

Aus dem Walter Brendel Zentrum  
für Experimentelle Medizin  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Ulrich Pohl

**WIRKSAMKEIT DER MEDIKAMENTÖSEN THERAPIE  
DES VASOGENEN HIRNÖDEMS**

**- Eine experimentelle Untersuchung -**

Dissertation  
Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Walter Schmidt  
aus Kempten/Allgäu

2013

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. A. Baethmann  
-----

Mitberichterstatter: Prof. Dr. U. Ködel  
Prof. Dr. R. Glaß  
-----

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. A. Unterberg  
-----

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR  
-----

Tag der mündlichen Prüfung: 31.01.2013  
-----

## INHALTSVERZEICHNIS

	Seite	
<b>A</b>		
<b>    EINLEITUNG</b>	<b>6</b>	
<b>B</b>		
<b>    MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>9</b>	
1	Versuchstiere und Versuchsablauf	9
2	Untersuchungsmethoden	12
3	Methodische Vorversuche	14
4	Versuchsgruppen	15
4.1	Behandlung mit Steroiden	17
4.2	Behandlung mit BW 755C	19
4.3	Behandlung mit C1-Inaktivator	21
5	Statistische Auswertung	21
<b>C</b>		
<b>    ERGEBNISSE</b>	<b>22</b>	
1	Hirnschwellung und zerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt nach Kälteläsion bei Kontrolltieren	22
2	Therapeutische Wirkung der Steroidbehandlung	26
3	Zerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt bei Tieren ohne Kältetrauma nach Behandlung mit Dexamethason	33
4	Therapeutische Wirksamkeit von BW 755C	36
5	Therapeutische Wirksamkeit von C1-Inaktivator	41

<b>D</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>44</b>
1	Versuchsmodell und Methodik	44
2	Der primäre und der sekundäre Hirnschaden	49
3	Das vasogene Hirnödem	53
	3.1 Definition	53
	3.2 Ursachen	54
	3.3 Bildung, Ausbreitung und Rückbildung	55
	3.4 Identifizierung von Mediatorsubstanzen	57
4	Arachidonsäure und ihre Metabolite als Mediatoren des vasogenen Hirnödems	60
	4.1 Freisetzung und Stoffwechsel der Arachidonsäure	60
	4.2 Schädigende Wirkung von Arachidonsäure und Eicosanoiden	61
5	Therapeutische Beeinflussung des vasogenen Hirnödems und des zerebralen Sekundärschadens mit Steroiden	64
	5.1 Wirkungsmechanismus von Glucocorticoiden	65
	5.2 Hemmung der Arachidonsäurefreisetzung	67
	5.3 Wirkung von Steroiden im zentralen Nervensystem	68
	5.4 Experimentelle und klinische Studien	71

6	Möglichkeiten der spezifischen Hemmung der Cyclooxygenase und der Lipoxygenase	82
7	Therapeutische Beeinflussung der Arachidonsäure-metabolisierung mit dem dualen Inhibitor BW 755 C	84
8	Beteiligung des Kallikrein-Kinin-Systems an der Entstehung des vasogenen Hirnödems	87
8.1	Biochemie und Physiologie des Kallikrein-Kinin-Systems	87
8.2	Kinine als Mediatoren des sekundären Hirnschadens	91
9	Therapeutische Beeinflussung des Kallikrein-Kinin-Systems mit dem Proteinaseinhibitor C1-Inaktivator	94
<b>E</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>99</b>
<b>F</b>	<b>ANHANG</b>	<b>105</b>
	Literaturverzeichnis	105
	Danksagung	130

## A EINLEITUNG

Das Schädel-Hirn-Trauma ist ein wesentlicher Prognosefaktor für die Morbidität und Mortalität nach einem Unfall. Eine in zwei großen deutschen Regionen (Hannover und Münster) durchgeführte prospektive und kontrollierte Studie (Rickels et al. 2011) liefert verlässliche Ergebnisse zur Einschätzung der Inzidenz und der Ursachen des Schädel-Hirn-Traumas zu Beginn des 21. Jahrhunderts in Deutschland. Die Anzahl der Schädel-Hirn-Verletzten wird auf 273.000 pro Jahr eingeschätzt. Davon erleiden 5,2 % ein schweres Schädel-Hirn-Trauma. Ca. 1 % der Patienten verstirbt an den Verletzungsfolgen (davon 63,6 % innerhalb der ersten 24 Stunden). Somit beträgt heute die Letalität nach einem schweren Schädel-Hirn-Trauma ca. 20 %. 1983 lag dieser Wert bei 30 % (Grote 1986). Trotz der großen Fortschritte der Intensivmedizin und der Neurochirurgie sind also auch heute noch die Behandlungsergebnisse unbefriedigend.

Der klinische Verlauf eines Patienten mit einem schweren Schädel-Hirn-Trauma wird durch den Primärschaden (z. B. Kontusion), als auch maßgeblich durch den sekundären Hirnschaden bestimmt. Blutungen, das vasogene Hirnödem und Liquorzirkulationsstörungen beanspruchen mehr Volumen im intrakraniellen Raum. Dieser Raum ist jedoch aufgrund der knöchernen Ummantelung starr, sein Gesamtvolumen ist somit konstant. Die Monroe-Kellie-Doktrin besagt, dass die Zunahme einer der drei Volumenkomponenten (Blut, Gehirn, Liquor) zu Lasten einer anderen Komponente geht (Kellie 1824, Monroe 1823, Mokri 2001). Die Zunahme des intrakraniellen Volumens, beispielsweise durch das vasogene Hirnödem, hat zunächst eine Verringerung der intrakraniellen Liquormenge zur Folge. Ist dieser zerebrale Kompensationsprozess erschöpft, so kommt es zu einer Steigerung des intrakraniellen Drucks. Der Druckanstieg ist jedoch nicht linear, sondern exponentiell. Kleine Volumenzunahmen führen anfänglich zu geringen Druckerhöhungen, im weiteren Verlauf verursachen die gleichen Volumina immer größere Druckanstiege (Marmarou 1973).

Dies bewirkt bei gleichbleibendem Blutdruck eine Verminderung des zerebralen Perfusionssdrucks. Klinisch äußert sich dies in mehreren Stufen, wie Langfitt am Beispiel von Hirntumoren zeigen konnte (Langfitt et al. 1964). Zunächst klagt der Patient über Kopfschmerz und Übelkeit. Im weiteren Verlauf kommt es zur Störung der Vigilanz, einem Anstieg des Blutdrucks und einer Bradykardie mit Ausfall der Autoregulation. Im letzten Stadium ist der Patient bewusstlos, die Pupillen sind starr und maximal dilatiert. Die anhaltende Einklemmung des Gehirns führt schließlich zum Tod des Patienten.

Die Behandlung des traumatischen Hirnödems beschränkt sich weitgehend auf symptomatische Maßnahmen.

Die Wirksamkeit der intravenösen Gabe von hyperosmolaren Lösungen gilt als gesichert (Wakai et al. 2007). Mannitol zum Beispiel führt über einen osmotischen Effekt zur Abnahme des Flüssigkeitsgehalts des Hirnparenchyms. Diskutiert wird auch als ultima ratio die intravenöse Behandlung mit stark hypertoner NaCl-Lösung (Forsyth et al. 2008).

Hyperventilation, Hypothermie oder die Gabe von Barbituraten führen über Vasoconstriktion und Reduktion des Metabolismus zur Abnahme der zerebralen Durchblutung und somit zur Verkleinerung des intrakraniellen Blutvolumens (Übersicht: Engelhard et al. 2008, Unterberg et al. 2004).

Durch Liquordrainage kann das Liquorvolumen verkleinert und somit eine Entlastung geschaffen werden (Tuettenberg et al. 2009).

Beim therapierefraktären Hirndruckanstieg kann eine Dekompressionskraniektomie mit Duraerweiterungsplastik durchgeführt werden. Derzeit beschäftigen sich zwei Multicenterstudien, RESCUEicp ([www.RESCUEicp.com](http://www.RESCUEicp.com), Hutchinson et al. 2006) und DECRA-trial ([www.decra.org](http://www.decra.org)), mit dem Nutzen dieser operativen Maßnahme (Übersicht: Li et al. 2010). Zweckberger et al. (2003) konnten mit einem Neurotrauma-Modell bei Mäusen zeigen, dass eine dem Trauma vorausgegangene und offen belassene Kraniotomie die posttraumatische Hirndrucksteigerung komplett verhindert.

Mehrere, nicht kontrollierte klinische Untersuchungen haben erbracht, dass die operative Dekompression den intrakraniellen Druck senkt (Übersicht: Diedler et al. 2009). Das Ziel der medikamentösen Therapie sollte vor allem die Hemmung bzw. Rückbildung des zytotoxischen und des vasogenen Hirnödems vor dem Anstieg des intrakraniellen Druckes sein. Die komplexe Pathophysiologie des Hirnödems macht jedoch ein therapeutisches Eingreifen schwierig. Die einzigen Medikamente mit einer möglicherweise kausalen Wirksamkeit sind Steroide. Ob diese Substanzen jedoch tatsächlich in die komplexen pathophysiologischen Prozesse eingreifen, ist nicht endgültig geklärt.

Von besonderer Bedeutung ist daher die Erforschung der Mechanismen, die für die Entstehung und Ausbreitung des posttraumatischen Hirnödems verantwortlich sind. In diesem Zusammenhang wird eine Vielzahl von Mediatoren diskutiert, unter anderem das Kallikrein-Kinin-System, die Arachidonsäure und deren zahlreiche Stoffwechselprodukte, einschließlich der freien Radikale (Baethmann 1978, Unterberg et al. 1986b).

Der Nachweis für eine kausale Beteiligung dieser Mediatoren am vasogenen Hirnödem ist in einigen Fällen gesichert. Dies gilt vor allem für das Kallikrein-Kinin-System (Maier-Hauff et al. 1984a, Unterberg et al. 1986b).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, einen Beitrag zur Aufklärung der Mediatorfunktion der oben genannten Faktoren zu leisten. Dabei hat unsere Arbeitsgruppe sich auf eine indirekte Form der Beweisführung beschränkt. Es wurde geprüft, ob die Inhibition der Arachidonsäurekaskade durch Steroide und den dualen Inhibitor BW 755 C oder des Kallikrein-Kinin-Systems durch den Proteinaseinhibitor C1-Inaktivator das experimentelle, kälteinduzierte Hirnödem abschwächt. Wenn ja, kann angenommen werden, dass die dadurch inhibierten Faktoren an der Pathophysiologie des Schädel-Hirn-Traumas beteiligt sind. Im Übrigen hätten solche Ergebnisse klinische Perspektiven für die kausale Behandlung des vasogenen Hirnödems.



## **B MATERIAL UND METHODEN**

### **1 Versuchstiere und Versuchsablauf**

Als Versuchstiere wurden Kaninchen des Albinostamms „Neuseeländer Hybriden“ verwendet. Die Tiere hatten ein mittleres Körpergewicht von 2900 g. Männliche und weibliche Tiere waren in den Versuchsgruppen annähernd gleich häufig vertreten. Vor und während der Versuche waren die Tiere in Einzelkäfigen bei freiem Zugang zu Wasser und Futter untergebracht.

Als Narkose wurde eine Mischung aus Ketamin (Ketanest, Fa. Parke Davis, München) und Xylazin (Rompun, Fa. Bayer, Leverkusen) venös injiziert. Kaninchen sind sehr empfindlich, deshalb wurde diese schonende Narkose gewählt. Die erforderliche Menge des Anästhetikums war individuell unterschiedlich. Zur Narkoseeinleitung waren im Mittel 3,5 mg/kg Körpergewicht Ketamin und 1 mg/kg Körpergewicht Xylazin erforderlich. Häufig mussten geringe Mengen nachinjiziert werden, um die Anästhesie über den notwendigen Zeitraum von etwa einer Stunde aufrechtzuerhalten.

Als intravenöser Zugang wurde eine Ohrvene mit einem Teflonkatheter (Jelco TM, 20G; Fa. Critikon, Tampa, FL, USA) punktiert. Zur kontinuierlichen Infusion von C1-Inaktivator war eine Verweilkanüle über einen Infusionsschlauch mit einem Perfusor verbunden. Zur Gewinnung von Blutproben wurde die Ohrarterie mit einem Teflonkatheter punktiert.

Bei einigen Tieren wurde die Arteria femoralis präpariert und nachfolgend mit Hilfe eines Statham Elements (PD 23 ID, Fa. Gould, Inc. Company, Puerto Rico, USA) der arterielle Blutdruck gemessen.

Der Kopf des Versuchstiers wurde anschließend in einer stereotaktischen Halterung fixiert. Nach Eröffnen der Kopfhaut und Durchtrennen der Kopfschwarte in der Medianlinie (Länge der Schnittführung etwa 4 cm) wurde das Pericranium stumpf vom Schädeldach abgeschoben. Die osteoklastische Trepanation erfolgte mit einem elektrischen Bohrer (s. Abb. 1).

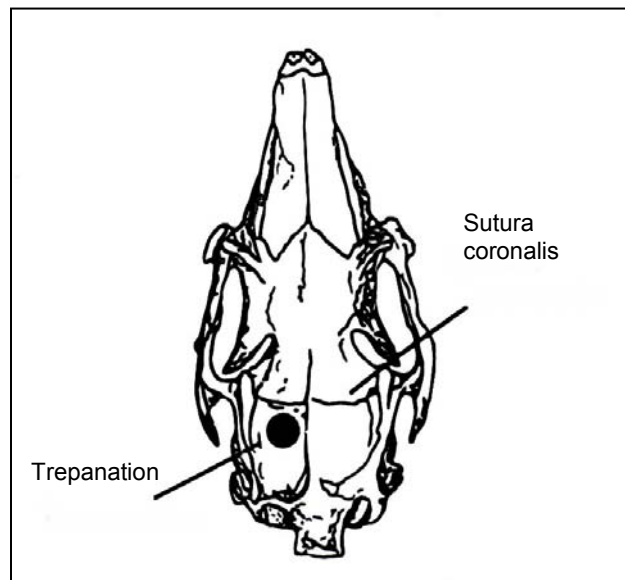
Die kreisförmige Öffnung hatte einen Durchmesser von  $10 \pm 2$  mm. Blutungen, zum Beispiel durch Verletzung einer Vena diploica, wurden mit Knochenwachs zum Stillstand gebracht. Durch die Trepanation durfte es auf keinen Fall zu einer Verletzung der Dura kommen. Das Gerät zur Induktion des Kältetraumas bestand aus einem verschieblich an der stereotaktischen Halterung montierten Edelstahlhohlzylinder. Die Position konnte durch mehrere Gelenke präzise justiert werden. Die Stempeloberfläche aus Kupfer hatte

einen Durchmesser von 6 mm; sie wurde durch ein in den Zylinder eingefülltes Aceton-Trockeneisgemisch auf  $-65$  °C abgekühlt (Maier-Hauff 1984).

Der Stempel wurde zunächst der trocken getupften Dura aufgesetzt und daraufhin genau 1 mm abgesenkt, um einen gleichmäßigen Kontakt mit dem Cortex herzustellen. Die Dauer der Kälteeinwirkung betrug 15 Sekunden.

Fünf Minuten nach Induktion der Kälteläsion wurde eine 2%ige Evans-Blue Lösung i. v. injiziert (1 ml/kg Körpergewicht).

Das auftretende vasogene Ödem konnte dadurch makroskopisch sichtbar gemacht werden.



**Abbildung 1:** Schädelkalotte eines Kaninchens von oben gesehen. Eingezeichnet ist der Ort der osteoklastischen Trepanation. (Gezeichnet nach Barone et al. 1973 und Schilling 1983)

Nach Verschließen der Kopfhaut und Erwachen aus der Narkose wurden die Tiere in ihren Käfig verbracht. Das weitere Vorgehen bis zur Entnahme des Gehirns richtete sich nach dem Therapieprotokoll der Versuchsserie.

Zur Hirnentnahme 24 bzw. 48 Stunden nach Induktion der Kälteläsion wurden die Tiere erneut narkotisiert. Ihre rasche Entblutung wurde durch Punktion des Herzens erreicht. Mit einer Luerschen Knochenzange wurde die Schädelkalotte über dem Großhirn abgetragen und die Dura vorsichtig entfernt. Um die Entnahme des Gehirns unbeschädigt in toto zu ermöglichen, erfolgte dessen Mobilisierung durch zwei Schnitte (s. Abb. 2).

Zur symmetrischen Trennung beider Hemisphären wurde ein präziser Schnitt durch das Corpus callosum und die medianen Hirnstrukturen vorgenommen. Die Schnittführung war durch den Verlauf der Fissura longitudinalis cerebri festgelegt.

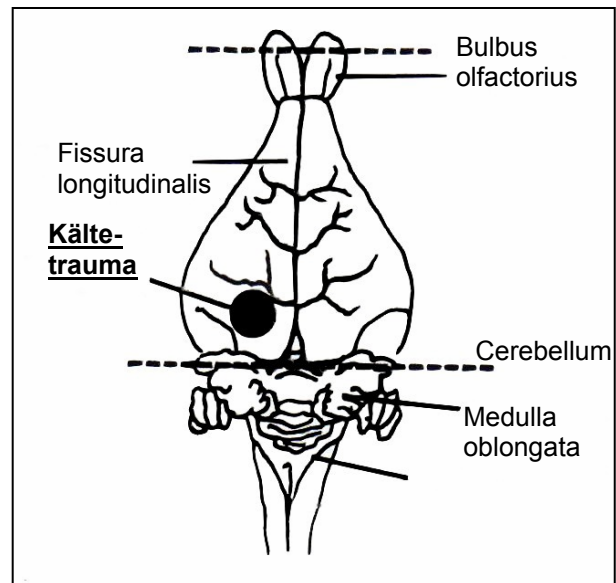


Abbildung 2:

Gehirn eines Kaninchens von oben gesehen. Der Ort der Kälteläsion ist eingezeichnet. Die gestrichelten Linien geben die Schnittführungen zur Entfernung des Gehirns in toto wieder. (Gezeichnet nach Barone et al. 1973 und Schilling 1983)

## 2 Untersuchungsmethoden

### Posttraumatische Hemisphärenschwellung

Das Kältetrauma des Gehirns führt zur Entstehung des vasogenen Hirnödems. Dadurch kommt es zur Volumen- und Gewichtszunahme der exponierten Hemisphäre und somit zur Schwellung.

Der Grad der Schwellung wurde durch das Verhältnis der Gewichtszunahme zum ursprünglichen Gewicht der Hirnhemisphäre bestimmt.

Beides, das ursprüngliche Gewicht und die Gewichtszunahme, können jedoch nicht direkt erfasst werden, sondern lassen sich nur indirekt ermitteln.

Für diesen Zweck wurde mit Hilfe einer Feinwaage (Mettler H51AR, Fa. Mettler Waagen GmbH, Giessen, BRD) die Masse der beiden Hirnhemisphären gravimetrisch bestimmt und ihre Differenz durch das Gewicht der nicht traumatisierten Hemisphäre dividiert. Der errechnete Wert zeigte das Ausmaß der Schwellung in Prozent an (s. Abb. 3). Folgende Formel gibt das Beschriebene wieder:

$$\text{Schwellung (\%)} = \frac{\text{FG}_t - \text{FG}_k}{\text{FG}_k} \times 100,$$

wobei  $\text{FG}_t$  das Frischgewicht der traumatisierten und  $\text{FG}_k$  das Frischgewicht der kontralateralen Hemisphäre darstellt.

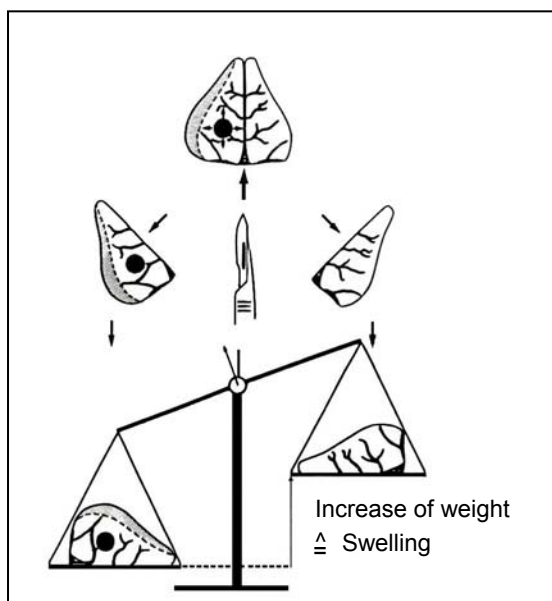


Abbildung 3:

Schematische Darstellung der gravimetrischen Bestimmung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung. Das in toto entnommene Gehirn der Versuchstiere wird symmetrisch getrennt. Als Orientierung dient die Sutura longitudinalis. Durch das Auswiegen beider Hemisphären wird der Gewichtsunterschied ermittelt. Die Gewichts-differenz wird auf das Gewicht der Kontrollhemisphäre bezogen. Der ermittelte Wert entspricht der prozentualen Schwellung der exponierten Hemisphäre.

### **Wassergehalt des Hirngewebes**

Nach Bestimmung des Frischgewichts wurden die Hirnhemisphären in Glasgefäßchen verbracht und bei 110 °C getrocknet. Nach 48 Stunden war Gewichtskonstanz erreicht.

Die getrockneten Gehirne wurden über 2 Stunden in einem Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Glasgefäßchen blieben während dieser Zeit geschlossen, damit das getrocknete Gewebe kein Wasser aus der eventuell feuchten Umgebungsluft aufnehmen konnte. Anschließend wurde ebenfalls mit der Feinwaage das Trockengewicht gravimetrisch bestimmt. Die Differenz zwischen Feucht- und Trockengewicht ergibt den Wassergehalt der Hemisphäre.

### **Elektrolytgehalt des Hirngewebes**

Zur Bestimmung des zerebralen Natrium- und Kaliumgehalts wurde das getrocknete Gewebe gemörsert. Davon wurden 10 mg eingewogen, die dann nach Zugabe von 60 % Salpetersäure (1 ml/10 mg) in einem 100 °C warmen Wasserbad für etwa 30 Minuten feucht verascht wurden. Anschließend wurde vorsichtig 1 ml 30%iges Wasserstoffperoxid (Perhydrol, Fa. Merck, Darmstadt) hinzugegeben, wobei die Probe immer wieder kurz über einem Bunsenbrenner zum Kochen gebracht wurde. Die Proben wurden nach Filtrierung auf 10 ml aufgefüllt. Zu jedem neuen Bestimmungsansatz wurden zusätzlich zwei Blancs und zwei Na<sup>+</sup>-Standardproben analysiert. Die flammenphotometrische Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen wurde mit einem Flammenphotometer Eppendorf (Fa. Netheler & Hinz, Hamburg) durchgeführt. Die Eichung des Gerätes erfolgte mit fünf Na<sup>+</sup>-Standards (50, 70, 90, 110, 140 mM/l) sowie drei K<sup>+</sup>-Standards (2, 4, 6 mM/l) (nach Baethmann).

### **3 Methodische Vorversuche**

Der arterielle Blutdruck kann den Schweregrad eines vasogenen Hirnödems deutlich mitgestalten. Hypertension bewirkt bei einer geschädigten Blut-Hirnschranke einen vermehrten Austritt von Plasmaflüssigkeit in das Gewebe, wogegen bei Hypotension dieser Effekt deutlich abgeschwächt ist (Klatzo et al. 1967).

Um die Auswirkungen der Anästhesie und der Narkose auf den systemischen Blutdruck zu erkennen, wurde in einer Versuchsreihe bei Kaninchen eine Messung des mittleren arteriellen Blutdrucks durchgeführt.

Während der Narkose hatten die Tiere einen mittleren arteriellen Blutdruck von 95 mmHg. Wurde zur Aufrechterhaltung der Anästhesie etwas Narkotikum nachinjiziert, kam es zu einer geringfügigen und ebenso kurzfristigen Senkung des Blutdrucks auf etwa 75 mmHg. Während der Kälteläsion ließ sich eine Änderung der Blutdruckwerte hingegen nicht erkennen.

Bei der symmetrischen Teilung der beiden Hirnhemisphären ist der Trennungsfehler möglichst klein zu halten, um das Ausmaß der posttraumatischen Schwellung zuverlässig berechnen zu können. Zur Prüfung, wie genau die Trennung erfolgen kann, wurde eine eigene Versuchsreihe ohne Trauma durchgeführt. Nach Entnahme des Gehirns in toto und Durchtrennen der Mittellinie wurden beide Hemisphären gewogen. Das Hemisphärgewicht betrug im Mittel  $3,2 \pm 0,6$  g. Der Trennungsfehler war mit  $0,12 \pm 0,47$  % zugunsten der linken Hirnhemisphäre in einem so niedrigen Bereich, dass er für die Beurteilung der Schwellung unberücksichtigt blieb.

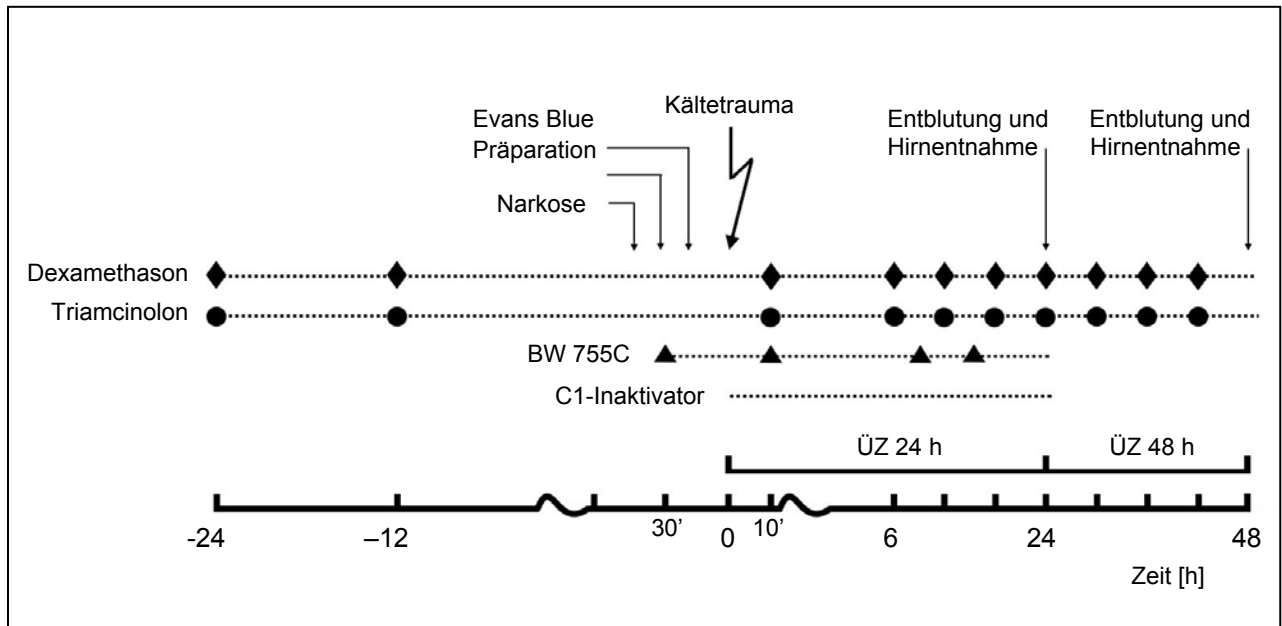
## **4 Versuchsgruppen**

Bei allen Versuchsserien wurde die Induktion des kortikalen Kältetraumas stets gleich durchgeführt. Ebenso bestanden keine Unterschiede in der Durchführung der Anästhesie, der Art der Entblutung der Tiere und der Entnahme des Gehirns. Von Bedeutung war lediglich die Wirkung der verschiedenen Therapieprotokolle, weshalb sich die Versuchsserien in folgenden Punkten unterschieden:

- Beginn und Art der Therapie
- Zeitpunkt der Entblutung der Tiere nach Kältetrauma (Überlebenszeit)

In jeder Serie wurden die behandelten Tiere mit einer entsprechenden Anzahl von Kontrolltieren verglichen, die nur physiologische Kochsalzlösung als Placebo erhielten. Es wurde darauf geachtet, dass Personen, die direkt mit der Versuchsdurchführung zu tun hatten, das den Tieren verabreichte Medikament (bzw. Placebo) nicht bekannt war.

Abbildung 4 ist eine schematische Darstellung des Versuchsprotokolls für alle Versuchsgruppen.



#### Abbildung 4:

Versuchs- und Therapieprotokoll.

Der Abbildung ist der Zeitpunkt des jeweiligen Therapiebeginns, die Einzeldosis und die Dauer der Überlebenszeit zu entnehmen.

Die Wirksamkeit der Steroide auf das vasogene Hirnödem wurde in drei Versuchsserien getestet. In den ersten beiden Serien wurden Steroide ausschließlich nach dem Trauma verabreicht. Die Überlebenszeit betrug 24 bzw. 48 Stunden. In der dritten Serie wurde mit der Therapie hingegen 24 Stunden vor dem Trauma begonnen.

Der Einfluss des dualen Inhibitors BW 755C auf die posttraumatische Hemisphärenschwellung wurde in zwei Serien untersucht. In der ersten Serie wurde mit der Therapie 10 Minuten nach dem Trauma und in der zweiten Serie 10 Minuten vor dem Trauma begonnen. Die Überlebenszeit betrug 24 Stunden.

Der therapeutische Effekt von C1-Inaktivator wurde in einer Serie geprüft. Das Medikament wurde dabei kontinuierlich intravenös verabreicht. Therapiestart war 10 Minuten nach Trauma. Die Tiere wurden nach 24 Stunden entblutet.



#### **4.1 Behandlung mit Steroiden**

In den von uns durchgeführten Versuchen wurden folgende Glucocorticoide verwendet:

- Dexamethason (Fortecortin, Fa. Merck, Darmstadt)
- Triamcinolon-Acetonid (Volon A soluble, Fa. Squibb von Heyden, München)

Die Steroide wurden mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, so dass 1 mg Wirksubstanz einem Volumen von 3 ml entsprach. Die intravenöse Verabreichung erfolgte über eine Ohrvene.

##### **4.1.a Nachbehandlung mit Steroiden bei einer Überlebenszeit von 24 Stunden**

In dieser ersten Serie erhielten die Tiere zehn Minuten nach der Kälteläsion 1 mg/kg K.G. Dexamethason (bzw. 2 mg/kg K.G. Triamcinolon) und nach 6, 12 und 18 Stunden jeweils wieder 0,33 mg/kg K.G. (bzw. 0,66 mg/kg K.G. Triamcinolon). Die Überlebenszeit der Tiere betrug 24 Stunden.

##### **Zahl der Versuchstiere:**

- Dexamethason: 12
- Triamcinolon: 10
- NaCl 0,9 %: 12

#### 4.1.b Nachbehandlung mit Steroiden bei einer Überlebenszeit von 48 Stunden

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Extravasation über den Zeitraum von 24 Stunden nach Trauma hinausgeht. Eine therapeutische Wirksamkeit von Steroiden könnte sich daher auch erst zu einem späteren Zeitpunkt zeigen. Aus diesem Grund war in dieser Serie die Überlebenszeit der Tiere 48 Stunden. Ebenso wie in der ersten Serie wurde mit der Therapie zehn Minuten nach Trauma begonnen. Die Initialdosis betrug 1 mg/kg K.G. Dexamethason (bzw. 2 mg/kg K.G. Triamcinolon). 6, 12, 18, 24, 30, 36 und 42 Stunden nach Trauma erhielten die Tiere eine Erhaltungsdosis von je 0,33 mg/kg K.G. Dexamethason (bzw. 0,66 mg/kg K.G. Triamcinolon) nachinjiziert.

##### Zahl der Versuchstiere:

- Dexamethason: 7
- Triamcinolon: 7
- Kontrolle (NaCl 0,9 %): 8

#### 4.1.c Vor- und Nachbehandlung mit Steroiden bei einer Überlebenszeit von 24 Stunden

Das Eintreten der biologischen Wirkung von Steroiden nimmt eine bestimmte Latenzzeit in Anspruch. In dieser Zeit (eventuell Stunden) könnte jedoch die Ödembildung so weit vorangeschritten sein, dass sich ein therapeutischer Effekt nicht bemerkbar machen kann. Deshalb wurde in dieser Serie bereits 48 Stunden vor dem Kältetrauma mit der Therapie begonnen (proof of principle).

Die Tiere erhielten 24 und 12 Stunden vor dem Trauma jeweils 0,5 mg/kg K.G. Dexamethason (bzw. 1 mg/kg K.G. Triamcinolon).

Die zehn Minuten nach dem Trauma verabreichte Dosis betrug wiederum 1 mg/kg K.G. Dexamethason (bzw. 2 mg/kg K.G. Triamcinolon) und jeweils 6, 12 und 18 Stunden später 0,33 mg/kg K.G. Dexamethason (bzw. 0,66 mg/kg K.G. Triamcinolon). Die Tiere wurden 24 Stunden nach Trauma entblutet.

Zahl der Versuchstiere:

- Dexamethason: 8
- Triamcinolon: 9
- Kontrolle (NaCl 0,9 %): 9

**4.1.d Behandlung von Tieren ohne Kältetrauma mit Dexamethason**

In dieser Versuchsreihe wurde die Wirkung der Steroide auf den Wassergehalt von nicht geschädigtem, also gesundem Hirngewebe untersucht. Hierzu wurden Kaninchen über 24 Stunden mit Steroiden behandelt.

24 bzw. 12 Stunden vor Hirnentnahme erhielten die Tiere jeweils 0,5 mg/kg K.G. Dexamethason. Die Schädeldecke der Tiere wurde bis zum Zeitpunkt der Hirnentnahme weder trepaniert, noch wurde ein Kältetrauma erzeugt.

Zahl der Versuchstiere:

- Dexamethason: 5
- Kontrolle (NaCl 0,9 %): 5

**4.2 Behandlung mit BW 755C**

In zwei Versuchsserien wurde die therapeutische Wirksamkeit des dualen Inhibitors von Lipoxygenase und Cyclooxygenase geprüft. Dafür wurde der duale Inhibitor (BW 755C, Fa. Wellcome, Great Britain) verwendet. Die Substanz wurde in physiologischem Kochsalz gelöst (10 mg in 3 ml) und intravenös über eine Ohrvene verabreicht. Die Überlebenszeit der Tiere betrug in beiden Serien 24 Stunden.

#### 4.2.a Nachbehandlung mit BW 755C

In dieser Versuchsreihe wurde die Initialdosis (10 mg/kg K.G.) zehn Minuten nach dem Kältetrauma verabreicht. 8 und 16 Stunden nach Trauma wurde eine weitere Dosis von jeweils 10 mg/kg K.G. gegeben.

##### Zahl der Versuchstiere:

- BW 755C: 14
- Kontrolle (NaCl 0,9 %): 12

#### 4.2.b Vor- und Nachbehandlung mit BW 755C

Im Gegensatz zu Steroiden wirkt BW 755C nicht indirekt über die Induktion der Enzymsynthese. Eine längere Latenzzeit bis zum Wirkungseintritt ist deshalb weitgehend auszuschließen. Dennoch muss mit einer gewissen Verzögerung des Wirkungseintrittes gerechnet werden, zum Beispiel durch eine protrahierte Aufnahme der Substanz in das Hirngewebe. Daher wurde in dieser Versuchsserie bereits 30 Minuten vor dem Trauma die erste Dosis (10 mg/kg K.G.) verabreicht. 10 Minuten, 8 Stunden und 16 Stunden nach Trauma wurden erneut 10 mg/kg K.G. gegeben.

##### Zahl der Versuchstiere:

- BW 755C: 8
- Kontrolle (NaCl 0,9 %): 7

### **4.3 Behandlung mit C1-Inaktivator**

In dieser Versuchsserie wurde mit der Therapie 10 Minuten nach Trauma begonnen. C1-Inaktivator (Behringwerke, Ingelheim) wurde in 0,9%igem Kochsalz gelöst (2850 Einheiten der Wirksubstanz/100 ml NaCl 0,9 %) und über 24 Stunden dauerinfundiert (4,2 ml/h). Die Überlebenszeit der Tiere betrug in dieser Serie 24 Stunden.

