

INHALT

1 EINLEITUNG	1
1.1. DAS SCHÄDEL-HIRN-TRAUMA (SHT)	1
1.1.1. Definition und Schweregrade	1
1.1.2. Epidemiologie	3
1.1.3. Wirtschaftliche Konsequenzen	5
1.1.4. Schädigungsmechanismen des SHT	6
1.1.4.1. Primärschäden	6
1.1.4.2. Sekundärschäden	6
1.1.5. Klinische Symptomatik nach SHT	8
1.1.6. Therapie	8
1.1.6.1. Stimulation SH-traumatisierter Patienten (MEOS)	8
1.1.7. Erforschung von therapeutischen Ansätzen nach SHT am Tiermodell	9
1.1.8. Experimentelle SHT-Forschung am Tiermodell	10
1.1.8.1. Das statische SHT-Modell	13
1.1.8.1.1. Das Modell der kortikalen Kälteläsion	13
1.1.8.2. Das dynamische SHT-Modell	13
1.1.8.2.1. Das indirekte SHT-Modell	13
1.1.8.2.2. Das direkte SHT-Modell	14
1.1.8.2.2.1. SHT-Modelle ohne Aufprall	14
1.1.8.2.2.1.1. Das Inertial Acceleration Modell	14
1.1.8.2.2.2. SHT-Modelle mit Aufprall ohne Penetration	14
1.1.8.2.2.2.1. Das Controlled Concussion Modell	14
1.1.8.2.2.2.2. Das Weight Drop Modell	15
1.1.8.2.2.3. SHT-Modelle mit Aufprall und Penetration	16
1.1.8.2.2.3.1. Das Controlled Cortical Impact Modell	16
1.1.8.2.2.3.2. Das Fluid Percussion Modell	17
1.1.9. Enriched Environment (EE)	18
1.1.9.1. EE in der Forschung	19
1.1.9.2. Effekte von EE nach SHT	21
1.1.10. Enriched Environment + Multimodale Frühstimulation	22
1.2. ZIELE DER ARBEIT	23
1.2.1. Allgemein	23
1.2.2. Aufgabenstellung der Promotionsarbeit	23
1.2.3. Fragestellungen	24
1.2.4. Hypothesen	25
2 MATERIAL UND METHODEN	26
2.1. VERSUCHSAUFBAU	26
2.1.1. Herkunft und Art der Versuchstiere	27
2.1.2. Versuchsplan	27
2.1.3. Versuchsgruppen	29
2.1.3.1. Haltungsbedingungen der Versuchstiere	30
2.1.3.1.1. Enriched Environment (EE)	30
2.1.3.1.2. Multimodale Frühstimulation (MEOS)	32
2.1.3.1.3. Standard Housing (SH)	33
2.1.3.2. Gewichte der Versuchstiere	34
2.1.3.3. Euthanasie	34
2.2. DAS LATERALE FLUID PERCUSSION MODELL	35

2.2.1.	OP-Vorbereitung	35
2.2.2.	Durchführung der Traumatisierung	36
2.2.2.1.	Anästhesie	36
2.2.2.2.	Vorbereitung des Gehirns	37
2.2.2.3.	Induktion des Schädel-Hirn-Traumas	40
2.2.3.	Postoperative Versorgung	41
2.3.	PERFUSION	43
2.3.1.	Durchführung	43
2.3.2.	Gehirnentnahme	44
2.4.	VERHALTENSTESTS - ÜBERPFÜFUNG DER NEUROFUNKTIONEN	46
2.4.1.	Composite Neuroscore Test	46
2.4.2.	Zylindertest	48
2.4.3.	Rotarodtest	50
2.4.4.	Barnes Circular Maze Test	51
2.5.	WESTERN BLOT	54
2.5.1.	Grundlagen des Western Blots	54
2.5.2.	Prozedur des Western Blots	54
2.5.3.	Proteingewinnung	56
2.5.4.	Vorbereitung der Gehirnhälften	56
2.5.5.	Proteinbestimmung der Gewebelysate	57
2.5.6.	Auftrennung der Proteine mittels Gelelektrophorese	57
2.5.7.	Western Blotting	58
2.5.8.	Inkubation mit Primär- und Sekundärantikörper	59
2.5.9.	Visualisierung der Antikörperreaktion mittels Chemilumineszenz	59
2.5.10.	Positivkontrolle	60
2.5.11.	Verwendete Antikörper	61
2.5.12.	Analyse der Western Blots	62
2.6.	IMMUNHISTOCHEMIE	63
2.6.1.	Immunhistochemische Färbungen	63
2.6.2.	Prinzip der Immunhistochemie	63
2.6.3.	Untersuchtes Gewebe	65
2.6.4.	Gewebevorbereitung	65
2.6.5.	Anfertigung der Gefrierschnitte	66
2.6.6.	Herstellung histologischer Schnittpräparate	66
2.6.6.1.	Antikörper	66
2.6.6.1.1.	Primärantikörper	66
2.6.6.1.2.	Sekundärantikörper	66
2.6.6.2.	Protokoll der Immunhistochemie mit GFAP	67
2.6.6.3.	Fixierung	68
2.6.6.4.	Kontrollen	68
2.6.7.	Quantifizierung des Gehirnvolumens	68
2.7.	STATISTIK	70
2.7.1.	Allgemein	70
2.7.2.	Neurofunktionale Verhaltenstests	70
2.7.3.	Western Blot	71
2.7.4.	Immunhistologie	71
3	ERGEBNISSE	72
3.1.	STUDIENVERLAUF: VERSTORBENE UND AUSGESCHLOSSENE TIERE	72
3.2.	KONSTITUTION DER TIERE NACH SHT	73
3.3.	GEWICHTSANALYSE IM ZEITLICHEN VERLAUF	73
3.4.	NEUROFUNKTION, PROTEINEXPRESSION UND IMMUNHISTOCHEMIE	75

