchungsergebnisse zwischen Sham- und Trauma-Gruppe

Im isolierten Vergleich der Trauma-Gruppen erzielte die Gruppe, welche eine große Kraniektomie erhielt (TCL), in allen funktionellen Tests das beste Ergebnis. Im NNS und BBS schnitt die Gruppe TCS als zweitbestes ab, am schlechtesten war die Trauma-Gruppe. In der BBT hingegen erzielte die Trauma-Gruppe TN nach der Gruppe TCL das zweitbeste Ergebnis, die Gruppe TCS schnitt am schlechtesten ab.

Die Tiere, die nach initialem Trauma groß kraniektomiert wurden, schnitten im Vergleich zur reinen Trauma-Gruppe im BBS (TCL: $2,500 \pm 0,51$ vs. TN: $4,733 \pm 0,12$; $p=0,01$; *) signifikant besser ab. Jedoch erzielte in keinem Test die die klein-kraniektomierte Gruppe TCS signifikant bessere Ergebnisse als die Gruppe TN.

Im direkten Vergleich zwischen TCL und TCS konnte im BBS (TCL: $2,500 \pm 0,51$ vs. TCS: $4,476 \pm 0,37$; $p=0,017$; *) und in der BBT (TCL: $54,67 \pm 20,12$ vs. TCS: $12 \pm 3,57$; $p=0,0452$; *) ein signifikanter Unterschied ausgemacht werden. Im NNS unterschieden sich diese beiden Gruppen nicht signifikant (TCL: $3,333 \pm 1,05$ vs. TCS: $6,000 \pm 1,15$; $p=0,13$).

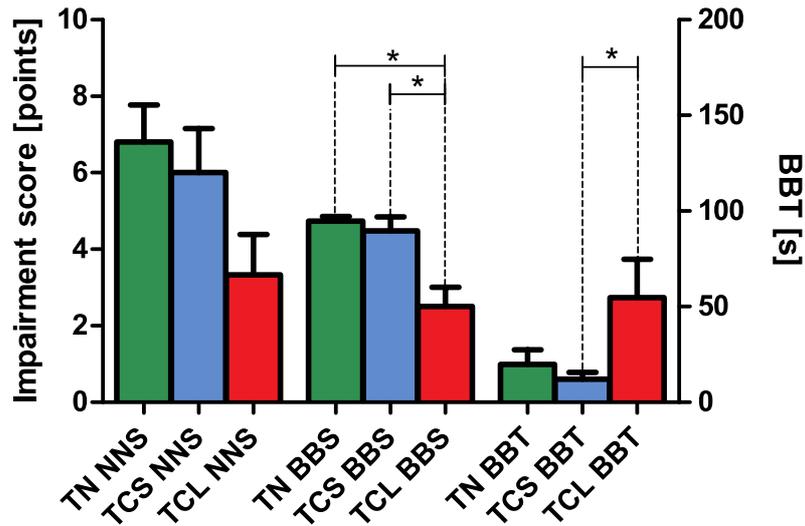


Abbildung 9: Vergleich der funktionellen Untersuchungsergebnisse zwischen den Trauma-Gruppen

Im nächsten Schritt wurde der Einfluss der Kraniektomie ohne vorangegangenes Trauma untersucht. Hier zeigte die Sham-Gruppe in allen Untersuchungen die besten Ergebnisse, gefolgt von der Gruppe NCS. Die Tiere, die eine große Kraniektomie erhielten, schnitten am schlechtesten ab. Ein signifikanter Unterschied ließ sich im Neurological Severity Score zwischen den Gruppen NN und NCS sowie zwischen NN und NCL feststellen (NN: $0,5000 \pm 0,5000$ vs. NCS: $3,333 \pm 0,56$; $p=0,023$; * und NCL: $4,000 \pm 1,29$; $p=0,025$; *).

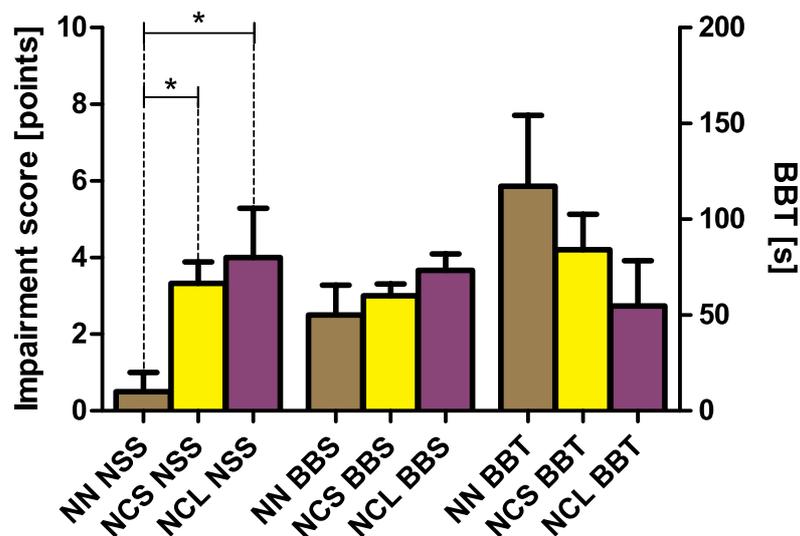


Abbildung 10: Vergleich der funktionellen Untersuchungsergebnisse zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma

4.2 Ergebnisse der histologischen Untersuchung

4.2.1 Qualitative Beurteilung der nach HE und Nissl gefärbten Präparate

Die nach HE und Nissl gefärbten Schnitte wurden einer morphologischen Untersuchung unterzogen. Im Folgenden wurden gewundene Merkmale zwischen den einzelnen Gruppen verglichen. Präparate der Sham-Gruppe NN wurden in einer Übersichtsaufnahme fotografiert. Hierbei zeigte sich im kortikalen Bereich eine hohe Zellkerndichte, was für physiologisch intaktes Gewebe spricht. Auch die Hippocampus-Areale CA1 und CA3 beider Hemisphären präsentierten sich intakt und mit hoher Zellkerndichte.

Sowohl die Präparate traumatisierter Tiere (TN, TCS, TCL), als auch die Präparate von nicht-traumatisierten, kraniektomierten Tieren (NCS, NCL) ließen sich- insbesondere in der der Kraffteinwirkung ausgesetzten, linken Hirnhemisphäre- charakteristische morphologische Veränderungen nachweisen: Es zeigte sich die Zerreißung der kortikalen Kontur, eine Abnahme der neuronalen Zelldichte sowie eine deutliche perineurale Vakuolisierung (**Abb. 12 C+D**). Auch hippocampal konnten eine verminderte Zelldichte, die Schrumpfung neuronaler Perikarya sowie eine ödematöse Gewebeauflockerung beobachtet werden (**Abb. 14**). Dies sind histomorphologische Zeichen eines neuronalen Zelluntergangs und demonstrieren die Auswirkungen des Schädel-Hirn-Traumas auf mikroskopischer Ebene.

Die genannten posttraumatischen Veränderungen fanden sich nicht ausschließlich im Bereich der primären Kraffteinwirkung: auch in tiefer liegenden Hirnstrukturen sowie in der nicht direkt vom Trauma betroffenen, rechten Hemisphäre zeigte sich ein diffuses Schädigungsmuster mit Abnahme von Zellkerndichte, Vakuolisierung, Kernpyknose und perikaryaler Schrumpfung.

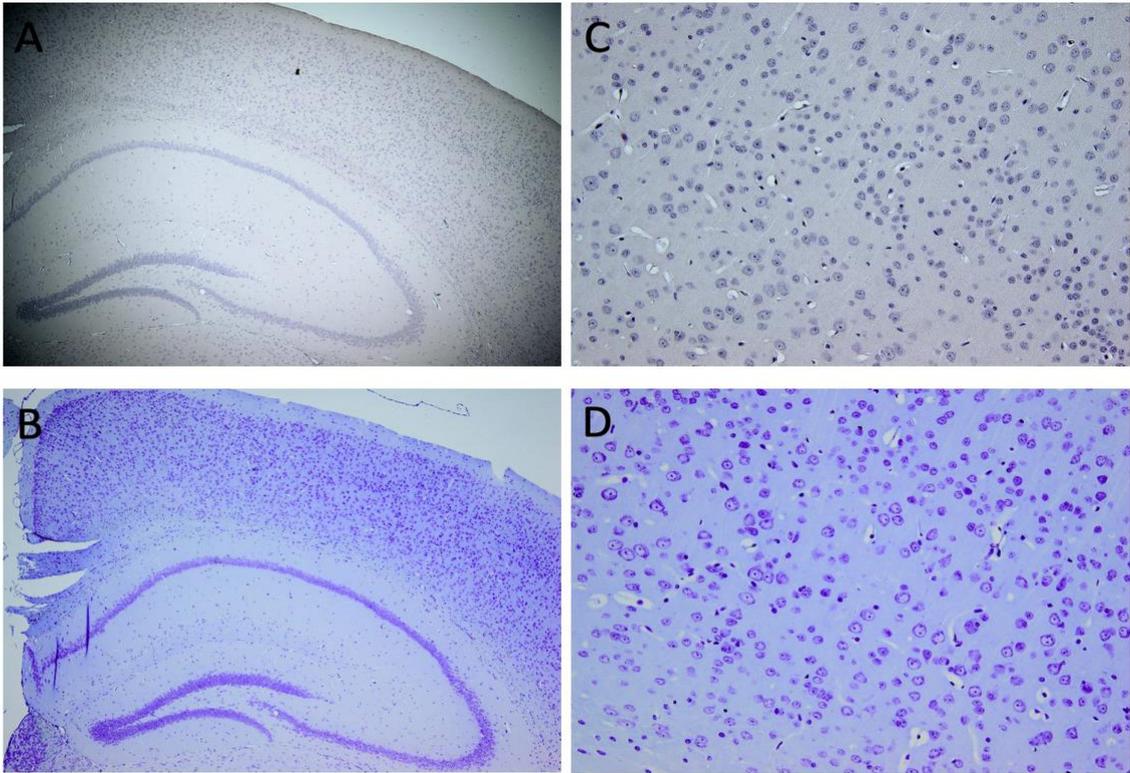


Abbildung 11: Präparate der Gruppe NN: Übersicht (A: HE; B: Nissl) und Kortex (C: HE; D: Nissl) jeweils ipsilateral.

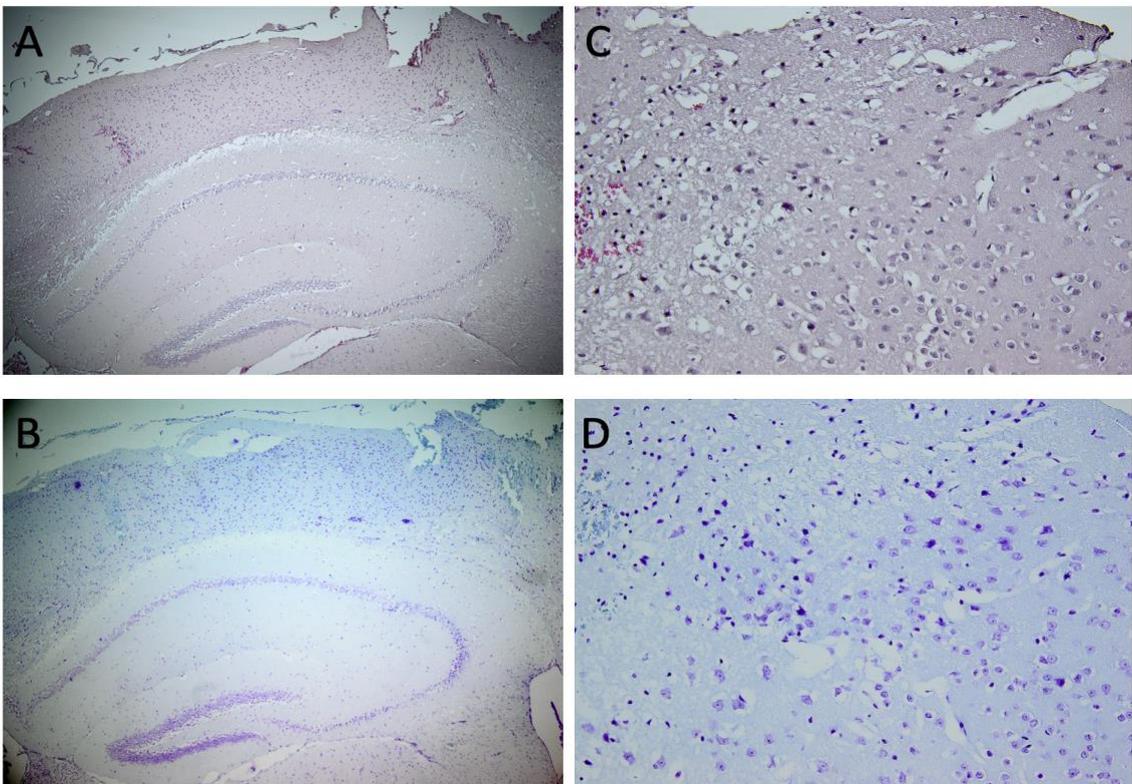


Abbildung 12: Präparate der Gruppe TN: Übersicht (A: HE; B: Nissl) und kortikale Traumazone (C: HE; D: Nissl) jeweils ipsilateral.

4.2.2 Ergebnisse der Färbung nach Nissl

In der statistischen Auswertung der Anzahl nach Nissl angefarbter neuronaler Zellkörper innerhalb der hippocampalen Regionen CA1 und CA3 ließ sich zwischen den verschiedenen Gruppen kein statistisch signifikanter Unterschied ausmachen, weder im isolierten Vergleich der Gruppen via t-Test bei unabhängigen Stichproben, noch im One-Way-ANOVA mit Bonferroni-Korrektur ($p > 0,05$).

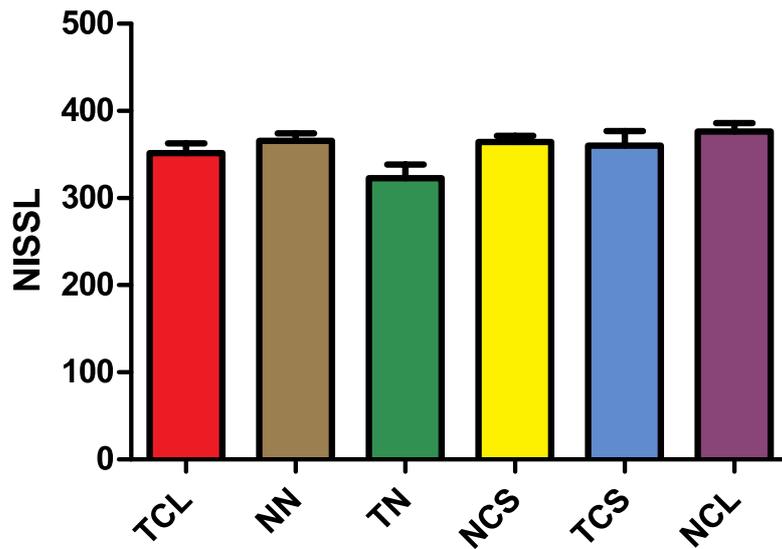


Abbildung 13: Vergleich der mittleren Anzahl nach Nissl angefarbter Zellen zwischen den Gruppen

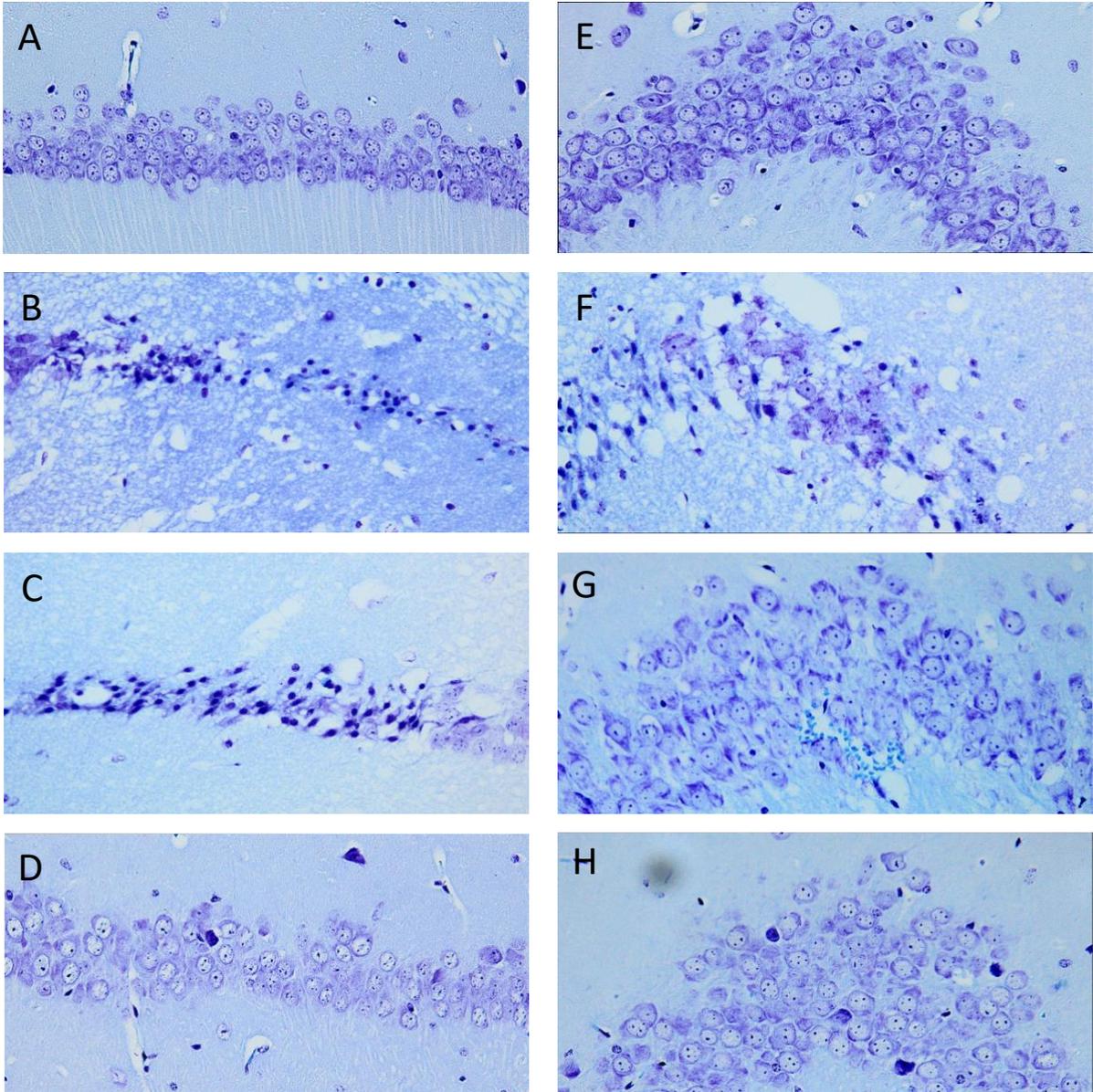


Abbildung 14: Nissl-Färbungen CA1 (A-D) und CA3 (E-H) der Gruppen NN (A+E), TN (B+F), TCS (C+G) und TCL (D+H) mit deutlichem hippocampalen Schädigungsmuster in den Gruppen TN, TCS und TCL

4.2.3 Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse des Ödem-Markers Aquaporin-4

Der Anfärbungsgrad des Antigens Aquaporin-4 (AQP-4), welches als Ödem-Marker dient, differierte zwischen den Gruppen. Die höchste Anfärbung fand sich in der Traumagruppe TN, gefolgt von der Gruppe TCS. Die geringste Anfärbbarkeit wiesen die Präparate der Sham-Gruppe NN auf.

