

Aus dem Bereich Neurochirurgie,
Theoretische Medizin und Biowissenschaften bzw. Klinische Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

**Dekompressive Kraniektomie und zerebraler Hypothermie als
Einflussfaktoren der posttraumatischen Ödembildung bei experimentellem
Schädel-Hirn-Trauma**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2013

vorgelegt von: **Christoph Sippl**

geb. am: **25.06.1988** in **Neumarkt i.d. OPf, Bayern**

*Für meine
Eltern*

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
Zusammenfassung	6
Abstract	8
<u>1. Einleitung</u>	<u>10</u>
1.1 Epidemiologie des Schädelhirntraumas	10
1.2 Ätiologie des Schädelhirntraumas	10
1.3 Pathophysiologie des Schädelhirntraumas	10
1.3.1 Primäre Schädigung	11
1.3.2 Sekundäre Schädigung	11
1.4 Therapie des Schädelhirntraumas	13
1.4.1 Konservatives Vorgehen	13
1.4.2 Dekompressive Kraniektomie	14
1.4.3 Hypothermie	15
<u>2. Ziele der Studie</u>	<u>16</u>
<u>3. Material und Methoden</u>	<u>17</u>
3.1 Tiere	17
3.2 Operative Maßnahmen	18
3.2.1 OP – Vorbereitung und Sham Operation	18
3.2.2 Mechanisches Trauma	19
3.2.3 Kraniektomie	20
3.2.4 Hypothermiebehandlung	22
3.2.5 Zusammenfassender Überblick	23
3.3 Neurologische Untersuchung	23
3.4 MRT der Versuchstiere	26
3.4.1 MRT Grundlagen	26
3.4.2 Gerät	27
3.4.3 Prozedur	27
3.4.3.1 FLASH – Aufnahmen	27
3.4.3.2 3D – FISP – Aufnahmen	28
3.4.3.3 Turbospinecho und diffusionsgewichtete Aufnahmen	29
3.4.3.4 Auswertung der TRARE und ADC Aufnahmen	30
3.5 Histologische Untersuchung	31
3.6 Statistische Methoden	31

<u>4. Ergebnisse</u>	<u>32</u>
4.1 Operationsverlauf und Initialgewicht der Versuchstiere	32
4.2 Ergebnisse der neurologischen Untersuchung	34
4.2.1 Neurological Severity Score	34
4.2.2 Beam Balance Score	35
4.3 MRT- Ergebnisse	36
4.3.1 Ergebnisse der TRARE – Studie	36
4.3.2 Ergebnisse der diffusionsgewichteten MRT – Aufnahmen	38
4.4 Ergebnisse der histologischen Aufarbeitung	40
4.4.1 Mikroskopie der Präparate	40
4.4.2 Makroskopische Übersicht, HE-Präparate	42
4.4.3 Makroskopische Übersicht, Nissl-Präparate	43
4.5 Gewichtsänderung 24 Stunden postoperativ	44
4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse	45
<u>5. Diskussion</u>	<u>46</u>
5.1 Diskussion der Methodik	46
5.1.1 Narkose und Gruppenvergleichbarkeit	46
5.1.2 Validität des Tiermodells	47
5.1.3 Traumamodell	48
5.1.4 Hypothermie im Mausmodell	49
5.1.5 Neurologische Untersuchung	50
5.1.6 MRT im Mausmodell	50
5.2 Diskussion der Ergebnisse	51
5.2.1 Dekompressive Kraniektomie im Mausmodell	51
5.2.2 Selektive Hypothermie im Mausmodell	52
5.3 Schlussfolgerungen	54
<u>6. Ausblick</u>	<u>55</u>
Literaturverzeichnis	56
Publikationsliste	64
Danksagung	65
Curriculum vitae	66

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
ADC	Apparent Diffusion Coefficient
ANOVA	Analysis Of Variance
BB	Beam Balance
BBS	Beam Balance Score
CBF	Cerebral Blood Flow
CCI	Controlled Cortical Impact
CHI	Closed Head Injury
CPP	Cerebral Perfusion Pressure
CT	Computer Tomographie
DC	Decompressive Craniectomy
ETL	Echo Train Length
FISP	Fast Imaging with Steady state Precession
FLASH	Fast Low Angle Shot
FOV	Field Of View
FPI	Fluid Percussion Injury
GCS	Glasgow Coma Scale

HE	Hämatoxylin-Eosin
ICP	Intracranial Pressure
M.	Musculus
MAP	Mean Arterial Pressure
MRT	Magnet Resonanz Tomographie
NSS	Neurological Severity Score
ROI	Region Of Interest
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
TRARE	Turbo Rapide Acquisition with Relaxation Enhancement
ZNS	Zentrales Nervensystem

Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurden der Einfluss der dekompressiven Kraniektomie und der Einfluss der zerebralen Hypothermie auf die posttraumatische Ödembildung nach einem experimentellen Schädel-Hirn-Trauma analysiert. Es stellte sich die Frage, ob die dekompressive Kraniektomie als Behandlung des Schädelhirntraumas gegenüber einem konservativen Vorgehen einen Vorteil bietet. Das dafür etablierte Modell ermöglichte zusätzlich die Anwendung einer selektiven Hypothermie des Traumaareals, um zu klären, ob dadurch die Ergebnisse der Kraniektomie verbessert werden können.

Hierfür wurden je 7 männliche CD-1 Mäuse randomisiert auf folgende Gruppen verteilt: Sham - Operation, alleinige Kraniektomie, alleiniges Trauma, Trauma und Kraniektomie sowie Trauma mit kombinierter Kraniektomie und Hypothermie. Ein definiertes Trauma wurde mittels eines Fallgewichtes bregmanah gesetzt.

Alle Mäuse wurden 24 Stunden postoperativ dem *Neurological Severity Score* Test sowie dem *Beam Balance Score* Test unterzogen. Anschließend erfolgte eine MRT der Mäuse, anhand derer eine Vermessung der Ödemvolumina vorgenommen wurde. Je zwei zufällig gewählte Tiere pro Gruppe wurden daraufhin für eine histologische Untersuchung getötet. Die Paraffinschnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin sowie einer Nissl-Reagenz koloriert und anschließend makroskopisch und mikroskopisch ausgewertet. Die statistische Analyse erfolgte mit einer ANOVA.

Die Mäuse der Trauma – Kraniektomiegruppe wiesen beim *Neurological Severity Score* (6.84 ± 2.1) als auch beim *Beam Balance Score* (2.63 ± 1.53) die schwerwiegendsten neurologischen Beeinträchtigungen aller Gruppen auf. In dieser Gruppe konnte auch das größte Ödemvolumen beobachtet werden ($54.4 \text{ mm}^3 \pm 23.4 \text{ mm}^3$). Es bestand kein signifikanter Unterschied zu Traumagruppe (*Neurological Severity Score*: 4.6 ± 2.07 , *Beam Balance Score*: 2.33 ± 1.35).

Bei der Kraniektomiegruppe (*Neurological Severity Score*: 2.71 ± 1.51 , *Beam Balance Score*: 1.54 ± 0.56) zeigte sich im Vergleich zur Trauma - Kraniektomiegruppe (*Neurological Severity Score*: 6.84 ± 2.1 , *Beam Balance Score*: 2.63 ± 1.53) ein signifikant stärkeres neurologisches Defizit ($p < 0.05$). Dieser signifikante Unterschied war nach der Applikation einer zusätzlichen selektiven Hypothermie (*Neurological Severity Score*: 4.41 ± 1.8 , *Beam Balance Score*: 1.51 ± 1.41) nicht mehr zu beobachten. Das Ödem war in der Trauma + Kraniektomie Gruppe ($54.4 \text{ mm}^3 \pm 23.4 \text{ mm}^3$) gegenüber der Kraniektomiegruppe ($17 \text{ mm}^3 \pm$

12.8 mm³) signifikant vergrößert ($p < 0.05$). Diese Signifikanz war in der Hypothermiegruppe (33.9 mm³ ± 14.7 mm³) verglichen mit der Kraniektomiegruppe nicht mehr zu finden.

Ein positiver Behandlungseffekt der alleinigen dekompressiven Kraniektomie gegenüber einer nicht – chirurgischen Behandlung konnte nicht gezeigt werden.

Die Ergebnisse der Hypothermiegruppe zeigten, dass die dekompressive Kraniektomie und die zusätzliche selektive Hypothermiebehandlung mit einer Reduktion von Ödembildung und neurologischer Beeinträchtigung einhergehen. Die Hypothermie nivellierte den zusätzlichen Schaden des chirurgischen Traumas.

Diese Studie ergänzt somit die aktuelle Kontroverse um den Einsatz der Kraniektomie mit oder ohne Hypothermie. Weitere Analysen sind erforderlich, um den genauen Pathomechanismus aufzudecken und gegebenenfalls aus den experimentellen Ergebnissen Schlussfolgerungen für die klinische Situation ziehen zu können.

Abstract

In the present study, the influence of the decompressive craniectomy and the effect of cerebral hypothermia on posttraumatic edema after experimental traumatic brain injury were analyzed. The question arose whether the decompressive craniectomy offers an advantage in treatment of traumatic brain injury, compared to without surgical treatment. Additionally the established model allowed the application of a selective hypothermia to the trauma area, to investigate its possible beneficial effect on a decompressive craniectomy.

Therefore, male CD-1 mice were randomly assigned into the following groups of 7 animals: Sham - surgery, sole craniectomy, sole trauma, trauma plus craniectomy, trauma with combined craniectomy and hypothermia. A defined trauma was set near to the bregma using a falling weight.

At 24 hours postoperatively all mice were subjected to the Neurological Severity Score test and the Beam Balance Score test. This was followed by MRI of mice by which a survey was made of the edema volume. Two random animals per group were killed for histological examination. The paraffin sections were stained with hematoxylin-eosin and nissl and then evaluated macroscopically and microscopically. ANOVA was used for statistical analysis.

The mice of the trauma - craniectomy group showed the most serious neurological impairment in the Neurological Severity Score (6.84 ± 2.1) and Beam Balance Score (2.63 ± 1.53). In this group, the largest volume of edema was observed ($54.4 \pm 23.4 \text{ mm}^3$). There was no significant difference to the group with sole trauma (Neurological Severity Score: 4.6 ± 2.07 , Beam Balance Score: 2.33 ± 1.35).

When comparing craniectomy (Neurological Severity Score: 2.71 ± 1.51 , Beam Balance Score: 1.54 ± 0.56) to trauma - craniectomy (Neurological Severity Score: 6.84 ± 2.1 , Beam Balance Score: 2.63 ± 1.53) significant neurological deterioration ($p < 0.05$) was found in trauma + craniectomy group. This significant decrease disappeared when an additional selective hypothermia (Neurological Severity Score: 4.41 ± 1.8 , Beam Balance Score: 1.51 ± 1.41) was applied. The edema was in the trauma + craniectomy group ($54.4 \text{ mm}^3 \pm 23.4 \text{ mm}^3$) compared to the craniectomy group ($17 \text{ mm}^3 \pm 12.8 \text{ mm}^3$) significantly increased ($p < 0.05$). This significance was not found in the hypothermia group ($33.9 \text{ mm}^3 \pm 14.7 \text{ mm}^3$) compared to the craniectomy group.

A positive treatment effect of a sole decompressive craniectomy has not been shown. The results of the hypothermia group showed, that decompressive craniectomy and additional selective hypothermia is accompanied with a reduction of edema and neurologic impairment. Hypothermia reduced the additional damage of surgical trauma.

This study complements the current controversy surrounding the use of the craniectomy and / or hypothermia. Further analyzes are required to reveal the exact pathomechanism and to possibly draw conclusions from the experimental results for the clinical situation.

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie des Schädelhirntraumas

Das Schädelhirntrauma (SHT) ist in westlichen Ländern für die meisten der traumaassoziierten bleibenden Behinderungen verantwortlich⁴⁷. Eine Metaanalyse, die 23 Einzelstudien aus europäischen Ländern umfasst, kommt zu dem Schluss, dass die Inzidenz für ein Schädelhirntrauma, unabhängig von der Schwere, bei 235/100000 liegt, die Sterblichkeit bei 15/100000⁷³. Dabei ist in elf von 100 Fällen mit einem schweren Verlauf, mit dem Endzustand des vegetativen Status zu rechnen⁷³.

Zahlen aus den Vereinigten Staaten zeigen ein ähnliches Bild: Dort werden pro Jahr mehr als 250000 Hospitalisationen aufgrund eines Schädelhirntraumas registriert^{30, 75}. Etwa 60000 Menschen sterben aufgrund dieser Verletzungen, 70000 - 90000 Menschen behalten bleibende neurologische Behinderungen zurück^{39, 66, 75}.

1.2 Ätiologie des Schädelhirntraumas

Geschlossene Schädelverletzungen sind meist Folge von Verkehrsunfällen oder anderer Hochrasanztraumen, insbesondere bei Kindern und Jugendlichen²⁶. An zweiter Stelle stehen Stürze, insbesondere bei sehr jungen und sehr alten Menschen⁴⁷. In angloamerikanischen Publikationen findet sich noch die Gruppe der Schuss- und Angriffsverletzungen bei ca. 5% der Kasuistiken⁴⁵. In bis zu 40 Prozent der Fälle steht mindestens eine der beteiligten Personen unter Alkoholeinfluss²⁶.

1.3 Pathophysiologie des Schädelhirntraumas

In der Pathophysiologie des Schädelhirntraumas wird zwischen der primären und der sekundären Schädigung unterschieden. Unter der primären Schädigung versteht man jene Verletzungen, die unter mechanischer Krafteinwirkung im Moment des Traumas entstehen⁹. Sekundäre Hirnschäden treten nach einem Trauma auf und sind Folge physiologischer Reaktionen des Körpers auf das Trauma³⁴.

1.3.1 Primäre Schädigung

Bei den primären Schädigungen kann noch zwischen den fokalen und den diffus - axonalen Traumata differenziert werden. Erstere entstehen typischerweise durch einen Schlag auf den Kopf, der dann eine Hirnprellung und möglicherweise Blutungen zur Folge hat. Der Ernst dieser Verletzung hängt, neben der Stärke der einwirkenden Kraft und der Größe des Traumas, insbesondere von dessen Lokalisation ab. Je nach Ausprägung dieser Variablen zeigen sich spezifische neuronale Ausfallmuster⁴⁷.

Das diffus - axonale SHT wird vor allem durch Trägheitskräfte verursacht, die man vor allem bei Verkehrsunfällen findet. Diese Scherkräfte überdehnen lange Axone, die große Gebiete des Hirnstamms durchlaufen. Durch diese Dehnung kann es zu Dysfunktionen des retikulären Aktivierungssystems kommen⁶⁵. Verschiedene Arbeiten lassen vermuten, dass die Schädigung insbesondere das Axolemm betrifft. Es kommt zum Calciumeinstrom, der wiederum Schädigungen am Zytoskelett und an den axonalen Mitochondrien triggert^{10, 11}. Das diffus - axonale Schädelhirntrauma kann zu einer sofortigen und lang andauernden Bewusstlosigkeit führen. Bei betroffenen Patienten beobachtet man oft eine große Morbidität und eine hohe Mortalität⁴⁷.

1.3.2 Sekundäre Schädigung

Da primäre Schäden zum Zeitpunkt des Schädelhirntraumas entstehen, sind sie im klinischen Umfeld keiner therapeutischen Intervention mehr zugänglich. Der Therapie sekundärer Hirnschäden kommt daher eine besondere Bedeutung zu, da diese oft erst Stunden nach dem Trauma auftreten und ein ausreichendes Zeitfenster für eine therapeutische Intervention vorliegt.

Neben einer massiven, toxischen Glutamatausschüttung können verspätete Blutungen und eine zerebrale Hypoxie auftreten^{4, 50}. Gerade letztere ist ein Hauptkriterium für das *Outcome* nach einem SHT⁵⁰.

Die Schädelhöhle stellt aufgrund ihres Knochenmantels einen geschlossenen Raum dar. Das darin befindliche Volumen ist aufgrund seiner physikalischen Eigenschaften nahezu nicht komprimierbar. Normalerweise wird das Gehirn jede Minute mit 50ml Blut pro 100g Hirngewebe versorgt³⁵. Bei einer längeren Unterversorgung mit weniger als 18ml Blut kommt es zu irreversiblen neuronalen Schäden³⁵.

Dieser zerebrale Blutfluss (CBF) wird hauptsächlich vom zerebralen Perfusionsdruck (CPP), also dem Druck in den arteriellen Hirngefäßen, bestimmt; dieser ist wiederum abhängig vom arteriellen Mitteldruck (MAP) sowie vom intrakraniellen Druck (ICP) und wird von der Monro-Kellie Formel beschrieben:

$$CPP = MAP - ICP^{56}$$

Über eine große Spannweite des CPPs kann der CBF durch einen Regulationsmechanismus konstant gehalten werden. Dies geschieht durch Konstriktion oder Dilatation der versorgenden Arterien⁴⁰. Im Unterschied zum peripheren Gewebe spielen im Gehirn auch die großen Arterien, wie die A. cerebri media, eine Rolle in der Druckregulation³³. Bei einem Schädelhirntrauma ist dieser Mechanismus jedoch gestört; die Arterien sind weit gestellt und der CPP wird nur noch vom MAP und vom ICP bestimmt^{41, 49}.

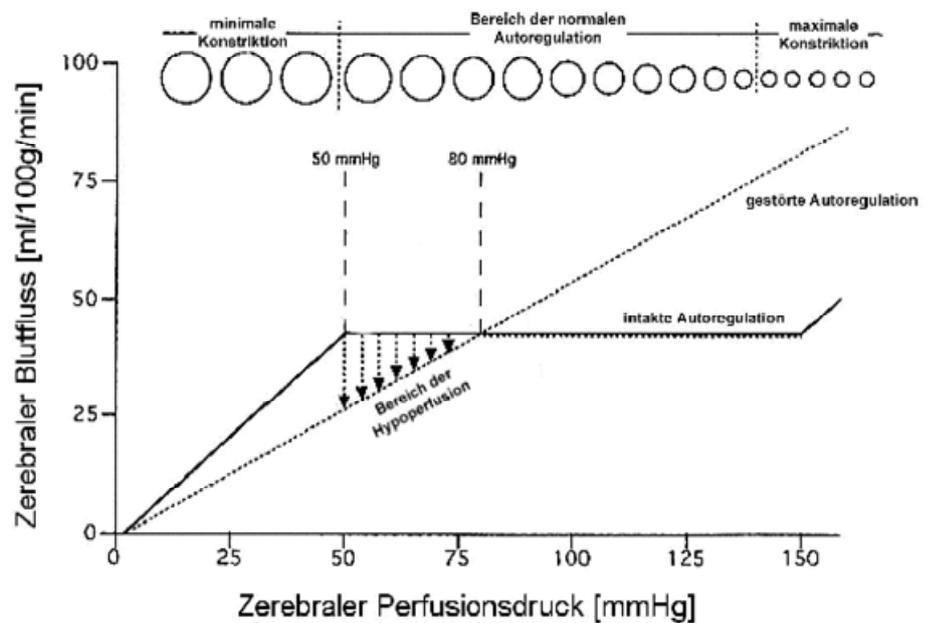


Abb. 1: CBF in Abhängigkeit vom CPP bei gesunden als auch pathologischen Verhältnissen⁴¹.

Wie sich aus der obigen Formel entnehmen lässt, sinkt bei etwa gleichem MAP der CPP, je größer der ICP wird. Da die O₂-Versorgung des Hirngewebes im Falle eines Schädelhirntraumas direkt von einem ausreichenden CPP abhängig ist, wurden aus verschiedenen Studien allgemeine Grenzwerte definiert, bei deren Unter- beziehungsweise Überschreitung das Gehirn an einer Sauerstoffminderversorgung leidet: MAP > 60 mmHg, ICP < 20 mmHg und CPP > 50 mmHg⁴⁶.

Durch diese Mechanismen kann ein Hirnödem über die intrakranielle Druckerhöhung noch vitales Hirngewebe in der Umgebung der durch ein Trauma geschädigten Hirnregion, der sog. Penumbra, zerstören und zu einem sekundären Hirnschaden führen²⁹.

1.4 Therapie des SHT

Da bei einem SHT die primären Schäden am Hirngewebe zu einem großen Teil bereits im Moment des Traumas entstehen, muss sich die klinische Therapie darauf beschränken, die sekundären Schäden zu verhindern oder soweit als möglich zu reduzieren⁴¹.

