

**NEUROLOGISCHE UND KOGNITIVE
LEISTUNGSFÄHIGKEIT NACH
TIEF HYPOTHERMEM KREISLAUFSTILLSTAND
BEI DER RATTE –
ETABLIERUNG EINES NEUEN MODELLS**

Laura Kathinka Starker

Aus der Klinik für Anaesthesiologie der Technischen Universität München
(Direktor : Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. Phys. E. Kochs)
und aus dem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen
Universität München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher)

angefertigt unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. M. Blobner

Vorgelegt über das
Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene
Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. Erhard)

**NEUROLOGISCHE UND KOGNITIVE
LEISTUNGSFÄHIGKEIT NACH
TIEF HYPOTHERMEM KREISLAUFSTILLSTAND
BEI DER RATTE -
ETABLIERUNG EINES NEUEN MODELLS**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Laura Kathinka Starker
aus
München

München 2005

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

Referent: Univ.-Prof. Dr. M. H. Erhard

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Gerhards

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

Für meine Eltern

Wir sind, was wir denken. Alles,
was wir sind, entsteht aus unseren
Gedanken. Mit unseren Gedanken
formen wir die Welt.
(Buddha)

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	2
2.1	Gedächtnis und Gehirn	2
2.1.1	Das Langzeitgedächtnis	2
2.1.2	Das Arbeitsgedächtnis	5
2.1.3	Neuronale Korrelate verschiedener Gedächtnisformen	7
2.1.4	Interaktion, Lernen und synaptische Plastizität	9
2.2	Kognition und Verhalten	11
2.2.1	Tiermodelle der kognitiven Funktion	12
2.2.1.1	Open-Field (offenes-Feld) -Paradigma	12
2.2.1.2	Das „ideale“ Tiermodell	13
2.2.1.3	Modifizierter Hole-Board-Test	14
2.2.1.4	Sensorisch-motorische Tests der neurologischen Funktion	15
2.3	Extrakorporale Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine	16
2.3.1	Zentralnervöse Defizite nach Extrakorporaler Zirkulation	16
2.3.1.1	Inzidenzen und Auswirkungen	17
2.3.1.2	Ätiologie und Pathophysiologie	19
2.3.1.3	Prävention und Therapie	22
2.4	Tief hypothermer Kreislaufstillstand	23
2.4.1	Inzidenzen zentralnervöser Schäden bei Kindern	23
2.4.2	Ätiologie und Pathophysiologie von Entwicklungsdefiziten	26
2.4.3	Einschränkungen klinischer Studien und Tiermodelle	29
3	Eigene Untersuchungen	31
3.1	Zielvorstellung	31
3.2	Material und Methodik	31
3.2.1	Versuchstiere	31
3.2.2	Versuchsplan	32
3.2.3	Extrakorporale Zirkulation und tief hypothermer Kreislaufstillstand	33
3.2.3.1	Chirurgische Präparation	35
3.2.3.2	Abkühlungsphase mit Extrakorporaler Zirkulation	37
3.2.3.3	Tief Hypothermer Kreislaufstillstand	40
3.2.3.4	Reperfusion und Wiedererwärmung mit EKZ und HLM	40
3.2.3.5	Abgang von Extrakorporaler Zirkulation und Nachbeatmung	42
3.2.3.6	Nachbeobachtungsphase	43
3.2.4	Untersuchung der neurologischen Funktion	43
3.2.4.1	Zeitlicher Verlauf	43
3.2.4.2	Erfassung und Bewertung	44
3.2.5	Modifizierter Hole-Board-Test	53
3.2.5.1	Der Versuchskäfig	53
3.2.5.2	Das modifizierte Hole-Board	54
3.2.5.3	Übersicht sonstiger Hilfsmittel	57
3.2.5.4	Gewöhnung und Habituation	57
3.2.5.5	Versuchsdurchführung	58
3.2.5.6	Qualitäten des modifizierten Hole-Board-Tests	61
3.2.6	Entnahme und Untersuchung des Gehirns	65
3.2.7	Statistische Bewertung der Befunde	66
3.3	Ergebnisse	68
3.3.1	Physiologische Parameter der operativen Phase	68
3.3.2	Überleben	72
3.3.3	Neurologische Parameter	74

3.3.4	Parameter des modifizierten Hole-Board-Tests	81
3.3.4.1	Kognitive Parameter	81
3.3.4.2	Verhaltensparameter	86
3.3.5	Hirngewebeuntersuchung	98
3.3.6	Korrelation der Histologie mit der zentralnervösen Leistung	100
4	Diskussion.....	102
4.1	Diskussion der Methoden	102
4.1.1	Modell des tief hypothermen Kreislaufstillstandes	102
4.1.2	Verhaltenstests.....	104
4.1.2.1	Neurologische Untersuchung	106
4.1.2.2	Modifizierter Hole-Board-Test.....	108
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	112
4.2.1	Intraoperative physiologische Messparameter	112
4.2.2	Überlebensrate	117
4.2.3	Neurologische Funktion	117
4.2.4	Kognitive Leistungsfähigkeit und Verhalten	119
4.2.5	Histologische Untersuchung.....	124
4.2.6	Abschließende Betrachtung und Ausblick	125
5	Zusammenfassung	126
6	Summary	128
7	Literaturverzeichnis	130
8	Tabellenverzeichnis	150
9	Abbildungsverzeichnis	151
10	Abkürzungsverzeichnis.....	153
11	Danksagungen.....	154

1 Einleitung

Herzchirurgische Operationen an Kindern und Erwachsenen, die einen tief hypothermen Kreislaufstillstand erfordern, können trotz beachtlicher Fortschritte auf dem Gebiet der operativen Technik und der Anästhesie, sowie entscheidender technischer Verbesserung der Extrakorporalen Zirkulation (EKZ), noch immer zu zentralnervösen Schädigungen führen. Die Prävention oder Therapie dieser neurologischen und psychomotorischen Entwicklungsstörungen wird dadurch erschwert, dass die zu Grunde liegenden ätiologischen und pathophysiologischen Mechanismen noch immer nicht vollständig verstanden sind. Zwar sollen verschiedene prä- und intraoperative Risikofaktoren diese postoperativen zentralnervösen Schädigungen verursachen (BELLINGER et al., 1995; HOVELS-GURICH et al., 1997; LIMPEROPOULOS et al., 2002), jedoch gelang es mit klinischen Studien bisher nicht, grundlegende Schädigungsmechanismen eindeutig herauszustellen. Deshalb wird ein geeignetes Schädigungsmodell benötigt (HINDMAN und TODD, 1999). Bisher beschränken sich präklinische Untersuchungen von zentralnervösen Schädigungsmechanismen, die mit tief hypothermem Kreislaufstillstand assoziiert sind, auf Großtiermodelle, wie Lämmer (BOKESCH et al., 1996), Hunde (FOLKERTH et al., 1975) oder Schweine (MAULT et al., 1993). Zu Nachteilen dieser Modelle zählen allerdings hohe Kosten, Mangel an etablierten Tests zur Untersuchung von neurologischer und kognitiver Funktion und Probleme beim längerfristigen Überleben der Tiere (wegen physiologischen oder wirtschaftlichen Einschränkungen). Mit der Wahl der Ratte als Versuchstier könnten diese Probleme der Großtiermodelle überwunden werden, weil die Ratte häufig verwendet wird bei zerebralen Ischämie-Modellen und deswegen standardisierte neurologische und kognitive Tests zur Verfügung stehen. Darüber hinaus wurde erst kürzlich ein Langzeitüberlebensmodell mit Extrakorporaler Zirkulation (EKZ) bei der Ratte vorgestellt (MACKENSEN et al., 2001; SWIRCZEK, 2005). Ziel dieser Studie ist, festzustellen, ob ein geeignetes Überlebensmodell zur Untersuchung von zerebralen Schädigungen nach tief hypothermem Kreislaufstillstand bei der Ratte entwickelt werden kann.

2 Schrifttum

2.1 Gedächtnis und Gehirn

In den letzten 30 Jahren versuchte die kognitive Psychologie, die funktionelle Struktur des Gedächtnisses aufzuklären. Weder die genaue Anzahl aller existierenden Gedächtnissysteme noch die Art und Weise, wie Information eigentlich verschlüsselt, gespeichert und abgerufen wird, ist bisher vollständig beantwortet worden. Das Gedächtnis stellt dabei keine Einzelfähigkeit des Gehirns dar, sondern setzt sich vielmehr aus verschiedenen Speichersystemen zusammen, die auf unterschiedlichen Gehirnstrukturen basieren (SQUIRE, 1992).

Gedächtnis lässt sich nach verschiedensten Aspekten differenzieren, sowohl chronologisch als auch inhaltlich oder prozessspezifisch (Einspeichern, Transferieren, Konsolidieren oder Abrufen von Information) (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

Die chronologische Einteilung unterscheidet zwischen Kurz- und Langzeitgedächtnis und zwischen anterogradem, (= „Neu-“), und retrogradem (= „Alt-) Gedächtnis. „Neu-, und „Altgedächtnis“ beziehen sich stets auf einen bestimmten Zeitpunkt, zum Beispiel ob vor einer Hirnschädigung gespeicherte Information noch abgerufen bzw. neue Information erfolgreich abgespeichert werden kann (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

2.1.1 Das Langzeitgedächtnis

Das Langzeitgedächtnis lässt sich inhaltlich in fünf Grundsysteme gliedern (siehe Abbildung 1), episodisches Gedächtnis, Wissenssystem (semantisch), perzeptuelles (operante Konditionierung, nicht assoziatives Lernen), prozedurales und die Priming-Form (Prägung) des Gedächtnisses (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

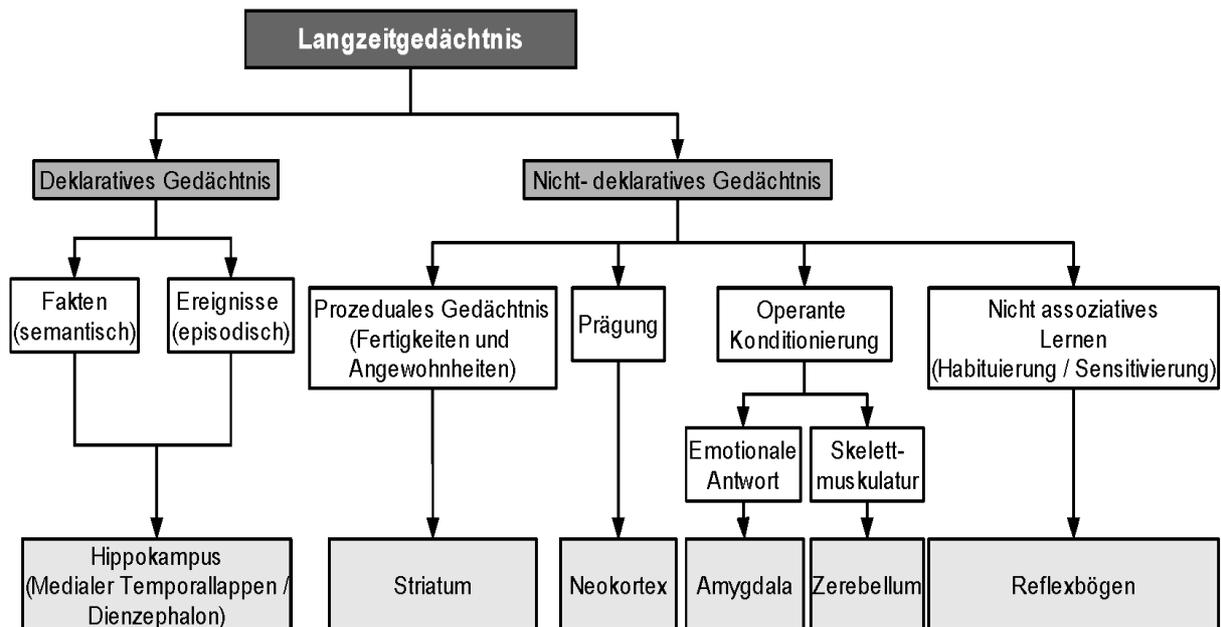


Abbildung 1: Taxonomie des Langzeitgedächtnisses mit neuronalen Korrelaten (modifiziert nach SQUIRE, 1998).

Je nachdem ob eine dieser Gedächtnisleistungen durch bewusstes Erinnern oder aber eher unbewusst durch eine Handlung ausgedrückt wird, unterscheidet man zwischen deklarativem (bewusstem) und nicht-deklarativem (unbewusstem) Gedächtnis. Deklaratives Gedächtnis umfasst Wissen über Fakten (semantisches Gedächtnis) und Ereignisse (episodisches Gedächtnis) und bezieht sich dementsprechend auf die Fähigkeit, sich bewusst dieser Fakten und Ereignisse zu erinnern (siehe Abbildung 1). Eine Störung dieser Funktion stellt die Amnesie dar (SQUIRE, 1998). Im Tiermodell wird deklaratives Gedächtnis häufig beschrieben als Verarbeitung räumlicher, konfiguraler, kontextabhängiger und relationaler Information (BUNSEY und EICHENBAUM, 1996). Ob semantisches und episodisches Gedächtnis als parallele Subsysteme des deklarativen Gedächtnisses zu betrachten sind (SQUIRE und ZOLA, 1996) oder ob das episodische Gedächtnis eine einzigartige Erweiterung des semantischen Gedächtnisses darstellt (TULVING und MARKOWITSCH, 1998) wird kontrovers diskutiert. Letztere Vorstellung veranschaulicht das Seriell-Parallel-Unabhängig (SPI) -Modell (siehe Abbildung 2). Dabei kann Information zwar unabhängig vom episodischen Gedächtnis in das semantische Gedächtnis eingespeichert werden, aber umgekehrt gelangt Information nur über das deklarative in das episodische Gedächtnis. Dies gilt jedoch nur für die Einspeicherung von Information. Beim Abruf der gespeicherten Information agieren die Systeme tatsächlich vollkommen unabhängig voneinander (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

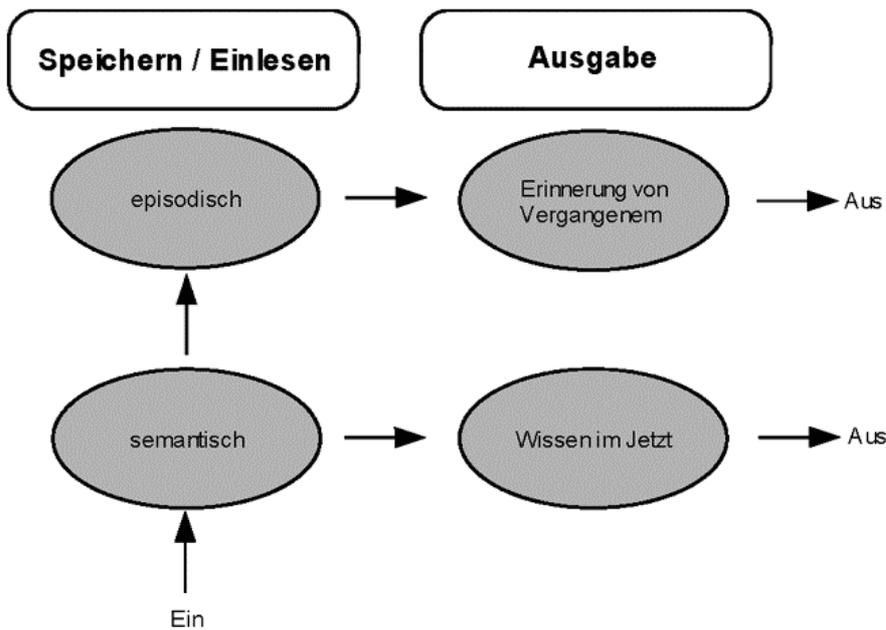


Abbildung 2: Seriell-Parallel-Unabhängig (SPI) -Modell des deklarativen Gedächtnisses (modifiziert nach TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

Nach weitergehenden Vorstellungen wird das deklarative Gedächtnis (siehe Abbildung 1) durch gemeinsame Eigenschaften von episodischem und semantischem Gedächtnis definiert. Dazu zählen unter anderem ihre Größe, Komplexität und Multimodalität. Darüber hinaus zeichnen sich beide durch gleichartige und schnelle Einspeicherungsprozesse aus. Die Information ist gegenständlich, verhältnismäßig beschreibbar, besitzt Wahrheitswert, ist flexibel zugänglich und umsetzbar und kann als Basis einer Schlussfolgerung dienen. Handlungen erfolgen stets kontextabhängig und kognitiv. Letztendlich kann der Abruf deklarativer Erinnerungen optional in ein offenkundiges Verhalten münden, denn es besteht auch eine enge Verknüpfung mit anderen Gehirn- und Verhaltenssystemen (SQUIRE und ZOLA, 1996; TULVING und MARKOWITSCH, 1998). Ein großer Vorteil dieser Beschreibung des deklarativen Gedächtnisses ist, dass diese Definition bis auf einige Ausnahmen für Mensch und Tier gleichermaßen gilt. Beispielsweise werden sprachliche Eigenschaften dabei eher dem semantischen Gedächtnis zugeordnet (TULVING und MARKOWITSCH, 1998). Alleinige, ungeteilte Qualitäten des episodischen Gedächtnisses beziehen sich wahrscheinlich nur auf den Menschen. Diese bestehen im Wesentlichen aus Erinnerungen an vergangene Erfahrungen. Dabei orientiert sich episodisches Gedächtnis als einzige Gedächtnisform an der Vergangenheit, was sinnbildlich einer mentalen Zeitreise entspricht. Diese Erfahrungen reichen über deklaratives Weltwissen weit hinaus, sind aber trotzdem prozessspezifisch (siehe Abbildung 2). Erst mit zunehmendem Alter entwickelt sich episodisches Gedächtnis, das allerdings durch

pathologische zentralnervöse Mechanismen auch schneller als deklaratives Gedächtnis beeinträchtigt wird (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

Das nicht-deklarative Gedächtnis (siehe Abbildung 1) verkörpert dagegen keine homogene Gedächtnisform, sondern setzt sich vielmehr aus verschiedenen unbewussten Gedächtnisformen zusammen (SQUIRE, 1998). Dazu zählen die perzeptuelle (operante Konditionierung und nicht assoziatives Lernen), prozedurale (Fertigkeiten und Angewohnheiten) und die Priming-Form (Prägung) des Gedächtnisses (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003). Nicht-deklaratives Gedächtnis ist dabei eher durch Handlungen gekennzeichnet und bedarf keiner bewussten Erinnerung an vergangene Ereignisse (SQUIRE, 1998).

2.1.2 Das Arbeitsgedächtnis

Bereits 1958 wurde in der Literatur erstmalig die Existenz von Langzeit- und Kurzzeitgedächtnis nachgewiesen (BROWN, 1958; PETERSON und PETERSON, 1959). Nach weiteren zehn Jahren wurde ein Zwei-Komponenten-Modell vorgestellt, worin ein zeitlich begrenzter Kurzzeitspeicher nicht nur als eine Art Vorzimmer zum dauerhafteren Langzeitgedächtnis, sondern auch erstmals als Arbeitsgedächtnis für andere komplexe Aktivitäten wie Schlussfolgern und Verstehen diente (ATKINSON und SHIFFRIN, 1968). Das Konzept vom einheitlichen Kurzzeitgedächtnis wurde im Laufe der Jahre zunächst um drei (BADDELEY und HITCH, 1974) und nach weiterem Wissenszugewinn um vier Komponenten erweitert. Damit entspricht es der aktuellen Vorstellung vom Multikomponenten-Modell des Arbeitsgedächtnisses (BADDELEY, 2003b) (siehe Abbildung 3).

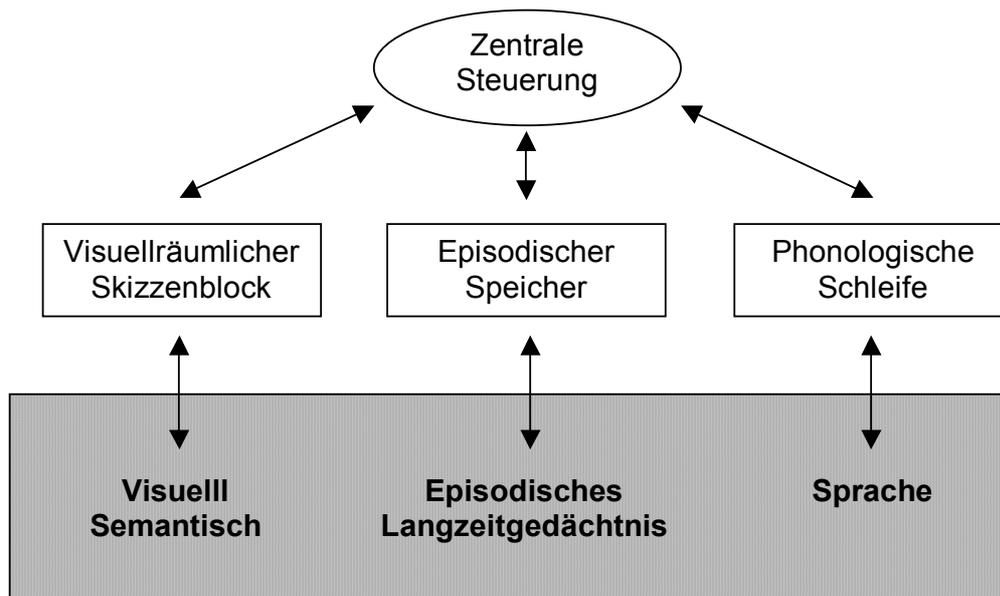


Abbildung 3: Illustration des aktuellen Multikomponenten Modells des Arbeitsgedächtnisses (modifiziert nach BADDELEY, 2003a).

hell: „fließende“ Systeme; schraffiert: „kristallisierte“ Systeme

Die Vorstellung vom Arbeitsgedächtnis impliziert ein zugrunde liegendes System, das nicht nur zeitlich begrenzt Informationen speichert und bearbeitet, sondern auch körpereigenen Denkprozessen unterliegt und sie unterstützt, was für eine Vielzahl komplexer kognitiver Tätigkeiten wichtig ist. Um diesen vielfältigen Aufgaben gerecht zu werden, setzt sich das Arbeitsgedächtnis nach heutigem Wissensstand aus der zentralen Steuerung, zwei Speichersystemen (BADDELEY und HITCH, 1974) und dem episodischen Speicher (BADDELEY, 2000) zusammen (siehe Abbildung 3).

Das verbale Speichersystem, auch phonologische Schleife genannt (siehe Abbildung 3), kann Gedächtnisspuren für ein paar Sekunden speichern, ist an artikulierten Aufzählungsprozessen beteiligt und wird beim Menschen auch für das Lernen von Mutter- und Fremdsprachen mit verantwortlich gemacht. Das zweite Speichersystem, der sogenannte visuell-räumliche Skizzenblock (siehe Abbildung 3), setzt sich vermutlich aus zwei weiteren Komponenten zusammen: dem visuellen Speichersystem und dem „inner scribe“, einem der phonologischen Schleife ähnelnden System, das für Abruf- und Aufzählprozesse notwendig ist. Räumliches und visuelles Arbeitsgedächtnis besitzen limitierte Kapazität und können auch getrennt voneinander agieren. In der zentralen Steuerung, auch Exekutive genannt (siehe Abbildung 3), scheint eine Gewaltenteilung zwischen automatischen Abläufen und einem eingreifenden Aufmerksamkeitssystem, dem sogenannten überwachenden Aktivierungssystem, vorzuherr-

schen. Dies erfordert aber gleichzeitig, Aufmerksamkeit zu fokussieren, teilen oder wechseln zu können, vermittelt durch den episodischen Speicher (siehe Abbildung 3). Er dient als Zwischenspeicher mit limitierter Kapazität und verknüpft Informationen, um integrierte Episoden zu formen. Außerdem verbindet er wahrscheinlich Arbeitsgedächtnis mit Langzeitgedächtnis (BADDELEY, 2003b).

2.1.3 Neuronale Korrelate verschiedener Gedächtnisformen

Neuronale Korrelate für die verschiedenen Gedächtnisformen werden anhand hirngesunder und hirngeschädigter Individuen diskutiert. Dabei speichert aber keine neuronale Struktur alleine und vollständig die Informationsspuren verschiedener Gedächtnissysteme, sondern deren Funktionalität basiert vielmehr kritisch auf der neuronalen Integrität (BADDELEY et al., 2000).

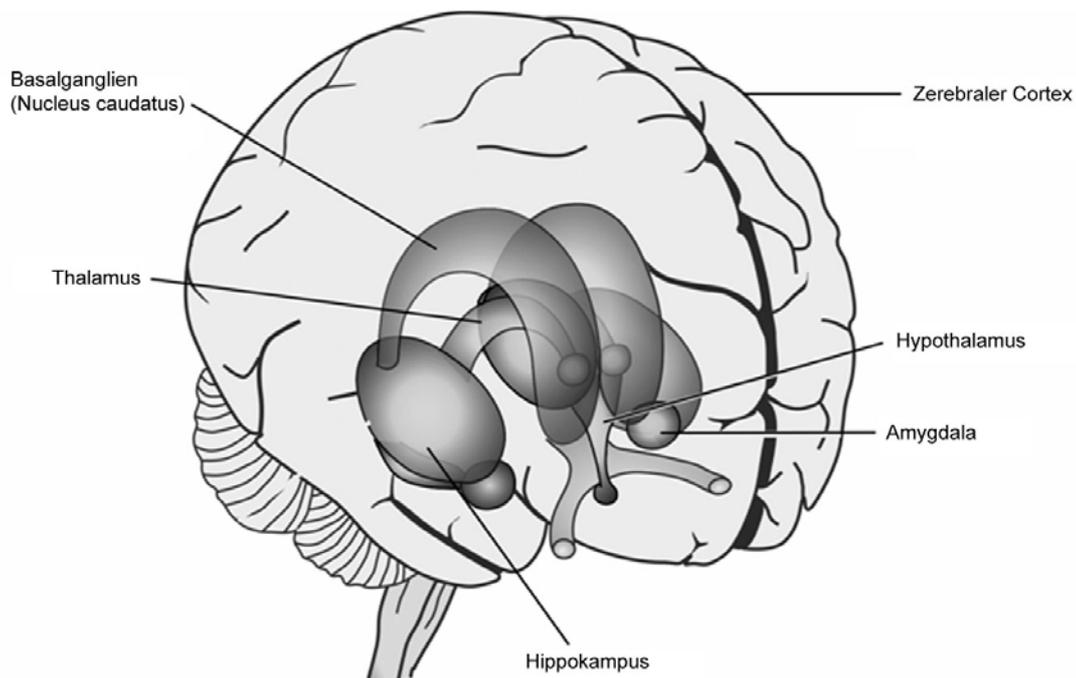


Abbildung 4: räumliche Illustration wichtiger Strukturen des menschlichen Gehirns (modifiziert nach OECD: Brain Maps, Inner structure of the human brain, Online im Internet: URL: < <http://www.OECD.org/document/22> > (Abfrage 01.06.2004)).