#### Zahl der Versuchstiere:

- C1-Inaktivator: 9
- Kontrolle (NaCl 0,9 %): 9

## **5 Statistische Auswertung**

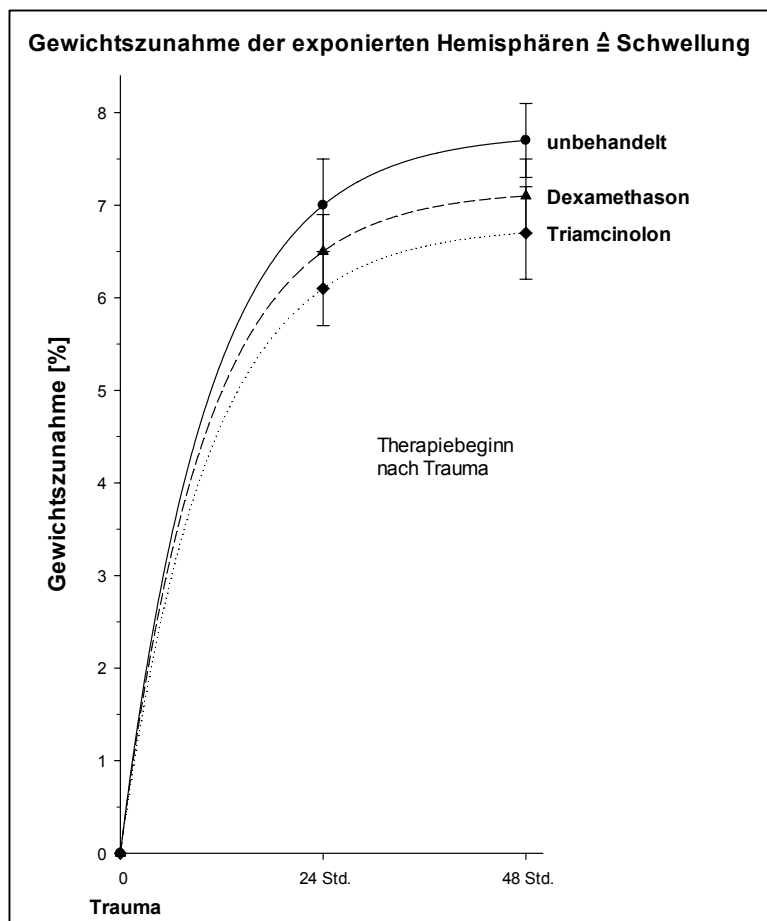
Die Daten wurden auf Normalverteilung nach David geprüft. Alle Angaben erfolgen als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung. Für die statistischen Analysen von zwei normal verteilten unabhängigen Stichproben wurde der t-Test verwendet. Die Analyse von mehr als zwei unabhängigen Stichproben erfolgte mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA), der bei Signifikanz Post-Hoc-Tests (Student-Newman-Keuls) zur Feststellung paarweiser signifikanter Unterschiede der Stichproben folgten.

In den Tabellen sind die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Stichproben eingetragen. Die Abbildungen geben die errechneten Mittelwerte und ihre Standardabweichungen wieder. Das Signifikanzniveau wurde bei  $p < 0,05$  festgelegt, das heißt, ein Ergebnis wurde als statistisch signifikant betrachtet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 % war.

## C ERGEBNISSE

### 1 Hirnschwellung und zerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt nach Kälteläsion bei Kontrolltieren

Das Kältetrauma verursachte bei allen Tieren ein Ödem und somit eine Hemisphärenschwellung. Die wesentliche Gewichtszunahme der traumatisierten Hemisphäre entstand während der ersten 24 Stunden. Im weiteren Verlauf bis 48 Stunden nach Setzen der Läsion nahm die Schwellung nur noch geringfügig zu (s. Abb. 5). Es kann angenommen werden, dass sich das Ödem danach nicht mehr bedeutend vergrößert hat, sondern langsam wieder zurückbildet.



**Abbildung 5:**  
Verlauf der Hemisphärenschwellung nach Kälteläsion des Gehirns bei unbehandelten Tieren sowie bei Tieren mit Dexamethason bzw. Triamcinolon. 24 Stunden nach Kältetrauma hat die Schwellung etwa 90 % ihres maximalen Ausmaßes erreicht. In den darauffolgenden 24 Stunden nahm sie nur noch geringfügig zu. Sowohl durch Triamcinolon als auch Dexamethason konnte eine leichte, signifikante Abschwächung der Schwellung ( $p < 0,05$ ) vs. unbehandelt erreicht werden.

Die Zunahme des Wassergehalts der traumatisierten Hemisphäre ging der Schwellung in etwa parallel. 24 Stunden nach dem Trauma betrug der Wassergehalt  $80,34 \pm 0,15$  ml/100 g Frischgewicht, nach 48 Stunden waren es  $80,58 \pm 0,39$  ml/100 g Frischgewicht. Die Unterschiede zum Wassergehalt eines nicht traumatisierten Gehirns ( $79,62 \pm 0,13$  ml/100 mg Frischgewicht) sind signifikant mit  $p < 0,01$  (Abb. 5a).

Der Wassergehalt der kontralateralen Hemisphäre betrug nach 24 Stunden im Mittel  $79,69 \pm 0,43$  ml/100 mg und nach 48 Stunden  $79,75 \pm 0,41$  ml/100 g Frischgewicht und war im Vergleich zum Wassergehalt eines gesunden, nicht traumatisierten Gehirns ( $79,62 \pm 0,13$  ml/100 mg Frischgewicht) nicht signifikant erhöht (max. nach 48 Stunden ca. +0,16 %).

Obwohl der Wassergehalt der kontralateralen Hemisphäre durch das Trauma nur leicht erhöht wurde, ließen sich beim Elektrolytgehalt deutlichere Veränderungen erkennen.

Im Hirngewebe von Tieren ohne Kälteläsion lag der Natriumgehalt bei  $276,4 \pm 11,8$  mM/kg Trockengewicht.

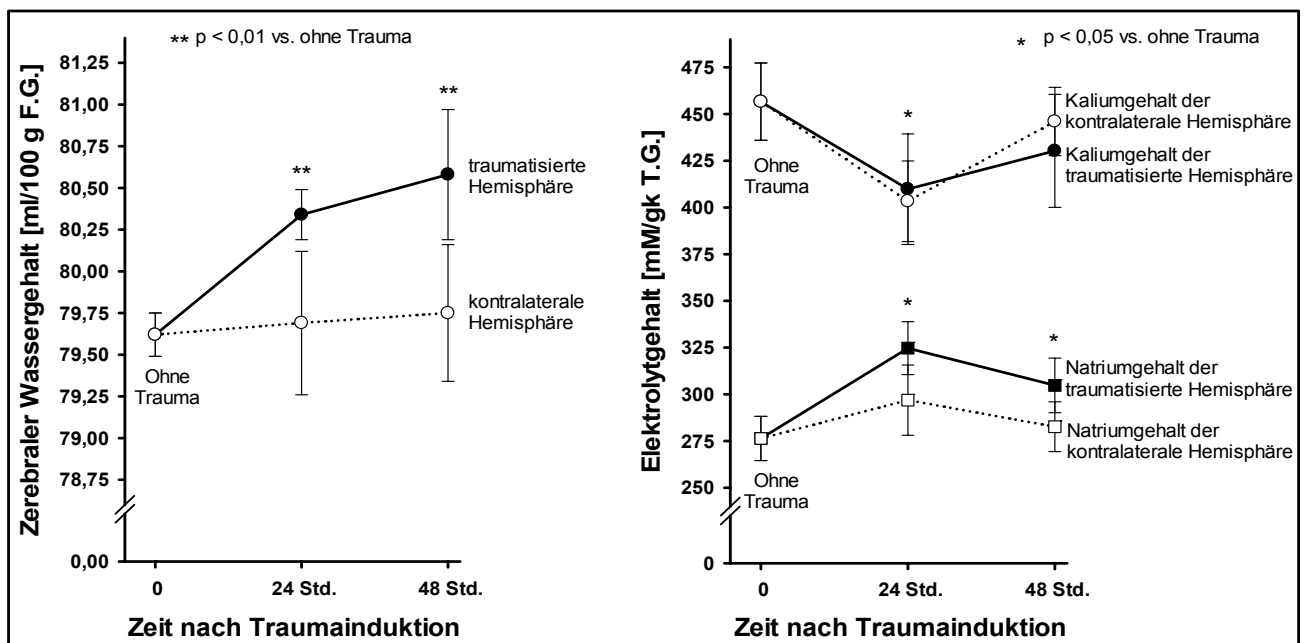
Der Natriumgehalt der traumatisierten Hemisphäre betrug nach 24 Stunden  $324,7 \pm 14,2$  mM/kg Trockengewicht ( $304,8 \pm 14,6$  mM/kg Trockengewicht nach 48 Stunden) und war somit gegenüber dem Natriumgehalt von Hirngewebe von Tieren ohne Kälteläsion deutlich erhöht. Die Unterschiede sind signifikant mit  $p < 0,05$ .

Bei Tieren mit Kälteläsion war der Natriumgehalt der kontralateralen Hemisphäre nach 24 Stunden bei  $296,9 \pm 18,8$  mM/kg Trockengewicht ( $282,7 \pm 13,3$  mM/kg Trockengewicht nach 48 Stunden) und war demnach leicht erhöht (max. nach 24 Stunden ca. 7,4 %). Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

Bei Tieren ohne Kälteläsion betrug der Kaliumgehalt  $456,6 \pm 20,7$  mM/kg Trockengewicht.

Der Kaliumgehalt des Trockengewebes der traumatisierten Hemisphäre lag nach 24 Stunden bei  $409,8 \pm 29,6$  mM/kg Trockengewicht ( $430,3 \pm 30,2$  mM/kg Trockengewicht nach 48 Stunden). Die Unterschiede sind signifikant für beide Hemisphären mit  $p < 0,05$  bei 24 Stunden sowie für die traumatisierte Hemisphäre auch bei 48 Stunden.

Die kontralaterale Hemisphäre von Tieren mit Kältetrauma hatte einen Kaliumgehalt von  $403,3 \pm 21,6$  mM/kg Trockengewicht nach 24 Stunden ( $446,0 \pm 18,3$  mM/kg Trockengewicht nach 48 Stunden). Der Unterschied bei 24 Stunden ist signifikant mit  $p < 0,05$ .



**Abbildung 5a:**

Verlauf des zerebralen Wassergehalts der traumatisierten und kontralateralen Hemisphäre nach Kälteläsion. 24 und 48 Stunden nach Kältetrauma war der Wassergehalt der traumatisierten Hemisphäre signifikant ( $p < 0,01$ ) erhöht. Die kontralaterale Seite zeigt einen nicht signifikanten, im Rahmen der Messwertschwankungen vernachlässigbaren, Anstieg des Wassergehalts.

**Abbildung 5b:**

Verlauf des Elektrolytgehalts (Kalium und Natrium) in traumatisierten und kontralateralen Hemisphären nach Kälteläsion. Der Gehalt beider Elektrolyte zeigt Veränderungen in beiden Hemisphären. Während der Kaliumgehalt in der traumatisierten Hemisphäre bis 48 Stunden nach Trauma signifikant abfällt ( $p < 0,05$ ), steigt er auf der kontralateralen Seite nach signifikanter Abnahme ( $p < 0,05$ ) bei 24 Stunden bis 48 Stunden wieder fast auf Normalwerte an. Der Natriumgehalt stieg in beiden Hemisphären 24 Stunden nach Kälteläsion an und sank nach 48 Stunden wieder leicht ab. Die Änderungen waren nur für die traumatisierte Hemisphäre signifikant ( $p < 0,05$ ).

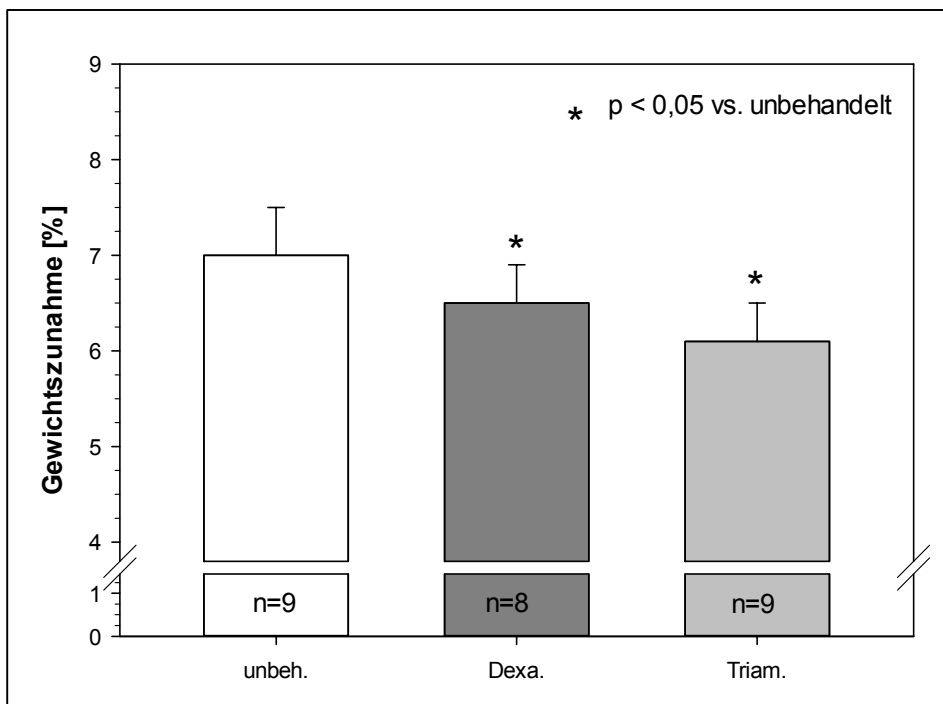


Die makroskopische Beurteilung der exponierten Hirnhemisphären ließ vermuten, dass sich das Ödem auf die Hemisphäre mit Kälteläsion beschränkt hatte. In keinem Fall war ein Übertritt des Blut-Hirnschrankenindikators „Evan's Blue“ in die kontralaterale Hemisphäre zu erkennen.

## 2 Therapeutische Wirkung der Steroidbehandlung

### 2.a Therapiebeginn nach Kälteläsion bei Tieren mit einer Überlebenszeit von 24 Stunden

Die posttraumatische Hemisphärenschwellung betrug in der Gruppe der unbehandelten Tiere mit Kälteläsion  $7,0 \pm 0,5$  %. Durch die Behandlung mit Steroiden ergab sich eine Abschwächung der Schwellung um ca. 7 % auf  $6,5 \pm 0,4$  % (Dexamethason) bzw. um ca. 13 % auf  $6,1 \pm 0,4$  % (Triamcinolon). Die Unterschiede gegenüber der unbehandelten Gruppe sind statistisch signifikant mit  $p < 0,05$  (s. Abb. 6).



**Abbildung 6:**  
 Posttraumatische Hemisphärenschwellung bei Tieren mit Nachbehandlung mit Steroiden über 24 Stunden.  
 Dexamethason und Triamcinolon bewirkten eine signifikante Hemmung der Gewichtszunahme, i. e. der Hirnschwellung der exponierten Hemisphäre.

Der Wassergehalt der Hemisphäre mit Kälteläsion betrug bei unbehandelten Tieren  $80,34 \pm 0,15$  %. Durch Steroide war der Wassergehalt mit  $79,98 \pm 0,12$  % (Dexamethason) bzw.  $79,90 \pm 0,12$  % (Triamcinolon) signifikant niedriger ( $p < 0,05$ , s. Abb. 7).

Es zeigte sich, dass auch in der kontralateralen Hemisphäre der Wassergehalt bei Tieren mit Therapie reduziert war.

Der Wassergehalt war hier mit  $79,28 \pm 0,37$  % (Dexamethason) bzw.  $79,25 \pm 0,36$  % (Triamcinolon) gegenüber  $79,69 \pm 0,43$  % vermindert. Der Unterschied erreichte jedoch nur bei Tieren mit Triamcinolon statistisch Signifikanz mit  $p < 0,05$  (s. Abb. 7).

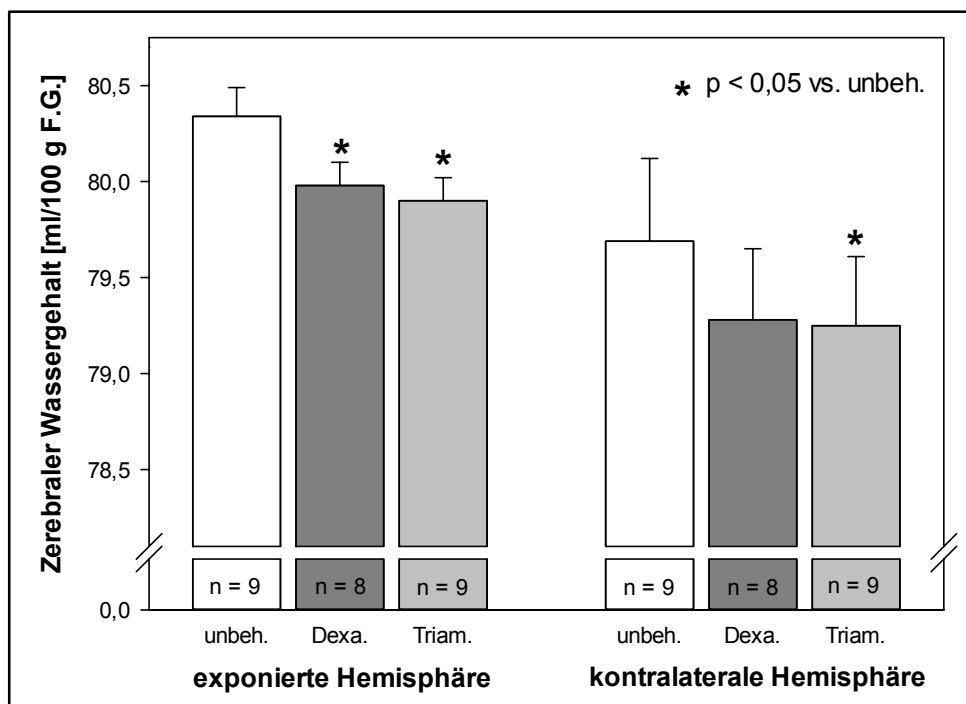


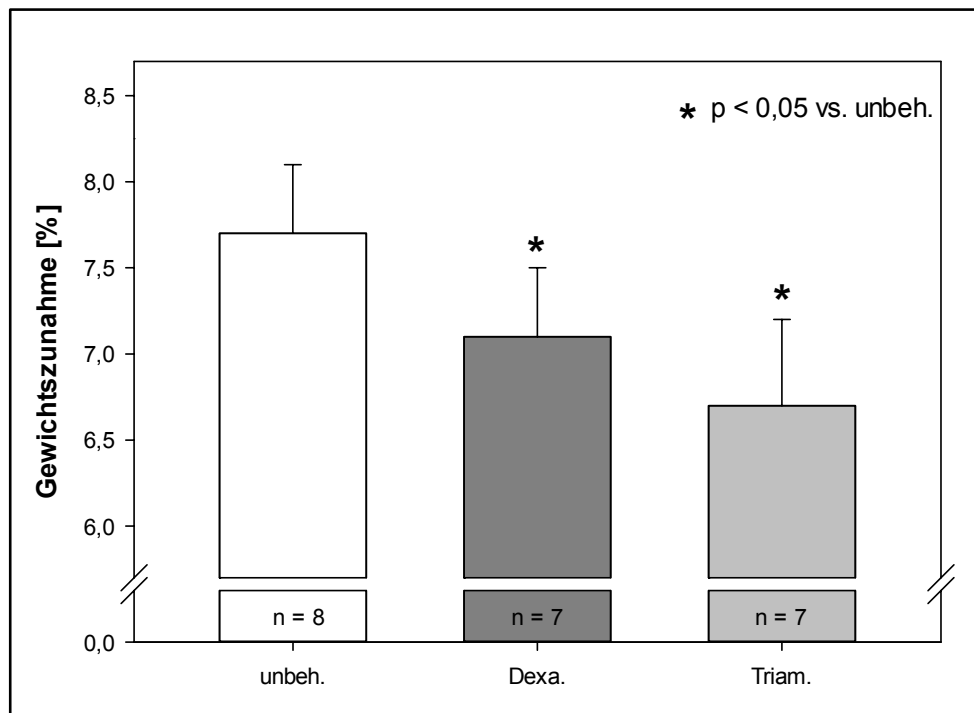
Abbildung 7:

Zerebraler Wassergehalt bei Tieren unter Behandlung mit Steroiden über 24 Stunden. Triamcinolon und Dexamethason bewirkten eine signifikante Abschwächung ( $p < 0,05$ ) des Anstiegs des Wassergehalts der Hemisphäre mit Kälteläsion. In der kontralateralen Hirnhälfte war ebenfalls ein verminderter Anstieg des Wassergehalts zu beobachten, der aber nur unter Triamcinolon Signifikanzniveau ( $p < 0,05$ ) erreichte.

Der zerebrale Elektrolytgehalt lässt keine signifikante Beeinflussung des ödematösen Gehirns durch Steroide erkennen (s. Tab. 1 u. 2).

## 2.b Therapiebeginn nach Kälteläsion bei Tieren mit einer Überlebenszeit von 48 Stunden

Bei Versuchstieren mit physiologischer Kochsalzlösung (Placebo) bewirkte die Kälteläsion eine Hemisphärenschwellung von  $7,7 \pm 0,4$  %. Die Hemmung der Schwellung durch Dexamethason auf  $7,1 \pm 0,4$  % bzw. Triamcinolon auf  $6,7 \pm 0,5$  % ist statistisch signifikant (s. Abb. 8).



**Abbildung 8:**

Posttraumatische Hemisphärenschwellung bei Nachbehandlung mit Steroiden über 48 Stunden.

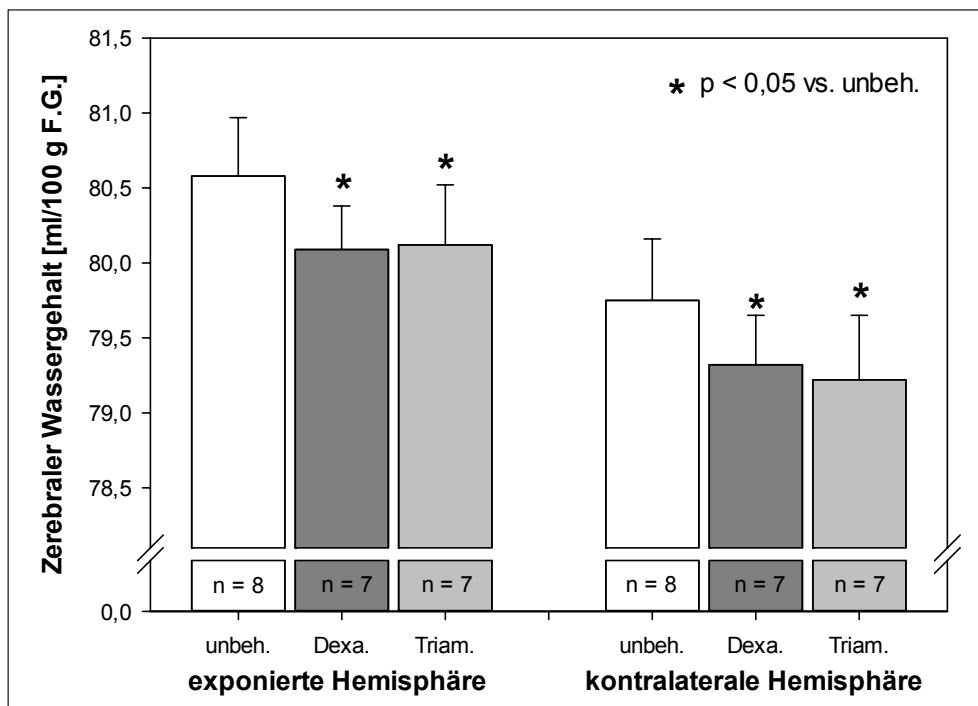
Triamcinolon und Dexamethason reduzierten den Gewichtsanstieg der Hemisphäre mit Kälteläsion signifikant ( $p < 0,05$ ).

Der Wassergehalt der Hemisphäre mit Kälteläsion konnte durch die Behandlung mit Dexamethason von  $80,58 \pm 0,39$  % (unbehandelte Tiere mit Kälteläsion) auf  $80,09 \pm 0,29$  % und mit Triamcinolon auf  $80,12 \pm 0,4$  % gesenkt werden. Die Unterschiede sind statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ).

Auch der Wassergehalt der kontralateralen, nicht traumatisierten Hemisphäre wurde durch die Behandlung mit Steroiden signifikant verringert ( $p < 0,05$ ).

Dexamethason reduzierte den Wassergehalt von  $79,75 \pm 0,41$  % auf  $79,32 \pm 0,33$  %, Triamcinolon auf  $79,22 \pm 0,43$  % (s. Abb. 9).

Auch in dieser Versuchreihe hatten die Steroide hingegen keinen erkennbaren Einfluss auf den Elektrolytgehalt des Hirngewebes (s. Tab. 1 u. 2).



**Abbildung 9:**

Zerebraler Wassergehalt von Versuchstieren unter Nachbehandlung mit Steroiden über 48 Stunden.

Triamcinolon und Dexamethason reduzierten den Anstieg des Wassergehalts der traumatisierten Hemisphäre signifikant. In der kontralateralen Hemisphäre war der gleiche Effekt zu beobachten. Die Behandlung mit Steroiden führte auch hier zu einer signifikanten Abnahme des Wassergehalts.

## 2.c Therapiebeginn vor Kälteläsion bei Tieren mit einer Überlebenszeit von 24 Stunden

Nach der zusätzlichen Vorbehandlung mit Steroiden konnte keine stärkere Hemmung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung gegenüber der alleinigen Nachbehandlung gesehen werden. Bei den unbehandelten Tieren mit Läsion betrug die Schwellung  $7,0 \pm 0,4$  %. Dexamethason reduzierte die Schwellung auf  $6,8 \pm 0,2$  %, Triamcinolon auf  $6,7 \pm 0,4$  %. Dieses Ergebnis zeigt zwar einen Therapieeffekt, ist jedoch nicht signifikant (s. Abb. 10).

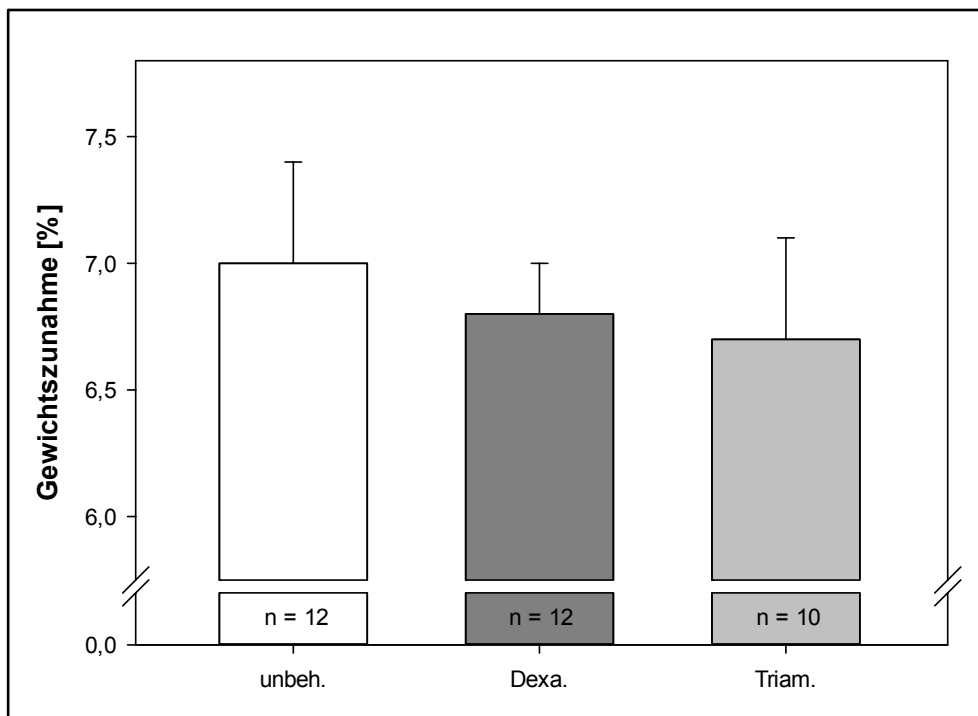


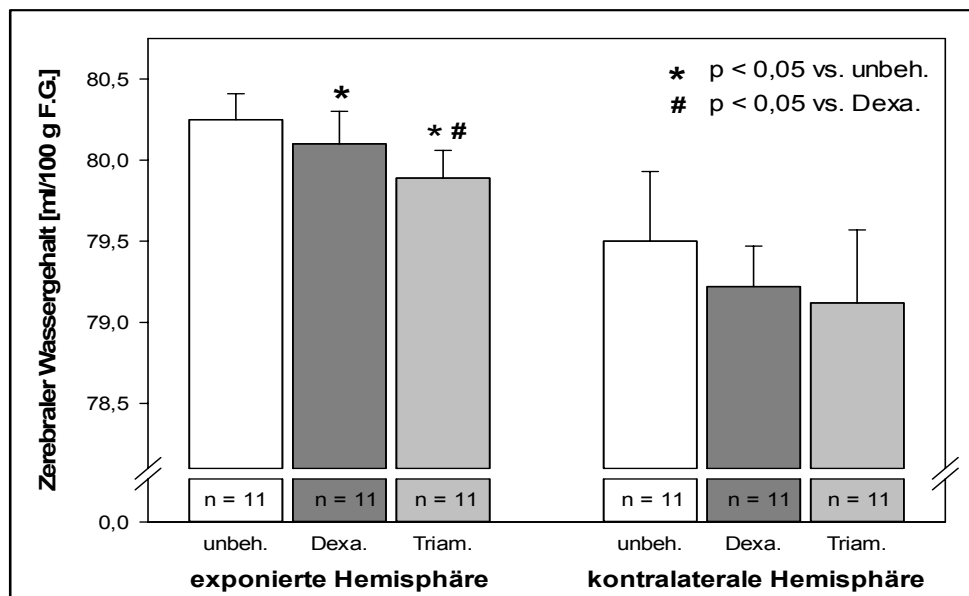
Abbildung 10:  
Posttraumatische Hemisphärenschwellung bei Vor- und Nachbehandlung mit Steroiden. Triamcinolon und Dexamethason ließen einen geringen schwellungsreduzierenden Effekt erkennen. Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Der Anstieg des Wassergehalts der traumatisierten Hemisphäre wurde von  $80,25 \pm 0,16$  % (unbehandelte Kontrollgruppe) auf  $80,10 \pm 0,20$  % (Dexamethason) bzw.  $79,89 \pm 0,17$  % (Triamcinolon) signifikant gesenkt. Hier zeigte sich zusätzlich auch eine signifikant stärkere Wirkung von Triamcinolon gegenüber Dexamethason. Auch die kontralateralen Hemisphären (nicht traumatisiert) zeigten ähnliche Unterschiede.

Hier war der Wassergehalt von  $79,50 \pm 0,43$  % auf  $79,22 \pm 0,25$  % (Dexamethason) bzw.  $79,12 \pm 0,45$  % (Triamcinolon) reduziert. Aufgrund der großen Standardabweichungen sind diese Unterschiede nicht signifikant.

Auch in dieser Serie sind Tendenzen einer Therapiewirksamkeit erkennbar, die für den Einfluss von Corticosteroiden auf den Wassergehalt sprechen (s. Abb. 11). Allerdings ist wie bei den anderen Untersuchungen zu berücksichtigen, dass auch auf der kontralateralen nicht traumatisierten Seite ein Effekt festzustellen ist.

Die Veränderungen des Elektrolytgehalts sind zu vernachlässigen, sie ergeben keinen Hinweis auf eine Beeinflussung durch Steroide (s. Tab. 1 u. 2).



**Abbildung 11:**

Zerebraler Wassergehalt bei Tieren mit Vor- und Nachbehandlung mit Steroiden.

Triamcinolon und Dexamethason führten in beiden Hemisphären zu einer Verringerung des Wassergehalts, die aber auf der nicht traumatisierten Seite aufgrund der deutlich größeren Streuung der Messwerte kein Signifikanzniveau erreichten.

**Zerebraler Natriumgehalt [mM/kg TG] nach Kälteläsion  
Behandlung mit Steroiden**

	traumatisierte Hemisphäre			Kontrollhemisphäre		
<b>1. Nachbehandlung 24 h</b>						
Kontrollen	324,7	±	14,2	296,9	±	18,8
Dexamethason	312,9	±	17,2	273,1	±	24,5
Triamcinolon	319,8	±	20,8	283,3	±	12,5
<b>2. Nachbehandlung 48 h</b>						
Kontrollen	304,8	±	14,6	282,7	±	13,3
Dexamethason	307,2	±	14,5	279,4	±	16,9
Triamcinolon	315,8	±	8,4	276,3	±	10,9
<b>3. Vor- und Nachbehandlung</b>						
Kontrollen	322,7	±	15,5	291,9	±	16,2
Dexamethason	321,4	±	21,1	284	±	17,8
Triamcinolon	318,1	±	21,6	285,8	±	16,2

Tabelle 1:

Zerebraler Natriumgehalt bei Tieren unter Behandlung mit Steroiden nach Kälteläsion.

Die Unterschiede in den traumatisierten und nicht traumatisierten Kontrollhemisphären waren nicht signifikant.

**Zerebraler Kaliumgehalt [mM/kg TG] nach Kälteläsion  
Behandlung mit Steroiden**

	traumatisierte Hemisphäre			Kontrollhemisphäre		
<b>1. Nachbehandlung 24 h</b>						
Kontrollen	409,8	±	29,6	403,3	±	21,6
Dexamethason	393,6	±	33,0	397,1	±	30,7
Triamcinolon	391,3	±	37,0	403,1	±	39,2
<b>2. Nachbehandlung 48 h</b>						
Kontrollen	430,3	±	30,2	446,0	±	18,3
Dexamethason	424,4	±	18,2	436,7	±	26,7
Triamcinolon	423,6	±	30,5	450,6	±	39,7
<b>3. Vor- und Nachbehandlung</b>						
Kontrollen	437,2	±	18,1	437,9	±	32,2
Dexamethason	425,6	±	24,3	449,4	±	12,6
Triamcinolon	428,0	±	42,2	453,0	±	24,6

Tabelle 2:

Zerebraler Kaliumgehalt bei Tieren mit Behandlung mit Steroiden nach Kälteläsion.

Die Unterschiede in den traumatisierten und in den nicht traumatisierten Kontrollhemisphären waren nicht signifikant.



### 3 Zerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt bei Tieren ohne Kältrauma nach Behandlung mit Dexamethason

Es soll noch einmal darauf hingewiesen werden, dass in dieser Versuchsreihe bei den Tieren keine Hirnrindenläsion induziert wurde. Es sollte lediglich die Steroidwirkung auf normales Hirngewebe ohne Läsion beurteilt werden.

Das Hirngewebe von Kontrolltieren, die nur physiologische Kochsalzlösung erhielten, wies einen mittleren Wassergehalt von  $79,62 \pm 0,13$  % auf. Nach Behandlung mit Dexamethason betrug dieser nur  $79,11 \pm 0,40$  % ( $p < 0,05$ ) (s. Abb. 12 u. Tab. 3). Dieser Unterschied von  $0,51 \pm 0,42$  % ist größer als die in den zuvor dargestellten Versuchsreihen gefundenen Differenzen des Wassergehalts und muss im Weiteren besonders beachtet werden.

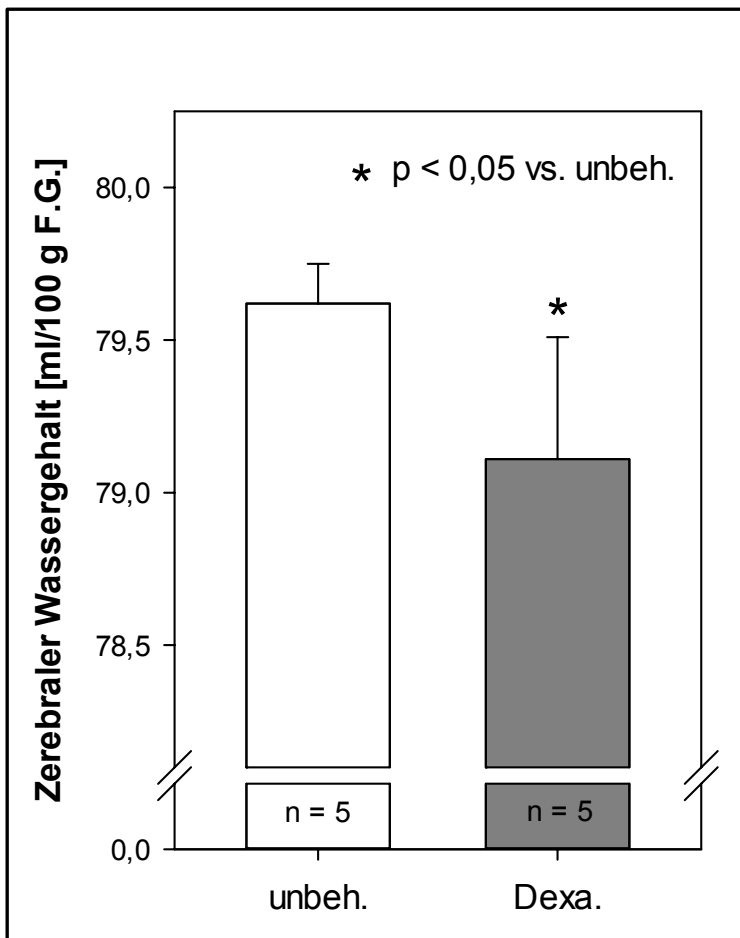


Abbildung 12:  
Zerebraler Wassergehalt bei Tieren ohne Kältrauma nach 24-stündiger Behandlung mit Dexamethason. Der Wassergehalt wurde durch Dexamethason signifikant um  $0,51 \pm 0,42$  % reduziert ( $p < 0,05$ ).