1.4.1 Konservatives Vorgehen

Soweit SHT - Patienten mit fehlenden Atemschutzreflexen bei einem GCS < 8 noch nicht präklinisch intubiert und mit 100% Sauerstoff beatmet worden sind, sollten dies die ersten Schritte der klinischen Therapie darstellen⁴⁷. Anschließend empfiehlt es sich, die Patienten in ein künstliches Koma zu versetzen⁴².

Von entscheidender Bedeutung für das *Outcome* nach einem SHT ist die Kontrolle des ICP^{6, 13, 48}. Den aktuellen Goldstandard zur ICP – Messung stellt eine intraventrikuläre Sonde, die sich auch zur Drainage der zerebrospinalen Flüssigkeit eignet, dar^{14, 79}. Darüber hinaus gewinnt die direkte Messung des Sauerstoffpartialdrucks im Hirngewebe zur Früherkennung von Ischämien an Bedeutung²¹.

Traditionell wurde zur ICP - Kontrolle die Hyperventilation mit reaktivem Abfall des CO₂ - Gehalts des Blutes als empfehlenswerte Methode betrachtet. Dadurch kommt es zu einer zerebralen Vasokonstriktion mit anschließendem Abfall des ICP. Die Vasokonstriktion führt aber auch zu einer Verminderung des CBF, so dass verschiedene Studien bei dieser Behandlung eine signifikante Vergrößerung von Ischämiearealen zeigen konnten⁶⁴. Aufgrund dessen wird die Hyperventilation nur noch im Rahmen eines akuten ICP - Anstiegs empfohlen⁵⁸.

Eine Mannitollösung kann durch seine osmotische Wirkung intra- und interzelluläre Flüssigkeit in die Gefäße ziehen und so zur Ödemreduktion beitragen. Da die Nebenwirkungen einer Osmotherapie weit über die bloße ICP – Reduktion hinausgehen, ist

die kontinuierliche Mannitolinfusion umstritten und wird vor allem zur Behandlung des akuten ICP – Anstiegs verwendet⁵⁴.

Darüber hinaus werden verschiedene Medikamente erprobt, um den ICP zu senken. Dazu zählen Vasopressoren und L - Arginin, deren Einsatz aber umstritten ist^{18,41}.

Der ICP kann auch durch eine Oberkörperhochlagerung auf 30 Grad bei gleichbleibenden CPP und CBF gesenkt werden²⁵.

1.4.2 Dekompressive Kraniektomie (DC)

Bei der dekompressiven Kraniektomie wird die Schädeldecke eröffnet und so Platz für eine Expansion des schwellenden Gewebes geschaffen.

Es ist anzumerken, dass einzig eine Kraniektomie mit einer Duraeröffnung eine suffiziente Methode zur Hirndruckreduktion darstellt. Mit einer dekompressiven Kraniektomie ist ein maximaler Volumengewinn von etwa 100 cm³ möglich⁶⁸.

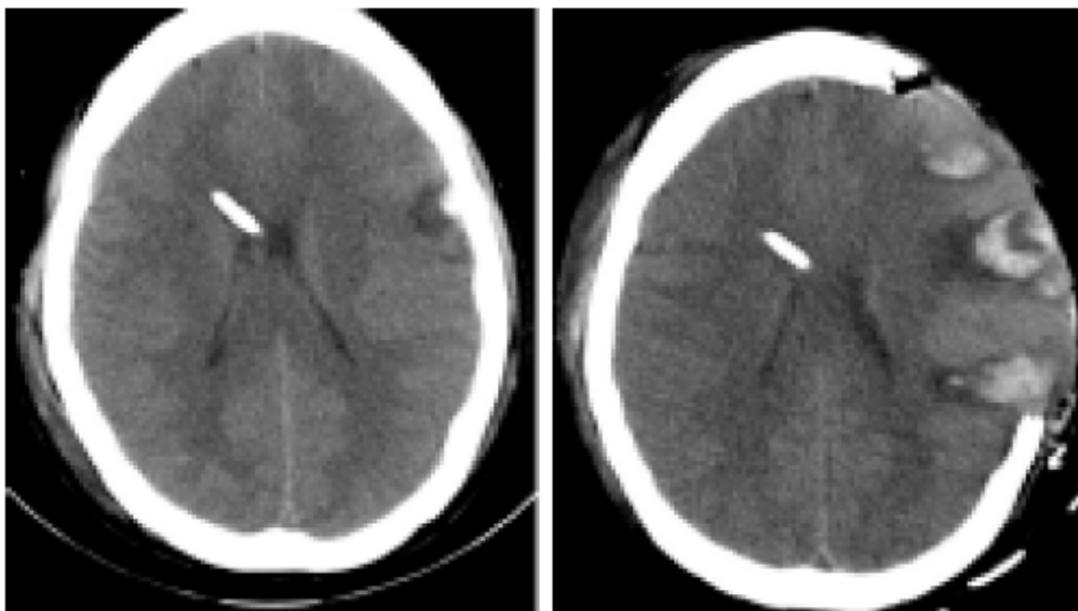


Abb. 2: Hemikraniektomie an einer 36jährigen Patientin nach einem diffusen SHT. Links die präoperative CT, rechts die CT nach der Hemikraniektomie. Die sich nach außen vorwölbende Schwellung ist rechts gut zu erkennen¹.

Aus Knochenfunden ist bekannt, dass bereits in der Steinzeit die sog. Trepanation, die künstliche Schädelöffnung, praktiziert wurde. Der Pariser Neurologe und Anthropologe Pierre Paul Broca stellte 1876 fest, dass zumindest ein Teil der trepanierten Menschen diese Prozedur überlebt haben müssen, da an der Trepanationsstelle durch eine Kallusbildung Heilungsprozesse belegbar waren⁸.

Der Nutzen der dekompressiven Kraniektomie ist in der Fachliteratur stark umstritten. Verschiedene klinische Arbeiten empfehlen sie als suffiziente Methode zur ICP- Reduktion^{1, 7, 67, 78}. Aufgrund dieser Datenlage sehen die Leitlinien der American Brain Trauma Foundation die Kraniektomie innerhalb von 48h als probates Mittel in der SHT - Therapie an¹². Eine große multizentrische Studie aus dem Jahre 2012 widerspricht dem aber völlig²⁰. Experimentelle Studien können zu dieser Diskussion bisher nur wenig beitragen, da Daten von kliniknahen und realistischen Modellen kaum verfügbar sind.

1.4.3 Hypothermie

Das für diese Dissertation etablierte SHT - Modell erlaubt neben der Datenerhebung zur dekompressiven Kraniektomie, auch die Applikation einer selektiven milden Hypothermie. Die dahinterstehende Idee ist es, durch eine Kühlung des Hirngewebes einen zusätzlichen neuroprotektiven Effekt auszunutzen.

Die Kühlung soll die Hirnschwellung reduzieren und so reaktiv den ICP senken. In der Literatur werden darüber hinaus die Unterdrückung der neurotoxischen Glutamatkaskade sowie der reduzierte O₂-Verbrauch der Neuronen als neuroprotektive Wirkmechanismen beschrieben^{5, 15}.

Das in dieser Arbeit verwendete Modell ist nach Ansicht des Autors besonders geeignet die selektive milde Hypothermie zu untersuchen, da durch die dekompressive Kraniektomie bereits ein direkter Zugang zum Hirngewebe geschaffen wird und dieses so einer optimalen Kühlung zugänglich ist.

2. Ziele der Studie

Aufgrund strittiger klinischer und mangelnder experimenteller Datenlage stellen sich konkret folgende Fragen:

1. Bietet die dekompressive Kraniektomie als Behandlung eines Schädelhirntraumas im realitätsnahen Modell unter neurologischen und bildgebenden Aspekten einen Vorteil gegenüber einer Therapie ohne dekompressive Kraniektomie ?
2. Kann das Ergebnis einer dekompressiven Kraniektomie nach einem SHT durch eine additive lokale Hypothermiebehandlung verbessert werden?

3. Material und Methoden

3.1 Tiere

Für die Experimente wurden männliche CD-1 Mäuse mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 35,5 Gramm verwendet. In Übereinstimmung mit dem Tierschutzgesetz lag die Genehmigung zur Durchführung der Tierexperimente durch die zuständigen Behörden des Saarlandes vor.

Die Tiere wurden vom Institut der experimentellen Chirurgie der Universitätskliniken des Saarlandes/Homburg bereitgestellt. Dort wurden vier Tiere pro Käfig bei einem 12:12 Stunden Tag – Nacht-Rhythmus in einer keimarmen Umgebung gehalten.

Während der Experimente waren die Tiere bei einer Raumtemperatur von 20°C mit Futter und Wasser *ad libitum* untergebracht.

Im Rahmen der Versuche wurden die Tiere auf verschiedenen Gruppen randomisiert, wobei jeder Gruppe 7 Tiere zugeteilt waren:

Tabelle 1: Gruppenaufteilung der Versuchstiere

Gruppe	Kürzel	Beschreibung
Sham	(NNN)	Operationsschritte ohne Trauma, Kraniektomie und Hypothermie, Referenzgruppe
Trauma	(TNN)	Mäusen dieser Gruppe wurde lediglich das Trauma appliziert.
Kraniektomie	(NCN)	Bei diesen Tieren wurde nur eine Kraniektomie durchgeführt.
Trauma + Kraniektomie	(TCN)	Diesen Tieren wurde ein Trauma gesetzt und anschließend eine Kraniektomie durchgeführt.
Trauma + Kraniektomie + Hypothermie	(TCH)	Versuchstiere dieser Gruppe wurden nach einem Trauma einer Kraniektomie mit anschließender Hypothermie unterzogen.

3.2 Operative Maßnahmen

3.2.1 OP – Vorbereitung und Sham Operation

Jede Maus wurde aus ihrem Käfig genommen, mit einer Waage (P – 1200, Mettler) gewogen und dann in ein zylindrisches Glasgefäß mit 30 cm Durchmesser und 10 cm Wandhöhe gesetzt. Ein Trichter wurde über das Tier gelegt, durch dessen Öffnung ein Sauerstoff – Narkosegasgemisch (Isofluran, Baxter) eingeleitet werden konnte. Zur Narkoseeinleitung wurde ein Fluss von 1L O₂/min und ein Isoflurananteil von 3% eingestellt. Eine ausreichende Narkosetiefe wurde nach zwei bis drei Minuten erreicht und das Tier sodann auf eine beheizbare Unterplatte (TCAT-2LV, Phystemp Instruments Inc.) gelegt. Der Meatus akustikus externus wurde so an einem stereotaktischen Rahmen fixiert, dass über die Schnauze ein Röhrchen gelegt werden konnte, über das die weitere Narkoseführung möglich war. Diese wurde individuell, bei einem Sauerstofffluss von 0,5L O₂/min und einem Narkosegasanteil zwischen 1,2 und 2,2%, angepasst. Zum Schutz der Augen vor Austrocknung wurde eine Salbe (Bepanthen, Bayer AG) auf die Cornea aufgetragen und eine rektale Temperatursonde (TCAT-2LV, Phystemp Instruments Inc) eingeführt. Diese war mit der Heizunterlage gekoppelt, die Zieltemperatur war auf 37°C eingestellt. Die Temperatur wurde kontinuierlich gemessen und alle 15 Minuten erfasst.

Alle weiteren OP-Prozeduren wurden unter einem OP-Mikroskop (OMPI MD, Zeiss) bei 8 - facher Vergrößerung durchgeführt.

Nach der Desinfektion des Hautareals (Desderman, Schülke) konnte die Kopfhaut mit einem Skalpell median über 2 mm inzidiert werden; mit einer Mikroschere wurde dieser Schnitt kaudal bis zum Ansatz der Nackenmuskulatur und frontal bis auf Augenhöhe erweitert. Durch vorsichtiges Abtragen der Galea mit einer Pinzette, einer feinen Schere und einem kleinen Skalpell wurde die Schädelkalotte freigelegt und mit einem wasserfesten Stift ein Punkt 1 mm links der Sutura sagittalis und 2 mm okzipital des Bregmas markiert. Dies diente der Kennzeichnung der Stelle, an der das Trauma gesetzt werden sollte. Anschließend wurden die Tiere unter das Gerät zur Traumasetzung gelegt. Bis zu diesem Punkt wurde mit allen Tieren der unterschiedlichen Gruppen gleich verfahren.



Abb. 3: OP– Situs nach der Hautinzision und der Markierung, die Suturenzeichnungen sind schwach zu erkennen⁷².

Um an den Tieren das Trauma zu setzen, wurde eine etablierte Methode nach Chen et al. angewendet¹⁷. Grundprinzip dieser ist die Übertragung kinetischer Energie auf ein geschlossenes Schädeldach zur Erzeugung einer Hirnverletzung.

3.2.2 Mechanisches Trauma

Abbildung 4 unten zeigt die Konstruktion, mit der die Traumata an den Mäusen gesetzt wurden. Es besteht zunächst aus einer Aluminiumbodenplatte (A) und einer darauf angebrachten Silikonplatte (B). Über dieser befindet sich eine mit cm-Angaben beschriftete Plexiglasröhre (C), fixiert an einer Halterung, die die Röhre auch mit der Aluminiumplatte verbindet. Sie enthält ein frei bewegliches, definiertes Gewicht (E), das über eine Schnur in einer beliebigen Höhe fixiert werden kann. Weiterhin befindet sich am unteren Ende der Röhre ein ebenfalls frei beweglicher Metallkonus (D), dessen spitzes Ende auf der markierten Stelle des Mäusekraniums aufgesetzt wird. Beim Fall des Gewichtes und anschließendem Aufschlag auf den Konus wird die kinetische Energie so auf den Schädel der Maus geleitet. Durch die Fallhöhe und die Masse des Gewichtes kann die übertragene Energie und die daraus resultierende Traumastärke variiert werden. Für den hier beschriebenen Versuch wurde ein Gewicht von 75g aus einer Höhe von 30cm fallen gelassen. Diese Werte wurden in ausführlichen, bereits publizierten, Vorversuchen ermittelt⁷².

Die oben erwähnte Schnur ist an einem an einem Auslösemechanismus (F) angebracht, so dass das Gerät, nachdem die Maus unter dem Konus auf der Silikonplatte platziert wurde, ausgelöst werden konnte.

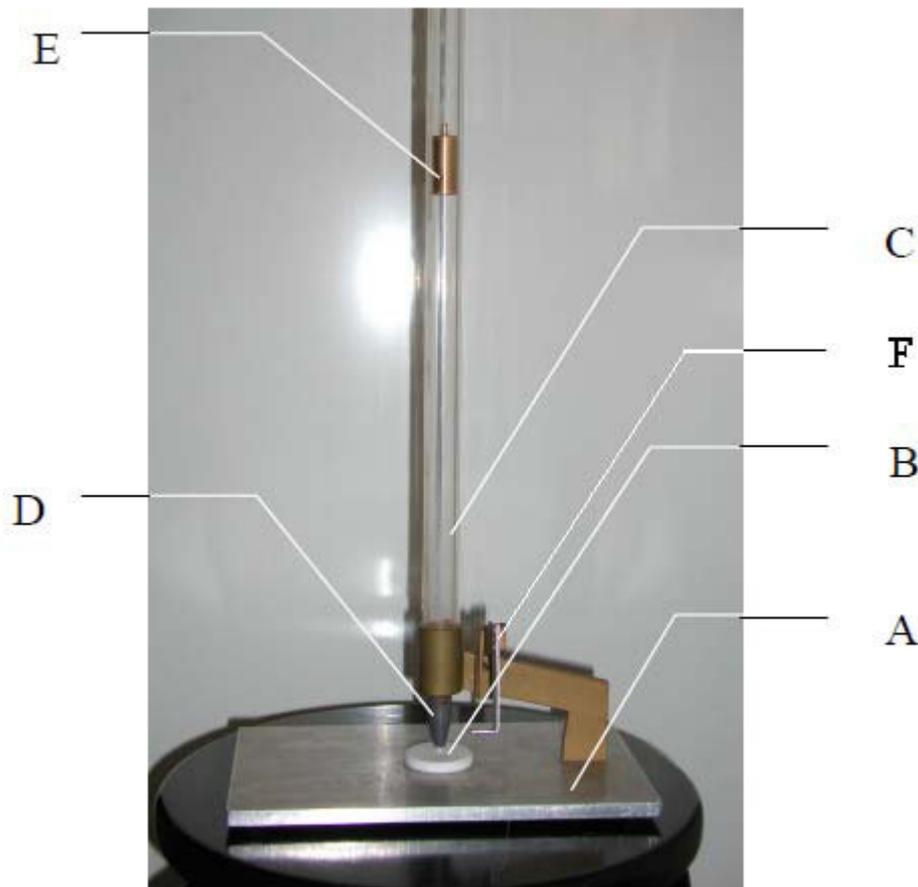


Abb.4: Traumagerät⁷⁰

3.2.3 Kraniektomie

Nachdem das Tier wieder auf der Heizplatte am stereotaktischen Rahmen befestigt und die Rektalsonde eingeführt worden war, wurde über dem rechten M. temporalis mit Hilfe einer Schere ein ca. 1mm langer Hautschnitt geführt. Mit einer Nadel wurde ein Kanal in den Muskel gestochen, in den dann ein zusätzlicher Temperaturmesser (ET1, Erbe Medizintechnik Tübingen), befestigt am Rahmengerüst, vorgeschoben wurde, um die Kopftemperatur bestimmen zu können⁸⁰. Auch hier erfolgte eine viertelstündliche Aufzeichnung der Messwerte. Um bei eröffneter Kopfschwarte den Kopf des Tieres vor einer

Auskühlung (Abfall der Temperatur unter 37°C) zu schützen, wurde eine Infrarotlampe (25W, Philips) 20 cm vor dem Tier platziert und bei Bedarf eingeschaltet.

Damit für die Kraniektomie ein möglichst optimales Sichtfeld vorhanden war, wurde die Kopfhaut des Tieres an allen vier Quadranten mit Nähten nach außen gespannt.

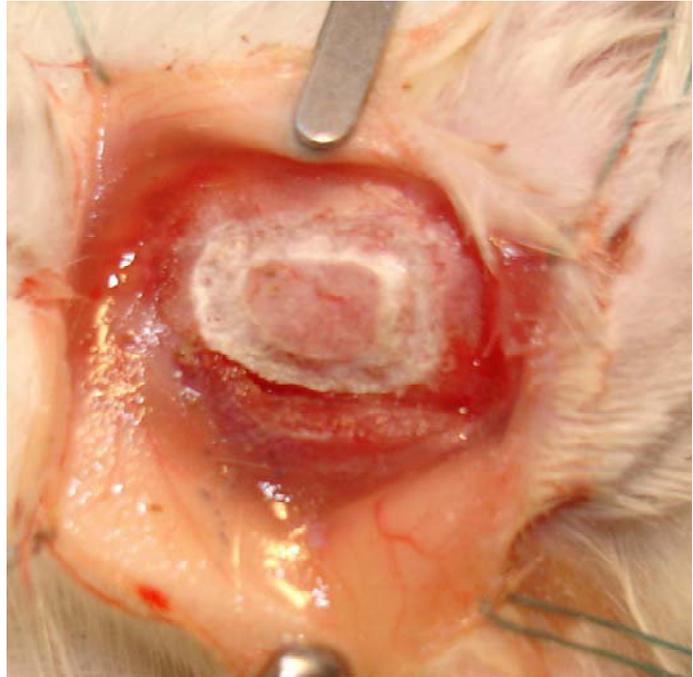


Abb. 5: OP-Situs während der Kraniektomie. Entsprechend dem Fräskopfdurchmesser beträgt die Breite der Fräsrille etwa 1,5 mm⁷².

Die dekompressive Kraniektomie wurde über der Stelle des Schädelhirntraumas am Os temporale und Os parietale durchgeführt²².

Aus der befeuchteten Kalotte wurde, mit einem Dentalbohrer von 1,5 mm Durchmesser, eine Rille um eine Knochenplatte gefräst. Mit Hilfe einer Mikroschere, einer Mikropinzette sowie einer feinen Nadel konnten im Anschluss einige noch nicht ganz durchtrennte Lamellen gelöst und das gesamte Knochenstück mit einer Fläche von ca. 5 mm x 7 mm entfernt werden.