In der isolierten Betrachtung der Gruppen NN und TN ließ sich ein statistisch signifikanter Unterschied ausmachen (NN: $1,250 \pm 0,18$ vs. TN: $2,450 \pm 0,24$; $p=0,036$; *).

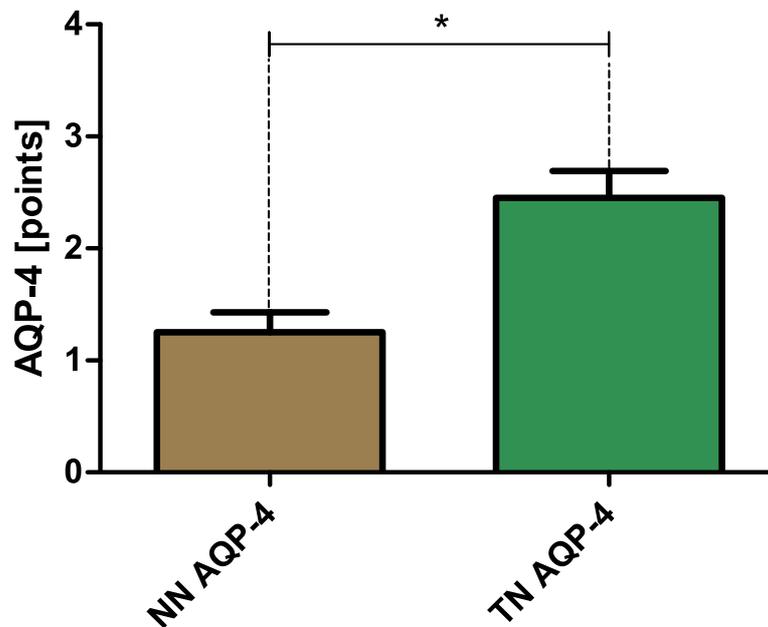


Abbildung 15: Vergleich des mittleren Aquaporin-4-Anfärbungsgrads zwischen Sham- und Trauma-Gruppe

Die Gruppe TCL wies verglichen mit der Trauma-Gruppe TN ebenso eine signifikant niedrigere Anfärbbarkeit auf (TN: $2,450 \pm 0,24$ vs. TCL: $1,500 \pm 0,17$; $p=0,027$; *), die Gruppe TCS hingegen nicht ($p=0,57$). Auch der Vergleich der Gruppen TCS und TCL lieferte keine signifikanten Unterschiede ($p=0,08$).

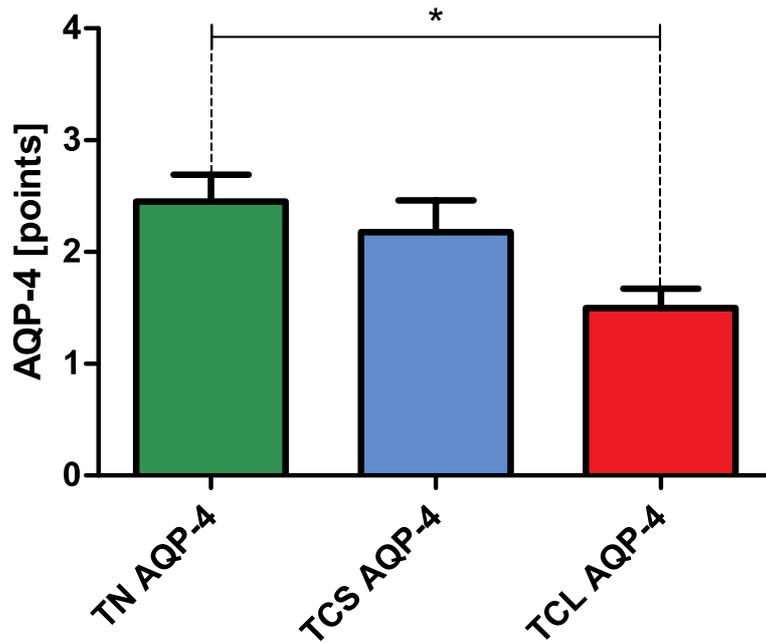


Abbildung 16: Vergleich des mittleren Aquaporin-4-Anfärungsgrads zwischen den Trauma-Gruppen

Die Interventions-Gruppen ohne Trauma unterschieden sich zur Sham-Gruppe nicht signifikant. Den größten Grad der Anfärbung erreichte hier die Gruppe, die eine große Kraniektomie erhielt (NCL: $1,708 \pm 0,17$).

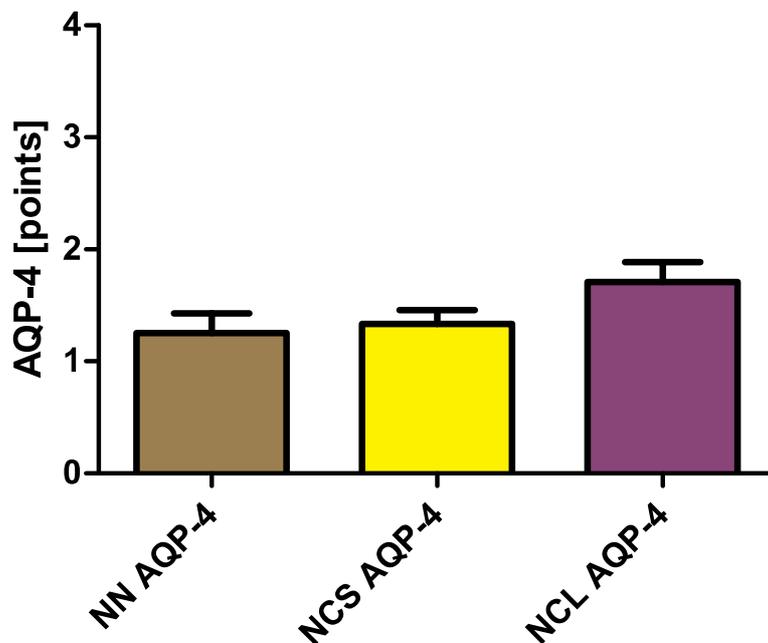


Abbildung 17: Vergleich des mittleren Aquaporin-4-Anfärungsgrads zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma

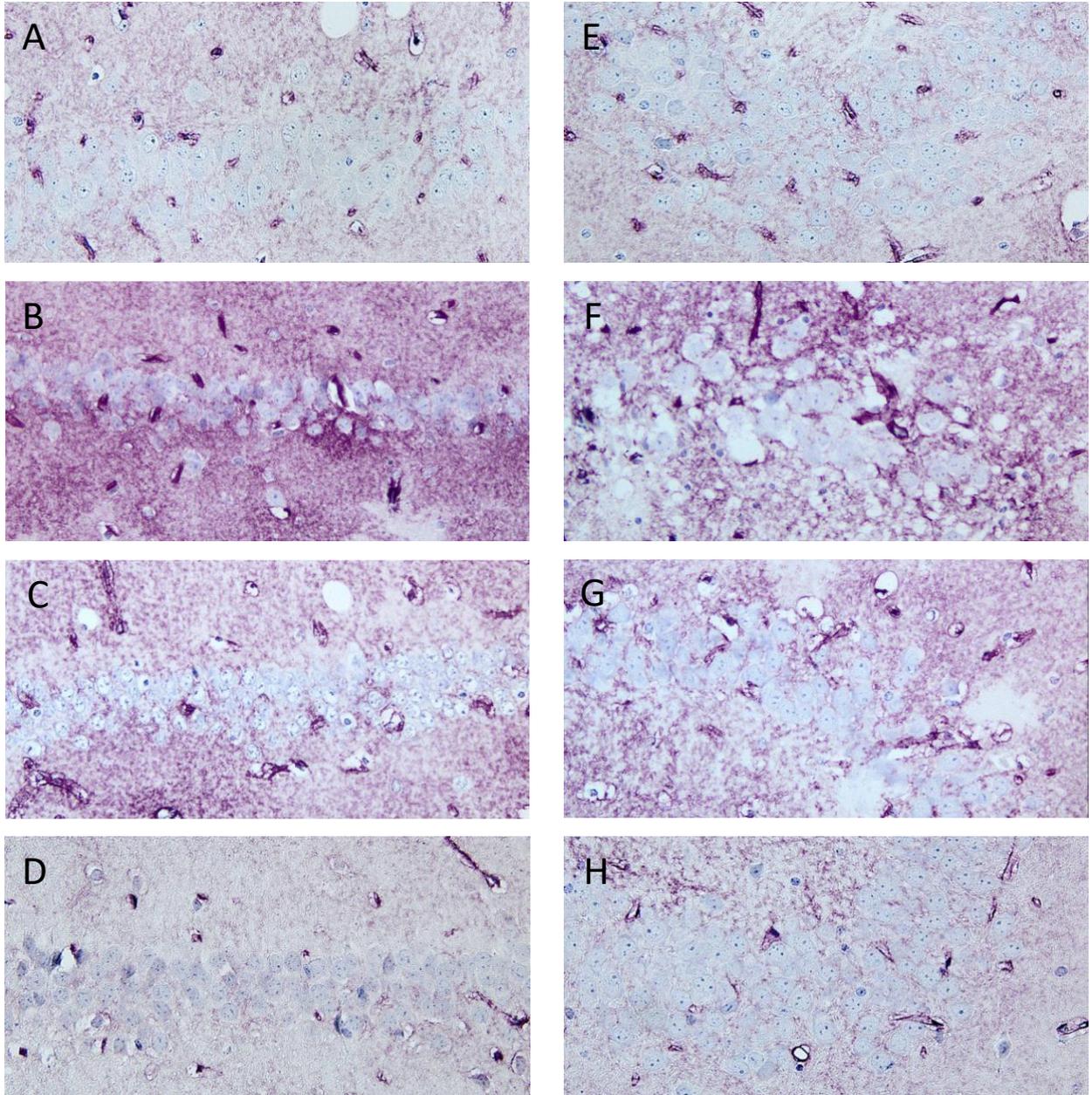


Abbildung 18: Aquaporin-4-Färbungen CA1 (A-D) und CA3 (E-H) der Gruppen NN (A+E), TN (B+F), TCS (C+G) und TCL (D+H) mit deutlich erhöhter Expression in TN und deutlicher Expressions-Reduktion in TCL

4.2.4 Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse des Inflammationsmarkers GFAP

Die Expression des sauren Gliafaserproteins zum Nachweis einer glialen Aktivierung differierte zwischen den Gruppen. Die größte Expression fand sich in der Trauma-Gruppe TN, am niedrigsten war sie in Gruppe NCL.

Im isolierten Vergleich zur Kontroll-Gruppe NN wies die Traumagruppe TN eine signifikant höhere Expression von GFAP auf (NN: $32,50 \pm 8,471$ vs. TN: $148,0 \pm 42,19$; $p=0,0485$; *).

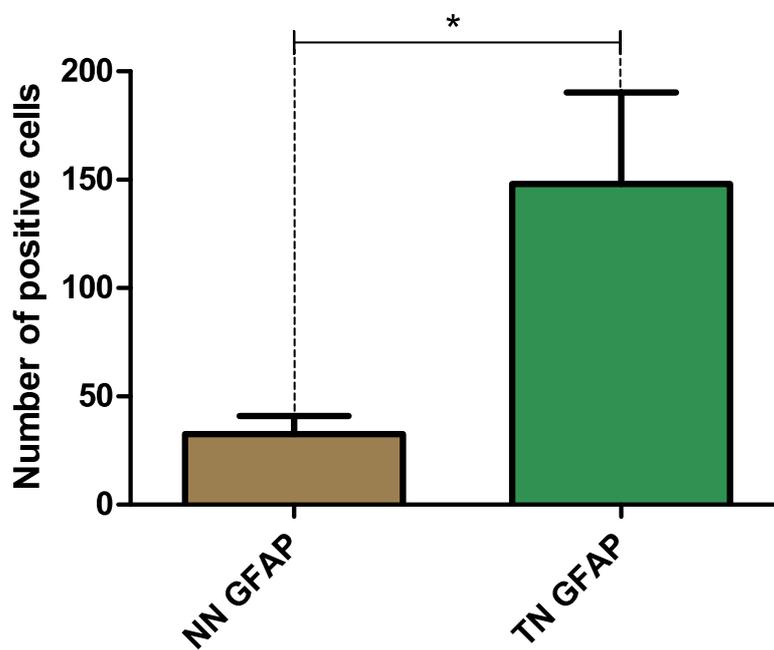


Abbildung 19: Vergleich der mittleren Anzahl GFAP-positiver Zellen zwischen Sham- und Trauma-Gruppe

Im nächsten Schritt wurde die Auswirkung der posttraumatisch durchgeführten Kraniektomien auf die Expression von GFAP untersucht. Hier zeigte sich, verglichen zur reinen Trauma-Gruppe TN, dass sowohl die kleine (TCS: $62,57 \pm 9,51$; $p=0,0425$; *), als auch die große Kraniektomie (TCL: $42,00 \pm 6,319$; $p=0,0229$; *) zu einer signifikanten Reduktion der Expression führte.

Im direkten Vergleich zwischen TCS und TCL ließ sich kein signifikanter Unterschied finden ($p=0,1107$).

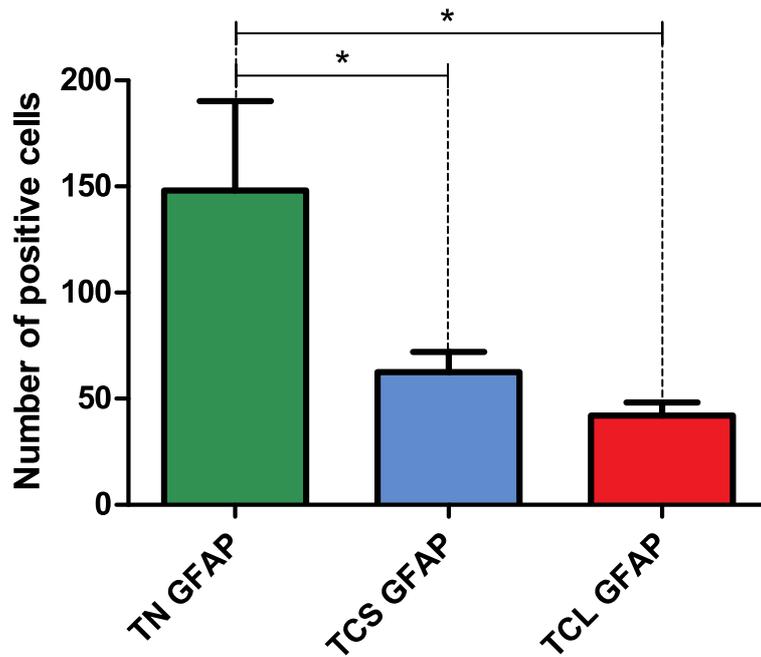


Abbildung 20: Vergleich der mittleren Anzahl GFAP-positiver Zellen zwischen den Trauma-Gruppen

Die Interventions-Gruppen ohne vorangegangenes Trauma unterschieden sich in der hippocampalen Expression von GFAP. Die höchste Expression wurde in NCS ($45,50 \pm 3,117$) festgestellt, die niedrigste in NCL ($25,33 \pm 6,931$). Der direkte Vergleich dieser beiden Gruppen offenbarte einen statistisch signifikanten Unterschied ($p=0,0242$), die Gruppe NN unterschied sich zu diesen Gruppen nicht signifikant (NN vs. NCS: $p=0,1319$; NN vs. NCL: $p=0,5312$).