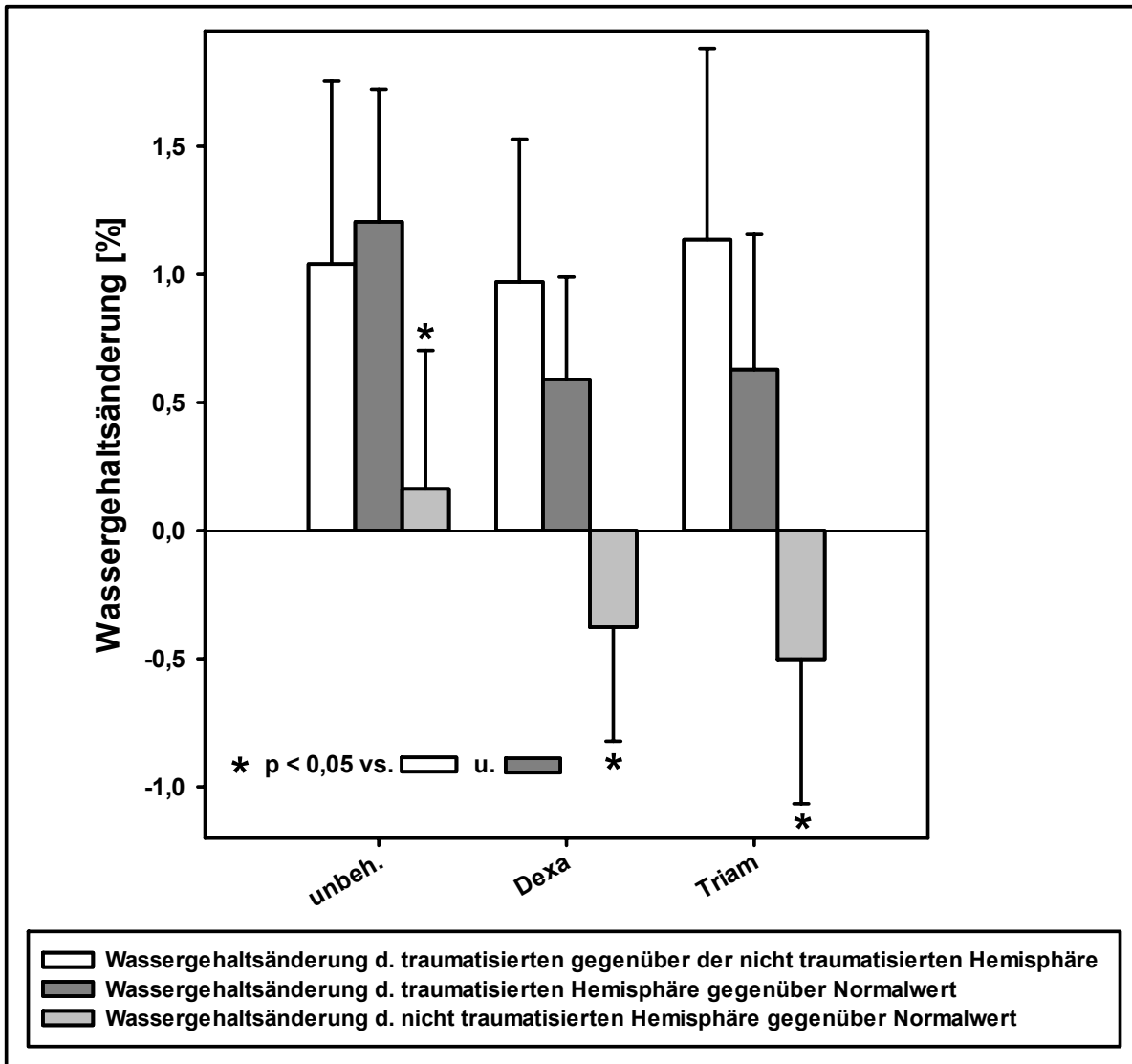


Abbildung 12a:

Vergleich des relativen Wassergehalts 48 Stunden nach Trauma bei Tieren mit Kälteläsion ohne Behandlung und unter Gabe von Dexamethason oder Triamcinolon. Nur die Wassergehaltsänderungen der kontralateralen Hemisphären gegenüber dem Wert der Kontrolltiere mit Kochsalzlösung ( $79,62 \pm 0,13$  ml/100 g F.G.) unterscheiden sich signifikant ( $p < 0,05$ ) von den Änderungen der traumatisierten Hemisphären gegenüber dem Wert der Kontrolltiere bzw. der traumatisierten Hemisphären gegenüber den kontralateralen Hemisphären.

Abbildung 12a macht die unspezifische Wirkung von Dexamethason deutlich. Hier wurde die relative Wassergehaltszunahme dargestellt entsprechend der Berechnung für die Schwellung (a) im direkten Vergleich von traumatisierten mit den kontralateralen Hemisphären (weiße Balken) sowie (b) als Vergleich der traumatisierten (dunkelgraue Balken) und der nicht traumatisierten (hellgraue Balken) Hemisphären mit dem Befund der Kontrolltiere ( $79,62 \pm 0,13$  ml/100 g F.G.).

Sowohl unter Dexamethason- als auch Triamcinolonbehandlung zeigte sich eine deutliche Abnahme des Wassergehalts der traumatisierten und der nicht traumatisierten Hemisphären gegenüber den Kontrolltieren. Insbesondere sanken die Werte der kontralateralen Hemisphären unter den der Kontrolltiere ohne Trauma. Die Abnahme erreichte allerdings nicht das Ausmaß der Ergebnisse der Kontrolltiere ohne Trauma (0,64 %). Ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  wurde aufgrund der großen Streuung der Daten nur für die Wassergehaltsänderung der kontralateralen Hemisphären gegenüber dem Wert der Kontrolltiere erreicht.

Der Natriumgehalt nahm nach der Behandlung mit Dexamethason von  $276,5 \pm 11,8$  mM/kg TG auf  $268,5 \pm 10,7$  mM/kg TG ab. Der Kaliumgehalt stieg von  $456,6 \pm 20,7$  mM/kg TG auf  $459,8 \pm 18,7$  mM/kg TG an. Die Änderungen der Elektrolyte sind jedoch nicht signifikant (s. Tab. 3).

<b>Zerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt bei Tieren <u>ohne</u> Kälteläsion Behandlung mit Dexamethason</b>		
	<b>Kontrollen</b>	<b>Dexamethason</b>
<b>Zerebraler Wassergehalt</b> (ml/100 mg Frischgewebe)	79,62 ± 0,13	79,1* ± 0,40
<b>Zerebraler Natriumgehalt</b> (mM/kg Trockengewebe)	276,40 ± 11,80	268,50 ± 10,70
<b>Zerebraler Kaliumgehalt</b> (mM/kg Trockengewebe)	456,00 ± 20,70	459,80 ± 18,70

Tabelle 3:

Änderung des zerebralen Wassergehalts und der zerebralen Elektrolytkonzentrationen bei Tieren ohne Kälteläsion nach 24-stündiger Behandlung mit Steroiden.

Durch die Behandlung mit Dexamethason kam es zu einer signifikanten ( $p < 0,05$ ) Abnahme des Wassergehalts.

Die Änderungen der Natrium- und Kaliumkonzentrationen sind unwesentlich.

## 4 Therapeutische Wirksamkeit von BW 755C

### 4.a Therapiebeginn nach Kälteläsion bei Tieren mit einer Überlebenszeit von 24 Stunden

In der entsprechenden Versuchsgruppe ohne Therapie erreichte die posttraumatische Hemisphärenschwellung im Mittel  $8,02 \pm 0,98$  %. Bei Tieren mit dem dualen Inhibitor BW 755C vergrößerte sich das Ausmaß der Hemisphärenschwellung nach Kälteläsion auf  $8,51 \pm 0,90$  %. Der Unterschied ist jedoch nicht signifikant (s. Abb. 13).

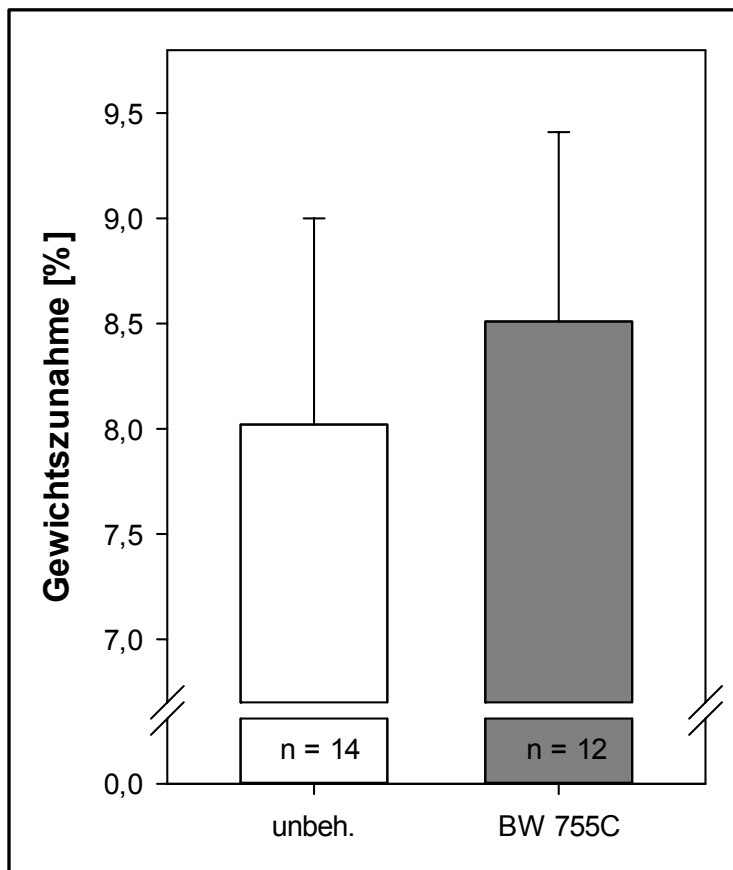
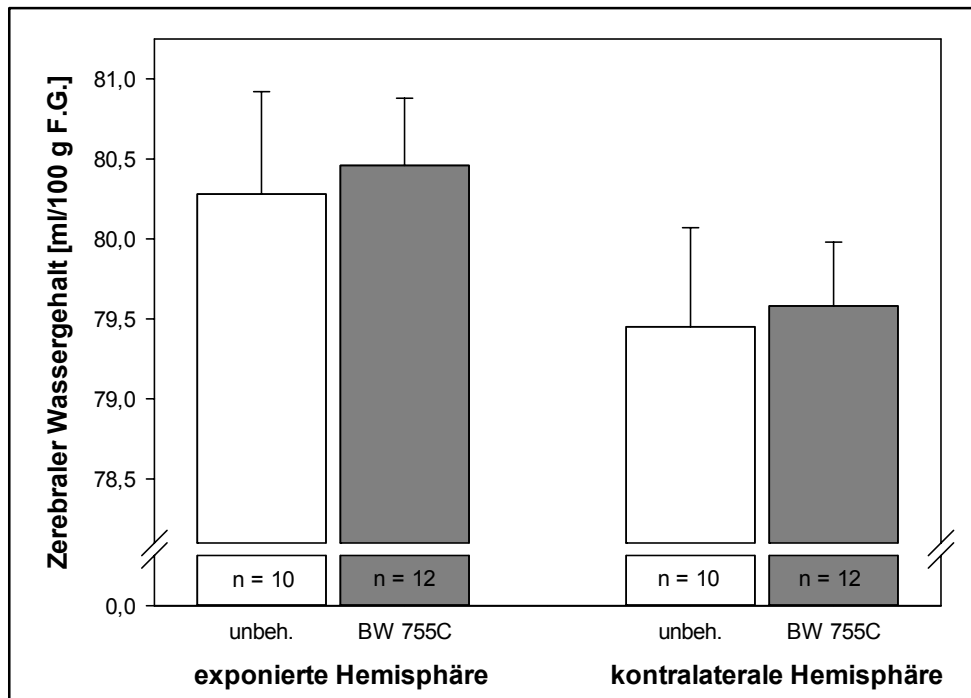


Abbildung 13:  
Posttraumatische Hemisphärenschwellung bei Tieren mit Nachbehandlung mit dem dualen Inhibitor BW 755C. BW 755C verstärkte marginal die Gewichtszunahme der traumatisierten Hemisphäre, d. h. die traumatische Hirnschwellung (nicht signifikant).

In der Kontrollgruppe betrug der zerebrale Wassergehalt der traumatisierten Hemisphäre  $80,28 \pm 0,64$  %. Die kurz nach der Kälteläsion begonnene Behandlung mit BW 755C führte zu einer Zunahme des Wassergehalts auf  $80,46 \pm 0,42$  %.

Diese Zunahme entsprach der oben beschriebenen Vergrößerung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung, sie ist statistisch jedoch nicht signifikant.

Der Wassergehalt der kontralateralen Hirnhemisphäre wurde durch BW 755C ( $79,45 \pm 0,62 \%$  vs.  $79,58 \pm 0,40 \%$ ) nicht signifikant verändert (s. Abb. 14).



**Abbildung 14:**

Zerebraler Wassergehalt von Versuchstieren bei Nachbehandlung mit dem dualen Inhibitor BW 755C.

Die Verabreichung von BW 755C führte zu einer Zunahme des Wassergehalts der traumatisierten als auch der kontralateralen Hemisphäre. Dieser Befund ist jedoch statistisch nicht signifikant.

Der Natriumgehalt im getrockneten Hirngewebe zeigte keinen Unterschied zwischen Kontroll- und Therapiegruppe (s. Tab. 4). Die geringfügigen Unterschiede des Kaliumgehalts sprechen gegen eine Wirkung von BW 755C auf diesen Parameter (s. Tab. 5).

#### 4.b Therapiebeginn vor Kälteläsion bei Tieren mit einer Überlebenszeit von 24 Stunden

Die Kälteläsion führte bei Tieren mit physiologischer Kochsalzlösung (Placebo) zu einer posttraumatischen Hemisphärenschwellung von  $6,73 \pm 1,59$  %.

Die geringere Schwellung im Vergleich zu der Kontrollgruppe von Versuchstieren mit Kälteläsion ohne Therapie ist auf eine leichte methodische Änderung bei der Induktion des Kältetraumas zurückzuführen, in der Absicht das Verfahren besser zu standardisieren.

Wurde 30 Minuten vor dem Trauma mit der Behandlung mit BW 755C begonnen, war die posttraumatische Hemisphärenschwellung marginal von  $6,73 \pm 1,59$  % auf  $6,58 \pm 0,98$  % vermindert (nicht signifikant) (s. Abb. 15).

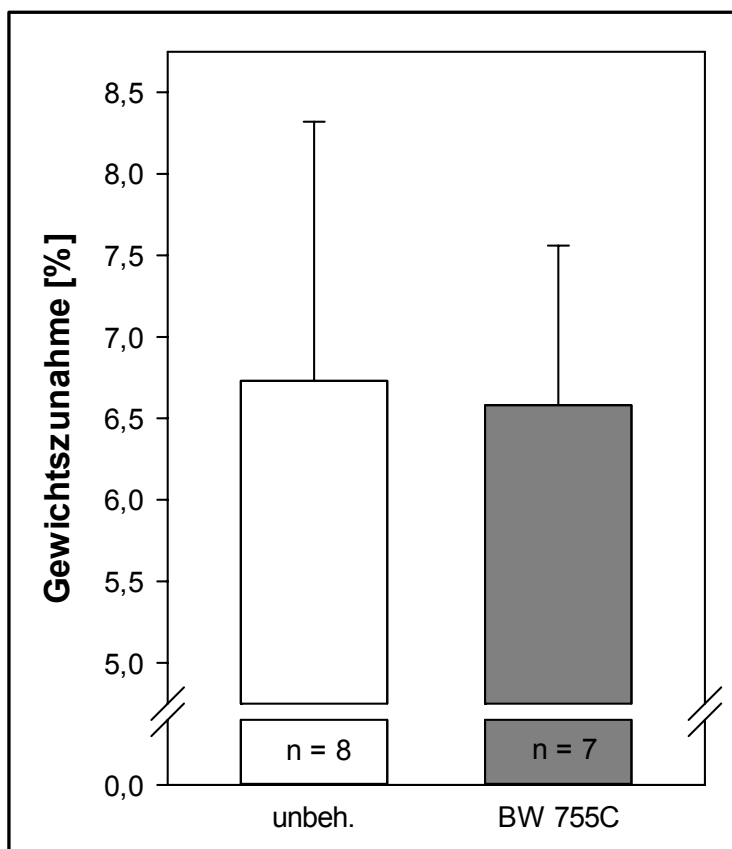


Abbildung 15:  
Posttraumatische Hemi-  
sphärenschwellung bei  
Vor- und Nachbehandlung  
mit BW 755C.  
Bei Tieren mit dualem  
Inhibitor war der Gewichts-  
zuwachs der traumatisier-  
ten Hemisphäre geringfü-  
gig abgeschwächt.

Hingegen hatte die Vorbehandlung mit BW 755C eine signifikante Reduktion des Wassergehalts beider Hirnhemisphären zur Folge.

Die traumatisierte Hirnhemisphäre der Tiere ohne Therapie hatte einen Wassergehalt von  $80,54 \pm 0,23$  %, während der Wassergehalt der Tiere der Therapiegruppe mit  $80,22 \pm 0,34$  % signifikant niedriger war ( $p < 0,05$ ).

BW 755C verringerte auch den Wassergehalt der kontralateralen Hemisphäre signifikant von  $79,75 \pm 0,30$  % auf  $79,34 \pm 0,31$  % ( $p < 0,05$ ) (s. Abb. 16).

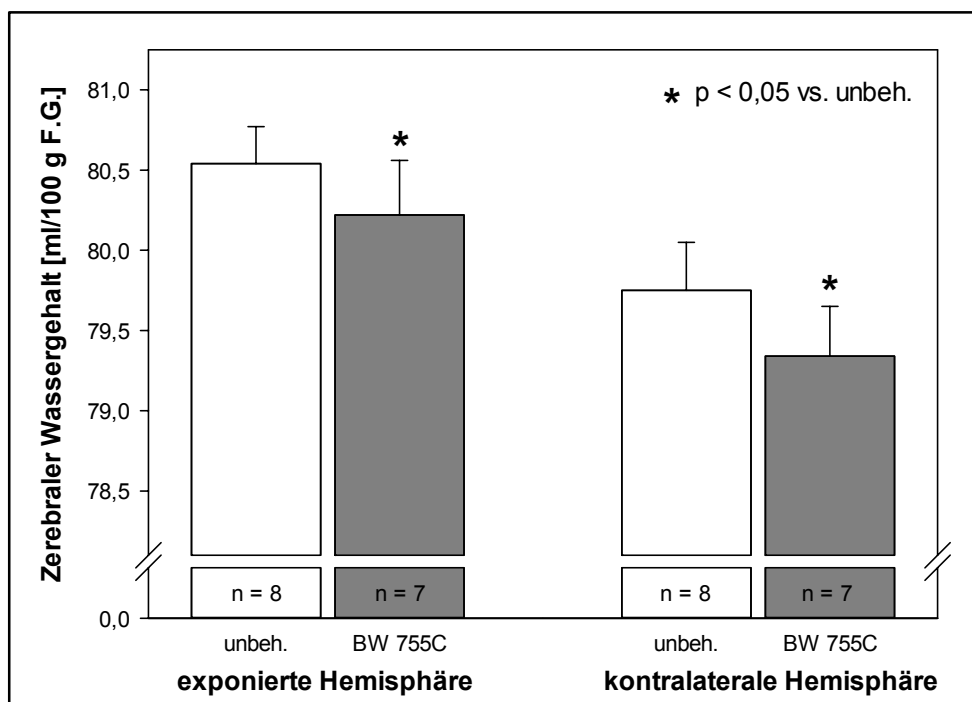


Abbildung 16:

Zerebraler Wassergehalt bei Tieren mit Vor- und Nachbehandlung mit BW 755C.

Die zusätzliche Vorbehandlung mit dem dualen Inhibitor führte zu einer signifikanten Reduktion des Wassergehalts der traumatisierten als auch der kontralateralen Hirnhemisphäre.

Die bei der Elektrolytbestimmung des Hirngewebes gefundenen Werte zeigten keine wesentlichen Unterschiede, sodass eine Beeinflussung durch die Therapie weitgehend ausgeschlossen werden kann (s. Tab. 4 und 5).

**Zerebraler Natriumgehalt [mM/kg TG] nach Kälteläsion  
Behandlung mit BW 755C**

	traumatisierte Hemisphäre	Kontrollhemisphäre
<b>1. Nachbehandlung 24 h</b>		
Kontrollen	334,5 ± 19,2	294,9 ± 17,5
BW 755C	335,3 ± 28,4	294,9 ± 16,8
<b>2. Vor- und Nachbehandlung</b>		
Kontrollen	332,3 ± 24,0	296,4 ± 11,5
BW 755C	327,5 ± 23,9	295,9 ± 20,2

Tabelle 4:  
Zerebraler Natriumgehalt bei Behandlung von Tieren mit BW 755C nach Kälteläsion.

**Zerebraler Kaliumgehalt [mM/kg TG] nach Kälteläsion  
Behandlung mit BW 755C**

	traumatisierte Hemisphäre	Kontrollhemisphäre
<b>1. Nachbehandlung 24 h</b>		
Kontrollen	417,2 ± 17,9	437,8 ± 20,1
BW 755C	422,5 ± 25,1	435,5 ± 13,4
<b>2. Vor- und Nachbehandlung</b>		
Kontrollen	438,9 ± 13,9	460,9 ± 31,2
BW 755C	441,6 ± 16,4	446,2 ± 13,3

Tabelle 5:  
Zerebraler Kaliumgehalt bei Behandlung von Tieren mit BW 755C nach Kälteläsion.



## 5 Therapeutische Wirksamkeit von C1-Inaktivator

In dieser Versuchsserie wurde mit der Therapie 10 Minuten nach dem Kältetrauma begonnen. Die Überlebenszeit der Tiere betrug 24 Stunden.

Die Kälteläsion führte bei den Tieren, die nur physiologische Kochsalzlösung erhalten hatten, zu einer Hemisphärenschwellung von  $7,52 \pm 1,22$  %. Die Behandlung mit dem C1-Inaktivator schwächte die Schwellung auf  $7,27 \pm 1,11$  % geringfügig ab (s. Abb. 17).

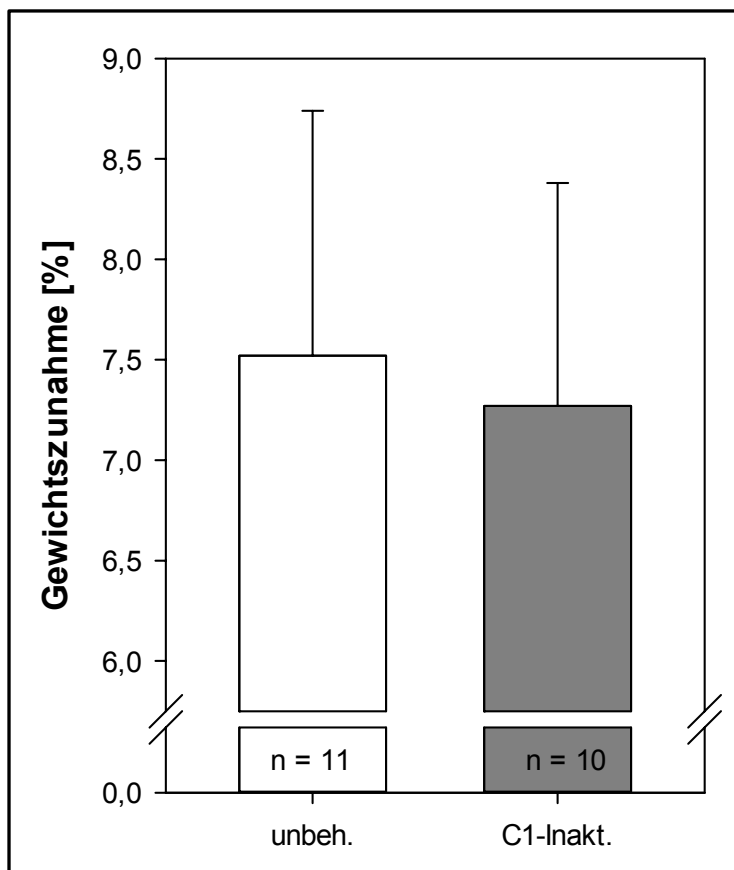
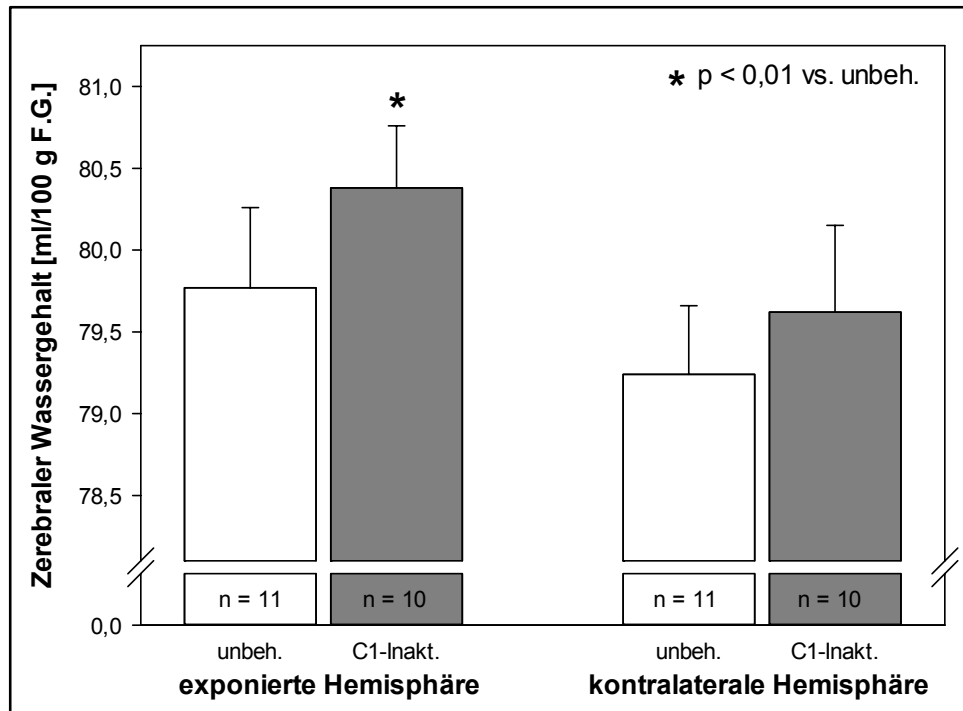


Abbildung 17:  
Posttraumatische Hemisphärenschwellung bei Tieren mit C1-Inaktivator-Nachbehandlung. Die Behandlung mit dem Proteinaseinhibitor führte zu einer geringfügigen Abschwächung der Gewichtszunahme der traumatisierten Hemisphäre.

In der Kontrollgruppe betrug der Wassergehalt der traumatisierten Hirnhemisphäre  $79,77 \pm 0,49$  %. Nach Behandlung der Tiere mit C1-Inaktivator war der Wassergehalt auf  $80,38 \pm 0,38$  % erhöht. Dieser Unterschied ist signifikant ( $p < 0,01$ ).

Der Wassergehalt der nicht traumatisierten Hirnhemisphäre betrug in der Kontrollgruppe  $79,24 \pm 0,42$  %. Nach Verabreichung von C1-Inaktivator war auch hier der Wassergehalt erhöht ( $79,62 \pm 0,53$  %). Dieses Ergebnis ist jedoch nicht signifikant (s. Abb. 18).



**Abbildung 18:**  
Zerebraler Wassergehalt bei Nachbehandlung mit C1-Inaktivator.  
Der Proteinaseinhibitor führte zu einer deutlichen Zunahme des Wassergehalts in beiden Hirnhemisphären.

Die Bestimmung des Elektrolytgehalts des Hirngewebes ergab nur geringe Unterschiede zwischen der behandelten gegenüber der unbehandelten Versuchsgruppe. Gegenüber der Kontrollgruppe ( $312,9 \pm 11,2$  mM/kg TG in der traumatisierten Hemisphäre;  $281,2 \pm 20,2$  mM/kg TG in der nicht traumatisierten Hemisphäre) kam es in der Therapiegruppe ( $330,7 \pm 15,1$  mM/kg TG in der traumatisierten Hemisphäre;  $299,2 \pm 21,2$  mM/kg TG in der nicht traumatisierten Hemisphäre) zu einem Anstieg des Natriumgehalts in beiden Hirnhälften.

Der Kaliumgehalt war nach Gabe von C1-Inaktivator von  $425,7 \pm 19,3$  mM/kg TG auf  $421,42 \pm 18,2$  mM/kg TG (traumatisierte Hirnhemisphäre) und von  $456,2 \pm 18,7$  mM/kg TG auf  $425,4 \pm 25,1$  mM/kg TG (nicht traumatisierte Hirnhemisphäre) nur leicht gesenkt (s. Tab. 6). Die Unterschiede sind nicht signifikant.

<b>Zerebraler <u>Natriumgehalt</u> nach Kälteläsion Behandlung mit C1-Inaktivator</b>			
	<b>traumatisierte Hemisphäre</b>		<b>Kontrollhemisphäre</b>
<b>Zerebraler Natriumgehalt</b> (mM/kg Trockengewebe)			
Kontrollen	312,9	± 11,2	281,2 ± 20,2
C1-Inaktivator	330,7	± 15,1	299,2 ± 21,2
<b>Zerebraler Kaliumgehalt</b> (mM/kg Trockengewebe)			
Kontrollen	425,7	± 19,3	456,2 ± 18,7
C1-Inaktivator	421,4	± 18,2	425,4 ± 25,1

Tabelle 6:

Zerebraler Elektrolytgehalt bei Versuchstieren nach Behandlung mit C1-Inaktivator.

## D DISKUSSION

### 1 Versuchsmodell und Methodik

Das Schädel-Hirn-Trauma ist kein einheitliches Krankheitsbild, die Art der Hirnläsion kann verschieden sein ebenso wie die Beteiligung der Peripherie. Ein experimentelles Modell muss sich dennoch auf einen bestimmten Läsionstyp beschränken. Die methodische Repräsentation aller klinisch vorkommenden Läsionsarten in einem Modell ist nicht möglich. Es würde zudem eine standardisierte Durchführung des Versuchs und dessen Interpretation wesentlich erschweren. Das Modell der kortikalen Kälteläsion berücksichtigt dieses Problem. Bevor näher darauf eingegangen wird, sollen andere wichtige Modelle der schweren Schädel-Hirn-Verletzung diskutiert werden (Übersicht: Prieto et al. 2009).

Bei der Bolzenschussverletzung erfolgt eine plötzliche Gewalteinwirkung auf die geschlossene Schädeldecke (Tornheim et al. 1984). Beim „Fluid percussion“ Modell entsteht die Verletzung durch einen Druckimpuls nach dessen Weiterleitung durch eine Flüssigkeitssäule auf die Gehirnoberfläche (Sullivan et al. 1976). Auch mit Schussverletzungen sind Untersuchungen durchgeführt worden (Allen et al. 1983). Durch das Akzelerations- wie Dezelerationstrauma kann ein diffuser Axonschaden erzeugt werden (Gennarelli und Thibault 1983). Weber entwickelte eine Methode der Hirnparenchymschädigung durch repetitive Traumen (Weber 2007).

Diese Modelle sind jedoch zur Induktion einer isolierten Kontusion wenig geeignet, sie leiden unter der geringen Standardisierbarkeit.

Die Induktion einer Hirnrindenläsion durch Kälte wurde das erste Mal von Hass und Taylor (1953) und Clasen et al. (1953) vor ca. 60 Jahren untersucht. Das Modell wurde von Klatzo (1967) bei Katzen verfeinert.

Die durch die Kälteeinwirkung verursachte Gewebsnekrose entspricht einem Kontusionsherd, der als besonders häufiger Primärschaden beim schweren Schädel-Hirn-Trauma des Menschen vorkommt. Die dabei auftretende Schädigung der Blut-Hirnschranke ist Ursache der Extravasation des vasogenen Ödems. Histologische Untersuchungen haben gezeigt, dass es sich um eine Flüssigkeitsansammlung im interzellulären Bereich handelt (Ashton 1984) als Grundlage der nachfolgenden sekundären Schädigung des Gehirns durch Durchblutungsstörungen und der Freisetzung zytotoxischer Substanzen im Fokus mit Übertritt in das vitale perifokale Parenchym.

Die Darstellung des Hirnödems mit Evans Blue mit Quantifizierung der Hirnschwellung und des Wassergehalts bestätigen, dass unser Modell eine hohe Standardisierbarkeit hat. Auch der zeitliche Verlauf der Ödemausbreitung ist reproduzierbar. Die posttraumatische Hirnschwellung erreicht ein Maximum 24 bis 48 Stunden nach Läsion, wie die eigenen als auch die Ergebnisse anderer Studien zeigen (Pappius 1974).

Trotz bekannter Narkoseempfindlichkeit wählten wir Kaninchen als Versuchstiere wegen ihrer relativ leichten Handhabung und einfachen Haltung. Es muss jedoch angemerkt werden, dass das Gehirn dieser Tiere einen bedeutend größeren Anteil an grauer zu weißer Substanz hat als das menschliche Gehirn. Dies muss bei der Beurteilung der Befunde berücksichtigt werden, weil die Ausbreitung des vasogenen Hirnödems sich hauptsächlich in der weißen Substanz abspielt.

In einer Reihe von Untersuchungen ist gezeigt worden, dass die kortikale Kälteläsion geeignet ist, die therapeutische Wirkung verschiedener Maßnahmen zur Verringerung des vasogenen Hirnödems und des zerebralen Sekundärschadens zu prüfen. In dem Zeitraum von 1980 – 2002 wurde dieses Modell in mehr als 326 Untersuchungen verwendet (Schulz 2000). Tabelle 7 gibt einen Überblick der wichtigsten experimentellen Studien. Auf die Erfahrung mit Steroiden wird später ausführlicher eingegangen.