Das limbische System (siehe Abbildung 4) speichert zunächst Informationen, die dann in das Langzeitgedächtnis übertragen werden. Dabei wird die Information kognitiv verarbeitet und emotional relevante Information wird integriert (CALABRESE und MARKOWITSCH,

2003). Letzteres geschieht vor allem über zwei getrennte aber trotzdem eng interagierende neurale Kreise, der Hippokampus-Formation und der Amygdala. Über vielfältige neurale Verbindungen besitzt der Hippokampus alle Informationen, die zusammengesetzt ein spezifisches Ereignis in den richtigen Kontext setzen. Auf diese Art ermöglicht er, ein genaues episodisches Gedächtnis zu formen und wandelt Kurzzeitgedächtnis in Langzeitgedächtnis um (RICHTER-LEVIN und AKIRAV, 2003). Dagegen ist deklaratives Gedächtnis eher kritisch abhängig von perihippokampalen kortikalen Arealen und diencephalen Strukturen (TULVING und MARKOWITSCH, 1998), die anteriore, mediodorsale Thalamuskern und Verbindungen zum medialen Thalamus umfassen (SQUIRE und ZOLA, 1998).

Aktivierung der Amygdala (siehe Abbildung 4) bei emotional erregenden Ereignissen markiert die Erfahrung als wichtig und hilft, die synaptische Plastizität in anderen Gehirnregionen zu steigern (RICHTER-LEVIN und AKIRAV, 2003). Dies erklärt, warum emotional erregende Ereignisse besser erinnert werden als neutrale (SQUIRE, 1998).

Eng verknüpft mit dem limbischen System ist auch der präfrontale Kortex. Er ist in diverse Prozesse involviert, wie Aufmerksamkeits- und Entscheidungsprozesse, determiniert zielgerichtetes Verhalten, erfüllt okulomotorische Kontrollfunktionen und unterstützt das Arbeitsgedächtnis (SANCHEZ-SANTED et al., 1997). Funktionell stellt er keine homogene Struktur dar (OLTON, 1989), sondern wird bei der Ratte von dorsal nach ventral in den medial-agranulären, anterior-cingulären, prä-, und infralimbischen Kortex unterteilt. Wobei ersteren vor allem Zuständigkeit bei motorischem Verhalten, und letzteren hauptsächlich emotionale und kognitive Gedächtnisprozesse zugesprochen werden. Anhand neuer Studien über gemeinsame (zum orbitomedialen präfrontalen Kortex, Riechhirn und mittleren Thalamus) und unterschiedliche Projektionen von prä- (unter anderem vom Thalamus und Amygdala bis zum Hirnstamm) und infralimbischem (unter anderem zum basalen Vorhirn, Amygdala, Hypothalamus und Hirnstamm) Kortex der Ratte, wird der infralimbische mit dem orbitomedialen präfrontalen Kortex und der prälimbische mit dem präfrontalen Kortex bei Primaten verglichen. Dabei soll der prälimbische Kortex hauptsächlich limbisch-kognitive Funktionen und der infralimbische Kortex vor allem viszerale und autonome Aktivität unterstützen (VERTES, 2004).

Neokortikale Strukturen werden primär für die Speicherung von Informationen als bedeutend erachtet (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003). Die assoziativen Gebiete verarbeiten dabei multimodale sensorische Afferenzen aus auditorischem, somatosensorischem und visuellem Assoziationskortex und nehmen Verbindungen auf mit assoziativen Kortexgebieten des

Frontal-, Parietal- und Temporalhirns sowie den Basalganglien. Auch die Priming-Form des unbewussten, deklarativen Langzeitgedächtnisses wird im Neokortex lokalisiert (SQUIRE, 1998). Die temporoparietale Region jeder Hemisphäre lässt sich distinkt einer Unterabteilung des Arbeitsgedächtnisses zuordnen. Dabei ist die Region der linken Hemisphäre eher dem verbalen und die der rechten Hemisphäre dem visuellen Speichersystem zugeordnet (BADDELEY, 2003b).

2.1.4 Interaktion, Lernen und synaptische Plastizität

Mit Hilfe zahlreicher Schädigungsmodelle und spezifischer Verhaltenstests gelingt es, die verschiedenen Gedächtnisformen und ihre neuronalen Korrelate immer genauer zu differenzieren. Offensichtlich müssen die multiplen Gedächtnissysteme jedoch sowohl im intakten Gehirn als auch im Tiermodell bei einer Aufgabe, die Prozessieren über Systeme hinweg verlangt, interagieren. Dabei scheinen die Systeme hierarchisch organisiert zu sein, wodurch einige erfolgreicher als andere um die Kontrolle konkurrieren (WHITE und MCDONALD, 1993). So können beispielsweise Tiere mit unterbrochener Hippokampusfunktion bestimmte, auf Integrität der Amygdala beruhende Aufgaben leichter absolvieren (MCDONALD und WHITE, 1995). Umgekehrt verbesserten sich Tiere mit einer aktiven Amygdala jedoch bei einer Hippokampus-abhängigen Aufgabe (MCINTYRE et al., 2003). Daraus wird unter anderem ersichtlich, dass neben konkurrierenden Gedächtnissystemen auch kooperative existieren (MCNAY und GOLD, 1998) und sich Verbindungen zwischen diesen Systemen allerdings nie reziprok verhalten (MCINTYRE et al., 2003).

Da Gedächtnissysteme widersprüchlich zur Erinnerung an ein bestimmtes Ereignis beitragen können (WHITE und MCDONALD, 2002), müssen Regelmechanismen existieren, die für eine gleichmäßige Aktivierung zwischen den Systemen sorgen. So können neurochemische Modulatoren von Lernen und Gedächtnis, zum Beispiel Azetylcholin (Ach), die relative Beteiligung unabhängiger Systeme bei der Gedächtnisbildung und beim Abruf regulieren (GOLD et al., 2001). Erhöhte Ach-Freisetzung in der Amygdala fördert zum Beispiel die Verarbeitung von Informationen in Systemen, die für Lernen und Gedächtnis wichtig sind. Auch generell scheinen cholinerge Mechanismen die Aktivierung neuraler Systeme während Lernprozessen (siehe Abbildung 5) oder die Konkurrenz zwischen den Systemen um die Kontrolle über eine erlernte Reaktion anzuzeigen (MCINTYRE et al., 2003). In einer speziellen Hippokampus-abhängigen Aufgabe konnte mit einer Verschiebung der gemessenen Ach-

Spiegel ein Wechsel vom deklarativen (Hippokampus) zum prozeduralen Gedächtnis (Striatum) nach längerem Training bei der Ratte nachgewiesen werden (CHANG und GOLD, 2003).

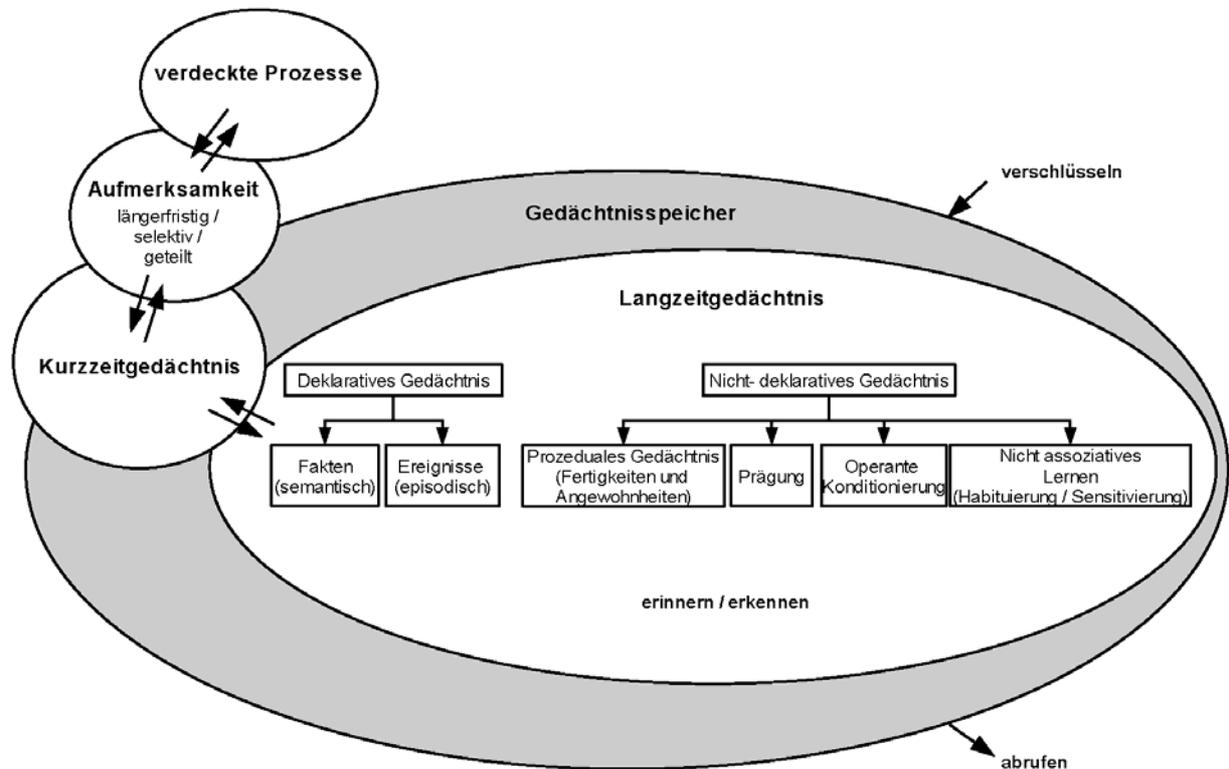


Abbildung 5: Schema der am Lernen beteiligten Gedächtnisprozesse (modifiziert nach D`MELLO und STECKLER, 1996).

Zum Lernprozess (siehe Abbildung 5) können nicht nur Wechsel der Gedächtnissysteme, sondern auch Veränderungen auf molekularer Ebene beitragen. Gedächtnisbildung erfordert vermutlich lang anhaltende Veränderungen in der synaptischen Effektivität, auch synaptische Plastizität genannt (RICHTER-LEVIN und AKIRAV, 2003). Mit dem entsprechenden zellulären Modell, der Expression von Langzeitpotenzierung (LTP), konnte nachweislich die synaptische Stärke und Effektivität einer Verbindung zwischen Hippokampus und prälimbischem Kortex durch Lernen moduliert werden (DOYERE et al., 1993). Darüber hinaus wies eine gesteigerte Kapazität des Arbeitsgedächtnisses mit veränderter Kortexaktivität auf eine mögliche trainingsinduzierte Plastizität entsprechender neuronaler Korrelate hin (OLESEN et al., 2004).

2.2 Kognition und Verhalten

Kognition ist der Kern allen menschlichen Verhaltens (siehe Abbildung 6). Erst die Eigenschaft, Stimuli aus der Umgebung zu beachten und interpretieren, sie zu verstehen und sich zu merken, Verhalten zu modifizieren auf der Basis vergangener Erfahrungen und die gewonnenen Informationen bei planerischen und ausführenden zielgerichteten Aktionen sinnvoll einzusetzen, ermöglicht das alltägliche (Über-) Leben. Dies ist mit ein Grund, warum sich Störungen der kognitiven Funktion so verheerend auswirken (DECKER, 1995). Kognitive Dysfunktionen kommen darüber hinaus relativ häufig vor, zum Beispiel in Folge von Morbus Parkinson (MAYEUX et al., 1981) oder Morbus Alzheimer (SMALL et al., 1997), Schlaganfall (ZHU et al., 1998) oder nach Herzoperationen (ROACH et al., 1996). Um die zugrunde liegenden neurobiologischen Prozesse aufzudecken und neue Therapiemöglichkeiten zu entwickeln, werden Tiermodelle bislang als unverzichtbar erachtet (DECKER, 1995; OHL, 2003).

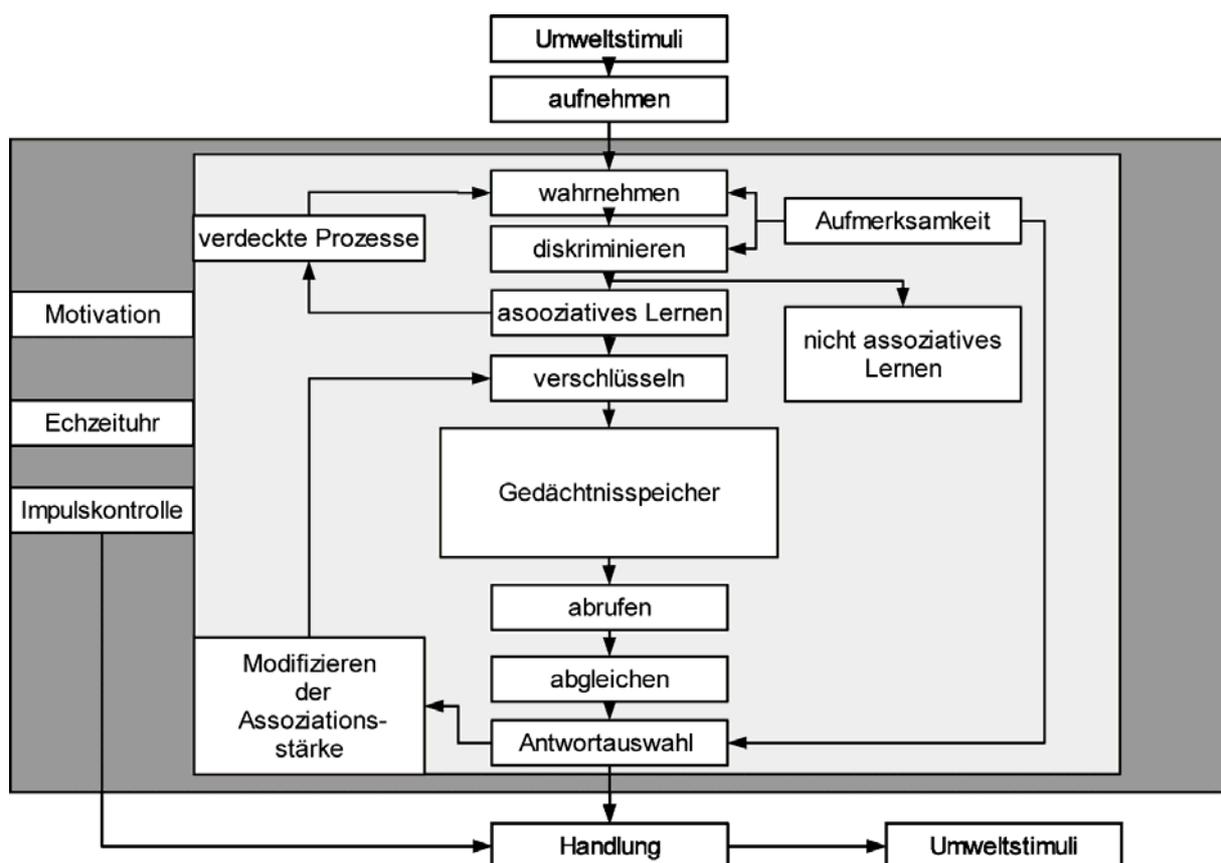


Abbildung 6: Schema der am Lernen beteiligten Kognitions- und Verhaltensprozesse (modifiziert nach D`MELLO und STECKLER, 1996).

2.2.1 Tiermodelle der kognitiven Funktion

Tiermodelle zur Untersuchung der kognitiven Funktion dienen einer Vielzahl von Zwecken. Anhand von Modellsystemen gelingt es zum Beispiel, grundlegende elektrophysiologische und biochemische Mechanismen kognitiver Lern- und Gedächtnisprozesse (siehe Abbildung 5) teilweise nachzuvollziehen. Schädigungs-Modelle helfen, beteiligte Gehirnstrukturen und Kreisläufe zu identifizieren und können Einsicht in neurale Ursachen kognitiver Defizite und ihrer Therapiemöglichkeit gewähren (DECKER, 1995).

Zur Erforschung von kognitiven Defiziten im Tiermodell wurden im Laufe der Zeit äußerst vielgestaltige Paradigmen entwickelt. Am häufigsten finden dabei Labyrinthmodelle Anwendung, die primär zur Untersuchung von Orts-Lernen und Gedächtnis dienen. Diese unterscheiden sich hinsichtlich vieler Dimensionen, zum Beispiel durch den grundsätzlichen Aufbau aus Arenen oder hochstrukturierten Routen mit oder ohne visuell-räumliche, assoziative oder sensorische Hinweise. Auch in der prinzipiellen Aufgabenanforderung gibt es zum Teil gravierende Unterschiede. Diese reichen von spontaner Exploration bis zu komplexen Wahlsequenzen mit unterschiedlichen zusätzlichen motivationalen Einflüssen (aversive Flucht oder Rückzugsmöglichkeit). Ferner können neue Objekte oder Futter an bestimmten Orten erkundet werden (HODGES, 1996).

Die Labyrinthsysteme umfassen demzufolge nicht nur komplexe, bereits vorher festgelegte Gangsysteme, wie zum Beispiel das Radial-Arm-Maze (Radial-Arm-Labyrinth) (JARRARD, 1986) mit limitierten bis komplexen Wahlsequenzen möglicher Routen, sondern auch simple Arenen, wie zum Beispiel das Morris-Water-Maze (Morris-Wasserlabyrinth) (MORRIS, 1984) und das Open-Field (offene-Feld) (HALL, 1936). Letzteres bietet dem Versuchstier zusätzlich uneingeschränkte Such- und Aktionsmöglichkeiten.

2.2.1.1 Open-Field (offenes-Feld) -Paradigma

Das Open-Field wurde erstmals 1936 von HALL zur Untersuchung von unkonditioniertem Angstverhalten der Ratte in einer zirkulären, hell erleuchteten und allseits von einer Wand umgebenen Arena beschrieben. Inzwischen existieren verschiedene Abwandlungen hinsichtlich Größe, Form (zirkulär bis rechteckig), Beleuchtung (schwach bis hell erleuchtet oder unter Rotlicht) und Anreicherungen (Anbieten von Objekten oder Futter). Auch die Versuchsdauer kann im Extremfall von zwei Minuten bis zu mehreren Stunden (GOLANI et al., 1999)

beträchtlich variieren. In aller Regel beträgt ein Durchlauf jedoch fünf bis zehn Minuten. Während dieser Zeitspanne können verschiedenste Verhaltensparameter, wie horizontale Fortbewegung (Anzahl überquerter, auf dem Boden markierter Linien) oder vertikale Aktion (Aufrichten auf die Hinterbeine) und Pflegeverhalten (Putzen des Fells) aufgezeichnet werden (PRUT und BELZUNG, 2003). In einer speziellen sich auf einen freien Explorationstest beziehende Abwandlung wird das Tierabteil direkt an die Versuchsarena angeschlossen. Dadurch haben die Tiere freien Zutritt zur neuen Umgebung (KOPP et al., 1999).

Die Standardprozedur impliziert eine erzwungene Konfrontation mit dem offenen Feld, wobei das Tier entweder zentral oder peripher platziert wird. In dieser Situation ziehen Nagetiere spontan die Peripherie der Mitte vor, und bewegen sich am liebsten nahe den Wänden fort (Thigmotaxis) (PRUT und BELZUNG, 2003). Dabei gilt das Vermeidungsverhalten gegenüber dem offenen zum Beispiel ungeschützten Gebiet oder Zentrum auch als Angstindikator und steht im Gegensatz zum Explorationsverhalten. Ein Nagetier befindet sich in einer neuen Situation stets im Konflikt zwischen dem Drang, Neues zu explorieren und dem Antrieb, potentielle Gefahren zu vermeiden. Exploration umfasst dabei ein breites Spektrum an Verhaltensmustern, wie Risikoabschätzungs-Verhalten oder Erkunden durch Laufen, Aufrichten auf die Hinterbeine, Schnuppern und Objekte manipulieren (BELZUNG und LE PAPE, 1994; OTTER et al., 1997)

2.2.1.2 Das „ideale“ Tiermodell

Häufig beziehen sich Verhaltenstests aber nur auf ein enges Spektrum von Verhaltensmustern, weshalb es mehrerer unabhängiger Tests bedarf, um Verhaltensänderungen oder Effekte herauszufiltern (HENNIGER et al., 2000). Außerdem sollten wegen der Gefahr einer möglichen Interferenz (BELZUNG und LE PAPE, 1994) nur naive Tiere den verschiedenen Tests unterzogen werden. Dadurch werden nicht nur sehr hohe Gesamtanzahlen benötigt, sondern es muss auch extrem viel Zeit und Geld investiert werden. Diese Nachteile können aber durch Untersuchungen überwunden werden, die idealerweise auf einem einzigen komplexen Paradigma mit detaillierter ethologischer Analyse basieren (RODGERS et al., 1997).

2.2.1.3 Modifizierter Hole-Board-Test

Alternativ zu herkömmlichen Testbatterien gelingt es dem neu entwickelten modifizierten Hole-Board (mHB) -Paradigma, eine Vielzahl von Verhaltensmustern in einem einzigen Test zu erfassen (OHL et al., 2001a) (siehe 3.2.5.6). Es beinhaltet im wesentlichen die Eigenschaften eines Hole-Boards und eines offenen Feldes, das als hoch standardisiertes Verfahren unter anderem zur Evaluierung der Fortbewegungsaktivität dient (KELLEY, 1993).

Ursprünglich wurde das Hole-Board (HB) zur Evaluierung rein exploratorischer Parameter von Nagetieren konzipiert (FILE und WARDILL, 1975b). Nach einer Abwandlung diente das mHB-Paradigma zur Untersuchung der kognitiven Funktion bei Tupaia (OHL und FUCHS, 1999) und wurde daraufhin für die Untersuchung einer Vielzahl von Verhaltensmustern bei Nagetieren adaptiert (OHL et al., 2001b). Hierfür wird das mHB, nachdem alle Löcher durch einen verschiebbaren Deckel verschlossen sind, in die Mitte einer Versuchsarena gelegt, und stellt das Zentrum eines offenen Feldes dar. Die Versuchsarena wird mit einer transparenten Wand vom Tierabteil abgetrennt, worin sich die Gruppenmitglieder des jeweiligen Versuchstieres während eines Testdurchlaufs befinden (OHL, 2003). Dadurch lässt sich nicht nur Isolationsstress minimieren, welcher die experimentelle Leistung von Versuchstieren vor allem hinsichtlich angstassoziiertem Verhalten beeinflussen kann (OHL et al., 2001a). Auch Transportstress, ausgelöst zum Beispiel durch Verbringen der Tiere in eine andere Umgebung, sowie Stress durch Futterentzug lässt sich vermeiden. Wie bei Ratten und Mäusen gezeigt werden konnte, ermöglicht der mHB-Test ein breites Spektrum an Verhaltensänderungen zu erfassen, zum Beispiel angstassoziiertes Verhalten, Risikoabschätzung, Explorationsstrategien, Fortbewegungsaktivität, Erregung und soziale Affinität. Darüber hinaus können auch kognitive Parameter evaluiert werden (OHL et al., 2001b).

Allgemein betrachtet ermöglicht das mHB-Paradigma im Tiermodell neue Ansätze zur Untersuchung der kognitiven Funktion. Einerseits können Tiere ein komplexes Verhaltensrepertoire offen zeigen, andererseits bieten sie die Gelegenheit, in Kombination mit einer sorgfältigen Analyse durch einen trainierten Beobachter, subtile und unerwartete Effekte neuer Behandlungsstrategien auf Kognition und Verhalten zu erforschen (OHL, 2003).

2.2.1.4 Sensorisch-motorische Tests der neurologischen Funktion

Grundlage jeder detaillierten Verhaltensuntersuchung ist das Ethogramm, eine Sammlung aus allen dem Tier angeborenen und von ihm erlernten Verhaltensweisen (SAMBRAUS, 1997). Einzelne Parameter der hierfür verwendeten neurologischen Verhaltensuntersuchung (Bewusstsein, Pflegeverhalten und Laufen) können bereits durch passives Beobachten bewertet werden, noch während sich das Tier im eigenen Käfig oder im offenen Feld befindet. Für andere Parameter müssen die Tiere speziellen aktiven sensorisch-motorischen Tests unterzogen werden. Im Wesentlichen beschreibt die neurologische Untersuchung Allgemeinbefinden und Körpergewicht, sensorisch-motorisches Verhalten, Immobilität und Fortbewegungsaktivität und zuletzt auch sogenannte „erlernte Bewegungen“. Dazu zählen bei der Ratte nicht nur Bewegungen wie das typische Ausstrecken der Vordergliedmaßen beim Halten an der Schwanzbasis, sondern auch regelmäßiges Abnagen der Zehennägel sowie reihenfolge- und spezies-spezifische Abfolge der Fellpflege. Auch Fortbewegung in schwierigem Gelände, zum Beispiel Balancieren auf einem schmalen Balken oder Klettern, zählt dazu (WHISHAW et al., 1999).