3.4.1. Überprüfung der Neurofunktion mittels neuromotorischer Tests	75
3.4.1.1. Resultate des Composite Neuroscore Tests	75
3.4.1.2. Resultate des Zylindertests	76
3.4.1.3. Resultate des Rotarodtests	82
3.4.1.4. Resultate des Barnes Circular Maze Test	86
3.4.2. Messung der Proteinexpression mittels Western Blot	89
3.4.2.1. NTF 3	90
3.4.2.2. NGFB	91
3.4.2.3. BDNF	92
3.4.2.4. GDNF	93
3.4.2.5. SYNAPTOPHYSIN	94
3.4.2.6. SYNAPSIN	95
3.4.2.7. Differenzierung der Proteinexpression nach der linken und rechten Gehirnhemisphäre in der Übersicht	96
3.4.3. Resultate der Immunhistochemie	99
3.4.3.1. Makroskopisch deskriptive Evaluierung des geschädigten Areals	99
3.4.3.1.1. Unfixierte Präparate	99
3.4.3.1.2. Fixierte Präparate	100
3.4.3.2. Mikroskopisch deskriptive Evaluierung des geschädigten Areals	102
3.4.3.2.1. GFAP-Färbung	102
3.4.3.2.1.1. Vergleich der Gruppen	106
3.4.3.3. Resultate der Quantifizierung des Gehirnvolumens	108
3.5. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	110
3.5.1. Übersicht Verhaltenstests, Western Blots, Immunhistochemie	110
3.5.2. Thesenorientierte Zusammenfassung der Ergebnisse	112
3.5.2.1. Fragestellung Nr. 1: EE versus SH: Wo verbessert die EE-Haltung das neurologische Outcome im Vergleich zur SH-Haltung?	113
3.5.2.2. Fragestellung Nr. 2: EE versus EE+MEOS: Wo hat MEOS einen zusätzlichen Effekt auf die Neurofunktion?	114
4 DISKUSSION	115
4.1. METHODE DES LATERALEN FLUID PERCUSSION MODELLS	117
4.2. STUDIENVERLAUF: VERSTORBENE UND AUSGESCHLOSSENE TIERE	119
4.3. GEWICHTSANALYSE IM ZEITLICHEN VERLAUF	121
4.4. NEUROFUNKTIONALE VERHALTENSTESTS	122
4.4.1. Composite Neuroscore Test	123
4.4.2. Zylindertest	125
4.4.3. Rotarodtest	127
4.4.4. Barnes Circular Maze Test	129
4.5. WESTERN BLOT	132
4.6. IMMUNHISTOCHEMIE	144
4.7. BEDEUTUNG DER BEFUNDE	152
4.8. AUSBLICK	152
5 ZUSAMMENFASSUNG	154
6 SUMMARY	156
7 VERWENDETE ABKÜRZUNGEN	158
8 VERWENDETE LÖSUNGEN & REAGENZIEN	161
8.1. UNFERTIGE LÖSUNG FÜR DIE PERFUSION + FIXIERUNG DES GEWEBES	161
8.2. FERTIGE LÖSUNGEN UND REAGENZIEN FÜR DIE PERFUSION	161
8.3. FERTIGE LÖSUNGEN UND REAGENZIEN FÜR DEN WESTERN BLOT	161

8.4. UNFERTIGE LÖSUNGEN UND PUFFER FÜR DEN WESTERN BLOT	163
8.5. FERTIGE LÖSUNGEN UND REAGENZIEN FÜR DIE IMMUNHISTOLOGIE	166
8.6. UNFERTIGE LÖSUNGEN UND PUFFER FÜR DIE IMMUNHISTOLOGIE	166
9 ERKLÄRUNG	167
10 LITERATURVERZEICHNIS	168
11 TABELLENVERZEICHNIS	200
12 ABBILDUNGSVERZEICHNIS	202
13 DIAGRAMMVERZEICHNIS	206
14 DANKSAGUNG	208