Soweit die Dura mater durch die vorangegangene Prozedur noch nicht eröffnet war, wurde sie mit einer Mikroschere eröffnet.

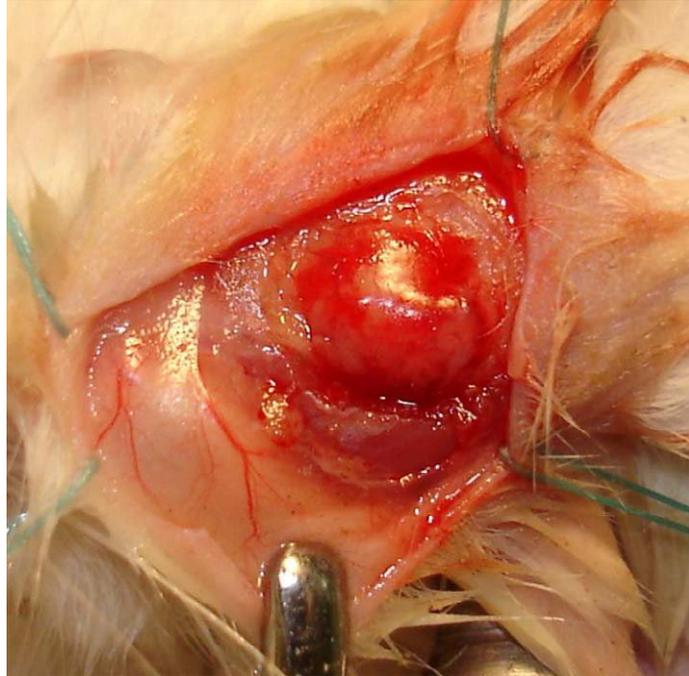


Abb. 6: Freiliegende Gehirnsubstanz nach Entfernung der Kochenplatte und Dura mater⁷².

Mit einer fortlaufenden Naht (Prolene 5-0 monofil blue, Ethicon) konnte der Hautschnitt verschlossen werden. Die Zeit, die für die Kraniektomie benötigt wurde, lag zwischen 45 und 60 Minuten.

3.2.4 Hypothermiebehandlung

Für die Tiere der Hypothermie Gruppe (TCH) schloss sich nun die Hypothermietherapie an. Hierfür wurde auf das, mit Haut gedeckte, Kraniektomieareal eine Kühlsonde aufgelegt. Deren kreisrunde Fläche wies einen Durchmesser von 3 mm auf. Bei dem Kühlaggregat handelte es sich um ein mit flüssigem Kohlendioxid betriebenes Gerät von ERBE (ERBOKRYO AE, ERBE Medizintechnik Tübingen), die Kühlsondentemperatur lag bei 4°C. Eine Kopftemperatur von 32°C wurde eine Stunde lang aufrecht erhalten. Dies wurde durch die Messsonde im kontralateralen M. temporalis verifiziert.

Nach Ablauf von 60 Minuten konnte die Kühlsonde entfernt und die Narkose ausschleichend ausgeleitet werden. Das erwachende Tier wurde daraufhin in seinen Käfig zurückgesetzt, dessen Boden über den Holzspänen noch zusätzlich mit Zellstoff ausgelegt war, um eine Verunreinigung der Kopfwunde zu vermeiden.

3.2.5 Zusammenfassender Überblick

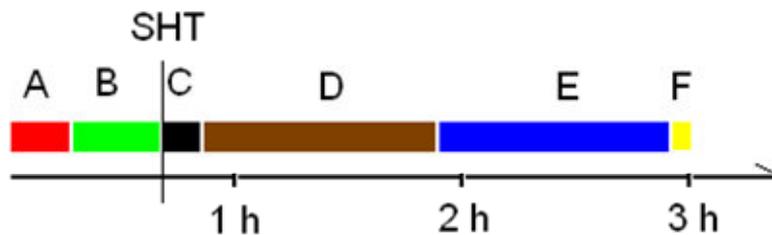


Abb. 7: Zusammenfassender Zeitablauf der Operation. A: Narkoseeinleitung und OP - Vorbereitung, B: Präparation des Traumalocus, SHT: Setzen des Schädelhirntraumas, C: Einbringen der Kopfsonde, D: Kraniektomie, E: Hypothermie, F: Narkoseausleitung.

Bei Tieren der Shamgruppe wurden lediglich die Abschnitte A, B, C und F durchgeführt. Die Zeit, während in den anderen Versuchsgruppen die Kraniektomie als auch die Hypothermiebehandlung durchgeführt wurde, verblieben die Mäuse der Sham Gruppe auf der Heizplatte in Narkose. Äquivalentes gilt für die Gruppen NCN, TNN und TCN. Jedes Tier, unabhängig von der Gruppe, war insgesamt drei Stunden in Narkose.

3.3 Neurologische Untersuchung

Die Mäuse wurden 24 Stunden nach dem operativen Eingriff einer neurologischen Untersuchung unterzogen. Diese war an den *Neurological Severity Score* (NSS) nach Sabo et al. angelehnt⁶⁰. Zwischen jedem Abschnitt bzw. jeder Wiederholung hatte das Tier 60s Zeit, sich zu erholen. Jeder Einzeltest wurde mit 0 für „bestanden“, 0.5 oder 1 Punkt für „nicht bestanden“ bewertet. Bei den untersuchten Items handelte es sich um:

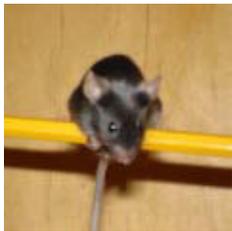
Tabelle 2: Beschreibung der neurologischen Untersuchung⁶⁰.

	Test	Beschreibung	Bewertung
1.	Verlust des Starreflexes	Durch Klatschen wurde dem Tier ein kurzes lautes, akustisches Signal gegeben.	1
2.	Unfähigkeit gerade zu laufen	Die Maus wurde auf den Boden gesetzt und beobachtet.	1
3.	Verlust des Suchverhaltens		1
4.	Vorliegen einer Mono/Hemiparese		1
5.	Unfähigkeit einen Kreis mit 30cm Durchmesser in einer Minute zu verlassen	Ein mit einem Schlauch gelegter Kreis mit einer Randhöhe von 1.5 cm soll durch eine 10cm Öffnung verlassen werden.	1
6.	Unfähigkeit, auf einem Eckbalken zu balancieren	Die Maus wurde in die Mitte eines Balkens gesetzt und beobachtet, ob sie ohne zu fallen das Ende des Balkens erreicht.	1
7.	Unfähigkeit, auf einem Rundbalken zu balancieren	siehe oben	1
8.	Unfähigkeit, auf einem 3 cm breiten Balken zu gehen	siehe oben	1
9.	Unfähigkeit, auf einem 2 cm breiten Balken zu gehen	siehe oben	1
10.	Unfähigkeit, auf einem 1 cm breiten Balken zu gehen	siehe oben	1

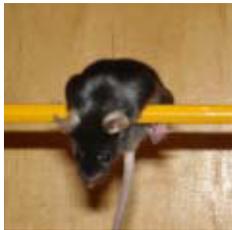
Maximal ergab sich so für jedes Tier ein Wert von 10 Punkten wenn keine Aufgabe erfolgreich durchgeführt werden konnte bzw. 0 Punkten, wenn alle Aufgaben bestanden wurden.

Der Test Nr. 6 wurde gleichzeitig mit dem *Beam Balance Score* (BBS) Test durchgeführt⁶². Abhängig davon, wie sicher oder unsicher sich die Maus auf dem Balken verhielt, wurde ihr nach unten stehender tabellarischer Veranschaulichung ein Wert zwischen 1 und 5 zugewiesen. Das Tier hatte je drei Versuche, aus deren Ergebnissen ein Mittelwert gebildet wurde.

Tabelle 3: *Beam Balance Score* adaptiert nach Scherbel et al.^{62, 70}.



0 Punkte: Die Maus sitzt in einer stabilen Position auf dem Balken.



1 Punkt: Die Maus versucht, sich stehend auf dem Balken zu halten, indem sie seitlich festhält oder zeigt instabile Bewegungen.



2 Punkte: Die Maus klammert sich mit vier Pfoten am Balken fest, steht aber nicht auf ihm.



3 Punkte: Die Maus hängt mit zwei Pfoten am Balken.

4 Punkte: Die Maus hängt am Balken und fällt zu Boden.

5 Punkte: Die Maus unternimmt keinen Versuch, sich am Balken festzuhalten oder zu balancieren.

Sollte die Maus den BB-Test mit dem Ergebnis 0-2 bestehen, aber vor Ablauf der Testzeit < 60 s vom Balken fallen, so wird ein weiterer Punkt auf ihren Score angerechnet.

3.4 MRT der Versuchstiere

3.4.1 MRT Grundlagen

Mit der Magnetresonanztomographie (MRT) können Schichtaufnahmen von lebendem Gewebe ohne ionisierende Strahlung erstellt werden. Die ubiquitär im Gewebe vorkommenden Wasserstoffatome haben einen positiv geladenen Kern, ein Proton. Durch dessen Spin, den man modellhaft als Eigendrehung interpretieren kann, entsteht ein magnetisches Dipolmoment, die physikalische Grundlage des MRT.

Mit Hilfe eines sehr starken äußeren, statischen Magnetfeldes werden diese Protonen, deren Eigendrehachsen chaotisch verteilt sind, entlang des Magnetfeldes ausgerichtet. Durch einen ebenfalls von außen gesendeten Radioimpuls werden diese orientierten Achsen nun um 90° gekippt. Nach Ende des Pulses richten sich die Wasserstoffkerne in einem Vorgang, den man Relaxation nennt, wieder an dem statischen Magnetfeld aus und induzieren dabei an einer äußeren Messspule eine Spannung.

Dieser Relaxationsprozess wird durch zwei Zeitkonstanten T1 und T2 beschrieben, die in unterschiedlichen Geweben verschiedene Werte aufweisen. Diese Differenzen lassen sich bildlich, zum Beispiel als verschiedene Graustufen, darstellen und ermöglichen so eine Unterscheidung verschiedener Gewebe und Organe.

Eine andere Untersuchungstechnik stellt die diffusionsgewichtete Messung dar. Das zu untersuchende biologische Gewebe besteht aus einem extrazellulären und zellulären Anteil, wobei sich in letzterem eine weitere Kompartimentierung in Zellmembran, Zytoskelett und Organellen ergibt. Die Begrenzungen dieser Kompartimente stellen Diffusionsbarrieren für Wasser dar, die dessen Bewegungsfreiheit einschränken⁴³. Insbesondere durch die Säulenstruktur auf zellulärer Ebene im Aufbau des Gehirns ergibt sich ein beschränkter Freiheitsgrad in der Molekularbewegung des Wassers. Kommt es nun zu pathologischen Veränderungen am Gewebe, so bewegt sich das Wasser mit größerer Freiheit. Diese unterschiedlichen Freiheitsgrade der Wasserbewegung lassen sich durch eine diffusionsgewichtete MRT in verschiedenen Graustufen darstellen, indem pro

Volumeneinheit der Messung nicht nur die Relaxationszeiten, sondern auch noch die Bewegungsrichtung der Protonen mit erfasst werden.

3.4.2 Gerät

Die MRT der Mäuse wurde am Institut für experimentelle Chirurgie der Universitätskliniken des Saarlandes/Homburg in Zusammenarbeit mit Herrn Andreas Müller, Klinik für diagnostische und interventionelle Radiologie, durchgeführt.

Zum Einsatz kam ein Kleintier – MRT (Avance III 9.4/20, Bruker Biospec) mit einer Feldstärke von 9,4 Tesla, einer Gradientenstärke von 675 mT/m und einer Zeit bis zum maximalen Anstieg der Gradientenstärke von 114,8 μ s (Gradientenset BGA12s). Zur Anregung wurde ein linearer Einkanal - Transmitter mit einem Innendurchmesser von 72 mm verwendet. Die Aufnahme der Magnetresonanzsignale erfolgte mit einer für die Untersuchung von Mäusegehirnen entwickelten, sattelförmigen Vierkanal-Oberflächenspule in „Phased array“ - Anordnung.

3.4.3 Prozedur

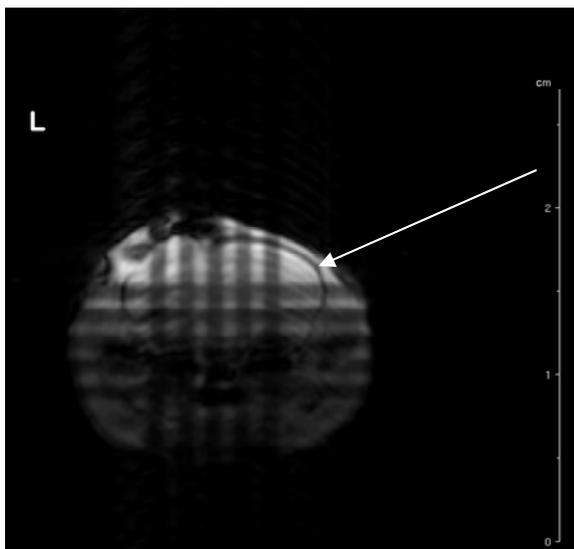
Für die MRT wurden je 6 Tiere pro Versuchsgruppe mit einer Isoflurannarkose betäubt, der initiale O₂-Fluss lag bei 1 L/min. Mittels eines Verdampfers (Vapor 19.3, Drägerwerk AG) wurde ein 3% Isoflurananteil beigemischt. Die weitere Narkosezuteilung erfolgte nach Bedarf, Ziel war es, die Atemfrequenz zwischen 30 – 50 Zügen pro Minute zu halten, um eine artefaktfreie MRT-Aufnahme zu ermöglichen. Das Tier wurde im Anschluss in Bauchlage auf eine beheizbare Unterlage (TCAT-2LV, Phystemp Instruments Inc.) gelagert, die Körpertemperatur konnte mit Hilfe einer Rektalsonde (TCAT-2LV, Phystemp Instruments Inc) gemessen werden.

3.4.3.1 FLASH-Aufnahmen

Nachdem die Maus im Isozentrum des Magneten platziert werden konnte, wurde zur groben Übersicht eine FLASH-Sequenz mit je 5 Schnitten in der x-y-z Ebene gemacht, wobei die Längsachse des Tieres der z-Achse entsprach. Bei der Fast Low Angle Shot (FLASH) – Aufnahme können Bilder in sehr kurzer Zeit aufgenommen werden, indem die

Anregungswinkel der Wasserstoffprotonen klein gewählt werden. Dies ermöglichte eine Repetitionszeit TR von 100 ms bei einer Echozeit TE von 2 ms.

Die Schichtdicke lag bei 1 mm mit einem Schichtabstand von 1,5 mm, wobei der Einzelschnitt 3,84 cm x 3,84 cm maß. Dies entspricht 256 x 256 Pixeln. Diese erste Übersichtsaufnahme zur Positionsermittlung der Maus im Tomographen beanspruchte pro Messung 25 s.



A

Abb. 8: FLASH-Aufnahme zum Übersichtsgewinn. Die Konturen des ZNS sind am Rande zu erkennen (A).

3.4.3.2 3D – FISP-Aufnahmen

Zur genauen Lokalisation des Traumas wurde im Anschluss eine 3D – FISP Aufnahme in axialer Richtung durchgeführt.

Diese erfolgte wiederum in x-y-z Ebene, die Längsachse des Tieres definierte die z – Richtung. Bei 23 Schichtaufnahmen mit 0,075 cm/pix, 1.5 cm oder 200 Pixel entsprechend der y – Achse und 1,76 cm entsprechend 236 Pixel auf der x – Achse, ergab sich eine Matrix von 236 x 200 x 23 Pixeln. Die FISP – Technik (Fast Imaging with Steady state Precession) eignet sich aufgrund ihrer kurzen Aufnahmezeit von 1 min 29 s gut zur genaueren Lagebestimmung der Gewebeschädigung. Wegen ihrer hohen Anfälligkeit für Magnetfeldinhomogenitäten können Ödeme oder andere anatomische Strukturen aber nicht exakt abgegrenzt werden. Dies gilt insbesondere bei Störquellen wie postoperativen Lufteinschlüssen und dem Nahtmaterial.

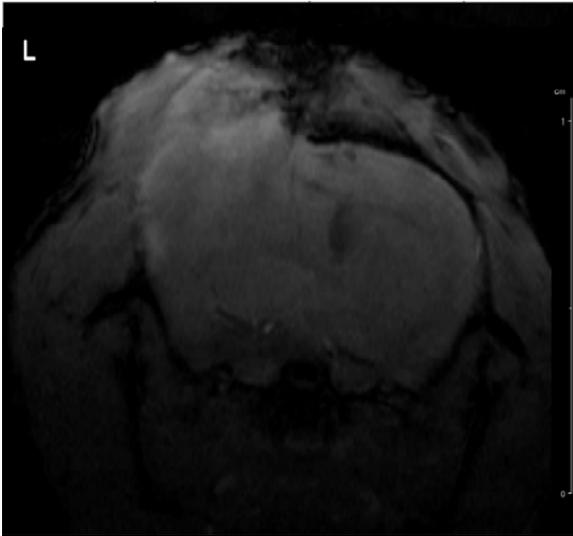


Abb. 9: FISP-Aufnahme des Mäusegehirns, im oberen linken Quadranten ist die Hirnschwellung erkennbar.

3.4.3.3 Turbospinecho (TRARE) und diffusionsgewichtete Aufnahmen

Nachdem mit Hilfe dieser Bilder die Traumazone gut einzugrenzen war, konnte davon ausgehend die eigentliche Messung beginnen. Hierfür erfolgten eine Turbospinecho - (TRARE) und eine echoplanare diffusionsgewichtete Bildgebung (ADC) in $x - y - z$ -Richtung, wobei die Z-Achse gleich der Längsachse des Tieres war. Der Abstand zwischen den Aufnahmeschichten lag bei beiden Messungen bei 0,75 mm.

Für die Turbospinechomessungen, geeignet zur genauen Läsionsabgrenzung, wurden pro Tier 23 Schnittaufnahmen in Z - Richtung mit einem FOV (Field of View) in $x - y$ -Richtung von 1,76 cm x 1,5 cm und einer daraus resultierenden Matrix von 234 x 200 Pixeln erstellt. Ein Pixel in der Ebene entsprach $75 \mu\text{m} \times 75 \mu\text{m}$. Die TR/TE - Zeiten lagen bei 2500 ms beziehungsweise 30 ms, die ETL (Echo Train Length) lag bei 8.

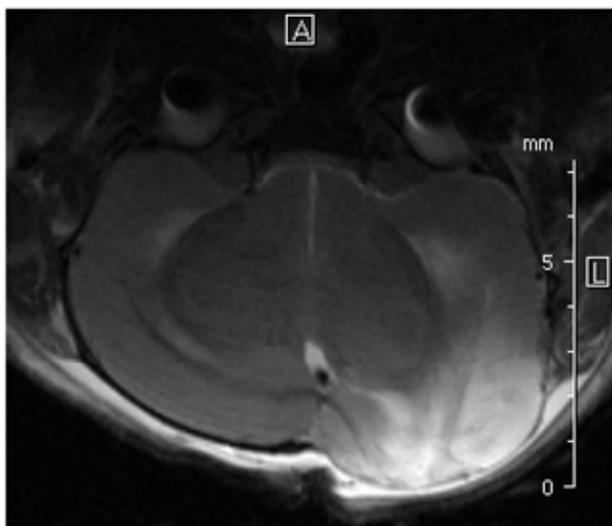


Abb. 10: TRARE - Bild eines kraniektomierten Traumatieres aus der Gruppe TCN. Deutlich ist im rechten unteren Quadranten die geschwollene Läsion zu erkennen. Das Bild ist um 180° seitenverkehrt.

Bei der diffusionsgewichteten Messung, die sich insbesondere für die genaue Differenzierung zwischen Ödemflüssigkeit und Ventrikelstauung eignet, wurde bei 7 Schichtaufnahmen pro Tier ein FOV von 1,92 cm x 1,92 cm entsprechend 192 x 192 Pixeln angewendet. Die Pixelgröße lag bei 100 μm x 100 μm . Die TR/TE - Zeiten lagen bei 2000 ms/16 ms, der B-Wert wurde auf 750 s/mm² festgelegt.