Dabei können vor allem aktive sensorisch-motorische Tests Aufschluss geben über spezifische neurologische Defizite, die durch passives Beobachten allein nicht zu erkennen wären (COMBS und D'ALECY, 1987). Aussagen über das Gleichgewichtsvermögen eines Tieres können zum Beispiel mit Balkentests (Beam Walking und Beam-Balance-Test) getroffen werden (siehe 3.2.4.2). Dabei müssen die Tiere eine bestimmte Strecke über einen schmalen Balken laufen (FEENEY et al., 1982) oder auf ihm eine bestimmte Zeit balancieren (COMBS und D'ALECY, 1987). Auch das Greif- und Haltevermögen (Drahtgitter und Greif-Zug-Test), ein Indikator der allgemeinen physikalischen Kraft, kann mit aktiven Tests untersucht werden (siehe 3.2.4.2), indem die Haltezeit dokumentiert wird, die das Tier an einem Seil oder an einem Gitter zu hängen vermag (COMBS und D'ALECY, 1987). (Neben diesen etablierten Testmethoden existieren noch zahlreiche weitere sensorisch-motorische Tests der neurologischen Funktion, die in der vorliegenden Studie jedoch nicht verwendet werden und deshalb hier nicht näher erläutert werden sollen.)

2.3 Extrakorporale Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine

Erste Anwendung fand die Extrakorporale Zirkulation (EKZ) in der Herzchirurgie am Menschen bereits Mitte des letzten Jahrhunderts (DENNIS et al., 1951; GIBBON, 1954). Seit dieser Zeit wurden beachtliche Fortschritte auf dem Gebiet der operativen Technik und der Anästhesie gemacht. Darüber hinaus wurde die Durchführung der EKZ technisch entscheidend verbessert. So konnte die durchschnittliche Morbidität und Mortalität wesentlich verringert werden. Trotz dieser Meilensteine bleiben neurologische und kognitive Defizite nach herzchirurgischen Eingriffen mit EKZ als signifikante und häufige Komplikationen bestehen (ROACH et al., 1996).

2.3.1 Zentralnervöse Defizite nach Extrakorporaler Zirkulation

Zentralnervöse Schäden nach Herzoperationen führen letztendlich zu verlängerten Krankenhausaufenthalten, erhöhten Morbiditäten und Mortalitäten, haben einen nachteiligen Einfluss auf die Lebensqualität (NEWMAN et al., 2001a) und ziehen eine allgemeine Kostenerhöhung im Gesundheitssystem nach sich (ROACH et al., 1996).

Solange zahlreiche Synonyme wie akutes Hirnsyndrom, mentale Dysfunktion oder akuter Verwirrungszustand existieren, ist es wichtig, prinzipiell zwischen dem akuten, hauptsächlich kurz anhaltenden postoperativen Delirium und den länger andauernden postoperativen kognitiven Dysfunktionen (POCD) zu unterscheiden (MACKENSEN und GELB, 2004).

Das nach internationalen Maßstäben (Internationale Klassifikation der Krankheiten ICD-10, World Health Organization) definierte Delirium stellt ein unspezifisches organisches Hirnsyndrom dar und ist gekennzeichnet durch akut auftretende Störungen von Bewusstsein, Kognition, Gedächtnis, Emotion und psychomotorischer Funktion, sowie Störungen des Schlaf-Wach Zyklus (O'KEEFE und NI CHONCHUBHAIR, 1994). Für gewöhnlich entwickelt es sich akut mit einem Manifestationsmaximum am zweiten postoperativen Tag und ist gekennzeichnet durch einen fluktuierenden klinischen Verlauf (MARCANTONIO et al., 1994). Einer schnellen Diagnose mit Abstellen der Kausalfaktoren, unterstützt von exzellenter Pflegehilfe, kommt vermutlich eine Schlüsselrolle bei der erfolgreichen Vermeidung und Therapie des postoperativen Deliriums zu (MARCANTONIO et al., 2001). Unbehandelt stellt das postoperative Delirium jedoch einen Risikofaktor für die Entwicklung langanhaltender postoperativer

kognitiver Dysfunktionen (POCD) dar (ROGERS et al., 1989). Diese sind dagegen eher durch subtilere Veränderungen charakterisiert, wie zum Beispiel durch Bewusstseins Einschränkungen, Verluste kognitiver Fähigkeiten oder von Wiedererkennungs- und Orientierungsvermögen, sowie durch Gedächtnis- und Lerndefizite. Um POCD klar vom Delirium abzugrenzen und zu quantifizieren, bedarf es zumeist aufwendiger neuropsychometrischer Tests (MACKENSEN und GELB, 2004). Zu diesen Gedächtnistests zählen unter anderem der „Trail Making Test“, wobei Zahlen- und Buchstabenfolgen mit Linien (zum Beispiel 1-A-2-B und so weiter) so schnell wie möglich verbunden werden sollen (REITAN, 1958) und der „Randt Gedächtnistest“, wobei die Probanden Details einer zuvor gehörten Kurzgeschichte sofort und nach einer Verzögerung von einer halben Stunde wiedergeben sollen (RANDT et al., 1980). Auch gehörte Zahlenreihen müssen zum Beispiel im „Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (WAIS-R)“-Test zunächst in richtiger und dann in umgekehrter Reihenfolge wiedergegeben werden (WECHSLER, 1981). (Hierbei bleibt anzumerken, dass sich die folgenden Kapitel im wesentlichen auf POCD beschränken.)

2.3.1.1 Inzidenzen und Auswirkungen

Das Auftreten zentralnervöser Schäden nach Herzoperationen mit EKZ variiert beträchtlich. Ursache hierfür sind unter anderem bereits erwähnte, unterschiedliche Definitionen postoperativer zentralnervöser Schäden. Aber auch andere Faktoren, wie Alter des Patienten, Art des operativen Eingriffs, präoperative kognitive Leistungsfähigkeit und Bildungsniveau, sowie gleichzeitig bestehende Krankheiten oder Art der Diagnosefindung tragen zu unterschiedlicher Häufigkeit eines postoperativen Deliriums (DYER et al., 1995) oder POCD bei.

In einer Studie kamen zentralnervöse Schäden nach Herzoperationen, definiert als Typ I (fokaler Schlaganfall, Stupor oder Koma) und Typ II (Verschlechterung intellektueller Fähigkeiten, Gedächtnisdefizit und Krampfanfälle) bei durchschnittlich 3,1 % respektive 3,0 % der Patienten vor (ROACH et al., 1996). Dagegen litten in einer anderen prospektiven Studie insgesamt 16 % der Patienten an zentralnervösen Schäden nach Herzoperationen, wovon 8,4 % Typ I und 7,3 % Typ II Schäden zugeordnet wurden (WOLMAN et al., 1999). Die hohe Inzidenz ist dabei auf die Patientenpopulation zurückzuführen, die neben einem aortokoronaren Bypass auch noch Herzklappenrekonstruktionen unterzogen wurde. Diese Eingriffe sind per se mit einem höheren Risiko postoperativer neurologischer Komplikationen verbunden. Auffallend ist demgegenüber eine wesentlich höhere Inzidenz von subtilen POCD bei Patienten

nach Herzoperationen, im Vergleich zu Patienten mit größeren Operationen ohne Herzchirurgie. So konnte bei 80 % der Patienten nach Herzoperationen mit EKZ noch während des Krankenhausaufenthalts POCD festgestellt werden, die sogar noch bei 42 % der Patienten nach drei bis fünf Jahren bestanden (SELNES et al., 1999; NEWMAN et al., 2001b). Bei den Patienten mit größeren nicht-herzchirurgischen operativen Eingriffen litten dagegen nach einer Woche nur 26 % und nach drei Monaten nur noch 10 % an POCD (MOLLER et al., 1998).

Ein großes Problem zentralnervöser Schäden als Komplikation nach Herzoperationen stellen vor allem auch negative Auswirkungen auf die Lebensqualität der Patienten dar. So wiesen in einer Studie sogar noch fünf Jahre nach herzchirurgischen Eingriffen Patienten mit POCD eine deutlich reduzierte Lebensqualität auf, was sich unter anderem darin widerspiegelte, dass diese Patienten wesentlich schlechter in den Arbeitsprozess reintegriert werden konnten (NEWMAN et al., 2001a).

Anhand geschätzter Zahlen von etwa einer Million weltweit jährlich durchgeführter Herzoperationen (ROACH et al., 1996; WOLMAN et al., 1999), kann man die immense Bedeutung zentralnervöser Komplikationen erahnen, die nicht nur die Lebensqualität der Patienten, sondern auch die finanziellen Belastungen des Gesundheitssystems betreffen.

So haben zentralnervöse Schäden nach Herzoperationen durch signifikant verlängerte Krankenhausaufenthaltsdauern und zusätzlich benötigte Intensivpflege rund 6000 bis 10000 US \$ Extrakosten pro Patient zur Folge. Dies resultiert wiederum in einer jährlichen Mehrausgabe von 400 Million US \$. Addiert man des Weiteren zu den Krankenhauskosten noch Kosten für Rehabilitationsaufenthalt und verlängerte Nachsorge, erhält man geschätzte jährliche Gesamtkosten von zwei bis vier Milliarden US \$ (ROACH et al., 1996). Diese Zahlen veranschaulichen wohl am besten die enormen zusätzlichen ökonomischen Belastungen, die dem Gesundheitssystem in Folge eingeschränkter zentralnervöser Funktion nach Herzoperationen entstehen, wobei angemerkt werden muss, dass zum jetzigen Zeitpunkt (neun Jahre nach den Veröffentlichungen von ROACH et al., 1996) wahrscheinlich mit noch weit höheren Kosten zu rechnen ist.

2.3.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie

Die Ätiologie zentralnervöser Schädigungen während EKZ ist vermutlich multifaktoriell. Für das Auftreten von subtilen langandauernden POCD nach Herzoperationen werden hauptsächlich zwei Faktoren, nämlich zerebrale Emboli (gas- und partikelförmige) und generalisierte zerebrale Hypoperfusion, während der EKZ verantwortlich gemacht (TAYLOR, 1998a).

Zerebrale Emboli

Bei den zerebralen Emboli unterscheidet man Makro- (zum Beispiel atherosklerotische Debris oder Fettpartikel) und Mikroemboli (zum Beispiel Gasbläschen oder kleinere Partikel), die entweder im Patienten selbst oder im Zuge der EKZ generiert werden. Dabei zählen Patienten-vermittelte Ursachen wie Grad der atheromatösen Erkrankung der Aorta, intrakardiale Thromben oder valvuläre Kalzifikationen des Herzens zu den individuellen Risikofaktoren für zerebrale Embolisation und damit verbundene postoperative neurokognitive Defizite (BLAUTH et al., 1992). Vor allem bei Kanülierung und Dekanülierung der Aorta (BAKER et al., 1995) sowie Klemmen der Aorta und Entfernen der Klemmen (SYLIVRIS et al., 1998) können sich atherosklerotische Plaques lösen und zu zerebralen Emboli führen. Chirurgische Eingriffe am offenen Herzen sind dagegen eher mit gasförmigen Emboli assoziiert (BRAEKKEN et al., 1997). Zusätzlich erhöht die Reinfusion von abgesaugtem Blut während der Thorakotomie die Anzahl zerebraler Lipid-Mikroemboli um das sechsfache (BROOKER et al., 1998). Eine weitere wichtige Rolle spielt vor allem die Dauer der EKZ, die in der Literatur übereinstimmend mit einem Anstieg der embolischen Belastung assoziiert ist (BROWN et al., 2000).

Zerebrale Emboli kommen bei Patienten mit Herzoperationen und EKZ zum Teil in sehr beträchtlichem Ausmaß vor. Eine häufig verwendete, nicht invasive Methode, um die Embolizahl zu bestimmen, ist die transkranielle Doppler Technik (GROCOTT et al., 1998). Dabei können sowohl Gas- als auch Partikel-Emboli durch distale Obstruktionen der Endarterienstrombahn im Gehirn eine konsekutive Ischämie und Neuronenuntergang verursachen. Gasförmige Emboli neigen zudem zur Diffusion in die sehr kleinen Arterien ($\varnothing = 30$ bis $60 \mu\text{m}$) und können zusätzlich zu einer sofortigen Obstruktion und Ischämie auch zu einer Gasbläschen-oberflächenvermittelten Fremdkörperreaktion führen mit mechanischer Irritation des Gefäßendothels. Dies kann wiederum zelluläre und humorale Immunreaktionen hervorrufen,

mit Folge von Gefäßödemen und weiterer Beeinträchtigung der Perfusion (MUTH und SHANK, 2000).

Hinweise, dass Emboli die zerebrale Funktion nachhaltig beeinträchtigen, erbrachte die Evaluierung von arteriellen Filtern bei Patienten mit EKZ und Gasdispersionsoxygenatoren, wodurch die embolische Belastung reduziert und POCD, was sprachliche Bereiche anbelangte, verringert werden konnten (PUGSLEY et al., 1990). Darüber hinaus beeinflussten Emboli bei Patienten mit herzchirurgischen Eingriffen auch die Länge des Krankenhausaufenthalts signifikant (BARBUT et al., 1997).

Zerebrale Hypoperfusion

Zerebrale Hypoperfusion kann sowohl regional durch Emboli als auch global durch generalisierte Hypotension entstehen, und wird schon seit geraumer Zeit für postoperative neurologische Beeinträchtigungen verantwortlich gemacht (GILMAN, 1965). Während der EKZ mit ausgeschalteter Herzfunktion wird die zerebrale Sauerstoffversorgung ausschließlich durch die EKZ, genauer über die eingestellte Flussrate, bestimmt. Bei gesunden Patienten wird der zerebrale Blutfluss (CBF) mit Hilfe der körpereigenen Autoregulation in sehr engen Grenzen gehalten (siehe Abbildung 7), unabhängig vom bestehenden mittleren arteriellen Blutdruck (MAP). Nur an den beiden externen Enden dieses Plateaus, bei sehr hohem oder niedrigem MAP wird der CBF druckpassiv (TAYLOR, 1998a).

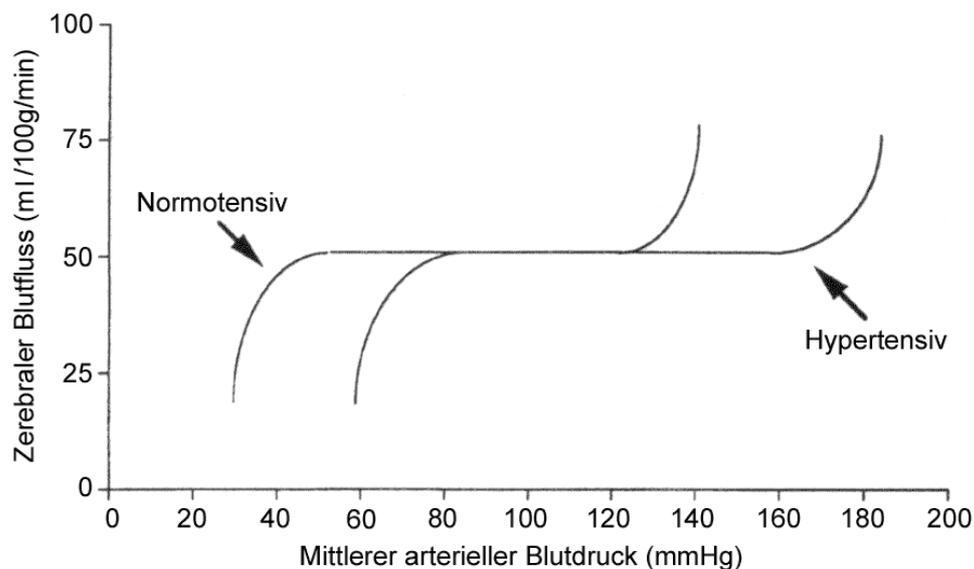


Abbildung 7: Schema der Autoregulation des zerebralen Blutflusses (modifiziert nach TAYLOR, 1998a).

Die Einflüsse des arteriellen Blutdrucks werden als Ursache für zerebrale Hypoperfusion kontrovers diskutiert. Verschiedene Studien unterstützen die Meinung, dass vor allem bei Hochrisikopatienten (mit atheromatöser Erkrankung der Aorta) eine bessere neurologische Leistungsfähigkeit nach EKZ mit Aufrechterhalten eines hohen MAP (mittlerer arterieller Blutdruck) von 80 bis 100 mmHg während der EKZ assoziiert ist (GOLD et al., 1995). Dagegen konnte eine andere Studie keine Reduktion postoperativer Schlaganfälle bei Hochrisikopatienten durch einen höheren MAP erzielen (VAN WERMESKERKEN et al., 2000).

Eine weitere wichtige Rolle in der Entstehung von zerebraler Hypoperfusion spielt auch die Wahl des intraoperativen pH-Managements. Bei Verwendung des pH-stat-Protokolls soll der arterielle pH-Wert zum Beispiel bei 7,40 gehalten werden, ungeachtet der herrschenden Körperkerntemperatur. Da der Blut-pH aber mit sinkender Körpertemperatur progressiv ansteigt, muss der CO₂-Gehalt der Zuluft zum Oxygenator der EKZ erhöht werden, um den pH-Wert konstant zu halten. Umgekehrt wird bei Verwendung des alpha-stat-Protokolls, „alpha“ beibehalten, das Verhältnis dissoziierter zu undissoziierter α -Imidazolgruppen im Histidin-Puffersystem, dessen Dissoziationskonstante parallel zu der von Wasser verläuft. Dies hat den Vorteil, dass die Autoregulation des CBF sogar bei sehr niedrigem MAP während nicht temperatur-korrigiertem (alpha-stat) pH-Management völlig erhalten bleibt. Im Gegensatz dazu wird durch temperatur-korrigiertes (pH-stat) pH-Management der CBF linear abhängig gegenüber dem MAP. Dies hat eine wesentliche Erhöhung des CBF zur Folge, wodurch aber auch die embolische Belastung gesteigert wird (TAYLOR, 1998a).

Weitere ätiologische Faktoren

Neben diesen zwei Hauptfaktoren wurden aber noch zahlreiche weitere Mechanismen entdeckt, die isoliert oder in Kombination zur Ätiologie dieser Gehirnschädigung beitragen können (ARROWSMITH et al., 1999).

Eine wichtige Rolle spielen dabei vor allem systemische Entzündungsreaktionen (SIRS), die zusätzlich zum allgemeinen Operationstrauma während der EKZ durch verschiedene Mechanismen, wie Oberflächenkontakt von Blut mit der EKZ Einheit, endotoxämische Prozesse durch Hypoperfusion im Splanchnikusgebiet sowie Entwicklung von Ischämie und Reperfusionssyndrom ausgelöst und unterhalten werden können (KIRKLIN et al., 1983; LANDOW und ANDERSEN, 1994; HALL et al., 1997; DIEGELER et al., 2000). Klinisch gesehen könnte die mit EKZ assoziierte SIRS sogar zum Erscheinungsbild des transienten zerebralen

Ödems (HARRIS et al., 1993) beitragen, dessen Beteiligung an zentralnervösen Schäden allerdings unklar ist.

Auch genetischen Einflüssen scheint ätiologisch eine wichtige Funktion zuzukommen, wobei Apolipoprotein $\epsilon 4$ (APOE 4) Genotyp mit dem Auftreten von zentralnervösen Schäden nach EKZ assoziiert war (TARDIFF et al., 1997). Vermutlich beeinflusst APOE 4 neuronale Schädigungs- und Reparaturmechanismen oder moduliert die Gliazell-Antwort auf Entzündungsprozesse im Gehirn (NEWMAN et al., 1999). Da APOE 4 außerdem mit dem Schweregrad der Artherosklerose assoziiert ist, kann eine erhöhte embolische Belastung zu einer zusätzlichen Gehirnschädigung führen (TI et al., 2000).

2.3.1.3 Prävention und Therapie

Durch Erkennen und Ausschalten von einigen der zuvor aufgezählten Schädigungsmechanismen wurden bereits wesentliche Fortschritte in der Prävention möglicher neurologischer Schäden während Herzoperationen mit EKZ gemacht. Zusammenfassend basieren all diese Maßnahmen primär auf einer Reduktion embolischer Ereignisse oder Verbesserung der ischämischen Toleranz (HINDMAN und TODD, 1999).

So wurden zum Beispiel arterielle Filter in den extrakorporalen Kreislauf integriert, wodurch ein nachweislich besseres neuropsychologisches postoperatives Ergebnis erzielt wurde (PUGSLEY et al., 1994). Auch durch die Verwendung von Membran- anstatt Gasdispersionsoxygeneratoren (PEARSON et al., 1986) konnte die embolische Belastung, die durch die EKZ ausgelöst wurde, weiter verringert werden. Es bleibt jedoch anzumerken, dass dadurch vor allem die embolische Belastung durch die EKZ reduziert wurde. Zerebrale Embolisation im Allgemeinen kann aber nicht völlig vermieden werden, weil ein relevanter Anteil vor allem fester Emboli aus atherosklerotischen Veränderungen der Aorta stammt. Eine Vielzahl unterschiedlicher Strategien, pharmakologischer, EKZ-technologischer und operativer Art, wurden in der Zwischenzeit entwickelt, um die negativen Einflüsse von SIRS zu minimieren. Dabei erwies sich die ungeheure Komplexität der Mediatoren und ihrer Aktivierungskaskaden als großes Problem, denn wie man inzwischen annimmt, muss für eine ausreichende Unterdrückung wahrscheinlich ein zentraler oder mehrfach involvierter Mediator, wie zum Beispiel NF- κ B, inhibiert werden, um eine signifikante klinische Verbesserung beim Patienten zu erreichen (PAPARELLA et al., 2002). Neben diesen Maßnahmen bildet die Beeinflussung des intraoperativen Temperaturmanagements, um die Empfindlichkeit des Gehirns gegen Ischä-

mie zu senken, eine Hauptstütze im Rahmen der Herzchirurgie. Während experimentelle Daten den Einsatz von Hypothermie zur Neuroprotektion unterstützen (BUSTO et al., 1987), wird der klinische Nutzen jedoch kontrovers diskutiert. Bei einem Vergleich zwischen Patienten mit hypothermer ($< 28\text{ °C}$) gegenüber normothermer ($> 35\text{ °C}$) EKZ erhöhte sich die Inzidenz von Schlaganfällen und Enzephalopathien bei den normothermen Patienten um das Dreifache (MARTIN et al., 1994). Darüber hinaus verringerte eine langsame Wiedererwärmungsrate von Patienten mit hypothermer EKZ sechs Wochen später auftretende POCD (GRIGORE et al., 2000).

2.4 Tief hypothermer Kreislaufstillstand

Der hypotherme Kreislaufstillstand findet seit seiner Einführung im Jahre 1950 (BIGELOW et al., 1950) breite Anwendung bei Operationen am offenen Herzen von Kleinkindern und Säuglingen mit kongenitalen Herzfehlern. Aber auch Erwachsene mit erworbenen kardiovaskulären Erkrankungen werden bei Operationen wie Aortenbogentransplantation (DI EUSANIO et al., 2003), Resektion eines Aortenaneurysmas (IMMER et al., 2002) oder Pulmonalembolotomien einem tief hypothermen Kreislaufstillstand unterzogen.

Einen großen Vorteil bei diesen äußerst invasiven chirurgischen Eingriffen am offenen Herzen bietet dabei die Abwesenheit von Perfusionskanülen oder Blut im nahezu bewegungslosen Operationsgebiet. Darüber hinaus reduziert die tiefe Hypothermie ($< 20\text{ °C}$) nicht nur den allgemeinen Sauerstoffverbrauch im Gewebe, sondern führt auch zu einer erhöhten Affinität von Sauerstoff zu Hämoglobin, zusätzlich wird direkt die zerebrale Autoregulation beeinflusst und die ischämische Schwelle im Gehirn gesenkt (TAYLOR, 1998a). Durch den verringerten Metabolismus werden unter anderem Enzym- und Rezeptoraktivitäten, die in biochemische Zellschädigungsmechanismen involviert sind, verringert, wodurch hauptsächlich der neuroprotektive Effekt zustande kommt (BUSTO et al., 1989). In der Kinderkardiochirurgie gilt die Hypothermie indessen als einzige bewiesene neuroprotektive Therapiemöglichkeit (KURTH und STEVEN, 2000).

2.4.1 Inzidenzen zentralnervöser Schäden bei Kindern

Kongenitale Herzdefekte zählen zu den häufigsten Geburtsanomalien überhaupt und bedürfen in fast einem Drittel der Fälle chirurgischer Intervention in frühester Kindheit (GILLUM,

1994). Dank verbesserter Operationstechnik, Anästhesie, EKZ-Technologie und pränataler Diagnostik sowie Interventionsmöglichkeit in immer früherem Lebensalter konnte die durchschnittliche Überlebensrate seit Einführung des hypothermen Kreislaufstillstandes drastisch gesenkt werden. Somit geht nun die größte Bedrohung für langfristige Gesundheit und Wohlergehen von Kindern mit kongenitalen Herzdefekten von konsekutiven zentralnervösen Komplikationen aus (DU PLESSIS, 1997b).

Neurologische Entwicklungsdefizite

Zu den postoperativen neurologischen Dysfunktionen zählen hauptsächlich Krampf- und Schlaganfälle, aber auch seltenere Ereignisse, wie Rückenmarks- und Plexus brachialis Schädigungen (DU PLESSIS, 1997b). Am häufigsten kommen klinisch evidente Krampfanfälle bei bis zu 11,4 % der Neugeborenen nach Herzoperationen vor (NEWBURGER et al., 1993). Diese konnten in weiterführenden Untersuchungen von Kleinkindern ein Jahr nach Herzoperationen sogar in Zusammenhang mit neurologischen Anomalien und psychomotorischen Entwicklungsverzögerungen gesetzt werden (BELLINGER et al., 1995). Darüber hinaus waren sie im Alter von vier Jahren bei denselben Patienten noch zusätzlich mit geringeren durchschnittlichen Intelligenzquotienten verbunden (BELLINGER et al., 1999). Im weiteren Verlauf scheinen neurologische Dysfunktionen mit steigendem Alter der Patienten mit Korrektur einer angeborenen Transposition der großen Gefäße im Säuglings- und Kleinkindalter signifikant zuzunehmen. So stieg die Anzahl von Patienten mit neurologischen Dysfunktionen von 9 % mit drei bis neun Jahren auf 27 % mit acht bis 14 Jahren (HOVELS-GURICH et al., 2002c). Andere Studien berichten dagegen sogar von neurologischen Dysfunktionen bei bis zu 41 % der ein- bis anderthalb-jährigen Patienten nach Herzoperationen im Säuglingsalter (LIMPEROPOULOS et al., 2002).