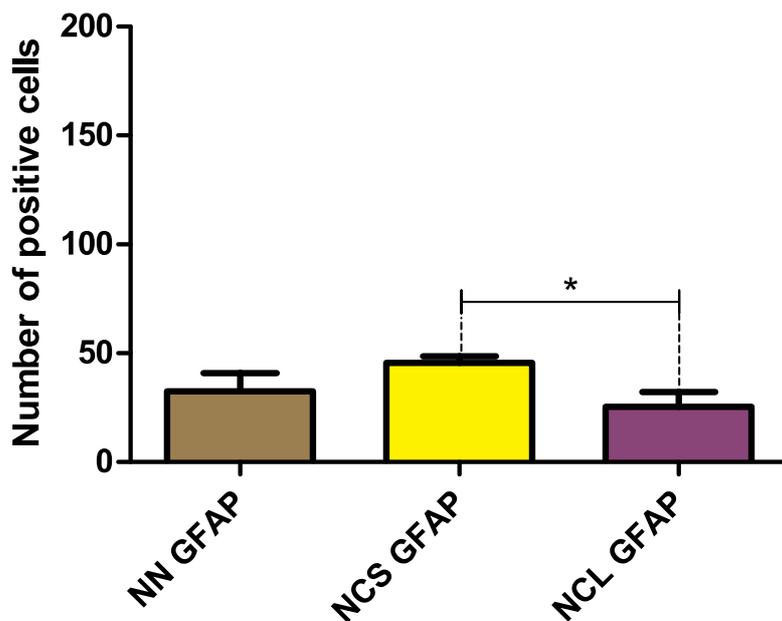


Abbildung 21: Vergleich der mittleren Anzahl GFAP-positiver Zellen zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma

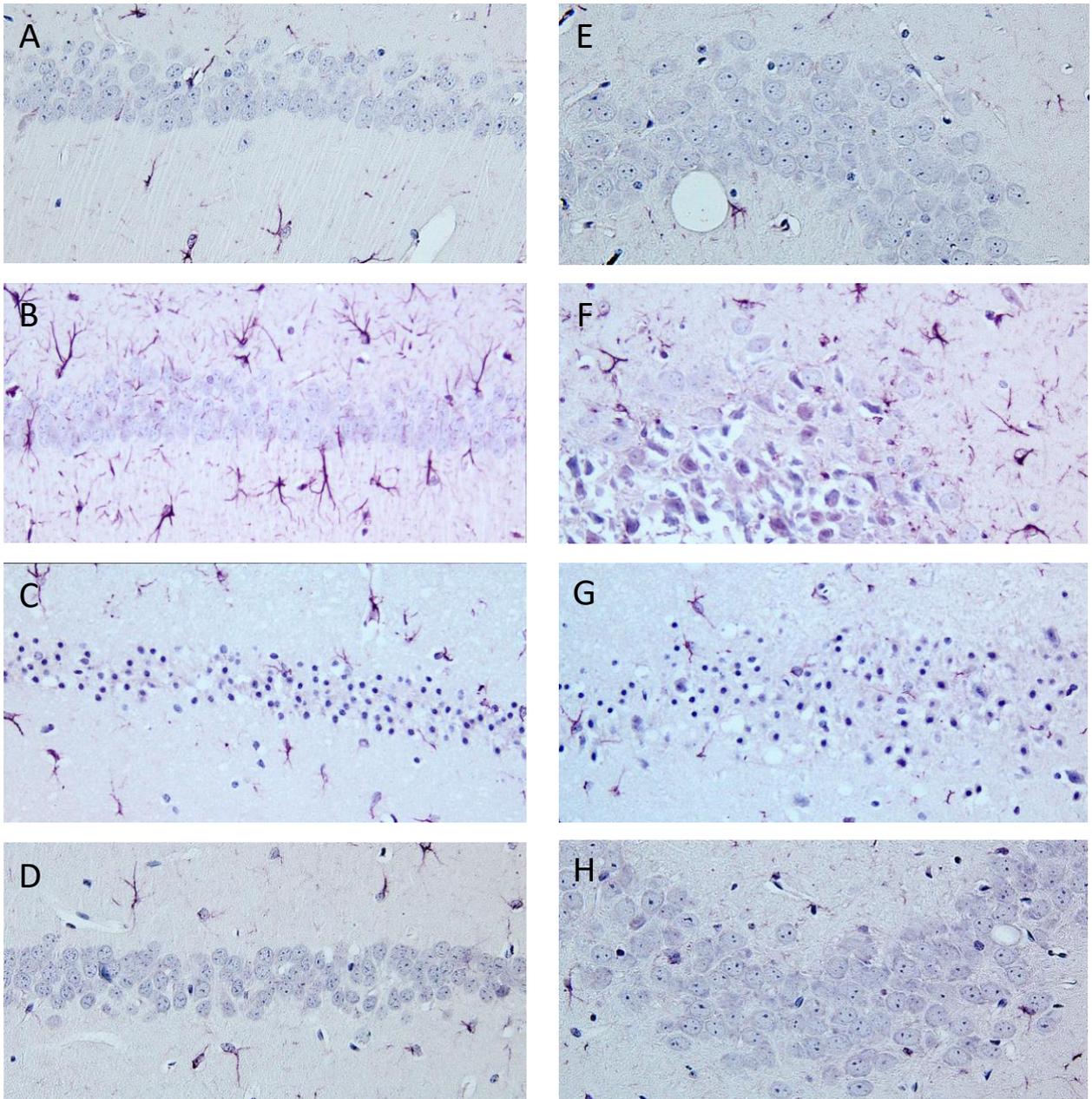


Abbildung 22: GFAP-Färbungen CA1 (A-D) und CA3 (E-H) der Gruppen NN (A+E), TN (B+F), TCS (C+G) und TCL (D+H) mit deutlich erhöhter Expression in TN und deutlicher Expressions-Reduktion in TCS und TCL

4.2.5 Ergebnisse der immunhistochemischen Analyse der Apoptose-Marker

Die Apoptose-Marker Bax, Bcl-2 und Caspase-3 waren in den verschiedenen Gruppen unterschiedlich stark exprimiert. Im Vergleich zur Sham-Gruppe NN waren all diese Marker in der Trauma-Gruppe TN vermehrt nachweisbar. Während die Bax- und Bcl-2-Expression sich zwischen diesen Gruppen nicht signifikant unterschied (Bax NN: $47,00 \pm 15,60$ vs. TN: $85,60 \pm 9,553$; $p=0,0628$; Bcl-2 NN: $86,25 \pm 22,97$ vs. TN: $101,0 \pm 23,21$; $p=0,67$), so stellte sich in der Caspase-3-Expression ein signifikanter Unterschied dar (NN: $45,50 \pm 10,81$ vs. TN: $156,4 \pm 38,73$; $p=0,0429$; *).

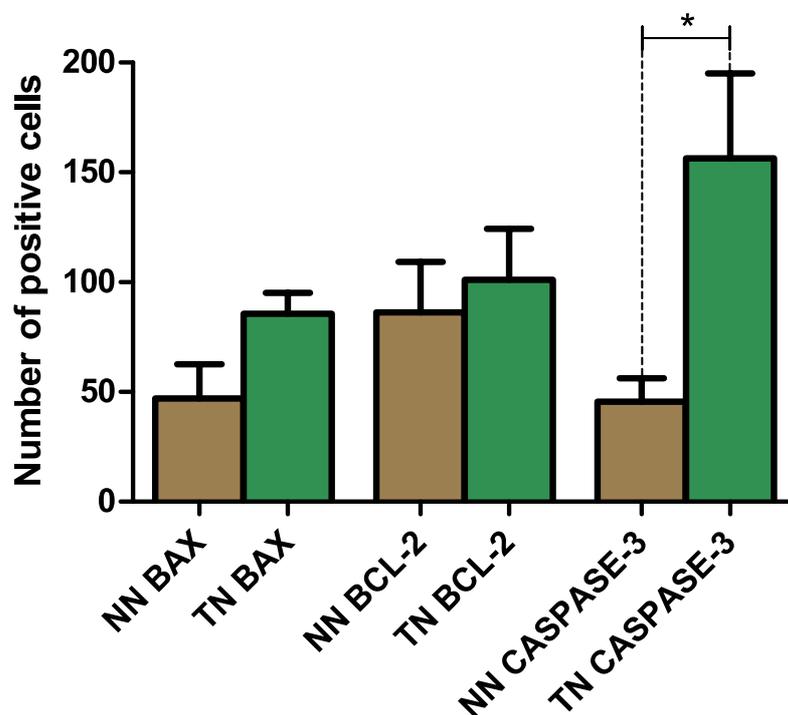


Abbildung 23: Vergleich der mittleren Anzahl der Apoptose-Marker zwischen Sham- und Trauma-Gruppe

Die posttraumatisch kraniektomierten Tiere zeigten gegenüber der reinen Trauma-Gruppe TN eine Reduktion der Apoptose-Marker. Die Gruppe, die eine große Kraniektomie erhielt, wies im direkten Vergleich zur Gruppe TN eine signifikant niedrigere Expression von Bax (TN: $85,60 \pm 9,553$ vs. TCL: $38,50 \pm 12,28$; $p=0,0168$; *) und Caspase-3 (TN: $156,4 \pm$ vs. TCL: $70,50 \pm 13,11$; $p=0,0494$; *) auf. Die Unterschiede in Bezug auf die Bcl-2-Expression waren im Vergleich dieser Gruppen nicht signifikant ($p=0,1453$).

Auch die posttraumatisch klein kraniektomierte Gruppe TCS wies verglichen mit der Gruppe TN eine Reduktion der untersuchten Apoptose-Marker auf. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant (Bax: $p=0,3308$; Bcl-2: $p=0,3722$; Caspase-3: $p=0,2349$).

Auch der direkte Vergleich zwischen TCS und TCL lieferte keine signifikanten Ergebnisse (Bax: $p=0,2607$; Bcl-2: $p=0,4430$; Caspase-3: $p=0,0986$).

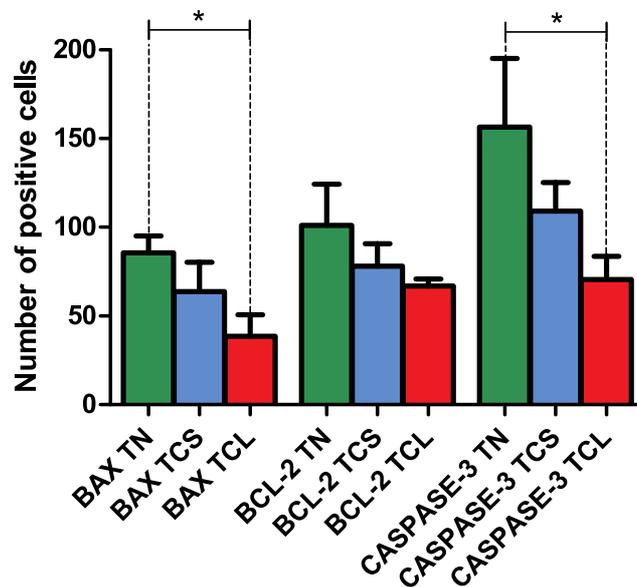


Abbildung 24: Vergleich der mittleren Anzahl der Apoptose-Marker zwischen den Trauma-Gruppen

Die ohne vorangegangenes Trauma kraniektomierten Gruppen zeigten Unterschiede in der Expression der Marker Bax, Bcl-2 und Caspase-3. Die höchste Expression wurde dabei jeweils in der Gruppe NCL nachgewiesen. Weder der jeweilige Vergleich zur Sham-Gruppe NN, noch der Vergleich zwischen der groß- (NCL) und klein- (NCS) kraniektomierten Gruppen lieferte signifikante Unterschiede.

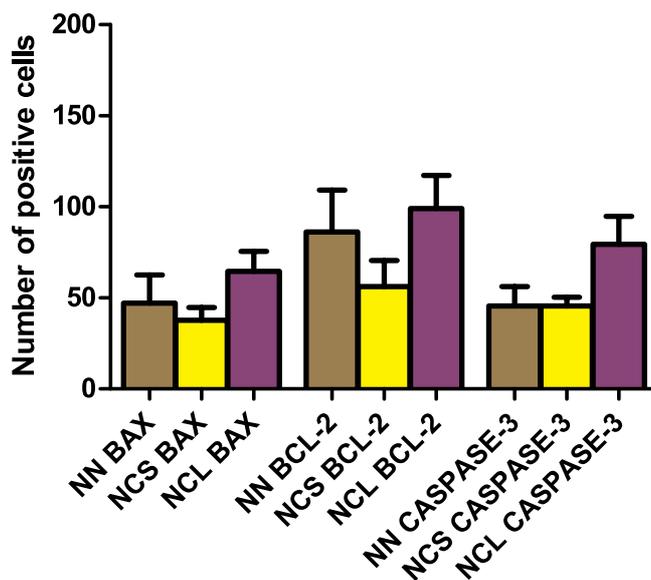


Abbildung 25: Vergleich der mittleren Anzahl der Apoptose-Marker zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma

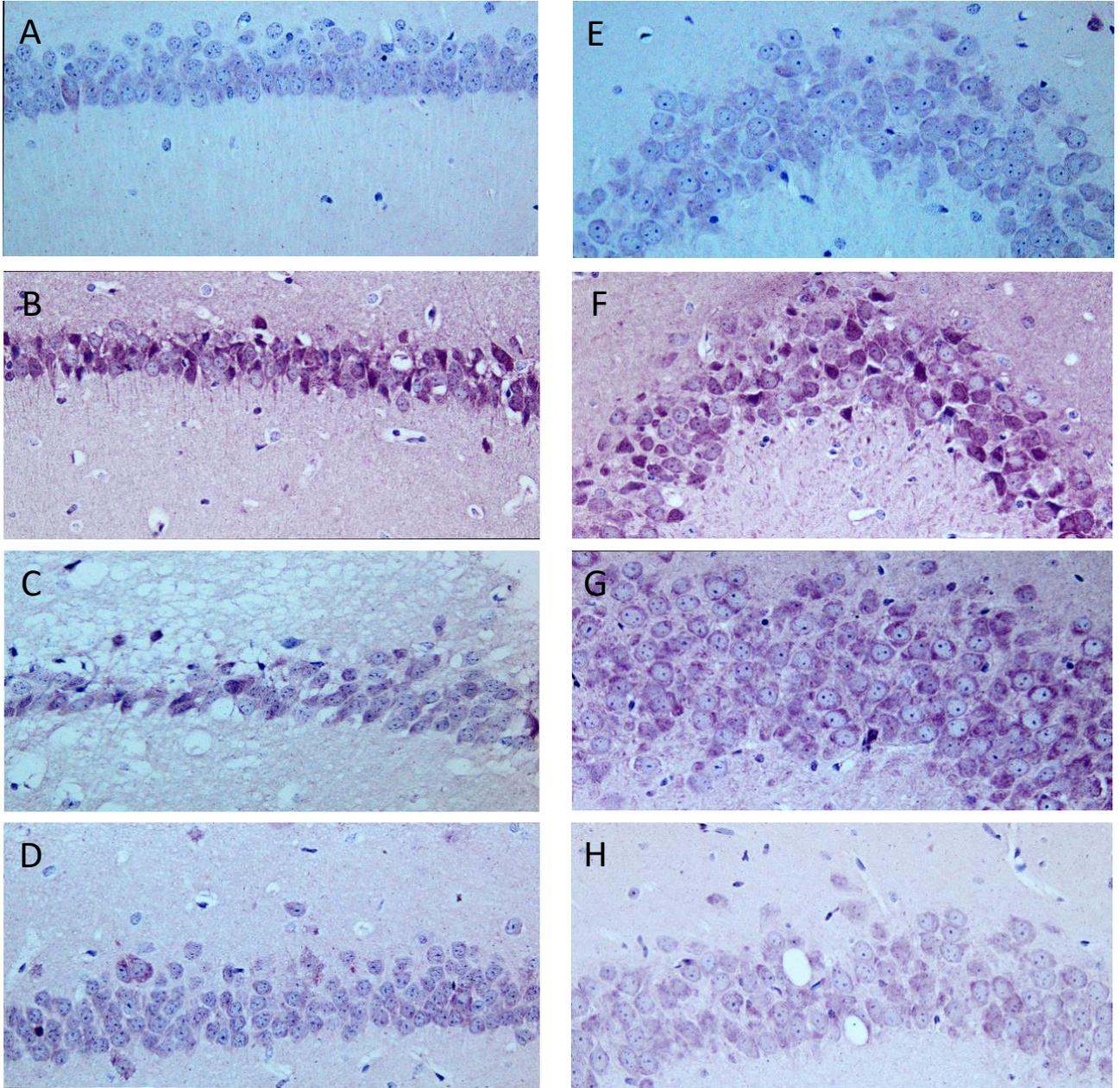


Abbildung 26: Caspase-3-Färbungen CA1 (A-D) und CA3 (E-H) der Gruppen NN (A+E), TN (B+F), TCS (C+G) und TCL (D+H) mit deutlich erhöhter Expression in TN und deutlicher Expressions-Reduktion in TCL

4.3 Mortalität

Die Mortalität unterschied sich innerhalb der verschiedenen Versuchsgruppen. Unmittelbar nach dem Trauma beziehungsweise während der Kraniektomie und im unmittelbaren posttraumatischen Untersuchungszeitraum unter Narkose verstarben insgesamt 57,5% der Versuchstiere. Überlebte das jeweilige Tier bis zur Narkose-Ausleitung, so lebte es in jedem Fall auch bis zur neurologischen Untersuchung. Die postoperative Sterblichkeit lag entsprechend bei 0%.