3.4.3.4 Auswertung der Turbospinecho- und ADC- Aufnahmen

Auf den TRARE - als auch den ADC - Bildern wurden mit Hilfe der Betriebs- und Auswertesoftware des MRT Gerätes (Paravision, Version 5.1 für Linux) manuell Regions of interest (ROI) eingezeichnet, die die Ödem - bzw. Läsionsregion einschlossen.

Mittels der Software sowie eines eigens dafür geschrieben Makros, die sowohl die Pixelfläche, die Schichtdicke, den Schichtabstand als auch die durch die ROI eingeschriebene Fläche berücksichtigte, konnte ein approximiertes Gesamtvolumen der Schädigungszone ermittelt werden.

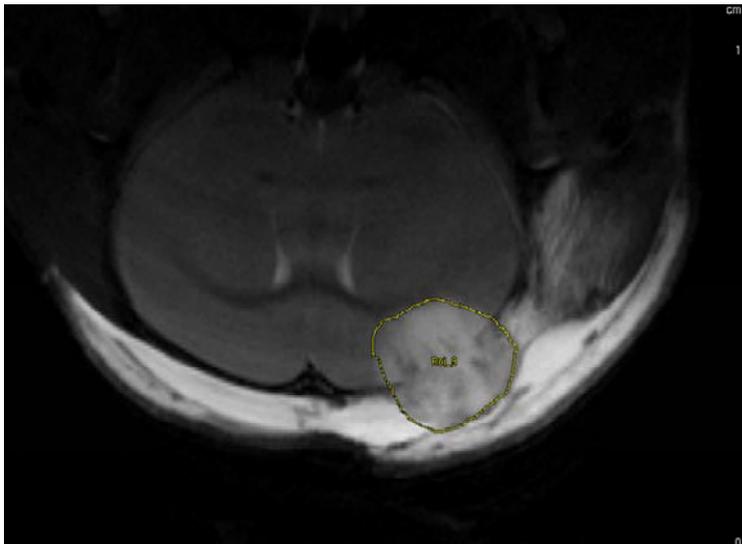


Abb. 11: TRARE- Bild mit eingezeichneter, die Läsion einbeschreibende ROI.

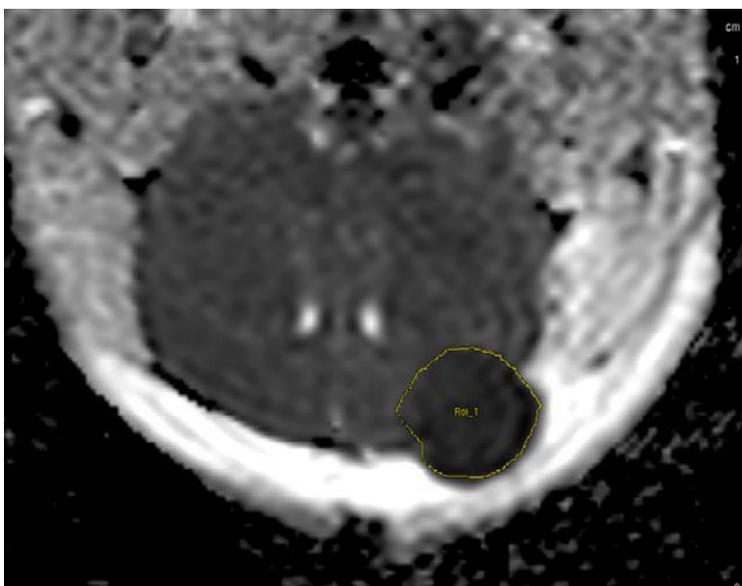


Abb. 12: ADC-Bild desselben Versuchstieres in gleicher Schnitthöhe wie in Abb. 11 zum Vergleich.

3.5 Histologische Untersuchung

Um eine qualitative histologische Untersuchung zu ermöglichen, wurden zwei zufällig gewählte Mäuse pro Gruppe im Anschluss an die MRT getötet. Hierfür wurden die Versuchstiere mit der unter 3.2.1 beschriebenen Methode in einen narkotisierten Zustand versetzt und ihnen sodann eine letale, aber nicht sofort wirksame, intraperitonealen Injektion mit Pentobarbital - Natrium, einem Barbiturat, verabreicht. Nach der anschließenden Thoraxeröffnung wurde in den linken Ventrikel des noch schlagenden Herzens eine Fixationslösung injiziert. Über eine kleine Inzision des rechten Ventrikels konnte das Blut abgeleitet und so eine durchgehende Perfusion des Gehirns mit Fixationslösung sichergestellt werden. Mit mikrochirurgischem Besteck konnte nach der Schädelöffnung das Gehirn herauspräpariert und in Formalinlösung zur Aufbewahrung gegeben werden.

Für die histologische Aufarbeitung wurden die Gehirne mittels Shandon Hypercenter XD sowie Histocenter 2 entwässert und in Wachsblöcke gegossen. Aus diesen wurden die Schnittpräparate gefertigt. Dies erfolgte mit einem Schlitten-Mikrotom (LEICA SM 2000R), mit dem im Abstand von 0,75 mm je eine Schnittserie mit zwei Schnitten gewonnen wurde. Pro Gehirn wurden so vier bis zehn Schnittserien angefertigt.

Jeweils ein Parafinschnitt einer Serie wurde dann mit Hämatoxylin-Eosin (HE), der andere mit einer Nissl-Reagenz gefärbt. Mit der HE-Färbung wurden vor allem der Zellkern, das raue, endoplasmatische Retikulum als auch die Plasmaproteine angefärbt. Die Nisslfärbung ist insbesondere für die Kolorierung von Nervengewebspräparaten geeignet, da primär Elemente des Perikaryon angefärbt und Überlagerungen durch Axone und Dendriten vermieden werden. Die digitale Erfassung der Gesamtübersichtsaufnahme erfolgte mit einem Scanner (EPSON Scan Perfection V10) in einer Auflösung von 921 x 982 Pixeln entsprechend 19,5 mm x 20,8 mm in einer 48-Bit-Farbaufnahme.

Die mikroskopischen Detailaufnahmen wurden mit einem Olympus-Mikroskop (OLYMPUS BH-2) mit aufgesetzter, digitaler USB- Kamera (HENGTECH) erstellt.

3.6 Statistische Methoden

Alle statistischen Analysen wurden mit dem Programm GraphPad Prism (Version 5.01, 2007) erstellt. Eine *one-way* ANOVA mit Bonferroni Multiple Comparison-Test wurde verwendet, um die numerischen Ergebnisse auszuwerten.

4. Ergebnisse

Es werden zunächst die erhobenen Kontrollvariablen, die die Aussagekraft der Ergebnisse gewährleisten, dargestellt. Dies betrifft insbesondere die Daten zur Gruppenvergleichbarkeit und zur Validität der Methodik. Im Anschluss werden die Ergebnisse der neurologischen Testungen, der MRT, sowie die Gewichtsänderung 24 Stunden postoperativ gezeigt.

4.1 Operationsverlauf und Initialgewicht der Versuchstiere

Um die Validität und Vergleichbarkeit der einzelnen Gruppen untereinander sicherzustellen, wurden verschiedene Parameter erfasst. Sie zeigen, dass es bei den perioperativen Abläufen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren gab.

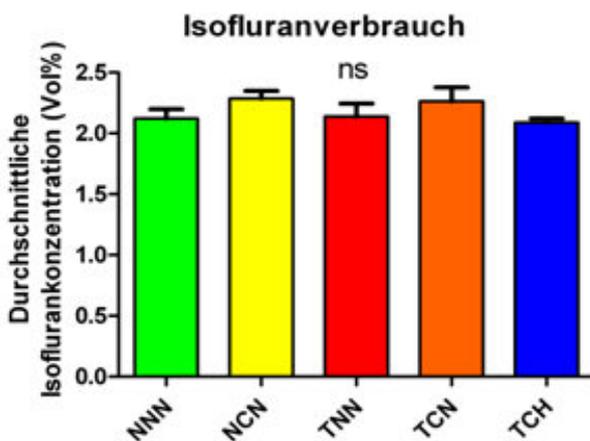


Abb. 13: Prozentualer Anteil des Narkosegases am Gesamtgemisch im Mittel während der Narkose.

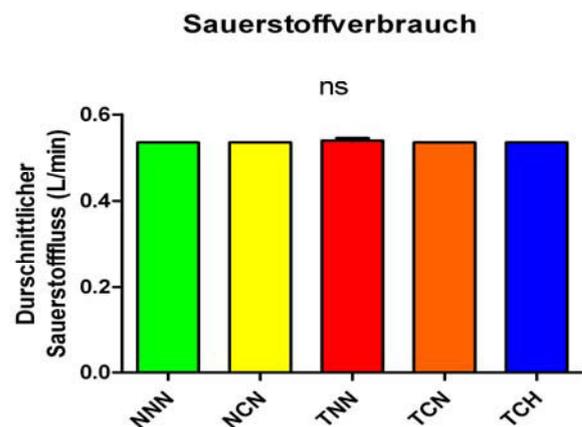


Abb. 14: Mittlerer Sauerstofffluss während der Narkose

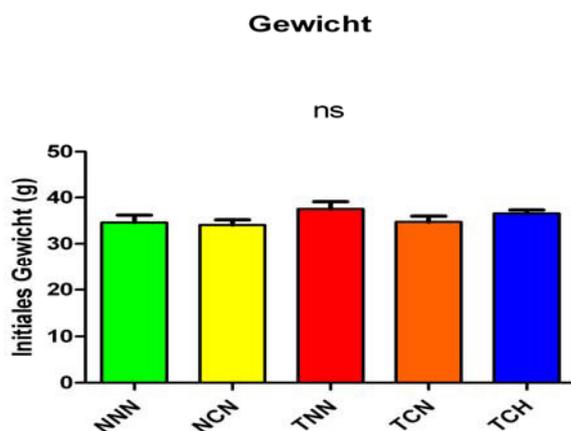


Abb. 15: Initialgewicht der Versuchstiere vor der OP.

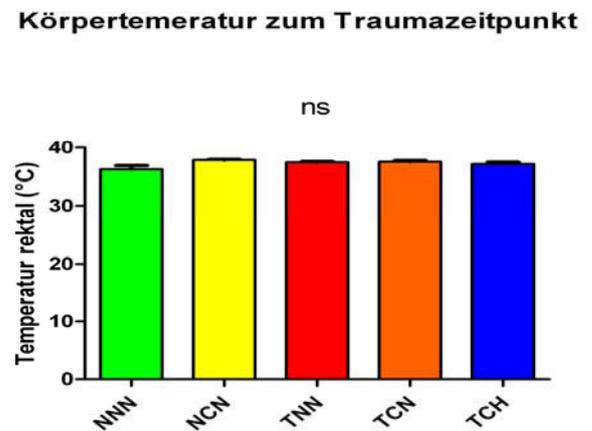


Abb. 16: Körpertemperatur zum Zeitpunkt des Schädelhirntraumas

Bei der Narkosegaszuteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen den Tieren erkennbar. Der Isofluranverbrauch betrug $2,2 \text{ Vol}\% \pm 0,1 \text{ Vol}\%$, der Sauerstoffbedarf lag bei $0,54 \text{ L/min} \pm 0,01 \text{ L/min}$ in allen Gruppen. Eine signifikante Differenz ist ebenso wenig beim Initialgewicht der Versuchstiere ($35,5 \text{ g} \pm 1,7 \text{ g}$ über alle Gruppen) als auch bei der Körpertemperatur zum Traumazeitpunkt zu finden. Diese wurde rektal gemessen und lag in allen Gruppen bei physiologischen $37,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Um nachweisen zu können, dass eine selektive Kühlung des Kopfes in der Hypothermiegruppe (TCH) bestand, muss ein scharfer Temperaturgradient zwischen Kopf und Rumpf vorliegen.

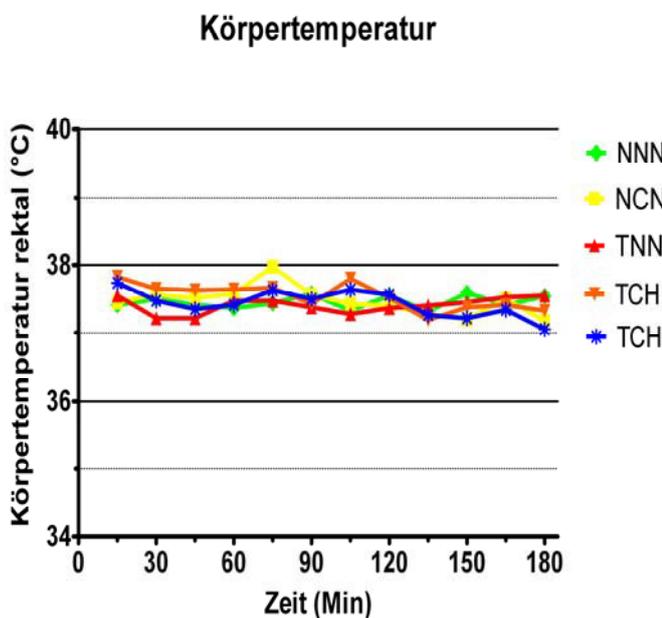


Abb. 17: Mittlerer Temperaturverlauf während der OP bei den verschiedenen Gruppen.

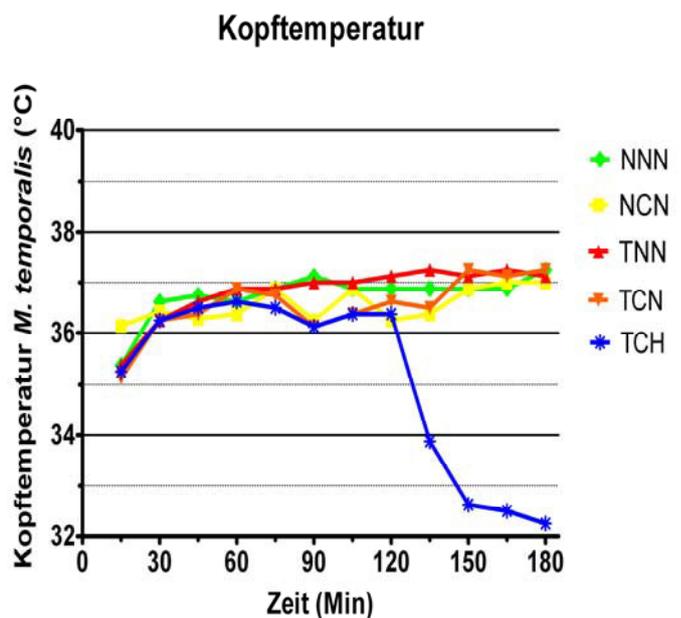


Abb. 18: Mittlere Kopftemperatur der Mäuse während der operativen Maßnahmen.

Bei dem rektal gemessenen Körpertemperaturverlauf findet man keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Wie in Abb. 17 dargestellt, lag die mittlere Körpertemperatur in allen Gruppen im Verlauf bei physiologischen Werten um $37,5^\circ\text{C}$, das gilt insbesondere auch für die Tiere der Hypothermiegruppe (TCH). Nach Beginn der Kopfkühlung ab der 120. Minute sank die im *M. temporalis* gemessene Kopftemperatur bei Tieren der Hypothermiegruppe (TCH) auf die Zieltemperatur von 32°C bis 33°C ab, diese wurde beibehalten bis das Experiment beendet war. Bei Mäusen die nicht zur Hypothermiegruppe gehörten entsprach die Kopftemperatur in etwa der Rumpftemperatur.

4.2 Ergebnisse der neurologischen Untersuchung

4.2.1 Neurological Severity Score (NSS)

Beim NSS gibt die erreichte Punktezahl an, wie viele Fehlerpunkte eine Maus im Laufe des Tests akkumuliert hat. Je höher die erreichte Punktezahl, desto schlechter hat das Tier im NSS abgeschnitten.

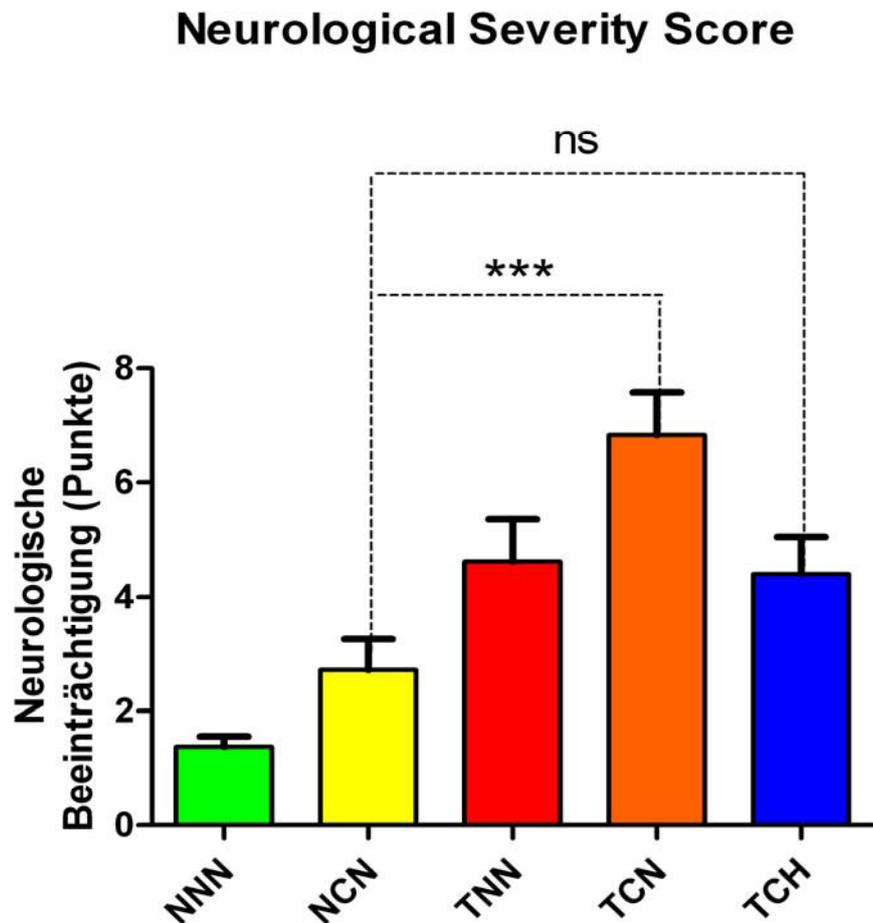


Abb. 19: Graphische Darstellung des Ergebnisses des NSS, die Signifikanzen sind in Bezug auf die NCN Gruppe gezeigt.

Das beste neurologische Verhalten wiesen die Tiere der Shamgruppe (NNN) mit $1,38 \pm 0,52$ Punkten, gefolgt von der Kraniektomiegruppe (NCN) mit $2,72 \pm 1,51$ Punkten und der Hypothermiegruppe (TCH) mit $4,41 \pm 1,79$ Punkten, auf. Mäuse der Traumagruppe (TNN) sammelten $4,6 \pm 2,07$ Fehlerpunkte, das größte neurologische Defizit zeigte sich mit $6,84 \pm 2,1$ Punkten bei den Tieren, die einem Trauma mit anschließender Kraniektomie (TCN) unterzogen wurden.

In Relation zu Tieren der Gruppe NCN schneiden Mäuse der Gruppe TCN signifikant schlechter ab ($p < 0,01$), wohingegen kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen NCN und TCH zu erkennen ist.

4.2.2 Beam Balance Score (BBS)

Ähnlich dem NSS werden beim BBS Fehlerpunkte addiert. Je mehr Punkte ein Tier erreicht hat, desto beeinträchtigt war sein neurologisches Verhalten. Im Unterschied zum NSS bildet der BBS vor allem die vestibulomotorische Komponente des Verhaltens ab.