**Experimentelle Studien zur Therapie  
der kälteinduzierten Hirnrindenzläsion**

	Spezies	Therapieverfahren	Ergebnisse
Ortega et al. (1972)	Katzen	Antioxydantien (DPPD)	+ Wassergehalt + Histologie
Miller (1973)	Hunde	hyperbare Oxygenation	+ ICP + Wassergehalt
		Mannitol	+ ICP + Wassergehalt
Földi-Börksök et al. (1975)	Kaninchen	Benzopyron	+ Schwellung + Extravasation (Evans Blue)
Gainer und Nugent (1976)	Katzen	Erhöhung der Sauerstoff-Diffusionsgeschwindigkeit (Crocetin)	+ Schwellung
Guisado et al. (1976)	Hunde	Glycerol	+ Wassergehalt
Maas und De Lange (1976)	Katzen	Hypotension	+ ICP - Laktat im Liquor
Czernicki (1979)	Katzen	Aprotinin	+ Wassergehalt
		Aescorin	+ Wassergehalt
Gaab et al. (1979)	Katzen	dekompresive Trepanation	+ ICP (+) EEG - AVD (Gluk., Laktat)
		Ödemresektion	+ ICP + EEG + AVD (Gluk., Laktat)
Harbaugh et al. (1979)	Kaninchen	Pentobarbital	+ ICP - Wassergehalt
Millson et al. (1981)	Kaninchen	Furosemid	+ ICP - Wassergehalt
		Mannitol	+ ICP + Wassergehalt
		Furosemid + Mannitol	+ ICP + Wassergehalt
Albright u. Phillips (1982)	Hunde	Osmotherapie (Mannitol, Albumin)	- Wassergehalt
Millson et al. (1982)	Kaninchen	Mannitol + Pentobarbital	+ ICP + Wassergehalt
Albright et al. (1984)	Hunde	HÄS (Hydroxyethylstärke)	+ ICP + Wassergehalt
		HÄS + Furosemid	+ ICP + Wassergehalt
James et al. (1984)	Hunde	DMSO	+ ICP - Wassergehalt
		Pentobarbital	+ ICP - Wassergehalt
Unterberg et al. (1986a)	Kaninchen	Aprotinin	+ Schwellung + Wassergehalt

+ positiver Therapieeffekt  
- kein Therapieeffekt

Fortsetzung Tab. 7

	<b>Spezies</b>	<b>Therapieverfahren</b>	<b>Ergebnisse</b>
Bemana et al. (1999)	Ratten	Arginin Vasopressin V1 Rezeptor Antagonist	+ Schwellung + Extravasation (Evans Blue)
Schulz et al. (2000)	Ratten	Bradykinin B2 Rezeptor-Antagonist LF16-0687	+ Schwellung (bei niedriger Dosierung) - Schwellung (bei hoher Dosierung)
Görlach et al. (2001)	Ratten, Mäuse	Bradykinin B2 Rezeptor-Antagonist Hoe 140	+ Größe der Läsion (Ratten) + Schwellung (Mäuse)
		Bradykinin B1 Rezeptor-Antagonist B9858	- Größe der Läsion (Ratten)
Niklas et al. (2004)	Kaninchen	Hyperbare Oxygenation	+ pO <sub>2</sub> -Messung im Hirngewebe + Nekrosegröße + Ödembreite
James (2006)	Kaninchen	Mannitol	+ ICP + Wassergehalt
Grasso et al. (2007)	Ratten	Erythropoietin	+ Wassergehalt + Extravasation (Evans Blue)
Jinnouchi et al. (2007)	Mäuse	Pigment epithelium- Derived factor	+ Schwellung
Raslan et al. (2010)	Mäuse	Bradykinin B1 Rezeptor-Antagonist R-715	+ Größe der Läsion

+ positiver Therapieeffekt  
- kein Therapieeffekt

Tabelle 7:

Experimentelle Studien zur Therapie der kälteinduzierten Hirnrindenläsion.  
Nicht aufgeführt sind Therapiestudien mit Steroiden.

In unseren Untersuchungen wurde die Wirksamkeit der Therapie auf die als Gewichtszunahme quantifizierte Schwellung der traumatisierten Hirnhemisphäre beurteilt.

Die „posttraumatische Hemisphärenschwellung“ ist zur Quantifizierung der vasogenen Ödemflüssigkeit am besten geeignet, weil diese Größe als „Maß des Ödems“ das Ausmaß der intrakraniellen Raumforderung besonders überzeugend darstellt.

Wie wichtig dieser Aspekt ist, zeigen die Ergebnisse einer Therapiestudie mit Aprotinin, bei der die Hemisphärenschwellung zwar um 25 % reduziert werden konnte, nicht jedoch der Wassergehalt der traumatisierten Hemisphäre (Unterberg 1986a).

Dass auf die zusätzliche Bestimmung des Wassergehalts nicht verzichtet werden kann, zeigen die vorliegenden Befunde nach Therapie mit Steroiden und BW 755C. Diese Pharmaka hatten nämlich auch den Wassergehalt der nicht traumatisierten Hirnhemisphäre bei den Kaninchen gesenkt. Dieser Effekt könnte durch die Verbesserung der intrakraniellen Compliance den Anstieg des intrakraniellen Drucks mildern oder gar verhindern und somit die Entwicklung des zerebralen Sekundärschädens. Ohne die Bestimmung des Wassergehalts wäre dieser Effekt nicht erkennbar gewesen.

Eine wichtige Voraussetzung der gravimetrischen Bestimmung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung ist, dass beide Gehirnhälften unter physiologischen Bedingungen das gleiche Gewicht haben. In Vorversuchen konnte dies von uns bestätigt werden. Von großer Bedeutung ist weiterhin, dass die Hemisphärentrennung exakt symmetrisch erfolgt, um den Trennungsfehler so niedrig wie möglich zu halten. In diesen Vorversuchen ermittelten wir einen Gewichtsunterschied der beiden Hirnhemisphären nach symmetrischer Trennung von  $< 1\%$ , der als Trennungsfehler vernachlässigt wurde.

Eine weitere Bedingung für die Berechnung der Hemisphärenschwellung ist, dass die nicht traumatisierte Hemisphäre bzgl. Gewicht und Wassergehalt durch das Ödem der Gegenseite nicht beeinflusst wird.

Der kurz nach dem Kältetrauma intravenös injizierte Farbstoff (Evans Blue), bzw. die damit markierten Plasmaproteine, waren bei der Ausbreitung des vasogenen Hirnödems in das perifokale Gewebe tatsächlich strikt auf die exponierte Hirnhälfte beschränkt.



Der Vergleich von Wassergehalt und Gewicht der Kontrollhemisphäre von Tieren mit Kälteläsion mit den Hirnhemisphären von Tieren ohne Kälteläsion macht zudem deutlich, dass sich das vasogene Hirnödem auf die traumatisierte Hirnhemisphäre beschränkt hatte.

Wird jedoch, wie in den vorliegenden Untersuchungen, durch Steroide oder BW 755C der Wassergehalt und somit das Gewicht der Kontrollhemisphäre ebenfalls reduziert, stellt sich die Frage nach der Beurteilung der gravimetrisch bestimmten Hirnschwellung. Unter der Annahme, dass der Wassergehalt durch Steroide in beiden Hemisphären zu gleichen Anteilen vermindert worden ist, kann gefolgert werden, dass die posttraumatische Hemisphärenschwellung der empfindlichere Parameter für die Prüfung der therapeutischen Wirksamkeit einer Behandlungsmethode des perifokalen Ödems ist.

## **2 Der primäre und der sekundäre Hirnschaden**

### **Der primäre Hirnschaden**

Der primäre Hirnschaden ist die akut entstehende Nekrose von zerebralem Gewebe, zum Beispiel beim ischämischen Insult oder nach einem schweren Schädel-Hirn-Trauma. Morphologisch können beim Schädel-Hirn-Trauma drei Schädigungstypen unterschieden werden.

Die Kontusion ist eine hämorrhagische Parenchymnekrose, die häufig auf die Windungskuppen beschränkt ist (Gullotta 1984).

Bei der plötzlichen Akzeleration (oder Dezeleration) entsteht die Kontusion durch den Stoß des quasi frei beweglichen, im Liquor „schwimmenden“ Gehirns gegen die innere Oberfläche des Schädels („coup“).

Das gegenüberliegende Kontusionsareal, der „Contrecoup“ wurde früher unter anderem als Folge des akut auftretenden Unterdrucks mit Bildung von Gasbläschen im Gewebe erklärt, deren explosionsartiger Kollaps Parenchym zerstört (Übersicht: Peters 1969, Kurosawa et al. 2009).

Nach heutiger Auffassung hingegen entsteht der Contrecoup-Herd durch die sekundäre Stoßbewegung („Rückschlag“) des Gehirns in die dem Coup-Herd entgegengesetzte Richtung.

Sehr oft sind Gefäßläsionen im Bereich der Kontusionen zu finden.

Sind größere Gefäße (z. B. Arteria meningea media) durch Fraktur des Schädelknochens verletzt, kann ein epidurales Hämatom entstehen, während der Riss von Brückenvenen zum akuten subduralen Hämatom führt. Akute Verschiebungen von Ventrikelliquor führen zur Ausbildung eines negativen Drucks unter dem Ependym. Gefäßzerreißen mit Blutung in die Stammganglien und das Marklager können eine Folge sein (Gullotta 1984). Eine okzipitale Dezeleration kann zu Zerreißen von Strukturen an der Basis des Frontalhirns führen (Bayly et al. 2005).

Als Folge der beim Schädel-Hirn-Trauma auftretenden massiven Scher- und Zugkräfte entwickelt sich der diffuse Axonschaden der auf- und absteigenden Bahnen in der weißen Substanz, vor allem im Corpus callosum und im Hirnstamm (Adams et al. 1983). Typischerweise ergeben dabei computertomographische Untersuchungen oder die Messung des intrakraniellen Druckes nur geringe Hinweise auf eine zerebrale Schädigung. Hingegen kann mit der diffusionsgewichteten Magnetresonanztomographie der Axonschaden aufgedeckt werden (Mac Donald et al. 2007). Makroskopisch nicht zu erkennende Axonschäden können elektronenmikroskopisch sichtbar gemacht werden (Xiaoshengi et al. 2010). An diesen morphologischen Veränderungen sind möglicherweise hypoxische Mechanismen beteiligt (Hellewell et al. 2010).

## Der sekundäre Hirnschaden

Es wird immer wieder beobachtet, dass Patienten mit einem schweren Schädel-Hirn-Trauma aus dem Koma erwachen, aber nach einem sogenannten luziden Intervall erneut eintrüben und versterben. Der Grund hierfür ist der sekundäre Hirnschaden, unter anderem als Folge der intrakraniellen Raumforderung. Durch die zerebrale Ischämie kommt es zum sekundären Untergang von Hirnparenchym, von selektiv-vulnerablen Nervenzellen im Hippocampus bzw. zu Parenchymverlust in den Stammganglien (Graham et al. 1978). Die klinischen Folgen sind schwere neurologische Defizite bis hin zum Hirntod.

Extrakranielle Ursachen für den sekundären Hirnschaden sind die arterielle Hypotension und die pulmonale Hypoxie, deren Intensität und Dauer den klinischen Verlauf eines Patienten mit einem Schädel-Hirn-Trauma substantiell beeinflussen (Mendelow und Teasdale 1983).

Intrakranielle Ursachen für den zerebralen Sekundärschaden sind raumfordernde Blutungen und die posttraumatische Hirnschwellung. Subdurale Hämatome können im Zusammenhang mit Kontusionen entstehen. Sie beeinflussen in Abhängigkeit von ihrer Ausdehnung maßgeblich den klinischen Verlauf. Auf die posttraumatische Hirnschwellung soll in einem gesonderten Kapitel eingegangen werden.

Die Raumforderung durch das intrakranielle Hämatom und durch die Hirnschwellung führt zum Anstieg des intrakraniellen Drucks und seinen fatalen Folgen: Kompression und Herniation von Hirngewebe, Verminderung des zerebralen Perfusionsdrucks und schließlich die sekundäre zerebrale Ischämie, i. e. die eingeschränkte oder zum Erliegen gekommene Durchblutung des Gehirns.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass die medizinische Versorgung eines Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma die Verhinderung des zerebralen Sekundärschadens zum Ziel hat, der Primärschaden ist per Definition therapierefraktär.

Die rasche und kompetente Nothilfe am Unfallort, der schnelle Transport des Verunfallten in die Klinik, die prompte Diagnostik und optimale intensivmedizinische Behandlung sind die wichtigsten Voraussetzungen.

### 3 Das vasogene Hirnödem

#### 3.1 Definition

Das Hirnödem ist charakterisiert durch den Anstieg des zerebralen Gewebswassergehalts und in Folge dessen eine Volumenerhöhung des Gehirns (Pappius 1974). Erste Differenzierungsversuche wurden von Reichart unternommen (Reichart 1905). Anhand makroskopischer Befunde von Gewebsschnitten unterschied er zwischen „Hirnödem“ (weich und feucht) und „Hirnschwellung“ (trocken und hart). In späteren Jahren wurde diese Einteilung durch histopathologische Untersuchungen untermauert (Zülch 1953). Zwar werden auch heute noch beide Begriffe häufig synonym verwendet, dennoch sollte streng unterschieden werden, da eine Schwellung nicht nur durch ein Ödem, sondern auch durch die Zunahme des intravasalen Blutvolumens oder durch Hämorrhagie des Hirnparenchyms zustande kommen kann.

Klatzo (1967) führte eine pathophysiologisch ausgerichtete Klassifikation des Hirnödems ein. Er unterschied zwischen dem zytotoxischen und dem vasogenen Hirnödem. Das zytotoxische Ödem ist charakterisiert durch eine abnorme Flüssigkeitsansammlung in den Zellen (Glia, Neurone) der grauen und der weißen Substanz bei gleichzeitiger Schrumpfung des Extrazellulärraums. Ursache hierfür kann unter anderem das Versagen der ATP-abhängigen Natrium-Kalium-Pumpe sein (z. B. durch Hypoxie), mit raschem Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration. Der dadurch erzeugte osmotische Eintritt von Wasser ist die unmittelbare Ursache der Zellschwellung (Kempski 1986).

Beim vasogenen Hirnödem führt die nekrotische Schädigung der Gefäßwand (z. B. in einem Kontusionsherd oder Infarkt) zum Austritt von intravasaler Flüssigkeit in den Extrazellulärraum. Gleichzeitig wird eine Schwellung von Astrozytenfortsätzen vorzugsweise in der weißen Substanz beobachtet (Klatzo 1967, Übersicht: Baethmann 1978).

Fishman definierte als dritte Form das periventrikuläre interstitielle Hirnödem (Fishman 1975) in Zusammenhang mit einem obstruktiven Hydrocephalus. Es ist durch eine Zunahme des Wasser- und des Natriumgehalts in der periventrikulären weißen Substanz charakterisiert. Der Unterschied zu anderen Ödemtypen besteht darin, dass das Volumen der weißen Substanz aufgrund von Demyelinisierungsvorgängen eher vermindert ist.

### 3.2 Ursachen

Der Begriff „vasogenes Hirnödem“ wurde erstmals von Klatzo (1967) verwendet und von ihm folgendermaßen charakterisiert:

„The main pathogenic event is an increase in cerebrovascular permeability associated with the leakage of serum proteins into the brain parenchyma.“ (Klatzo 1985). Ursache des vasogenen Ödems ist also stets eine Störung der Blut-Hirnschrankenfunktion. Diese Störung ist meist lokal begrenzt. Sehr selten tritt die Störung generalisiert auf, beispielsweise bei der Bleivergiftung Jugendlicher (Hossain et al. 2004) oder bei der hypertensiven Enzephalopathie (Übersicht: Uchino et al. 2007).

Eine Übersicht über die wichtigsten Ursachen des vasogenen Hirnödems gibt die Tabelle 8, eine neuere ausführlichere Darstellung findet sich in einer 2010 erschienenen Veröffentlichung (Abbott et al. 2010).

<b>lokale BHS-Störung</b>	<b>generalisierte BHS-Störung</b>
Schädel-Hirn-Trauma Tumor Abszess Infarkt zerebrale Hämorrhagie	hypertensive Enzephalopathie Bleivergiftung eitrige Meningitis Enzephalitis abrupte Blutdruckanstiege (z. B. bei zerebralen Krampfanfällen)

Tabelle 8:  
Mögliche Ursachen eines vasogenen Hirnödems.

### 3.3 Bildung, Ausbreitung und Rückbildung

Dem vasogenen Hirnödem liegt ursächlich eine Schädigung der Blut-Hirn-schranke zugrunde. Zunächst wurde die Basalmembran der kleinen Hirngefäße zusammen mit den Astrozytenfortsätzen als entscheidende Diffusionsbarriere der Blut-Hirnschranke betrachtet (Übersicht: Bradbury 1979). Nach heutiger Kenntnis ist die Blut-Hirnschranke eine funktionelle Einheit, bestehend aus Endothelzellen, die durch die „tight junctions“ (Zonulae occludentes) verlötet sind, und unter anderem durch aktive ATP-abhängige Transporter den Übertritt gelöster Substanzen in das Gehirn bewerkstelligen (Übersicht: Abbott et al. 2010). Fettlösliche Substanzen können die Blut-Hirnschranke passiv penetrieren (Liu et al. 2004). Leukozyten durchdringen die Schranke via Diapedese, also transzellulär (Engelhard und Wolburg 2004).

Einer Störung der Schrankenfunktion können verschiedene Mechanismen zugrunde liegen (Unterberg 1988).

Bei der zerebralen Applikation (z. B. auf die Hirnoberfläche) einer stark hyperosmolaren Lösung schrumpfen Endothelzellen, die sie verbindenden Zellkontakte (tight junctions) werden geöffnet.

Zu einer ähnlichen Veränderung der tight junctions kommt es durch exzessive Dilatation der Gefäße, zum Beispiel bei einer abrupt auftretenden massiven arteriellen Hypertonie (z. B. beim epileptischen Krampfanfall) oder durch schwere Hyperkapnie. Durch die entstandenen Lücken zwischen dem Endothel der Gefäßwand kann intravasale Flüssigkeit einschließlich Plasmaproteine in den Extravasaalraum des Hirnparenchyms austreten.

Umstritten, aber dennoch zu erwähnen, ist der gesteigerte pinozytische Transport von intravasaler Flüssigkeit als mögliche Ursache der Permeabilitätserhöhung von zerebralen Gefäßen (Übersicht: Wagner 1981).

Nach heutiger Auffassung ist die Pinozytose jedoch eher Indiz für eine Eliminierung der Ödemflüssigkeit aus dem Interstitium retrograd in die Blutgefäße.

Charakteristisch für die oben genannten Mechanismen der Blut-Hirnschrankenstörung ist, dass sie reversibel sind. Beim Schädel-Hirn-Trauma kommt es im Kontusionsherd initial zur irreversiblen Schädigung des Gefäßendothels als Mechanismus der vasogenen Extravasation von proteinreicher, serumähnlicher Flüssigkeit in das Interstitium (Gazendam et al. 1979). Im weiteren Verlauf kann sich die Blut-Hirnschrankenfunktion (nach ca. 24-48 Stunden) wieder erholen, vor allem durch Regeneration bzw. Neubildung des Gefäßendothels.

Die Ödemausbreitung erfolgt ausgehend vom Fokus (Kontusion, Infarktnekrose) kontinuierlich und hat, wie auch die eigenen Untersuchungen zeigen, ihr Maximum nach 24 bis 48 Stunden (Baethmann 1987, Klatzo et al. 1965). Die Ödemflüssigkeit breitet sich in den Spalten des Extrazellulärraums vor allem der weißen Substanz aus (Baker et al. 1971, Fenske et al. 1973). Treibende Kraft dieses „bulk flow“ (Klatzo et al. 1967) ist ein hydrostatischer Druckgradient zwischen der Ödemeintrittspforte im Fokus und dem Hirngewebe (Reulen et al. 1977). Die Höhe des Blutdrucks spielt eine wichtige Rolle aufgrund des Versagens der zerebrovaskulären Autoregulation im Bereich des Fokus.

Die bevorzugte Ausbreitung des vasogenen Ödems in der weißen Substanz beruht auf der parallelen Anordnung der Nervenfasern, wodurch der Wanderung des Ödems ein geringerer Gewebswiderstand als in der grauen Substanz entgegensteht (Baethmann 1978, Klatzo 1972, Reulen 1976).

Als wichtigster Mechanismus der Rückbildung des vasogenen Ödems wird dessen Clearance in die benachbarten Ventrikel betrachtet. Auch hierbei spielt der hydrostatische Druckgradient eine wesentliche Rolle (Reulen et al. 1978).

Außerdem wird ein Rücktransport der Ödemflüssigkeit durch die „kleinen“ Hirngefäße (vor allem postkapilläre Venolen) (Vorbrodt et al. 1985) sowie eine Aufnahme der Ödemproteine in Astrozyten und Mikroglia (Wolman et al. 1981), ggf. auch in Neurone (Tengvar und Olsson 1982) diskutiert.



### **3.4 Identifizierung von Mediatorsubstanzen**

Bis heute sind die an der Entstehung des vasogenen und zytotoxischen Hirnödems beteiligten zellulären Mechanismen nicht restlos aufgeklärt. Gleichwohl wird die Beteiligung einer Vielzahl chemischer Substanzen und zellulärer Faktoren diskutiert, die unter physiologischen Bedingungen nicht oder in nur sehr niedrigen Konzentrationen im Hirngewebe bzw. im Interstitium vorhanden sind. Sie werden nach einer Läsion im nekrotischen Gewebe bzw. aus dem Intrazellulärraum (z. B. die toxischen Aminosäuren Glutamat und Aspartat) freigesetzt oder aktiviert, oder aber sie gelangen durch den Defekt der Blut-Hirnschranke mit dem Plasmafiltrat in das Hirngewebe.

Ihre Wirkung im Hirngewebe beruht unter anderem auf der funktionellen Beeinträchtigung von Neuronen und Gliazellen, der Induktion einer zytotoxischen Zellschwellung oder der Störung der Blut-Hirnschrankenfunktion durch Erhöhung der Gefäßpermeabilität und der Veränderung der Vasomotorik.

Eine Reihe von Mediatoren werden diskutiert, deren Mechanismen bis jetzt teilweise geklärt sind (Übersicht: Schilling und Wahl 1999, Unterberg und Sarrafzadeh 2000). Hierzu zählen unter anderem biogene Amine (Serotonin, Histamin, Katecholamine), Neurotransmitter (Glutamat, Aspartat), proteolytische Enzyme, Kinine, freie hochungesättigte Fettsäuren (Arachidonsäure) und ihre Metabolite (Prostaglandine, Leukotriene, freie Sauerstoffradikale).

Die von Herrn Prof. Baethmann vorgeschlagenen Kriterien für die Identifizierung von Mediatoren des zerebralen Sekundärschadens sind:

1. Der direkte Kontakt des Mediators mit Hirngewebe (d. h. unter Umgehung der Blut-Hirnschranke) sollte eine Schädigung (Gewebsnekrose, zytotoxisches Ödem, vasogenes Ödem) verursachen.
2. Eine Mediatorsubstanz sollte bei einer Läsion von Hirngewebe (Trauma, Infarkt u. a.) freigesetzt werden.
3. Maßnahmen, die eine Freisetzung bzw. Aktivierung des Mediators hemmen, sollten das Ausmaß des Hirnschadens vermindern oder diesen verhindern.

Als gesichert gilt die Beteiligung von Glutamat an der Entstehung des zytotoxischen Ödems. Es konnte gezeigt werden, dass Glutamat nach einer Kälteläsion der Hirnrinde in den Extrazellarraum freigesetzt wird (Maier-Hauff et al. 1984c). Befunde anderer Untersuchungen zeigen die Eigenschaft von Glutamat, ein zytotoxisches Hirnödem induzieren zu können (Kempski 1982, Rothenfusser 1982, Staub et al. 1995, Schneider 1998).

Die Aminosäure führt rezeptorabhängig durch Öffnung von  $Ca^{++}$ -Kanälen von Nervenzellen zur Schwellung, außerdem kommt es bei Gliazellen zur Schwellung durch aktive Aufnahme der Aminosäure in die Zelle (Kempski 1986). Bis heute ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt, ob und wie die therapeutische Antagonisierung der Glutamatwirkung, zum Beispiel mit Glutamat-Rezeptorblockern, das zytotoxische Hirnödem beeinflusst.

Die Beweisführung für die Mediatorfunktion von Kininen ist so gut wie vollständig. Das Ziel der eigenen Untersuchungen war unter anderem, die ödemhemmende Wirkung von C1-Inaktivator, einem Inhibitor des Kallikrein-Kinin-Systems, zu prüfen. An anderer Stelle wird darauf näher eingegangen.

Die Hirnödem-induzierende Wirkung von Arachidonsäure und ihren Metaboliten ist ebenfalls weitgehend klar (Staub et al. 1996). Unsere eigenen Untersuchungen beschäftigen sich mit der medikamentösen Hemmung der Arachidonsäurekaskade durch Bestimmung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung nach Kälteläsion. In den nächsten Kapiteln wird darauf ausführlich eingegangen.

## 4 Arachidonsäure und ihre Metabolite als Mediatoren des vasogenen Hirnödems

### 4.1 Freisetzung und Stoffwechsel von Arachidonsäure

In großen Mengen im Hirngewebe vorhandene Phospholipide bilden zusammen mit Proteinen die Zellmembran. Phospholipide haben an Glycerin gebundene mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Neben Linol- und Linolensäure ist dies hauptsächlich Arachidonsäure. Diese wird bei pathologischen Prozessen mit Schädigung der Zellmembran freigesetzt.

Die Freisetzung von Arachidonsäure erfolgt vornehmlich über Spaltung durch Phospholipase A<sub>2</sub>. Dieses Enzym wird durch den Ca<sup>++</sup>-Ionen-Calmodulin-Komplex aktiviert in Form einer Reaktionskette (Übersicht: Siesjö 1981). Es gibt auch Hinweise, dass Kinine Phospholipase aktivieren können (Übersicht: Nasjletti und Malik 1979).

Der weitere Abbau der nicht mehr mit Glycerin veresterten, also freien Arachidonsäure kann auf zwei Wegen erfolgen (s. Abb. 19). (Piper 1984, Schrör 1984, Stjernschantz 1984).

Durch Cyclooxygenase entstehen unter gleichzeitigem Freiwerden von Sauerstoffradikalen die instabilen Endoperoxide PGG<sub>2</sub> und PGH<sub>2</sub>, die weiter zu Prostacyclin, Thromboxan und anderen Prostaglandintypen abgebaut werden.

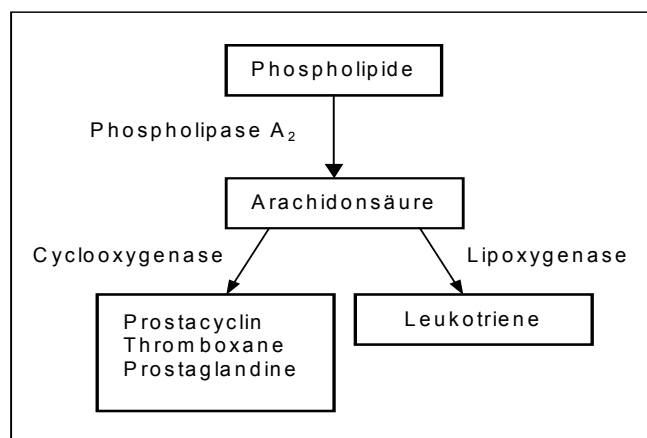


Abbildung 19:

Vereinfachte Darstellung der Arachidonsäurekaskade. Phospholipase A<sub>2</sub> bewirkt die Freisetzung von Arachidonsäure aus Phospholipiden. Über den Cyclooxygenaseweg entstehen Prostacyclin, Thromboxane und Prostaglandine. Lipoxygenase ist für die Freisetzung der Leukotriene verantwortlich zu machen.

Lipoxygenasen hingegen bewirken eine Umwandlung von Arachidonsäure in verschiedene instabile Hydroperoxyeicosatetraensäuren, aus denen wiederum unter Freiwerden von Sauerstoffradikalen Leukotriene über Zwischenprodukte entstehen. Eine Übersicht über Bedeutung, Biosynthese, Wirkmechanismus und Beeinflussung von Prostaglandinen und Leukotrienen gibt Funk (2001).

#### **4.2 Schädigende Wirkung von Arachidonsäure und Eicosanoiden**

In einer Reihe von Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass es bei diversen akuten pathologischen Prozessen im Gehirn zur Freisetzung von Arachidonsäure kommt. Hierzu zählen unter anderem die zerebrale Ischämie und Hypoxie, Krämpfe oder die schwere Hypoglykämie.

Maier-Hauff und Mitarbeiter (Maier-Hauff et al. 1984b, 1984c) haben beobachtet, dass auch beim Schädel-Hirn-Trauma durch Kälteläsion die Konzentration von freier Arachidonsäure in der Ödemflüssigkeit ansteigt. Auch bei Patienten mit schwerem Schädel-Hirn-Trauma wurden pathologisch erhöhte Arachidonsäurekonzentrationen im Liquor gefunden. Darüber hinaus wurde bei anderen akuten pathologischen Prozessen ein Anstieg der Konzentration von Eicosanoiden, den Produkten der Cyclo- und der Lipoxygenase beobachtet. Dies ist zum Beispiel der Fall bei der zerebralen Ischämie, der Hypoxie und bei Rückenmarksverletzungen (Übersicht: Unterberg 1988). Erhöhte Prostaglandinkonzentrationen im Gehirn finden sich auch beim experimentellen Schädel-Hirn-Trauma durch Fluid percussion oder nach einer Kälteläsion (Ellis et al. 1981, Wolfe und Pappius 1983). Ein Anstieg der Leukotrienkonzentration im Gehirn konnte ebenso beim experimentellen Fluid percussion Modell nachgewiesen werden (Farias et al. 2009).

Es werden mehrere Mechanismen diskutiert, wie Arachidonsäure und ihre Metabolite das Gehirn schädigen. Beispielsweise kann eine zytotoxische Zellschwellung durch Störung der oxidativen Phosphorylierung, Hemmung der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, Zunahme der Kalziumpermeabilität der Zellmembran und durch vermehrte Freisetzung von Glutamat in das Interstitium hervorgerufen werden (Chan et al. 1984, Katz und Mes-sineo 1981, Kempski 1986, Wolfe und Pappius 1983).

Von besonderer Bedeutung ist die Wirkung von Arachidonsäure und ihrer Metabolite auf die Vasomotorik und Gefäßpermeabilität.

Gleichwohl sind Untersuchungsergebnisse über die vasomotorische Wirkung widersprüchlich. Unter in-vitro Bedingungen wurde eine durch Arachidonsäure verursachte Konstriktion von zerebralen Gefäßen beobachtet. Befunde aus Tierexperimenten hingegen sprechen sowohl für gefäßdilatierende als auch konstringierende Eigenschaften von Arachidonsäure (Übersicht: Pickard 1981). Diese widersprechenden Befunde sind eventuell darauf zurückzuführen, dass nicht Arachidonsäure selbst, sondern beispielsweise Produkte der Cyclooxygenase verantwortlich gewesen sind.

Es ist bekannt, dass diese Metabolite vasokonstringierende (Thromboxan, einige Prostaglandine, Leukotriene), als auch vasodilatierende Eigenschaften (Prostacyclin) haben. Ob die oben genannten Effekte auf direkte oder indirekte Mechanismen zurückzuführen sind, muss deshalb offen bleiben.

Das Wissen über vasomotorische Wirkungen von Leukotrienen ist hingegen dürftig. Es gibt allenfalls Hinweise dafür, dass sie eine Konstriktion zerebraler Gefäße hervorrufen (Rosenblum 1985, Tagari et al. 1983, Unterberg 1986).

Bei der Metabolisierung von Arachidonsäure entstehende freie Radikale haben wahrscheinlich ebenfalls vasomotorische Eigenschaften (Del Maestro et al. 1981, Wei et al. 1985). Ergebnisse, die von einer biphasischen vasomotorischen Wirkung freier Radikale berichten (erst Dilatation, in höheren Konzentrationen Konstriktion), werden von Unterberg (1988) jedoch angezweifelt. Er konnte nur eine geringfügige Dilatation von Piagefäßen in vivo nach Applikation von freien Radikalen feststellen.

Unabhängig davon verursacht Arachidonsäure bei peripheren Gefäßen eine Permeabilitätserhöhung (Del Maestro 1980). Ähnliches gilt für zerebrale Gefäße, offensichtlich sind jedoch bedeutend höhere Konzentrationen notwendig (Unterberg 1988). Weiterhin existieren Hinweise für eine Beteiligung von Arachidonsäure am Zustandekommen der Gefäßpermeabilitätserhöhung (Aritake et al. 1983, Unterberg und Baethmann 1988).

Allerdings ist unklar, welcher Mechanismus für die Permeabilitätserhöhung verantwortlich zu machen ist. Unter Umständen ist die dadurch hervorgerufene Akkumulation von aktivierten Leukozyten von Bedeutung, die das Gefäßendothel schädigen und dadurch dessen Permeabilität erhöhen können (Hammond et al. 1985, Unterberg 1986).

Nach Befunden von Unterberg ist Arachidonsäure selbst verantwortlich. Eine Mitwirkung von Leukotrienen wird nahezu ausgeschlossen. Die Deutung einer Permeabilitätssteigerung durch Leukotriene könnte damit erklärt werden, dass die Gefäße bereits vorgeschädigt waren (Harris et al. 1983).

Als gesichert hingegen gilt die schädigende Wirkung freier Sauerstoffradikale auf die Blut-Hirnschrankenfunktion (Chan et al. 1984, Unterberg 1988, Wei et al. 1985), obwohl über ihre Bedeutung für den sekundären Hirnschaden Uneinigkeit besteht. Auch hier wird diskutiert, dass freie Radikale eine intravasale Akkumulation von aktivierten Leukozyten bewirken, die eine entzündungsähnliche Reaktion von Gefäßendothel mit den dazugehörigen Begleiterscheinungen hervorrufen.

Anhand der eigenen Befunde kann angenommen werden, dass Arachidonsäuremetabolite keinen oder nur einen unbedeutenden Einfluss auf die Permeabilitätserhöhung und Vasomotorik von Hirngefäßen bei akuten zerebralen Prozessen haben, nachdem weder die Inhibition von Cyclo- noch von Lipoxygenase einen Einfluss auf die posttraumatische Hirnschwellung hatte.

Vielmehr kann vermutet werden, dass Arachidonsäure selbst für die schädigende Wirkung verantwortlich gewesen ist, weil die Hemmung der Arachidonsäurefreisetzung durch Steroide eine Abschwächung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung bewirkt.

## **5 Therapeutische Beeinflussung des vasogenen Hirnödems und des zerebralen Sekundärschadens mit Steroiden**

Die in den vorliegenden Untersuchungen verwendeten Steroide Dexamethason und Triamcinolon sind synthetische Glucocorticoide. Die Strukturformeln sind in Abbildung 20 wiedergegeben.

Dexamethason (9a-Fluor-16a-methyl-prednisolon) und Triamcinolon (9a-Fluor-16a-hydroxy-prednisolon) sind Pregnanderivate. Ihre Halbwertszeit im Plasma liegt bei 200–300 Minuten, die biologische Halbwertszeit bei 12–36 Stunden für Triamcinolon bzw. über 48 Stunden für Dexamethason. Triamcinolon-Acetonid hat wahrscheinlich aufgrund der unterschiedlichen Pharmakokinetik eine höhere glucocorticoide Potenz als Triamcinolon.

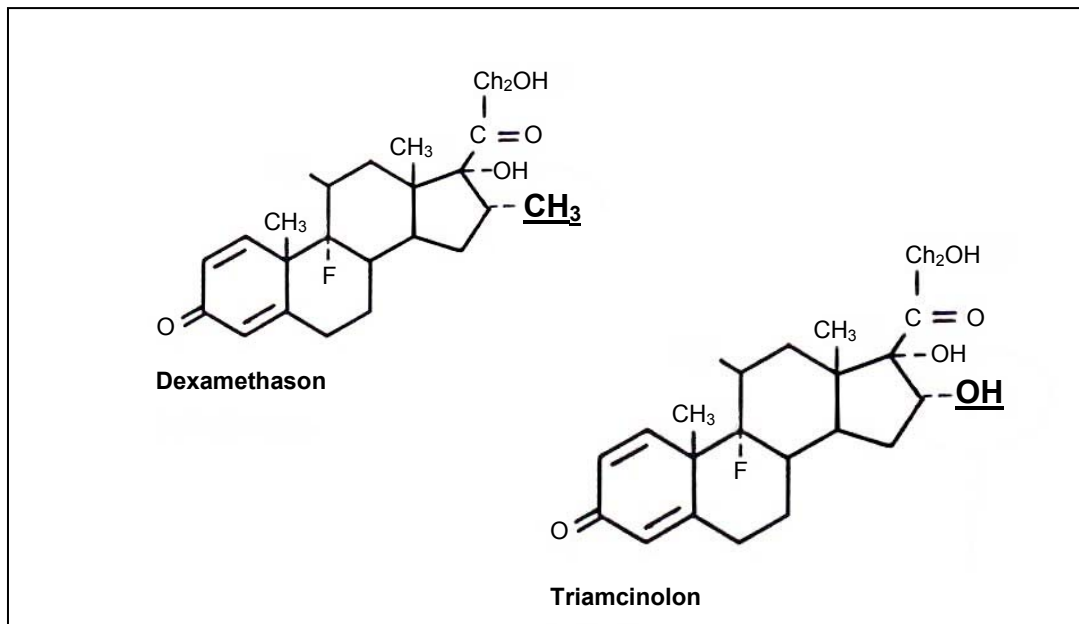


Abbildung 20:  
Strukturformel der synthetischen Glucocorticosteroide Dexamethason und Triamcinolon.