Intellektuelle Entwicklungsdefizite

Die psychomotorische Entwicklung ist nicht nur durch kognitive Beeinträchtigungen, Sprach- und Sprechanomalien, schlechtere visuell-räumliche und visuell-motorische Fähigkeiten, sondern auch durch Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung (ADHS), motorische Entwicklungsverzögerungen und Lernbehinderungen charakterisiert (HICKEY, 1998). Bei der Korrektur einer Transposition der großen Gefäße bei Kleinkindern wurde in einer fortlaufenden Studie die Anwendung von tief hypothermem Kreislaufstillstand gegenüber auch bei tiefen Temperaturen aber mit niedriger Flussrate kontinuierlich weitergeführter EKZ verglichen.

Dabei wiesen nach einem Jahr 27 % der Patienten mit tief hypothermem Kreislaufstillstand gegenüber 12 % mit kontinuierlichem niedrigem Fluss unter dem Bevölkerungsdurchschnitt liegende psychomotorische Leistungsfähigkeiten auf (BELLINGER et al., 1995). Im Alter von zweieinhalb Jahren berichteten die Eltern dieser Patienten mit tief hypothermem Kreislaufstillstand, darüber hinaus von geringerem Sprechvermögen und motorischen Entwicklungsverzögerungen (BELLINGER et al., 1997). Dagegen war tief hypothermer Kreislaufstillstand bei diesen Patienten im Alter von vier Jahren zwar noch mit schlechterer motorischer Koordination und Intention aber nicht mit geringerem Intelligenzquotienten oder schlechterem allgemeinem neurologischen Status verbunden (BELLINGER et al., 1999). Mit acht Jahren unterschieden sich beide Behandlungsgruppen hinsichtlich neurologischem Status, Intelligenzquotienten, akademischem Leistungsvermögen, Gedächtnis, Problemlösung und visuell-motorischer Integration nicht mehr. Allerdings blieb die gesamte Kohorte, was den neurologischen und intellektuellen Entwicklungsstatus anbelangte, hinter den Erwartungen zurück. Dies betraf vor allem akademische Leistungen, Feinmotorik, visuell-räumliche Fähigkeiten, Arbeitsgedächtnis, Aufmerksamkeitsspanne und Defizite vor allem komplizierter Sprachfähigkeiten (BELLINGER et al., 2003). Eine andere Studiengruppe zeigte in fortlaufenden Untersuchungen eine zunehmende Inzidenz von neurologischen Defiziten mit steigendem Alter nach chirurgischer Korrektur der Transposition der großen Gefäße im Säuglings- oder Kleinkindalter. So erhöhte sich die Anzahl von Patienten mit neurologischen Defiziten von 26 % mit drei bis neun Jahren (HOVELS-GURICH et al., 1997) auf 55 % mit acht bis 14 Jahren. Sprachliche Beeinträchtigungen waren bei 40 % der Patienten zu finden (HOVELS-GURICH et al., 2002c). Interessanterweise scheint bei diesen Kindern die allgemeine Intelligenz nicht zwingend mit beeinträchtigt zu sein (HOVELS-GURICH et al., 2002c).

Inzidenzen zentralnervöser Defizite bei Erwachsenen

Erwachsene mit erworbenen Herzerkrankungen, die in tief hypothermem Kreislaufstillstand operiert werden, erleiden häufiger zentralnervöse Schädigungen als bei anderen Herzoperationen. Die Inzidenz permanenter neurologischer Defizite wird dabei mit 5 (CZERNY et al., 2003) bis 9 % (DI EUSANIO et al., 2003) angegeben. POCD kamen in einer fortlaufenden Studie bei Patienten sechs Wochen nach Aortenbogenchirurgie mit einer durchschnittlichen Häufigkeit von 80 % und nach 12 Wochen mit immer noch 55 % vor (HARRINGTON et al., 2003). Langfristige POCD haben bekannter Weise nicht zu unterschätzende Auswirkungen nicht nur auf die persönliche Lebensqualität (IMMER et al., 2002), sondern auch auf zusätzliche Kostenbelastung des Gesundheitssystems.

Abschließend betrachtet, bestehen hinsichtlich zentralnervöser Schädigungen nach Operationen am offenen Herzen wichtige Unterschiede zwischen Erwachsenen und Kindern. So kann man die zentralnervöse Leistungsfähigkeit von Erwachsenen präoperativ evaluieren und eine Verschlechterung postoperativ gut diagnostizieren. Bei Kleinkindern ist die Diagnostik der zentralnervösen Funktion nur schwer durchzuführen und eine Einschränkung dieser Funktionen im Rahmen komplexer angeborener Syndrome nicht sicher auszuschließen. Außerdem wird das vollentwickelte Erwachsenen Gehirn auf ischämische Insulte anders reagieren als das kindliche Gehirn, das sich noch in der Entwicklungsphase befindet (BELLINGER, 2003).

2.4.2 Ätiologie und Pathophysiologie von Entwicklungsdefiziten

Kinder mit kongenitalen Herzfehlern haben häufig neurologische und intellektuelle Entwicklungsdefizite. Die Ursachen hierfür sind multifaktoriell und können sowohl prä-, intra- als auch postoperative Faktoren umfassen (LIMPEROPOULOS et al., 2002).

Präoperative Risikofaktoren

Zentralnervöse Schädigungen vor Herzoperationen bei Säuglingen oder Kleinkindern entstehen häufig in Zusammenhang mit angeborenen, genetischen oder auch sekundären Komplikationen.

Komplexe Krankheitsbilder, wie zerebrale Dysgenese oder verschiedene chromosomale Syndrome, zum Beispiel Trisomie 21, beinhalten häufig kongenitale Herzdefekte und zentralnervöse Schädigungen (DU PLESSIS, 1997b). So gehörte in einer Studie bei Säuglingen Mikroenzephalie neben präoperativem neurologischem Entwicklungsstatus, Art der Herzerkrankung und Alter des Patienten bei der Operation zu präoperativen Risikofaktoren für persistierende Entwicklungsdefizite (LIMPEROPOULOS et al., 2002). Auch APOE 4 Genotyp war in einer Studie bei einjährigen Kleinkindern nach Herzoperation als Säugling mit signifikant geringerer psychomotorischen Leistungsfähigkeit assoziiert, unabhängig von sozioökonomischen oder ethnischen Einflüssen, Art des Herzdefekts oder Anwendung des tief hypothermen Kreislaufstillstandes (GAYNOR et al., 2003). Sekundäre Gehirnanomalien können bereits in utero oder bei der Geburt in Folge einer defekten Herzanatomie und Physiologie entstehen, lassen sich aber bei Säuglingen und Kleinkindern zum Beispiel in Studien mit glialen Proteinen als Markern nur sehr schwer feststellen (BOKESCH et al., 2002).

Als unmittelbare häufige Begleiterscheinung hämodynamisch instabiler Herzdefekte trug chronische Hypoxämie bei Kleinkindern nicht nur zu prä-, sondern auch zu perioperativ gestörten antiinflammatorischen Zytokinbalancen bei. Was wiederum in Folge einer systemischen Entzündungsreaktion zur postoperativen Morbidität beitragen könnte (HOVELS-GURICH et al., 2002b). Darüber hinaus konnten bei Schulkindern mit schwerer präoperativer Azidose und Hypoxie gehäuft reduzierte motorische Funktionen (HOVELS-GURICH et al., 2002c) und von den Eltern berichtete soziale Probleme (HOVELS-GURICH et al., 2002a) detektiert werden.

Intra- und postoperative Risikofaktoren

Zentralnervöse Schädigungen nach chirurgischen Eingriffen am offenen Herzen wurden in der Vergangenheit für gewöhnlich intraoperativen ischämischen Ereignissen während EKZ, tief hypothermem Kreislaufstillstand oder Reperfusions- und Wiedererwärmungsphase angelastet (TAYLOR, 1998b; BELLINGER et al., 1999). Wahrscheinlich verschlimmern diese Faktoren bereits bestehende, durch andere präoperative Stressoren mitverursachte Schädigungen (DEL NIDO, 2002). Zu den intra- bzw. postoperativen Risikofaktoren zählen hämodynamische Insuffizienz, pH-Management, zerebrale Hyperthermie sowie tief hypothermer Kreislaufstillstand und dessen Gesamtdauer.

Insbesondere die intra- und postoperative hämodynamische Insuffizienz während einer Herzoperation im Säuglingsalter kann zu neurologischen und motorischen Dysfunktionen sowie zahlreichen Verhaltens- und Aufmerksamkeitsproblemen noch im Schulalter führen (HOVELS-GURICH et al., 2002a; HOVELS-GURICH et al., 2002c). Die Wahl des intraoperativen pH-Managements wird kontrovers diskutiert. In der Literatur wurde bei Eingriffen am offenen Herzen von Kindern häufig der pH-stat-Strategie Vorrang gewährt (HICKEY, 1998). Dagegen wird bei Erwachsenen die alpha-stat-Strategie favorisiert (MURKIN et al., 1995). Auch Einflüsse zerebraler Hyperthermie, bei Kindern während der Wiedererwärmungs- bis weit in die Erholungsphase hinein (BISSONNETTE et al., 2000), sollen bei der multifaktoriellen Ätiologie von zentralnervösen Schäden nach EKZ und tief hypothermem Kreislaufstillstand eine Rolle spielen. Sowohl die Anwendung des tief hypothermen Kreislaufstillstandes als auch die kontinuierlich weitergeführte EKZ mit niedriger Flussrate sind mit erhöhtem Risiko für neurologische und intellektuelle Leistungseinbußen verbunden. Die Dauer des Kreislaufstillstandes erhöhte in anderen Studien das Risiko für persistierende intellektuelle Entwicklungsdefizite (LIMPEROPOULOS et al., 2002) sowie neurologische und sprachliche

Dysfunktionen (HOVELS-GURICH et al., 2002c). Zusammenfassend wird jedoch die Wahl des Verfahrens (tief hypothermer Kreislaufstillstand vs. kontinuierliche EKZ) kontrovers diskutiert, zumal einige Operationen den tief hypothermen Kreislaufstillstand benötigen und nicht mit kontinuierlichen Verfahren durchgeführt werden können. Dazu zählen unter anderem Korrekturoperationen von einer Transposition der großen Gefäße oder von kardialen Kammerdefekten, Operationen am ascendierenden Aortenbogen und Pulmonalarteriembolotomien.

Die Risikofaktoren für zentralnervöse Schäden nach tief hypothermem Kreislaufstillstand bei Erwachsenen entsprechen den bereits erörterten Risikofaktoren nach EKZ (GRIEPP und GRIEPP, 1992; ERGIN et al., 1994; HAGL et al., 2001).

Pathophysiologische Mechanismen

Die mit tief hypothermem Kreislaufstillstand assoziierte Pathophysiologie ist vermutlich multifaktoriell. Trotzdem stellt die globale Ischämie während Arrest und die nachfolgende Reperfusionsschädigung des Gehirns möglicherweise den Hauptfaktor dar. Topografisch erscheint diese zentralnervöse Schädigung diffus, im Gegensatz zum multifokalen und fokalen Erscheinungsbild im Zuge embolischer und inflammatorischer Ereignisse. Ausgelöst werden kann eine hypoxische Ischämie bzw. Reperfusionsschädigung durch Störung des empfindlichen Gleichgewichts zwischen zerebralem Sauerstoff-Angebot und -Bedarf (DU PLESSIS, 1997a).

Auf zellulärer Ebene setzt die Ischämie verschiedene biochemische Reaktionen in Gang, zum Beispiel bindet Glutamat an den N-methyl-D-aspartat (NMDA) -Rezeptor, dadurch folgt ein intrazellulärer Ca^{2+} Anstieg und eine Aktivierung von Proteasen, Phospholipasen, DNAasen, freien Radikalen, usw. Im Gegenzug schädigen diese Reaktionen die Zellorganellen, die wiederum eine Vielzahl biochemischer und genetischer Reaktionen in Gang setzen, wodurch ultimativ das Schicksal der Zelle besiegelt wird: Zelltod oder Erholung (KURTH und STEVEN, 2000). Zelltod kann entweder programmiert, im Zuge der Apoptose (nach milder bis moderater Ischämie), oder unkontrolliert als Nekrose (nach schwerer Ischämie) erfolgen (MACMANUS und LINNIK, 1997).

Die Aktivität schädigender Enzymsysteme kann mit Hypothermie verringert werden (BUSTO et al., 1989), was neben verschiedenen anderen pathophysiologischen Mechanismen beim neuroprotektiven Effekt der Hypothermie vermutlich eine wichtige Rolle spielt (WHITE, 1981). Durch Hypothermie können sich die Eigenschaften der Lipid-Doppelmembran der

Zelle verändern. Die dadurch entstehenden Phasenübergänge oder Änderungen im Fettsäuremuster entsprechen einer physiologischen Antwort der Zelle auf „Kältestress“ (SCHALLER und GRAF, 2003).

Allgemein betrachtet wird der neuroprotektive Effekt der Hypothermie hauptsächlich dem erniedrigten zerebralen Sauerstoffbedarf gemäß dem Q10-Prinzip zugeschrieben. Danach entspricht der Q10-Wert dem Faktor, um den die biochemische Reaktionsgeschwindigkeit bei einem Temperaturgradienten von 10 °C zu- oder abnimmt (GOTO et al., 1993). Experimentell konnte der Q10-Wert des Gehirnes durch Temperatursenkung von 37 bis 27 °C auf 27 bis 18 °C von 3 sogar auf 4,8 gesteigert werden (MICHENFELDER und MILDE, 1991). Dies bedeutet, dass eine Senkung der Körperkerntemperatur um 1 °C zu 9,6 % Stoffwechselreduktion führt, was in hoch aeroben Organen wie dem Gehirn besonders wichtig erscheint. Nach diesen Überlegungen könnte das Gehirn einen ischämischen Insult, anstatt wie bei 37 °C für 5 min, bei 17 °C für 72 min tolerieren (GOTO et al., 1993). Letztendlich ist die Ätiologie und Pathophysiologie, die zu zentralnervösen Schädigungen nach tief hypothermem Kreislaufstillstand führt, noch nicht vollständig verstanden, so dass ein enormer Forschungsbedarf besteht.

2.4.3 Einschränkungen klinischer Studien und Tiermodelle

Obwohl die Entwicklungsdefizite und POCD nach Herzoperationen mit tief hypothermem Kreislaufstillstand als bedeutendes Problem identifiziert wurden, bleibt deren Prävention und Therapie auch weiterhin problematisch. Diese Probleme ergeben sich vor allem aus Schwierigkeiten bei der Durchführung klinischer Studien. Erstens umfasst das Kollektiv von Kindern mit kongenitalen Herzdefekten eine sehr inhomogene Population, was sowohl variierende Herzdefekte als auch verschiedenste extrakardiale genetische Defekte anbelangt (KURTH und STEVEN, 2000). Zweitens gestaltet sich eine zuverlässige Bewertung des aktuellen Entwicklungsstandes von Säuglingen und Kleinkindern als äußerst kompliziert, weshalb eine Neubewertung im Schulalter mit gängigeren evaluierten Testmethoden vorzuziehen ist (SHARMA et al., 2000). Demzufolge verlangt eine konsequente Vorgehensweise bei klinischen Studien zur Untersuchung ätiologischer Faktoren oder neuroprotektiver Strategien ein großes Kollektiv, um sowohl die statistische Aussagekraft zu erhöhen, als auch eine Nachverfolgung über einen längeren Zeitraum zu gewährleisten (DEL NIDO, 2002). Diese Nachteile könnten mit experimentellen Tiermodellen überwunden werden (HINDMAN und TODD, 1999).

Zum jetzigen Zeitpunkt war die experimentelle Erforschung der Pathophysiologie zentralnervöser Schäden nach tief hypothermem Kreislaufstillstand hauptsächlich auf Großtiermodelle bei Lämmern (BOKESCH et al., 1996), Welpen (FOLKERTH et al., 1975) oder Ferkeln (MAULT et al., 1993) beschränkt. Nachteil dieser Tiermodelle war neben den hohen Kosten auch Mangel an verfügbaren Testmethoden neurologischer und kognitiver Funktionen. Mit der Wahl der Ratte als Versuchstier sollen diese Hindernisse überwunden werden. Darüber hinaus wurden bei dieser Spezies bereits Effekte zerebraler Ischämie hinsichtlich mikromorphologischer und neurokognitiver Veränderungen sowie Verhaltensvariablen extensiv untersucht (GINSBERG und BUSTO, 1989; GIONET et al., 1991) und die Anwendung einer vollständigen EKZ mit längerfristiger Nachuntersuchung bereits etabliert (MACKENSEN et al., 2001; SWIRCZEK, 2005).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Zielvorstellung

Mit dieser Studie soll ein kliniknahes Überlebensmodell des tief hypothermen Kreislaufstillstandes bei der Ratte etabliert werden, das zum einen erlaubt, die Pathomechanismen, die der postoperativen zentralnervösen Schädigung zugrunde liegen, genauer zu untersuchen und außerdem geeignet erscheint, potentielle neuroprotektive Strategien präklinisch zu überprüfen.

Im einzelnen sollen folgende Fragestellungen untersucht werden: (1) ob ein tief hypothermer Kreislaufstillstand bei der Ratte nach gängigem klinischen Standard durchführbar ist, (2) ob steigende tief hypotherme Kreislaufstillstandzeiten mit dem Überleben vereinbar sind, (3) ob steigende tief hypotherme Kreislaufstillstandzeiten die neurologische Funktion, die kognitive Leistungsfähigkeit und das Verhalten beeinträchtigen (4) und ob diese Defizite mit histologischen Veränderungen assoziiert sind.

3.2 Material und Methodik

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß §8 des Deutschen Tierschutzgesetzes (TierschG i. d. F. vom 25.05.1998, BGBl I S. 1105 zuletzt geändert am 06.08.2002, BGBl I S. 3082) durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

3.2.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen werden an 34 männlichen, 10 bis 12 Wochen alten Sprague-Dawley Ratten (Charles River Deutschland GmbH, Sulzfeld) mit Gewichten zwischen 320 und 390 g durchgeführt. Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn werden die Ratten in Gruppen zu maximal fünf Tieren in Makrolon Käfigen Typ 4 für einen Zeitraum von mindestens zwei Wochen zur Adaptation an die neue Umgebung gehalten. Darauf folgt noch eine weitere Woche Aufenthalt im 80 x 60 x 50 cm großen Versuchskäfig (eigene Herstellung, undurchsichtiges graues PVC, Weiss, München) zur Gewöhnung an den neuen Käfig (siehe 3.2.5.1., Abbildung 17).

Futter (Altromin1324, Altromin GmbH, Lage-Lippe) und Wasser stehen den Tieren immer ad libitum über Futterraufen und Nippeltränken mit täglichem Wasserwechsel frei zur Verfügung.

Als Einstreu dient entstaubtes, entkeimtes Weichholzgranulat (AltrominFaser, Altromin GmbH, Lage-Lippe) mit zusätzlicher Anreicherung durch Heu und einer Lage Zellstoff, was zusammen mit der Einstreu jeden zweiten Tag erneuert wird.

Nach den Richtlinien für Versuchstierhaltung sind die Ratten in einem speziellen Raum mit einer durchschnittlichen Raumtemperatur von 22 ± 2 °C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 ± 15 % und einem Lichtrhythmus (hell / dunkel) von jeweils 12/12 Stunden untergebracht. Dabei erstreckt sich die Hellphase von 0:00 bis 12:00 Uhr, mit einer Lichtintensität von max. 60 Lux im Käfig, gemäß den Richtlinien für albinotische Tiere (GV-SOLAS, 1988). Zusätzlich werden die Tiere in der Hellphase von leiser Radiohintergrundmusik beschallt, damit sie sich an menschliche Geräusche gewöhnen können, was eine wichtige Rolle spielt für die folgenden Untersuchungen.

3.2.2 Versuchsplan

Der gesamte Versuch besteht aus zwei Phasen (siehe Abbildung 8): Der operativen Phase, in der die Tiere randomisiert verschiedenen Gruppen zugeteilt werden und für 0, 45, 60, 75, 90 oder 105 min einem tief hypothermen Kreislaufstillstand unterzogen werden (siehe 3.2.3) und der neurokognitiven Testperiode mit neurologischer Untersuchung (siehe 3.2.4) und modifiziertem Hole-Board (mHB) -Paradigma (siehe 3.2.5). Die neurologische Testperiode erstreckt sich vom präoperativem Tag -2 bis zum postoperativen Tag 3 und wird lediglich durch den Operationstag 0 unterbrochen. Die kognitive Testperiode schließt sich direkt an und reicht vom postoperativen Tag 4 bis 9, währenddessen Lernkurven der Tiere im mHB-Test erstellt werden. Die präoperative Habituation der Tiere an den mHB-Test und der sogenannte „Beginn der Lernphase“ am postoperativen Tag 2 und 3, wobei sich die Tiere lediglich an das mHB-Testverfahren gewöhnen sollen, können wegen unterschiedlich gestalteten Versuchsdurchläufen nicht in die eigentliche Lernkurve einfließen, werden aber in den folgenden Kapiteln (siehe Kapitel 3.2.5) ausführlich erläutert. Aus Übersichtsgründen sind sie in dem folgenden Schema (siehe Abbildung 8) nicht mit aufgeführt. Nach Unterbrechung der neurokognitiven Testperiode folgt am postoperativen Tag 12 beziehungsweise 14 ein sogenannter Wieder-

holungstest (Re-Test) mit neurologischer Untersuchung respektive mHB-Test. Abschließend werden die Gehirne histologisch untersucht und beurteilt (siehe 3.2.6).

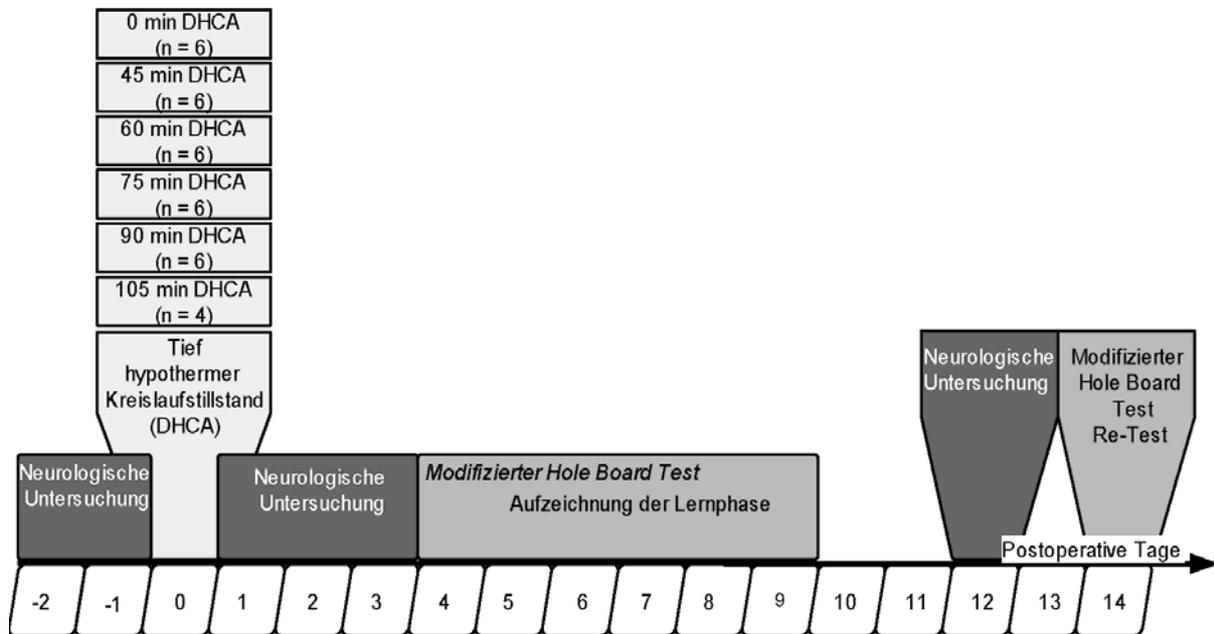


Abbildung 8: *Versuchsplan mit schematischem Überblick über die einzelnen Versuchspasen.*

3.2.3 Extrakorporale Zirkulation und tief hypothermer Kreislaufstillstand

Die operative Phase gliedert sich in insgesamt sechs Abschnitte, während der verschiedene anästhetische und operative Maßnahmen durchgeführt werden (siehe Abbildung 9). Im folgenden Schema soll ein Überblick über die einzelnen Operationsphasen gegeben, und der Zeit- und Temperaturverlauf exemplarisch verdeutlicht werden. Außerdem sind die verschiedenen Messzeitpunkte bzw. Überwachungszeiträume von physiologischen Parametern aufgeführt.