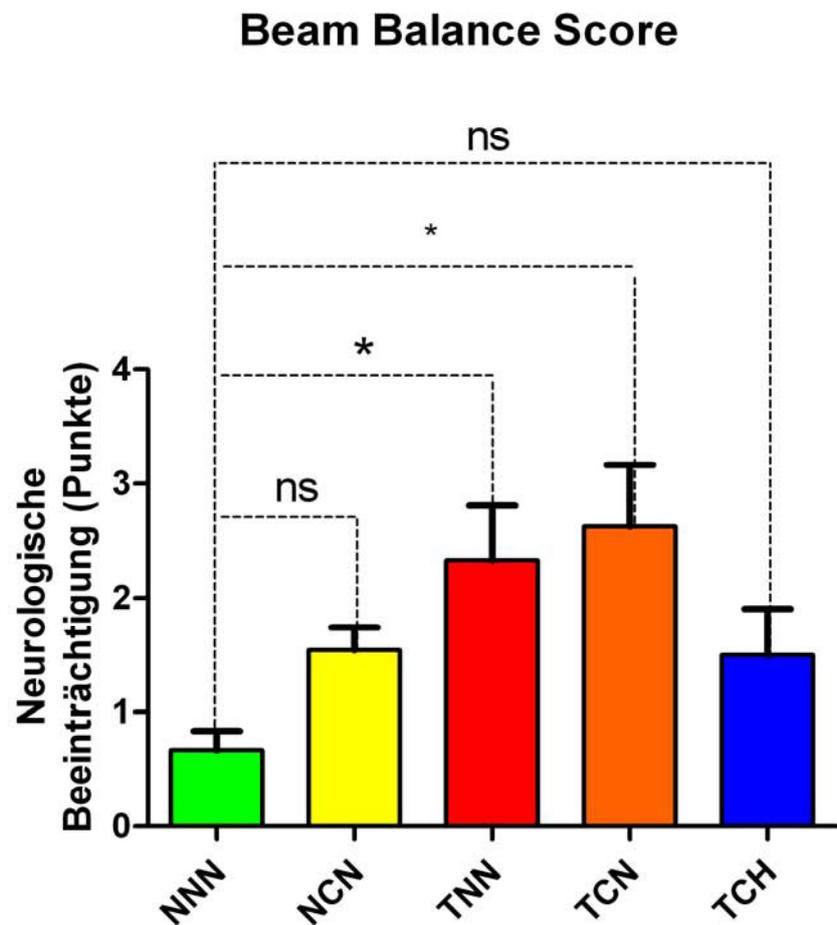


Abb. 20: Graphische Darstellung der BB Ergebnisse.

Die wenigsten neurologischen Ausfälle ($0,67 \pm 0,47$ Punkte) waren in der Gruppe der Shamtiere (NNN) zu finden, gefolgt von der TCH ($1,5 \pm 1,14$ Punkte) und der NCN Gruppe ($1,54 \pm 0,56$ Punkte). Die Gruppen TNN und TCN wiesen $2,33 \pm 1,35$ bzw. $2,63 \pm 1,53$ Fehlerpunkte auf.

Zwischen der Shamgruppe und der TNN sowie der TCN Gruppe zeigt sich eine Signifikanz ($p < 0,05$). Im Vergleich der Gruppen NNN und TCH findet sich kein signifikanter Unterschied.

4.3 MRT- Ergebnisse

4.3.1 Ergebnisse der TRARE – Studie

MRT-Analyse (TRARE)

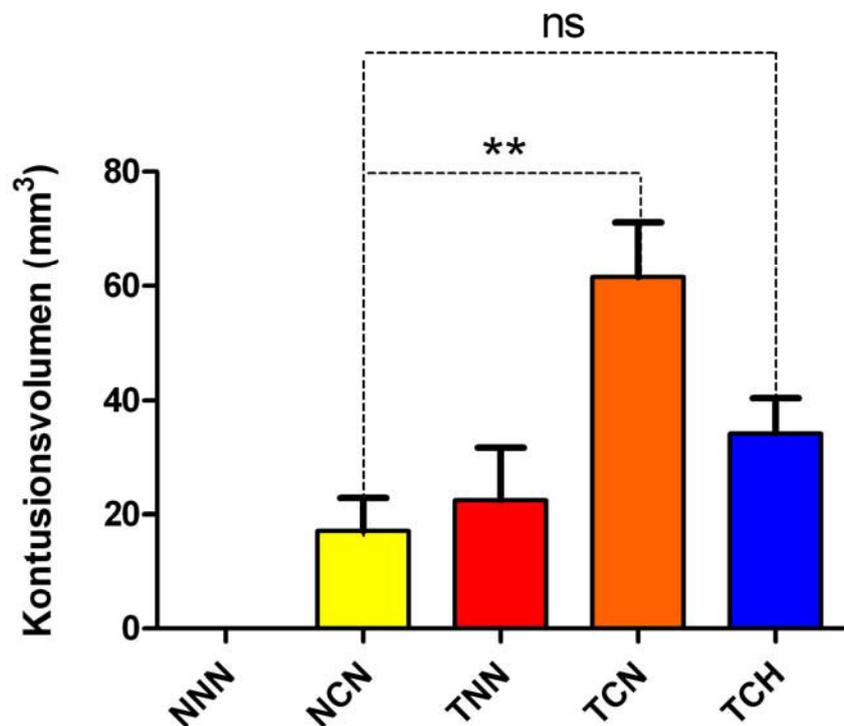


Abb. 21: Graphische Aufschlüsselung der Läsionsvolumina

In der Shamgruppe (NNN) konnte bei keinem Tier eine zerebrale Läsion entdeckt werden. Tiere der Gruppe NCN wiesen im Schnitt $17,14 \text{ mm}^3 \pm 13,94 \text{ mm}^3$ Läsionsvolumen auf, gefolgt von Mäusen der Gruppe TNN und TCH mit je $22,4 \text{ mm}^3 \pm 20,6 \text{ mm}^3$ und $34,11 \text{ mm}^3 \pm 14,17 \text{ mm}^3$. Den größten räumlichen Hirnschaden trugen Tiere der Gruppe TCN davon, hier lag das im TRARE – Bild differenzierbare, mittlere geschädigte Volumen bei $61,53 \text{ mm}^3 \pm 21,3 \text{ mm}^3$.

Eine hohe Signifikanz ($p < 0.01$) zeigte sich im Vergleich der Gruppen TCN und NCN.

Letztere, verglichen mit der Gruppe TCH zeigte keinen signifikanten Unterschied.

Im Folgenden ist eine exemplarische Gegenüberstellung der MRT eines Tieres mit Trauma und Kraniektomie (TCN) und einer Maus aus der Hypothermiegruppe (TCH) in etwa gleicher Schnitthöhe dargestellt. Die größere Läsion im Tier der Gruppe TCN ist klar erkennbar.

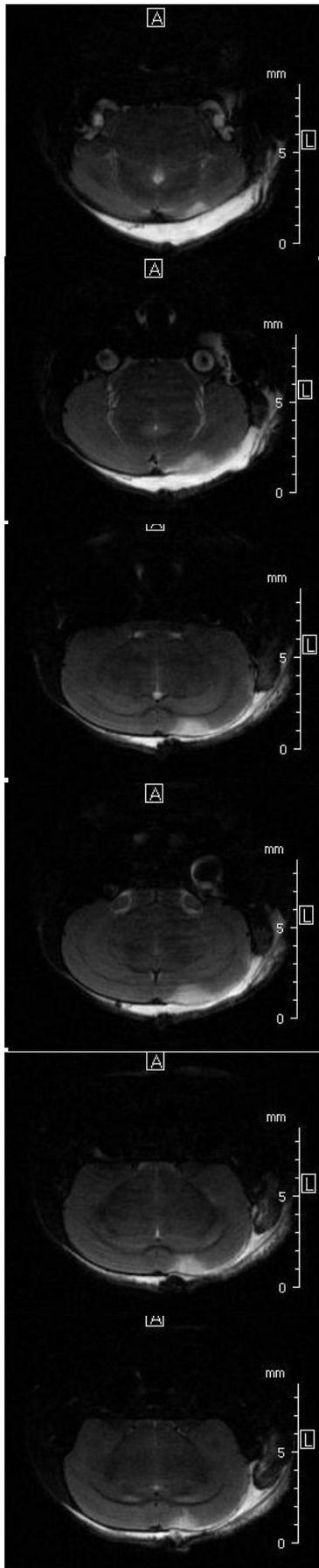


Abb. 22: Ausschnitt aus einer TRARE-Sequenz eines TCH Tieres. Der Schichtabstand liegt bei 0,75mm.

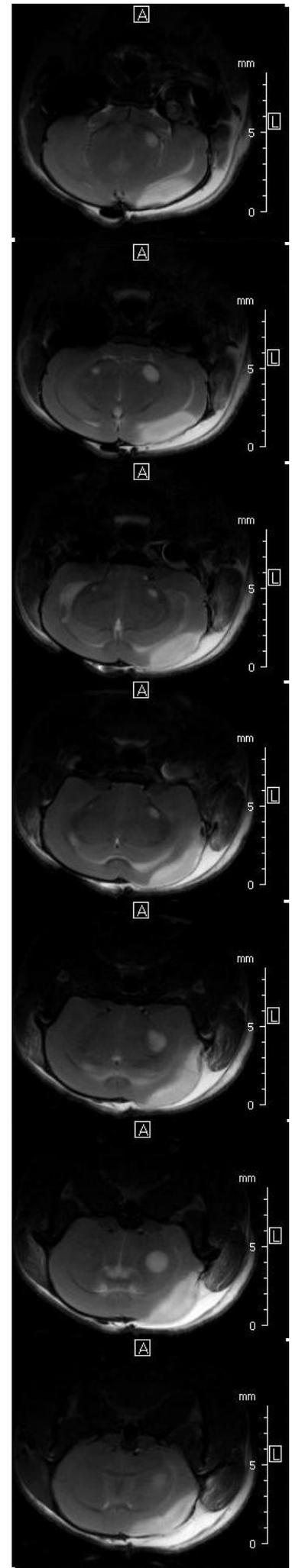


Abb. 23: Ausschnitt aus einer TRARE-Sequenz eines TCN Tieres. Aufgrund der Traumagröße kann hier nur ein Teil der Läsion gezeigt werden.

4.3.2 Ergebnisse der diffusionsgewichteten MRT–Aufnahmen

Die diffusionsgewichteten Aufnahmen eignen sich zur genauen Differenzierung zwischen einem Ödem und anderen Flüssigkeitsansammlungen wie beispielsweise einer Ventrikelstauung oder einer Blutung.

MRT-Analyse (DWI)

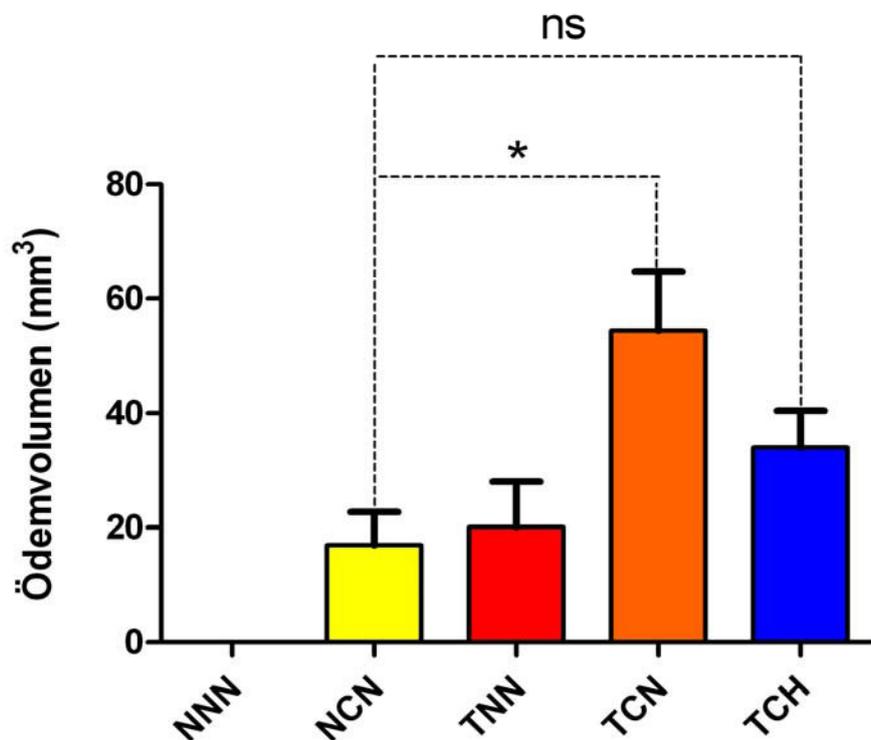


Abb. 24: Verteilung des Ödemvolumens auf die Versuchsgruppen

In der Gruppe NNN war in keiner ADC - Messung ein Hirnödem erkennbar. Tiere der Gruppe NCN wiesen $16,99 \text{ mm}^3 \pm 12,81 \text{ mm}^3$, Mäuse der Gruppe TNN $20,12 \text{ mm}^3 \pm 17,52 \text{ mm}^3$ und Mäuse der Gruppe TCH $33,87 \text{ mm}^3 \pm 14,7 \text{ mm}^3$ Schwellvolumen auf. Tiere, die sowohl einem Trauma als auch einer Kraniektomie unterzogen wurden (TCN), wiesen mit $54,37 \text{ mm}^3 \pm 23,4 \text{ mm}^3$ das größte Hirnödem auf.

Der Vergleich der Gruppen NCN und TCN stellt sich signifikant dar ($p < 0.05$), weitere Signifikanzen zeigen sich, vor allem im Vergleich NCN und TCH, nicht.

Eine exemplarische Gegenüberstellung der diffusionsgewichteten Aufnahmen eines Tieres mit Trauma und Kraniektomie (TCN) und einer Maus aus der Hypothermiegruppe (TCH), in gleicher Schnitthöhe, findet sich auf der nächsten Seite. Die größere Läsion im Tier der Gruppe TCN ist klar erkennbar.

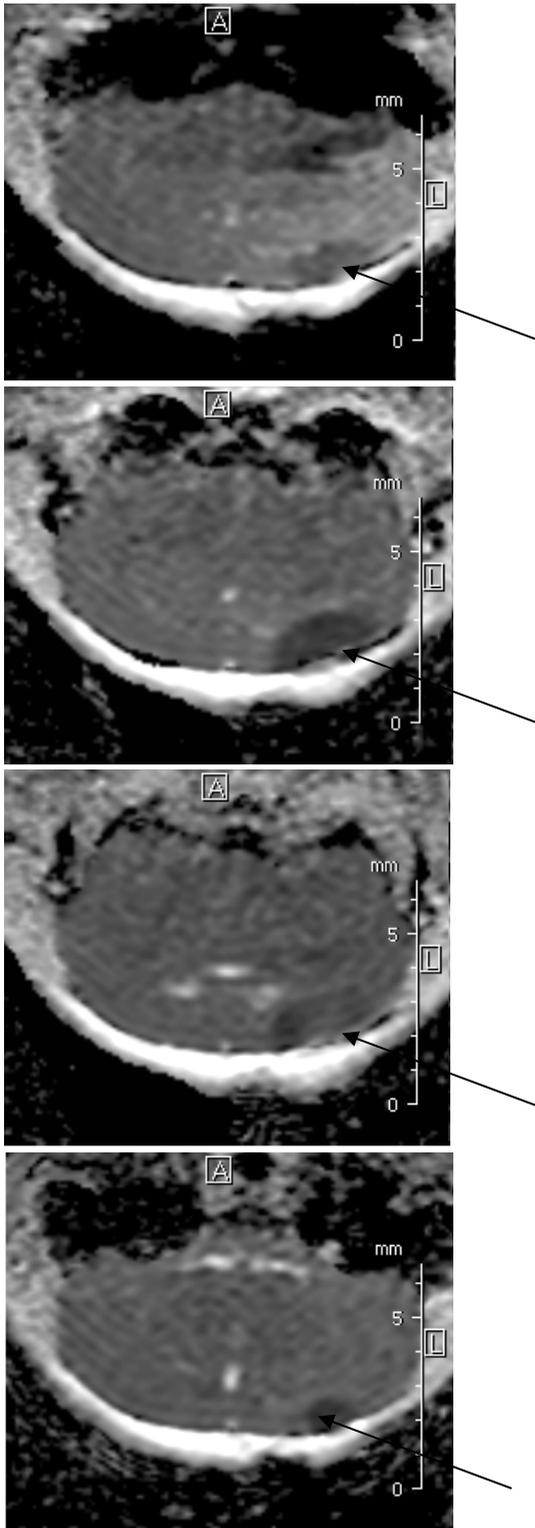


Abb. 25: Ausschnitt aus einer ADC – Sequenz eines TCH Tieres. Der Schichtabstand liegt bei 0,75mm.

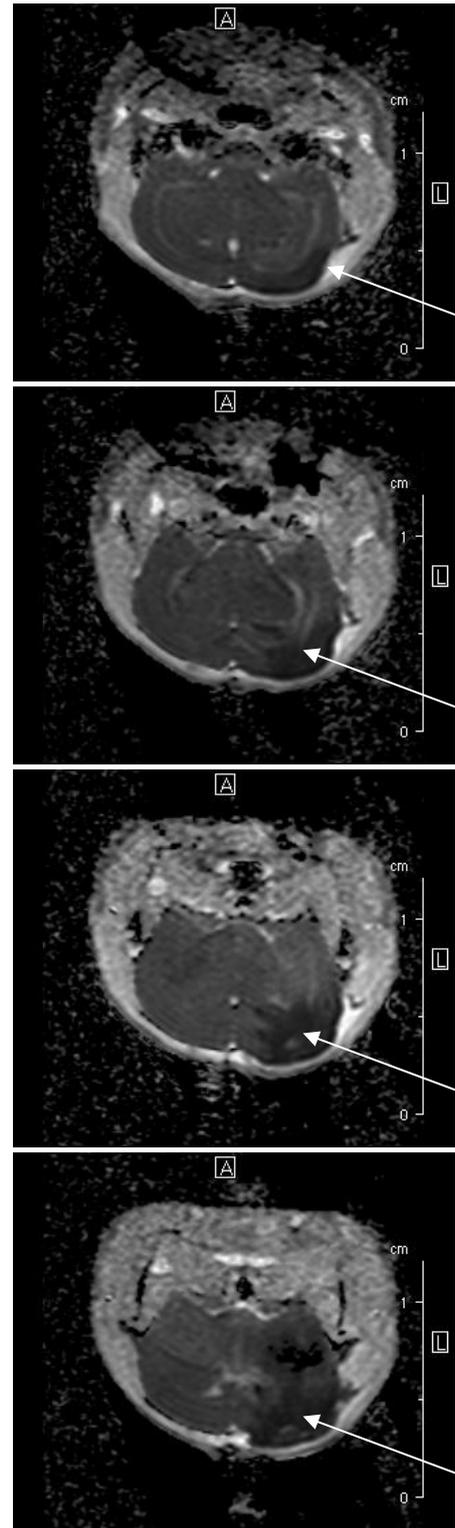


Abb. 26: Ausschnitt aus einer ADC – Sequenz eines TCN Tieres. Der Schichtabstand liegt bei 0,75mm.

4.4 Ergebnisse der histologischen Aufarbeitung

Die histologische Auswertung erfolgte qualitativ an je zwei Tieren pro Gruppe und zeigt, dass das Trauma als auch die im MRT dargestellte Läsion histologisch verifizierbar ist.

4.4.1 Mikroskopie der Präparate

Die in der Literatur beschriebenen typischen posttraumatischen Läsionszeichen sind in den mikroskopischen Aufnahmen erkennbar. Dazu zählen Ansammlungen von Erythrozyten und Hämosiderophagen die in Abb. 27 mit einem Pfeil markiert sind⁸⁰. In dieser Aufnahme finden sich noch vereinzelte dunkel angefärbte Neuronenzellkerne, dazwischen zeigt sich ödematöses Gewebe. Als Zeichen des Zelluntergangs ist eine massive perineurale Vakuolisierung in Abb. 28 erkennbar⁶¹.