## 5.1 Wirkungsmechanismus von Glucocorticoiden

Steroide werden zum größten Teil an Proteine gebunden im Plasma transportiert. Zu den steroidbindenden Plasmaproteinen gehören zwei spezifische, nämlich Transcortin und das sexualhormonbindende Globulin sowie Albumin als unspezifisches Transportalbumin. Albumin bindet Steroide mit hoher Kapazität, jedoch sehr niedriger Affinität.

Transcortin (engl.: corticosteroid binding globulin oder CBG) hat ein Molekulargewicht von 52,000 Dalton, ist ein  $\alpha$ -Glykoprotein und bindet Corticosteroide mit sehr hoher Affinität. Der freie Anteil an Steroidhormonen befindet sich im Gleichgewicht mit der proteingebundenen Fraktion als aktive Form, die eine biologische Wirkung entfaltet.

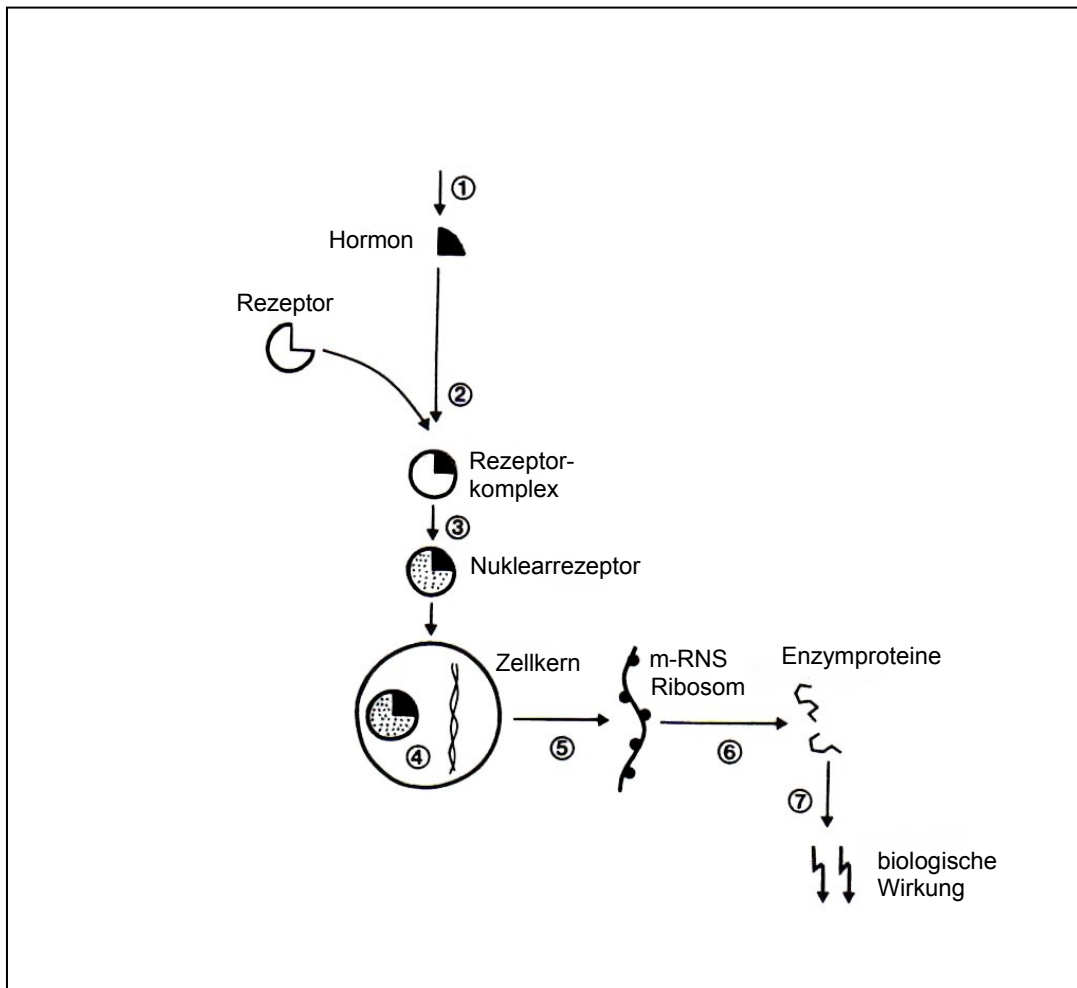
An Plasmaprotein (Transcortin) gebundene und freie Steroidhormone erreichen auf dem Blutweg das Gehirn. Nach Passage von freien Steroidmolekülen durch die Blut-Hirnschranke, einschließlich Zellmembran von Nerven- und Gliazellen, gelangen sie aufgrund der Lipophilie zu ihren intrazellulären Rezeptoren.

Triamcinolon und Dexamethason werden nicht an Transcortin, sondern an Albumin gebunden. Für Dexamethason bestehen vier Bindungsstellen mit unterschiedlichen Bindungskonstanten (Zhao et al. 2009).

Die Spezifität der Rezeptoren ist durch starke Affinitätsunterschiede der verschiedenen Steroide gewährleistet (Übersicht: de Kloet et al. 2005, Sheridan 1984). Untersuchungen mit Ratten haben gezeigt, dass Corticosteron-spezifische Rezeptoren hauptsächlich in den CA21-CA4-Sektoren des Hippocampus und der Granularschichten des Gyrus dentatus vorhanden sind (Sarrieau et al. 1984). Corticosteron ist bei Nagern, wie zum Beispiel Ratten, das wichtigste Glucocorticosteroid, beim Menschen ist es Hydrocortison.

Auch für Mineralcorticoide gibt es spezifische Rezeptoren. Synthetische Glucocorticoide haben ihren Wirkort hauptsächlich außerhalb des limbischen Systems. Eine Anreicherung von dexamethasonspezifischen Rezeptoren findet sich im Hypothalamus in den Glia- und Endothelzellen.

Steroidhormonrezeptoren bilden eine Unterklasse von nukleären Rezeptoren, die in Abwesenheit ihres Liganden in inaktiver Form an Hitzeschockproteine gebunden vorliegen. Hitzeschockproteine sind molekulare Schutzproteine (Chaperone). Sie gewährleisten die für den Liganden bindungsfähige Konformation und korrekte zyttoplasmatische Lokalisation des Rezeptors. Die Hormonbindung bewirkt eine Konformationsänderung des Rezeptorproteins mit Dissoziation vom Chaperonmolekül. Der Rezeptor-Steroidkomplex wird in den Zellkern transportiert, wo er über RNA-Induktion eine *de novo* Synthese von Enzymen bewirkt (s. Abb. 22). Diese entfalten anschließend ihre Wirkung im Cytosol, in den Mitochondrien oder an der Zellmembran (Pratt et al. 2004). Dieser Vorgang nimmt Zeit in Anspruch und ist Ursache für die Latenz, die mit dem Eintritt der Steroidwirkung verbunden ist. Schnell eintretende Steroidwirkungen hingegen werden auf eine unspezifische Interaktion mit der Zellmembran zurückgeführt (Szego und Pietras 1981). Unter anderem konnte gezeigt werden, dass ein rascher corticosteron-induzierter Anstieg der Glutamatfreisetzung in der CA1-Region des Hippocampus über in der Zellmembran lokalisierte Rezeptoren vermittelt wird (Karst et al. 2005).



**Abbildung 21:**

Schematische Darstellung des zellulären Wirkungsmechanismus von Steroidhormonen.

Nach ihrem Eintritt in die Zelle (1) gehen Steroidhormone eine Bindung mit einem spezifischen zytosolischen Rezeptorprotein ein (2). Der Zytosolrezeptor wird zum Nuklearrezeptor transformiert (3). Die Struktur des Hormon-Rezeptor-Komplexes zeichnet sich durch eine hohe Affinität zu bestimmten DNA-Sequenzen aus. Dadurch wird eine Translokation des Komplexes in den Zellkern und die Interaktion mit dem Genom (4) verursacht. Daraus resultiert eine Aktivierung von DNS/RNS-Polymerase und die Synthese von m-RNS (5). An den Ribosomen stimuliert m-RNS die Biosynthese bestimmter Enzymproteine (6), die ihrerseits Stoffwechselforgänge in Gang setzen (7). Der Rezeptor-Protein-Komplex verlässt danach mit dem assoziierten Chromatinprotein wieder den Zellkern. Es folgt die Abspaltung des Hormons, der Rezeptor steht wieder zur Verfügung.

(Buddecke 1984)

## 5.2 Hemmung der Arachidonsäurefreisetzung

Über Stimulation der RNA-Biosynthese bewirken Corticosteroide unter anderem die Bildung von Macrocortin bzw. Lipmodulin, ein Phospholipase  $A_2$  hemmendes Lipid (Flower und Blackwell 1979, Hirata et al. 1980, 1982).

Es gibt weiterhin Hinweise dafür, dass Steroide Phospholipase A<sub>2</sub> direkt, also nicht über eine de novo Synthese von Enzymen inhibieren (Kato et al. 1985). Allerdings sind hierfür wahrscheinlich höhere Dosen des Hormons notwendig.

Unter der Annahme, dass Arachidonsäure und ihre Metabolite als Mediatoren am vasogenen Hirnödem und zerebralen Sekundärschaden beteiligt sind, sollten Corticosteroide eine therapeutische Wirkung haben. Die vorliegenden Experimente mit Dexamethason und Triamcinolon haben diese Hypothese als Voraussetzung.

Es gibt widersprüchliche Befunde, ob Steroide tatsächlich die Freisetzung von Arachidonsäure bei pathologischen Prozessen im Gehirn verhindern. Ergebnisse einer experimentellen Studie von Pappius und Wolfe (1984) mit Ratten (kortikale Kälteläsion) sprechen dagegen, mangels ihrer statistischen Signifikanz lassen sich aber keine eindeutigen Aussagen treffen.

Weiterhin ist zu bedenken, dass Steroide noch andere Wirkungen im Gehirn haben, die ebenfalls zur Zerebroprotektion mit Verminderung des vasogenen Ödems und sekundären Hirnschadens beitragen. Diese Wirkungen werden im nächsten Kapitel erwähnt.

### **5.3 Wirkung von Steroiden im zentralen Nervensystem**

Die Wirkungen von Steroiden im zentralen Nervensystem sind mannigfaltig. Ihre umfassende Diskussion würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen (Übersicht: Baethmann 1985, Baethmann et al. 1982, Datson et al. 2008).

Corticosteroide haben eine wichtige Funktion für die Gehirnentwicklung möglicherweise über die Bildung von Nerve-Growth-Factor (Perez-Polo et al. 1977). Wird die physiologische Konzentration der Steroide jedoch um das Mehrfache überschritten, hemmen sie, wie in anderen Organen, die Zellproliferation und verhindern somit die Reifung von Hirnstrukturen (Oda und Huttenlocher 1974).

Es gibt Hinweise dafür, dass Corticosteroide auch einen Einfluss auf die Transmittersynthese und –freisetzung haben. Hall (1983) führt daher die therapeutische Wirkung von Steroiden bei degenerativen neuropathologischen Erkrankungen nicht so sehr auf ihre antiphlogistischen Eigenschaften zurück, sondern vielmehr auf ihren Einfluss auf die Erregbarkeit motorischer Neurone und die neuromuskuläre Überleitung. Die Herabsetzung der Reizschwelle für Krämpfe durch Steroide wird durch Begünstigung der Freisetzung von exzitatorischen Transmittern erklärt (Baethmann 1985, Woodbury und Vernadakis 1966).

Weiterhin wird ein Einfluss von Corticosteroiden auf die Bildung und Absorption von Liquor cerebrospinalis diskutiert (Pollay 1975, Sato et al. 1973). Es existieren jedoch auch hier widersprüchliche Befunde (Vela et al. 1979). Eine Herabsetzung der Liquorproduktion durch Steroide könnte sich für die Behandlung des Hirnödems günstig auswirken, weil dadurch die intrakranielle Compliance verbessert und damit die Drainage von Ödemflüssigkeit aus dem Hirngewebe in die Ventrikel erleichtert würde.

Steroide erzielen im ZNS via Enzyminduktion verschiedene Wirkungen (Übersicht: Baethmann 1985). Die wichtigsten Beispiele, die im Zusammenhang mit ihrer therapeutischen Beeinflussung des Hirnödems stehen, sind im Folgenden genannt:

Glutaminsynthetase, Glutamat-Dehydrogenase und Glutamat-Oxalat-Transaminase sind Enzyme des Intermediärstoffwechsels, die durch Steroide induziert werden. Sie metabolisieren Glutamat. Bei pathologischen Prozessen (z. B. Ischämie) ist die Glutamatkonzentration im Extrazellulärraum des Hirnparenchyms in vermutlich toxischem Bereich erhöht, unter anderem als Mechanismus der zytotoxischen Zellschwellung.

Die Induzierung von Isozitatdehydrogenase, ein Schlüsselenzym des Zitratzyklus, durch Glucocorticosteroide führt zur vermehrten Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten als mögliche Stärkung des Energiestoffwechsels.

Baethmann und Van Harrevald (1972) haben bei adrenaletomierten Ratten eine signifikante Abnahme von Isozitatdehydrogenase, Glutamatdehydrogenase und Glutamat-Oxalat-Transaminase im Gehirn beobachtet. Dieser Effekt konnte durch Substitution mit Aldosteron bzw. Dexamethason teilweise rückgängig gemacht werden.

Braugher und Hall (1984) konnten zeigen, dass Methylprednisolon die Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase steigert, ein Enzym, das bei zahlreichen, an den  $\text{Na}^+$ -Ionenaustausch gekoppelten Transportvorgängen durch die Zellmembran eine zentrale Rolle hat.

Bei der experimentellen Verletzung des Rückenmarks wurde eine starke Abnahme der extrazellulären mit Zunahme der intrazellulären  $\text{Ca}^{++}$ -Konzentration gefunden (Happel et al. 1981, Young und Flamm 1982).

Eine anhaltend erhöhte intrazelluläre  $\text{Ca}^{++}$ -Konzentration hat vielfältige pathophysiologische Konsequenzen, während pulsartige Peaks der intrazellulären  $\text{Ca}^{++}$ -Konzentration der „Second-messenger“-Funktion von Kalziumionen entsprechend, wichtige zellphysiologische Reaktionen einleiten.

Ein Anstieg der intrazellulären  $\text{Ca}^{++}$ -Konzentration aktiviert zum Beispiel Phospholipase A2 mit Bildung und Akkumulation von Arachidonsäure, Eicosanoiden und freien Radikalen.

Young und Flamm (1982) konnten zeigen, dass Methylprednisolon die Abnahme der extrazellulären  $\text{Ca}^{++}$ -Konzentration verhindert, damit vermutlich auch die intrazelluläre Akkumulation. Unter Umständen gewährleistet dies die Aufrechterhaltung der hohen Affinität von Steroiden zu ihrem zytosolischen Rezeptor, die bei Anstieg der intrazellulären  $\text{Ca}^{++}$ -Konzentration abnimmt (Rousseau et al. 1982).

Wie erwähnt, liegt dem vasogenen Hirnödem stets eine Schädigung der Blut-Hirnschranke zugrunde. Unter Steroidtherapie konnte gezeigt werden, dass die Extravasation von vasogener Ödemflüssigkeit abgeschwächt ist (Barbosa-Coutinho et al. 1985, Pappius und McCann 1969, Rovit und Hagan 1968).

Ob dieser Effekt hauptsächlich auf der Hemmung von Bildung und Freisetzung von Arachidonsäure beruht, ist unklar. Untersuchungen von Björk et al. (1985) lassen daran denken, dass Steroide die Permeabilitäts-erhöhung der Gefäßwand direkt blockieren.

Möglicherweise antagonisieren Steroide auch Gefäßwand-permeabilisierende Eigenschaften von Histamin und Leukotrien C<sub>4</sub>.

Es gibt außerdem Hinweise, dass Steroide neben der Hemmung der Arachidonsäurefreisetzung den durch Arachidonsäure vermittelten Schaden abschwächen (Caronna et al. 1981, Rabbani et al. 1981).

Weiterhin sprechen Befunde für eine Hemmung von lysosomalen Enzymen und Lipoperoxiden nach experimenteller Schädigung des Hirngewebes. Diese Faktoren werden ebenfalls als Mediatoren des Hirnödems und des sekundären Hirnschadens betrachtet (Stolke et al. 1979, Suzuki und Yagi 1974).

#### **5.4 Experimentelle und klinische Studien**

In der langjährigen Erfahrung mit Corticosteroiden bei zerebralen Prozessen steht ihre mögliche Wirkung auf das Hirnödem im Vordergrund.

Ihr Einsatz hat sich vor allem bei chronischen Prozessen wie intra- und extraaxialen Hirntumoren (Sinha et al. 2004) und nach chirurgischen Eingriffen bewährt (Rabinstein 2006). Hierbei kann ein deutlich besserer therapeutischer Effekt als bei akuten pathologischen Vorgängen (Infarkt, schweres Schädel-Hirn-Trauma) festgestellt werden (Poungvarin 2004, Baethmann und Grossmann 1984, Maxwell et al. 1972, Reulen et al. 1973).

Im Folgenden wird ein Überblick über Ergebnisse experimenteller und klinischer Studien gegeben, in denen die Wirksamkeit von Steroiden untersucht worden ist, Vollständigkeit wurde allerdings nicht angestrebt.

## Experimentelle Studien

Eine Zusammenfassung von zahlreichen Studien hat Sugiura et al. (1980) veröffentlicht. In dieser Übersicht sind 26 Untersuchungen zitiert, in 14 Studien konnte eine therapeutische Wirkung der Steroidbehandlung beobachtet werden. Bei den Versuchstieren handelte es sich um Kaninchen, Hunde, Katzen, Affen, Ratten und Mäuse. Häufig verwendete Methoden zur Beurteilung der therapeutischen Wirkung waren die Bestimmung des zerebralen Wassergehalts und der Extravasation von RISA (Radio-iodinated serum albumin) in das perifokale Parenchym einer akuten Hirnläsion. Aus der Übersicht geht deutlich hervor, dass der Zeitpunkt des Behandlungsbeginns entscheidend ist. In Tabelle 9 ist weiterhin angegeben, mit welcher experimentellen Läsion das Hirn- bzw. das Rückenmarksödem hervorgerufen worden ist.

Die alleinige Nachbehandlung mit Steroiden war in keinem Fall wirksam. Hingegen zeigt die zusätzliche Vorbehandlung in 9 der 14 Berichte einen therapeutischen Effekt.

Der Behandlungsbeginn zum Zeitpunkt des Traumas zeigte immerhin bei 5 von 7 Studien eine therapeutische Wirksamkeit.

Auf die wichtigsten Untersuchungen wird im Folgenden näher eingegangen. Tabelle 9 gibt eine Übersicht über die bisher mit überwiegend positivem Resultat abgeschlossenen Untersuchungen mit Steroiden bei akuten Läsionen des Zentralnervensystems.



**Experimentelle Studien zur Wirksamkeit von Steroiden  
bei Läsionen des ZNS mit einem vasogenen Ödem**

	<b>Spezies</b>	<b>Medikation</b>	<b>Therapieverfahren</b>	<b>Ergebnisse</b>
Raimondi et al. 1959	Kaninchen	Prednisolon 25 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Mortalität + Überlebenszeit
Pappius u. Mc Cann 1969, Pappius 1972	Katzen	Dexamethason 0,25 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Schwellung + RISA + EEG
		2,5 mg/kg/Tag		
Palleske et al. 1970	Kaninchen	Dexamethason 0,3 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Wassergehalt + Elektrolytquot.
Maxwell 1971	Katzen	Dexamethason 25 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Ödemausbreitung + Wassergehalt
		5 mg/kg/Tag		
Lewin 1972	Katzen	Dexamethason 0,25 mg/kg/Tag	mechanisches Trauma Rückenmark	+ Überlebenszeit + Histologie - Schwellung
Long et al. 1972	Katzen	Dexamethason 10-62 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Schwellung
		Triamcinolon 5-25 mg/kg/Tag		
Kobrine u. Kempe 1973	Affen	Dexamethason 24 mg/Tag	Akzelerations- Dezelerationstrauma	+ Extravasation von Evans Blue + Histologie
Clasen et al. 1979	Affen	Dexamethason 40 mg/Tag	Kältetrauma	- Histologie - Elektrolytgehalt
		Methylprednisolon 60 mg/kg/Tag		
Means et al. 1981	Katzen	Methylprednisolon 15 mg/kg/Tag	Kompressionstrauma Rückenmark	+ neurol. Erholung + Histologie
Young u. Flamm 1982	Katzen	Methylprednisolon 15-30 mg/kg (initial)	Schlagtrauma Rückenmark	+ Durchblutung + evoz. Potenziale + extrazelluläre Kaliumkonzentration
Braughler u. Hall 1983	Katzen	Methylprednisolon 30 mg/kg (initial)	Schlagtrauma Rückenmark	+ Laktatkonzentration + Pyruvatkonzentration
Faden et al. 1984	Katzen	Dexamethason 14 mg/kg (initial)	Schlagtrauma Rückenmark	- Mortalität - Histologie
		Methylprednisolon 30 mg/kg/Tag		
Schilling 1983	Kaninchen	Dexamethason 1,2 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Wassergehalt + Elektrolytgehalt
		Triamcinolon 1,2; 2,4 mg/kg/Tag		
Hall 1985	Mäuse	Methylprednisolon 15; 30; 60; 120 mg/KG (inital)	stumpfes Schädeltrauma	+ neurologische Erholung (bei 30-60 mg/kg)
Meinig et al. 1986	Ratten	Dexamethason 14,3; 2,9; 0,6 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Schwellung + Wassergehalt + Elektrolytgehalt
Unterberg 1988	Ratten	Dexamethason 1,5 mg/kg/Tag	Kältetrauma	+ Schwellung + Wassergehalt - Elektrolytgehalt

+ positiver Therapieeffekt  
- kein Therapieeffekt

Tabelle 9:  
Experimentelle Studien zur Wirksamkeit von Steroiden bei Läsionen des zentralen Nervensystems mit einem vasogenen Ödem.  
Die Tabelle gibt die wichtigsten Publikationen wieder.

Pappius und Mc Cann (1969) berichten über günstige Wirkungen von Dexamethason (Vorbehandlung, 0,25 und 2,5 mg/kg K.G. und Tag) beim kälteinduzierten Hirnödem von Katzen. Wie in unseren Untersuchungen wurde der Gewichtsunterschied beider Hemisphären zur Errechnung der Schwellung herangezogen. Zusätzlich führten die Autoren eine Messung des intravenös applizierten Blut-Hirnschrankenindicators RISA (Radio-Jod-Serum-Albumin) im Hirngewebe durch. Signifikante Unterschiede gegenüber den Kontrolltieren wurden nicht früher als 48 Stunden nach Trauma gefunden. Die durch die Kälteläsion verursachten EEG-Veränderungen waren nach Behandlung mit Dexamethason bedeutend weniger stark ausgeprägt. Jedoch kann dieser Effekt nach Pappius (1972) nicht in Zusammenhang mit der Ödemreduktion gesehen werden.

Palleske et al. (1970) haben beobachtet, dass die Vorbehandlung bzw. Behandlung zum Zeitpunkt der Läsion mit Dexamethason (0,3 mg/kg K.G. u. Tag) den Wasser- und Natriumgehalt des ödematösen Hirngewebes signifikant reduziert.

Maxwell et al. (1971) haben Katzen mit kortikaler Kältenekrose mit Dexamethason behandelt. Die besten Resultate erzielten sie durch die Vorbehandlung (48 Stunden vor Trauma) mit Dexamethason (5 mg/kg K.G. u. Tag). Mit Hilfe eines planimetrischen Verfahrens bestimmten sie in Hirnschnitten die Extravasation des intravenös injizierten Schrankenindicators (Evans Blue) als Indikator der Blut-Hirnschrankenstörung. Die Bestimmung von Feucht- und Trockengewicht des Gehirns zeigte den Schweregrad des vasogenen Ödems. Die Behandlung mit Prednison, Prednison oder Kortison in äquivalenter Dosierung ergab vergleichbare Ergebnisse.

Long et al. (1972) haben über ein erfolgreiches therapeutisches Vorgehen durch Behandlung mit Steroiden und der Exzision des Nekroseareales 30 Minuten nach Läsion berichtet.

Von unserer Arbeitsgruppe durchgeführte Experimente mit Ratten bestätigen die ödemreduzierende Wirkung von Dexamethason. Die posttraumatische Hemisphärenschwellung konnte signifikant abgeschwächt werden, wofür jedoch wie in anderen Untersuchungen eine Vorbehandlung der Tiere notwendig war (Unterberg 1988).

Schilling (1983) konnte ebenfalls zeigen, dass die Vorbehandlung mit Dexamethason oder Triamcinolon den Anstieg des Wasser- und Natriumgehalts der traumatisierten Hemisphäre bei Kaninchen signifikant verringert. Der Kaliumgehalt war leicht erhöht. Mit der Behandlung wurde 24 Stunden vor bzw. zum Zeitpunkt des Traumas begonnen.

Auch Gaab (Gaab et al. 1984) erreichte bei Ratten mit Dexamethason eine deutliche Hemmung des Hirnödems in der exponierten Hemisphäre. Auch hier war eine Vorbehandlung der Tiere notwendig.

Wie aus diesen Untersuchungen hervorgeht, spielt der Beginn der Therapie eine entscheidende Rolle. Nahezu alle Befunde zeigen, dass nur die Vorbehandlung oder der Behandlungsbeginn zum Zeitpunkt des Traumas einen therapeutischen Effekt erwarten lässt. Schwieriger hingegen ist die Frage zu beantworten nach der optimalen Dosierung von Steroiden beim experimentellen Schädel-Hirn-Trauma.

Braugler und Hall (1985) kommen nach Vergleich der bis dahin veröffentlichten Studien zu dem Schluss, dass die Dosierung von Dexamethason beim menschlichen Schädel-Hirn-Trauma von 3-6 mg/kg K.G. am wirksamsten sei. Dessen ungeachtet favorisieren Ergebnisse einer 1986 vorgelegten Untersuchung von Meinig et al. (1986) eine ultrahohe Dosierung von Dexamethason (etwa 500 mg/kg). Mit einer äquivalenten Dosis erzielten die Autoren bei Ratten eine hochsignifikante Hemmung des Hirnödems bis zu 50 %. Auch in dieser Untersuchung wurde die therapeutische Wirksamkeit nach Vorbehandlung der Tiere beurteilt.

Unsere im Rahmen dieser Studie erhaltenen Befunde zeigen eine signifikante Abschwächung der Gewichtszunahme (Schwellung) unter Dexamethason und Triamcinolon nach Trauma, sie sprechen aber auch für eine unspezifische Wirkung von Dexamethason und Triamcinolon, da auch im Hirngewebe der nicht traumatisierten kontralateralen Hemisphären eine signifikante Reduktion des Wassergehalts gefunden wurde.

Dieser Befund wurde durch die Prüfung der Wirkung von Dexamethason auf nicht traumatisiertes Hirngewebe bestätigt, die eine signifikante Reduktion des zerebralen Wassergehalts durch Dexamethason um  $0,51 \pm 0,42$  ml/100 g Feuchtgewicht ergab. Dieses Ergebnis deckt alle sowohl bei traumatisierten wie kontralateralen Hemisphären in dieser Studie gefundenen Unterschiede bei Dexamethason- oder Triamcinolonbehandlung ab.

Dies könnte auch erklären, warum das Ausmaß der Senkung des Wassergehalts etwas geringer war, wenn mit der Therapie vor dem Trauma begonnen wurde.

In allen Versuchsgruppen der vorliegenden Experimente wurde die Schwellung (Gewichtszunahme der exponierten gegenüber der kontralateralen Hirnhemisphäre) durch die Behandlung reduziert. Dies war auch bei den Untersuchungen mit Therapiebeginn vor Kälteläsion der Fall, kann aber aufgrund der großen Streuung der Messwerte nicht als statistisch signifikant bestätigt werden. Sicherlich hatte hier, wie schon zuvor bemerkt, auch die Reduktion des Wassergehalts vor Induktion des Traumas einen Einfluss.

Eine signifikante Reduktion der Hemisphärenschwellung nach Kältetrauma wurde, wie in den meisten anderen experimentellen Studien, auch in dieser Untersuchung gefunden. Dabei ist jedoch anzumerken, dass die unspezifische Reduktion des Wassergehalts im gesunden Gewebe der kontralateralen Hirnhemisphäre das wirkliche Ausmaß der therapeutischen Schwellungsreduktion verschleiert, weil bei der Berechnung der Hemisphärenschwellung von einem durch Trauma und Therapie unbeeinflussten Wassergehalt der nicht traumatisierten Hemisphäre ausgegangen wird.

Man könnte weiter hierzu bedenken, dass auch der Wassergehalt des „gesunden“ (i. e. nicht ödematösen) Gewebes der traumatisierten Hemisphäre durch Steroide vermindert wird, diese unspezifische Reduktion des Wassergehalts jedoch geringer ausfällt, weil hier nicht ödematöses Gewebe wegen der ödematösen Läsion verringert wurde.

Diese Betrachtungen legen nahe, dass die wirkliche therapeutische Wirkung möglicherweise unterschätzt wird.

Betrachtet man den Hirnwassergehalt nach Steroidgabe, der in unseren Untersuchungen einen signifikanten Unterschied in beiden Hemisphären ergab, und würde man den, allein durch Gabe von Dexamethason ohne Trauma gefundenen, Unterschied des Wassergehalts berücksichtigen (addieren), gäbe es keinen signifikanten Unterschied mehr zwischen den traumatisierten ödematösen Hirnhemisphären mit und ohne Steroidtherapie.

Man könnte den „Fehler“ durch den Einfluss des sich ebenfalls ändernden Wassergehalts der nicht traumatisierten Hemisphäre korrigieren durch Verwendung des Kontrollwerts des nicht traumatisierten Gehirns unbehandelter Tiere, den wir bei der Untersuchung der Wirkung von Dexamethason auf das nicht traumatisierte Gehirn erhalten haben. Als 48-Stunden-Werte ergeben sich dann für die prozentuale Wassergehaltszunahme der traumatisierten Hemisphäre 1,2 % (unbehandelt), 0,59 % (mit Dexamethason) und 0,63 % (mit Triamcinolon). Für die nicht traumatisierte Hemisphäre ergeben sich 0,16 % (unbehandelt), -0,38 % (mit Dexamethason) und -0,5 % (mit Triamcinolon). Die negativen Werte bestätigen den Befund, dass Dexamethason auch den Wassergehalt von normalem Hirngewebe reduziert.

Bei unbehandelten Tieren wird durch die Kälteläsion eine Schwellung von 7 % nach 24 Stunden und 7,7 % nach 48 Stunden erzeugt. Die Veränderung des prozentualen Hirnwassergehalts liegt nach 24 Stunden bei ca. 0,82 % und nach 48 Stunden bei ca. 1 %.

Obwohl die Extravasation von Evans Blue nicht quantifiziert wurde, legt der optische Eindruck einen deutlich verminderten Austritt des Farbstoffs unter der Behandlung mit Steroiden nahe als Indiz für die therapeutische Wirksamkeit von Triamcinolon und Dexamethason.

## Klinische Studien

Corticosteroide werden schon lange zur Behandlung von zerebralen Prozessen verwendet, die mit einem Hirnödem einhergehen. Bei chronischen Vorgängen, die durch eine protrahierte Entstehung des Hirnödems charakterisiert sind, ist ihre therapeutische Wirksamkeit nach wie vor unbestritten.

Besonders beim perifokalen Hirnödem von Tumoren ist die Effektivität der Steroidbehandlung auf den Wasser- und Natriumgehalt, den intrakraniellen Druck und den klinischen Verlauf gesichert (Beks et al. 1972, Meinig 1980, Reulen et al. 1972). Überwiegend negativ hingegen sind Studien über die Therapie beim ischämischen Infarkt mit Steroiden verlaufen (Katzmann et al. 1977, Millikan et al. 1981), wengleich Paten et al. (1972) der Meinung waren, dass der funktionelle Status von Patienten mit akutem Schlaganfall durch Dexamethason deutlich verbessert würde.

Eine Vielzahl klinischer Untersuchungen hat sich mit Steroiden beim Schädel-Hirn-Trauma beschäftigt (siehe Tabelle 10).

Im Gegensatz zur experimentellen Prüfung, die sich natürlich durch eine bessere Standardisierbarkeit auszeichnet, sind in der Klinik gewonnene Therapieerfolge aufgrund der Komplexität des schweren Schädel-Hirn-Traumas (Schweregrad des Traumas, Begleitverletzungen, Alter und Gesundheitszustand des Patienten vor dem Trauma) schwerer zu erkennen. Dies könnte auch die unterschiedlichen Ergebnisse der verschiedenen klinischen Prüfungen erklären.

Trotz des Fehlens eines eindeutigen Nachweises ihrer therapeutischen Wirksamkeit auf das klinische Outcome wurde der Einsatz synthetischer Glucocorticosteroide, beispielsweise zur Therapie des Hirnödems beim Schädel-Hirn-Trauma, lange Zeit empfohlen, nicht zuletzt wegen der überzeugenden Resultate vieler experimenteller Untersuchungen.

<b>Klinische Ergebnisse mit Glucocorticoiden beim Schädelhirntrauma</b>			
	<b>Medikation</b>	<b>Prüfgrößen</b>	<b>Therapeutischer Erfolg</b>
Gobiet 1976	Dexamethason hohe Dosierung	Intrakranieller Druck	hohe Dosierung +
	niedrige Dosierung		niedrige Dosierung -
FaupeL 1976	Dexamethason hohe Dosierung	Neurologischer Verlauf Klinisches Resultat	hohe Dosierung +
	niedrige Dosierung		niedrige Dosierung -
Cooper 1979	Dexamethason hohe Dosierung	Intrakranieller Druck	-
	niedrige Dosierung	Klinisches Resultat	-
		Neurologischer Verlauf	-
Gudemann 1979	Methylprednisolon hohe Dosierung	Intrakranieller Druck	-
Pitts 1980	Dexamethason niedrige Dosierung	Intrakranieller Druck	-
Saul 1981	Methylprednisolon hohe Dosierung	Intrakranieller Druck	-
		Klinisches Resultat	(+)
Braakman 1983	Dexamethason hohe Dosierung	Klinisches Resultat	-
Giannotta 1984	Methylprednisolon hohe Dosierung	Klinisches Resultat	hohe Dosierung +
	niedrige Dosierung		niedrige Dosierung -
Gaab 1994	Dexamethason ultrahohe Dosierung	Letalität	
Grumme 1995	Triamcinolon	Klinisches Resultat	+
CRASH trial Mitarbeiter 2005	Methylprednisolon	Klinisches Resultat	-

niedrige Dosierung: 0,2 - 0,5 mg/kg K.G. u. Tag  
hohe Dosierung: 1,5 - 3 mg/kg K.G. u. Tag  
ultrahohe Dosierung: 2,3 g in 51 h

**Tabelle 10:**

Klinische Ergebnisse der Behandlung des schweren Schädel-Hirn-Traumas mit Glucocorticosteroiden.

Aus der Abbildung geht hervor, dass nur ein Teil der bisher durchgeführten Studien einen positiven therapeutischen Effekt einer Steroidbehandlung nachweisen konnte.

Von besonderer Bedeutung scheint die hohe Dosierung zu sein. Braughler und Hall (1985) empfehlen eine Initialdosis von 30 mg/kg Methylprednisolon, gefolgt von weiteren 15 mg/kg jeweils zwei Stunden später und danach in sechsstündigem Abstand. Eine Fortführung der Therapie über 48 Stunden hinaus erachten die Autoren nicht für sinnvoll, vermutlich weil die pathophysiologischen Mechanismen des traumatischen Hirnödems später keine Rolle mehr spielen.

Die GUDHIS-Gruppe (German Ultrahigh Dexamethasone Head Injury Study Group) konnte in einer prospektiven, randomisierten Doppelblindstudie keinen Nachweis für die Wirksamkeit von Dexamethason führen (Gaab et al. 1994).



1995 wurde eine konzeptionell und biometrisch anspruchsvolle, randomisierte, prospektive Multicenterstudie vorgelegt, in der eine Verbesserung des klinischen Verlaufs nach schwerem Schädel-Hirn-Trauma durch Triamcinolon beobachtet wurde (Grumme et al. 1995). In einer Untergruppe von Patienten mit fokaler Kontusion und perifokalem Hirnödem war das bessere Outcome statistisch signifikant. In dieser Untersuchung wird auf den frühzeitigen Beginn der Therapie, möglichst bereits am Unfallort hingewiesen.