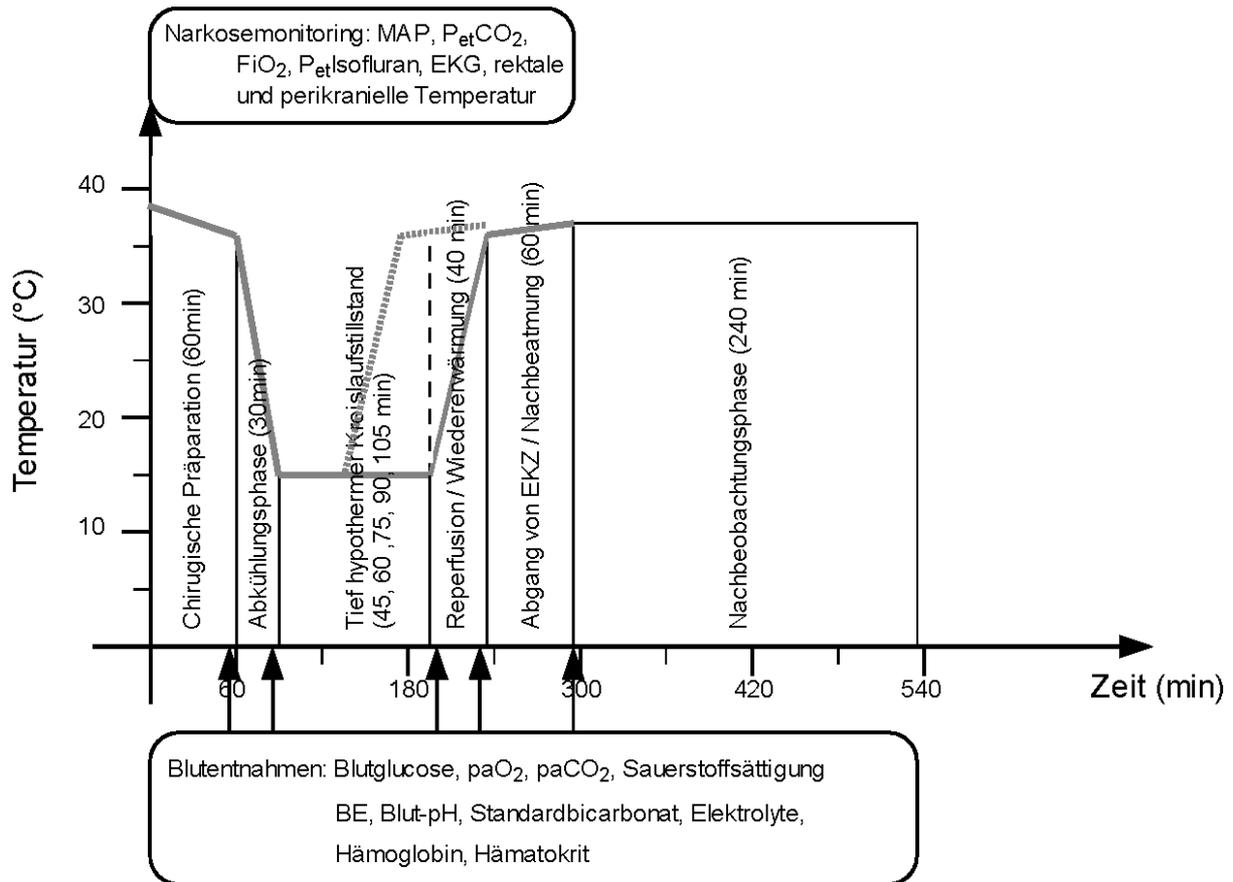


Abbildung 9: schematischer Zeit- und Temperaturverlauf der einzelnen Operationsphasen mit Narkosemonitoring und Blutentnahmen zu definierten Messzeitpunkten.

Die durchgezogene dicke Linie kennzeichnet den Temperaturverlauf nach der Zeit während den einzelnen Operationsphasen in der Gruppe mit der längsten tief hypothermen Kreislaufstillstand (DHCA) Zeit von 105 min. Die kürzeste DHCA Zeit von 45 min, nach der wieder erwärmt wird, ist dagegen fein gestrichelt dargestellt und soll den dementsprechend früheren Beginn der auf den tief hypothermen Kreislaufstillstand folgenden Operationsphasen verdeutlichen.

Über die gesamte Anästhesiedauer hinweg findet ein sehr genaues Narkosemonitoring statt. Die dabei gemessenen Parameter (siehe Abbildung 9) dienen der bestmöglichen Kontrolle, Überwachung und Anpassung der Anästhesie und gewährleisten dadurch einen möglichst konstanten Versuchsablauf.

Gemessene Parameter (Atmung, Blutdruck, Temperatur, Blutgase, Glucose)

Mit Hilfe eines Atemgasmonitors (Capnomac Ultima, Datex-Ohmeda GmbH, Duisburg) wird die endexpiratorische CO₂-Konzentration zwischen 35 und 42 mmHg gehalten. Außerdem werden damit die inspiratorischen und endexpiratorischen Sauerstoff- (FiO₂) und Isofluran-

konzentrationen gemessen. Atemfrequenz und Beatmungsdruck werden direkt über ein Kleintierbeatmungsgerät (Small animal ventilator, Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten) gemessen und zusammen mit den anderen Parametern kontinuierlich überwacht.

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wird während der EKZ über die A. epigastrica superficialis dextra invasiv gemessen, gemäß der jeweiligen Versuchsphase in engen Grenzen gehalten und zusammen mit Elektrokardiographie (EKG), Herzfrequenz und rektaler Temperatur auf einen Monitor (Eagle® 4000 Monitor, Fa. Marquette Hellige, Freiburg) übertragen. Dabei richtet sich ein sehr genaues Temperaturmanagement nach der rektalen Temperatur. Zusätzlich wird die perikranielle Temperatur über eine schädelnah in den rechten M. temporalis eingeführte Temperatursonde (Newport® Hypodermic Temperature Needle Probes, Hyp-1, Newport Electronics, USA) gemessen.

Wiederholte Blutgas- und Blutglucosemessungen finden zu genau definierten Zeitpunkten statt (siehe 3.3.1). Mit dem Blutgasanalysegerät (Rapidlab™ 860, Bayer Vital GmbH, Fernwald) werden folgende Parameter bestimmt: paO_2 , paCO_2 (arterieller Sauerstoff, bzw. Kohlendioxidpartialdruck), pH jeweils auch temperaturkontrolliert und Standardbicarbonat, BE (Basenabweichung), Elektrolyte (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}), Hämoglobin, Hämatokrit und Sauerstoffsättigung. Die Blutglucose-Konzentration wird mit einem Schnelltestgeräts (Glucometer® Elite™, Bayer HealthCare AG Diagnostics, USA) gemessen.

3.2.3.1 Chirurgische Präparation

Vorbereitend werden sämtliche Präparationsgebiete gemäß den aseptischen Kautelen der Chirurgie zuerst geschoren, mit einem Hautdesinfektionsmittel (Cutasept® F, Fa. Bode, Hamburg) besprüht und lokal mit Lidocainhydrochlorid (Xylocain 2 %, Astra Zeneca, Großbritannien) anästhesiert. Da die Tiere während der EKZ vollheparinisiert sind, wird auf eine gute Blutstillung besonders geachtet.

Zur Präparation der Gefäßzugänge wird die Haut eröffnet, das subkutane Fettgewebe stumpf durchtrennt, die zugehörige Arterie, respektive Vene, Nerv und umgebendes Bindegewebe vorsichtig abgetrennt und das zu kanülierende Gefäß isoliert dargestellt. Das Gefäß wird distal ligiert (4-0 PH-Seide, Ethicon®, Ethicon GmbH, Norderstedt) und proximal von einer zweiten Ligatur nur lose umschlungen, damit der später eingeführte Katheter fest fixiert werden kann. Durch Auftropfen von Lidocainhydrochlorid dilatiert das Gefäß und wird so besser dar-

gestellt. Zusätzlich wird das Gebiet nochmals lokal anästhesiert. Mit einer mikrochirurgischen Schere wird nun die Gefäßwand inzidiert, der mit heparinierter Vollelektrolytlösung (Thomaejoninlösung®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) gefüllte Katheter vorsichtig eingeführt und anschließend die vorgelegte Ligatur um Katheter und Gefäßwand geknotet. Abschließend werden die Wundränder mit einer Ligatur (4-0 Prolene™, Ethicon®, Ethicon GmbH, Norderstedt) adaptiert und mit einem in physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Tupfer bedeckt, um Austrocknung des Wundgebietes zu vermeiden.

Kanülierung und Katheter

Die Schwanzarterie (A. sacralis mediana) wird über einen medianen Zugang auf der Ventralseite des Schwanzes mit einem Venenverweilkatheter (20 GA, Insyte-W™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) kanüliert, der während Durchführung der EKZ als arterielle Zuflusskanüle dient (siehe Abbildung 11). Da die A. sacralis mediana in sehr flachem Winkel in die Aorta abdominalis übergeht, ist sie für den Blutzufuhr während der EKZ ideal geeignet. Anschließend erhält das Tier 150 I.E. Heparin Natrium (Liquemin® N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen), was einer Vollheparinisierung entspricht.

In die A. epigastrica superficialis dextra wird über eine Inzision in der rechten Inguinalgegend ein angespitzter Polyethylen-Katheter (PE 10, Intramedic™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) eingeführt, der während der EKZ der invasiven Blutdruckmessung dient.

Ein Zugang zur V. jugularis externa dextra, die im Sulcus jugularis zwischen dem M. brachiocephalicus und dem M. sternooccipitalis verläuft, wird über die rechte caudoventrale Halsseite paramedian erreicht. Während der EKZ gewährleistet ein großlumiger 4,5 Fr Katheter (eigene Herstellung) mit mehreren Stanzlöchern die venöse Drainage (siehe Abbildung 11), indem er bis in den rechten Vorhof vorgeschoben wird. Dadurch können auch die V. cava caudalis und V. cava cranialis dextra und sinistra, die bei Ratten regelhaft vorkommen, vollständig drainiert werden.

Anästhesie während der Präparation

Vor Beginn der Anästhesie werden die Tiere einer kurzen Allgemeinuntersuchung unterzogen, um sicherzustellen, dass die Untersuchungen nur an gesunden Tieren durchgeführt werden.

Zur Einleitung werden die nicht nüchternen Ratten in eine Ganzkörperkammer mit 3,0 Vol% Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) in 100 Vol% Sauerstoff gesetzt. Nach Eintritt der Bewusstlosigkeit erfolgt die endotracheale Intubation mit Hilfe eines modifizierten Nasenspekulums mit integrierter Fieberglassoptik, verbunden mit einer kleinen Taschenlampe. Als Tubus dient dabei ein Venenverweilkatheter (16 GA, Venflon™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg). Anschließend wird das Tier an ein Kleintierbeatmungsgerät angeschlossen und mit 2 bis 2,5 Vol% Isofluran in ca. 45 % Sauerstoff und ca. 55 % Druckluft mit einer Frequenz von 50 bis 60 / min druckkontrolliert beatmet. Hierbei handelt es sich um ein halboffenes System ohne Rückatmung mit konstanter Frischgaszufuhr von 0,8 l / min, Gasabsaugung und vorgeschaltetem Präzisionsverdampfer. Zur Analgesie erhält das Tier repetitiv 5 µg Boli Fentanyl (Janssen-Cilag GmbH, Neuss) appliziert, um einen MAP von 70 bis 90 mmHg zu gewährleisten. Zusätzlich bekommt das Tier als Schutz vor Austrocknung Augensalbe (Bepantene® Augen- und Nasensalbe, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) und einen mit physiologischer Kochsalzlösung getränkten Tupfer auf die Maulschleimhaut.

3.2.3.2 Abkühlungsphase mit Extrakorporaler Zirkulation

Die Herz-Lungen-Maschine (HLM) besteht aus einem venösen Reservoir (Plexiglas®, Dipl. Ing. M. Humbs, Valley), einer Rollerpumpe (Masterflex®, Cole-Parmer Instrument Co., USA), einem speziell für Ratten entwickelten Membranoxygenator mit integriertem Wärmetauscher und einem im arteriellen Schenkel zwischengeschalteten Flowmeter (T206 small animal blood flow meter, Transonic Systems Inc., USA) zur kontinuierlichen Messung des erreichten Blutflusses (siehe Abbildung 10). Der Membranoxygenator besteht aus einer dreischichtigen, kreuzweise übereinander geklebten Diffusionsmembran (Hohlfasermembran, Jostra AG, Hirrlingen), zwischen zwei 12,8 x 12,8 x 2,7 cm großen Plexiglasplatten, wodurch eine Gasaustauschfläche von 558 cm² entsteht (siehe Abbildung 12). Die einzelnen Bestandteile der HLM sind durch Silikonschläuche (Innendurchmesser = 1,6 mm, Tygon®, Cole-Parmer Instrument Co., USA) miteinander verbunden.

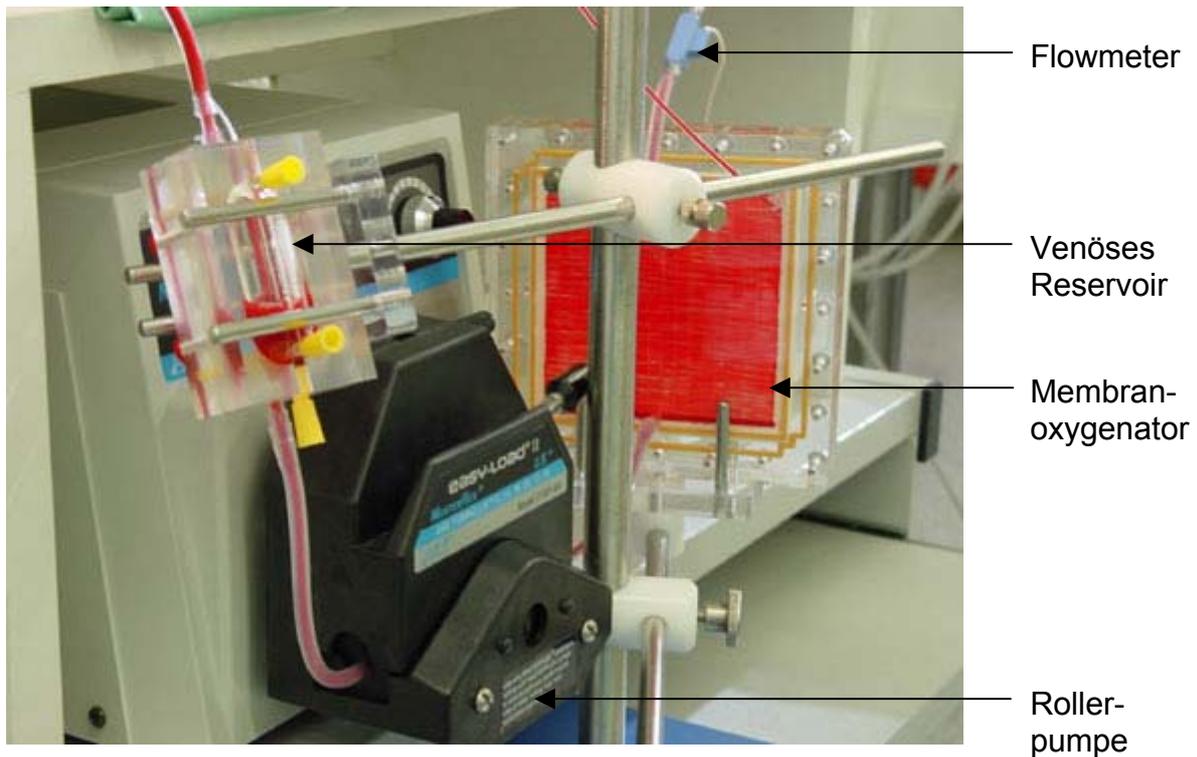


Abbildung 10: Herz-Lungen-Maschine mit venösem Reservoir, Rollerpumpe, Membran-oxygenator, Flowmeter und verbindenden Silikonschläuchen.

Über Schwerkraftdrainage gelangt das venöse Blut aus dem rechten Vorhof zunächst in das venöse Reservoir. Von dort pumpt die Rollerpumpe das Blut weiter in den Oxygenator, worin es über die Diffusionsmembran (siehe Abbildung 12) mit den nötigen Narkosegasen und Sauerstoff angereichert wird, um anschließend über die arterielle Zuflusskanüle wieder in den Körperkreislauf des Tieres zu gelangen (siehe Abbildung 11).

Zu Beginn der EKZ wird der HLM-Kreislauf mit 10 ml Hydroxyethylstärke (HAES 60 mg / ml, Voluven®, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg) gefüllt, in der üblichen Terminologie auch „priming“ genannt, dadurch bedarf es keines zusätzlichen Spenderblutes. Initial beträgt der HLM-Fluss, entsprechend dem physiologischen Herzminutenvolumen der Ratte in Ruhe, 160 bis 180 ml / kg / min. Während der anschließenden 30-minütigen Abkühlungsphase wird die Flussrate sukzessive auf 90 bis 95 ml / kg / min reduziert und währenddessen durch direkte und indirekte Kühlung eine rektale Zieltemperatur von 15 bis 18 °C angestrebt. Zur indirekten Oberflächenkühlung befindet sich unter dem Tier eine temperaturgesteuerte Kühl- bzw. Wärmematte. Darüber hinaus vermittelt die Wärmetauscherfunktion des Oxygenators die direkte Kernkühlung, indem das vorbeiströmende Blut nur durch eine dünne Plexiglasschicht vom temperaturgesteuerten Wasserbad (Polystat Control cc2, Peter Huber Kältemaschinenbau

GmbH, Offenburg) getrennt ist und so im Gegenstromaustauscherprinzip die Temperaturgradienten ausgeglichen werden können (siehe Abbildung 12).



Abbildung 11: Extrakorporale Zirkulation bei der Ratte mit der Herz-Lungen-Maschine.

Anästhesie während der Extrakorporalen Zirkulation

Während der Abkühlungsphase wird die Anästhesie durch Isofluran (1,0 bis 1,5 Vol%) und repetitiv Fentanyl (5 µg Boli) aufrecht erhalten. Zusätzlich werden die Tiere mit 1,6 mg / h Cisatracurium (Nimbex®, GlaxoSmithKline GmbH & Co KG, München) relaxiert. Während der EKZ wird ein positiv endexpiratorischer Druck (5 cmH₂O) durch einen kontinuierlichen positiven Atemwegsdruck (CPAP) zur Beatmung aufrecht erhalten, um schwerwiegenden atelektatischen Veränderungen der Lunge vorzubeugen.

Die physiologischen Parameter, wie Blutdruck, rektale und perikranielle Temperatur, Blutgase (temperaturkorrigiert, pH-stat) und Blutglucose, werden wiederholt gemessen, aufgezeichnet und die Blutglucose-Konzentration mit 0,1 bis 0,2 ml einer 50 %igen Glucose-Lösung (DeltaSelect GmbH, Pfullingen) über 70 mg / ml gehalten.

Gegen Ende der Abkühlungsphase verlangsamt sich die Herzfrequenz deutlich, die QRS-Komplexe erscheinen im EKG breiter und der MAP fällt.

3.2.3.3 Tief Hypothermer Kreislaufstillstand

Ist die Körpertemperatur von 15 bis 18°C am Ende der Abkühlungsphase erreicht, wird die HLM abgeschaltet und das Tier bei geschlossener arterieller Zuflusskanüle und geöffneter venöser Drainage passiv entblutet, um eine Dilatation des ansonsten blutgefüllten Herzens während des Kreislaufstillstandes zu vermeiden. Dabei sistiert die bei tiefen Temperaturen nur noch sehr langsame Herzfrequenz und der tief hypotherme Kreislaufstillstand wird ohne kardioplege Substanzen erreicht. Er ist gekennzeichnet durch Asystolie und einen MAP von null und wird für unterschiedliche Zeiten (45, 60, 75, 90 oder 105 min) beibehalten bei einer Temperatur von 15 bis 18 °C (siehe Abbildung 9). Tiere der Gruppe mit 0 min tief hypothermem Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit) werden nach der Abkühlungsphase ohne Abgang von der HLM und deshalb ohne Kreislaufstillstand oder 0 min DHCA-Zeit, sofort nach Erreichen der Zieltemperatur, wieder erwärmt.

Anästhesie während des tief hypothermen Kreislaufstillstandes

Während des hypothermen Kreislaufstillstandes wird die Anästhesie komplett unterbrochen und die Tiere für diesen Zeitraum nicht ventiliert (siehe Abbildung 11).

3.2.3.4 Reperfusion und Wiedererwärmung mit EKZ und HLM

Mit Hilfe der Wärmematte, eines Warmluftgebläses (WarmTouch® 5200, Nellcor, USA) und des Wärmetauschers des Oxygenators der HLM (siehe Abbildung 12) wird das Tier zum Ende der DHCA-Zeit sofort wieder aktiv über einen Zeitraum von 40 min auf eine Temperatur von 35,5 °C erwärmt. Dies entspricht einem Temperaturgradienten von 0,5 °C / min. (Weil das Gehirn bei einer zu schnellen Wiedererwärmung eventuell geschädigt werden könnte, muss dieser Prozess langsam erfolgen.) Gleichzeitig wird das Tier wieder an die HLM angeschlossen und deren Flussrate sukzessiv bis auf physiologische Ausgangswerte von 160 bis 180 ml / kg / min erhöht.

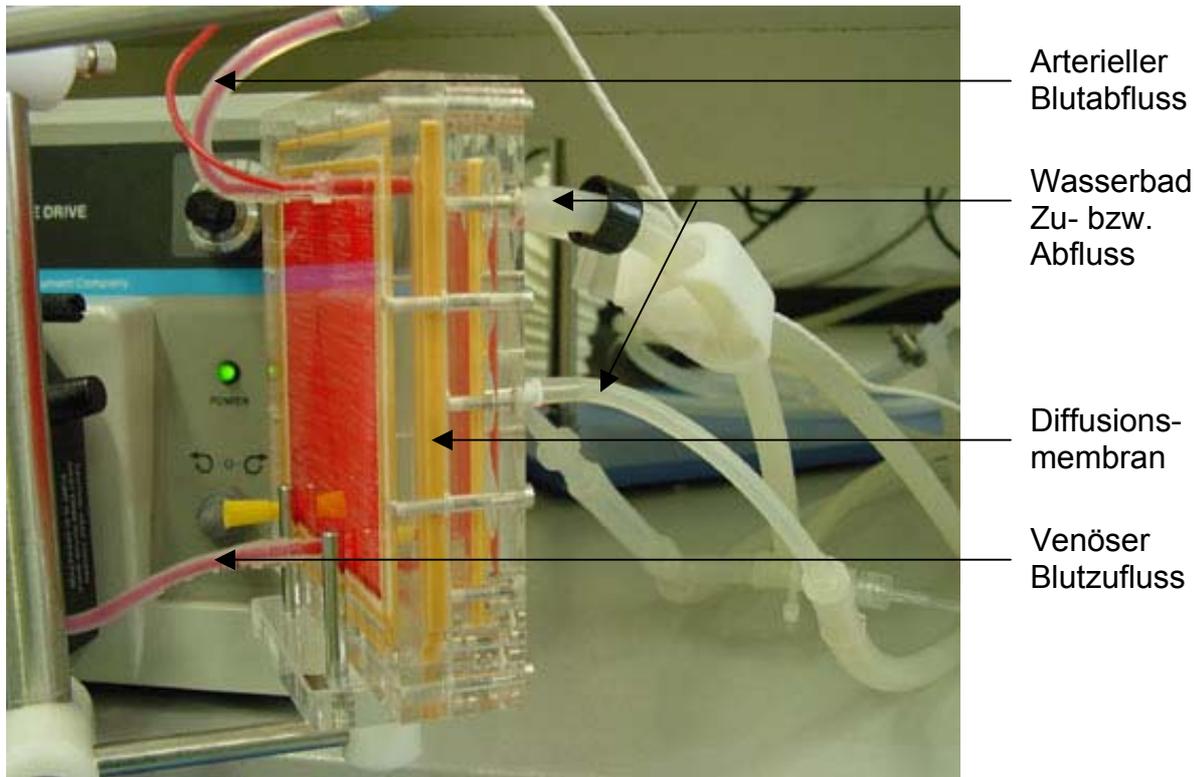


Abbildung 12: Membranoxygenator mit integrierter Wärmetauscherfunktion.

Anästhesie während der Wiedererwärmungsphase

Die Anästhesie zur Reperfusion- und Wiedererwärmungsphase wird analog zur Abkühlungsphase vor dem tief hypothermen Kreislaufstillstand (siehe 3.2.3.2) mit 1,0 bis 1,5 Vol% Isofluran in 100 % Sauerstoff, 5 µg Boli Fentanyl und 1,6 mg / h Cisatracurium fortgesetzt.

Mit steigenden Temperaturen fängt das Herz ohne medikamentöse Intervention nach Kammerflattern und Kammerflimmern wieder von alleine an zu schlagen und erreicht nach Einsetzen von Ersatzrhythmen mit breiten QRS-Komplexen wieder den ursprünglichen Sinusrhythmus.

Um den MAP bei über 50 mmHg zu halten, bekommt das Tier zusätzlich 20 µg / ml Norepinephrinhydrochlorid (Aterenol® 1ml, Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt am Main) in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt repetitiv verabreicht, sobald eine periphere Körpertemperatur von über 30 °C erreicht ist. Azidotische Verschiebungen werden mit Natriumhydrogencarbonat 84 mg / ml (DeltaSelect GmbH, Pfullingen) nach der Formel Bicarbonat = $-BE \times 0,3 \times \text{kg KGW}$ ausgeglichen. Bei hypoglycämischen Zuständen (Blutglucose < 80 mg / dl) wird 0,1 bis 0,2 ml einer 50 %igen Glucose-Lösung (DeltaSelect GmbH,

Pfullingen) titriert verabreicht. Auch Calcium wird substituiert, um einen Abfall auf Konzentrationen unter 1 mmol / l zu vermeiden. Dazu gibt man zu dem durch Zentrifugieren erhaltenen Erythrozytenkonzentrat pro einem ml 0,1 ml einer 10 %igen Calciumgluconat-Lösung (Calcium Braun 10 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) und transfundiert die erhaltene Lösung während 30 min langsam über die EKZ dem Tier. Je nach Blutgasanalyse wird nochmals 0,1 ml Calciumgluconat verabreicht.

Das Abklingen der antikoagulatorischen Eigenschaften der Vollheparinisierung wird ohne Zugabe von Antagonisten (zum Beispiel Protamin) abgewartet.

3.2.3.5 Abgang von Extrakorporaler Zirkulation und Nachbeatmung

Nach Ende der Wiedererwärmungsphase werden die Tiere von der Herz-Lungen-Maschine diskonnektiert, indem der arterielle und venöse Zu- bzw. Abfluss unterbrochen wird. Um eine physiologische Homöostase wiederherzustellen erstreckt sich die Nachbeobachtungsphase über eine Stunde. In diesem Zeitraum wird Blut aus dem Kreislauf entnommen und zentrifugiert (2000 RPM / 10 min). Der Überstand wird abpipettiert und das verbleibende Erythrozytenkonzentrat mit HAES auf einen Hämatokrit von 50 % verdünnt und langsam über die Schwanzarterie retransfundiert.

Abschließend werden die Katheter der V. jugularis externa, A. epigastrica superficialis und der Schwanzarterie entfernt, die Anästhesie beendet und das Tier zur Aufwachphase in die mit Sauerstoff angereicherte Anästhesiebox gesetzt.

Anästhesie während der Nachbeatmungsphase

Nach Abgang von der HLM bleiben die Tiere noch eine weitere Stunde anästhesiert (1,5 bis 2,0 Vol% Isofluran in 60 bis 80 % Sauerstoff), intubiert und kontrolliert beatmet.