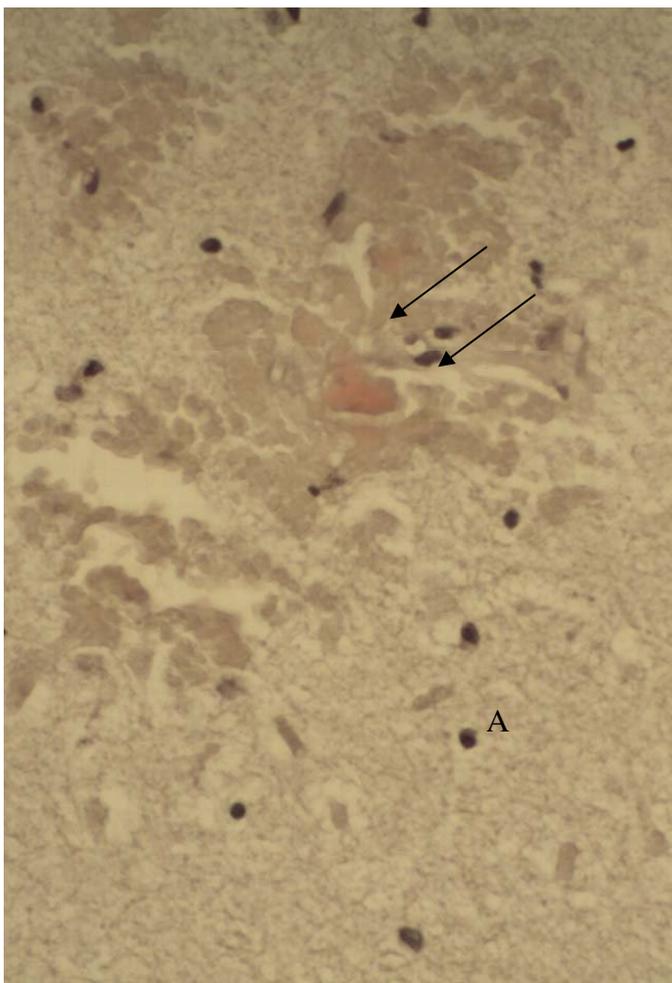


Abb. 27: Mikroskopische Aufnahme eines HE-Präparates eines TNN-Tieres.

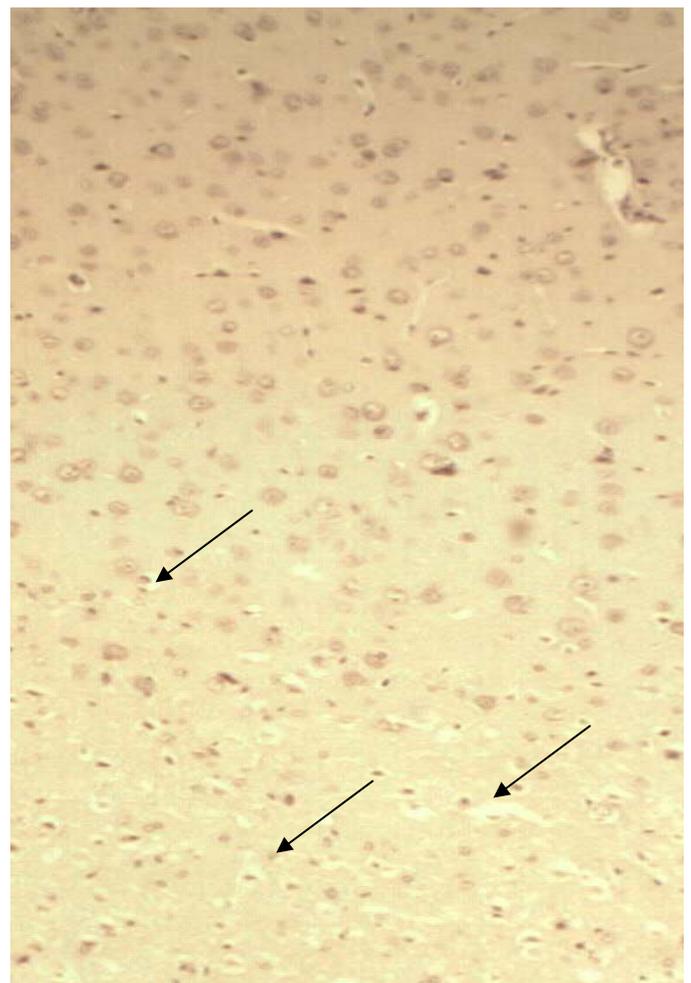


Abb. 28: Übergang von gesundem neuronalen Gewebe oben, zur Ödemzone unten, an einem TNN-Tier in HE Färbung.

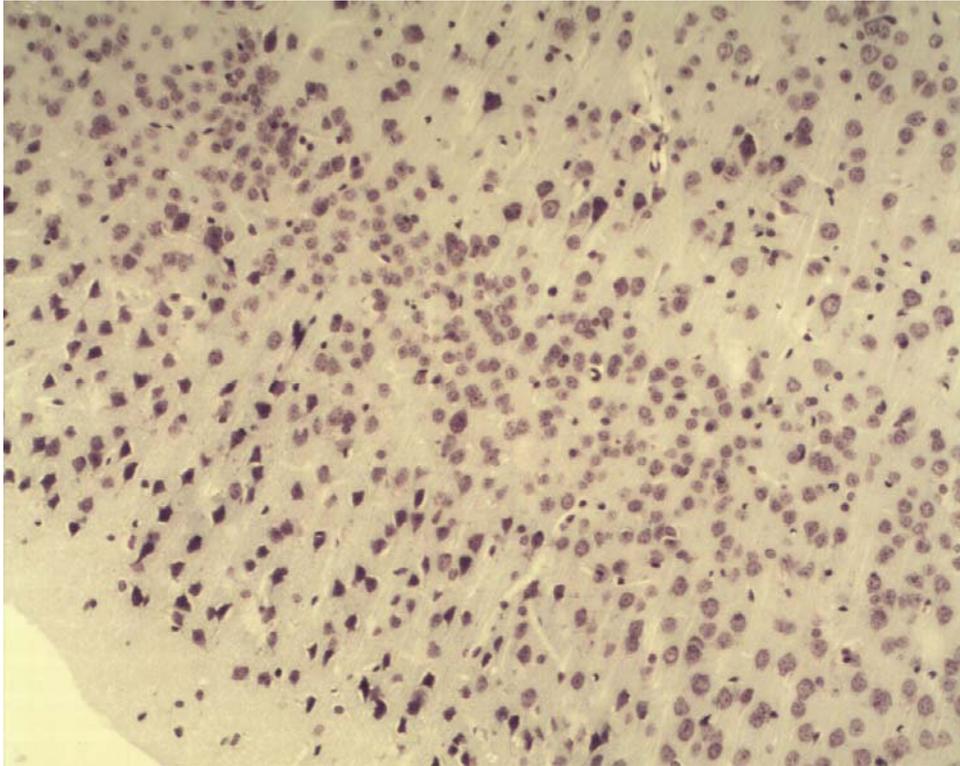


Abb. 29: Ausschnitt aus einem Nissl - Präparat eines TNN - Tieres kontralateral des Traumas. Erkennbar ist eine hohe physiologische Zellkerndichte.



Abb. 30: Ausschnitt aus der Traumazone des Tieres von Abb. 29. Es fällt die starke Reduktion der Zellkerndichte gegenüber Abb. 29 auf.

4.4.2 Makroskopische Übersicht, HE-Präparate

Im makroskopischen Teil der histologischen Ergebnisse ist je ein Tier aus der Gruppe TCN einem Tier der Hypothermiegruppe (TCH) in etwa gleichen Schnitthöhen gegenübergestellt. Dabei wird exemplarisch das geringere Läsionsvolumen in der Gruppe TCH gegenüber der Gruppe TCN gezeigt.

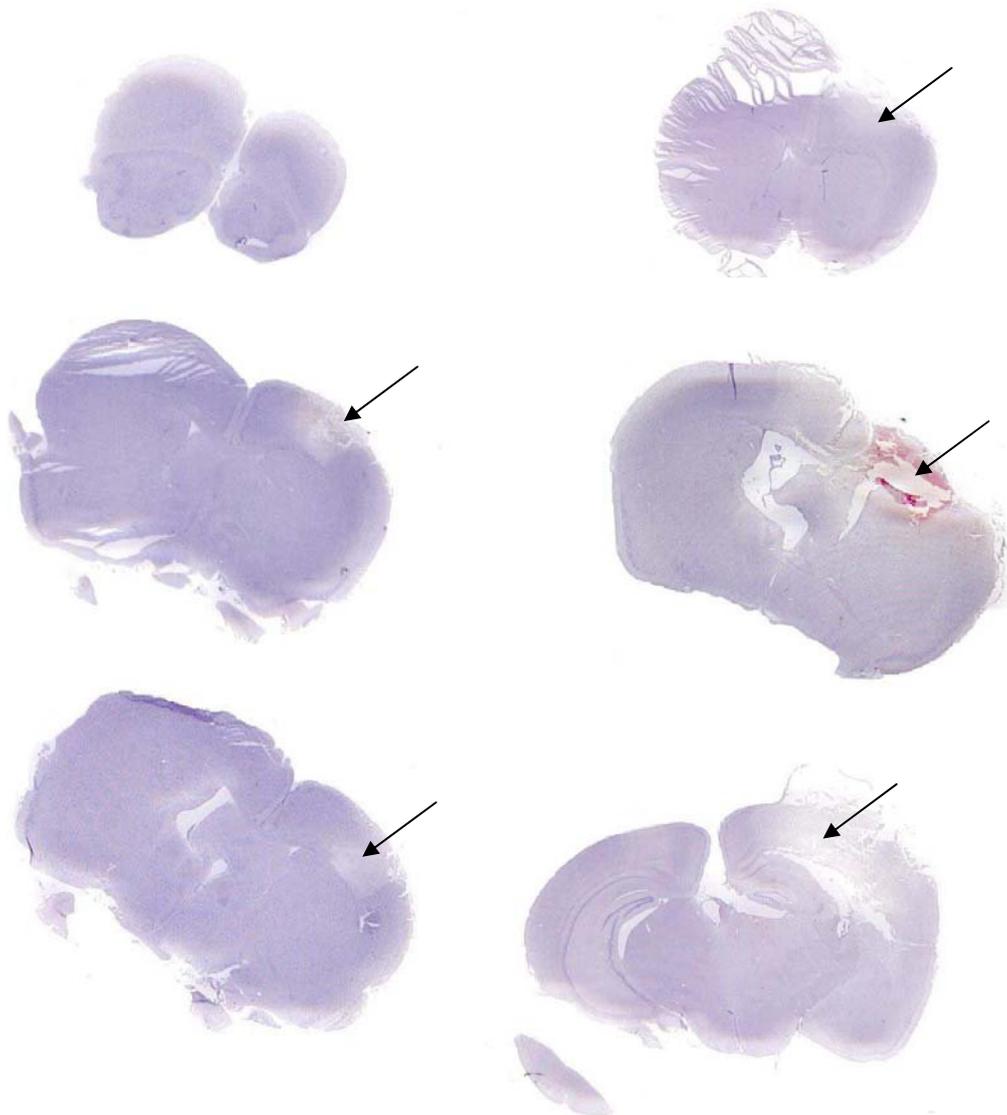


Abb. 31: Exemplarische Schnitte aus einem TCH-Tier, die Ödemzone ist mit dem Pfeil markiert.

Abb. 32: Exemplarische Schnitte auf etwa gleicher Höhe wie in Abb. 31 aus einem TCN-Tier.

4.4.3 Makroskopische Übersicht, Nissl - Präparate

Es handelt sich um die gleichen Tiere und Schnittserien wie unter 4.4.2, in Nisslfärbung. Auch hier ist das geringere Läsionsvolumen bei dem Tier der Hypothermiegruppe (TCH) gegenüber dem Tier der Trauma und Kraniektomiegruppe (TCN) dargestellt.

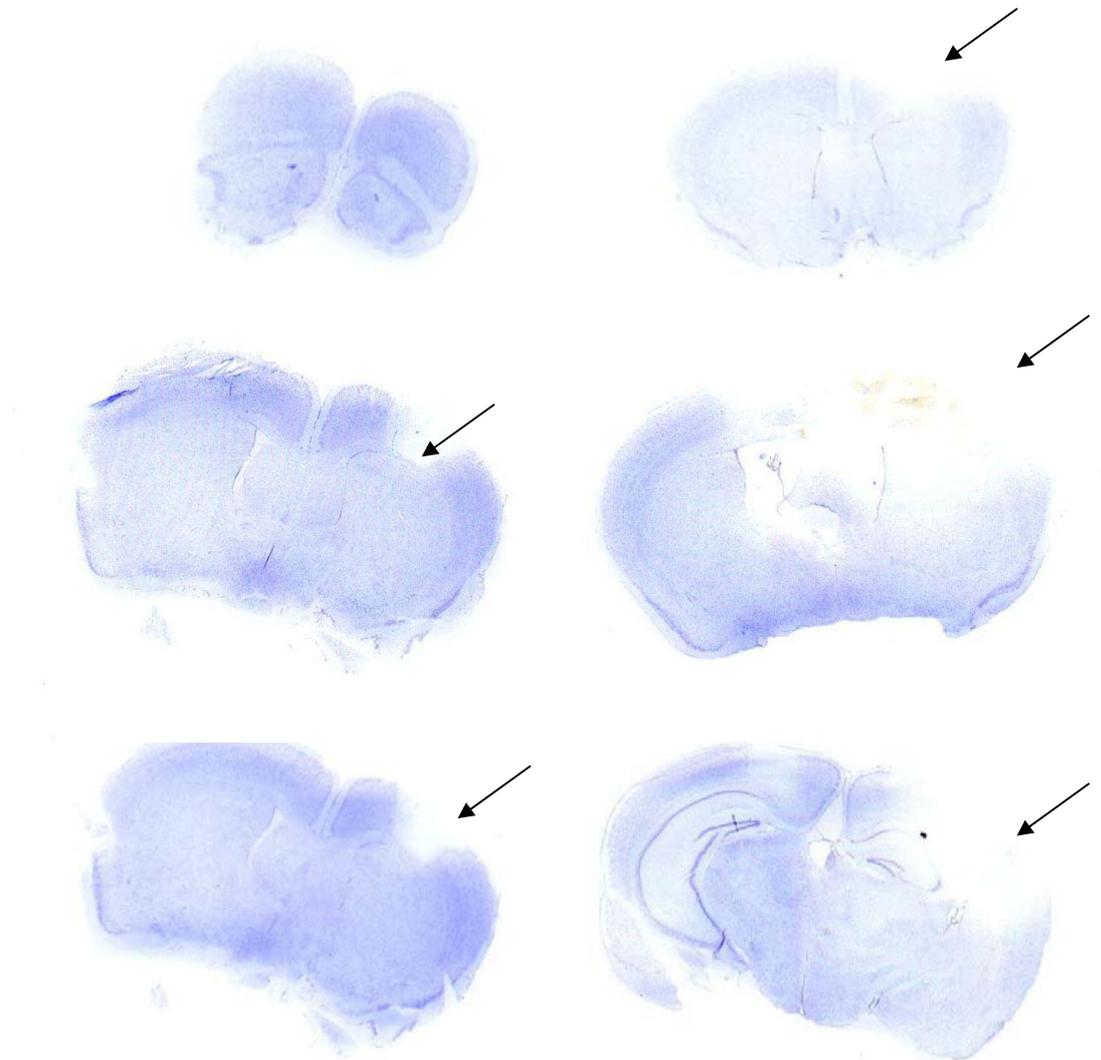


Abb. 33: Hirnschnitt eines TCH-Tieres in Nisslfärbung.

Abb. 34: Hirnschnitte eines TCN-Tieres in Nisslfärbung, der Pfeil markiert wiederum das Ödem.

4.5 Gewichtsänderung 24 Stunden postoperativ

Der Gewichtsverlust der Mäuse 24 Stunden nach dem Trauma wurde als grober Marker für den Allgemeinzustand der Tiere erfasst.

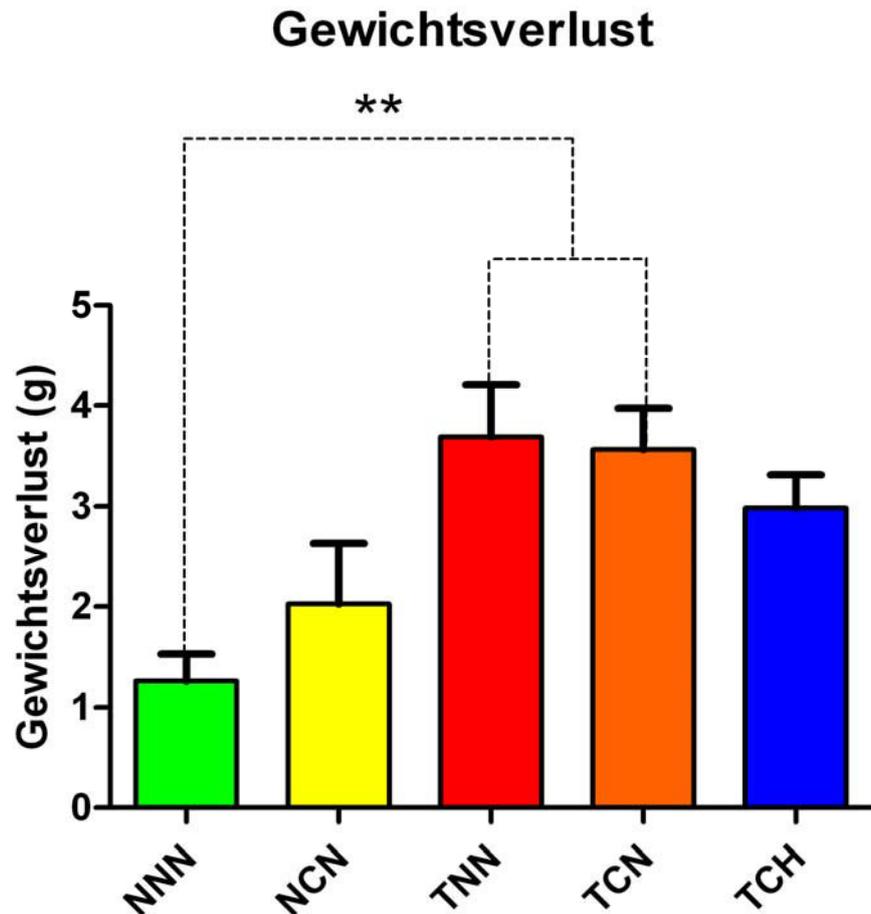


Abb. 35: Darstellung der Gewichtsverluste im Laufe der ersten 24 Stunden nach dem operativen Eingriff.

Der geringste Gewichtsverlust zeigte sich in der Gruppe der Sham operierten Tiere (NNN), diese Mäuse wogen 24h postoperativ im Mittel $1,26g \pm 0,76g$ weniger. Es folgten die Tiere der NCN Gruppe mit $2g \pm 1,72g$.

In den Gruppen TNN und TCN offenbarte sich mit $3,69g \pm 1,47g$ bzw. $3,56g \pm 1,16g$ der größte Gewichtsverlust, wobei dieser im Vergleich zur Shamgruppe (NNN) auch signifikant ($p < 0.0016$) war. Die Tiere der TCH Gruppe verloren im Mittel $2,99g \pm 0,93g$, es bestand kein signifikanter Unterschied zu einer anderen Gruppe.

4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die neurologischen Defizite, als auch die in der MRT sichtbaren Hirnverletzungen, finden in den histologischen Schnitten ein morphologisches Korrelat.
2. In der Hypothermiegruppe (TCH) konnte die Kopftemperatur selektiv auf 32°C bis 33°C gesenkt werden, wobei die Rumpftemperatur bei physiologischen Werten um 37,5°C gehalten wurde.
3. Über alle erhobenen Parameter schnitten die Tiere, die nach einem SHT einer alleinigen dekompressiven Kraniektomie unterzogen wurden (TCN) am schlechtesten ab. Dies betrifft die bildgebenden Verfahren als auch die neurologischen Testungen.
4. Wurde nach einem SHT mit anschließender dekompressiven Kraniektomie noch eine selektive Hypothermie appliziert, so verbesserte sich das *Outcome* der Mäuse unter neurologischen und bildgebenden Aspekten deutlich.

5. Diskussion

Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, in wieweit die dekompressive Kraniektomie und die zerebrale Hypothermie die posttraumatische Ödembildung nach einem experimentellen Schädelhirntrauma beeinflussen. Um die Ergebnisse belastbar vertreten zu können, müssen eine sichere Vergleichbarkeit der Versuchsgruppen sowie valide und reliable Methoden gegeben sein.

5.1 Diskussion der Methodik

5.1.1 Narkose und Gruppenvergleichbarkeit

Für diese Studie wurde eine Isoflurannarkose verwendet. Diese Narkoseform eignet sich optimal für kleine Tiere in experimentell – chirurgischen Studien, was sich in erster Linie mit der einfachen Handhabung erklären lässt⁶⁹. Anders als bei einer intravenösen, intraperitonealen oder subkutanen Applikationsform von Anästhetika läuft man mit der Gasnarkose mit Isofluran nicht Gefahr, durch eine Perforation mit einer Nadel größere ungewollte Verletzungen an den Versuchstieren zu verursachen. Auch entfällt die oft zeitaufwändige Punktion kleiner Venen. Dies gilt umso mehr, je kleiner die Versuchstiere, wie zum Beispiel Mäuse, sind.