Die Höchste Sterblichkeitsrate wies die Gruppe TCL (76%) auf, an zweiter Stelle lag die Trauma-Gruppe TN (70,59%). Die Mortalität in der klein-kraniektomierten Trauma-Gruppe TCS lag bei 41,67%. Am geringsten war die Mortalität mit jeweils 33,33% in den Gruppen NN und NCS.

4.4 Perioperative Temperaturmessung

Die perioperativ gemessene mittlere Körperkerntemperatur lag bei $37,21 \pm 0,03$ °C, die im M. temporalis gemessene kranielle Temperatur bei durchschnittlich $36,25 \pm 0,12$ °C. Sie unterschied sich zwischen den Gruppen nicht ($p > 0,05$). Ein Einfluss fokaler Temperaturwirkung auf das Hirn kann somit als unwahrscheinlich erachtet werden.

4.5 Perioperative intrakranielle Druckmessung

Die Ergebnisse der perioperativen Hirndruck-Messung sind nicht Gegenstand dieser Arbeit und werden im Rahmen eines weiteren Projekts präsentiert.

4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Posttraumatisch offenbarte sich in allen funktionellen Testungen ein reduziertes Ergebnis. Die posttraumatische Durchführung einer Entlastungskraniektomie resultierte zwar in einer funktionellen Verbesserung, allerdings erzielte nur die groß-kraniektomierte Gruppe signifikant bessere Ergebnisse im BBS. Im direkten Vergleich schnitt die groß-kraniektomierte Gruppe in den Testungen BBS und BBT signifikant besser ab als die klein-kraniektomierte Vergleichsgruppe.

Nach Durchführung einer Kraniektomie ohne vorangegangenes Trauma schnitten sowohl die klein- als auch die groß-kraniektomierten Tiere im Vergleich zur Sham-Gruppe NN signifikant schlechter ab.

Die Folgen des Traumas waren in histologischen Übersichtspräparaten sowohl ipsi- als auch kontralateral erkennbar. Hinsichtlich der Anzahl hippocampaler Perikarya ließ zwischen den Versuchsgruppen kein signifikanter Unterschied auszumachen.

Die Expression des Ödem-Markers Aquaporin-4 erwies sich in der Trauma-Gruppe TN gegenüber der Sham-Vergleichsgruppe als signifikant gesteigert. Die Tiere, die posttraumatisch einer großen dekompensativen Kraniektomie unterzogen wurden, wiesen eine signifikant reduzierte Expression dieses Markers auf, klein-kraniektomierte Tiere hingegen nicht.

Die GFAP-Expression war posttraumatisch signifikant erhöht. Die Durchführung sowohl der kleinen, als auch der großen Entlastungskraniektomie führte zu signifikanter Reduktion der Expression.

Die Expression der Apoptose-Marker Bax, Bcl-2 und Caspase-3 zeigte sich im Vergleich zwischen Sham- und Trauma-Tieren gesteigert, die Caspase-3-Expression sogar auf Signifikanz-Niveau. Die posttraumatisch einer großen Kraniektomie unterzogenen Tiere wiesen eine signifikante Reduktion der pro-apoptischen Marker Bax und Caspase-3 auf, die klein-kraniektomierten Tiere nicht.

Die Durchführung der Trepanation ohne vorangegangenes Trauma beeinflusste lediglich die GFAP-Expression im Vergleich zwischen NCS und NCL, wobei die Expression in NCL signifikant geringer war als in der Vergleichsgruppe NCS. Die restlichen untersuchten Marker blieben von der Durchführung des Eingriffes selbst unbeeinflusst.

Die höchste Mortalitätsrate fand sich in der Gruppe TCL, gefolgt von der reinen Trauma-Gruppe TN. Die niedrigste Sterblichkeitsrate wurde in den Gruppen NN und NCS beobachtet.

5. Diskussion

In diesem Teil der Arbeit evaluieren wir zunächst die verwendete Versuchsmethodik, ehe wir dann das histomorphologische Schädigungsmuster, die Ergebnisse der funktionellen Testungen sowie der immunhistochemischen Färbungen in den Kontext vorangegangener Arbeiten und anderer aktueller Literatur einordnen. Zuletzt wird die dekompressive Kraniektomie sowie der Einfluss verschiedener Dekompressionsgrößen diskutiert, um dann letztendlich die Kernaussage der Arbeit formulieren zu können.

5.1 Verwendete Methodik

Das von uns gewählte Narkoseverfahren via Zufuhr von Isofluran-angereichertem Sauerstoff zählt zu den gebräuchlichsten Anästhesieverfahren in der tierexperimentellen Forschung. Der Hauptvorteil liegt hierbei in der guten Steuerbarkeit. Bewirkt wird diese durch eine niedrige Blut-, bei gleichzeitig hoher Lipidlöslichkeit des Medikaments. Ein schnelles zerebrales Anfluten bei gleichzeitig rascher Abatmung sind die Konsequenzen. Somit ist eine kurze pharmakologische Wirkdauer gegeben, welche die schnelle, individuelle Anpassung an die jeweiligen Bedürfnisse des Tieres ermöglicht [43]. Durch Atemfrequenzkontrollen wurde die benötigte Narkosemenge intraoperativ regelmäßig neu re-evaluiert und entsprechend angepasst.

Durch eine angestrebte mittlere Sedierungstiefe sollte ein etwaiger negativer Effekt auf das neuronale Überleben sowie ein atemdepressiver Effekt vermieden werden [47].

Trotz all dieser Maßnahmen verstarb ein nicht unerheblicher Anteil der Versuchstiere im Laufe der Narkose, selbst ohne vorangegangenes Trauma beziehungsweise ohne Kraniektomie. Dies wirft die Frage auf, ob die lange Narkoseführung bei gleichzeitiger Bauchlage eventuell zum Kollaps der Atemwege der Versuchstiere führt. Die entsprechende Hypothese wäre denkbar, da ein Versterben der Versuchstiere häufig erst im Verlauf nach Trauma beziehungsweise Kraniektomie, doch noch während der Narkose beobachtet werden konnte. Weitere Versuche an intubierten Mäusen könnten sich dieser Fragestellung widmen.

Zur Vermeidung eines systemischen Fehlers wurden die Versuchstiere in die verschiedenen Versuchsgruppen randomisiert. Die im intraoperativen Verlauf erhobenen Kopftemperaturen schlossen einen fokalen Temperatureinfluss aus. Der operative Versuchsabschnitt selbst erfolgte standardisiert, die postoperative Erhebung von NNS, BBS und BBT sowie die histologische Aufbereitung erfolgten standardisiert und verblindet [42,104].

Es existieren verschiedene Modelle zur Erzeugung eines Schädel-Hirn-Traumas im Kleintiermodell. Verglichen mit dem in dieser Arbeit genutzten *weight drop impact*-Modell nach Chen et al. weisen diese jedoch spezifische Besonderheiten auf [18].

Während bei der von uns angewandten Methode der Schädel primär geschlossen bleibt, ist in Modellen wie dem *fluid percussion*- sowie dem *controlled cortical impact*-Modell eine vorherige Eröffnung des Schädels vonnöten [35,71,123,124].

Das von uns verwendete Modell sowie das *controlled cortical impact*-Modell rufen ein eher diffuses Schädigungsmuster hervor, im *fluid percussion*-Modell zeigt sich das Verletzungsmuster mehr gemischt fokal-diffus.

Außerdem lässt sich eine primäre Hirnschädigung im Modell durch die Anwendung von Erfrierung oder dem Beibringen einer Stichwunde am freiliegenden Hirn generieren. Da sich hierbei ein eher fokales Schädigungsmuster ergibt, eignen sich diese Modelle eher für spezifischere Fragestellungen, während das von uns verwendete Modell am ehesten das Verletzungsmuster Schädel-Hirn-traumatisierter Patienten simuliert.

Weiterhin entschieden wir uns für das *weight drop impact*-Modell, da auch die Entstehung der Verletzung möglichst realitätsnah ist. Der geschlossene Schädel puffert hierbei einen Teil der einwirkenden Kraft ab und begrenzt die Ausbreitungsmöglichkeiten des anschwellenden Gehirns bis zum Zeitpunkt der Operation. Da wir den Operationszeitpunkt auf eine Stunde nach Trauma festlegten, wurde so der Ablauf der Rettungskaskade bis zur Ankunft des Patienten im OP realitätsnah simuliert. Das Hirn hatte in dieser Zeit keine Gelegenheit über seine eigentliche anatomische Begrenzung anzuschwellen, was in Modellen mit prätraumatischer Schädelöffnung der Fall gewesen wäre. Ebenso konnten so möglichst realitätsnahe pathophysiologische Prozesse in der Gruppe TN realisiert werden. Wäre eine prätraumatische Schädelöffnung vonnöten gewesen, so hätte das Hirn eine Ausdehnungsmöglichkeit gehabt. Durch die komplett geschlossene Schädeldecke wurde ein solch möglicherweise ergebnisverfälschender Faktor ausgeschlossen.

Ein weiterer Vorteil des *weight drop impact*-Modells liegt in der einfachen Durchführbarkeit. Die Betätigung eines Hebels löste den Fall des Gewichtes aus, wodurch das Trauma innerhalb weniger Sekunden generiert werden konnte. Da eine solch plötzliche Krafteinwirkung der Entstehung eines SHT auch beim Menschen zugrunde liegt, ist ein weiterer vergleichbarer Aspekt in unserem Tiermodell gegeben [103].

Die Fallhöhe und das verwendete Gewicht im gewählten Traumamodell haben Einfluss auf die Schwere des SHT und somit auch auf die Art des histologischen Schädigungsmusters. Während das Schädigungsmuster bei geringer Fallhöhe und somit eher leichter Intensität des SHT eher diffus verteilt war, ging eine größer gewählte Fallhöhe mit einem starken SHT und einer eher fokalen Schädigung einher [42].

Das für unsere Fragestellung relevante, eher fokale Schädigungsmuster wurde durch die Wahl eines Gewichts von 75 g sowie einer Fallhöhe von 30 cm gewährleistet. Diese Variablen wurden auch in Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe angewandt [99,103,105].

Das vorwiegend fokale Schädigungsmuster bei primär ungeöffnetem Schädel und die gleichzeitig auch diffuse Hirnschädigung eigneten sich hierbei besonders für unsere Fragestellung. Einerseits kann hiermit der fokale Effekt der verschiedenen Kraniektomie-Größen beleuchtet werden, zum anderen konnte man beobachten, wie sich diese Therapieoptionen auf das diffuse Schädigungsmuster auch in trauma-fernen Regionen auswirken.

Der erzeugte diffuse Hirnschaden ist dabei auch der Einflussfaktor, der beim verunfallten Menschen die Therapie des SHT verkompliziert.

Die Vergleichbarkeit der durch unser Modell hervorgerufenen Schädigungsmuster mit denen menschlicher Schädel-Hirn-Verletzter konnte auch durch posttraumatisch durchgeführte MRT-Aufnahmen verifiziert werden. Hierbei konnten- ähnlich wie beim Menschen- posttraumatische Kontusionen sowohl in der unmittelbaren Trauma-Region, als auch in Trauma-fernen, tieferen Hirnregionen nachgewiesen werden. Auch frühe posttraumatische Hämorrhagien und Ödemformationen wurden mittels MRT dargestellt und einer Auswertung zugänglich gemacht [102,103].

5.2 Histomorphologisches Schädigungsmuster

Das durch das verwendete Traumamodell entstehende histomorphologische Schädigungsmuster wird von Chen et al. als überwiegend fokal, den zerebralen Kortex betreffend, beschrieben. Zusätzlich lässt sich auch eine diffuse Hirnschädigung beschreiben, die selbst in traumafernen Hirnregionen zu finden ist [18]. Auch andere Arbeitsgruppen beschrieben diese Art der diffusen Hirnschädigung, auch in den in dieser Arbeit betrachteten Hippocampus-Arealen ipsi- und kontralateral des eigentlichen Traumas [2,18,106].

Die Auswertung unserer histologischen Präparate zeigte, genau wie schon andere Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe, ebendieses charakteristische Schädigungsmuster, was für reproduzierbare Ergebnisse sowohl unserer Gruppe als auch des Traumamodells im gesamten spricht [99,104,105].

Ein signifikanter kortikaler Neuronenverlust, wie Chen et al. ihn beschrieben, konnte jedoch weder in der vorliegenden Arbeit, noch in den Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe reproduziert werden. Die Ergebnisse unserer Projekte innerhalb der Arbeitsgruppe lassen sich somit jedoch nochmals besser miteinander vergleichen.

Als ursächlich für den Neuronenverlust nach SHT konnte die direkte, mechanische Wirkung des Traumas (fokal), sowie Nekrose- und Apoptose-Vorgänge als dessen Folge (diffus, in traumafernen Arealen) als ursächlich nachgewiesen werden [18,42,86,94]. Als Apoptose-Marker ließen sich eine erhöhte TUNEL-Expression sowie die gesteigerte Expression der proapoptischen Proteine Bax und Bid herausarbeiten. Ebenso konnte das im Apoptose-Prozess zentrale Protein Caspase-3 angefärbt und dessen erhöhte Expression in apoptotischen Zellen nachgewiesen werden [15,22,55,84,86].

Als anti-apoptischer Marker ließ sich das Protein Bcl-2 identifizieren. In Arealen mit erhöhten Apoptose-Raten wurde es vermindert exprimiert, während es in Regionen mit höheren Raten an überlebenden Neuronen vermehrt nachgewiesen werden konnte. [25,58,83,85].

Anlehnend an diese Ergebnisse konnten auch wir eine posttraumatische Erhöhung dieser Apoptose-Marker feststellen. Eine statistisch signifikant erhöhte Expression wiesen wir beim Marker Caspase-3 nach und nehmen an, dass er durch seine zentrale Rolle im Apoptose-Prozess der sensitivste Marker zu einem solch frühen Erhebungszeitpunkt nach Trauma ist. Die Expression der Marker Bax und Bcl-2 könnte erst zu einem späteren Zeitpunkt als dem Untersuchungszeitraum von 24 Stunden nach Trauma auf ein signifikantes Level ansteigen. Wennersten et al. beschrieben, dass eine statistisch signifikante Hochregulation von Bax sechs Tage nach Trauma und von Bcl-2 sogar erst 10 Tage nach Trauma stattfindet [117]. Andere Apoptose-Prozesse, welche weitestgehend auch in der finalen Caspase-Kette münden, könnten die signifikante Erhöhung von Caspase-3 (bei gleichzeitig noch nicht signifikanter Bax-Erhöhung beziehungsweise Bcl-2-Senkung) erklären [15,17,22,55,84,86,98,122].

Vorangegangene Arbeiten sowohl unserer Arbeitsgruppe als auch anderer Gruppen, die sich dem *weight drop impact*-Modell bedienten, konnten eine posttraumatische Hochregulation aktivierter Astrozyten als Immunantwort nach SHT nachweisen [3,86,90]. Auch wir konnten in diesem Projekt die posttraumatische Akkumulation aktivierter Astrozyten nachweisen- auch hier in einem gemischt fokal-diffusem Muster. Einerseits fand sich eine Akkumulation in den direkt vom Trauma betroffenen Hirnregionen, andererseits auch in tieferen und auch kontralateralen Hirnregionen. Dies bestätigt wieder das Vorliegen des gewollten, gemischt fokal-diffusen Schädigungsmusters nach Anwenden der *weight drop impact*-Methode in der vorliegenden Arbeit [18,42].

Posttraumatische Ödem-Formationen lassen sich durch Anfärbung des ubiquitär auf Astrozytenfortsätzen vorkommenden Wasserkanals Aquaporin-4 nachweisen. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass dieser posttraumatisch überexprimiert

wird und mit der Entstehung von Ödem-Formationen in Verbindung gebracht werden kann [48,63,75].

Auch in der vorliegenden Arbeit konnte posttraumatisch eine signifikante Überexpression von Aquaporin-4 beobachtet werden. Dies spricht für das zusätzliche Vorhandensein einer Hirnödeme-Formation, ähnlich wie sie beim Menschen posttraumatisch zu finden ist und verifiziert den realitätsnahen, humanen Bezug unseres Trauma-Modells.