Entsprechend der Blutgas- und Elektrolytanalyse werden in bereits oben erläuterten Art und Weise Natriumhydrogencarbonat und Calciumgluconat verabreicht. Eine abschließende Blutgasanalyse findet nach einer Stunde Nachbeobachtung vor Entfernung der Katheter statt.

3.2.3.6 Nachbeobachtungsphase

Nachdem das Tier wieder spontan suffizient atmet, wird es extubiert und nach dem Aufwachen in einer mit Sauerstoff angereicherten Narkosebox für weitere 4 Stunden beobachtet. Darin verbleibt es bei freiem Zugang zu Wasser und Futter für weitere 12 Stunden.

Alle Tiere, die innerhalb einer Stunde nicht aus der Narkose erwachen, werden einer Hirntoddiagnostik zugeführt (Pupillomotorik, Reaktion auf starke Schmerzreize oder Terminierung der Beatmung) und nach Feststellung des Hirntodes in tiefer Isoflurannarkose entblutet. Tiere, die mit einer ausgeprägten neurologischen Schädigung (zum Beispiel Halbseitensymptomatik, Unfähigkeit zu ambulieren (die Umgebung zu erkunden) oder ohne selbständige Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme) aus der Narkose erwachen, werden nach 2 Stunden postoperativer Dauerüberwachung ebenfalls in tiefer Isoflurannarkose entblutet. Durch diesen frühen Tötungszeitpunkt wird lediglich eine mäßige Belastung für diese Tiere erwartet.

Die verbleibenden Tieren werden ab dem ersten postoperativen Tag täglich entsprechend eines etablierten Scores neurologisch untersucht.

3.2.4 Untersuchung der neurologischen Funktion

Postoperativ wird die neurologische Funktion der überlebenden Tiere täglich nach Versuchprotokoll von einem Untersucher bewertet, der gegenüber den verschiedenen Gruppen mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten geblindet ist.

Dabei werden neben Bewusstsein, Sensorik und Laufvermögen der Tiere auch die Leistung in sensorisch-motorischen Tests beurteilt. Diese aktiven Tests können Aufschluss geben über spezifische neurologische Defizite, die durch passives Beobachten allein nicht zu erkennen wären (COMBS und D'ALECY, 1987). Die sensorisch-motorischen Tests umfassen in dieser Studie Gleichgewicht im Balkentest (Beam-Walking- und Beam-Balance-Test) sowie Greif- und Haltevermögen (Drahtgitter- und Greif-Zug-Test).

3.2.4.1 Zeitlicher Verlauf

Bereits zwei Tage vor der Operation (Tag -2) werden alle Tiere der ersten neurologischen Untersuchung unterzogen. Einerseits sollen sich die Tiere dadurch an aktive Tests gewöhnen,

andererseits sollen zum Zeitpunkt der Operation alle Tiere einen möglichst identischen, standardisierten neurologischen Status aufweisen. Neurologisch auffällige Tiere können erkannt und vorzeitig von der Studie ausgeschlossen werden. Die zweite, ab diesem Zeitpunkt auch erstmals dokumentierte, neurologische Untersuchung am Tag vor der Operation (Tag -1) stellt einen Ausgangswert zur Beurteilung der erhobenen Daten nach der Operation dar. (Eine längere Vorkonditionierung der Tiere findet deshalb nicht statt, weil Trainingseffekte vermieden werden sollen, die Unterschiede zwischen den Gruppen beeinflussen könnten.)

Am ersten Tag nach der Operation (Tag 1) beginnt die aufgezeichnete dreitägige Testphase. Nach einer Pause schließt ein Wiederholungstest (Re-Test, RT) am postoperativen Tag 12 die neurologische Untersuchung für dieses Tier ab.

Wenn ein Tier laut Versuchsprotokoll am gleichen Tag einen mHB-Test zu absolvieren hat, findet die neurologische Untersuchung standardisiert erst am Ende statt.

3.2.4.2 Erfassung und Bewertung

Neurologische Defizite nach tief hypothermem Kreislaufstillstand können in verschiedenster Form und Ausprägung vorkommen. Sie möglichst vollständig zu erfassen, ist Ziel der neurologischen Untersuchung. Dazu zählen neben bereits im Tierabteil oder im mHB-Test passiv beurteilbaren Parametern, wie Bewusstsein und Pflegeverhalten auch die Prüfung der Sensorik (siehe Tabelle 1) und der Motorik mit aktiven sensorisch-motorischen Tests (siehe Tabelle 2). In standardisierter Reihenfolge sind die unten aufgeführten Parameter und Tests nach dem Versuchsprotokoll durchzuführen und gemäß einem aufsteigenden Punkteschema zu bewerten und zu dokumentieren. Dabei entspricht eine Einzelbewertung von 0 Punkten der Bestleistung. Dementsprechend ist die erreichte Gesamtpunktezahl umso höher, je schlechter die Leistung in der neurologischen Untersuchung war. Außerdem sind bei einigen Tests zusätzlich genaue Zeiten zu dokumentieren und Kommentare bei Bedarf hinzuzufügen.

Seh- und Hörvermögen

Das Sehvermögen kann wesentlichen Einfluss auf das Verhalten der Tiere im modifizierten Hole-Board (mHB) -Test haben und wird deshalb bei den Tieren getestet, indem ein Wattebausch im rechten bzw. linken äußeren Sehfeld des Tieres lautlos und ohne das Tier zu berühren fallen gelassen wird. Dreht das Tier den Kopf in die jeweilige Richtung des Wattebau-

ches, gilt das Sehvermögen als normal = 0 Punkte. Scheint es auf einer Seite keine Reaktion zu zeigen, wird das Sehvermögen als eingeschränkt bewertet = 1 Punkt und bei keiner Reaktion auf beiden Seiten bekommt das Tier 2 Punkte (siehe Tabelle 1).

Das Hörvermögen wird anhand der Reaktion auf Händeklatschen hinter dem Rücken des Tieres bewertet. Dreht das Tier den Kopf oder zeigt eine vergleichbare Reaktion auf das Geräusch, wird das Hörvermögen als normal bewertet = 0 Punkte, zeigt es keine Reaktion, wird es als eingeschränkt bewertet = 1 Punkt (siehe Tabelle 1).

Vibrissenreaktion und Propriozeption

Die Vibrissenreaktion gilt neben der Propriozeption als Indikator der Sensibilität. Mit einer Pinzette streicht der Untersucher vorsichtig, möglichst außerhalb des Sehfeldes, seitlich über die Vibrissen des Tieres. Neigt das Tier den Kopf oder dreht es sich interessiert in die jeweilige Richtung, wird die Vibrissenreaktion als normal beurteilt = 0 Punkte. Zeigt es dagegen nur eine undeutliche oder verminderte Reaktion auf einer Seite, gilt die Vibrissenreaktion als eingeschränkt = 1 Punkt, sind beide Seiten betroffen = 2 Punkte und zeigt das Tier keine Reaktion auf einer Seite, bekommt es 3 Punkte, beziehungsweise 4 Punkte für keine Reaktion auf beiden Seiten. Die Vibrissenreaktion wird rechts und links getrennt bewertet (siehe Tabelle 1).

Die Propriozeption wird mit einer Pinzette beurteilt, die einmal kurz und kräftig gegen die rechte bzw. linke Abdominalgegend des Tieres gedrückt wird. Als Reaktion gilt wieder Kopf- oder Körperdrehung in die jeweilige Richtung, die analog zur Vibrissenreaktion bewertet wird (siehe Tabelle 1).

Bewusstsein und Pflegeverhalten

Häufig ist Bewusstsein und Pflegeverhalten ohne Manipulation des Tieres noch im Tierabteil oder im mHB-Test anhand des Verhaltens zur Gruppe (Absondern), am Haarkleid (struppig und rot verschmiert durch das Sekret der Harderschen Drüsen), an der Körperhaltung (aufgekrümmte Rückenlinie) oder an der Atmung (Hyperventilation) zu bewerten. Ein gesundes Tier besitzt sauberes, glatt glänzendes Fell und schläft entweder dicht an die anderen Gruppenmitglieder gedrängt oder exploriert neugierig seine Umgebung. Diese Parameter geben neben dem Allgemeinbefinden auch über einen ersten neurologisch-motorischen Eindruck, zum Beispiel über das Putzverhalten, Aufschluss. Auf einer Skala von null bis zwei Punkten

wird normales Bewusstsein mit null Punkten, gedämpftes oder ruheloses Erscheinungsbild mit zwei Punkten und lethargische Tiere mit vier Punkten bewertet (siehe Tabelle 1). Das Putzverhalten fließt in die Bewertung des Bewusstseins mit ein und wird deshalb zwar dokumentiert aber nicht extra im Punkteschema bewertet.

Tabelle 1: Bewertungsschema der sensorischen Funktionen

Kategorie	Grad der Beeinträchtigung						Punkte	Normal	
	0	1	2	3	4	5			6
Sehen	auf beiden Seiten	nur auf einer Seite	keine Reaktion	-	-	-	-	0-2	0
Hören	ja	nein	-	-	-	-	-	0-1	0
Vibrissenreaktion	normal auf beiden Seiten	verzögert auf einer Seite	verzögert auf beiden Seiten	keine auf einer Seite	keine auf beiden Seiten	-	-	0-4	0
Propriozeption	gleich auf beiden Seiten	verzögert auf einer Seite	verzögert auf beiden Seiten	keine auf einer Seite	keine auf beiden Seiten	-	-	0-4	0
Bewusstsein	normal	-	gedämpft	-	lethargisch	-	-	0-4	0

Die motorischen Fähigkeiten der Tiere werden bis auf zwei Ausnahmen bei der neurologischen Untersuchung beurteilt. Zu diesen Ausnahmen zählen die Fresszeit und die Anzahl frustraner Lochbesuche, die mit dem mHB-Test erfasst werden (siehe 3.2.5.6). Die Fresszeit errechnet sich aus der Zeit, die eine Ratte im mHB-Test durchschnittlich benötigt, um eine Futterbelohnung zu fressen, und gilt deshalb als Indikator der feinmotorischen Fähigkeiten. Die Anzahl frustraner Besuche eines gefüllten Lochs im mHB-Test gibt Aufschluss über die Geschicklichkeit und fließt deshalb in das Bewertungsschema der Motorik mit ein (siehe Tabelle 2).

Laufvermögen

Aussagen über Motorik, Muskelkraft, Stellreflexe und Gleichgewicht lassen sich bereits durch Beobachten der Tiere beim Laufen oder Klettern über Ebenen treffen. Dabei können Abweichungen von der physiologischen Fortbewegungsart der Ratte, die von eingeschränkter Mobilität bis hin zu Kreisbewegungen oder mangelnden Stellreflexen reichen, durch Laufen auf einer festen horizontalen Unterlage (Laufvermögen) beurteilt werden.

Wird ein gesundes Tier, um das Laufvermögen zu beurteilen, auf eine ebene Fläche abgesetzt, streckt es alle vier Gliedmaßen reflexartig dieser Fläche entgegen und beginnt, neugierig seine Umgebung zu explorieren. Dieses Normalverhalten wird mit null Punkten bewertet, eingeschränkte Motorik und Ataxie mit einem Punkt und Kreisbewegungen mit zwei Punkten (siehe Tabelle 2).

Gleichgewicht im Balkentest (Beam-Walking- und Beam-Balance-Test)

Zur Beurteilung von Gleichgewicht und Koordination muss das Tier eine definierte Strecke auf einem 2,5 cm breiten Balken zurücklegen (Beam-Walking-Test) und anschließend auf einem 1,5 cm breiten Balken eine bestimmte Zeit balancieren (Beam-Balance-Test). Beide quadratischen Balken bestehen aus unbearbeitetem Holz von 130 cm Länge und befinden sich in 40 cm Höhe. Eine weiche 7 cm dicke untergelegte Schaumstoffmatte federt die Tiere bei einem Sturz sanft ab.

Beim Beam-Walking-Test (FEENEY et al., 1982) soll das Tier dreimal eine Strecke von 100 cm über einen Balken ($d = 2,5$ cm) laufen (siehe Abbildung 13). Dabei entspricht eine Strecke einer Balkenlänge. Am Ende einer Strecke wird das Tier vorsichtig mit der Hand wieder in die entgegengesetzte Richtung dirigiert, um die Balkenlänge insgesamt dreimal hintereinander zu überqueren. Die ersten zwei Schritte des Tieres dienen der initialen Gleichgewichtsfindung und werden deshalb nicht gewertet. Die genaue Anzahl von Fehlritten sowie deren Lokalisation (rechts, links, Vorder- oder Hintergliedmasse) werden im Protokoll aufgezeichnet. Gleichzeitig werden auf einer Skala 0 bis 4 Punkte vergeben. Für weniger als drei Fehlritte werden null Punkte, für vier bis 10 Fehlritte ein Punkt, für 11 bis 20 Fehlritte zwei Punkte, für über 20 Fehlritte drei Punkte und für Immobilität oder Sturz vier Punkte vergeben (siehe Tabelle 2).



Abbildung 13: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Beam-Walking-Test.

Beim Beam-Balance-Test (COMBS und D'ALECY, 1987) soll das Tier für die Dauer von maximal 60 s auf einem Balken ($d = 1,5 \text{ cm}$) frei balancieren (siehe Abbildung 14). Dazu wird das Tier in einminütigen Abständen insgesamt dreimal auf den Balken gesetzt, und die balancierte Gesamtzeit in jedem Durchlauf gestoppt und notiert. Dabei bekommen die Tiere null Punkte für 50 bis 60 s, einen Punkt für 30 bis 49 s, zwei Punkte für 10 bis 29 s, drei Punkte für unter 10 s und vier Punkte für Loslassen und Sturz (siehe Tabelle 2).



Abbildung 14: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Beam-Balance-Test mit Messung der Balancezeit.

Greif- und Haltevermögen (Drahtgitter- und Greif-Zug-Test mit Symmetrie der Bewegungen)

Das Greif- und Haltevermögen aller vier Gliedmaßen wird beurteilt, indem sich das Tier auf einem unterschiedlich geneigten Drahtgitter eine bestimmte Zeit festhalten soll (Drahtgitter-Test). Außerdem wird das Greif- und Haltevermögen beider Vordergliedmaßen durch Hängen an einem Drahtseil getestet (Greif-Zug-Test) und die Symmetrie der Bewegungen, mit denen das Tier das Seil ergreift.

Der Drahtgitter-Test entspricht einer Variation des Screen-Tests (COMBS und D'ALECY, 1987) und dient als Indikator für die allgemeine Muskelkraft (siehe Abbildung 15). Dazu wird das Tier auf ein horizontal gehaltenes Drahtgitter (57 x 50 cm, Lochgitterabstand: 1 cm) gesetzt und vorsichtig zunächst in eine vertikale und schließlich in eine um 180° gedrehte Position gebracht, in der sich das Tier am Drahtgitter für maximal 5 s halten soll. Für Tiere ohne motorisch-neurologische Defizite stellt diese Übung kein Problem dar. In der allgemeinen Muskelkraft geschwächte Tiere können sich dagegen in unterschiedlichen Gradpositionen des Gitters nicht mehr oder weniger als die Maximaldauer (bei 180° gedrehtem Gitter) halten und lassen sich auf die in einem Abstand von 40 cm untergelegte Schaumstoffmatte fallen. Dabei kann gleichzeitig ein Vorhandensein des Umdrehreflexes geprüft werden. Denn einer physiologischen Reaktion der Ratte entspricht es, aus unterschiedlichsten Fallpositionen durch eine

reflexartige Körperdrehung stets auf allen vier, dem Boden entgegengestreckten Gliedmaßen zu landen. Die Bewertung erfolgt entsprechend der Tabelle 2.



Abbildung 15: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Drahtgitter-Test in 90° Position.

Im Greif-Zug-Test, einer Variation des Prehensile-Traction-Test (COMBS und D'ALECY, 1987), wird das Tier an der Schwanzbasis vorsichtig aufgenommen, und nachdem es mit beiden Vordergliedmaßen ein horizontal gespanntes Drahtseil (60 cm x 0,3 x 0,3 cm) gegriffen hat, schnell wieder losgelassen (siehe Abbildung 16). In zwei Durchläufen soll das Tier seine Muskelkraft für maximal 15 s unter Beweis stellen. Eine zusätzlich untergelegte Schaumstoffmatte federt auch hier das Tier bei vorzeitigem Loslassen des in 40 cm Höhe gespannten Seiles ab. Zusätzlich kann bei Aufnahmen des Tieres an der Schwanzbasis der Reflex getestet werden, in dieser Position die Gliedmaßen weit auszustrecken und den Körper anzuspannen. Ratten mit unilateralen Kortexläsionen neigen im Gegensatz dazu, in dieser Position sich nahezu sofort zur Schwanzbasis einzurollen und diese mit den Gliedmaßen zu greifen (KOLB und WHISHAW, 1985). Diese Symmetrie der Bewegungen wird, wie die Leistung im Greif-Zug-Test, entsprechend der Tabelle 2 bewertet.



Abbildung 16: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Greif-Zug-Test.

Tabelle 2: Bewertungsschema der motorischen Funktionen

Kategorie	Grad der Beeinträchtigung						Punkte	Normal	
	0	1	2	3	4	5			6
Laufen	normal	Ataxie	Kreisbewegung	-	-	-	-	0-2	0
Kraft im Drahtgitter-Test	>5s bei 180°	<5s bei 180°	nur bei 90°	nicht fähig	-	-	-	0-3	0
Balance im Beam-Balace-Test	50-60s	30-49s	10-29s	1-10s	nicht fähig	-	-	0-4	0-1
Koordination im Beam-Walking-Test	1-3	4-10	11-20	>20	nicht fähig	-	-	0-4	0
Symmetrie der Bewegungen	Symmetrie	verzögert auf einer Seite	Asymmetrie	-	-	-	-	0-2	0
Kraft im Greif-Zug-Test	11-15s	6-10s	1-5s	nicht fähig	-	-	-	0-3	0
Feinmotorik als Fresszeit (mHB-Test)	<20s	20-30s	30-45s	>45s	-	-	-	0-3	0
Geschicklichkeit als Anzahl frustrierender Lochbesuche (mHB-Test)	0	1	2	>2	-	-	-	0-3	0

3.2.5 Modifizierter Hole-Board-Test

Im Rahmen der täglichen neurologischen und kognitiven Verhaltensuntersuchung werden alle Tiere gemäß dem Versuchsprotokoll von einem gegenüber den unterschiedlichen Versuchsgruppen geblindeten Untersucher dem modifizierten Hole-Board-Test (mHB-Test) unterzogen.

3.2.5.1 Der Versuchskäfig

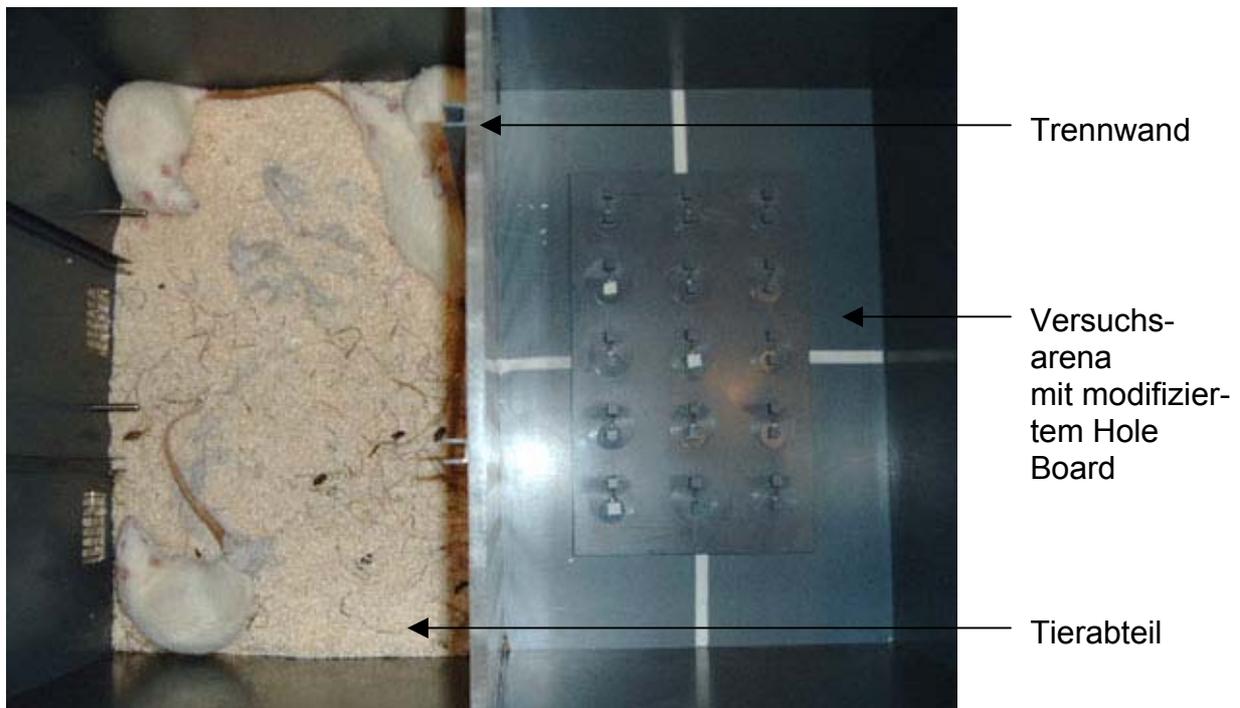


Abbildung 17: Versuchskäfig mit Tierabteil und modifiziertem Hole-Board in der Versuchsarena.

Der 80 x 60 x 50 cm große Versuchskäfig (eigene Herstellung, undurchsichtiges graues PVC, Weiss, München), abgedeckt mit einem abnehmbaren Drahtgitter (81 x 61 cm) mit Quadratlochung (1 x 1 cm, Moradelli, Kirchheim) hat zwei Funktionen. Zum einen dient er den Tieren als permanenter Aufenthaltsort, zur Gewöhnung bereits eine Woche vor dem eigentlichen Versuchsbeginn, und zum anderen wird darin auch der mHB-Test durchgeführt.

Während der Eingewöhnungsphase steht den Tieren der eingestreute Käfig noch in vollem Ausmaß zur Verfügung. Danach wird in die Mitte des Käfigs eine Trennwand, fixiert durch PVC-U-Profilschienen (13 x 15 x 1,5 mm, Länge je 50 cm, Karmann & Droll, Karlsfeld),

eingezogen, die den Käfig in zwei gleich große Hälften teilt (siehe Abbildung 17). Das von der Einstreu befreite Abteil stellt die Versuchsarena (Grundfläche: 40 x 60 cm) dar, während die andere eingestreute Hälfte als Tierabteil mit Futter- und Wasserzugang erhalten bleibt. Wenn die Tiere einen Durchlauf im mHB-Test absolvieren, verbringen sie maximal eine Zeit von 10 min entweder zu zweit (bei der Habituation, siehe 3.2.5.4) oder allein (bei der Aufzeichnung der Lernkurve, siehe 3.2.5.5) in der Versuchsarena. Da Ratten aber sehr gesellige Tiere sind, wird ihnen in diesem Versuchsaufbau eine Kontaktaufnahme auch während eines Testdurchlaufs durch die Trennwand hinweg ermöglicht. Zu diesem Zweck befinden sich Löcher ($\varnothing = 2$ cm) in der durchsichtigen Trennwand (d=1cm, durchsichtiges PVC, Weiss, München) mit jeweils 5 cm Abständen.

In der üblichen Fachterminologie wird der in Tierabteil („Wohnraum“) und Versuchsarena geteilte gesamte Versuchskäfig auch „Homecage“ genannt (siehe Abbildung 17).

3.2.5.2 Das modifizierte Hole-Board

Aufbau

Das mHB besteht aus einer undurchsichtig grauen, 40 x 25 x 1 cm großen PVC-Platte (eigene Herstellung, PVC, Weiss, München) mit 15 in drei Reihen gestaffelten Löchern ($\varnothing = 2$ cm). Dabei wird jedes Loch von einem Deckel ($\varnothing = 2,5$ cm) gleichen Materials, der über eine exzentrische Schraube beweglich am mHB fixiert ist, abgedeckt (siehe Abbildung 18). Damit der Deckel nach dem Öffnen wieder in die geschlossene Ausgangsposition zurückkehrt, wird er über eine Feder, die zwischen zwei Klötzchen (auf Deckel und Board) gespannt wird, automatisch wieder zurückgestellt.

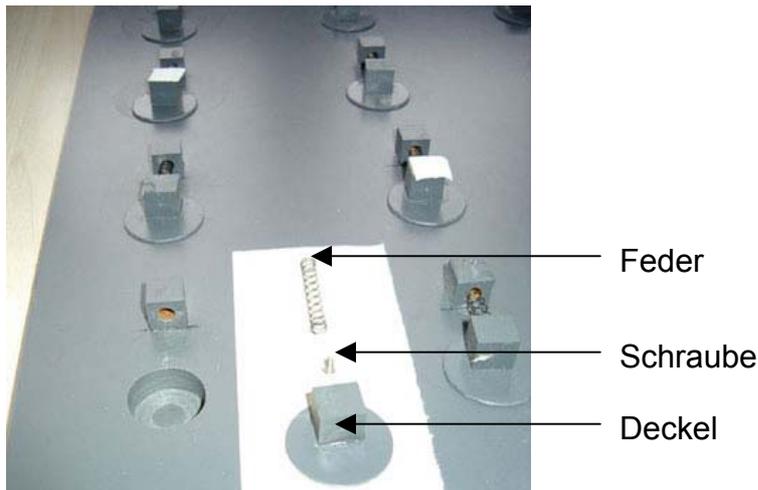


Abbildung 18: modifiziertes Hole-Board exemplarisch zerlegt in Feder, Schraube und Deckel.