Die Ergebnisse einer Metaanalyse aus dem Jahre 1997 sprechen dafür, dass Steroide die Mortalität nach einem Schädel-Hirn-Trauma um ca. 1-2 % senken (Alderson 1997).

Eine groß angelegte, internationale Multicenterstudie (CRASH-Studie) sollte diesen Effekt randomisiert und placebokontrolliert überprüfen.

Nicht weniger als 10.008 Patienten wurden rekrutiert und entweder mit Methylprednisolon (2 g initial über 8 Stunden und nachfolgend 0,4 g/h über 48 Stunden) behandelt oder als Placebo analysiert. Zielgrößen waren die 2-Wochen-Mortalität und die klinische Erholung innerhalb von 6 Monaten. Die Studie musste allerdings vorzeitig abgebrochen werden, weil in einer Zwischenanalyse in der Patientengruppe mit Corticosteroidbehandlung die Mortalität gegenüber der Placebogruppe um das 1,18fache in den ersten 2 Wochen erhöht war. Ein therapeutischer Effekt der hochdosierten Methylprednisolonbehandlung konnte nicht bestätigt werden (CRASH-trial collaborators 2005, Roberts et al. 2004).

Es muss aber betont werden, dass die CRASH-Studie vielfach kritisiert wird. Grundlage des Studienkonzepts waren die positiven Ergebnisse der NASCI-Studien (NAS-CIS; National Acute Spinal Cord Injury Studies) über die hochdosierte Behandlung des Rückenmarktraumas mit Methylprednisolon (Bracken et al. 1990, Bracken et al. 1997). Allerdings wurde bereits vor Beginn der CRASH-Studie auf die Problematik der NASCI-Studie hingewiesen. An der CRASH-Studie sind die unscharf definierten Einschlusskriterien sowie die fehlende Klassifizierung der Verletzungen kritisiert worden (Moskopp 2004, Bauer 2005).

## **6 Möglichkeiten der spezifischen Hemmung der Cyclooxygenase und der Lipoxygenase**

Wie bereits erwähnt, werden nicht nur Arachidonsäure, sondern auch ihre Metabolite als Mediatoren des sekundären Hirnschadens und des vasogenen Hirnödems diskutiert. Bei Validität dieses Konzepts müsste durch Hemmung der für die Bildung und Metabolisierung der Arachidonsäure verantwortlichen Enzyme auch das Hirnödem beeinflusst werden können.

Eine Hemmung von Cyclooxygenase kann durch eine Reihe sogenannter nicht steroidaler Antiphlogistika erreicht werden (Übersicht: Higgs und Vane 1983, Shen 1979). Diese Substanzen hemmen dabei reversibel kompetitiv, irreversibel und reversibel nicht kompetitiv.

Als reversibel kompetitive Inhibitoren gelten andere Fettsäuren, die nicht zu Endoperoxiden umgewandelt werden.

Wegen der hohen Affinität von Ibuprofen zur Cyclooxygenase vermindert dieser Inhibitor den Abbau von Arachidonsäure und somit die Entstehung von Prostaglandinen. Acetylsalicylsäure wiederum bewirkt eine irreversible Hemmung der Cyclooxygenasen COX-1 und COX-2 durch Übertragung eines Acetylrestes auf einen Aminosäurerest (Serin 530) vor dem katalytischen Zentrum. Arachidonsäure als Substrat von Cyclooxygenase kann dadurch das aktive Zentrum nicht erreichen, das Enzym ist blockiert.

Durch Änderung der Molekülstruktur lässt sich die inhibitorische Wirkung von Indomethacin erklären.

Paracetamol hat wahrscheinlich Funktionen als Radikal-Scavenger bzw. als Antioxydans und bewirkt eine reversible, nicht kompetitive Hemmung des Enzyms.

Heute wird davon ausgegangen, dass die Produkte des Cyclooxygenaseweges an der Bildung oder Entstehung des zytotoxischen und vasogenen Hirnödems nicht beteiligt sind. Weder Pappius und Wolfe (1983) noch Pickard (1981) konnten durch Indomethacin eine Abschwächung des vasogenen Hirnödems nach kortikaler Kälteläsion erreichen, obwohl die Prostaglandinbildung signifikant gesenkt wurde. Koide et al. (1981) und Jancar et al. (1987) kamen aufgrund von in-vitro Experimenten mit Zerebralgefäßen von Hunden zu dem Schluss, dass die durch Arachidonsäure hervorgerufene Erhöhung der Gefäßwandpermeabilität weder durch Indomethacin noch durch Acetylsalicylsäure verhindert wird. Somit kann eine Beteiligung von Prostaglandinen ausgeschlossen werden.

Inhibitoren von Lipoxygenasen (LOX) lassen sich nach ihrem Wirkmechanismus einteilen (Übersicht: Drutkowski 2003):

- *Eisen-Komplexbildner*: Eisen-Chelatoren binden das im katalytischen Zentrum der LOX gelegene Eisenatom.
- *Eisen-Reduktoren*: Reduktion des im katalytischen Zentrums von LOX befindlichen Eisenatoms.
- *Substrat-Analoga*: mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit einer oder mehreren Dreifachbindungen anstelle einer Doppelbindung, Ölsäure, Erucasäure, länger-kettige Alkohole und Aldehyde sowie Hydrazone bzw. Amidrazone.
- *Radikalfänger/Redoxinhibitoren*: Nordihydroguajaretsäure (NDGA), Kaffeesäure, Hydroxylamine, Aniline, Phenole und Aminophenole.
- *Sonstige Inhibitoren*: über deren Wirkmechanismus ist nur sehr wenig bekannt (Knoblauchöl, Boswelliasäure).

## 7 Therapeutische Beeinflussung der Arachidonsäuremetabolisierung mit dem dualen Inhibitor BW 755C

Bisher wurde eine Reihe von Substanzen gefunden, die beide die an der Metabolisierung von Arachidonsäure beteiligten Enzymsysteme hemmen (Übersicht: Higgs und Flower, 1981). Die meisten Untersuchungen betreffen das Pyrazolderivat BW 755C der Wellcome Research Laboratories, Beckham, Kent, Großbritannien (Strukturformel s. Abbildung 22).

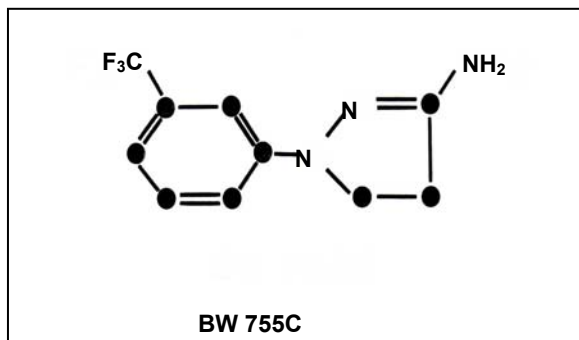


Abbildung 22:  
Strukturformel des dualen Inhibitors des Arachidonsäurestoffwechsels BW 755C.  
Es handelt sich dabei um ein 3-Amino-1-(3-Trifluormethyl-phenyl)-2-Pyrazolin.

Es konnte gezeigt werden, dass BW 755C sowohl Cyclooxygenase als auch Lipoxygenase wirksam inhibiert (Blackwell und Flower 1978, Higgs et al. 1979, Randall et al. 1980). Deshalb haben wir mit BW 755C in unseren Versuchen geprüft, ob die Reduktion der Freisetzung von Eicosanoiden die Entstehung und Ausbreitung des vasogenen Hirnödems beeinflusst, auch als Indiz einer Beteiligung von Prostaglandinen und Leukotrienen.

Bis heute konnte wiederholt beobachtet werden, dass BW 755C die in verschiedenen experimentellen Modellen hervorgerufene Entzündungsreaktion deutlich abschwächt.

Higgs und Mitarbeiter haben durch das Pyrazolderivat eine deutlich verminderte Leukozytenzahl im Exsudat, eine Verringerung des Ödems und einen geringeren Gewebeschaden bei der durch Carrageenin induzierten Entzündung von Ratten erreichen können (Higgs et al. 1984).

Auch Hayden et al. (1987) haben eine Reduktion des durch Ischämie des Kaninchenohrs hervorgerufenen Ödems mit Verminderung der dadurch erzeugten Gewebnekrose nach Gabe von BW 755C beschrieben.

In diesem Fall war jedoch die Ödemhemmung nicht so stark ausgeprägt wie nach alleiniger Inhibition von Cyclooxygenase durch eine hohe Indomethacindosis.

Burghuber et al. (1985) haben in Versuchen mit isolierten Rattenlungen ebenfalls eine ödemhemmende Wirkung von BW 755C nach Schädigung durch Hydrogenperoxid gefunden.

Die Arbeitsgruppe von Higgs berichtet zudem, dass der duale Inhibitor die durch Arachidonsäure induzierte Plasmaexsudation der Kaninchenhaut deutlich vermindert (Higgs et al. 1982).

Andere Autoren haben eine protektive Wirkung des Pyrazolderivats beim experimentellen Myokardinfarkt veröffentlicht. In diesen Untersuchungen konnte die infarktbedingte Myokardschädigung durch BW 755C abgeschwächt werden (Jolly und Lucchesi 1983, Mullane und Moncada 1982).

Weiterhin gibt es Hinweise, dass BW 755C anaphylaktoide Reaktionen abschwächt (Everitt et al. 1979). Dies ist wahrscheinlich auf eine Hemmung von Lipoxygenase zurückzuführen – die alleinige Inhibition von Cyclooxygenase, zum Beispiel durch Indomethacin, bewirkt das Gegenteil (Übersicht: Higgs und Vane 1983).

Untersuchungen von Patterson et al. (1981) mit Rhesusaffen zeigen, dass BW 755C pathologische Lungenveränderungen beim Antigen-induzierten Asthma vermindert.

Ähnliche Ergebnissen von Nijkamp und Ramakers (1980) haben in-vitro Untersuchungen mit Schweinelungen ergeben.

Higgs et al. (1985) vermuten, dass BW 755C in den Calciumstoffwechsel eingreift als Erklärung seines therapeutischen Potentials, weil beobachtet worden ist, dass das Calcium-Ionophor A23187 eine Freisetzung von Leukotriene C4 und D4 in zerebralen Arterien in-vitro verursacht.

Aggarwal et al. (2009) haben beobachtet, dass BW 755C die durch Hypoxie verursachte Freisetzung von Arachidonsäure im Endothelium von Aorta und Mesenterialarterien von Kaninchen hemmt.

Winkler et al. (2000) haben bei suspendierten C6 Gliomazellen ein zytotoxisches Ödem durch Zugabe von Arachidonsäure erzeugen können. Eine Inkubation der Zellen mit BW 755C ergab allerdings keine Hemmung der Zellschwellung.

In unseren Untersuchungen konnte die posttraumatische Hemisphärenschwellung des Gehirns durch BW 755C nicht reduziert werden. In der Versuchsreihe mit alleiniger Nachbehandlung bzw. Therapiebeginn zum Zeitpunkt der Läsion war die Schwellung sogar leicht verstärkt. Dies spricht gegen eine Beteiligung von Eicosanoiden am vasogenen Hirnödem.

Allerdings müsste geprüft werden, ob BW 755C auch im Gehirn Cyclooxygenase und Lipoxygenase hemmen kann.

Es könnte allerdings möglich sein, dass Eicosanoide eine Rolle als Mediatoren des zerebralen Sekundärschadens, zum Beispiel bei der Bildung von Zellnekrosen spielen, ohne einen Einfluss auf die Bildung und Ausbreitung des Hirnödems zu haben. Eine Reduktion des Wassergehalts von normalem, nicht geschädigtem Hirngewebe durch BW 755C, das von uns erstmals beobachtet worden ist, kann durch die bisher bekannten Wirkungen des Inhibitors nicht erklärt werden.

## **8 Beteiligung des Kallikrein-Kinin-Systems an der Entstehung des vasogenen Hirnödems**

### **8.1 Biochemie und Physiologie des Kallikrein-Kinin-Systems**

Im Plasma vorkommende Kinine sind niedermolekulare, pharmakologisch hochwirksame Oligopeptide. Sie werden durch das proteolytische Enzym Kallikrein aus den zur  $\alpha_2$ -Globulinfraktion gehörenden Kininogenen freigesetzt: High molecular weight kininogen (HMWK) und Low molecular weight kininogen (LMWK) (Schmaier 1997).

Plasmakallikrein ist für die Abspaltung von Bradykinin aus der hochmolekularen Kininogen-Fraktion (HMWK), Gewebekallikrein für die Bildung von Kallidin aus der niedermolekularen Kininogen-Fraktion (LMWK) verantwortlich. Gewebekallikrein wird unter anderem im ZNS, Speicheldrüsen, der Niere und dem Herz-Kreislaufsystem synthetisiert (Clements 2001). Die Struktur von Bradykinin, ebenso wie von Kallidin, ist seit langem aufgeklärt (Buddecke 1984).

Die inaktive Kallikreinvorstufe Präkallikrein, wird unter anderem durch Hageman-Faktor aktiviert. Das Kallikrein-Kinin-System wird übrigens auch als Gerinnungsfaktor angesehen, da es selbst Hageman-Faktor aktivieren kann (Kaplan 1983).

Bradykinin und Kallidin haben eine kurze Halbwertszeit im Blut. Sie werden nach weniger als einer Minute durch spezifische Kininasen zu unwirksamen Spaltprodukten abgebaut.

Eine bedeutsame Rolle spielt hier Kininase II, das Angiotensin-Converting-Enzym (ACE). Die aktuelle Kininkonzentration im Gewebe wird aber nicht nur von Kininasen, sondern auch von anderen natürlichen Inhibitoren beeinflusst. Unter physiologischen Bedingungen ist somit durch das Einwirken verschiedener Faktoren ein Gleichgewicht des Systems gewährleistet. Normalerweise überwiegen inhibierende Faktoren. Unter pathophysiologischen Bedingungen kann sich dieses Verhältnis jedoch ändern.

Einen schematischen Überblick des Kallikrein-Systems und seiner Interaktion mit anderen Stoffwechselsystemen gibt Abbildung 23.

Kinine vermitteln ihre Wirkung im Gewebe im Wesentlichen über den B<sub>1</sub>- und B<sub>2</sub>-Rezeptor (Regoli und Barabe 1980, Regoli et al. 1981).

Die biologischen Wirkungen von Kininen in peripheren Organen sind mannigfaltig. Lumenta (2005) legt dazu in seiner Dissertation eine ausführliche tabellarische Übersicht vor. Einige Wirkungen sollen hier angesprochen werden:

Kinine bewirken eine Kontraktion der glatten Muskulatur, zum Beispiel der Bronchien oder des Uterus, steuern vermutlich in bedeutendem Ausmaß die Sekretion exokriner Drüsen und sind stark wirksame Liganden von Schmerzrezeptoren (Johnson 1979, Bhoola et al. 1979).

Bradykinin induziert in Endothelzellen von Arteriolen eine Stimulierung von NO-Synthase (Stickstoffmonoxidsynthase) durch Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration (Mittal et al. 1995). Das gasförmige Molekül NO diffundiert in die Zellen der glatten Muskulatur und aktiviert dort das Enzym Guanylatzyklase. Dieses bewirkt eine Umwandlung von GTP in zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP), wodurch die glatte Gefäßmuskulatur der Arteriolen erschlafft (Félétou et al. 1996).

Diese Autoren konnten durch Kinine weiterhin eine konstringierende Wirkung auf Venen feststellen, wofür sie ebenfalls spezifische Rezeptoren verantwortlich machen, die sowohl auf Endothel- als auch glatten Muskelzellen lokalisiert sind (Regoli 1984).

Mittlerweile gibt es Hinweise, dass Kinine ihre biologische Wirkung auch durch Freisetzung anderer Mediatoren, beispielsweise Prostaglandine, vermitteln.

Es konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass Bradykinin zur Freisetzung von Prostacyclin führt (Crutchley et al. 1983). Cherry und Furchgott (Cherry et al. 1982) betrachten auch NO, i. e. Endothelial-derived-relaxing-factor, als einen Mediator der Kininwirkung. Permeabilitätssteigernde Effekte von Kininen sind ebenfalls seit langem bekannt (Unterberg et al. 1984).



Die Arbeitsgruppe von Svensjö konnte zeigen, dass die extravaskuläre Applikation von Bradykinin zu einer stark erhöhten Permeabilität der Gefäßwand für Makromoleküle führt (Svensjö und Joyner 1984). Dieses Phänomen betrifft vor allem die postkapillaren Venolen (z. B. von Hamsterbackentaschen). Als Mechanismus wird eine Kontraktion der Endothelzellen diskutiert.

Durch dabei entstehende Endothelzelllücken könnten sogar Plasmaproteine aus den Gefäßen in das Parenchym eindringen (Félétou et al. 1996).

Bei Verletzung der Gefäßwand kommt es bekanntlich durch Kontaktaktivierung des Intrinsic- und Extrinsic-Systems zur Auslösung der Blutgerinnung. Es ist bekannt, dass das Kallikrein-Kinin-System eine Rolle bei der Aktivierung der Blutgerinnung spielt (s. Abb. 23).

Beispielsweise wird Faktor XII (Hageman-Faktor) in Anwesenheit von Präkallikrein und HMWK in seine Fragmente  $\alpha$ -HF<sub>a</sub> und  $\beta$ -HF<sub>a</sub> gespalten.  $\beta$ -HF<sub>a</sub> wiederum aktiviert die Umwandlung von Präkallikrein zu Kallikrein.

Über einen positiven Feedback-Mechanismus stimuliert Kallikrein weiterhin die Spaltung von Hageman-Faktor in seine Fragmente. Gleichzeitig wandelt Kallikrein Plasminogen in das fibrinolytisch wirksame Plasmin um (Übersicht: Prograis et al. 1986) (siehe Abbildung 23).

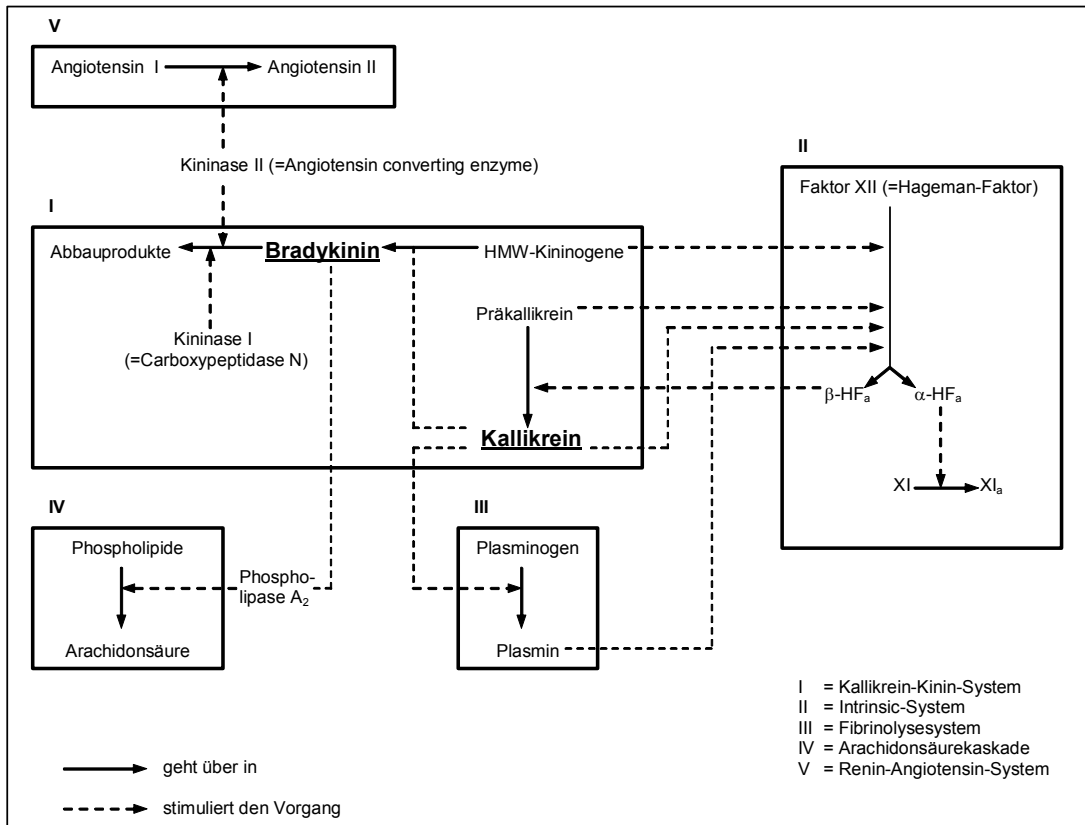


Abbildung 23:

Schema des Kallikrein-Kinin-Systems und seiner Verknüpfung mit den Renin-Angiotensin-, Gerinnungs- und Fibrinolyse-Systemen.

In dem Schema sind die wichtigsten Stoffwechselforgänge dargestellt, die im Zusammenhang mit der Bildung von Bradykinin stehen.

Aus hochmolekularen Kininogenen (HMWK) wird das Nonapeptid Bradykinin durch Kallikrein proteolytisch freigesetzt. Plasma-Kallikrein entsteht durch die Vermittlung eines Fragments von Hageman-Faktor. Durch Kininase I und Kininase II wird Bradykinin enzymatisch zu inaktiven Substraten abgebaut.

Die Verzahnung des Kallikrein-Kinin-Systems mit dem Gerinnungssystem besteht darin, dass Kininogene (HMW), Kallikrein und Präkallikrein die Spaltung von Hageman-Faktor stimulieren. Das β-HF<sub>a</sub>-Fragment wiederum fördert die Umwandlung von Präkallikrein zu Kallikrein. Zusätzlich wird in Anwesenheit von α-HF<sub>a</sub> Faktor XI aktiviert.

In diese Stoffwechselforgänge ist auch das Fibrinolyse-System einbezogen. Hier stimuliert Kallikrein die Umwandlung von Plasminogen in seine aktive Form Plasmin. Plasmin wiederum soll die Spaltung von Faktor XII bewirken.

Das Renin-Angiotensin-System ist ebenfalls mit dem Kallikrein-Kinin-System verknüpft. Das für den Abbau von Bradykinin zuständige Enzym Kininase II soll die Bildung von Angiotensin II anregen, und wird deshalb auch als „Angiotensin converting enzyme“ (ACE) bezeichnet. ACE-Blocker haben einen wichtigen Platz in der pharmakologischen Blutdrucksenkung von Patienten mit Hypertonus. Bei Akkumulation größerer Mengen von Kininen kommt es zu einer kompetitiven Hemmung des Enzyms. Die Folge ist eine Zunahme von Angiotensin I. Die vasodilatierende und blutdrucksenkende Wirkung von Kininen könnte auch durch diesen Mechanismus erklärt werden.

(Erdös und Yang 1979, Giertz 1983, Prograis 1986, Regoli und Barabé 1980)

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das Kallikrein-Kinin-System auch zur Arachidonsäurekaskade in Beziehung steht (Übersicht: Paul und Kinsella 1983). Dies ist ein wichtiges Beispiel für das interagierende Netzwerk von Mediator-Systemen.

Kinine können durch Stimulierung von Phospholipase  $A_2$  Arachidonsäure freisetzen und somit zur Entstehung von Leukotrienen und Prostaglandinen beitragen. Vargaftig und Dao Hai berichten (1972), dass es nach Applikation von Bradykinin zur Freisetzung von Prostaglandinen in der Lunge kommt. Der Phospholipase  $A_2$ -Inaktivator Mepacrine kann diese Prostaglandinfreisetzung vermindern.

Nasjletti und Malik (1979) halten es sogar für möglich, dass Kinine grundsätzlich einen Teil ihrer Wirkung über Stimulierung der Prostaglandinbildung entfalten.

Die Interaktion zwischen dem Kallikrein-Kinin-System und der Arachidonsäurekaskade ist von besonderer Bedeutung, zumal beide Systeme höchstwahrscheinlich an der Entstehung und Ausbreitung eines vasogenen Hirnödems beteiligt sind. Eine pharmakologische Beeinflussung beider Systeme könnte deshalb größeren therapeutischen Nutzen haben als die Hemmung eines Systems.

## **8.2 Kinine als Mediatoren des sekundären Hirnschadens**

Da Kininasen Kinine innerhalb kurzer Zeit (30-40 Sekunden) in unwirksame Spaltprodukte abbauen (Erdös und Yang 1979), ist die Bestimmung von Kininen im traumatisierten Gewebe nur wenig aussagekräftig, weil damit das komplette Ausmaß der Kininfreisetzung nicht erfasst würde. Gleichwohl gibt es Hinweise für eine pathophysiologisch relevante Kininfreisetzung bei neuropathologischen Vorgängen wie Migräne, multipler Sklerose, Schizophrenie oder der Subarachnoidalblutung.

Die Mediatorfunktion des Kallikrein-Kinin-System beim posttraumatischen vasogenen Hirnödem ist gut untersucht worden (Maier-Hauff 1984, Maier-Hauff et al. 1984a).

Die Autoren fanden eine Freisetzung von Kininen sowohl im fokalen nekrotischen als auch im perifokalen ödematösen Gewebe nach einer Kälteläsion der Hirnrinde von Katzen. Eine besonders ausgeprägte Freisetzung von Kininen konnte bei den Tieren festgestellt werden, die durch Anstieg des intrakraniellen Druckes eine zerebrale Ischämie hatten.

Die Aktivierung des Kallikrein-Kinin-Systems beim Schädel-Hirn-Trauma könnte folgendermaßen ablaufen:

Bei der Läsion von Hirngewebe wird Gefäßendothel verletzt, wodurch negativ geladene Endothelzellstrukturen freigelegt werden, an die basische Kininogenmoleküle anlagern, die zusammen mit Hageman-Faktor und Präkallikrein das intrinsische Gerinnungssystem aktivieren (Schiffman et al. 1977). Aktivierter Hageman-Faktor ist eine Präkallikreinase, die zur Aktivierung von Kallikrein führt. Die Folge davon ist eine stark vermehrte Freisetzung von Kininen aus Kininogenen, wodurch im Gehirn diverse pathophysiologische Prozesse in Gang gesetzt werden (Movat 1979).

Experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass Bradykinin eine starke Wirkung auf die glatte Muskulatur von Hirngefäßen hat (Kontos et al. 1984, Wahl et al. 1983a und 1983b, Unterberg et al. 1988).

Bradykinin führt zur erheblichen Dilatation von Hirnarterien, allerdings nur bei extravasaler Applikation. Das dürfte damit zusammenhängen, dass die Bradykinin-B<sub>2</sub>-Rezeptoren an der extraluminalen Seite der Gefäßwand lokalisiert und somit für im Blut zirkulierende Kinine nicht zugänglich sind (Unterberg 1986).

Es wird weiterhin diskutiert, dass Kinine ihre Wirkung auch indirekt über Stimulierung der Prostaglandin- und Leukotriensynthese entfalten (siehe oben).

In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass der duale Inhibitor der Prostaglandin- und Leukotriensynthese BW 755C in vitro die durch Bradykinin induzierte Gefäßrelaxation abschwächt (Whalley et al. 1984).

Neben ihren vasomotorischen Eigenschaften erhöhen Kinine auch die Permeabilität von Hirngefäßen mit Eröffnung der Blut-Hirnschranke für niedermolekulare Substanzen, zum Beispiel Elektrolyte (Wahl et al. 1996, Raymond et al. 1986). In diesem Zusammenhang wird auch diskutiert, dass Bradykinin Endothelzellen kontrahiert und somit zur Eröffnung von „tight junctions“ führt (siehe oben).

Die Eröffnung der Blut-Hirnschranke konnte durch Untersuchungen von Unterberg bestätigt werden (Unterberg et al. 1984). Die ventrikulo-zisternale Perfusion des Gehirns von Katzen mit Bradykinin verursachte eine Permeabilitätserhöhung der Blut-Hirnschranke mit Extravasation von Plasmakomponenten. Durch Impedanzmessung des Gehirns konnten Rückschlüsse auf die Erweiterung des Interstitiums durch die Ödemflüssigkeit gezogen werden.

Vieles spricht dafür, dass insbesondere B<sub>2</sub>-Rezeptoren die Eröffnung der Blut-Hirnschranke vermitteln (Wahl et al. 1996). Görlach konnte zeigen, dass die kontinuierliche Verabreichung eines selektiven Bradykinin B<sub>2</sub>- Rezeptorantagonisten (Hoe 140) eine Stunde vor bis 24 Stunden nach Kälteläsion des Gehirns bei Ratten eine signifikante Reduktion des Nekrosevolumens und des Hirnödems bewirkt (Görlach et al. 2001). Zweckberger induzierte bei Mäusen durch Controlled Cortical Impact des exponierten Gehirns eine zerebrale Läsion. Durch spezifische Blockade des Bradykinin B<sub>2</sub>-Rezeptors mit LF 16-0687 konnten der intrakranielle Druckanstieg 10 Stunden und die Nekroseexpansion 24 Stunden nach Trauma signifikant reduziert werden (Zweckberger 2006). Lumenta hat das Infarktverhalten nach experimenteller regionaler Ischämie bei Ratten untersucht. Durch B<sub>2</sub>-Rezeptorblockade mit LF 16-0687 konnte die Infarzierung des Gehirns abgeschwächt werden (Lumenta et al. 2006).

Möglicherweise entfalten Kinine ihre Wirkung auch über Interaktionen mit dem Komplementsystem. Das Komplementsystem spielt eine zentrale Rolle bei Entzündungsvorgängen. Seine Aktivierung führt unter anderem zur Erhöhung der Gefäßpermeabilität mit Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur.

Weiterhin stimulieren Komponenten des Systems eine Freisetzung von Histamin und von anderen Mediatoren aus Mastzellen und basophilen Zellen (Übersicht: Bhakdi und Trantum-Jensen 1987, Reid und Porter 1981).

Hierzu gehört auch die Freisetzung von Prostaglandinen, Leukotrienen und von anderen Stoffwechselprodukten der Arachidonsäurekaskade (Cooper et al. 1980, Gee et al. 1985, Rampart et al. 1983, Shirazi 1987). Das Komplementsystem wird unter anderem durch Antikörper-Antigen-Komplexe aktiviert, sowie durch Viruspartikel und gram-negative Bakterien (Übersicht: Reid und Porter 1981).

## **9 Therapeutische Beeinflussung des Kallikrein-Kinin-Systems mit dem Proteinaseinhibitor C1-Inaktivator**

Es gibt eine Reihe natürlicher wie synthetischer Inhibitoren des Kallikrein-Kinin-Systems.

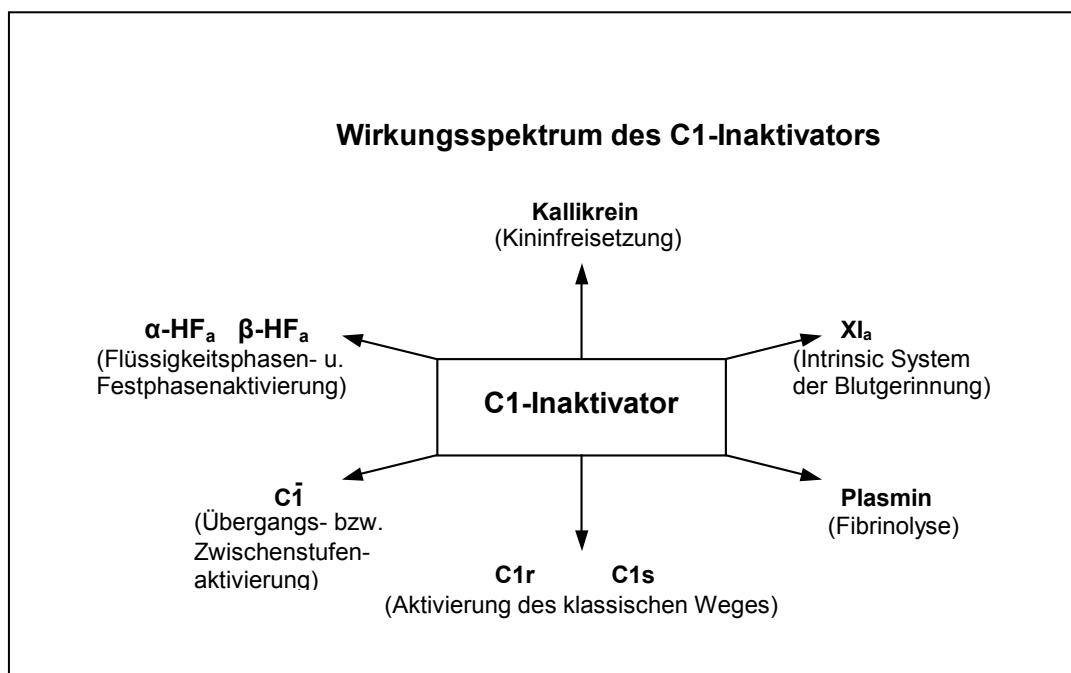
Beispielsweise kann der Abbau von Kininen zu den unwirksamen Spaltprodukten durch spezifische Kininaseinhibitoren gehemmt werden. Hierzu zählen Chelatbildner (z. B. EDTA), Verbindungen mit SH-Gruppen (z. B. Cystein) und bestimmte Albuminfragmente (Übersicht: Erdös 1979). Die Hemmung von Kininase II mit Erhöhung der Kininkonzentration im Plasma durch Captopril wird klinisch für die Behandlung der arteriellen Hypertonie genutzt (Rasmussen et al. 1982).

Andere natürlich vorkommende Inhibitoren können die Spaltung von Kininogenen mit Bildung von Kininen verhindern. Plasmakallikrein kann durch den aus Sojabohnen isolierten Trypsininhibitor (SBTI) gehemmt werden. Weiterhin haben wichtige Proteinaseinhibitoren wie alpha2-Makroglobulin, alpha1-Antitrypsin und Antithrombin III inhibitorische Eigenschaften.

Der aus Rinderorganen isolierte Proteinaseinhibitor Aprotinin (BPTI) ist der stärkste Inhibitor von Gewebskallikrein. Unsere Arbeitsgruppe hat experimentelle Befunde, dass Aprotinin das durch Kälteläsion verursachte vasogene Hirnödem abschwächt (Unterberg et al. 1986a).

In den vorliegenden Versuchen ist der unter natürlichen Bedingungen im Blut vorkommende Plasmaproteinaseinhibitor C1-Inaktivator zur Hemmung des Kallikrein-Kinin-Systems geprüft worden. Der natürliche Inhibitor ist ein  $\gamma$ 2-Globulin mit einem Molekulargewicht von ca. 104 kDa. Er besteht aus einer einzelnen Kette von Glykoproteinen mit einem Kohlenstoffanteil von 35 %. Er wird vorwiegend in der Leber synthetisiert, aber auch in Fibroblasten, Monozyten, Makrophagen, Thrombozyten und Endothelzellen (Bensa et al. 1983). Die normale Serumkonzentration beträgt 23 mg/dl, die biologische Halbwertszeit 64 Stunden (Heda et al. 1990, Zuraw et al. 1990).

Wie der Name sagt, wurde C1-Inaktivator zuerst als Inhibitor der aktiven Form des ersten Faktors des Komplementsystems identifiziert (Levy und Lepow 1959, Pensky et al. 1961). Später ist beobachtet worden, dass der Inhibitor auch die Subkomponenten von C1, nämlich C1r und C1s inaktivieren kann (Sim et al. 1980) (s. Abb. 24).



**Abbildung 24:**

Inhibitorische Wirkungen von C1-Inaktivator.

In der Abbildung sind die Faktoren bzw. Komponenten, die gehemmt werden und die in diesem Zusammenhang stehenden enzymatischen Abläufe benannt.

C1̄, C1r, C1s = Komponenten des Komplementsystems

Seit langem ist bekannt, dass C1-Inaktivator auch in das Kallikrein-Kinin-System eingreift, indem er mit Kallikrein einen stabilen Komplex bildet (Gigli et al. 1970, Harpel et al. 1975, Schapira et al. 1981). Die Komplexbildung ist weitgehend irreversibel. Der Mechanismus, der zu ihrer Bildung führt, unterscheidet sich von den bei der Enzymaktivierung beobachteten Mechanismen, die durch ein Michaelis-Menten-Gleichgewicht beschrieben werden können (Schapira et al. 1981).

Die funktionelle Assoziation des Kallikrein-Kinin-Systems mit C1-Inaktivator wird bei zwei sich ähnelnden Krankheiten, dem „hereditären angioneurotischen Ödem“ und dem „erworbenen C1-Esterase Mangelsyndrom“ besonders deutlich. Beide Krankheiten gehen mit Ödembildung und abdominalen Schmerzen einher. In beiden Fällen kann während eines Schubs ein erhöhter Verbrauch von Kallikrein und Kininogenen beobachtet werden (Burdon et al. 1965, Cullmann et al. 1982, Schapira et al. 1983, Hentges et al. 1986).