Bei dieser Studie war darüber hinaus wichtig, dass die Isoflurananästhesie nicht zu einer hämodynamischen Veränderung führt, die die Durchblutung des ZNS beeinflusst, sondern einen sehr stabilen MAP garantiert⁷⁷.

Bedingt durch die schnelle, einfache und komplikationslose Anwendbarkeit sowie die gute Kontrollierbarkeit der Narkosetiefe, prädestinierte sich diese Narkoseform im SHT – Modell.

Betreffend der zugeteilten Isofluranmenge und des Sauerstoffflusses wurden alle Versuchstiere mit der gleichen Narkoseführung anästhesiert. Die minimalen Gruppenabweichungen bei der Isoflurangaszuteilung stellen kein Problem dar, denn der prozentuale Anteil des Isoflurans am Atemgasgemisch beeinflusst den MAP nicht⁶⁹.

Der bei allen Versuchsgruppen gleiche Sauerstofffluss konnte erreicht werden, indem er am Druckregulator an der O₂-Flasche fest eingestellt und nur zur Narkoseein- und Ausleitung verändert wurde.

Aus diesen Tatsachen ergibt sich in Bezug auf die Narkoseführung, dass alle Mäuse eine vergleichbare Anästhesie erhielten. Da auch das Initialgewicht der Tiere bei allen Gruppen gleich war, kann von einer Vergleichbarkeit der Versuchsgruppen ohne systematische Fehler ausgegangen werden.

5.1.2 Validität des Tiermodells

An ein Tiermodell eines Schädelhirntraumas werden mehrere Bedingungen gestellt: Es muss in der Lage sein, unter Laborbedingungen ein möglichst exaktes Faksimile der pathophysiologischen Vorgänge eines Schädelhirntraumas beim Menschen darzustellen, dies betrifft insbesondere die motorischen und kognitiven Funktionen⁵¹. Verglichen mit anderen neurologischen Erkrankungsbildern ist die Suche nach einem optimalen SHT-Modell relativ jung. In den 1960er Jahren wurden verschiedene Spezies wie Katzen, Hunde und nichthumane Primaten eingesetzt, ehe sich in den 1990er Jahren Kleinnager etabliert haben. Vor allem die einfache Handhabbarkeit, die unkomplizierte Versuchsdurchführung, ökonomische Gründe sowie die Tatsache, dass in Kleinnagern ein gutes Abbild eines menschlichen SHT generiert werden kann, sprechen für diese Gattung⁵¹.

Auch im Nagernmodell kommt es durch ein SHT zu primären ZNS Verletzungen, denen mit zeitlichem Abstand sekundäre Schädigungen folgen. Bei den primären Verletzungen handelt es sich vor allem um Quetschungen und Blutungen, denen sekundär eine Ödembildung, Neuroinflammation, Glutamatausschüttung und andere pathologische Vorgänge, ähnlich denen beim Menschen, folgen⁵¹.

Jedes Tiermodell hat aber auch Grenzen in Bezug auf seine Vergleichbarkeit mit humanen Pathologien. So erholten sich alle Mäuse, die im Rahmen der Prozedur nicht verstarben, innerhalb von 24 Stunden soweit, dass die neurologischen Untersuchungen durchgeführt werden konnten. Wie in der Literatur berichtet, trat auch bei den Versuchen dieser Arbeit bei keinem Tier eine Form des vegetativen Status auf, der beim Menschen einen gefürchteten Endzustand nach einem SHT darstellt^{44, 51}.

Im Gegensatz zu Doerfler et al. die in einem ähnlichen Studiendesign für ein Infarktmodell Ratten als Versuchstiere verwendeten, wurden in dieser Dissertation Mäuse eingesetzt²³. Aufgrund der Physiognomie der Maus verbraucht sie weniger Nahrung und weniger Medikamente als eine Ratte, darüber hinaus ist die experimentelle Handhabung aufgrund der

Größe einfacher. Dadurch bietet sich bei einem Mausmodell ein ökonomischer Vorteil gegenüber einem Rattenmodell.

Zusätzlich bleibt der Umstand, dass mit transgenen Mäusen weitergehende Untersuchungen an genetisch modifizierten Tieren durchgeführt werden können. Die Möglichkeit solche Experimente mit transgenen Ratten durchzuführen ist, aufgrund der stark eingeschränkten Verfügbarkeit, im Vergleich zu Mäusen beschränkt.

5.1.3 Traumamodell

Die zur Traumaapplikation verwendete Fallgewichtmethode wurde von Chen et al. für Mäuse adaptiert¹⁷. In der Literatur werden verschiedene andere Methoden beschrieben, ein Schädelhirntrauma an Versuchstieren zu setzen. So zum Beispiel das *Fluid Percussion Injury* (FPI) – Modell, bei dem eine Flüssigkeit mit hoher Geschwindigkeit auf die zuvor durch eine Kraniektomie freigelegte Dura mater geschossen wird. Dieses Modell wurde bereits für Mäuse angepasst, erfordert aber, um reproduzierbare Ergebnisse zu liefern, ein hohes Maß an Feintrimmung¹⁶. Andere Möglichkeiten, zum Beispiel ein kryogen verursachtes Trauma oder ein *Controlled Cortical Impact* (CCI) Traumamodell, bei dem mit einer pneumatischen Pistole an der offen gelegten Dura eine Deformation verursacht wird, wären als anwendbare Modelle denkbar⁵⁵.

All diese Methoden haben aber gegenüber der Fallgewichtmethode den Nachteil, dass sie keine realitäts- und kliniknahen Bedingungen für das Trauma voraussetzen. Insbesondere die Methoden FPI und CCI erfordern vor ihrer Anwendung eine Kraniektomie, die, wenn überhaupt, in der Realität nur nach dem Trauma als Behandlungsmethode angewendet wird. Auch ein kryogenes Trauma kam für diese Studie nicht in Betracht, da im Anschluss die Auswirkungen einer hypothermen Behandlung untersucht werden sollten und eine mögliche Verfälschung der Ergebnisse durch ein Kältetrauma ausgeschlossen werden musste. Darüber hinaus sprachen die einfache Anwendbarkeit und die hohe Reproduzierbarkeit für die Fallgewichtmethode nach Chen et al.^{2,17}.

Betrachtet man die Ergebnisse der Studie, so stellt man fest, dass zuverlässig ein reproduzierbares Trauma erzeugt wurde. Im Vergleich der Gruppen NNN und TNN zeigt sich dies in signifikanten Unterschieden bei den Messungen des Gewichtsverlustes, des NSS - Testes und des BB – Testes. Auch in den TRARE – und den ADC – Bildern ist bei der TNN – Gruppe im Vergleich zur NNN Gruppe klar eine Traumabildung in Form von Schwellung und

Ödemen zu erkennen. Darüber hinaus konnte in Tieren der Gruppe TNN auch histologisch eine Traumazone mit Ödembildung nachgewiesen werden.

5.1.4 Hypothermie im Mausmodell

Wie man an den Temperaturverläufen in den Abb. 17 und 18 erkennen kann, wurde zunächst bei allen Tieren im Rahmen der Experimente eine gleiche Körpertemperatur erreicht. Das heißt, der Rumpf aller Tiere war im Laufe der Versuche in einem normothermen Zustand. Auch die Kopftemperatur konnte bei allen Tieren, die nicht zur Hypothermiegruppe gehörten, auf einem physiologischen Wert gehalten werden. Lediglich in der TCH Gruppe sank die Kopftemperatur nach Beginn der lokalen Kühlung auf einen Wert um 32°C ab. Zum Zeitpunkt der Traumaapplikation lag bei allen Versuchstieren eine physiologische Kopftemperatur von 37,5°C vor. Somit kann ausgeschlossen werden, dass kurz vor oder im Moment des Traumas ein hypothermer Zustand vorgelegen hat, der die Ergebnisse verfälschen könnte. Aus diesen Betrachtungen lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen:

1. Da zum Zeitpunkt des Traumas die Kopftemperatur bei allen Tieren gleich war, kann von einer guten Vergleichbarkeit der Versuchsgruppen ausgegangen werden.
2. Hinsichtlich des Rumpftemperaturverlaufes sind alle Versuchsgruppen miteinander vergleichbar. Somit können Unterschiede in den Messergebnissen tatsächlich auf die Behandlungsunterschiede der Mäuse und nicht auf mögliche systematische Fehler zurückgeführt werden.
3. Dies gilt auch für den Verlauf der Kopftemperaturen der Gruppen NNN, NCN, TNN sowie TCN, bei denen ein normothermer Zustand erreicht werden konnte.

Das Ziel in dieser Studie, den Einfluss der lokalen Hypothermie auf ein SHT zu untersuchen, konnte erreicht werden. Da bei den Versuchstieren der Gruppe TCH die Rumpftemperatur bei einem physiologischen Wert um 37°C lag, die Kopftemperatur aber bei 32°C, kann man klar von einer selektiven Hypothermie sprechen.

5.1.5 Neurologische Untersuchung

Im Rahmen dieser Studie wurden insbesondere die motorische Fähigkeiten der Versuchstiere erfasst, da die hierzu zur Verfügung stehenden Tests eine hohe Sensitivität, Reliabilität und Validität aufweisen³². Die motorische Funktion wird von einem komplexen Netzwerk von kortikalen und subkortikalen Arealen ermöglicht. Hierzu zählen neben dem motorischen auch der sensorische Kortex, die Basalganglien, der Thalamus, das Kleinhirn, der Hirnstamm und verschiedene auf- und absteigende Bahnen des Rückenmarks^{31, 76}. Einer neurologischen Beeinträchtigung können mannigfaltige Schädigungen in diesen funktionellen Systemen zugrunde liegen²⁷.

Das Ziel eines neurologischen Tests muss es sein, eine möglichst große Korrelation zwischen dem neurologischen Defizit und der beobachteten Traumastärke aufzuweisen²⁷.

Mit dem NSS wurde ein Gesamtbild der motorischen Funktionen erhoben. Da er die verschiedensten Facetten einer motorischen Reaktion untersucht, wird er von anderen Autoren gerne verwendet⁸². Es werden insbesondere die Kraft einer motorischen Reaktion und die Reflexe evaluiert²⁷. Ein weiterer Vorteil ist die graduelle Abstufbarkeit der Ergebnisse (0; 0,5 oder 1 Punkt), wodurch eine hohe Sensitivität erreicht werden kann. Dieser Vorteil wird aber um den Preis einer möglicherweise höheren Subjektivität in der Leistungsbeurteilung „erkauft“²⁷.

Mit dem BBS wurde noch ein Test durchgeführt, der auf die vestibulomotorische Komponente fokussiert²⁷. Da diese Untersuchung Basisfähigkeiten wie Balance und Koordination überprüft, eignet sie sich hervorragend, um die Erholung nach einem SHT zu evaluieren²⁷. Zu den Vorteilen dieses Tests zählt neben dem hohen Reliabilitätskoeffizienten ($r = 0,83$) die relativ einfache Durchführung und die geringen Kosten³². Da es sich um eine graduelle Untersuchung handelt, ergibt sich ein Vor- und Nachteilsprofil ähnlich dem des NSS.

5.1.6 MRT im Mausmodell

Die MRT der Versuchstiere wurde 24 Stunden nach dem Trauma angefertigt. Zwei Studien mit Mäusen, an denen ein SHT mittels eines *Controlled Cortical Impact* (CCI) Modells untersucht wurde, kamen zu dem Schluss, dass eine Hirnschwellung nach 24 Stunden nicht

weiter an Größe zunimmt^{83, 84}. Aber auch andere Autoren, die beispielsweise Infarktmodelle an Ratten untersuchten, verwendeten diesen 24 Stunden Endpunkt³⁷.

Die Ödembildung kann auch histologisch verifiziert werden. Neben den makroskopischen Übersichtsaufnahmen, auf denen das Ödem zu erkennen ist, finden sich auch mikroskopische Ödemcharakteristika in den Präparaten. Dazu zählen neben einer verringerten Zellkerndichte auch Erythrozyten- und Hämosiderophagenkonglomerate sowie eine perineurale Vakuolisierung^{61, 81}.

Die detaillierten biophysikalischen Mechanismen, die hinter der Änderung des Diffusionskoeffizienten in pathologischen Situationen stehen, sind noch nicht ganz verstanden²⁸. Zunächst wurde angenommen, dass die Verschiebung von intra- und extrazellulären Wasservolumina für die Änderung des Diffusionskoeffizienten verantwortlich ist³. In der klinischen Praxis aber kann eine Reduktion des Diffusionskoeffizienten um bis zu 50% beobachtet werden⁵². Mit einem Verschiebemodell der Wasserfraktionen allein ist dies nicht erklärbar^{24, 28}.

Darüber hinaus existieren noch verschiedene andere Hypothesen, die die Diffusionsänderungen in geschädigten Hirnarealen erklären, dennoch ist keine davon bisher ausreichend belegt^{28, 36}.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Dekompressive Kraniektomie im Mausmodell

Die dekompressive Kraniektomie (DC) als Therapieoption des Schädelhirntraumas ist in der Literatur umstritten:

Verschiedene klinische Studien konnten eine positive Wirkung der DC nachweisen. So konnten Kann et al. in einer Studie mit 51 pädiatrischen SHT - Patienten zeigen, dass eine frühe dekompressive Kraniektomie positive Effekte auf das *Outcome* hat³⁸. Vergleichbare Resultate mit ebenfalls sehr jungen Patienten erzielte eine Studie von Tylor et al. mit 27 Fällen⁷⁴. Dass der Nutzen einer dekompressiven Kraniektomie nicht nur auf Kinder beschränkt ist, zeigten 2006 Aarabi et al. an 50 erwachsenen SHT - Patienten mit stark erhöhten ICP Werten¹.

Demgegenüber stehen andere Autoren, wie die der multizentrisch, randomisierten DECRA-Studie von 2011²⁰. Dort wurden 155 Patienten mit SHT entweder einer konservativen Therapie oder einer frühen dekompressiven Kraniektomie unterzogen. Nach 6 Monaten war das *Outcome* in der Kraniektomiegruppe signifikant schlechter als das in der Standardtherapiegruppe²⁰.

Eine der zentralen Fragen dieser Arbeit war, ob die dekompressive Kraniektomie im realitätsnahen Modell, unter neurologischen und bildgebenden Aspekten, einen Vorteil gegenüber einer nicht – chirurgischen Behandlung nach einem SHT bietet?

Diese Frage kann mit einem Nein beantwortet werden. Weder beim Gewichtsverlust 24 Stunden postoperativ, als Indikator des Allgemeinzustandes des Tieres, noch bei den neurologischen Untersuchungen NSS und BB-Test oder der MRT, kann ein positiver Einfluss auf das *Outcome* nach einem experimentellen SHT nachgewiesen werden. Im Gegenteil, über alle erhobenen Daten hinweg schnitten Tiere der TCN Gruppe tendenziell am schlechtesten ab, vor allem aber schlechter als die Mäuse der Traumagruppe TNN.

Eine mögliche Erklärung könnte ein negativer synergetischer Effekt zwischen Trauma und Kraniektomie, im Sinne eines „*second hit*“ – Phänomens, darstellen. Zu dem SHT der Gruppe TNN, scheint sich das chirurgische Trauma durch die Kraniektomie, wie es die Tiere der Gruppe NCN aufweisen, zu addieren.

Diese Ansicht ist konkordant mit den Ergebnissen der DECRA Studie²⁰. Dort wurde unter klinischen Bedingungen ein ähnliches Phänomen beobachtet.

5.2.2 Selektive Hypothermie im Mausmodell

Nachdem sich eine alleinige dekompressive Kraniektomie nicht bewährt hat, blieb als zweite zentrale Frage dieser Dissertation, ob eine zusätzliche additive lokale Hypothermiebehandlung das *Outcome* nach einem SHT verbessern kann.

Die im Rahmen der neurologischen Untersuchungen erhobenen Daten zeigen zunächst im Vergleich der Gruppen TCN und TCH eine deutliche Tendenz hin zu besseren Resultaten in der Hypothermiegruppe TCH.

Betrachtet man die Gruppen NCN und TCN, so findet man ein hohes Maß an Signifikanz. Vergleicht man darüber hinaus die Gruppen NCN und TCH ist aber kein signifikanter

Unterschied erkennbar. So lässt sich eine Divergenz des neurologischen Verhaltens hin zu einem besseren *Outcome* in der Hypothermiegruppe (TCH) nachweisen.

Ein ganz ähnliches Bild zeigt sich in der MRT: Tiere der Gruppe TCH weisen ein deutlich kleineres Läsionsvolumen auf als jene der Gruppe TCN.

Vergleicht man die Messwerte beider Gruppen mit denen der Gruppe NCN, so findet man bei der Gruppe TCN einen signifikanten Unterschied. Im Vergleich der Gruppen NCN und TCH ist aber wieder kein signifikanter Unterschied zu erkennen. Wie bei den neurologischen Experimenten lässt sich so ein statistischer Unterschied der beiden Gruppen TCN und TCH nachweisen.

Nach den Daten dieser Dissertation verspricht, zumindest im Modell, die kombinierte Therapie aus einer dekompressiven Kraniektomie und einer selektiven Hypothermie die besten Therapieerfolge. Die Hypothermie scheint die, durch das zusätzliche chirurgische Trauma bedingten, neurologische Beeinträchtigung und die Ödembildung zu reduzieren. In der Vergangenheit gab es einige kleine klinische Studien, die eine ganzkörperliche Hypothermie nach einem SHT befürworteten^{57, 63}. Andere Autoren sehen dies kritischer: Eine große Studie von Clifton et al. mit 392 Patienten kam zu dem Schluss, dass eine systemische Hypothermiebehandlung im Vergleich zu einer konservativen Behandlung mit einer erhöhten Mortalität einhergeht¹⁹. Es wurde diskutiert, dass der neuroprotektive Effekt einer Hypothermiebehandlung durch die systemischen Nebenwirkungen wie einer Gerinnungsstörung, einer Elektrolytstörungen oder Arrhythmien und Pneumonien wieder nivelliert wird^{53, 59}.

Durch den direkten Zugang zum Gehirn kann eine optimale Applikation der Hypothermie gewährleistet werden, wobei deren Nebenwirkungsprofil durch die lokale Begrenztheit minimiert wird. Die in dieser Dissertation dargestellte Alternative einer selektiven Hypothermie nach einer dekompressiven Kraniektomie bietet daher eine zukunftsweisende Perspektive.

5.3 Schlussfolgerungen

1. Das verwendete Mausmodell eines Schädelhirntraumas und die Durchführung der Experimente bedingen ein vergleichbares und valides Abbild der entsprechenden Vorgänge beim Menschen.
2. Das Ziel, lediglich eine selektive Hypothermiebehandlung zu applizieren und zu untersuchen wurde erreicht.
3. Die alleinige dekompressive Kraniektomie nach einem SHT zeigt, unter neurologischen und bildgebenden Aspekten, keinen Vorteil gegenüber einer nicht – chirurgischen Behandlung.
4. Die kombinierte Behandlung eines SHT mit dekompressiver Kraniektomie und selektiver Hypothermie zeigt die besten Therapieresultate.

6. Ausblick

Diese Studie ergänzt die aktuelle Kontroverse um den Einsatz der Kraniektomie und/oder einer Hypothermie nach einem SHT. Langfristig empfiehlt sich eine klinische Studie um den Effekt der kombinierten Kraniektomie und selektiven Hypothermie unter realen Bedingungen zu erproben. Bis dahin sollten weitere Analysen durchgeführt werden, um den genauen Pathomechanismus aufzudecken und gegebenenfalls Schlüsse für die klinische Situation ziehen zu können.

Das in dieser Dissertation gesammelte, histologische Material, bietet mannigfaltige Optionen um detaillierte morphologisch - histologische Studien auszuarbeiten, in denen die zellulären Prozesse, die einem SHT folgen, genauer beleuchtet werden können.

Mit dem SHT – Model dieser Dissertation besteht weiterhin die Möglichkeit eine tierexperimentelle Langzeitstudie durchzuführen und die Langzeiteffekte einer kombinierten Kraniektomie und lokalen Hypothermie zu evaluieren. Mit transgenen *knock out* Mäusen könnte so der Effekt verschiedener Proteine auf die Ödembildung untersucht werden.