Prinzip

Gemäß dem Prinzip des mHB-Tests werden die Löcher mit Nummern von eins bis 15 in bestimmter Reihenfolge bezeichnet (siehe Abbildung 19). Aber nur in jeweils drei der 15 Löcher befindet sich während eines Testdurchlaufs eine Futterbelohnung in Form von Puffreis (Frigeo, Remshalden), den die Ratte innerhalb der vorgegebenen Zeitspanne eines Durchlaufs (max. 10 min) finden, herausholen und anschließend fressen soll. Diese Löcher sind für das Tier visuell anhand einer Markierung erkennbar (siehe Abbildung 20). Die randomisierte Verteilung dieser drei gefüllten und markierten Löcher wechselt dabei mit jedem neuen Versuchstag, bleibt aber innerhalb der drei Durchläufe, die jedes Tier an einem Versuchstag zu absolvieren hat, konstant. Da sich das Tier im mHB-Test rein visuell-räumlich orientieren soll, um die Futterbelohnung unter dem markierten Deckel zu finden, Ratten aber im Allgemeinen über einen sehr guten Geruchssinn verfügen, wird der Eigengeruch von Puffreis und Markierung der gefüllten Löcher mit Johannisbeeraroma überdeckt. Aus einem ähnlichen Grund wird auch in der Nacht zwischen den Versuchstagen auf allen Deckeln des mHB eine Markierung angebracht, die zu Beginn der Vorbereitung am nächsten Versuchstag wieder entfernt wird. Dadurch soll einer Geruchsverstärkung länger markierter Deckel vorgebeugt werden, indem alles gleich riecht.

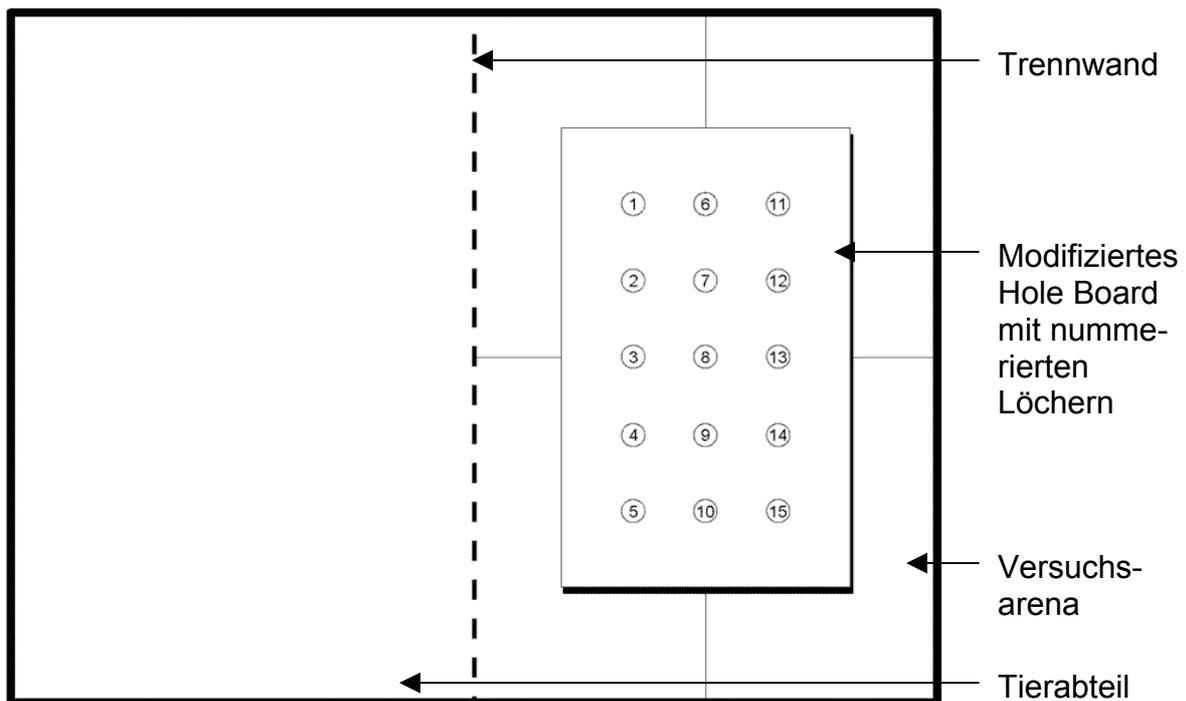


Abbildung 19: schematische Darstellung des mHB mit Nummerierung der Löcher in der Versuchsarena.

Vorbereitung

Um das mHB für einen Durchlauf vorzubereiten, werden zu Beginn alle Markierungen entfernt, alle Löcher vorsichtig mit einem in Johannisbeeraromalösung getränkten Tupfer ausgewischt und drei Markierungen in der je nach Versuchstag randomisierten Kombination auf dem Klötzchen des jeweiligen Deckels angebracht. Anschließend werden die so markierten Löcher mit Puffreis, der ebenfalls mit Johannisbeeraromalösung nur kurz benetzt wurde, befüllt (siehe Abbildung 20). Das für einen Versuchsdurchgang im mHB-Test fertig vorbereitete mHB kann nun vorsichtig mittig in die Versucharena gelegt werden, wobei darauf zu achten ist, dass alle Löcher von den Deckeln gut verschlossen sind, damit die Ratte den Puffreis aus einem unbeabsichtigt geöffneten Loch nicht sehen kann.

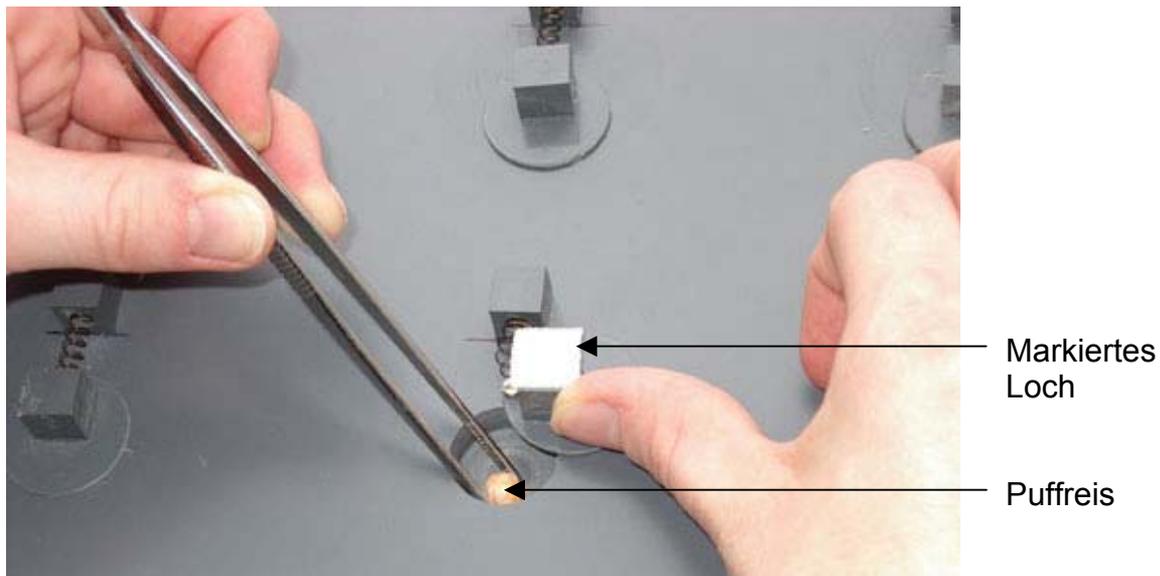


Abbildung 20: *Vorbereiten des modifizierten Hole-Boards mit Puffreis in markierten Löchern.*

3.2.5.3 Übersicht sonstiger Hilfsmittel

- Johannisbeeraromalösung: Mikro-Plus®, Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf, zur Verdünnung 0,1 g in 50 ml Leitungswasser
- Markierungen: Leukoplast® hospital, BSN medical GmbH & Co. KG, Hamburg
- Computerprogramm: Jens Frühauf, Zeiterfassung für Ratten- und Mäuseversuche Version V 1.4 2000 – 2004
- Tastatur: Foldable Keyboard, Fold-2000, Taiwan
- Kamera: Digital-Camcorder-Videokamera, GR-DV 1800, JVC, Japan

3.2.5.4 Gewöhnung und Habituation

Um die Ratten mit den neuen Versuchsbedingungen nicht zu überfordern, werden sie in kleinen vorher genau festgelegten und immer gleichbleibenden Schritten an die jeweilige Veränderung herangeführt. Diese Voraussetzungen sind für eine konstante Durchführung des Versuchs von größter Wichtigkeit, da schon kleine Veränderungen den empfindlichen mHB-Test beeinflussen könnten. Deshalb werden die Tiere, nachdem sie sich im Versuchskäfig eingewöhnt haben, schrittweise noch vor der Operation an das mHB und die abgetrennte Versucharena gewöhnt.

Gewöhnung an das modifizierte Hole-Board

Dazu wird am Ende der Eingewöhnungswoche (Freitag vor der Operationswoche) das komplett mit Puffreis befüllte Board in den Bereich der noch nicht abgetrennten späteren Versuchsarena mittig auf die Einstreu gelegt und dort über Nacht belassen. Währenddessen haben die Ratten Zeit, das mHB gemeinschaftlich zu explorieren, zu markieren und es zum ersten Mal mit einer Futterbelohnung zu assoziieren.

Habituation an die Versuchsarena

Einen bzw. zwei Tage vor der Operation (Tag -1 bzw. -2) werden jeweils zwei Ratten zusammen in die abgetrennte, von Einstreu befreite und mit einer Markierung in vier Quadranten unterteilte Versuchsarena gesetzt, in der sich mittig auch das komplett befüllte mHB befindet. Auf diese Weise können die Ratten wiederum gemeinschaftlich und daher möglichst stressfrei die neue Umgebung und das schon bekannte mHB explorieren, markieren und Kontakt über die Trennwand zu den verbleibenden Artgenossen im Tierabteil aufnehmen. Gleichzeitig soll die Assoziation von mHB und Futterbelohnung verstärkt und übermäßige Angst vor den späteren nahezu identischen Versuchsbedingungen abgebaut werden.

3.2.5.5 Versuchsdurchführung

Für die Versuchsdurchführung sind konstante Bedingungen sehr wichtig. Um die Anzahl der Kontaktpersonen deshalb so gering wie möglich zu halten, pflegen und versorgen die Tiere ausschließlich veterinärmedizinische Doktoranden, die den mHB-Test selbständig durchführen. Das Betreten des zugangslimitierten Rattenraums ist dabei nur in sauberer Operationskleidung, mit Atemmaske, Haube und Überschuhen gestattet.

Die täglichen Tests müssen aus praktikablen und technischen Gründen während der Hellphase stattfinden. Um aber trotzdem so nah wie möglich an die physiologische Aktivitätsphase von Nagetieren heranzureichen, mit Beginn der Dunkelphase ab 12:00 Uhr, wird für die tägliche Versuchsdurchführung eine Zeitspanne von 8:00 bis 12:00 Uhr gewählt.

Während der Hellphase schafft ein Radio zusätzlich einen leisen Hintergrundgeräuschpegel, wodurch sich die Tiere an menschliche Stimmen und sonstige Geräusche gewöhnen können. Außer dieser für die Tiere „normalen“ Geräuschkulisse herrscht während eines Durchlaufs im mHB-Test stets absolute Ruhe, um die Tiere nicht durch ungewohnte Geräusche abzulenken.

Beginn der Lernphase

Bereits am zweiten Tag nach der Operation (Tag 2) beginnt der erste Teil der Lernphase, während der die Ratten schrittweise lernen sollen, die Futterbelohnung bei geöffnetem, halbgeöffnetem und schließlich geschlossenem, markiertem Deckel ohne und schließlich mit Feder aus dem Loch herauszuholen (siehe Tabelle 3).

Am zweiten Tag (Tag 2) sind im ersten Durchlauf noch alle Löcher mit Puffreis gefüllt und ohne Federn weit geöffnet. Dagegen befindet sich im zweiten Durchlauf nur noch in fünf geöffneten und fünf gänzlich geschlossenen Löchern Puffreis, die restlichen fünf stehen offen und leer. Im dritten und letzten Durchlauf an diesem Tag werden alle zehn gefüllten Löcher geschlossen, die restlichen fünf bleiben auch diesmal offen und leer.

Der dritte Tag (Tag 3) umfasst vier Durchläufe, jeweils mit einer markierten und gefüllten Lochkombination 2, 5 und 8 ohne Federn. Im ersten und zweiten Durchlauf sind alle übrigen Löcher leer und geschlossen, wovon sich der dritte und vierte Durchgang nur durch die noch zusätzlich eingezogenen Federn unterscheidet. Innerhalb dieser vier Durchläufe sollen die Tiere lernen, die Futterbelohnung nicht mehr nur mit dem mHB, sondern speziell mit der Markierung auf den Deckeln der gefüllten Löcher zu assoziieren. Außerdem können sie sich erstmals an die Federn und den bisher noch unbekanntem Widerstand beim Öffnen eines Lochs gewöhnen.

Zusammengefasst vermittelt diese schrittweise Einführung der Tiere in den mHB-Test alle essentiellen Grundlagen für die folgende aufzuzeichnende und auszuwertende Lernphase.

Aufzeichnung der Lernkurve

Die aufgezeichnete Lernkurve gliedert sich in zwei Abschnitte (siehe Tabelle 3). In einem ersten Zeitraum von sechs Tagen (Tag 4 bis Tag 9) finden jeden Tag drei Durchläufe im mHB-Test statt. Die randomisierte Lochkombination bleibt innerhalb der drei Durchläufe eines Tages für jedes Tier mit dem postoperativen Tag x konstant und wechselt mit jedem neuen Tag. Nach einer viertägigen Pause folgt abschließend ein letzter Tag im mHB-Test (Re-Test, RT) am postoperativen Tag 14 mit anschließender Euthanasie und Organentnahme in tiefer Narkose.

Table 3: Postoperative Test Execution of the mHB-Test

Phase	Beginn Lernphase			Aufzeichnung der Lernphase						Re-Test
	2	3		4	5	6	7	8	9	
Postoperativer Tag	2	3		4	5	6	7	8	9	14
Durchläufe	3	2	2	3						
Sequenz	keine	keine	2,5,8	2,5,8	4,12,13	3,10,12	1,2,15	4,6,9	9,12,13	2,11,14
Markierung	ohne	ohne	mit	mit						
Federn	ohne	ohne	mit	mit						

For data recording in the mHB-Test, a self-developed computer program is available, which must be operated blind by the researcher using a silent keyboard, as his entire attention is directed to the animal in the test arena. In order to be able to complete individual runs, an additional documentation with a camera mounted on a stand on the side of the test arena is used (see Figure 21).

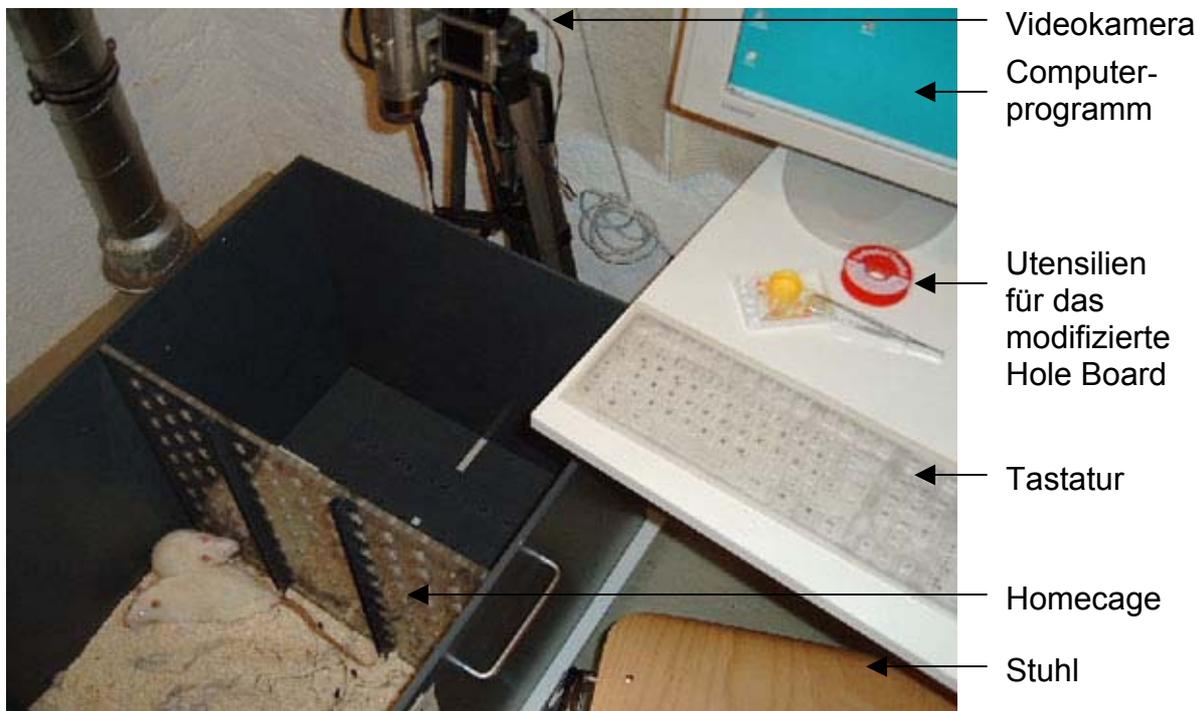


Abbildung 21: Arbeitsplatz mit Computer, Tastatur und Kamera über der Versuchsarena.

Vor jedem Durchlauf ist es wichtig, die Versuchsarena von störenden Einstreuresten zu befreien, das mHB mit der je nach Versuchstag randomisierten, gefüllten und markierten Lochkombination entsprechend vorzubereiten und mittig in die Versuchsarena zu legen.

Während der Aufzeichnung befindet sich der Tierkäfig direkt neben dem am Computertisch sitzenden Untersucher. Dabei ruht dessen eine Hand auf der Tastatur und die andere hebt das jeweilige Versuchstier vorsichtig durch Griff unter Brust und Bauch aus dem Tierabteil, über die Trennwand hinweg, um es in der rechten Ecke der Versuchsarena, vom Tierabteil aus betrachtet, wieder abzulassen. Gleichzeitig startet das Programm durch Druck des entsprechenden Tastenbefehls.

3.2.5.6 Qualitäten des modifizierten Hole-Board-Tests

Jeder Tastenbefehl codiert ein bestimmtes mit dem mHB-Test erfassbares Verhalten. Die dadurch gewonnene Information speichert das Programm automatisch zeitkorreliert in einer Textdatei und berechnet gleichzeitig noch einige Parameter für die weitere Auswertung in einer Exceltabelle.

Die während eines Durchlaufes gemessenen Parameter können abschließend den entsprechenden Verhaltensdimensionen (Verhaltensparameter) bzw. Gedächtnissystemen (kognitive Parameter) zugeteilt werden (OHL et al., 2001a; OHL et al., 2001b).

Auch die mHB-Parameter sind analog zur neurologischen Untersuchung nach einem Punkteschema bewertet, wobei 0 Punkte einer optimalen Leistung entsprechen. Die jeweilige Punkteverteilung ist den folgenden Tabellen 4 und 5 zu entnehmen.

Kognitive Parameter

Kognitive Parameter im modifizierten mHB-Test können Aufschluss geben über die Lernleistung, die Funktion des deklarativen Gedächtnisses (Hippokampus) und über die Leistungsfähigkeit des Arbeitsgedächtnisses (Präfrontaler Kortex). Der Lernleistung wird im mHB-Test der kognitive Parameter für die Gesamtzeit des Durchlaufes (Time Complete, TC) zugerechnet. Als Indikatoren des deklarativen Gedächtnisses gelten folgende kognitive Parameter: Anzahl falsch besuchter Löcher (Wrong Choices) und Anzahl nicht besuchter Löcher (Omission Errors). Die Leistung des Arbeitsgedächtnisses wird mit der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices) ermittelt.

Tabelle 4: Bewertungsschema der kognitiven Funktion im mHB-Test

Kategorie	Grad der Beeinträchtigung							Punkte	Normal
	0	1	2	3	4	5	6		
Lernleistung:									
<i>Gesamtzeit des Durchlaufes</i>	<200s	200-399s	400-599s	600-799s	800-999s	1000-1199s	>2000s	0-6	0-1
Deklaratives Gedächtnis:									
<i>fälsch besuchte Löcher</i>	0	1	2	3	4	5	>5	0-6	0-1
<i>nicht besuchte Löcher</i>	0	1	2	3	4	5	>5	0-6	0
Arbeitsgedächtnis:									
<i>wiederholt besuchte Löcher</i>	0	1	2	3	4	5	>5	0-6	0-1

Verhaltensparameter

Anhand von Verhaltensparametern können im mHB-Test verschiedene Verhaltensdimensionen unterschieden werden: Angstverhalten, Angst und Allgemeinbefinden, soziale Affinität, gerichtete und ungerichtete Exploration sowie Erregung und Lokomotion. Als Indikatoren für Angstverhalten gelten folgende Verhaltensparameter: auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board), Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board) und Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries). Aussagen über Angst und Allgemeinbefinden lassen sich anhand des Verhaltensparameters Gesamtzeit der Immobilitätsphasen treffen. Die soziale Affinität kann mit der Kontaktaufnahme mit der Gruppe (Group Contact) bestimmt werden. Während Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit) und Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited) als Verhaltensparameter der gerichteten Exploration gelten, vermittelt die Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings) die ungerichtete Exploration. Als Maß der Erregung werden die Verhaltensparameter Anzahl an Kotbällchen (Boli) und Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) bestimmt. Die Bewegungsaktivität ermittelt man im mHB-Test mit der Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings).

Tabelle 5: Bewertungsschema des Verhaltens im mHB-Test

Kategorie	Grad der Beeinträchtigung						Punkte	Normal	
	0	1	2	3	4	5			6
Angstverhalten:									
Gesamtzeit auf dem mHB	>15%	6-15%	<6%	-	-	-	-	0-2	0
Erster mHB-Besuch	<10s	>10s	-	-	-	-	-	0-1	0
Anzahl mHB-Besuche	>1	keine	-	-	-	-	-	0-1	0
Angst und Allgemeinbefinden:									
Immobilität	<5%	5-10%	10-30%	>30%	-	-	-	0-3	0
Soziale Affinität:									
Kontakt mit der Gruppe	<4	4-6	6-8	>8	-	-	-	0-3	0
Gerichtete Exploration:									
Erster Lochbesuch	<30s	>30s	-	-	-	-	-	0-1	0
Besuchte Löcher	>2	<2	-	-	-	-	-	0-1	0
Ungerichtete Exploration:									
Aufrichten auf die Hinterbeine	<3	3-5	5-10	>10	-	-	-	0-3	0
Erregung:									
Kotbällchen	keine	>1	-	-	-	-	-	0-1	0
Putzphasen	<2	2-3	3-4	>4	-	-	-	0-3	0
Lokomotion:									
Linienübertritte	<3	3-4	4-5	>5	-	-	-	0-3	0

3.2.6 Entnahme und Untersuchung des Gehirns

Nach Abschluss der kognitiven Verhaltensuntersuchung am postoperativen Tag 14 werden die Tiere mit 5,0 Vol% Isofluran anästhesiert und einer *In-situ*-Hirnfixierung unterzogen. Dazu werden 20 ml Natriumchloridlösung (0,9 %, DeltaSelect GmbH, Pfullingen), gefolgt von 20 ml Paraformaldehydlösung (4 %, hausinterne Apotheke) intrakardial appliziert. Das Gehirn wird *in toto* entnommen und in Paraformaldehydlösung (4 %) fixiert. Zur histologischen Untersuchung wird das gesamte Gehirn in 2 mm dicke Blöcke transversal zur rostrokaudalen Achse geschnitten und in Paraffin eingebettet. Von jedem Block fertigt man Schnitte (10 µm) mit dem Mikrotom (HM 355, Microm International GmbH, Walldorf) an und zieht sie auf Objektträger (SuperFrost®Plus, Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig) auf. Anschließend werden die Schnitte einer H & E-Färbung unterzogen, um den Zellschaden zu bestimmen.

Für die H & E-Färbung werden die Paraffinschnitte zuerst nacheinander in vier Küvetten insgesamt 50 min in Roti-Histol entparaffinisiert. Anschließend hydriert man sie schrittweise mit einer absteigenden Alkoholreihe, wofür die Schnitte je 3 min in 100 %, 96 % und 70 % Ethanol (Merck KGaA, Darmstadt) getaucht werden. Danach färbt man die Schnitte 3 min lang mit saurem Haemalaun nach Mayer (hausinterne Apotheke) und überspült sie anschließend vorsichtig zweimal für 5 min mit Leitungswasser. Es folgt eine zweite Färbung für 40 Sekunden in Eosin (wässrige Eosin-Dinatrium Lösung, hausinterne Apotheke), darauf ein weiterer Waschvorgang mit destilliertem Wasser. Um die Schnitte wieder zu dehydrieren werden sie nun einer aufsteigenden Alkoholreihe unterzogen und für je 30 Sekunden in 70 % und 96% Ethanol und 1 min in 100 % Ethanol verbracht. Abschließend taucht man die Schnitte 2 min in Roti-Histol (Roth, Karlsruhe) und deckt sie mit Roti-Histokitt (Roth Carl GmbH & Co., Karlsruhe) ein. Nachdem die Schnitte getrocknet sind, werden sie bis zur endgültigen Auswertung in Objektträgerkästen bei Raumluft gelagert.

Ein gegenüber den verschiedenen Versuchsgruppen geblindeter Untersucher bewertet die Schnitte anhand eines unten aufgeführten Punkteschemas. Um den neuronalen Zellschaden zu bestimmen, werden fünf Gehirnregionen ausgewählt: Hippokampus, Frontaler Kortex (motorisches Gebiet), Zerebellum, Zingulum (posteriorer Anteil) und Striatum (Nukleus Kaudatus und Putamen). Von jeder Region werden fünf hoch vergrößerte (x 400) Felder untersucht und nach folgendem Schema (modifiziert nach BOGDANSKI et al. 2000) bewertet: 0 = weniger als fünf geschädigte Neurone, 1 = fünf bis 10 geschädigte Neurone, 2 = mehr als 10 geschädigte Neurone und 3 = Infarkt.