Die klinischen Symptome, Ödem und Schmerzen, beruhen höchstwahrscheinlich auf der Freisetzung von Bradykinin.

Ruud et al. (1986) haben Schweine mit experimenteller Pankreatitis mit C1-Inaktivator behandelt. Die Folge war eine Verminderung der im Peritonealexsudat gefundenen Kallikreinaktivität, eine Reduktion der hämodynamischen Probleme mit Zunahme des Überlebens der Tiere.

Neben Kallikrein inhibiert C1-Inaktivator auch die Kontaktsystem-Proteinase HF, das heißt den Hageman-Faktor und dessen  $\alpha$ -HF<sub>a</sub>-Fragment (Forbes et al. 1970, Revak und Cochran, 1976).

Dieser Vorgang wiederum hat Auswirkungen auf das Kallikrein-Kinin-System, da  $\beta$ -HF<sub>a</sub> unter anderem Präkallikrein zu Kallikrein aktiviert. Als Folge der C1-Inaktivatorhemmung kommt es zu einer geringeren Freisetzung von Bradykinin aus Kininogen.

C1-Inaktivator kann auch an anderer Stelle das Kontaktsystem blockieren. Er inhibiert Faktor XI (Plasmathrombo-Plastinantecedent) und damit das Intrinsic-System der Blutgerinnung (Forbes et al. 1970).



Allerdings spielt bei diesem Vorgang wahrscheinlich ein anderer Proteinaseinhibitor eine wichtigere Rolle (Scott et al. 1982).

Harpel et al. (1975) konnten zeigen, dass C1-Inaktivator auch die Umwandlung von Plasmin zu Plasminogen hemmt und damit in die Fibrinolyse eingreift.

Gleichwohl zeigen unsere Ergebnisse, dass C1-Inaktivator in der gewählten Dosierung unwirksam war, das vasogene Hirnödeme therapeutisch zu beeinflussen. Möglicherweise war die Dosierung nicht hoch genug.

Weiterhin müsste geprüft werden, ob der von uns verwendete C1-Inaktivator tatsächlich die Kininfreisetzung im Hirngewebe von Kaninchen hemmt.

Es gibt auch andere Möglichkeiten, die Ergebnisse unserer Untersuchungen zu erklären.

Aus der Literatur geht hervor, dass die Inaktivierung von Kallikrein durch C1-Inaktivator durch HMW-Kininogene verhindert werden kann (Schapira et al. 1981). Diese Autoren haben die Bildung reversibler Komplexe von HMWK und C1-Inhibitor beobachtet. Dadurch steht möglicherweise nicht mehr genügend C1-Inaktivator-Substrat zur Verfügung, um mit Kallikrein einen irreversiblen Komplex zu bilden – die Grundlage der therapeutischen Hemmung des Kallikrein-Kinin-Systems mit C1-Inaktivator. Darüber hinaus vorhandenes freies Kallikrein könnte somit unter Umständen weiterhin Bradykinin von Kininogen abspalten.

Für die fehlende therapeutische Wirksamkeit auf das vasogene Hirnödem könnte außerdem die Wirkung von C1-Inaktivator auf das Blutgerinnungssystem verantwortlich gemacht werden. Es wurde bereits darauf hingewiesen, dass C1-Inaktivator die Gerinnungsfaktoren  $\alpha$ -HF<sub>a</sub>,  $\beta$ -HF<sub>a</sub> und XI hemmt und somit zur Störung der Blutgerinnung führen kann.

Die physiologische Regeneration der durch das Kältetrauma verursachten Gefäßschäden würde verzögert, das vasogene Ödem könnte somit einen längeren Zeitraum in das Gewebe austreten. Dafür könnte unser Befund sprechen, dass durch die Behandlung mit C1-Inaktivator der Wassergehalt der traumatisierten Hemisphäre signifikant zugenommen hat, obwohl die Schwellung sogar geringfügig reduziert wurde.

## **E ZUSAMMENFASSUNG**

Der durch ein Schädel-Hirn-Trauma erzeugte Primärschaden des Gehirns (Parenchymnekrose, Axon- und Gefäßläsion) lässt sich therapeutisch nicht beeinflussen – er entsteht im Augenblick des Insults. Der Primärschaden ist allerdings Ursache für die Entstehung des Sekundärschadens, den sekundären Verlust von Hirnparenchym bzw. Untergang von selektiv vulnerablen Nervenzellen. Daran sind eine Reihe komplexer pathophysiologischer Mechanismen beteiligt, wie zum Beispiel das vasogene und zytotoxische Hirnödem, als Ursache der intrakraniellen Raumforderung mit ihren deletären Folgen und die sekundäre Ischämie oder die Einklemmung des Gehirns durch die intrakranielle Hypertension.

Im Gegensatz zum Primärschaden (z. B. Kontusion) kann der sekundäre Hirnschaden therapeutisch beeinflusst, ggf. verhindert werden - als einzige Option für die Klinik.

Zum therapeutischen Repertoire gehören nicht nur die hier geprüften Substanzen zur Hemmung allfälliger Mediatormechanismen, sondern auch die Maßnahmen des vor-klinischen und frühklinischen Managements zur Aufrechterhaltung bzw. prompten Wiederherstellung der normalen Herz-, Kreislauf- und Lungenfunktion sowie eines normalen (i. e. niedrigen) intrakraniellen Drucks.

Die synthetischen Glucocorticosteroide Triamcinolon und Dexamethason hemmen unter anderem Phospholipase, BW 755C blockiert die Metabolisierung von Arachidonsäure, C1-Inaktivator hemmt nicht nur das Kallikrein-Kinin- sondern auch das Komplementsystem als wirkungsvollen Entzündungsfaktor.

In den vorliegenden Experimenten wurde untersucht, ob diese Substanzen die Schwellung des Gehirns nach einem Kältetrauma der Hirnrinde therapeutisch beeinflussen.

Der primäre Hirnschaden wird in diesen Versuchen durch die Kälteläsion (Nekrose) repräsentiert. Hierzu wurde bei narkotisierten Kaninchen die Schädeldecke osteoklastisch (Durchmesser 10 mm) trepaniert. Über das Bohrloch wurde ein auf  $-65\text{ °C}$  gekühlter Stempel (Durchmesser 6 mm) für 15 Sekunden auf die Oberfläche der exponierten Hirnrinde aufgesetzt. Anschließend erfolgte die intravenöse Behandlung der Tiere mit den oben genannten Medikamenten. 24 bzw. 48 Stunden nach der Kälteläsion wurde den erneut narkotisierten Tieren das Gehirn nach Entbluten entnommen und beide Hirnhemisphären symmetrisch getrennt. Anschließend wurde die Schwellung der traumatisierten Hemisphäre quantitativ bestimmt und der Wasser- und Elektrolytgehalt (Natrium, Kalium) der traumatisierten und nicht traumatisierten Hemisphäre gemessen.

Mit Dexamethason und Triamcinolon wurde eine geringe, jedoch signifikante Abschwächung der traumatischen Hirnschwellung sowohl nach 24-stündiger, als auch 48-stündiger Überlebenszeit der Tiere beobachtet.

Die zusätzliche Vorbehandlung erzielte gegenüber der alleinigen Nachbehandlung keine Verbesserung. Immerhin zeigte sich eine geringere, nicht signifikante Reduktion der Schwellung bei Vorbehandlung mit Dexamethason und Triamcinolon.

Von Interesse ist, dass der zerebrale Wassergehalt durch die Glucocorticoide nicht nur in der traumatisierten sondern auch in der nicht traumatisierten Hirnhemisphäre vermindert wurde. Offenbar handelt es sich hier um einen unspezifischen Steroideffekt. Hierfür spricht, dass Dexamethason auch bei Kontrolltieren ohne Trauma den Wassergehalt des Hirngewebes signifikant reduziert.

Unter Dexamethason und Triamcinolon wurde der Wassergehalt der kontralateralen Hemisphäre der traumatisierten Versuchstiere deutlich unter den Wert der unbehandelten Tiere ohne Trauma gesenkt. Dies legt die Vermutung nahe, dass hierdurch – zusammen mit dem Verfahren der Schwellungsberechnung – die Reduktion der durch das Kältetrauma verursachten Schwellung nach Behandlung mit Dexamethason oder Triamcinolon unterschätzt wird.

Die Daten zeigen allerdings auch, dass die Reduktion der Schwellung nicht ausschließlich auf die unspezifische Wirkung der Glucocorticoide zurückgeführt werden kann. Hierzu wären allerdings weitere Studien notwendig.

Die Ergebnisse sprechen dafür, dass die Steroidbehandlung keine direkte therapeutische Wirkung allein über den Wassergehalt auf das vasogene Hirnödem nach Kältetrauma beim Kaninchen hat, der therapeutische Nutzen aber möglicherweise unterschätzt wird.

Ein therapeutischer Nutzen könnte zudem darin bestehen, dass die unspezifische Reduktion des Wassergehalts die intrakranielle Compliance verbessert und somit die Gefahr eines pathologischen Anstiegs des intrakraniellen Drucks nach einem Schädel-Hirn-Trauma verringert.

Die Hemmung der Freisetzung von Eicosanoiden durch den dualen Inhibitor BW 755C ergab keine signifikante Beeinflussung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung - sowohl bei Nach- als auch bei zusätzlicher Vorbehandlung. Die Vorbehandlung hatte immerhin eine signifikante Reduktion des Wassergehalts beider Hirnhemisphären zur Folge. Diese Befunde sprechen gegen eine Rolle der Arachidonsäuremetabolite des Cyclo- und Lipoxigenaseweges als Mediatoren des vasogenen Hirnödems. Es kann jedoch nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob BW 755C die Entstehung von Eicosanoiden tatsächlich gehemmt hat.

Gleichzeitig durchgeführte Konzentrationsmessungen von Prostaglandinen und Leukotrienen hätten diese Frage beantworten können. Die von uns gefundene Reduktion des Wassergehalts von beiden Hemisphären durch BW 755C ist ähnlich der Steroidbehandlung als unspezifische Wirkung zu werten.

Die therapeutische Hemmung des Kallikrein-Kinin-Systems mit C1-Inaktivator reduzierte die posttraumatische Hemisphärenschwellung nur geringfügig, aber auf keinen Fall signifikant. Im Gegenteil, in der exponierten Hirnhemisphäre wurde ein deutlicher Anstieg des Wassergehalts gegenüber der Schwellung unbehandelter Tiere gefunden. Der Wassergehalt der kontralateralen Hirnhemisphäre war hingegen nur geringfügig, nicht signifikant erhöht. Ob dieser Befund mit der inhibitorischen Wirkung von C1-Inaktivator auf das Gerinnungssystem zusammenhängt, muss offen bleiben. Läsionen des Gefäßendothels würden dadurch verzögert repariert werden, wodurch intravasale Flüssigkeit gegebenenfalls leichter in das Hirnparenchym eindringen könnte.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, wie wichtig die Bestimmung des zerebralen Wassergehalts zusammen mit der quantifizierten Hemisphärenschwellung ist. Wenngleich beide Parameter bis zu einem bestimmten Maß assoziiert sind, könnte die Therapie des vasogenen Hirnödems beide Größen unterschiedlich beeinflussen. Die vorliegenden Untersuchungen unterstreichen, dass die Bestimmung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung das empfindlichste Kriterium zur Beurteilung der Wirksamkeit einer Therapie des perifokalen Hirnödems mit Begrenzung auf eine Hemisphäre darstellt. Die Bestimmung des Wassergehalts alleine ist nicht ausreichend, nachdem die von uns geprüften Substanzen den Hirnwassergehalt unspezifisch, also unabhängig vom Vorliegen eines Hirnödems verändern können. Die Bestimmung des Wassergehalts der nicht traumatisierten Hemisphäre ermöglicht immerhin eine Unterscheidung zwischen der unspezifischen und spezifischen Wirkung der Therapie.

Weiterhin muss beachtet werden, dass die Berechnung der posttraumatischen Hemisphärenschwellung bei unspezifischer Wirkung des Therapeutikums wie in unserem Fall zu einer Unterschätzung des Therapieeffekts führen kann.

Abschließend muss festgestellt werden, dass die therapeutische Effizienz von prinzipiell hochwirksamen pharmakologischen Verbindungen zur Beeinflussung von Mediatormechanismen beim vasogenen Hirnödem nach fokalem Trauma des Gehirns durch die vorliegenden Experimente nur eingeschränkt bestätigt werden kann.

Hierfür kommen im wesentlichen zwei Erklärungen in Betracht, (I) dass Applikation und Dosierung der Medikamente (Dexamethason, Triamcinolon, BW 755C, C1-Inaktivator) unzureichend waren und/oder (II), dass die damit anvisierten Mediatormechanismen bei der Entstehung des traumatischen Hirnödems keine oder nur eine marginale Rolle spielen.

Gegen den zweiten Punkt kann allerdings einschränkend eine große Zahl überzeugender Befunde der pathophysiologischen Forschung angeführt werden, auch wenn diese keineswegs alle mit dem hier verwendeten Modell der experimentellen Kälteläsion des Gehirns erzielt worden sind.

Im Übrigen werden beim schweren Schädel-Hirn-Trauma in der Klinik synthetische Glucocorticosteroide aufgrund ihrer fehlenden Wirkung auf die Prognose nicht mehr eingesetzt, wenngleich auch hier festgehalten werden kann, dass eine Wirksamkeit bei denjenigen Patienten gleichwohl erwartet werden sollte, bei denen eine fokale Kontusion mit perifokalem Hirnödem das klinische Bild dominiert.

Anders formuliert, die Neuropathologie des schweren Schädel-Hirn-Traumas ist durch das Vorhandensein verschiedener Komponenten mit von Patient zu Patient unterschiedlicher Ausprägung charakterisiert. Davon sind einige „Steroid-refraktär“, wie beispielsweise der diffuse Axonschaden oder die Folgen der massiven Raumforderung durch intrakranielle Blutung, während das perifokale Ödem vermutlich therapeutisch beeinflusst werden kann, wofür zahlreiche, vor allem experimentelle, Beobachtungen sprechen.

Abschließend muss gefordert werden, dass die Methodik der klinischen Prüfungen der Therapie des schweren Schädel-Hirn-Traumas einer dringenden Verbesserung bedarf, bevor weitere aufwendige klinische wie experimentelle Projekte/Untersuchungen in Angriff genommen werden, welche die Wirksamkeit einer neuen therapeutischen Methode unter Beweis stellen sollen.



## F ANHANG

### Literaturverzeichnis

- Abbott NJ, Patabendige AAK, Dolman D, Yusof S, Begley D (2010): Structure and function of the blood-brain barrier. Neurobiology of Disease, 37: 13-25.
- Adams JH, Gennarelli TA, Graham DI, Scott G, Thibault LE (1983): Diffuse axonal injury in non-missile head injury. In Villani R, Papo J, Giovanelli M, Gaini SM, Tomei G (Eds.), Advances in Neurotraumatology, Amsterdam, Oxford, Princeton: Excerpta Medica: 53-57.
- Aggarwal NT, Pfister SL, Gauthier KM, Chawengsub Y, Baker JE, Campbell WB (2009): Chronic hypoxia enhances 15-lipoxygenase-mediated vasorelaxation in rabbit arteries. American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology, 296/3: H678-88.
- Albright AL, Latchaw RE, Robinson AG (1984): Intracranial and systemic effects of hetastarch in experimental cerebral edema. Critical Care Medicine, 12: 496-500.
- Albright AL, Phillips JW (1982): Oncotic therapy of experimental cerebral oedema. Acta Neurochirurgica, 60/3-4: 257-264.
- Alderson P, Roberts I (1997): Corticosteroids in acute traumatic brain injury: systematic review of randomised controlled trials. BMJ (Clinical research ed.), 314/7098: 1855-1859
- Allen IV, Kirk J, Maynard RL, Cooper GK, Scott R, Crockard A (1983): Experimental penetrating head injury: some aspects of light microscopical and ultrastructural abnormalities. Acta Neurochirurgia, (Suppl.), 32:99-104
- Aritake K, Wakai S, Asano T, Takakura K (1983): Peroxidation of arachidonic acid and brain edema. Brain and Nerve, 35/10: 965-973.
- Ashton D, Van Reempts J, Wauquier A (1984): Comparison between histology and forebrain water content at different times after cold lesion. In Go KG, Baethmann A (Eds.), Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema, New York: Plenum Press: 55-66.
- Baethmann A (1978): Pathophysiological and pathochemical aspects of cerebral edema. Neurosurgical Review, 1: 85-100.
- Baethmann A (1985): Steroids and brain function. In James HE, Anas NG, Perkin RM (Eds.), Brain Insults in Infants and Children: Pathophysiology and Management, Orlando, San Diego, New York: Grune & Stratton, Inc.: 3-17.

- Baethmann A (1987): Disorders of cerebral function in shock-detection and interpretation. Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie, 33: 194-213.
- Baethmann A, Grossmann W (1984): Therapie des ischämischen Hirnödems. In Paal G (Ed.), Therapie der Hirndurchblutungsstörungen, Weinheim, Deerfield Beach, Basel: Edition Medizin: 370-427.
- Baethmann A, Oettinger W, Moritake K, Chaussy L, Jesch F (1982): Metabolic effects of corticosteroids in central nervous tissue. In Hartmann A, Brock M (Eds.), Treatment of Cerebral Edema, Berlin, Heidelberg: Springer: 24-30.
- Baethmann A, Van Harreveld A (1972): Physiological and biochemical findings in the central nervous system of adrenalectomized rats and mice. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 195-202.
- Baker RN, Cancilla PA, Pollock PS, Frommes SP (1971): The movement of exogenous protein in cerebral edema. An electron microscope study after freeze-injury. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 30: 668-679.
- Barbosa-Coutinho LM, Hartmann A, Hossmann KA, Rommel T (1985): Effect of dexamethasone on serum protein extravasation in experimental brain infarcts of monkey: An immunohistochemical study. Acta Neuropathologica, 65: 255-260.
- Barone R, Paraux C, Blin PC, Cuq P (1973): Atlas d'anatomie du lapin. Paris, Masson & Cie.
- Bauer C (2005): Effekt von Kortikosteroiden auf die Mortalität bei Erwachsenen mit Schädel-Hirn-Trauma (MRC CRASH Studie). Der Anaesthesist, 54:270-271.
- Bayly PV, Cohen TS, Leister EP, Ajo D, Leuthardt EC, Genin GM (2005): Deformation of the human brain induced by mild acceleration. Journal Neurotrauma, 22/8: 845-856.
- Beks JWF, Doorenbos H, Walstra GJM (1972): Clinical experiences with steroids in neurosurgical patients. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroides and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 233-238.
- Bemana I, Nagao S (1999): Treatment of brain edema with a nonpeptide arginine vasopressin V1 receptor antagonist OPC-21268 in rats. Neurosurgery, 44/1: 148-154.

- Bensa JC, Reboul A, Colomb MG (1983): Biosynthesis in vitro of complement sub-components C1q, C1s and C1 inhibitor by resting and stimulated human monocytes. The Biochemical Journal, 216/2: 385-392.
- Bhakdi S, Trandum-Jensen J (1987): Damage to mammalian cells by proteins that form transmembrane pores. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, 107: 147-223.
- Bhoola KD, Lemon M, Matthews R (1979): Kallikrein in exocrine glands. In Erdös EG (Ed.), Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Experimental Pharmacology, Vol XXV, (Suppl.), Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 489-524.
- Björk J, Goldschmidt T, Smedegård D, Arfors KE (1985): Methylprednisolone acts at the endothelial cell level reducing inflammatory responses. Acta Physiologica Scandinavica, 123: 221-223.
- Blackwell GJ, Flower RJ (1978). 1-phenyl-3-pyrazolidone: an inhibitor of cyclooxygenase and lipoxygenase pathways in lung and platelets. Prostaglandins, 16/3: 417-425.
- Braakman R, Schouten HJA, Blaauw-van-Dishoeck M, Minderhoud JM (1983): Megadose steroids in severe head injury. Results of a prospective double-blind clinical trial. J of Neurosurgery, 58: 326-330.
- Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, Eisenberg HM, Flamm E, Leo-Summers L, Maroon J (1990): A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. The New England Journal of Medicine, 322/20: 1405-1411.
- Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, Fehlings M, Herr DL, Hitchon PW, Marshall LF, Nockels RP, Pascale V, Perot PL, Piepmeyer J, Sonntag VK, Wagner F, Wilberger JE, Winn HR, Young W (1997): Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Randomized Controlled Trial. National Acute Spinal Cord Injury Study. JAMA: Journal of the American Medical Association, 277/20: 1597-1604.
- Bradbury M (1979): The Concept of a Blood-Brain Barrier, Chichester, New York, Brisbane, Toronto: John Wiley & Sons.

- Braugler JM, Hall ED (1983): Lactate and pyruvate metabolism in injured cat spinal cord before and after a single large intravenous dose of methylprednisolone. Journal of Neurosurgery, 59/2: 256-262.
- Braugler JM, Hall ED (1984): Effects of multi-dose methylprednisolone sodium succinate administration on injured cat spinal cord neurofilament degradation and energy metabolism. Journal of Neurosurgery, 61/2: 290-295.
- Braugler JM, Hall ED (1985): Current application of "high-dose" steroid therapy for CNS injury. A pharmacological perspective. Journal of Neurosurgery, 62/6: 806-810.
- Buddecke E (1984): Grundriss der Biochemie. New York: de Gruyter.
- Burdon KL, Queng JT, Thomas OC, Mc Govern JP (1965): Observations on biochemical abnormalities in hereditary angioneurotic edema. Journal of Allergy, 36/6: 546-557.
- Burghuber OC, Strife RJ, Zirrolli J, Henson PM, Henson JE, Mathias MM, Reeves JT, Murphy RC, Voelkel NF (1985): Leukotriene inhibitors attenuate rat lung injury induced by hydrogen peroxide. American Review of Respiratory Disease, 131/5: 778-785.
- Caronna JJ, Chan PH, Fishman RA (1981): Protective effects of corticosteroid on fatty acids-induced cerebral edema. Transactions of American Neurological Association, 105: 1-3.
- Chan PH, Fishman RA, Schmidley JW, Chen SF (1984): Release of polyunsaturated fatty acids from phospholipids and alteration of brain membrane integrity by oxygen-derived free radicals. Journal of Neuroscience Research, 12: 595-605.
- Cherry PD, Furchgott RF, Zawadzki JV, Jothianandan D (1982): Role of endothelial cells in relaxation of isolated arteries by bradykinin. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 79: 2106-2110.
- Clasen RA, Brown DL, Leavitt F, Hass GM (1953): The production by liquid nitrogen of acute closed cerebral lesions. Surgery, Gynecology & Obstetrics, 96: 605-616.
- Clasen RA, Pandolfi S, Clasen JR (1979): Massive doses of steroids in cryogenic cerebral injury and edema. Stroke: Journal of Cerebral Circulation, 10/6: 670-673.

- Clements J, Hooper J, Dong Y, Harvey T (2001): The expanded human Kallikrein (KLK) gene family: genomic organisation, tissue-specific expression and potential functions. Biological Chemistry, 382/1: 5-14.
- Cooper JD, Mc Donald JWD, Ali M, Menkes E, Masterson J, Klement P (1980): Prostaglandin production associated with the pulmonary vascular response to complement activation. Surgery, 88: 215-221.
- Cooper PR, Moody S, Clark WK, Kirkpatrick J, Maravilla K, Gould AL, Drane W (1979): Dexamethasone and severe head injury. A prospective double-blind study. Journal of Neurosurgery, 51: 307-316.
- CRASH-trial collaborators (2005): Final results of MRC CRASH, a randomised placebo controlled trial of intravenous corticosteroid in adults with head injury outcomes at 6 months. Lancet, 365/9475: 1957-1959.
- Crutchley DJ, Ryan JW, Ryan US, Fisher GH (1983): Bradykinin-induced release of Prostacyclin and thromboxanes from bovine pulmonary artery endothelial cells. Biochimica et Biophysica Acta, 751: 99-107.
- Cullmann W, Kövary PM, Müller N, Dick W (1982): Complement, coagulation and fibrinolytic parameters in hereditary angioedema (HAE). Clinical and Experimental Immunology, 49: 618-622.
- Czernicki Z (1979): Treatment of experimental brain oedema following sudden decompression, surgical wound and cold lesion with vasoprotective drugs and the proteinase inhibitor "Trasylol". Acta Neurochirurgica, 50: 311-326.
- Dalmasso AP (1984): Complement in the pathophysiology and diagnosis of human diseases. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 24: 123-183.
- Datson N, Morsink M C, Meijer O C, de Kloet E R (2008): Central corticosteroid actions: Search for gene targets. European Journal of Pharmacology, 583/2-3: 272-289.
- De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F (2005): Stress and the brain: from adaptation to disease. Nature Reviews. Neuroscience, 6/6: 463-475.
- Del Maestro RF (1980): An approach to free radicals in medicine and biology. Acta Physiologica Scandinavica, (Suppl.): 492:153-168.
- Diedler J, Sykora M, Blatow M, Jüttler E, Unterberg A, Hacke W (2009): Decompressive Surgery for Severe Brain Edema. Journal of Intensive Care Medicine, 24/3: 168-178.

- Drutkowski G (2003): Inhibitoren der Eicosanoidbiosynthese: Darstellung neuer Amidrazonderivate und Entwicklung einer Testmethode auf Basis humanen Vollblutes. Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg.
- Ellis EF, Wright KF, Wei EP, Kontos HA (1981): Cyclooxygenase products of arachidonic acid metabolism in cerebral cortex after experimental concussive brain injury. Journal of Neurochemistry, 37: 892-896.
- Engelhard B, Wolburg H (2004): Mini-review: Transendothelial migration of leukocytes: through the front door or around the side of the house? European Journal of Immunology, 34/11: 2955-2963.
- Engelhard K, Müller-Forell W, Werner C (2008): Therapie des schweren Schädel-Hirn-Traumas. Anaesthesist, 57: 1219-1231.
- Erdös EG, Yang HYT (1979): Kininases. In Erdös, EG (Ed.), Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. XXV (Suppl.), Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 289-323.
- Everitt BJ, Bentley JA, Spiegel WD, Porter NA (1979): Inhibition of anaphylactic- and arachidonic acid-induced contractions of guinea pig isolated trachea by a cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitor. Pharmacologist, 21: 153.
- Faden AI, Jacobs T, Patrick DH, Smith MT (1984): Megadose corticosteroid therapie following experimental traumatic spinal injury. Journal of Neurosurgery, 60: 712-717.
- Farias S, Frey Lauren C, Murphy R C, Heidenreich Kim A (2009): Injury-related production of cysteinyl leukotrienes contributes to brain damage following experimental traumatic brain injury. Journal of Neurotrauma, 26/11: 1977-1986.
- Faupel G, Reulen HJ, Müller D, Schürmann K (1976): Double-blind study on the effects of steroid on severe closed head injury. In Pappius HM, Feindel W (Eds.), Dynamics of Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 337-343.
- Félétou M, Bonnardel E, Canet E (1996): Bradykinin and changes in microvascular permeability in the hamster cheek pouch: role of nitric oxide. British Journal of Pharmacology, 118/6: 1371-1376.
- Fenske A, Samii M, Reulen HJ, Hey O (1973): Extracellular space and electrolyte distribution in cortex and white matter of dog brain in cold induced oedema. Acta Neurochirurgica, 28: 81-94.
- Fishman RA (1975): Brain edema. New England Journal of Medicine, 293: 706-711.

- Flower RJ, Blackwell GJ (1979): Anti-inflammatory steroids induce biosynthesis of a Phospholipase A<sub>2</sub>-inhibitor which prevents prostaglandin generation. Nature, 278: 456-459.
- Földi-Böröcsök E, Földi M (1975): Treatment of experimental vasogenic cerebral edema with benzopyrones. Blood Vessels, 12: 98-107.
- Forbes CD, Pinsky J, Ratnoff OD (1970): Inhibition of activated Hageman factor and activated plasma thromboplastin antecedent by purified serum C1 inactivator. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 76: 809-815.
- Forsyth L, Liu-DeRyke X, Parker, D, Rhoney, D (2008): Role of hypertonic saline for the management of intracranial hypertension after stroke and traumatic brain injury. Pharmacotherapy, 28: 469-484.
- Funk C D (2001): Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. Science (New York, N.Y.), 294/5548: 1871-1875.
- Gaab M, Knoblich OE, Fuhrmeister U, Pflughaupt KG, Dietrich K (1979): Comparison of the effects of surgical decompression and resection of local edema in the therapy of experimental brain trauma. Investigation of ICP, EEG and cerebral metabolism in cats. Child's Brain, 5: 484-498.
- Gaab MR, Heissler H, Haubitz I, Korn A, Czeck T (1984): Steroide beim Schädel-Hirn-Trauma: Kontroversen und neue Ergebnisse. In Grumme T (Ed.), Praktische Notfallmedizin 2 – Das Hirnödem, Berlin, New York: Walter de Gruyter: 115-128.
- Gaab MR, Trost HA, Alcantara A, Karimi-Nejad A, Moskopp D, Schultheiss R, Bock WJ, Piek J, Klinge H, Scheil F (1994): "Ultrahigh" dexamethasone in acute brain injury. Results from a prospective randomised double-blind multicenter trial (GUDHIS). German Ultrahigh Dexamethasone Head Injury Study Group. Zentralblatt für Neurochirurgie, 55/3: 135-143.
- Gainer JV, Nugent GR (1976): Effect of increasing the plasma oxygen diffusivity on experimental cryogenic edema. Journal of Neurosurgery, 45: 535-538.
- Gazendam J, Go KG, van Zanten AK (1979): Composition of isolated edema fluid in cold induced brain edema. Journal of Neurosurgery, 51: 70-77.
- Gee MH, Perkowski SZ, Tahamont MV, Flynn JT (1985): Arachidonate Cyclooxygenase metabolites as mediators of complement-initiated lung injury. Federation Proceedings, 44: 46-52.

- Gennarelli TA, Thibault LE (1983): Experimental production of prolonged traumatic coma in the primate. In Villani R, Papo L, Giovanelli M, Gaini SM, Tomei G (Eds.), Advances in Neurotraumatology, Amsterdam, Oxford, Princeton: Excerpta Medica: 31-42.
- Giannotta SL, Weiss MH, Apuzzo MLJ, Martin E (1984): High dose glucocorticoids in the management of severe head injury. Neurosurgery, 15: 497-501.
- Giertz H (1983): Mediatoren der Entzündung und Allergie. In Forth W, Henschler D, Rummel W (Eds.), Pharmakologie und Toxikologie, Mannheim, Wien, Zürich: Bibliographisches Institut: 163-191.
- Gigli I, Mason JW, Colman RW, Austen KF (1970): Interaction of plasma kallikrein with the C1 inhibitor. Journal of Immunology, 104: 574-581.
- Gobiet W, Bock WJ, Liesegang J, Grote W (1976): Treatment of acute cerebral edema with high dose of dexamethasone. In Beks JWF, Bosch DA, Brock M (Eds.), Intracranial Pressure III, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 231-235.
- Görlach C, Hortobágyi T, Hortobágyi S, Benvó Z, Relton J, Whalley ET, Wahl M (2001): Bradykinin B<sub>2</sub>, but not B<sub>1</sub>, receptor antagonism has a neuroprotective effect after brain injury. Journal of Neurotrauma, 18/8: 833-838.
- Graham DI, Adams JH, Doyle D (1978): Ischemic brain damage in fatal non-missile head injuries. Journal of the Neurological Sciences, 39: 213-234.
- Grasso G, Sfacteria A, Meli F, Fodale V, Buemi M, Iacopino DG (2007): Neuroprotection by erythropoietin administration after experimental traumatic brain injury. Brain Research, 1182: 99-105.
- Grote W (1986): Neurochirurgie, Stuttgart, New York: Thieme.
- Grumme T, Baethmann A, Kolodziejczyk D, Krimmer J, Fischer M, von Eisenhart-Rote B, Pelka R, Bennefeld H, Pöllauer E, Kostron H (1995): Treatment of patients with severe head injury by triamcinolone: a prospective, controlled multicenter clinical trial of 396 cases. Research in experimental medicine. Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin einschließlich experimenteller Chirurgie, 195/4: 217-229.
- Gudemann SK, Miller JD, Becker DP (1979): Failure of high-dose steroid therapy to influence intracranial pressure in patients with severe head injury. Journal of Neurosurgery, 51: 301-306.



- Guisado R, Arieff AI, Massry SG (1976): Effects of glycerol administration on experimental brain edema. Neurology, 26: 69-75.
- Gullotta F (1984): Neurotraumatologie: Pathologische Anatomie. In Dietz H, Umbach W, Wüllenweber R (Eds.), Klinische Neurochirurgie, Vol. II, Stuttgart, New York: Thieme: 391-398.
- Hall ED (1983): Direct effects of glucocorticoids on neuromuscular function. Clinical Neuropharmacology, 6: 169-183.
- Hall ED (1985): High-dose glucocorticoid treatment improves neurological recovery in head-injured mice. Journal of Neurosurgery, 62: 882-887.
- Hammond B, Kontos HA, Hess ML (1985): Oxygen radicals in the adult respiratory distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury and in cerebral vascular damage. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 63: 173-187.
- Happel RD, Smith KP, Banik NL, Powers JM, Hogan EL, Balentine JD (1981): Ca<sup>2+</sup> accumulation in experimental spinal cord trauma. Brain Research, 211: 476-479.
- Harbaugh RD, James HE, Marshall LF, Shapiro HM, Laurin R (1979): Acute therapeutic modalities for experimental vasogenic edema. Neurosurgery, 5: 656-665.
- Harpel PC, Hugli TE, Cooper NR (1975): Studies on human plasma C1 inactivator-enzyme interactions. Journal of Clinical Investigation, 55: 605-611.
- Harris RJ, Lindquist C, Kamiya K, Kuyama H, Branston NM, Symon L (1983): The role of leucotrienes in the formation of cerebral ischaemic oedema. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism (Suppl. 1), 3: 285-286.
- Hass G, Taylor CM (1953): Quantitative studies of experimental production and treatment of closed cerebral injury. Archives of Neurology and Psychiatry, 69: 145-170.
- Hayden B, Soderberg R, Zarem H, Chaudhuri G (1987): Salvage of ischemic rabbit ear by BW-755 C and steroids, but not by indomethacin. Prostaglandins, 33: 63-73.
- Heda GD, Mardente S, Weiner L, Schmaier AH (1990): Interferon gamma increases in vitro and in vivo expression of C1 inhibitor. Blood, 75/12: 2401-2407.
- Hellewell SC, Yan EB, Agyapomaa DA, Bye N, Morganti-Kossmann MC (2010): Post-traumatic hypoxia exacerbates brain tissue damage: analysis of axonal injury and glial responses. Journal of Neurotrauma, 27/11, 1997-2010.

- Hentges F, Humbel R, Dicato M, Hemmer R, Kuntziger H (1986): Acquired C1 esterase-inhibitor deficiency: case report with emphasis on complement and kallikrein activation during two patterns of clinical manifestations. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 78: 860-867.
- Higgs GA, Bax CM, Moncada S (1982): The inflammatory properties of lipoxygenase products and the effects of indomethacin and BW 755C on prostaglandin production, leukocyte migration and plasma exudation in rabbit skin. In Samuelsson P, Paoletti R (Eds.), Leukotrienes and other Lipoxygenase Products, New York: Raven Press: 331-339.
- Higgs GA, Flower RJ, Vane JR (1979): A new approach to anti-inflammatory drugs. Biochemical Pharmacology, 28: 1959-1961.
- Higgs GA, Kenneth G, Murgidge G, Moncada S, Vane JR (1984): Inhibition of tissue damage by the arachidonate lipoxygenase inhibitor BW 755 C. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 81: 2890-2892.
- Higgs GA, Murgidge KG, Moncada S (1985): Arachidonic acid metabolism and calcium flux. In Godfraind T, Vanhoutte PM, Goroni S, Paoletti R (Eds.), Calcium Entry Blockers And Tissue Protection, New York: Raven Press: 51-58.
- Higgs GA, Vane JR (1983): Inhibition of cyclooxygenase and lipoxygenase. British Medical Bulletin, 39: 265-270.
- Hirata F, Notsu Y, Iwata M, Parente L, Dirosa M, Flower RJ (1982): Identification of several species of phospholipase inhibitory protein (S) by radioimmunoassay for lipomodulin. Biochemical and Biophysical Research Communications, 109: 223-230.
- Hirata F, Schiffmans E, Venkatasubramanian K, Salomon D, Axelrod J (1980): A Phospholipase A inhibitory protein in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 77: 2533-2536.
- Hossain MA, Russel JC, Miknyoczki S, Ruggeri B, Lal B, Lattera J (2004): Vascular endothelial growth factor mediates vasogenic edema in acute lead encephalopathy. Annals of Neurology, 50/5: 660-667.
- Hutchinson PJ, Corteen E, Czosnyka M, Mendelow AD, Menon DK, Mitchell P, Murray G, Pickard JD, Rickels E, Sahuguillo J, Servadej F, Teasdale GM, Timofeey I, Unterberg A, Kirkpatrick PJ (2006): Decompressive craniectomy in traumatic brain injury: the randomized multicenter RESCUEicp study, Acta Neurochirurgica (Suppl.): 96: 17-20.