5.3 Scores zur Erhebung des funktionellen Outcomes

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Tests zur Erhebung des Neurological Severity Scores, welcher das funktionelle Outcome der Versuchstiere beschreibt, sind Teilaufgaben des von Chen et al. etablierten NSS nach *weight drop impact* [18]. Der eigentliche NSS besteht aus 25 Teilaufgaben. Der hier verwendete, angepasste Score setzt sich aus lediglich 10 einfach durchführbaren Teilaufgaben zusammen. Hierdurch sollte eine einfachere Durchführbarkeit und ein weniger untersucherabhängiges Ergebnis gewährleistet werden. Der von uns adaptierte Score kam bereits in mehreren Vorarbeiten sowohl unserer, als auch von anderen Arbeitsgruppen zur Anwendung [42,99,101,104,111].

Die zu erwartende und auch in Vorarbeiten beschriebene posttraumatische Verschlechterung im NSS zeigt sich auch in unseren Ergebnissen signifikant [42,111].

Es zeigte sich zudem auch eine Verbesserung des Outcomes nach posttraumatisch durchgeführter Kraniektomie. Hierbei führte die groß angelegte DC zu einem besseren Outcome als die Kleine, jedoch nicht auf Signifikanz-Niveau.

Die alleinige Durchführung einer Kraniektomie (sowohl klein als auch groß) führte zu einer signifikanten Verschlechterung verglichen mit der Sham-Gruppe NN. Hierfür lässt sich das iatrogene, durch die Operation zugefügte Trauma, verantwortlich machen. Mit einem Bohrer wird dabei die Schädeldecke des Tieres abgefräst, was in unserem Modell leider nicht völlig frei von Schäden durchführbar ist. Auch andere Arbeitsgruppen beschrieben solche Ergebnisse nach Durchführung einer DC alleine [24,118].

So kann geschlussfolgert werden, dass eine funktionelle Verschlechterung anhand des NSS nachweisbar wird, sobald eine Kraniektomie durchgeführt wird. Wird Sie allerdings posttraumatisch durchgeführt, so überwiegen die positiven Aspekte (der Dekompression) den negativen Aspekten (dem iatrogenen Trauma). Wird die große Kraniektomie durchgeführt, so wird nach Trauma das beste Outcome erzielt.

Der von unserer Arbeitsgruppe verwendete Beam Balance Score beurteilt, wie sich das Versuchstier für 60 Sekunden auf einer runden Stange hält. Je schlechter der Balance-Akt

war, desto mehr Strafpunkte erhielt das Tier. Hier war eine Verschlechterung des funktionellen Outcomes nach Trauma nachweisbar, jedoch nicht auf einem signifikanten Level.

Auch anhand dieses Scores konnten wir zeigen, dass sich das Outcome nach posttraumatisch durchgeführter Kraniektomie verbessern ließ. Dieses Ergebnis geht mit den Resultaten der Experimente von Zweckberger et al. einher, wobei ebenfalls ein positiver Einfluss dekompressiver Kraniektomien nach Trauma beobachtet wurde [123,124].

Besonders interessant war hierbei, dass die große Kraniektomie das Outcome gegenüber der nicht chirurgisch therapierten Gruppe signifikant verbesserte, die kleine Kraniektomie jedoch nicht. Selbst der direkte Vergleich zwischen der klein- und groß-kraniektomierten Gruppe zeigte, dass die große Kraniektomie signifikant bessere Ergebnisse im BBS erzielte. Die Durchführung der Kraniektomie alleine zeigte keinen signifikanten Einfluss. Die dekompressive Kraniektomie beeinflusst somit die motorischen Fähigkeiten und den Balance-Akt (gemessen am BBS) nach Trauma. Eine mögliche Beeinflussung dieser Fähigkeiten durch das chirurgische Trauma alleine ließ sich nicht nachweisen.

Auch in dieser Untersuchung zeigt sich die größere Kraniektomie der kleineren überlegen. Als Grund ist eine suffizientere Dekompression des anschwellenden Hirngewebes denkbar. Da das chirurgische Trauma in diesem Score wohl keine entscheidende Rolle spielt, überwiegen die Vorteile der größeren Kraniektomie stärker.

Die dritte Untersuchung diente der Erhebung der Beam Balance Time. Diese gab Auskunft darüber, wie lange das Versuchstier auf der Stange balancieren konnte. Maximal konnten dabei 180 Sekunden erreicht werden.

Auch hier zeigte sich die Vermutung bestätigt, dass die Trauma-Tiere ohne chirurgische Therapie verglichen mit den nicht-traumatisierten Tieren signifikant schlechter abschnitten.

Wurde eine Kraniektomie nach Trauma durchgeführt, so verbesserte sich das Ergebnis. Dies spricht erneut für die Vorteile der chirurgischen Therapie und bestätigt somit die Ergebnisse von Zweckberger et al. [123,124].

Bemerkenswert an diesen Ergebnissen ist erneut, dass die Durchführung der großen DC –verglichen mit der Durchführung der kleinen DC- zu einem signifikant besseren Ergebnis führt. Eine denkbare Ursache wäre hier wieder die suffizientere Dekompression und ihr Einfluss auf die Motorik des traumatisierten Versuchstiers.

Der Eingriff ohne vorangegangenes Trauma führte zwar auch gemessen an diesem Score zu einer leichten Verschlechterung des funktionellen Outcomes, jedoch nicht auf Signifikanz-Niveau.

Die positiven Aspekte der chirurgischen Therapie überwiegen nach Trauma also wieder den Negativ-Aspekten der Operation selbst.

Die verwendeten Scores validierten unser Trauma-Modell und demonstrierten ähnliche Ergebnisse wie vorangegangene Studien [42,100,111,123]. Nach Trauma zeigte sich das Outcome der Versuchstiere in allen Scores reduziert, im NSS und in der BBT sogar signifikant. Eine Entlastungskraniektomie verbesserte diese Situation nach Trauma, was ebenfalls den Ergebnissen vorangegangener Studien entspricht [123,124].

Die größer kraniektomierten Tiere erzielte in allen Testungen jedoch das posttraumatisch beste Ergebnis, was sowohl unserer Arbeitshypothese als auch den Ergebnissen der Studien von Qiu et al. und Jiang et al. entspricht [51,82].

5.4 Dekompressive Kraniektomie und der Einfluss ihrer Größe

Der therapeutische Nutzen von Entlastungskraniektomien wird in der Literatur heiß diskutiert. Während experimentelle Arbeiten zunächst einen negativen Einfluss dieser Therapieoption nach SHT nachwies [28,44], so konnten aktuellere Versuche vermehrt positive Effekte der DC auf funktionelles Outcome und posttraumatische Ödemformation demonstrieren [80,110,123,124].

Auch verschiedene klinische Studien konnten einen positiven Einfluss von Entlastungskraniektomien nach SHT zeigen [108,112]. Diskutiert wird dabei die Reduktion intrakraniellen Drucks mit der dadurch folgenden besseren Durchblutung des Hirnparenchyms.

Die multizentrische und randomisierte DECRA-Studie von 2011 offenbarte jedoch ein anderes Bild: Weder das Überleben, noch das neurologische Outcome zeigten sich nach Durchführung einer Kraniektomie verbessert.

Im Gegenteil: Das neurologische Langzeit-Outcome war verglichen mit der nicht-kraniektomierten Gruppe sogar signifikant schlechter [27].

Die im Jahre 2016 veröffentlichte, ebenfalls multizentrisch und randomisiert durchgeführte RESCUEicp-Studie zeigte positive der Entlastungskraniektomie. Bei refraktär erhöhten ICP-Werten führte die Durchführung einer Kraniektomie im Vergleich zur konservativ behandelten Gruppe zu einer um 22 Prozent reduzierten Mortalität.

Verglich man das neurologische Outcome nach 6 und 12 Monaten, so kamen schlechte Outcomes sowie Verbleiben in einem Vegetativ-Status in der Gruppe der kraniektomierten Patienten häufiger vor als in der Vergleichsgruppe ohne Kraniektomie (8,5% vs. 2,1% bzw. 6,2% vs. 1,7% im Vegetativ-Status).

In den Outcome-Kategorien „leichte Behinderung“ beziehungsweise „gute Erholung“ fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen [49].

In anderen klinischen Studien (DESTINY, DESTINY II), die sich mit Entlastungskraniektomien nach malignem Mediainfarkt beschäftigten, hatten die Kraniektomie-Gruppen sowohl signifikant bessere Überlebenswahrscheinlichkeiten als auch bessere funktionelle Outcomes [53,54].

Trotz dieser widersprüchlichen Studienlage ist die dekompressive Kraniektomie nach wie vor die effektivste Methode zur Senkung refraktär erhöhten intrakraniellen Drucks. Da dieser den potenziell tödlichen Verlauf eines Schädel-Hirn-Traumas bedingt, gilt es die Risiken der Operation gegen die Wahrscheinlichkeit eines letalen Verlaufs während konservativer Therapie abzuwägen.

Aktuell empfiehlt die Brain Trauma Foundation daher die Kraniektomie, wenn der ICP über 15 Minuten innerhalb einer Stunde auf über 20 mmHg ansteigt [16,46].

Ebenso wird seit 2020 eine Kraniektomie-Größe von nicht weniger als 12x15 cm beziehungsweise 15 cm im Durchmesser empfohlen, um eine geringere Mortalität und ein besseres neurologisches Outcome zu erreichen [46]. Diese Empfehlung stützt sich auf zwei kleinere, in China durchgeführte Studien aus den Jahren 2005 und 2009 [51,82]. Bei beiden dieser Studien konnte gezeigt werden, dass eine größere Kraniektomie die Mortalität signifikant senkt. Qiu et al. wiesen außerdem nach, dass das Outcome der großkraniektomierten Gruppe signifikant besser war als bei den Patienten, die kleiner kraniektomiert wurden. Dieser positive Aspekt ging jedoch mit einer signifikant höheren Komplikationsrate einher [82].

Um die widersprüchlichen Ergebnisse hinsichtlich der Entlastungskraniektomie selbst und die selbst von der Brain Trauma Foundation kritisierten Studien bezüglich Trepanations-Größe weiter zu untersuchen, entschlossen wir uns zu unserem Projekt [46].

Hierbei untersuchten wir unter kontrollierten Bedingungen (mittels eines sich bereits in Vorversuchen bewährten Modells) den Einfluss von Entlastungskraniektomien einerseits und den Einfluss derer Größen andererseits auf funktionelles Outcome und histologische Merkmale nach Schädel-Hirn-Trauma.

Der Zeitpunkt, zu welchem die Patienten in den großen klinischen Studien (DECRA, RESCUEicp) kraniektomiert wurden, ließ sich auf unser Modell nicht ganz übertragen. Während bei diesen Studien jeweils die Therapieoption der DC- wie von der Brain Trauma Foundation empfohlen- jeweils erst nach Ausschöpfen konservativer Therapiemaßnahmen und weiterhin erhöhten ICP-Werten ergriffen wurde, führten wir unsere Kraniektomie bereits zu einem frühen Zeitpunkt nach Trauma (eine Stunde) durch.

Im Mittel vergingen in der RESCUEicp-Studie 2,2, in der DECRA-Studie sogar 35 Stunden bis OP [27,50].

Die positiven Aspekte einer Kraniektomie, die bereits experimentell gezeigt werden konnten, bezogen sich zumeist auf den sofortigen oder zumindest aber einen frühen Operationszeitpunkt.

Zweckberger et al. zeigten in ihren Experimenten, dass bessere funktionelle Outcomes erreicht werden konnten, wenn eine Kraniektomie in den ersten drei Stunden nach Trauma durchgeführt wurde [123,124].

Dies könnte unsere Ergebnisse bezogen auf funktionelles Outcome erklären, die im Kontrast zu den Ergebnissen der großen klinischen Studien stehen, mit den Resultaten von Zweckberger et al. jedoch harmonieren.

Der von uns gewählte Zeit zwischen Trauma-Applikation sollte die Zeit simulieren, in welcher der verunglückte Mensch geborgen, erstversorgt und transportiert wird, ehe er dann operiert werden kann. Auch in der DECRA-Studie wurde hierfür eine Mindestzeit von einer Stunde angegeben [27].

Diese Zeit ist unserer Meinung nach ideal: Zum einen wird die Zeitdauer der Rettungskette simuliert, zum anderen laufen die pathophysiologischen Prozesse im Hirngewebe zu diesem Zeitpunkt bereits ab. Das Hirn befindet sich zum Operationszeitpunkt in einer vulnerablen Phase und kann durch Interventionen im pathophysiologischen Prozess beeinflusst werden. Außerdem erhofften wir uns zu diesem Zeitpunkt über unsere Drucksonde einen Anstieg des ICP detektieren zu können [68,92,124].

Unsere Ergebnisse des frühen neurologischen Outcomes validierten unser verwendetes Modell: Im Vergleich zur Sham-Gruppe schnitten die traumatisierten Tiere (im NSS und in der BBT sogar signifikant) schlechter ab. Dies war zu erwarten und war notwendig, um einen eventuell positiven Effekt posttraumatisch durchgeführter Kraniektomien überhaupt sehen zu können.

Entsprechend der Ergebnisse von Zweckberger et al. konnten auch wir einen positiven Effekt hinsichtlich funktionellem Outcome erkennen, wenn posttraumatisch eine Kraniektomie durchgeführt wurde [123,124].

Interessanterweise unterschied sich das Outcome je nach durchgeführter Kraniektomie-Größe stark: In allen Testungen schnitten die Tiere, die größer kraniektomiert wurden besser ab als die klein-kraniektomierten Vergleichs-Tiere.

Diese Ergebnisse entsprechen den Resultaten der zwei großen klinischen Studien von Qiu et al. und Jiang et al. [51,82]. Auch sie konnten den überlegenen Effekt größer angelegter Kraniektomien gegenüber einer eher kleineren Trepanation zeigen. Unsere, sowie die Ergebnisse diese beiden Studien sprechen für die Empfehlungen der Brain Trauma

Foundation von 2020, die sich für eine große (nicht unter 12x15 cm beziehungsweise 15 cm im Durchmesser messende) Kraniektomie aussprechen [46].

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Durchführung einer Kraniektomie allein mit einem schlechteren neurologischen Outcome einhergeht. Dieser Effekt wurde bereits in mehreren Vorpublikationen beschrieben [24,102,118].

Es zeigte sich hierbei, dass die größere Kraniektomie selbst zu einer stärkeren funktionellen Beeinträchtigung führte, sowohl verglichen mit der Sham-, als auch mit der klein-kraniektomierten Gruppe. In der Auswertung der Ergebnisse des NSS zeigen sich diese Unterschiede sogar als signifikant.

Es kann also von einem gewissen chirurgischen Trauma ausgegangen werden, welches sich proportional zur Trepanations-Größe verhält: Je größer die Kraniektomie angelegt wird, desto größer ist das iatrogene Trauma und desto schlechter ist das funktionelle Outcome.

Diese Sichtweise spricht für die Ergebnisse der Studien, in welchen der schädigende Effekt von Kraniektomien diskutiert wird [27,50,102].

Allerdings zeigen unsere Ergebnisse, dass die positiven Folgen einer nach Trauma durchgeführten operativen Therapie den negativen Aspekten des chirurgischen Eingriffes selbst überwiegt. Wird die Kraniektomie dann noch groß genug durchgeführt, so erhält man das beste funktionelle Ergebnis- trotz größerem „chirurgischen Trauma“.

Die pathologischen Mechanismen, die nach SHT zum Untergang nicht bereits primär beim Unfallhergang zerstörten Hirngewebes führen, sind noch nicht abschließend geklärt. Dennoch gibt es Wege, posttraumatisch von Apoptose und Ödem bedrohte Hirnareale zu detektieren und den Einfluss von Therapiestrategien zu evaluieren.

Auch wir konnten solche histomorphologischen Veränderungen beobachten und teilweise signifikante Veränderungen feststellen, wenn nach Trauma eine Kraniektomie durchgeführt wurde. Die Trepanations-Größen wirkten sich auch hier in unterschiedlichem Maße aus, wofür wir folgende Erklärungsansätze haben:

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass es posttraumatisch zu einer vermehrten Expression von Aquaporin-4 kommt. Dieser Kanal wird mit dem Entstehen von zerebralen Ödem-Formationen assoziiert. Bereits in Vorarbeiten (auch unserer Arbeitsgruppe) konnte gezeigt werden, dass es posttraumatisch sowohl histo- als auch bildmorphologisch zu einer Zunahme des Hirnödems kommt und dass sich die Aquaporin-4-Expression dazu analog verhält [48,63,75,102,105].

Das auf ein SHT folgende Hirnödem lässt sich als gemischt vasogen und zytotoxisch beschreiben [8,113]. Während das extrazelluläre, vasogene Hirnödem durch eine Störung der

Blut-Hirn-Schranke bedingt wird, führt eine posttraumatisch gestörte zelluläre Glukoseverwertung mit folgender Störung der Na-K-ATPase und dadurch bedingter intrazellulärer Na⁺-Akkumulation zu einem Wassereinstrom nach intrazellulär: dem zytotoxischen Ödem [11,72,97,113].