Literaturverzeichnis

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.
J Neurosurg 104:469–479
2. Albert-Weissenberger C, Sirén AL (2010)
Experimental traumatic brain injury.
Albert-Weissenberger and Sirén Experimental & Translational Stroke Medicine 2:16
3. Anderson AW, Zhong J, Petroff OA, Szafer A, Ransom BR, Prichard JW (1996)
Effects of osmotically driven cell volume changes on diffusion-weighted imaging of the rat optic nerve.
Magn Reson Med 35:162–167
4. Baethmann A, Maier-Hauff K, Kempf O (1988)
Mediators of brain edema and secondary brain damage.
Crit Care Med 16:972–8
5. Baker AJ, Zornow MH, Grafe MR, Scheller MS, Skilling SR, Smullin DH, Larson AA (1991)
Hypothermia prevents ischemia-induced increases in hippocampal glycine concentrations in rabbits.
Stroke 22:666-673
6. Balestreri M, Czosnyka M, Hutchinson P, Steiner LA, Hiler M, Smielewski P, Pickard JD (2006)
Impact of intracranial pressure and cerebral perfusion pressure on severe disability and mortality after head injury.
Neurocrit Care 4:8–13
7. Bao YH, Liang YM, Gao GY, Pan YH (2010)
Bilateral decompressive craniectomy for patients with malignant diffuse brain swelling after severe traumatic brain injury: a 37-case study.
J Neurotrauma 27(2):341-7
8. Broca P (1876)
Sur l'age des sujets soumis a la trepanation chirurgicale neulitique.
Bull Soc Anthropol ser 2, 11:572-576
9. Bruce DA, Raphaely RC, Goldberg AI (1979)
Pathophysiology, treatment and outcome following severe head injury in children.
Childs Brain 5:174–191
10. Buki A, Povlishock JT (1999)
Evidence for calpain-mediated spectrin proteolysis in the pathogenesis of traumatically induced axonal injury.
J Neuropathol Exp Neurol 58:365–375

11. Buki A, Okonkwo DO, Wang KKW (2000)
Cytochrome c releases and caspase activation in traumatic axonal injury.
J Neurosci 20:2825–2834
12. Bullock R, Chesnut R, Clifton G, et al. (1996)
Guidelines for the management of severe head injury.
New York Brain Trauma Foundation
13. Bullock R, Chestnut RM, Clifton GL, et al. (2000)
Indications for intracranial pressure monitoring.
J Neurotrauma 17:479–491
14. Bullock R, Chestnut RM, Clifton GL, et al. (2000)
Recommendations for intracranial pressure monitoring technology.
J Neurotrauma 17:497–506
15. Busto R, Globus MY, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD (1989)
Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain.
Stroke 20:904-910
16. Carbonell WS, Maris DO, McCall T, Grady MS (1998)
Adaptation of the fluid percussion injury model to the mouse.
J Neurotrauma 15:217-229
17. 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.
J Neurotrauma 13:557-568
18. Cherian L, Chacko G, Goodman C, et al. (1999)
Cerebral hemodynamic effects of phenylephrine and l-arginine after cortical impact injury. *Crit Care Med* 27:2512–2517
19. Clifton GL, Miller ER, Choi S, et al. (2001)
Lack of effect of induction of hypothermia after acute brain injury.
N Engl J Med 344:556–563
20. Cooper DJ, Rosenfeld J, Murray L, et al. (2011)
Decompressive Craniectomy in Diffuse Traumatic Brain Injury.
N Engl J Med 364:1493-1502
21. Dagal A, Lam AM (2011)
Cerebral blood flow and the injured brain: how should we monitor and manipulate it?
Curr Opin Anaesthesiol 24:131–137
22. Doerfler A, Forsting M, Reith W, Staff C, Heiland S, Schabitz WR, von Kummer R, Hacke W, Sartor K (1996)
Decompressive craniectomy in a rat model of “malignant” cerebral hemispheric stroke: experimental support for an aggressive therapeutic approach.
J Neurosurg 85:853–859

23. Doerfler A, Schwab S, Hoffmann T, et al. (2001)
Combination of Decompressive Craniectomy and Mild Hypothermia Ameliorates Infarction Volume After Permanent Focal Ischemia in Rats.
Stroke 32:2675-2681
24. Duong TQ, Ackerman JJ, Ying HS, Neil JJ (1998)
Evaluation of extra- and intracellular apparent diffusion in normal and globally ischemic rat brain via ¹⁹F NMR.
Magn Reson Med 40:1–13
25. Feldman Z, Kanter MJ, Robertson CS, et al. (1992)
Effect of head elevation on intracranial pressure, cerebral perfusion pressure, and cerebral blood flow in head-injured patients.
J Neurosurg 76:207–211
26. Foulkes MA, Eisenberg HM, Jane JA (1991)
The Traumatic Coma Data Bank: design, methods and baseline characteristics.
J Neurosurg 75:8–13
27. Fujimoto ST, Longhi L, Saatman KE, Conte V, Stocchetti N, McIntosh TK (2004)
Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury.
Neurosci Biobehav Rev. 28:365-378
28. Gass A, Niendorf T, et al. (2001)
Acute and chronic changes of the apparent diffusion coefficient in neurological disorders—biophysical mechanisms and possible underlying histopathology.
Journal of the Neurological Sciences 186:15–23
29. Graham DI, McIntosh TK, Maxwell WL, Nicoll JA (2000)
Recent advances in neurotrauma.
J Neuropathol Exp Neurol 59:641–651
30. Guerrero JL, Thurman DJ, Sniezek JE (2000)
Emergency department visits associated with traumatic brain injury, United States, 1995–1996.
Brain Injury 14:181–186
31. Hamm TM (1990)
Recurrent inhibition to and from motoneurons innervating the Flexor–Digitorum and Flexor–Hallucis–Longus muscles of the cat.
J Neurophysiol 63(3):395–403
32. Hamm RJ (2001)
Neurobehavioral assessment of outcome following traumatic brain injury in rats: an evaluation of selected measures.
J Neurotrauma 18:1207-1216
33. Harper L, Bohlen H, Rubin MJ (1984)
Arterial and microvascular contributions to cerebral cortical autoregulation in rats.
J Physiol 246:17-24

34. Haun S (1992)
Theories of brain resuscitation.
In: Rogers MC, ed. Textbook of pediatric intensive care. Baltimore, MD: Williams and Wilkins 698–732
35. Heiss WD, Rosner G (1983)
Functional recovery of cortical neurons as related to the degree and duration of ischemia.
Ann Neurol 14:194–201
36. Helpert J, Ordidge RJ, Knight RA (1992)
The effect of cell membrane water permeability on the apparent diffusion coefficient of water.
Proc. SMRM, 11th Annual Meeting, Berlin, p. 1201
37. Jieyong B, Zhong W, Shiming Z, Dai Z, Kato Y, Kanno T, Sano H (2006)
Decompressive craniectomy and mild hypothermia reduces infarction size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after permanent focal ischemia in rats.
Neurosurg Rev 29:1–5
38. Kan P, Amini A, Hansen K, White GL Jr, Brockmeyer DL, Walker ML (2006)
Outcomes after decompressive craniectomy for severe traumatic brain injury in children
J Neurosurg 105:337–342
39. Karus JF (1993)
Epidemiology of head injury.
Cooper PR, ed. Head injury. Baltimore, MD: Williams and Wilkins: 1–25
40. Kelly BJ, Luce JM (1993)
Current concepts in cerebral protection.
Chest 103:1246–1254
41. Kroppenstedt S (2003)
Habilitationsschrift: Die Bedeutung des zerebralen Perfusionsdruckes in der Behandlung des schweren Schädel-Hirn-Traumas.
Humboldt Universität Berlin, Onlinepublikation 23 Oktober 2003
42. Lavinio A, Timofeev I, Nortje J, Outtrim J, Smielewski P, Gupta A, Hutchinson PJ, Matta BF, Pickard JD, Menon D, Czosnyka M (2007)
Cerebrovascular reactivity during hypothermia and rewarming.
Br J Anaesth 99:237–244
43. Le Bihan D, et al. (1986)
MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders.
Radiology 161:401–407
44. Leibson CL, Brown AW, Hall Long K, Ransom JE, et al. (2012)
Medical Care Costs Associated with Traumatic Brain Injury over the Full Spectrum of Disease: A Controlled Population-Based Study.
J Neurotrauma

45. Levin H, Gary H, et al. (1990)
Experience o Neurobehavioral outcome 1 year after severe head injury.
J Neurosurg 73:699-709
46. Mangat HS (2012)
Severe traumatic brain injury.
Continuum (Minneap Minn) 18(3):532-46
47. Marik P, Varon J, Trask T (2002)
Management of Head Trauma.
Chest 122: 699-711
48. Marshall LF, Gattille T, Klauber MR (1991)
The outcome of severe closed head injury.
J Neurosurg 75:28–36
49. Messeter K, Nordstrom C-H, Sundbarg G, Algotsson L, Ryding E (1986)
Cerebral hemodynamics in patients with acute severe head trauma.
J Neurosurg 64: 231-237
50. Miller JD, Becker DP (1982)
Secondary insults to the injured brain.
J R Coll Surg Edinb 27:292–298
51. Morganti-Kossmann MC, Yan E, Bye N (2010)
Animal models of traumatic brain injury: Is there an optimal model to reproduce
human brain injury in the laboratory?
J Care Injured 41:10–13
52. Moseley ME, Butts K, Yenari MA, Marks M, de Crespigny A (1995)
Clinical aspects of DWI.
NMR Biomed 8:387–396
53. Mouritzen CV, Andersen MN (1966)
Mechanisms of ventricular fibrillation during hypothermia: relative changes in
myocardial refractory period and conduction velocity.
J Thorac Cardiovasc Surg 51:579-584
54. Muizelaar JP, Wei EP, Kontos HA, et al. (1983)
Mannitol causes compensatory cerebral vasoconstriction and vasodilation in response
to blood viscosity changes.
J Neurosurg 59:822–828
55. Pappius HM (1981)
Local cerebral glucose utilization in thermally traumatized rat brain.
Ann Neurol 9:484-491
56. Popp J (1996)
Pathophysiologic of traumatic brain injury.
Neurosurgery, McGraw-Hill 2623–2637

57. Qiu W, Zhang Y, Sheng H, Zhang J, Wang W, Liu W, Chen K, Zhou J, Xu Z (2007)
Effects of therapeutic mild hypothermia on patients with severe traumatic brain injury after craniotomy.
J Crit Care 22:229–235
58. Qureshi AI, Geocadin RG, Suarez JI, et al. (2000)
Long-term outcome after medical reversal of transtentorial herniation in patients with supratentorial mass lesions.
Crit Care Med 28:1556–1564
59. Rohrer MJ, Natale AM (1992)
Effect of hypothermia on the coagulation cascade.
Crit Care Med 20:1402-1405
60. Sabo T, Lomnitski L, Nyska A, Beni S, Maronpot RR, Shohami E, Roses AD, Michaelson DM (2000)
Susceptibility of transgenic mice expressing human apolipoprotein E to closed head injury: the allele E3 is neuroprotective whereas E4 increases fatalities.
Neuroscience 101:879-884
61. Santos D, et al. (2012)
Closed head injury in rats. Histopathological aspects in an experimental weight drop model.
Acta Cirúrgica Brasileira 27:290-294
62. Scherbel U, Raghupathi R, Nakamura M, Saatman KE, Trojanowski JQ, Neugebauer E, Marino MW, McIntosh TK (1999)
Differential acute and chronic responses of tumor necrosis factor-deficient mice to experimental brain injury.
Proc Natl Acad Sci U S A 96:8721-8726
63. Shiozaki T, Sugimoto H, Taneda M, Yoshida H, Iwai A, Yoshioka T, Sugimoto T (1993)
Effect of mild hypothermia on uncontrollable intracranial hypertension after severe head injury.
J Neurosurg 79:363–368
64. Skippen P, Seear M, Poskitt K, et al. (1997)
Effect of hyperventilation on regional cerebral blood flow in head-injured children.
Crit Care Med 25:1402–1409
65. Smith DH, Nonaka M, Miller R, et al. (2000)
Immediate coma following inertial brain injury dependent on axonal damage in the brainstem.
J Neurosurg 93:315–322
66. Sosin DM, Sniezek JE, Waxweiler RJ (1995)
Trends in death associated with traumatic brain injury, 1979 through 1992: success and failure.
Jama 273:1778–1780

67. Soustiel JF, Svirgi GE, Mahamid E, Shik V, Abeshaus S, Zaaroor M (2010)
Cerebral blood flow and metabolism following decompressive craniectomy for control of increased intracranial pressure.
Neurosurgery. 67(1):65-72
68. Steiger HJ (1999)
Reulen Manual Neurochirurgie.
Ecomed Verlagsgesellschaft 299-302
69. Szczeł̄sny G, Veiheilmann A, et al. (2004)
Long-term anaesthesia using inhalatory isofurane in different strains of mice—the haemodynamic effects.
Laboratory Animals 38: 64–69
70. Szczygielski J (2007)
Impact of the Traumatic Brain Injury on development of Alzheimer’s disease.
Dissertation, Homburg/Saar, Deutschland
71. Szczygielski J, Mautes AE, Schwerdtfeger K, Steudel WI (2010)
The effects of selective brain hypothermia and decompressive craniectomy on brain edema after closed head injury in mice.
Acta Neurochir Suppl. 106:225-9
72. Szczygielski J (2012)
Feasibility of decompressive craniectomy in murine closed head injury model.
Kongress Poster EMN 2012 Heidelberg, Deutschland
73. Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J (2005)
A systematic review of brain injury epidemiology in Europe.
Springer-Verlag, Onlinepublikation 28. November 2005
74. Taylor A, Butt W, Rosenfeld J, Shann F, Ditchfield M, Lewis E, Klug G, Wallace D, Henning R, Tibballs J (2001)
A randomized trial of very early decompressive craniectomy in children with traumatic brain injury and sustained intracranial hypertension.
Childs Nerv Syst 17:154–162
75. Thurman D, Guerrero J (1999)
Trends in hospitalization associated with traumatic brain injury.
Jama 282:954–957
76. Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS (2001)
Human physiology themechanisms of body function.
8th ed. Boston: McGraw-Hill
77. Vollmar B, Habazettl H (1993)
Organ blood flow and microcirculation during inhalation anaesthetics.
Clinical Anaesthesiology International: Practice and Research 7: 961–90

78. Weiner GM, Lacey MR, Mackenzie L (2010)
Decompressive craniectomy for elevated intracranial pressure and its effect on the cumulative ischemic burden and therapeutic intensity levels after severe traumatic brain injury.
Neurosurgery 66(6):1111-1118
79. Wijayatilake DS, Shepherd SJ, Sherren PB (2012)
Updates in the management of intracranial pressure in traumatic brain injury.
Curr Opin Anaesthesiol. 25(5):540-7
80. Xia XY (2011)
Effects of graded hypothermia on hypoxic-ischemic brain damage in the neonatal rat.
J Chin Med Sci. 26(1):49-53
81. Yoram S, et al. (1988)
Experimental closed head injury in rats: Mechanical, pathophysiologic, and neurologic properties.
Crit Care Med Vol. 16, Nr. 3
82. Zohar O, Schreiber S, Getslev V, Schwartz JP, Mullins PG, Pick CG (2003)
Closed-head minimal traumatic brain injury produces long-term cognitive deficits in mice.
Neuroscience 118:949-955
83. 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.
J Neurotrauma 20:1307–1314
84. Zweckberger K, Eros 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.
J Neurotrauma 23:1083–1093

Publikationsliste

European Journal of Anaesthesiology 2012, Vol 29 Supplement 49:S24-A77

Brain Hypothermia improves Neurological Outcome of Posttraumatic Decompressive Craniectomy in Mice

J Szczygielski, AE Mautes, A Müller, **C Sippl**, K Schwerdtfeger, WI Steudel, J Oertel

Original Paper – In Vorbereitung, beabsichtigtes Journal: Journal of Neurotrauma

Decompressive Craniectomy increases Brain Lesion Volume and exacerbates Functional impairment in Closed Head Injury in mice.

J Szczygielski, AE Mautes, A Müller, **C Sippl**, C Glameaus, K Schwerdtfeger, WI Steudel, J Oertel

EMN Kongress 2012, Cluj Napoca

Effects of selective Brain Hypothermia and decompressive craniectomy on neurological and radiological sequelae of closed head injury in mice

J Szczygielski, AE Mautes, A Müller, **C Sippl**, C Glameaus, K Schwerdtfeger, WI Steudel, J Oertel

DGNC Kongress 2012, Leipzig

Effects of selective brain hypothermia and decompressive craniectomy on neurological outcome after closed head injury in mice.

J Szczygielski, AE Mautes, A Müller, **C Sippl**, K Schwerdtfeger, WI Steudel, J Oertel

Kongress der “European Association of Neurosurgical Societies” 2013, Prag

Focal brain cooling improves structural and functional sequelae after posttraumatic decompressive craniectomy in mice

J Szczygielski, AE Mautes, A Müller, **C Sippl**, C Glameaus, K Schwerdtfeger, WI Steudel, J Oertel

Danksagung

Mein großer Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Oertel für die Überlassung des Themas sowie die vielfältigen Anregungen für diese Arbeit.

Darüber hinaus möchte ich mich bei der Leiterin des Neurochirurgischen Labors, Frau PD Dr. rer. nat. Steffi Urbschat, für die Unterstützung und die unbürokratische, schnelle Vermittlung meiner Doktorarbeit bedanken.

Meinem Betreuer Herrn Dr. med. Jacek Szczygielski gebührt größter Dank für die Begleitung meiner Doktorarbeit mit jederzeit verfügbarem Rat und den unzähligen Anregungen, ohne die diese Dissertation nicht zustande gekommen wäre.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Andreas Müller, Klinik für diagnostische und interventionelle Radiologie, für die Anfertigung der MRT als auch seine unerschöpfliche Geduld in der Beantwortung meiner Fragen.

Frau Sonja Hoffman bin ich für die Herstellung der histologischen Schnittpräparate als auch ihrer Anleitung in den Färbetechniken zu großem Dank verpflichtet.

Ein herzliches Dankeschön geht darüber hinaus an Juliane Riedl, Daniel Meier, Moritz Brielmaier, Dennis Krämer und Linda Braun für ihre Hilfe beim Gegenlesen der Arbeit.

Zuletzt möchte ich mich noch bei meinen Eltern Vera und Josef Sippl bedanken, die mich Zeit meines Lebens unterstützt, an mich geglaubt und mich auf meinem Weg begleitet haben. Diese Arbeit ist euch gewidmet.

Curriculum vitae

Name: Sippl Christoph
Geburtsdatum: 25.06.1988
Geburtsort: Neumarkt i.d. OPf., Bayern
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch
Wohnort: Warburgring 76, 66424 Homburg

1998 – 2000 Hauptschule Deining

2000 – 2004 Staatl. Knabenrealschule Neumarkt

2004 Mittlere Reife

2004 – 2006 Berufsfachschule B1, Nürnberg

2006 Abschluss als staatl. geprüfter tech. Assistent für Informatik

2006 – 2008 Berufsoberschule (BOS), Maximilian Kolbe Schule, Neumarkt

2007 Fachabitur

2008 Fachgebundenes Abitur

2008 Allgemeines Abitur

2008 – 2010 Studium der Humanmedizin, vorklinischer Anschnitt, Univ. des Saarlandes/Homburg

Herbst 2010 Physikum

- 2010 – heute** Studium der Humanmedizin, klinischer Abschnitt, Univ. des Saarlandes/Homburg
- Frühjahr 2011** Famulatur, Herzchirurgie Bayreuth
- Herbst 2011** Famulatur, Allgemeine Chirurgie Neumarkt i.d.OPf
- Frühjahr 2012** Famulatur, Neurochirurgie Universitätsklinikum Homburg/Saar
Direktor Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Oertel

Wissenschaftliche Tätigkeit

- 2010 – 2011** Jose Carreras Zentrum für Immun- und Gentherapie
Universitätsklinikum Homburg/Saar
Univ.-Prof. Dr. med. Ulrich Mahlkecht
- 2011 – 2012** Tierexperimentelle Promotion, Neurochirurgie Universitätsklinikum
Homburg/Saar
Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Oertel

Mitglied der Clinical Epigenetic Society (CLEPSO)