- James HE, Tsuruda J, Rerner R, Tung H, Marshall LF (1984): The effect of acute DMSO therapy in brain edema and modification of this by indomethacin. In: Go KG, Baethmann A (eds): Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema, Plenum Press, New York: 655-663.
- James HE (2006): The effect of intravenous fluid replacement on the response to mannitol in experimental cerebral edema: an analysis of intracranial pressure, serum osmolality, serum electrolytes, and brain water content. Acta Neurochirurgica (Suppl.): 96: 125-129.
- Jancar S, Schulz R, Krueger C, Cook DA (1987): Mechanisms of arachidonic acid-induced contractions of canine cerebral arteries. European Journal of Pharmacology, 136: 345-352.
- Jinnouchi Y, Yamagishi S, Matsui T, Takenaka K, Yoshida Y, Nakamura K, Ueda S, Imaizumi T (2007): Administration of pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits cold injury-induced brain edema in mice. Brain Research, 1167:92-100.
- Johnson AR (1979): Effects of kinins on organ systems. In Erdös EG (Ed.), Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Experimental Pharmacology, Vol XXV, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 357-399.
- Jolly SR, Lucchesi BR (1983): Effect of BW-755C in an occlusion reperfusion model of ischemic myocardial injury. American Heart Journal, 106: 8-13.
- Kaplan AP (1983): Hageman factor dependent pathways: mechanism of initiation and bradykinin formation. Federation Proceedings, 42: 3123-3127.
- Karst H, Berger S, Turiault M, Tronche F, Schütz, G, Joëls M (2005): Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of the USA, 102/52: 19204-19207.
- Kato N, Halprin KM, Matsuo S, Taylor JR (1985): Dexamethasone directly inhibits snake venom phospholipase A. Biochemical and Biophysical Research Communications, 130: 761-767.
- Katz AM, Messineo FC (1981): Lipid-membrane interactions and the pathogenesis of ischemic damage in the myocardium. Circulation Research, 48: 1-16.
- Katzman R, Clasen R, Klatzo I, Meyer JS, Pappius HM, Waltz AG (1977): Brain edema in stroke. Report of Joint committee for Stroke Resources. Stroke: Journal of Cerebral Circulation, 8: 509-540.

- Kellie G (1824): An account of the appearances observed in the dissection of two of the three individuals presumed to have perished in the storm of the 3rd, and whose bodies were discovered in the vicinity of Leith on the morning of the 4th November 1821 with some reflections on the pathology of the brain. The Transactions of the Medico-Chirurgical Society of Edinburgh, 84-169.
- Kempfski O (1982): Die Lokalisation des Glutamat-induzierten Hirnödems, Inaugural-dissertation, München.
- Kempfski O (1986): Cell swelling mechanism in brain. In Baethmann A, Go KG, Unterberg A (Eds.), Mechanisms of Secondary Brain Damage, New York: Plenum Press: 203-220.
- Klatzo I (1967): Presidential address: Neuropathological aspects of brain edema. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 26: 1-14.
- Klatzo I (1972): Pathophysiological aspects of brain edema. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 1-8.
- Klatzo I (1985): Brain oedema following brain ischaemia and the influence of therapy. British Journal of Anaesthesia, 57: 18-22.
- Klatzo I, Wiesniewski HM, Smith DE (1965): Observations on penetration of serum-protein into the central nervous system. In De Robertis EPD, Carrea R (Eds.), Biology of Neuroglia. Progress in Brain Research, 15: 73-88.
- Kobrine AI, Kempe LG (1973): Studies in head injury. II. Effect of dexamethasone on traumatic brain swelling. Surgical Neurology, 1/1: 38-42.
- Koide T, Noda Y, Hata S, Sugioka K, Kobayashi S, Nakano M (1981): Contraction of the canine basilar artery following linolic, arachidonic, 13-hydroxyperoxylinolic or 15-hydro-peroxyarachidonic acid. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N. Y.), 168: 399-402.
- Kontos HA, Wei EP, Povlishock JT, Christman CW (1984): Oxygen radicals mediate the cerebral arteriolar dilatation from arachidonate and bradykinin in cats. Circulation Research, 55: 295-303.
- Kurosawa Y, Kato K, Saito S, Kubo M, Uzuka T, Fujii Y, Takahashi H (2009): Basic study of brain injury mechanism caused by cavitation. Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2009: 7224-7227.

- Langfitt TW, Weinstein JD, Kassell NF, Simeone FA (1964): Transmission of increased intracranial pressure. I. Within the craniospinal axis. Journal of Neurosurgery, 21:989-987.
- Levy LR, Lepow IH (1959): Assay and properties of serum inhibitor of C1 esterase. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N. Y.), 101: 608-611.
- Lewin MG, Pappius HM, Hansebout RP (1972): Effects of steroids on edema associated with injury of the spinal cord. In: Reulen HJ, Schürmann K (eds): Steroids and Brain Edema, Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 101-112.
- Li LM; Timofeew I; Czosnyka M, Hutchinson PJA (2010): Review article: the surgical approach to the management of increased intracranial pressure after traumatic brain injury. Anaesthesia and Analgesia, 111/3: 736-748.
- Liu X, Tu M, Kelly RS, Chen, Cuiping, Smith BJ (2004): Development of a computational approach to predict blood-brain barrier permeability. Drug Metabolism and Disposition: the Biological Fate of Chemicals, 32/1: 132-139.
- Long DM, Maxwell RE, Choi KS, Cole HO, French LA (1972): Multiple therapeutic approaches in the treatment of brain edema induced by a standard cold lesion. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 87-94.
- Lumenta DB (2005): Die Rolle des Kallikrein-Kinin-Systems bei der fokalen zerebralen Ischämie. Dissertation LMU München.
- Lumenta DB, Plesnila N, Kläsner B, Baethmann A, Pruneau D, Schmid-Elsaesser R, Zausinger S (2006): Neuroprotective effects of a postischemic treatment with a bradykinin B<sub>2</sub> receptor antagonist in a rat model of temporary focal cerebral ischemia. Brain Research, 1069/1: 227-234.
- Maas AIR, DeLange SA (1976): Effect of moderate arterial hypotension combined with repeated withdrawal of cerebrospinal fluid on the development of increased ventricular fluid pressure after cold injuries in cats. Clinical Neurology and Neurosurgery, 79: 91-106.
- Mac Donald C, Dikranian K, Bayly Ph, Holtzmann D, Brody D (2007): Diffusion Tensor Imaging Reliably Detects Experimental Traumatic Axonal Injury and Indicates Approximate Time of Injury. Journal of Neuroscience, 27(44):11869-11876.
- Maier-Hauff K (1984): Mediatoren beim traumatischen zerebralen Insult, Habilitationsschrift, München.

- Maier-Hauff K, Baethmann A, Lange M, Schürer L, Unterberg A (1984a): The kalikrein-kinin system as mediator in vasogenic brain edema. Part 2: Studies on kinin formation in focal and perifocal brain tissue. Journal of Neurosurgery, 61: 97-106.
- Maier-Hauff K, Baethmann A, Vogt W, Jacob K, Marguth F (1984b): Mediator compounds in CSF of neurosurgical patients with raised intracranial pressure. In Piotrowski W, Brock M, Klinger M (Eds.), CNS Metastases. Neurosurgery in Aged. Advances in Neurosurgery, Vol. 12, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 302-306.
- Maier-Hauff K, Lange M, Schürer L, Guggenbichler C, Vogt W, Jacob K, Baethmann A (1984c): Glutamate and free fatty acid concentrations in extracellular vasogenic edema fluid. In Go KG, Baethmann A (Eds.), Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema, New York: Plenum Press: 183-192.
- Marmarou A (1973): A theoretical and experimental evaluation of the cerebrospinal fluid system. M. Phil. Thesis, Drexel University.
- Maxwell RE, Long DM, French LA (1971): The effects of glucosteroids on experimental cold-induced brain edema. Gross morphological alterations and vascular permeability changes. Journal of Neurosurgery, 34: 477-487.
- Maxwell RE, Long DM, French LA (1972): The clinical effects of a synthetic glucocorticoid used for brain edema in the practice of neurosurgery. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 219-232.
- Means ED, Anderson DK, Waters TR, Kalaf L (1981): Effect of methylprednisolone in compression trauma to the feline spinal cord. Journal of Neurosurgery, 55: 200-208.
- Meinig G, Deisenroth K, Behl M, Khalifa A (1986): Dosis-Wirkungs-Beziehung von Dexamethason beim Kälteläsion-induzierten Hirnödem der Ratte. In, Jahrbuch der Neurochirurgie 1986. Aus Wissenschaft und Klinik, Münster: Regensburg & Biermann: 177-191.
- Meinig G, Reulen HJ, Simon RS, Schürmann K (1980): Clinical, chemical and CT-evaluation of short-term and long-term antiedema therapie with dexamethasone and diuretics. In Cervos-Navarro J, Ferszt J (Eds.), Brain Edema. Advances in Neurology, Vol. 28, New York: Raven Press: 471-490.
- Mendelow AD, Teasdale GM (1983): Pathophysiology of head injuries. British Journal of Surgery, 70: 641-650.

- Miller JD (1973): The effects of hyperbaric oxygen at 2 and 3 atmospheres absolute and intravenous mannitol on experimentally increased intracranial pressure. European Neurology, 10: 1-11.
- Millikan CH, Mc Dowell FH (1981): Treatment of progressing stroke. Stroke: Journal of Cerebral Circulation, 12: 397-409.
- Millson C, James HE, Shapiro HM, Laurin R (1981): Intracranial hypertension and brain oedema in albino rats. Part 2: Effects of acute therapy with diuretics. Acta Neurochirurgica, 56: 167-181.
- Millson C, James HE, Shapiro HM, Laurin R (1982): Intracranial hypertension and brain oedema in albino rabbits. Part 3: Effect of acute simultaneous diuretic and barbiturate therapy. Acta Neurochirurgica, 61: 271-280.
- Mittal CK, Mehta CS (1995): Regulation of nitric oxide synthase: role of oxygen radicals and cations in nitric oxide formation. Advances in Pharmacology (San Diego, California), 34: 235-250.
- Mokri B (2001): The Monro-Kellie hypothesis: applications in CSF volume depletion. Neurology, 66/12: 1746-1748.
- Monroe A (1823): Observations on the structure and function of the nervous system. Creech & Johnson, Edinburgh, 5.
- Moskopp D (2004): Kein Nutzen für ZNS-Verletzte durch Corticoidbehandlung. Deutsches Ärzteblatt, 101/47: A3181-3184.
- Movat HZ (1979): The plasma kallikrein-kinin-system and its interrelationship with other components of blood. In Erdös EG (Ed.), Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. XXV (Suppl.), Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 1-89.
- Mullane KM, Moncada S (1982): The salvage of ischaemic myocardium by BW 755C in anaesthized dogs. Prostaglandins, 24: 255-266.
- Nasjletti A, Malik KU (1979): Relationship between the kallikrein-kinin and prostaglandin systems. Life Sciences, 25: 99-110.
- Nijcamp FP, Ramakers AGM (1980): Prevention of anaphylactic bronchoconstriction by a lipoxygenase inhibitor. European Journal of Pharmacology, 62: 121-122.

- Niklas A, Brock D, Schober R, Schulz A, Schneider D (2004): Continuous measurements of cerebral tissue oxygen pressure during hyperbaric oxygenation-HBO effects on brain edema and necrosis after severe brain trauma in rabbits. Journal of the Neurological Sciences, 219/1-2: 77-82.
- Oda MAS, Huttenlocher PR (1974): The effect of corticosteroids on dendritic development in the rat brain. Yale Journal of Biological Medicine, 3: 155-156.
- Ortega BD, Demopoulos HB, Ransohoff J (1972): Effects of antioxidants on experimental cold-induced cerebral edema. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 167-175.
- Palleske H, Herrmann H-D, Kremer G (1970): Verlaufsuntersuchungen über Veränderungen des Elektrolyt- und Wassergehalts des Gehirns im experimentellen Hirnödem und deren therapeutische Beeinflussbarkeit durch Dexamethason. Zentralblatt für Neurochirurgie, 31: 31-38.
- Pappius HM (1972): Effects of steroids on cold injury edema. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 57-63.
- Pappius HM (1974): Fundamental aspects of brain edema. In Vinken PJ, Bruyn GW (Eds.), Handbook of Clinical Neurology, Vol 16, Part 1: Tumors of the Brain and Skull, Amsterdam: North Holland Publ., New York: Elsevier: 167-185.
- Pappius HM, McCann WP (1969): Effects of steroids on cerebral edema in cats. Archives of Neurology, 20: 207-216.
- Pappius HM, Wolfe LS (1983): Effects of indomethacin and ibuprofen on cerebral metabolism and blood flow in traumatized brain. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 3: 448-459.
- Pappius HM, Wolfe LS (1984): Effect of drugs on local cerebral glucose utilization in traumatized brain. In Go KG, Baethmann A (Eds.), Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema, New York: Plenum Press: 11-26.
- Patten BM, Mendell J, Bruun B, Curtin W, Carter S (1972): Double blind study of the effects of dexamethasone on acute stroke. In Reulen J, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Heidelberg, Berlin, New York: Springer: 259-266.
- Patterson R, Pruzansky JL, Harris KE (1981): An agent which releases basophil and mast cell histamine but blocks cyclooxygenase and lipoxygenase metabolism of arachidonic acid inhibits IgE mediated asthma in rhesus monkeys. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 61: 444-449.



- Paul J, Kinsella JE (1983): Effects of Bradykinin and bovine serum albumin on arachidonic acid and prostaglandin release from perfused rat heart. Prostaglandins Leukotrienes Medicine, 11: 419-430.
- Pensky J, Levy LR, Lepow IH (1961): Partial purification of a serum inhibitor of C1-esterase. Journal of Biology and Chemistry, 236: 1674-1679.
- Perez-Polo JR, Hall K, Livingston Kea (1977): Steroid induction of nerve growth factor synthesis in cell culture. Life Sciences, 21: 1535-1544.
- Peters G (1969): In Kessel FK, Guttman L, Maurer G (Eds.), Neurotraumatologie, Bd. 1. München: Urban & Schwarzenberg.
- Pickard JD (1981): Role of prostaglandins and arachidonic acid derivatives in the coupling of cerebral blood flow to cerebral metabolism. Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism, 1: 361-384.
- Piper PJ (1984): Formations and actions of leukotrienes. Physiology Review, 64: 744-761.
- Pitts LH, Kaktis JV (1980): Effect of megadose steroids on ICP in traumatic coma. In Shulman K, Marmarou A, Miller JD, Becker DP, Hochwald GM, Brock M (Eds.), Intracranial Pressure IV, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 638-642.
- Pollay M (1975): Formation of cerebrospinal fluid. Journal of Neurosurgery, 42: 665-673.
- Poungvarin N (2004): Steroids have no role in stroke therapy. Stroke: Journal of Cerebral Circulation, 35/1: 229-230.
- Pratt WB, Galigniana MD, Morishima Y, Murphy PJM (2004): Role of molecular chaperones in steroid receptor action. Essays in Biochemistry, 40: 41-58.
- Prieto R, Guitiérrez-González R, Pascual JM, Roda JM, Cerdán S, Matias-Guiu J, Barcia JA (2009): Modelos experimentales de traumatismo craneoencefálico. Neurocirugía, 20:225-244.
- Prograis LJ, Brickman CM, Frank MM (1986): Protease inhibitors of human plasma. C1-inhibitor (C1-INH). Journal of Medicine, 16: 303-358.
- Rabbani F, Myers A, Ramey E, Ramwell P, Penhos J (1981): Acute and protection against arachidonate toxicity by hydrocortisone and dexamethasone in mice. Prostaglandins, 21: 699-701.

- Rabinstein AA (2006): Treatment of cerebral edema. The Neurologist, 12/2: 59-73.
- Raimondi AJ, Clasen RA, Beattie EJ, Taylor CB (1959): The effect of hypothermia and steroid therapy on experimental cerebral injury. Surgery, Gynecology & Obstetrics, 108/3: 333-338.
- Rampart M, Bult H, Herman G (1983): Activated complement and anaphylatoxins increase the in vitro production of prostacyclin by rabbit aorta endothelium. Archives of Pharmacology, 322: 158-165.
- Randall RW, Eakins KE, Higgs GA, Salmon JA, Tateson JE (1980): Inhibition of arachidonic acid cyclooxygenase and lipoxygenase activities of leucocytes by indomethacin and compound BW 755C. Agents and Actions, 10: 553-555.
- Raslan F, Schwarz T, Meuth SG, Austinat M, Bader M, Renné T, Roosen K, Stoll G, Sirén A, Kleinschnitz C (2010): Inhibition of Bradykinin receptor B<sub>1</sub> protects mice from focal brain injury by reducing blood-brain barrier leakage and inflammation. Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism, 30/8: 1477-1486.
- Rasmussen S, Nielsen F, Ibsen H, Damkjaer Nielsen M, Letz A, Giese J (1982): Blood Bradykinin concentration remains unchanged during captopril treatment. Agents and Actions. (Suppl.), 9: 592-597.
- Raymond JJ, Robertson DM, Dinsdale HB (1986): Pharmacological modification of bradykinin induced breakdown of the blood-brain barrier. The Canadian Journal of Neurological Sciences, 13/3: 214-220.
- Regoli D (1984): Neurohumoral regulation of precapillary vessels: the kallikrein-kinin-system. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 2: 401-412.
- Regoli D, Barabe J (1980): Pharmacology of bradykinin and related kinins. Pharmacology Review, 32: 1-46.
- Regoli DC, Marceau F, Lavigne J (1981): Induction of beta 1-receptors for kinins in the rabbit by a bacterial lipopolysaccharide. European Journal of Pharmacology, 71/1: 105-115.
- Reichhart M (1905): Zur Entstehung des Hirndrucks. Deutsches Zentralblatt für Nervenheilkunde, 28: 306.
- Reid KBM, Porter RR (1981): The proteolytic activation systems of complement. Annual Review of Biochemistry, 50: 433-464.
- Reulen HJ (1976): Vasogenic brain edema: new aspects in its formation, resolution and therapy. British Journal of Anaesthesia, 48: 741-751.

- Reulen HJ, Graham R, Spatz M, Klatzo I (1977): Role of pressure gradients and bulk flow in dynamics of vasogenic brain edema. Journal of Neurosurgery, 46: 24-35.
- Reulen HJ, Hadjidimos A, Hase U (1973): Steroids in the treatment of brain edema. Advances in Neurosurgery, 1: 92-105.
- Reulen HJ, Hadjidimos A, Schürmann K (1972): The effect of dexamethasone on water and electrolyte content and on rCBF in perifocal brain edema in man. In Reulen HJ, Schürmann K (Eds.), Steroids and Brain Edema, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 239-252.
- Reulen HJ, Tsuyumu M, Tack A, Fenske AR, Prioleau GP (1978): Clearance of edema fluid into cerebrospinal fluid. Journal of Neurosurgery, 48: 754-764.
- Revak SC, Cochran CG (1976): The relationship of structure and function in human Hageman factor. The association of enzymatic binding activities with separate regions of the molecule. Journal of Clinical Investigation, 57/4: 852-860.
- Rickels E, von Wild KRH, Wenzlaff P (2011): Versorgung Schädel-Hirn-Verletzter in Deutschland. Der Unfallchirurg, 114/5: 417-423.
- Roberts I, Yates D, Sandercock P, Farrell B, Wasserberg J, Lomas G, Cottingham R, Svoboda P, Brayley N, Mazairac G, Laloë V, Muñoz-Sánchez A, Arango M, Hartzenberg B, Khamis H, Yutthakasemsunt S, Komolafe E, Ollidashi F, Yadav Y, Murillo-Cabezas F, Shakur H, Edwards P (2004): Effect of intravenous corticosteroids on death within 14 days in 10008 adults with clinically significant head injury (MRC CRASH trial): randomised placebo-controlled trial. Lancet, 364/9442: 1321-1328.
- Rosenblum WI (1985): Constricting effect of leukotrienes on cerebral arterioles of mice. Stroke: Journal of Cerebral Circulation, 16: 262-263.
- Rothenfusser W (1982): Die Bedeutung von Glutamat als Hirnödempfaktor, Inauguraldissertation, München.
- Rousseau GG, van Bohemen CG, Lareau S, Degelaen J (1982): Submicromolar free calcium modulates dexamethasone binding to the glucocorticoid receptor. Biochemistry and Biophysical Research Communications, 106: 16-22.
- Rovit RL, Hagan R (1968): Steroids and cerebral edema: The effects of glucocorticoids on abnormal capillary permeability of following cerebral injury in cats. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 27: 277-299.

- Ruud TE, Aasen AO, Pillgram-Larsen J, Stadaas JO (1986): Effects on peritoneal proteolysis and hemodynamcis of prophylactic infusion with C1 inhibitor in experimental acute pancreatitis. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 21/8: 1018-1024.
- Sarrieau A, Vial M, Philibert D, Moguilewsky M, Dussailant M, Mc Ewen B, Rostene W (1984): In vitro binding of tritiated glucocorticoids directly on unfixed rat brain sections. Journal of Steroids and Biochemistry, 20: 1233-1238.
- Sato O, Hara M, Asai T, Tsugane R, Kageyama N (1973): The effect of dexamethasone phosphate on the production rate of cerebrospinal fluid in the spinal subarachnoid space of dogs. Journal of Neurosurgery, 39: 480-484.
- Saul TG, Ducker TB, Saleman M, Carro E (1981): Steroids in severe head injury. A prospective randomised clinical trial. Journal of Neurosurgery, 54: 596-600.
- Schapira M, Scott CF, Colman RW (1981): Protection of human plasma kallikrein from inactivation by C1 inhibitor and other protease inhibitors. The role of high molecular weight kininogen. Biochemistry, 20: 2738-2743.
- Schapira M, Silver LD, Scott CF (1983): Prekallikrein activation and high-molecular-weight kininogen consumption in hereditary angioedema. New England Journal of Medicine, 308: 1050.
- Schiffman S, Lee P, Feinstein DI, Pecci R (1977): Relationship of contact activation cofactor (CAC) procoagulant activity to kininogen. Blood, 49: 935-945.
- Schilling L (1983): Wirkung von Di-Natrium-Dexamethason-Phosphat und Di-Kalium-Triamcinolon-Acetonid-Phosphat auf das Hirnödem nach Kälteläsion, Mainz: Inauguraldissertation.
- Schilling L, Wahl M (1999): Mediators of cerebral edema. Advances in Experimental Medicine and Biology, 474: 123-141.
- Schmaier AH (1997): Gene expression, regulation and cell surface presentation of the kininogens. In: The Kinin System, Farmer, S.G., Editor. Academic Press: San Diego, 57-70.
- Schneider G-H (1998): Molekulare Mechanismen der Glutamat-induzierten Gliaszellenschwellung. Dissertation, LMU München.
- Schrör K (1984): Prostaglandine und verwandte Verbindungen. Bildung, Funktion und pharmakologische Beeinflussung, Stuttgart, New York: Thieme.

- Schulz J, Plesnila N, Eriskat J, Stoffel M, Pruneau D, Baethmann A (2000): LF16-0687 a novel non-peptide Bradykinin B<sub>2</sub> receptor antagonist reduces vasogenic brain edema from a focal lesion in rats. Acta Neurochirurgia, (Suppl.) 76: 137-139.
- Scott CF, Schapira M, James HL, Cohen AB, Colman RW (1982): Inactivation of factor XIa by plasma protease inhibitors. Journal of Clinical Investigation, 69: 844-852.
- Shen TY (1979): Prostaglandin Synthetase Inhibitors I. In Vane JR, Ferreira SH (Eds.), Handbook of Experimental Pharmacology 50/II, Berlin, Heidelberg, New York: Springer: 305-347.
- Sheridan PJ (1984): Autoradiographic localization of steroid receptors in the brain. Clinical Neuropharmacology, 7: 281-295.
- Shirazi Y, Imagawa DK, Shin ML (1987): Release of Leukotriene B<sub>4</sub> from sublethally injured oligodendrocytes by terminal complement complexes. Journal of Neurochemistry, 48: 271-278.
- Siesjö BK (1981): Cell damage in the brain: a speculative synthesis. Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism, 1: 155-185.
- Sim RB, Arlaud GJ, Colomb MG (1980): Kinetics of reaction of human C1-inhibitor with the human complement system protease C1r and C1s. Biochimica et Biophysica Acta, 612: 433-449.
- Sinha S, Bastin ME, Wardlaw JM, Armitage PA, Whittle IR (2004): Effects of dexamethasone on peritumoural oedematous brain: a DT-MRI study. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 75/11: 1632-1635.
- Staub F, Winkler A, Haberstock J, Plesnila N, Peters J, Chang RC, Kempfski O, Baethmann A (1996): Swelling, intracellular acidosis, and damage of glial cells. Acta Neurochirurgica, 66: 56-62.
- Staub F, Winkler A, Peters J, Goerke U, Kempfski O, Baethmann A (1995): Clearance and metabolism of arachidonic acid by C6 glioma cells and astrocytes. Neurochemical Research, 20/12: 1449-1456.
- Stjernschantz J (1984): The leukotrienes. Medical Biology, 62: 215-230.
- Stolke D, Weidner A, Dietz H (1979): The protective effects of steroid treatment on lysosomal enzymes after cold lesion of the cat brain. Neurochirurgia, 22: 220-224.

- Sugiura K, Kanazawa C, Muraoka K, Yoshino Y (1980): Effect of steroid therapy on cerebral cold injury edema in the rat. The optimal dosage. Surgical Neurology, 13: 301-305.
- Sullivan HG, Martinez J, Becker DP, Miller JD, Griffith R, Wist AO (1976): Fluid percussion model of mechanical brain injury in the cat. Journal of Neurosurgery, 45: 520-534.
- Suzuki O, Yagi K (1974): Formation of lipoperoxide in brain edema induced by cold injury. Experientia, 30: 248.
- Svensjö E, Joyner WL (1984): The effects of intermittent and continuous stimulation of microvessels in the cheek pouch of hamsters with histamine and bradykinin of the development of venular leaky sites. Microcirculation, Endothelium and Lymphatics, 1: 381-396.
- Szego CM, Pietras RJ (1981): Membrane recognition and effector sites in steroid hormone action. In Litwack G (Eds.), Biochemical Action of Hormones, Vol. 8, New York: Academic Press: 308-463.
- Tagari P, DuBelay GH, Aitken V, Boullin DJ (1983): Leukotriene D4 and the cerebral vasculature in vivo and in vitro. Prostaglandines, Leukotrienes, and Medicine, 11: 281-297.
- Tengvar C, Olsson Y (1982): Uptake of macromolecules into neurons from a focal vasogenic cerebral edema and subsequent axonal spread to other brain regions. Acta Neuropathologica, 57: 233-235.
- Tornheim PA, Prioleau GR, Mc Laurin RL (1984): Acute responses to experimental blunt head trauma. Topography of cerebral cortical edema. Journal of Neurosurgery, 60: 473-480.
- Tuettenberg J, Czabanka M, Horn P, Woitzik J, Barth M, Thomé C, Vajkoczy P, Schmiedek P, Muench E (2009): Clinical evaluation of the safety and efficacy of lumbar cerebrospinal fluid drainage for the treatment of refractory increased intracranial pressure. Journal of Neurosurgery, 110/6: 1200-1208.
- Uchino M, Haga D, Nomoto J, Mito t, Kuramitsu T (2007): Brainstem involvement in hypertensive encephalopathy: a report of two cases and literature review. European Neurology, 57/4: 223-226.
- Unterberg A (1988): Veränderungen der Blut-Hirnschrankenfunktion und der zerebralen Vasomotorik durch Mediatoren des sekundären Hirnschadens, München: Habilitationsschrift.

- Unterberg A, Dautermann C, Baethmann A, Müller-Esterl W (1986a): The kallikrein-kinin system as mediator in vasogenic brain edema. Part 3: Inhibition of the kallikrein-kinin system in traumatic brain swelling. Journal of Neurosurgery, 64/2: 269-276.
- Unterberg A, Maier-Hauff K, Wahl M, Dautermann C, Schürer L, Hack U, Baethmann A (1986b): Role of mediator compounds in secondary brain damage – current evidence. In Baethmann A, Go KG, Unterberg A (Eds.) Mechanisms of Secondary Brain Damage, New York: Plenum Press: 139-150.
- Unterberg AW, Sarrafzadeh AS (2000): Brain oedema. In: Neurosurgery: The Scientific Basis of Clinical Practise (Crockard A, Hayward R, Hoff JT, eds), Oxford: Blackwell Science: 410-430.
- Unterberg A, Stover J, Kress B (2004): Edema and Brain Trauma. Neuroscience, 129/4: 1021-1029.
- Unterberg A, Wahl M, Baethmann A (1984): Effects of bradykinin on permeability and diameter of pial vessels *invivo*. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 4: 574-585.
- Vargaftig RJ, Dao Hai N (1972): Selective inhibition by mepacrine of the release of “rabbit aorta contracting substance” evoked by the administration of bradykinin. Journal of Pharmacology, 24: 159-161.
- Vela AR, Carey ME, Thompson BM (1979): Further data on the acute effect of intravenous steroids on canine CSF secretion and absorption. Journal of Neurosurgery, 50: 477-482.
- Vorbrodt AW, Lossinsky AS, Wisniewski HM, Suzuki R, Yamaguchi T, Masaoka H, Klatzo I (1985): Ultrastructural observations on the transvascular route of protein removal in vasogenic brain edema. Acta Neuropathologica, 66: 265-273.
- Wagner RC, Casley-Smith JR (1981): Endothelial vesicles. Microvascular Research, 21: 267-298.
- Wahl M, Young AR, Edvinsson L, Wagner F (1983a): Effects of bradykinin on pial arteries and arterioles *in vitro* and *in situ*. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 3: 231-237.
- Wahl M, Young AR, Edvinsson L, Wagner F (1983b): Effects of kininase II inhibitors on the vasomotor response to bradykinin on feline intracranial and extracranial arteries *in vitro* and *in situ*. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 3: 339-345.

- Wahl M, Whalley ET, Unterberg A, Schilling L, Parsons AA, Baethmann A, Young AR (1996): Vasomotor and permeability effects of Bradykinin in the cerebral micro-circulation. Immunopharmacology, 33/1-3: 257-263.
- Wakai A, Roberts I, Schierhout G (2007): Mannitol for acute traumatic brain injury. Cochrane Database of Systematic Reviews (Online), CD001049.
- Weber J (2007): Experimental models of repetitive brain injuries. Progress in Brain Research, 161: 253-261.
- Wei EP, Christman CW, Kontos HA, Povlishock JT (1985): Effects of oxygen radicals on cerebral arterioles. American Journal of Physiology, 248: 157-162.
- Whalley ET, Lye R, Amure YO (1984): Effect of kinins on human cerebral vessels. Proc 9<sup>th</sup> IUPHAR, London: 657.
- Winkler A S, Baethmann A, Peters J, Kempinski O, Staub F (2000): Mechanisms of arachidonic acid induced glial swelling. Brain Research. Molecular Brain Research, 76/2: 419-423.
- Wolfe LS, Pappius HM (1983): Involvement of arachidonic acid metabolites in functional disturbances following brain injury. In Samuelsson B, Paoletti R, Ramwell A (Eds.), Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research, Vol 12, New York: Raven Press: 345-349.
- Wolman M, Klatzo I, Chin E, Wilmes F, Nishimoto K, Fujiwara K, Spatz M (1981): Evaluation of the dye-protein tracers in pathophysiology of the blood-brain barrier. Acta Neuropathologica, 54: 55-61.
- Woodbury DM, Vernadakis A (1966): Effects of steroids on the central nervous system. Methods of Hormone Research, 5: 1-57.
- Xiaoshengi H, Guitao Y, Xiang Z, Zhou F (2010): A morphological study of diffuse axonal injury in a rat model by lateral head rotation trauma. Acta Neurologica Belgica, 110/1: 49-56.
- Young W, Flamm ES (1982): Effect of high-dose corticosteroid therapy on blood flow, evoked potentials and extracellular calcium in experimental spinal injury. Journal of Neurosurgery, 57: 667-673.
- Zhao P, Zhu G, Zhang W, Zhang L, Liang Z, Zhang Y (2009): Study of multiple binding constants of dexamethasone with human serum albumin by capillary electrophoresis-frontal analysis and multivariate regression. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 393/1: 257-261.



Zülch KJ (1953): Hirnschwellung und Hirnödem. Deutsches Zentralblatt für Nervenheilkunde, 170: 179-208.

Zuraw BL, Lotz M (1990): Regulation of the hepatic synthesis of C1 inhibitor by the hepatocyte stimulating factors interleukin 6 and interferon gamma. The Journal of Biological Chemistry, 265/21: 12664-12670.

Zweckberger K (2006): Einfluss der Entlastungskraniektomie und des Kallikrein-Kinin-Systems auf den sekundären Hirnschaden nach experimentellem Schädel-Hirn-Trauma. Dissertation LMU München.

Zweckberger K, Stoffel M, Baethmann A, Plesnila N (2003): Effect of decompression craniotomy on increase of contusion volume and functional outcome after controlled cortical impact in mice. Journal of Neurotrauma, 20/12: 1307-1314.

## Danksagung

Die Untersuchungen wurden am Institut für Chirurgische Forschung (Walter Brendel Zentrum für Experimentelle Medizin) der Ludwig-Maximilians-Universität in München in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. A. Baethmann durchgeführt.

Hiermit möchte ich allen danken, die am Zustandekommen dieser Dissertation beteiligt waren.

Herrn Prof. Dr. h. c. W. Brendel † danke ich für die freundliche Aufnahme in sein Institut. Seine Ermunterungen und sein Arbeitsstil vermittelten mir viel Freude und insbesondere auch hohen Respekt vor der Wissenschaft.

Bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. A. Baethmann möchte ich mich für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und die Bereitstellung des Themas bedanken. Er begleitete tatkräftig die experimentellen Untersuchungen und achtete stets auf deren sorgfältige Planung und Durchführung. Seine Art der kritischen Auseinandersetzung mit Untersuchungsergebnissen und deren Interpretationen ermöglichten erst die Einordnung der Befunde in einen Gesamtzusammenhang. Insbesondere danke ich ihm für das sorgfältige und konstruktive Korrekturlesen der vorgelegten Manuskripte.

Ein weiterer besonderer Dank geht an meinen Betreuer, Herrn Prof. Dr. A. Unterberg (Direktor der Neurochirurgischen Klinik der Universität Heidelberg), der während der Zeit meiner experimentellen Untersuchungen noch als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Chirurgische Forschung tätig war.

Er begleitete mich von der ersten Stunde an und lehrte mich präzises Präparieren und eine genaue Versuchsdurchführung. Er stand mir bei der praktischen Labortätigkeit, während der Datenauswertung und beim Niederschreiben der Studienergebnisse jederzeit mit Rat und Tat zur Seite.

Danken möchte ich auch den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau Ulrike Goerke und Frau Angelika Konrad für ihre tatkräftige Unterstützung bei den Versuchen und den Labortätigkeiten sowie Herrn Dipl. Phys. Dr. biol. hum. Jürgen Peters für die sachkundige Hilfestellung bei der statistischen Auswertung.

Insbesondere freue ich mich, dass ich auf diesem Weg meinen Eltern, denen diese Doktorarbeit gewidmet ist, danken kann. Sie haben mir die Universitätsausbildung ermöglicht und waren mir jederzeit und in jeder Hinsicht zur Seite gestanden.

Zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Ehefrau, die mich bei meiner bisherigen beruflichen Tätigkeit immer unterstützt hat und mich nicht zuletzt fortlaufend ermunterte, diese Doktorarbeit fertig zu stellen.