Diese beiden Ödemformen bedingen sich gegenseitig, allerdings kann sich das vasogene Hirnödem auch unabhängig von einer BHS-Störung bereits zu einem frühen Zeitpunkt nach SHT ausbilden.

Verschiedene Studien zeigten, dass Aquaporin-4 hinsichtlich zytotoxischem Hirnödem ein begünstigender Effekt zugesprochen werden kann beziehungsweise, dass Aquaporin-4-defiziente Tiere einen Vorteil gegenüber Wildtyp-Tieren hatten [114,120,121].

Analog zu verschiedenen anderen Studien konnten auch wir zeigen, dass die Durchführung einer DC mit einer niedrigeren AQP-4 Expression beziehungsweise einer geringeren Ödemformation einhergeht [110,123,124].

Auch hier konnte gezeigt werden, dass lediglich die größere Kraniektomie dazu in der Lage war die Aquaporin-4-Expression um ein signifikantes Niveau zu senken. Die kleine Kraniektomie führte ebenfalls zu einer AQP-4-Reduktion, jedoch weitaus weniger effektiv.

Diese Ergebnisse erklären wir uns durch die potentere Wirkung der größeren Kraniektomie auf intrakraniellen Druck. Durch die größere Trepanationsfläche wird dem posttraumatisch anschwellenden Hirngewebe mehr Platz gegeben, sich über das eigentliche Schädelniveau auszubreiten. Daraus müsste, nach der Monroe-Kellie-Doktrin, ein günstigeres Druck-Volumen-Verhältnis resultieren. Eine verbesserte zerebrale Perfusion ist die Folge, wodurch Ischämie und Nekrose reduziert werden können. Zudem wurde in Vorarbeiten gezeigt, dass das das Hirn an den Trepanationsrändern hernieren kann. Dies führt wiederum zu Minderperfusion und Nekrose. Wird die Kraniektomie also groß genug durchgeführt, so wird die „Einschnürung“ potentiell erhaltbaren Hirngewebes reduziert.

Eine reduzierte Ödembildung sowie ein besseres Outcome sind die zu erwartende Konsequenz [1,60,119]. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden.

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass es posttraumatisch zu inflammatorischen Prozessen im Gehirn kommt [93,118]. Zum einen wird dies durch das Trauma selbst und die damit oft verbundene Eröffnung von Schädel und Dura mater bedingt, zum anderen durch die sich sekundär entwickelnden pathophysiologischen Prozesse von Apoptose, Nekrose und Ödembildung. Auch wir konnten eine posttraumatische Astrozyten-Aktivierung anhand einer gesteigerten GFAP-Expression auf Signifikanz-Niveau nachweisen. Die anschließende Durchführung einer Kraniektomie führte zu einer nachweislichen Reduktion der Expression von GFAP. Sowohl die kleine, als auch die große Kraniektomie zeigten dabei

signifikante Ergebnisse, wobei die Wirkung der größer angelegten Kraniektomie nochmals stärker war.

Dieses Ergebnis erklären wir uns durch die mit der Kraniektomie erreichten Dekompression, welche zur suffizienteren Blutversorgung des Hirnes führt und Apoptose-Prozesse sowie Ödem-Formation reduziert. Gegenüber nicht-kraniektomierten Tieren zeigt sich dieser Vorteil dominierend. Interessant wäre die Frage, ob es im weiteren postoperativen Verlauf zu Änderungen dieser Verhältnisse kommt: Man könnte mutmaßen, dass durch die Entfernung eines Knochendeckels eine größere Eindringpforte für Pathogene kommt, welche den Entzündungsprozess befeuern könnten oder die Risiken von Meningitis, Enzephalitis oder eines Abszesses mit sich bringen. Folglich könnte man auch annehmen, dass größere Trepanationen mit einer größeren Eindringpforte für Erreger und einem vermehrten Entzündungsgeschehen assoziiert sind. Langzeit-Untersuchungen wären hier vonnöten, um diesen Hypothesen nachzugehen.

Der Vorgang der Apoptose ist äußerst komplex und befindet sich normalerweise unter Kontrolle von pro- und anti-apoptotisch wirksamen Proteinen. Diese bewirken ein physiologisch ein Gleichgewicht zwischen Neuroregeneration und programmiertem Zelltod. Durch pathologische Einflüsse (hervorgerufen unter anderem durch SHT, Schlaganfall etc.) kommt es zur Verschiebung dieses Gleichgewichts zugunsten der proapoptotisch wirksamen Proteine. Anhand der von uns untersuchten Bcl-2-Proteinfamilie kommt es posttraumatisch zur Verschiebung zugunsten des proapoptotisch wirksamen Proteins Bax, während Bcl-2 im Verhältnis niedriger wird [56,69,84,86,117].

Wir konnten 24 Stunden nach Trauma eine vermehrte Expression der pro-apoptotischen Marker Bax und Caspase-3, als auch des anti-apoptotischen Markers Bcl-2 nachweisen. Die Erhöhung von Caspase-3 zeigte sich auf Signifikanz-Niveau.

Diese Ergebnisse findet man auch in der Literatur. Während eine pro-apoptotische Tendenz posttraumatisch logisch erscheint, wird auch die Erhöhung des Proteins Bcl-2 beschrieben. Man könnte hier einen früh-neuroprotektiven Mechanismus diskutieren, der sich eventuell als pharmakologisches Target eignen könnte [21,23,84,86].

Die Hochregulation von Bax wurde von Wennersten et al. als verzögert beschrieben, mit einer maximalen Expression an Tag sechs nach Trauma. Sie gingen davon aus, dass andere Apoptose-Wege in der Frühphase nach Trauma eine wichtigere Rolle spielen [117].

Dem gegenüber stehen die Ergebnisse einer Studie, in welcher die Dynamik der Bax-Expression nach zerebraler Ischämie untersucht wurde. Dort wurde eine erhöhte Expression auch schon in frühen Phasen der Ischämie festgestellt. In Hippocampus-Regionen, welche sich besonders empfindlich gegenüber transient globaler Ischämie zeigen, war dieser Marker bereits nach 0,5 bis 3 Stunden nach Ischämie deutlich erhöht [58].

Da auch wir eine Hochregulation von Bax nach 24 Stunden feststellen konnten (wenn auch nicht signifikant), gehen wir von einem zusätzlich ischämischen Aspekt mit folgender Apoptose in unserem Modell aus. Erhöhter intrakranieller Druck mit konsekutiv verminderter zerebraler Perfusion könnte hierbei die Ursache sein.

Dies würde einerseits die posttraumatisch früh erhöhte Bax-Expression im Hippocampus erklären und andererseits die signifikante Reduktion dieses Markers nach Durchführung der großen Kraniektomie: Die suffizientere Dekompression des anschwellenden Gehirns resultiert in einer Reduktion des intrakraniellen Drucks und somit einer besseren Hirnperfusion. Dadurch wird die Induktion von Apoptose reduziert.

Angenommen, die kleine DC war nicht in der Lage den intrakraniellen Druck suffizient zu senken, wäre das die Erklärung für die höhere Expression von Bax im Vergleich zur groß kraniektomierten Gruppe.

Wir nehmen an, dass es sich bei Caspase-3 um den sensitivsten der von uns untersuchten Marker handelt, da dieser im Prozess der Apoptose in der Endstrecke fungiert, in welcher verschiedene vorangeschaltete (auch hier nicht näher untersuchte) Prozesse münden. Insbesondere in der von uns untersuchten Frühphase (24 Stunden nach Trauma) ist es möglich, dass sich eine Veränderung der vorgeschalteten Marker noch nicht signifikant zeigt, während der Marker der gemeinsamen Endstrecke (Caspase-3) sich jedoch schon deutlich erhöht präsentiert [21,22,61,64,98].

Es zeigt sich also wieder, dass auch andere Apoptose-Prozesse eine wichtige Rolle in der Frühphase nach SHT eine Rolle spielen.

Wir konnten in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass sich Caspase-3-Expression posttraumatisch durch eine groß angelegte dekompressive Kraniektomie signifikant reduzieren ließ. Eine kleine Kraniektomie (wie die Ergebnisse der Bax-Untersuchung), führte zwar zur Reduktion dieses Markers, jedoch nicht auf Signifikanz-Niveau.

Der Eingriff selbst (ohne vorangegangenes Trauma) führte zwar zu einem Anstieg der Expression, jedoch auch nicht signifikant.

Ein chirurgisches Trauma lässt sich also auch anhand der histologischen Begutachtung feststellen, jedoch scheinen die positiven Aspekte der Dekompression dem iatrogen zugeführten Schaden zu überwiegen.

All diese positiven Aspekte der größeren Kraniektomie gehen jedoch auch mit einem negativen einher: Einer deutlich erhöhten Mortalitätsrate. Während die kleine Kraniektomie die Mortalitätsrate verglichen mit der nicht operierten Trauma-Gruppe senken konnte, erhöhte die große Kraniektomie diese sogar.

Wir erklären uns die hohe Mortalitätsrate einerseits durch den Versuchsaufbau. Die Tiere liegen während der OP und anschließenden ICP-Messung für drei Stunden auf dem Bauch. Durch die nicht-invasive Beatmung und das Fehlen einer invasiven Überwachung konnten beginnende, lebensgefährdende Situationen nicht früh genug detektiert und behandelt werden. In einer Folgestudie könnte man das Überleben mit Atemwegssicherung und invasiven Überwachungsmethoden mit dem der Versuchstiere der vorliegenden Arbeit vergleichen. Da die Tiere, wenn sie den operativen Versuchsabschnitt überlebt haben, auch den Rest des Versuches überlebten, nehmen wir die Narkose-Führung als Hauptproblem an. Die erhöhte Mortalität in Verbindung mit der großen Kraniektomie erklären wir uns wie folgt: Die große Kraniektomie geht mit einem erkennbaren chirurgischen Trauma einher, was sich in der Durchführung dieser OP ohne vorangegangenes Trauma erkennen ließ. Dieses fiel größer aus, als das der kleinen Kraniektomie.

Folge nun diese größere „Belastung“ eine Stunde nach Trauma, so stellte dies eine zu große Belastung für die Tiere dar, wodurch sie während der OP öfter verstarben. Man kann hier von einer Art „second hit“ durch die Kraniektomie ausgehen, und das in einer sehr vulnerablen Phase des Hirngewebes [24,92,118]. Zentrale Regulationsmechanismen könnten hierdurch versagt haben, weshalb die Versuchstiere atemdepressiv wurden.

Weitere Studien sind erforderlich, um die genauen Mechanismen hinter dieser erhöhten „primären Sterblichkeit“ zu reduzieren, um so den Versuchsaufbau zu optimieren.

Es lässt sich jedoch sagen, dass bei Überleben der Operation, das funktionelle Outcome signifikant besser und der histologisch erkennbare Schaden deutlich kleiner war, wenn eine suffizientere Dekompression mittels größerer Kraniektomie durchgeführt wurde.

Wir können einerseits zwischen den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und den Studien von Zweckberger et al. gewisse Parallelen bezüglich eines positiven Effekts von posttraumatisch durchgeführten Kraniektomien auf funktionelles Outcome ziehen [123,124]. Andererseits entsprechen unsere Ergebnisse den Resultaten von Jiang et al.

und Qiu et al.- und somit auch den Empfehlungen der Brain Trauma Foundation [46,51,82].

Mit der größer angelegten Kraniektomie lässt sich der Therapieerfolg, gemessen an funktionellem Outcome und Histologie, nach Schädel-Hirn-Trauma im Mausmodell optimieren.

5.6 Schlussfolgerung

Bezogen auf unsere Fragestellung lassen sich somit folgende Aussagen treffen:

Das Herbeiführen eines Schädel-Hirn-Traumas über die *weight drop impact*-Methode führt zu einem nachweislich reduzierten früh-funktionellen Outcome.

Die Durchführung einer Kraniektomie verbesserte das Outcome der Versuchstiere.

Allerdings führte nur die Durchführung der größeren, 5x8 mm messenden Kraniektomie zu einer signifikanten Verbesserung gegenüber der nicht operierten Trauma-Gruppe. Der direkte Vergleich zwischen den Kraniektomie-Gruppen offenbarte ebenfalls ein signifikant besseres Outcome, wenn die größere Trepanation durchgeführt wurde.

Wurde die Operation ohne ein vorheriges Trauma durchgeführt, so resultierte auch dies in einem schlechteren neurologischen Outcome.

Posttraumatisch ließen sich die in der Literatur beschriebenen strukturellen Hirnschädigungen auch in unserem Modell nachweisen.

Die Durchführung einer Kraniektomie reduzierte den Apoptose-Prozess, die Inflammation sowie die posttraumatische Ödemformation. Auch hier zeigte sich die größere Kraniektomie bei allen untersuchten Markern der kleineren Kraniektomie überlegen.

Eine signifikant erhöhte strukturelle Hirnschädigung ließ sich nach Durchführung der Operation selbst nicht finden.

Nachteilig an der posttraumatisch größer durchgeführten Kraniektomie: Es ließ sich zur nicht operierten Trauma-Gruppe eine gesteigerte Mortalität nachweisen. Die kleiner durchgeführte Kraniektomie reduzierte die Sterblichkeit nach Trauma hingegen.

Die Kraniektomie nach Schädel-Hirn-Trauma im Mausmodell ließ sich somit als eine Methode darstellen, die sowohl Outcome, als auch histologische Merkmale günstig beeinflusst. Eine größere angelegte Kraniektomie zeigte sich der kleineren Kraniektomie gegenüber hierbei nochmals überlegener, allerdings zum Preis eines erhöhten Mortalitätsrisikos.

Weitere Studien sind in Zukunft vonnöten, um den hier gezeigten positiven Einfluss größerer Kraniektomien auf das funktionelle Outcome auch beim Menschen zu untermauern. Der Aspekt der dabei erhöhten Mortalitätsrate muss beleuchtet und Möglichkeiten zu deren Reduktion erforscht werden.

6. Bibliographie

1. Aarabi B, Hesdorffer DC, Ahn ES, Aresco C, Scalea TM, Eisenberg HM (2006) Outcome following decompressive craniectomy for malignant swelling due to severe head injury. *Journal of Neurosurgery* 104:469–479
2. Adams JH, Graham DI, Gennarelli TA, Maxwell WL (1991) Diffuse axonal injury in non-missile head injury. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 54:481–483
3. Aihara N, Hall JJ, Pitts LH, Fukuda K, Noble LJ (1995) Altered Immunoexpression of Microglia and Macrophages after Mild Head Injury. *Journal of Neurotrauma* 12:53–63
4. Akins PT, Guppy KH (2008) Sinking skin flaps, paradoxical herniation, and external brain tamponade: A review of decompressive craniectomy management. *Neurocritical Care* 9:269–276
5. Alali AS, Fowler RA, Mainprize TG, Scales DC, Kiss A, De Mestral C, Ray JG, Nathens AB (2013) Intracranial pressure monitoring in severe traumatic brain injury: Results from the american college of surgeons trauma quality improvement program. *Journal of Neurotrauma* 30:1737–1746
6. Alderson P, Roberts I (2005) Corticosteroids for acute traumatic brain injury. *Cochrane Database of Systematic Reviews*
7. Aries MJH, Czosnyka M, Budohoski KP, Steiner LA, Lavinio A, Koliass AG, Hutchinson PJ, Brady KM, Menon DK, Pickard JD, Smielewski P (2012) Continuous determination of optimal cerebral perfusion pressure in traumatic brain injury. *Critical Care Medicine* 40:2456–2463
8. Betz AL, Iannotti F, Hoff JT (1989) Brain edema: a classification based on blood-brain barrier integrity. *Cerebrovascular and brain metabolism reviews* 1:133–154
9. Beynon C, Unterberg AW (2011) Schweres Schädel-Hirn-Trauma. *Unfallchirurg* 114:713–723
10. Bragin DE, Statom GL, Yonas H, Dai X, Nemoto EM (2014) Critical cerebral perfusion pressure at high intracranial pressure measured by induced cerebrovascular and intracranial pressure reactivity. *Critical Care Medicine* 42:2582–2590
11. Bramlett HM, Dietrich WD (2004) Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: Similarities and differences. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 24:133–150
12. Bramlett HM, Dietrich WD (2015) Long-Term Consequences of Traumatic Brain Injury: Current Status of Potential Mechanisms of Injury and Neurological Outcomes. *Journal of Neurotrauma* 32:1834–1848
13. Budohoski KP, Czosnyka M, Smielewski P, Kasprówicz M, Helmy A, Bulters D, Pickard JD, Kirkpatrick PJ (2012) Impairment of cerebral autoregulation predicts

- delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: A prospective observational study. *Stroke* 43:3230–3237
14. Budohoski KP, Czosnyka M, De Riva N, Smielewski P, Pickard JD, Menon DK, Kirkpatrick PJ, Lavinio A (2012) The relationship between cerebral blood flow autoregulation and cerebrovascular pressure reactivity after traumatic brain injury. *Neurosurgery* 71:652–660
 15. Büki A, Okonkwo DO, Wang KKW, Povlishock JT (2000) Cytochrome c release and caspase activation in traumatic axonal injury. *Journal of Neuroscience* 20:2825–2834
 16. Carney N, Totten AM, O'Reilly C, Ullman JS, Hawryluk GWJ, Bell MJ, Bratton SL, Chesnut R, Harris OA, Kissoon N, Rubiano AM, Shutter L, Tasker RC, Vavilala MS, Wilberger J, Wright DW, Ghajar J (2017) Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition. *Neurosurgery* 80:6–15
 17. Chang HY, Yang X (2000) Proteases for Cell Suicide: Functions and Regulation of Caspases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64:821–846
 18. Chen Y, Constantini S, Trembovler V, Weinstock M, Shohami E (1996) An experimental model of closed head injury in mice: Pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *Journal of Neurotrauma* 13:557–568
 19. Cipolla M, Rafael S (2010) Control of Cerebral Blood Flow - The Cerebral Circulation - NCBI Bookshelf.
 20. Cipolla MJ (2016) The Cerebral Circulation, Second Edition. *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function* 8:1–80
 21. Clark RSB, Kochanek PM, Chen M, Watkins SC, Marion DW, Chen J, Hamilton RL, Loeffert JE, Graham SH (1999) Increases in Bcl-2 and cleavage of caspase-1 and caspase-3 in human brain after head injury. *The FASEB Journal* 13:813–821
 22. Clark RSB, Kochanek PM, Watkins SC, Chen M, Dixon CE, Seidberg NA, Melick J, Loeffert JE, Nathaniel PD, Jin KL, Graham SH (2000) Caspase-3 mediated neuronal death after traumatic brain injury in rats. *Journal of Neurochemistry* 74:740–753
 23. Clark RSB, Kochanek PM, Adelson PD, Bell MJ, Carcillo JA, Chen M, Wisniewski SR, Janesko K, Whalen MJ, Graham SH (2000) Increases in bcl-2 protein in cerebrospinal fluid and evidence for programmed cell death in infants and children after severe traumatic brain injury. *Journal of Pediatrics* 137:197–204
 24. Cole JT, Yarnell A, Kean WS, Gold E, Lewis B, Ren M, McMullen DC, Jacobowitz DM, Pollard HB, O'Neill JT, Grunberg NE, Dalgard CL, Frank JA, Watson WD (2011) Craniotomy: True sham for traumatic brain injury, or a sham of a sham? *Journal of Neurotrauma* 28:359–369
 25. Conti AC, Raghupathi R, Trojanowski JQ, McIntosh TK (1998) Experimental brain injury induces regionally distinct apoptosis during the acute and delayed post-

- traumatic period. *Journal of Neuroscience* 18:5663–5672
26. Cook AM, Morgan Jones G, Hawryluk GWJ, Mailloux P, McLaughlin D, Papangelou A, Samuel S, Tokumaru S, Venkatasubramanian C, Zacko C, Zimmermann LL, Hirsch K, Shutter L (2020) Guidelines for the Acute Treatment of Cerebral Edema in Neurocritical Care Patients. *Neurocritical Care* 32:647–666
 27. Cooper DJ, Rosenfeld J V., Murray L, Arabi YM, Davies AR, D’Urso P, Kossmann T, Ponsford J, Seppelt I, Reilly P, Wolfe R (2011) Decompressive Craniectomy in Diffuse Traumatic Brain Injury. *New England Journal of Medicine* 364:1493–1502
 28. Cooper PR, Hagler H, Kemp Clark W, Barnett P (1979) Enhancement of experimental cerebral edema after decompressive craniectomy: Implications for the management of severe head injuries. *Neurosurgery* 4:296–300
 29. Czosnyka M, Brady K, Reinhard M, Smielewski P, Steiner LA (2009) Monitoring of cerebrovascular autoregulation: Facts, myths, and missing links. *Neurocritical Care* 10:373–386
 30. Czosnyka M, Czosnyka Z, Smielewski P (2017) Pressure reactivity index: journey through the past 20 years. *Acta Neurochirurgica* 159:2063–2065
 31. D’andrea A, Conte M, Scarafilo R, Riegler L, Cocchia R, Pezzullo E, Cavallaro M, Carbone A, Natale F, Russo MG, Gregorio G, Calabrò R (2016) Transcranial Doppler ultrasound: Physical principles and principal applications in Neurocritical care unit. *Journal of Cardiovascular Echography* 26:28–41
 32. Das M, Mohapatra S, Mohapatra SS (2012) New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury. *Journal of Neuroinflammation* 9:
 33. De Riva N, Budohoski KP, Smielewski P, Kasproicz M, Zweifel C, Steiner LA, Reinhard M, Fábregas N, Pickard JD, Czosnyka M (2012) Transcranial doppler pulsatility index: What it is and what it isn’t. *Neurocritical Care* 17:58–66
 34. Dewan MC, Rattani A, Gupta S, Baticulon RE, Hung YC, Punchak M, Agrawal A, Adeleye AO, Shrimel MG, Rubiano AM, Rosenfeld J V., Park KB (2019) Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery* 130:1080–1097
 35. Dixon CE, Lyeth BG, Povlishock JT, Findling RL, Hamm RJ, Marmarou A, Young HF, Hayes RL (1987) A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat. *Journal of Neurosurgery* 67:110–119
 36. Donnelly J, Budohoski KP, Smielewski P, Czosnyka M (2016) Regulation of the cerebral circulation: Bedside assessment and clinical implications. *Critical Care* 20:
 37. Donnelly J, Czosnyka M, Adams H, Robba C, Steiner LA, Cardim D, Cabella B, Liu X, Ercole A, Hutchinson PJ, Menon DK, Aries MJH, Smielewski P (2017) Individualizing Thresholds of Cerebral Perfusion Pressure Using Estimated Limits of Autoregulation.

- Critical Care Medicine 45:1464–1471
38. Engelhard K (2013) Intrakranieller Druck und Koma.
 39. Farahvar A, Gerber LM, Chiu YL, Carney N, Härtl R, Ghajar J (2012) Increased mortality in patients with severe traumatic brain injury treated without intracranial pressure monitoring. *Journal of Neurosurgery* 117:729–734
 40. Firsching R, Rickels E, Mauer UM, Sakowitz OW, Messing-Jünger M (2015) Leitlinie Schädel-Hirn-Trauma im Erwachsenenalter. Leitlinie Schädel-Hirn-Trauma im Erwachsenenalter, Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie
 41. Firsching R (2017) Coma after acute head injury. *Deutsches Arzteblatt International* 114:313–320
 42. Flierl MA, Stahel PF, Beauchamp KM, Morgan SJ, Smith WR, Shohami E (2009) Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. *Nature Protocols* 4:1328–1337
 43. frey (2016) 4 Pharmakologie des zentralen Nervensystems (ZNS) (III).
 44. Gaab MR, Knoblich OE, Fuhrmeister U, Pflughaupt KW, Dietrich K (1979) Comparison of the effects of surgical decompression and resection of local edema in the therapy of experimental brain trauma: Investigation of ICP, EEG and cerebral metabolism in cats. *Pediatric Neurosurgery* 5:484–498
 45. Güiza F, Meyfroidt G, Piper I, Citerio G, Chambers I, Enblad P, Nillson P, Feyen B, Jorens P, Maas A, Schuhmann MU, Donald R, Moss L, Van Den Berghe G, Depreitere B (2017) Cerebral Perfusion Pressure Insults and Associations with Outcome in Adult Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma* 34:2425–2431
 46. Hawryluk GWJ, Rubiano AM, Totten AM, O'Reilly C, Ullman JS, Bratton SL, Chesnut R, Harris OA, Kisson N, Shutter L, Tasker RC, Vavilala MS, Wilberger J, Wright DW, Lumba-Brown A, Ghajar J (2020) Guidelines for the management of severe traumatic brain injury: 2020 update of the decompressive craniectomy recommendations. *Neurosurgery* 87:427–434
 47. Hertle D, Beynon C, Zweckberger K, Vienenkötter B, Jung CS, Kiening K, Unterberg A, Sakowitz OW (2012) Influence of isoflurane on neuronal death and outcome in a rat model of traumatic brain injury.
 48. Hu H, Yao H tian, Zhang W ping, Zhang L, Ding W, Zhang S hong, Chen Z, Wei E qing (2005) Increased expression of aquaporin-4 in human traumatic brain injury and brain tumors. *Journal of Zhejiang University Science B* 6:33–37
 49. Hutchinson PJ, Kolias AG, Timofeev IS, Corteen EA, Czosnyka M, Timothy J, Anderson I, Bulters DO, Belli A, Eynon CA, Wadley J, Mendelow AD, Mitchell PM, Wilson MH, Critchley G, Sahuquillo J, Unterberg A, Servadei F, Teasdale GM, Pickard JD, Menon DK, Murray GD, Kirkpatrick PJ (2016) Trial of Decompressive Craniectomy

- for Traumatic Intracranial Hypertension. *New England Journal of Medicine* 375:1119–1130
50. Hutchinson PJ, Kolias AG, Timofeev IS, Corteen EA, Czosnyka M, Timothy J, Anderson I, Bulters DO, Belli A, Eynon CA, Wadley J, Mendelow AD, Mitchell PM, Wilson MH, Critchley G, Sahuquillo J, Unterberg A, Servadei F, Teasdale GM, Pickard JD, Menon DK, Murray GD, Kirkpatrick PJ (2016) Trial of Decompressive Craniectomy for Traumatic Intracranial Hypertension. *New England Journal of Medicine* 375:1119–1130
 51. Jiang JY, Xu W, Li WP, Xu WH, Zhang J, Bao YH, Ying YH, Luo QZ (2005) Efficacy of standard trauma craniectomy for refractory intracranial hypertension with severe traumatic brain injury: A multicenter, prospective, randomized controlled study. *Journal of Neurotrauma* 22:623–628
 52. Johnston AJ, Steiner LA, Gupta AK, Menon DK (2003) Cerebral oxygen vasoreactivity and cerebral tissue oxygen reactivity. *British Journal of Anaesthesia* 90:774–786
 53. Jüttler E, Schwab S, Schmiedek P, Unterberg A, Hennerici M, Woitzik J, Witte S, Jenetzky E, Hacke W (2007) Decompressive surgery for the treatment of malignant infarction of the middle cerebral artery (DESTINY): A randomized, controlled trial. *Stroke* 38:2518–2525
 54. Jüttler E, Unterberg A, Woitzik J, Bösel J, Amiri H, Sakowitz OW, Gondan M, Schiller P, Limprecht R, Luntz S, Schneider H, Pinzer T, Hobohm C, Meixensberger J, Hacke W (2014) Hemicraniectomy in Older Patients with Extensive Middle-Cerebral-Artery Stroke. *New England Journal of Medicine* 370:1091–1100
 55. Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Alonso OF, Aldana P, Dietrich WD (2001) Apoptotic and antiapoptotic mechanisms after traumatic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 21:1189–1198
 56. Kiening KL, Van Landeghem FKH, Schreiber S, Thomale UW, Von Deimling A, Unterberg AW, Stover JF (2002) Decreased hemispheric Aquaporin-4 is linked to evolving brain edema following controlled cortical impact injury in rats. *Neuroscience Letters* 324:105–108
 57. Konsman J-P (2003) The mouse brain in stereotaxic coordinates. *Psychoneuroendocrinology* 28:827–828
 58. Krajewski S, Mai JK, Krajewska M, Sikorska M, Mossakowski MJ, Reed JC (1995) Upregulation of bax protein levels in neurons following cerebral ischemia. *Journal of Neuroscience* 15:6364–6376
 59. LANGFITT TW, WEINSTEIN JD, KASSELL NF, SIMEONE FA (1964) Transmission of Increased Intracranial Pressure. I. Within the. *Journal of neurosurgery* 21:989–997
 60. Lazaridis C, Czosnyka M (2012) Cerebral blood flow, brain tissue oxygen, and

- metabolic effects of decompressive craniectomy. *Neurocritical Care* 16:478–484
61. Li J, Yuan J (2008) Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene* 27:6194–6206
 62. Loane DJ, Kumar A (2016) Microglia in the TBI brain: The good, the bad, and the dysregulated. *Experimental Neurology* 275:316–327
 63. Lopez-Rodriguez AB, Acaz-Fonseca E, Viveros MP, Garcia-Segura LM (2015) Changes in cannabinoid receptors, aquaporin 4 and vimentin expression after traumatic brain injury in adolescent male mice. Association with edema and neurological deficit. *PLoS ONE* 10:
 64. Löscher W (2016) 4 Pharmakologie des zentralen Nervensystems (ZNS) (II).
 65. Lüllmann-Rauch R, Asan E (2019) Taschenlehrbuch Histologie.
 66. Maas AI, Stocchetti N, Bullock R (2008) Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *The Lancet Neurology* 7:728–741
 67. Manley GT, Fujimura M, Ma T, Noshita N, Filiz F, Bollen AW, Chan P, Verkman AS (2000) Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nature Medicine* 6:159–163
 68. Manville J, Laurer HL, Steudel WI, Mautes AEM (2007) Changes in cortical and subcortical energy metabolism after repetitive and single controlled cortical impact injury in the mouse. *Journal of Molecular Neuroscience* 31:95–100
 69. Marie Hardwick J, Soane L (2013) Multiple functions of BCL-2 family proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5:
 70. Marmarou A, Amorini AM, Dunbar JG (2003) Modulation of aquaporin-4 water transport in a model of TBI. *Acta Neurochirurgica, Supplementum* 261–263
 71. McIntosh TK, Vink R, Noble L, Yamakami I, Fernyak S, Soares H, Faden AL (1989) Traumatic brain injury in the rat: Characterization of a lateral fluid-percussion model. *Neuroscience* 28:233–244
 72. Michinaga S, Koyama Y (2015) Pathogenesis of brain edema and investigation into anti-edema drugs. *International Journal of Molecular Sciences* 16:9949–9975
 73. Mokri B (2001) The Monro-Kellie hypothesis: Applications in CSF volume depletion. *Neurology* 56:1746–1748
 74. Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Stahel PF, Kossmann T (2002) Inflammatory response in acute traumatic brain injury: A double-edged sword. *Current Opinion in Critical Care* 8:101–105
 75. Neri M, Frati A, Turillazzi E, Cantatore S, Cipolloni L, Di Paolo M, Frati P, La Russa R, Maiese A, Scopetti M, Santurro A, Sessa F, Zamparese R, Fineschi V (2018) Immunohistochemical evaluation of aquaporin-4 and its correlation with CD68, IBA-1, HIF-1 α , GFAP, and CD15 expressions in fatal traumatic brain injury. *International Journal of Molecular Sciences* 19:

76. Ng SY, Lee AYW (2019) Traumatic Brain Injuries: Pathophysiology and Potential Therapeutic Targets. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 13:
77. Nilaver G, Kozlowski GP (1989) Comparison of the PAP and ABC immunocytochemical techniques. *Techniques in Immunocytochemistry* 1:199–215
78. Nortje J, Menon DK (2004) Traumatic brain injury: Physiology, mechanisms, and outcome. *Current Opinion in Neurology* 17:711–718
79. Peeters W, van den Brande R, Polinder S, Brazinova A, Steyerberg EW, Lingsma HF, Maas AIR (2015) Epidemiology of traumatic brain injury in Europe. *Acta Neurochirurgica* 157:1683–1696
80. Plesnila N (2007) Decompression craniectomy after traumatic brain injury: recent experimental results. *Progress in Brain Research* 161:393–400
81. Polinder S, Meerding WJ, Van Baar ME, Toet H, Mulder S, Van Beeck EF, Bauer R, Larsen CF, Lyons R, McCarthy T, Pérez C, Petridou E, Pitidis A, Kejs AMT, Wiik J (2005) Cost estimation of injury-related hospital admissions in 10 European countries. *Journal of Trauma - Injury, Infection and Critical Care* 59:1283–1290
82. Qiu W, Guo C, Shen H, Chen K, Wen L, Huang H, Ding M, Sun L, Jiang Q, Wang W (2009) Effects of unilateral decompressive craniectomy on patients with unilateral acute post-traumatic brain swelling after severe traumatic brain injury. *Critical Care* 13:
83. Raghupathi R, Fernandez SC, Murai H, Trusko SP, Scott RW, Nishioka WK, McIntosh TK (1998) BCL-2 overexpression attenuates cortical cell loss after traumatic brain injury in transgenic mice. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 18:1259–1269
84. Raghupathi R, Graham DI, McIntosh TK (2000) Apoptosis after traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma* 17:927–938
85. Raghupathi R, Strauss KI, Zhang C, Krajewski S, Reed JC, McIntosh TK (2003) Temporal alterations in cellular Bax:Bcl-2 ratio following traumatic brain injury in the rat. *Journal of Neurotrauma* 20:421–435
86. Raghupathi R (2004) Cell death mechanisms following traumatic brain injury.
87. Reis C, Wang Y, Akyol O, Ho WM, Applegate R, Stier G, Martin R, Zhang JH (2015) What's new in traumatic brain injury: Update on tracking, monitoring and treatment. *International Journal of Molecular Sciences* 16:11903–11965
88. Roozenbeek B, Maas AIR, Menon DK (2013) Changing patterns in the epidemiology of traumatic brain injury. *Nature Reviews Neurology* 9:231–236
89. RYDER HW, EVANS JP, EPSEY FF, LAMB D, KIMBELL FD, BARNES E, PODOLSKY B, BROSENE W, KRISTOFF F V. (1951) A general theory of the control of intracranial pressure. *Transactions of the American Neurological Association* 56:173–176

90. Sajja VSSS, Hlavac N, VandeVord PJ (2016) Role of glia in memory deficits following traumatic brain injury: Biomarkers of glia dysfunction. *Frontiers in Integrative Neuroscience* 10:
91. Schwerdtfeger K, Ketter R (2013) Schädel-Hirn-Trauma und Kiefer- und Gesichtstrauma.
92. Shitaka Y, Tran HT, Bennett RE, Sanchez L, Levy MA, Dikranian K, Brody DL (2011) Repetitive closed-skull traumatic brain injury in mice causes persistent multifocal axonal injury and microglial reactivity. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 70:551–567
93. Smith DH, Chen XH, Pierce JES, Wolf JA, Trojanowski JQ, Graham DI, McIntosh TK (1997) Progressive atrophy and neuron death for one year following brain trauma in the rat. *Journal of Neurotrauma* 14:715–727
94. Stahel PF, Shohami E, Younis FM, Kariya K, Otto VI, Lenzlinger PM, Grosjean MB, Eugster H Pietro, Trentz O, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC (2000) Experimental closed head injury: Analysis of neurological outcome, blood-brain barrier dysfunction, intracranial neutrophil infiltration, and neuronal cell death in mice deficient in genes for pro-inflammatory cytokines. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 20:369–380
95. Stocchetti N, Maas AIR (2014) Traumatic Intracranial Hypertension. *New England Journal of Medicine* 370:2121–2130
96. Stocchetti N, Maas AIR (2014) Traumatic Intracranial Hypertension. *New England Journal of Medicine* 370:2121–2130
97. Stubbe H, Wölfer J (2012) Schädel-Hirn-Trauma beim Erwachsenen. *Intensivmedizin up2date* 08:253–269
98. Sullivan PG, Keller JN, Bussen WL, Scheff SW (2002) Cytochrome c release and caspase activation after traumatic brain injury. *Brain Research* 949:88–96
99. Szczygielski J, Mautes AE, Schwerdtfeger K, Steudel WI (2009) The effects of selective brain hypothermia and decompressive craniectomy on brain edema after closed head injury in mice.
100. Szczygielski J, Mautes AE, Müller A, Sippl C, Schwerdtfeger K, Steudel W-I, Oertel J (2012) A77 Brain Hypothermia improves Neurological Outcome of Posttraumatic Decompressive Craniectomy in Mice. *European Journal of Anaesthesiology* 29:S24
101. Szczygielski J, Mautes AE, Müller A, Sippl C, Schwerdtfeger K, Steudel W-I, Oertel J (2012) A77 Brain Hypothermia improves Neurological Outcome of Posttraumatic Decompressive Craniectomy in Mice. *European Journal of Anaesthesiology* 29:S24
102. Szczygielski J, Mautes AE, Müller A, Sippl C, Glameanu C, Schwerdtfeger K, Steudel WI, Oertel J (2016) Decompressive craniectomy increases brain lesion volume and

- exacerbates functional impairment in closed head injury in mice. *Journal of Neurotrauma* 33:122–131
103. Szczygielski J, Hubertus V, Kruchten E, Müller A, Oertel J (2016) Prolonged increase of the brain edema after decompressive craniectomy in mouse model of closed head injury. 67 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie (DGNC), 1 Joint Meeting mit der Koreanischen Gesellschaft für Neurochirurgie (KNS); Frankfurt am Main; Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie P 127
 104. Szczygielski J, Müller A, Mautes AE, Sippl C, Glameanu C, Schwerdtfeger K, Steudel WI, Oertel J (2017) Selective brain hypothermia mitigates brain damage and improves neurological outcome after post-traumatic decompressive craniectomy in mice. *Journal of Neurotrauma* 34:1623–1635
 105. Szczygielski J, Glameanu C, Müller A, Klotz M, Sippl C, Hubertus V, Schäfer KH, Mautes AE, Schwerdtfeger K, Oertel J (2018) Changes in posttraumatic brain edema in craniectomy-selective brain hypothermia model are associated with modulation of aquaporin-4 level. *Frontiers in Neurology* 9:
 106. Tang YP, Noda Y, Hasegawa T, Nabeshima T (1997) A concussive-like brain injury model in mice (II): Selective neuronal loss in the cortex and hippocampus. *Journal of Neurotrauma* 14:863–874
 107. Thurman D (2001) *Epidemiology and Economics of Head Trauma*.
 108. Timofeev I, Kirkpatrick PJ, Corteen E, Hiler M, Czosnyka M, Menon DK, Pickard JD, Hutchinson PJ (2006) Decompressive craniectomy in traumatic brain injury: Outcome following protocol-driven therapy. *Acta Neurochirurgica, Supplementum* 11–16
 109. Timofeev I, Santarius T, Koliass AG, Hutchinson PJA (2012) Decompressive craniectomy - operative technique and perioperative care. *Advances and technical standards in neurosurgery* 38:115–136
 110. Tomura S, Nawashiro H, Otani N, Uozumi Y, Toyooka T, Ohsumi A, Shima K (2011) Effect of decompressive craniectomy on aquaporin-4 expression after lateral fluid percussion injury in rats. *Journal of Neurotrauma* 28:237–243
 111. Tsenter J, Beni-Adani L, Assaf Y, Alexandrovich AG, Trembovler V, Shohami E (2008) Dynamic changes in the recovery after traumatic brain injury in mice: Effect of injury severity on T2-weighted MRI abnormalities, and motor and cognitive functions. *Journal of Neurotrauma* 25:324–333
 112. Ucar T, Akyuz M, Kazan S, Tuncer R (2005) Role of decompressive surgery in the management of severe head injuries: Prognostic factors and patient selection. *Journal of Neurotrauma* 22:1311–1318
 113. Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL (2004) Edema and brain trauma. *Neuroscience* 129:1019–1027

114. Verkman AS, Binder DK, Bloch O, Auguste K, Papadopoulos MC (2006) Three distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1758:1085–1093
115. Verkman AS, Anderson MO, Papadopoulos MC (2014) Aquaporins: Important but elusive drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery* 13:259–277
116. Vinet L, Zhedanov A (2011) A “missing” family of classical orthogonal polynomials. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical* 44:
117. Wennersten A, Holmin S, Mathiesen T (2003) Characterization of Bax and Bcl-2 in apoptosis after experimental traumatic brain injury in the rat. *Acta Neuropathologica* 105:281–288
118. Wu JCC, Chen KY, Yo YW, Huang SW, Shih HM, Chiu WT, Chiang YH, Shiau CY (2013) Different sham procedures for rats in traumatic brain injury experiments induce corresponding increases in levels of trauma markers. *Journal of Surgical Research* 179:138–144
119. Yang XF, Wen L, Shen F, Li G, Lou R, Liu WG, Zhan RY (2008) Surgical complications secondary to decompressive craniectomy in patients with a head injury: A series of 108 consecutive cases. *Acta Neurochirurgica* 150:1241–1247
120. Yao X, Uchida K, Papadopoulos MC, Zador Z, Manley GT, Verkman AS (2015) Mildly reduced brain swelling and improved neurological outcome in aquaporin-4 knockout mice following controlled cortical impact brain injury. *Journal of Neurotrauma* 32:1558–1564
121. Yao X, Derugin N, Manley GT, Verkman AS (2015) Reduced brain edema and infarct volume in aquaporin-4 deficient mice after transient focal cerebral ischemia. *Neuroscience Letters* 584:368–372
122. Yuan J, Yankner BA (2000) Apoptosis in the nervous system. *Nature* 407:802–809
123. Zweckberger K, Stoffel M, Baethmann A, Plesnila N (2003) Effect of Decompression Craniotomy on Increase of Contusion Volume and Functional Outcome after Controlled Cortical Impact in Mice. *Journal of Neurotrauma* 20:1307–1314
124. Zweckberger K, Erös C, Zimmermann R, Kim SW, Engel D, Plesnila N (2006) Effect of early and delayed decompressive craniectomy on secondary brain damage after controlled cortical impact in mice. *Journal of Neurotrauma* 23:1083–1093
125. Zweckberger K, Sakowitz OW, Unterberg AW, Kiening KL (2008) Einteilung und therapie des schädel-hirn-traumas (SHT). *Laryngo- Rhino- Otologie* 87:121–136
126. Zweckberger K, Sakowitz OW, Unterberg AW, Kiening KL (2009) Intrakranielle Druck-Volumen-Beziehung : Physiologie und Pathophysiologie. *Anaesthesist* 58:392–397
127. Zweckberger K, Unterberg AW, Kiening KL (2011) Treatment of severe traumatic brain injuries. *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie* 12:64–69

128. (2014) 2.3 Monitoring des erhöhten intrakraniellen Drucks (ICP).

7. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabellen

1. Glasgow-Coma-Scale (GCS)
2. Versuchsgruppen-Übersicht
3. NNS-Score, Station 1
4. NNS-Score, Station 2
5. NNS-Score, Station 3
6. Beam-Balance-Score
7. Entparaffinierung mit absteigender Alkoholreihe
8. Dehydrierung und Eindecken
9. HE-Färbung
10. Färbung nach Nissl
11. Verwendete Primärantikörper
12. Verwendete KIT's
13. Gebrauchslösungen
14. Immunhistochemische Färbung
15. AQP-4-Score

Abbildungen

1. Trauma-Vorrichtung
2. Interventions-Punkte und -Flächen am Mausschädel
3. Blick durch das Operationsmikroskop
4. Übersicht operativer Versuchsabschnitt
5. Funktionelle Untersuchung
6. Murine Neuroanatomie, coronare Hippocampusregion
7. Beispiel-Bilder für den AQP4-Score
8. Vergleich der funktionellen Untersuchungsergebnisse zwischen Sham- und Trauma-Gruppe
9. Vergleich der funktionellen Untersuchungsergebnisse zwischen den Trauma-Gruppen
10. Vergleich der funktionellen Untersuchungsergebnisse zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma
11. Präparate der Gruppe NN in HE und Nissl
12. Präparate der Gruppe TN in HE und Nissl
13. Vergleich der mittleren Anzahl nach Nissl angefärbter Zellen zwischen den Gruppen
14. Nissl-Färbungen der Gruppen NN, TN, TCS und TCL

15. Vergleich des mittleren Aquaporin-4-Anfärbungsgrads zwischen Sham- und Trauma-Gruppe
16. Vergleich des mittleren Aquaporin-4-Anfärbungsgrads zwischen den Trauma-Gruppen
17. Vergleich des mittleren Aquaporin-4-Anfärbungsgrads zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma
18. Aquaporin-4-Färbungen der Gruppen NN, TN, TCS und TCL
19. Vergleich der mittleren Anzahl GFAP-positiver Zellen zwischen Sham- und Trauma-Gruppe
20. Vergleich der mittleren Anzahl GFAP-positiver Zellen zwischen den Trauma-Gruppen
21. Vergleich der mittleren Anzahl GFAP-positiver Zellen zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma
22. GFAP-Färbungen der Gruppen NN, TN, TCS und TCL
23. Vergleich der mittleren Anzahl der Apoptose-Marker zwischen Sham- und Trauma-Gruppe
24. Vergleich der mittleren Anzahl der Apoptose-Marker zwischen den Trauma-Gruppen
25. Vergleich der mittleren Anzahl der Apoptose-Marker zwischen Sham- und Interventions-Gruppen ohne Trauma
26. Caspase-3-Färbungen der Gruppen NN, TN, TCS und TCL

8. Publikationen

Originalpublikation

Larger craniectomy improves neurological outcome and reduces apoptosis in mice after closed head injury (geplantes Journal: Journal of Neurosurgery)

Yannik Bullinger; Jacek Szczygielski; Lisa Franziska Albrecht; Christoph Sippl; Andreas Müller; Joachim Oertel

Larger decompressive craniectomy leads to superior reduction of brain edema after closed head injury compared to smaller craniectomy

(geplantes Journal: Journal of Neurosurgery)

Yannik Bullinger; Jacek Szczygielski; Lisa Franziska Albrecht; Christoph Sippl; Andreas Müller; Joachim Oertel

Kongressbeiträge

70. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie 2019, Würzburg:

“Potential impact of opioids on functional outcome in translational model of closed head injury and decompressive craniectomy” doi: 10.3205/19dgnc437 (Jacek Szczygielski; Lisa Franziska Albrecht; Yannik Bullinger; Karsten Schwerdtfeger; Joachim Oertel)

38. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft NeuroIntensivMedizin (ANIM) 2020, online:

“Influence of craniectomy size on functional outcome in a translational mouse model of closed head injury“ (Yannik Bullinger; Jacek Szczygielski; Lisa Franziska Albrecht; Andreas Müller; Karsten Schwerdtfeger; Joachim Oertel)

Weitere Publikationen des Autors

Originalpublikationen:

The surgical treatment of pyogenic spondylodiscitis using carbon fiber reinforced PEEK implants. Personal experience of a series of 81 consecutive patients. World Neurosurgery. doi: 10.1016/j.wneu.2021.04.064 (Benedikt Burkhardt; Yannik Bullinger; Simon Müller; Joachim Oertel)

Kongressbeiträge

American Association of Neurological Surgeons (AANS) Annual Scientific Meeting 2020, online:

“Surgical treatment of Cervical Spondylotic Myelopathy via Anterior Cervical Discectomy and Fusion (ACDF) with Plating using carbon fibre reinforced PEEK Cages and plates. Initial clinical and radiographical experience“ (Benedikt Burkhardt; Yannik Bullinger; Simon Müller; Joachim Oertel)

American Association of Neurological Surgeons (AANS) Annual Scientific Meeting 2020, online:

“The surgical treatment of pyogenic spondylodiscitis using carbon fiber-reinforced PEEK. A report of 60 consecutive patients“ (Benedikt Burkhardt; Yannik Bullinger; Simon Müller; Joachim Oertel)

9. Ausblick

Während des hier beschriebenen Projekts wurden 24 Stunden postoperativ sowohl kraniale CT- als auch MRT-Aufnahmen der Versuchstiere angefertigt. Hier lassen sich Ödemformation, Perfusion sowie traumabedingte Frakturen und Blutungen evaluieren.

Weiterhin wurden posttraumatisch und über den Ablauf der Kraniektomie hinweg intrakranielle Druckwerte gemessen, welche mit der Kraniektomiegröße, neurologischem Outcome und Schädigungsmuster ins Verhältnis gesetzt werden können.

Auch liegen zahlreiche weitere Paraffinschnitte vor, anhand welcher man weitere immunhistochemische Untersuchungen anstellen könnte. Hierbei können einerseits extrahippocampale Strukturen betrachtet werden, zum anderen wäre die Untersuchung verschiedener Inflammationsmarker (wie beispielsweise CD68) im Verhältnis zur Dekompressionsgröße von Interesse.

Weitere Projekte mit analogem Versuchsaufbau sind bereits in Planung. Hierbei liegen die Auswirkungen verschiedener Medikamente auf die posttraumatische Erholung und Ödembildung im Interessensfokus.

10. Dank

Zunächst bedanke ich mich bei Herrn Professor Doktor Joachim Oertel. Einerseits für das Überlassen der Arbeit und die Unterstützung in allen Belangen, andererseits für die stetige Motivation, Inspiration, das Vermitteln der wissenschaftlichen Denkweise und die Integration in seine Klinik. Dies sah ich zu keinem Zeitpunkt als selbstverständlich an. Hierfür gebührt mein tiefster Dank.

Ich bedanke mich bei Frau Professor Doktor Steffi Urbschat. Sie stand mir mit ihrer freundlichen Art stets zur Seite, förderte mich in allen Belangen und hatte immer ein offenes Ohr für mich. Auch das Einbringen in diverse andere Forschungsprojekte des Instituts habe ich ihr zu verdanken.

Ich danke Herrn Privatdozent Doktor Jacek Szczygielski. Seine ständige Erreichbarkeit, die vielen gemeinsamen Arbeitsstunden, die Inspiration und die unfassbar herzliche und humorvolle Betreuung (nicht nur im Rahmen der vorliegenden Arbeit) führten dazu, dass ich mich sowohl wissenschaftlich als auch im privaten Umfeld weiterentwickeln konnte.

Ich danke Herrn Doktor Andreas Müller für seine freundliche Unterstützung sowie für die Anleitung und stete Hilfe beim Anfertigen der MRT-Aufnahmen.

Ich danke Frau Sigrid Welsch für die geduldige Unterweisung im Labor zum Erlernen der immunhistochemischen Färbungen und anderer Methoden abseits dieses Projekts.

Ich danke Frau Amelie Schweitzer für das Korrekturlesen der Arbeit. Außerdem danke ich ihr für das stetige Motivieren und Inspirieren. Sie war und ist in allen Lebenslagen für mich da, weshalb sie in erheblichem Maße zur Fertigstellung dieser Arbeit beitrug.

Ich bedanke mich bei Herrn Peter Bullinger und Frau Daniela Bullinger, meinen Eltern. Ihre liebevolle und bedingungsvolle Unterstützung machte mir all das erst möglich. Sie waren, sind, und werden mir immer die größten Vorbilder sein. Ihnen ist diese Arbeit gewidmet.

11. Curriculum vitae

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.