Vitale und geschädigte Neuronen färben sich in der H & E-Färbung unterschiedlich an und können so differenziert werden. Während vitale Neurone durch basophiles Zytoplasma mit basophilem Zellkern und deutlich sichtbarem Nukleolus gekennzeichnet sind, stellen sich geschädigte Neurone entweder eosinophil dar oder als sogenannte dunkle Neurone („dark neurons“) mit hochgradig basophilem Zytoplasma und pyknotischem oder karyorhektischem Zellkern ohne erkennbaren Nukleolus.

3.2.7 Statistische Bewertung der Befunde

Die physiologischen Variablen werden mit hierarchisch gegliederten, allgemeinen, linearen Modellen untersucht. Um die wiederholten Messungen in den insgesamt sechs Gruppen miteinander vergleichen zu können, wird eine zwei Wege Anova durchgeführt. Als Variablen zwischen den Gruppen dienen Veränderungen über den Versuchszeitraum und die Dauer des tief hypothermen Kreislaufstillstandes (Zeit²). Hat eine dieser unabhängigen Variablen einen signifikanten Einfluss auf die entsprechenden Variablen, wird post hoc zunächst mit einer faktoriellen Anova zu jedem Zeitpunkt nach signifikanten Unterschieden gesucht und anschließend mit Bonferoni-Tests die sechs Gruppen zu den jeweiligen Zeitpunkten auf Unterschiede untersucht. Da man davon ausgeht, dass Veränderungen im operativen Verlauf entstehen können und sich vor Ende des Aufwachens wieder normalisiert haben, werden die Versuchszeitpunkte quadratisch eingeschlossen, und nur signifikante Veränderungen in diesem quadratischen Versuchsverlauf betrachtet. Es wird keine weitere post hoc Analyse durchgeführt.

Das Überleben, die neurologische Funktion, das Denkvermögen (Kognition) und das Verhalten werden mit der Dauer des tief hypothermen Kreislaufstillstandes mit logistischen Regressionsanalysen korreliert. Als „überlebt“ werden solche Tiere gewertet, die am 14. postoperativen Tag noch leben. Kein Defizit in den neurologischen, kognitiven und verhaltensbeschreibenden Domänen liegt vor, wenn keine der verschiedenen Variablen der jeweiligen Domäne pathologisch ist. Als „pathologisch“ werden die jeweiligen Variablen eingestuft, wenn der individuelle Wert am letzten Testtag (12. bzw. 14. postoperativer Tag, Wiederholungstest = Re-Test, RT) außerhalb des in diesem Labor als „normal“ definierten Bereiches liegt. Diese „Normalbereiche“ wurden aus vorliegenden 500 Werten von Kontrolltieren zuvor berechnet (Mittelwert \pm 2 Standardabweichungen).

Die histologische Gesamtpunktezahlgibt sich aus dem bereits beschriebenen Schema der histologischen Auswertung (siehe 3.2.6). 10 Gehirnareale (Hippokampus, motorischer Kortex, Zerebellum, Zingulum und Striatum jeder Gehirnhälfte) mit jeweils 5 beurteilten Feldern („High power fields“) und einer Punktezahlg von 0 bis 3 ergeben eine Gesamtpunktezahlg von 0 bis 150. Dabei werden Werte als „pathologisch“ eingestuft, wenn der individuelle Wert am 14. postoperativen Tag außerhalb des in diesem Labor als „normal“ definierten Bereiches liegt. Diese „Normalbereiche“ werden aus parallel untersuchten Werten von sechs gesunden, unbehandelten Kontrolltieren zuvor berechnet. Dabei gilt ein Wert als „normal“, wenn er innerhalb des 95 % Konfidenzintervalls liegt. Ein Wert außerhalb dieses Intervalls wird als „pathologisch“ angesehen, für unser Labor entspricht dies einem Wert von >12 .

Um histologische Veränderungen mit zentralnervösen Veränderungen korrelieren zu können, werden die zwei Gesamtpunktesysteme mit Hilfe der Spearman-rank-Korrelation miteinander verglichen. Die histologische Gesamtpunktezahlg erhält man wie oben beschrieben. Die zentralnervöse Gesamtpunktezahlg ergibt sich aus der Summe der einzelnen Punktezahlen für Sensibilität (siehe Tabelle 1), Motorik (siehe Tabelle 2), Kognition (siehe Tabelle 4) und Verhalten (siehe Tabelle 5). Sie kann Werte von 0 bis 85 erreichen, wobei Werte > 4 als „pathologisch“ angesehen werden.

3.3 Ergebnisse

Drei Tiere werden aus folgenden Gründen von der weiteren Datenanalyse ausgeschlossen: Ein Tier in der Gruppe mit 45 min tief hypothermer Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit) muss wegen insuffizientem venösen Rückfluss bzw. je ein Tier in der Gruppe mit 60 und 75 min DHCA muss wegen Blutung an der Schwanzarterie während der Extrakorporalen Zirkulation (EKZ) ersetzt werden.

Alle Ergebnisse sind zunächst in tabellarischer Form nach dem Zeitverlauf für die unterschiedlichen Versuchsgruppen aufgeführt. Exemplarisch sollen einige der später diskutierten Ergebnisse herausgegriffen und nach Gruppen getrennt im Zeitverlauf grafisch dargestellt werden. Darüber hinaus werden am 12. bzw. 14. postoperativen Tag (Wiederholungstest = Re-Test, RT) Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten (DHCA-Zeiten) und Überleben, neurologischen und kognitiven Verhaltensparametern erstellt. Die errechnete zentralnervöse Gesamtfunktion wird abschließend mit den histologischen Befunden korreliert (siehe 3.2.7).

3.3.1 Physiologische Parameter der operativen Phase

Während der operativen Phase werden physiologische Parameter (perikranielle Temperatur, MAP, Blutglucose, BE, pH-Wert, Standardbicarbonat, PaO₂, PaCO₂ und Hämoglobin) regelmäßig kontrolliert und zu bestimmten Messzeitpunkten dokumentiert (siehe Tabelle 6). Die daraus errechneten Mittelwerte und Standardfehler sind in folgender Tabelle aufgeführt.

Tabelle 6: Physiologische Parameter während der operativen Phase von sechs Gruppen mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten (min DHCA).

	DHCA-Zeit	prä-EKZ	prä-DHCA	post-DHCA	EKZ-Ende	post-EKZ (1h)	Zeit ² x DHCA
Perikranielle Temperatur (°C)	0 min	35.8±0.3	13.9±0.7	19.1±1.1	35.8±0.1	36.7±0.2	p < 0.02
	45 min	36.0±0.4	14.9±0.3	19.5±0.8	35.9±0.2	36.4±0.3	
	60 min	35.9±0.7	13.9±1.2	18.9±2.9	35.4±0.6	36.4±0.3	
	75 min	35.1±0.4	15.5±0.9	21.2±0.9	35.8±0.0	36.6±0.2	
	90 min	35.2±0.3	14.3±0.5	23.1±0.3	35.8±0.2	36.7±0.2	
	105 min	36.5±0.4	16.2±0.3	21.5±1.0	36.1±0.2	38.4±0.8*	
Mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)	0 min	84±2	35±3	32±2		78±4	p < 0.03
	45 min	79±4	32±1	53±8		77±6	
	60 min	81±4	38±4	45±10	1)	78±10	
	75 min	84±5	34±2	45±4		81±4	
	90 min	89±3	33±2	45±4		86±6	
	105 min	87±3	37±2	71±9†		71±2	
Glucose Konzentration (mg/dl)	0 min	125±23	143±25	187±38	289±51	208±34	p < 0.01
	45 min	126±15	139±12	199±28	237±50	158±18	
	60 min	140±34	143±45	252±39	315±73	190±66	
	75 min	135±16	129±7	226±17	307±32	181±23	
	90 min	124±10	138±8	284±24	344±19	141±18	
	105 min	103±7	160±9	291±48	291±33	77±10† ²⁾	
BE (mmol/l)	0 min	1.8±0.4	-0.3±0.5	0.1±0.8			p < 0.01
	45 min	1.1±0.5	-0.6±0.8	-4.7±0.8			
	60 min	0.9±0.9	-0.8±1.5	-4.2±4.2		3)	
	75 min	1.6±0.7	0.4±0.5	-6.5±1.7†			
	90 min	1.9±0.4	0.9±0.6	-7.9±1.2†			
	105 min	0.4±0.7	-2.6±1.0	-11±1.0†			
pH-Wert	0 min	7,49±0,0	7,40±0,0	7,47±0,0			n.a.
	45 min	7,46±0,0	7,39±0,0	7,38±0,0			
	60 min	7,46±0,0	7,41±0,0	7,39±0,1		3)	
	75 min	7,47±0,0	7,43±0,0	7,35±0,0			
	90 min	7,45±0,0	7,44±0,0	7,33±0,0			
	105 min	7,48±0,0	7,37±0,0	7,37±0,1			
Standard-bicarbonat (mmol/l)	0 min	25,0±0,6	29,0±0,4	27,9±0,7			p < 0.01
	45 min	24,8±0,7	29,1±0,8	23,9±0,8			
	60 min	25,0±1,5	28,7±1,6	24,5±3,6			
	75 min	25,6±0,6	29,7±0,5	22,1±1,5†		3)	
	90 min	26,6±0,3	29,9±0,8	21,1±1,1†			
	105 min	23,6±0,6	27,2±1,2	20,5±2,3†			

Fortsetzung Tabelle S. 70

	0 min	215±20	499±18	426±23	338±25	189±32	
	45 min	161±14	486±16	401±22	357±15	188±26	
PaO ₂ (mmHg)	60 min	194±42	512±62	453±51	329±42	157±41	n.s.
	75 min	171±20	496±35	429±28	345±22	171±15	
	90 min	192±17	463±37	407±20	346±22	215±34	
	105 min	237±32	462±27	423±17	398±27	112±9	
	0 min	33±2	37±2	32±1	37±1	34±1	
	45 min	35±1	37±1	33±2	34±1	38±2	
PaCO ₂ (mmHg)	60 min	36±4	35±4	33±3	38±2	37±5	n.s.
	75 min	35±1	36±1	33±3	33±1	35±1	
	90 min	39±1	34±2	33±2	35±1	35±1	
	105 min	33±1	35±1	29±4	37±2	30±1	
	0 min	14,4±0,2	7,5±0,1	7,5±0,1	8,0±0,2	11,1±0,2	
	45 min	14,7±0,3	7,7±0,3	7,2±0,4	8,0±0,3	10,9±0,4	
Hämoglobin (g/dl)	60 min	15,1±0,3	7,9±0,8	7,4±0,8	8,0±1,2	10,2±0,7	n.s.
	75 min	14,7±0,4	7,6±0,3	7,0±0,3	8,4±0,2	10,5±0,5	
	90 min	15,2±0,2	7,5±0,2	7,1±0,1	7,7±0,3	10,5±0,5	
	105 min	14,2±0,4	7,2±0,4	6,9±0,4	7,8±0,4	11,7±0,3	

Messzeitpunkte der Variablen zu fünf verschiedenen Zeitpunkten: vor Extrakorporaler Zirkulation (prä-EKZ), vor tief hypothermem Kreislaufstillstand (prä-DHCA), 5 min nach dem Wiederanschluss an die EKZ (post-DHCA), 5 min vor Abgang von der EKZ (EKZ-Ende), und 1h nach EKZ (post-EKZ(1h)). Einige Werte werden kontrolliert und zu bestimmten Zeiten in definierten Bereichen gehalten. Deshalb sind sie hier nicht aufgeführt und auch nicht statistisch analysiert:

(1) Der Mittlere arterielle Druck (MAP) wird kontrolliert und mit Norepinephrin Infusion über 50 mmHg gehalten. Dabei betragen mittlere Infusionsraten $2 \pm 1 \mu\text{g/kg/min}$ (0 min DHCA), $2 \pm 1 \mu\text{g/kg/min}$ (45 min DHCA), $3 \pm 2 \mu\text{g/kg/min}$ (60 min DHCA), $3 \pm 1 \mu\text{g/kg/min}$ (75 min DHCA), $6 \pm 1 \mu\text{g/kg/min}$ (90 min DHCA), und $16 \pm 4 \mu\text{g/kg/min}$ (105 min DHCA)*;

(2) Die Serum Glucose Konzentration wird kontrolliert und über 60 mg/dl gehalten. Die Glucose Infusion beträgt dabei $100 \pm 58 \text{ mg/Ratte}$ (105 min DHCA)*;

(3) Der Basenüberschuss (BE), der pH-Wert und die Standardbicarbonat Konzentration werden kontrolliert und mit Natriumbikarbonat (NaHCO_3) in physiologischen Grenzen gehalten. Die Gesamtmenge an verbrauchtem NaHCO_3 beträgt dabei $0 \pm 0 \text{ mmol/l}$ (0min DHCA), $28 \pm 8 \text{ mmol/l}$ (45 min DHCA)†, $53 \pm 29 \text{ mmol/l}$ (60min DHCA)†, $80 \pm 12 \text{ mmol/l}$ (75 min DHCA)†, $99 \pm 3 \text{ mmol/l}$ (90 min DHCA)†, und $265 \pm 21 \text{ mmol/l}$ (105 min DHCA)*.

Die entsprechenden p-Werte (n.s.: nicht signifikant) weisen auf statistisch signifikante Veränderungen während einem Beobachtungsintervall hin. Diese umfassen Veränderungen zwischen den Gruppen bezogen auf den Zeitverlauf ($\text{Zeit}^2 \times \text{DHCA}$). Wenn $\text{Zeit}^2 \times \text{DHCA}$ signifikant ist ($p < 0,05$), werden posthoc Werte zwischen den Gruppen zu bestimmten Zeiten verglichen (* $p < 0,05$ verglichen mit 0, 45, 60, 75, und 90 min; † $p < 0,05$ verglichen mit 0 min). Der pH-Wert wird nicht in eine lineare Funktion transformiert und deshalb nicht analysiert (n.a.). Alle Daten liegen als Mittelwerte (MW) und Standardfehler ($\pm \text{SEM}$) vor.

Die **perikranielle Temperatur** weist innerhalb jeder der sechs Gruppen einen signifikanten Verlauf auf. Zwischen den Gruppen sind die Werte eine Stunde nach Abgang von der EKZ (post-EKZ (1h)) in der Gruppe mit 105 min DHCA im Vergleich zu den Gruppen mit 0, 45, 60, 75 und 90 min signifikant erhöht (siehe Tabelle 6).

Der **mittlere arterielle Blutdruck (MAP)** ist in der Gruppe mit 105 min DHCA zu Beginn der Wiedererwärmung (post-DHCA) verglichen mit den Werten der Gruppe mit 0 min DHCA signifikant erhöht. Eine Stunde nach Abgang von der EKZ (post-EKZ (1h)) sind in allen Gruppen die Ausgangswerte (prä-EKZ) fast wieder erreicht (siehe Tabelle 6).

Die **Blutglucose-Konzentration** steigt in allen Gruppen während des tief hypothermen Kreislaufstillstandes bis zum Ende der Wiedererwärmung (EKZ-Ende). Eine Stunde nach EKZ (post-EKZ (1h)) sinken sie auf Werte, die in den Gruppen mit 0, 45, 60, 75 und 90 min DHCA noch über und in der Gruppe mit 105 min DHCA unter ihrem Ausgangsniveau liegen, obwohl die Tiere dieser Gruppe zusätzlich Glucose appliziert bekommen (siehe Tabelle 6).

Der **Basenüberschuss (BE)** bleibt in der Gruppe mit 0 min DHCA weitgehend konstant, sinkt dagegen in den Gruppen mit 60, 75, 90 und 105 min DHCA bis zum Beginn der Wiedererwärmung (post-DHCA). Zu diesem Messzeitpunkt unterscheiden sich die Werte der Gruppe mit 75, 90 und 105 min DHCA signifikant gegenüber der Gruppe mit 0 min. Ab diesem Zeitpunkt werden die Werte reguliert, weshalb auch keine Veränderungen innerhalb der Gruppen, bezogen auf den weiteren Zeitverlauf, analysiert werden (siehe Tabelle 6).

Die **pH-Werte** bleiben in allen Gruppen bis zum Ende der Abkühlungsphase (prä-DHCA) in Bereichen zwischen 7,37 bis 7,49. Zum Beginn der Wiedererwärmung (post-DHCA) sinken die Werte in den Gruppen mit 75, 90 und 105 min DHCA jedoch bis auf ein niedriges Niveau von 7,33 bis 7,37. Im weiteren Verlauf werden die Werte reguliert, weshalb keine weiteren Veränderungen analysiert werden (siehe Tabelle 6).

Die Mittelwerte des **Standardbicarbonats** steigen in allen sechs Gruppen bis zum Ende der Abkühlungsphase (prä-DHCA) auf ihr höchstes Niveau, sinken dann bis zum Beginn der Wiedererwärmung (post-DHCA) in der Gruppe mit 0 min DHCA geringgradig, in den Gruppen mit 45 und 60 min DHCA mittelgradig und in den Gruppen mit 75, 90 und 105 min DHCA hochgradig unter ihr Ausgangsniveau. Zu diesem Messzeitpunkt unterscheiden sich die Werte der Gruppe mit 75, 90 und 105 min DHCA signifikant im Vergleich zu der Gruppe

mit 0 min. Da ab diesem Zeitpunkt Natriumhydrogencarbonat substituiert wird, sind keine weiteren Veränderungen analysiert (siehe Tabelle 6).

Der **arterielle Sauerstoffpartialdruck (PaO_2)** steigt bis zum Ende der Abkühlungsphase (prä-DHCA) in allen Gruppen an, und nähert sich bis eine Stunde nach EKZ (post-EKZ (1h)) wieder den jeweiligen Ausgangswerten (prä-EKZ) der verschiedenen sechs Gruppen. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 6).

Der **arterielle Kohlenstoffdioxidpartialdruck (PaCO_2)** liegt bis zum Ende der Abkühlungsphase (prä-DHCA) in Bereichen zwischen 33 und 39 mmHg. Zu Beginn der Wiedererwärmung (post-DHCA) sinken die Werte in den Gruppen mit 0, 45, 60, 75 und 90 min DHCA auf die untere Grenze der Ausgangswerte, während die Werte der Gruppe mit 105 min DHCA darunter sinken. Zum Ende der Wiedererwärmung (EKZ-Ende) steigt der PaCO_2 in allen Gruppen wieder auf Ausgangsniveau. Während die Gruppen mit 0, 45, 60, 75 und 90 min DHCA dieses Niveau bis eine Stunde nach EKZ (post-EKZ (1h)) beibehalten, sinken die Werte der Gruppe mit 105 min DHCA wieder in Bereiche zu Beginn der Wiedererwärmung (post-DHCA). Diese Unterschiede zwischen den Gruppen sind jedoch nicht signifikant (siehe Tabelle 6).

Die **Hämoglobin Konzentration** fällt vom Ausgangswert (prä-EKZ) in allen vier Gruppen auf ca. die Hälfte des Wertes bis zum Ende der Abkühlungsphase (prä-DHCA) und steigt erst wieder eine Stunde nach EKZ (post-EKZ (1h)). Die Gruppen unterschieden sich jedoch nicht signifikant (siehe Tabelle 6).

3.3.2 Überleben

Die folgende Abbildung 22 illustriert die Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen steigenden DHCA-Zeiten und der Überlebensrate in dieser Studie.

50 % der Tiere überleben 14 postoperative Tage nach einer DHCA-Zeit von 83 min. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % liegt diese Zeit zwischen 71 und 99 min DHCA (95 % Konfidenzintervall).

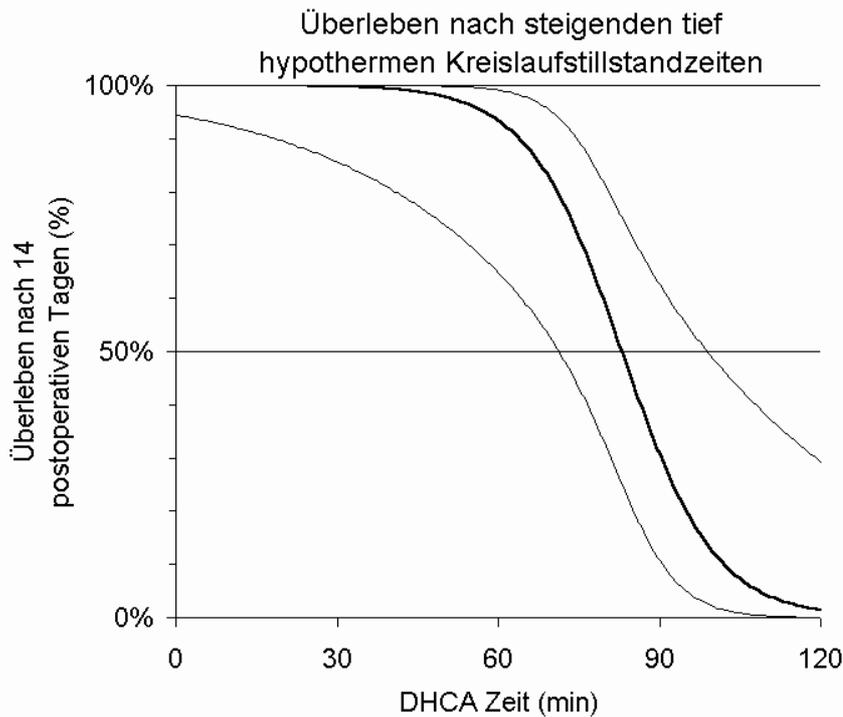


Abbildung 22: Illustration der Dosis-Wirkungsbeziehung ($MW \pm 95\% \text{ KI}$) von tief hypothermer Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit (min)) und Überleben nach steigenden DHCA-Zeiten (Überleben nach 14 postoperativen Tagen (%)).

Dunkle Linie: MW = Mittelwert, helle Linien: KI = Konfidenzintervall

Alle vier Tiere, die 105 min lang einem tief hypothermen Kreislaufstillstand unterzogen werden, zeigen noch intraoperativ Zeichen des Hirntodes (fixe lichtstarre Pupillen und keine Reaktion auf Schmerzreize). Dagegen überleben alle Tiere der anderen Gruppen mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten (DHCA-Zeiten) initial. In der Gruppe mit 90 min DHCA müssen zwei Tiere innerhalb der ersten sechs postoperativen Stunden wegen hochgradiger zentralnervöser Schädigungen (Parese der Hintergliedmaßen und hochgradige Hyperventilation) und ein weiteres Tier am ersten postoperativen Tag wegen gastrointestinaler Schädigung (keine Defäkation) euthanasiert werden. Obwohl drei von sechs Tieren der Gruppe mit 75 min DHCA die ersten postoperativen Stunden überleben, müssen sie wegen einsetzender gastrointestinaler Parese (mangelnde Defäkation und geblähtes Abdomen) am ersten, zweiten bzw. vierten postoperativen Tag euthanasiert werden. Die jeweils verbleibenden drei Tiere der Gruppen mit 75 und 90 min DHCA und alle Tiere der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA überleben bis zum Ende der Versuchsperiode (postoperativer Tag 14).

3.3.3 Neurologische Parameter

In die Ergebnisse der postoperativ fortgeführten neurologischen (siehe 3.2.4) und kognitiven Verhaltensuntersuchung (siehe 3.2.5) werden alle 24 überlebenden Tiere eingeschlossen. Um die Ergebnisse statistisch aussagekräftig analysieren zu können, werden die einbezogenen Tiere aus den Gruppen mit 75 und 90 min DHCA zu einer gemeinsamen Gruppe mit > 60 min DHCA zusammengefasst. Daraus ergibt sich folgende Gruppeneinteilung.

Tabelle 7: Gruppeneinteilung: Gruppeneinteilung und Bezeichnung der Versuchstiere während der postoperativ fortgeführten Verhaltensuntersuchung

Gruppenbezeichnung	
0 min DHCA	(n = 6)
45 min DHCA	(n = 6)
60 min DHCA	(n = 6)
> 60 min DHCA	(n = 6) zusammengefasst aus 75 und 90 min DHCA (je n = 3)

Körpergewicht der Tiere

Die Tiere werden während der operativen Phase zufällig einer Gruppe mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten zugeteilt. Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) des Körpergewichtes der einzelnen Gruppen sind in folgender Tabelle im Zeitverlauf dargestellt.

Table 8: Körpergewicht von vier Gruppen

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Gewicht	-1	361 ± 14	350 ± 34	350 ± 19	344 ± 10
	1	348 ± 10	343 ± 34	336 ± 15	336 ± 13
	2	352 ± 12	337 ± 33	326 ± 19	320 ± 20
	3	358 ± 12	342 ± 33	330 ± 22	317 ± 19
	4	363 ± 13	345 ± 33	332 ± 21	322 ± 18
	5	367 ± 12	349 ± 34	336 ± 23	323 ± 19
	6	372 ± 14	355 ± 35	341 ± 24	331 ± 20
	7	376 ± 14	359 ± 36	345 ± 24	333 ± 21
	8	382 ± 14	364 ± 38	350 ± 23	338 ± 20
	9	387 ± 14	370 ± 40	354 ± 24	346 ± 19
	12	402 ± 16	382 ± 43	371 ± 25	367 ± 21
	14	410 ± 18	392 ± 44	380 ± 24	379 ± 20

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Körpergewichts (g) der Tiere zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je $n = 6$) mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten (min DHCA).

Das Körpergewicht der Tiere sinkt in allen vier Gruppen nach der operativen Phase (postoperativer Tag 1) unter den Ausgangswert (präoperativer Tag -1), unterscheidet sich aber nicht signifikant zwischen den Gruppen. Während die Werte der Gruppe mit 0 min DHCA ab diesem Zeitpunkt bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase im mHB-Test (postoperativer Tag 9) kontinuierlich ansteigen, fallen sie in den Gruppen mit 45 und 60 min DHCA bis zum zweiten und in der Gruppe mit > 60 min DHCA bis zum dritten postoperativen Tag. Erst ab dem Beginn der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 4) bis zu deren Ende (postoperativer Tag 9) steigen die Werte aller Gruppen annähernd linear und parallel. Dabei weist die Gruppe mit 0 min DHCA durchgehend tendenziell die höchsten Werte auf, in regelmäßigen Abständen gefolgt von den anderen Gruppen mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) haben alle Tiere der vier Gruppen wieder annähernd das gleiche Körpergewicht erreicht (siehe Abbildung 23).

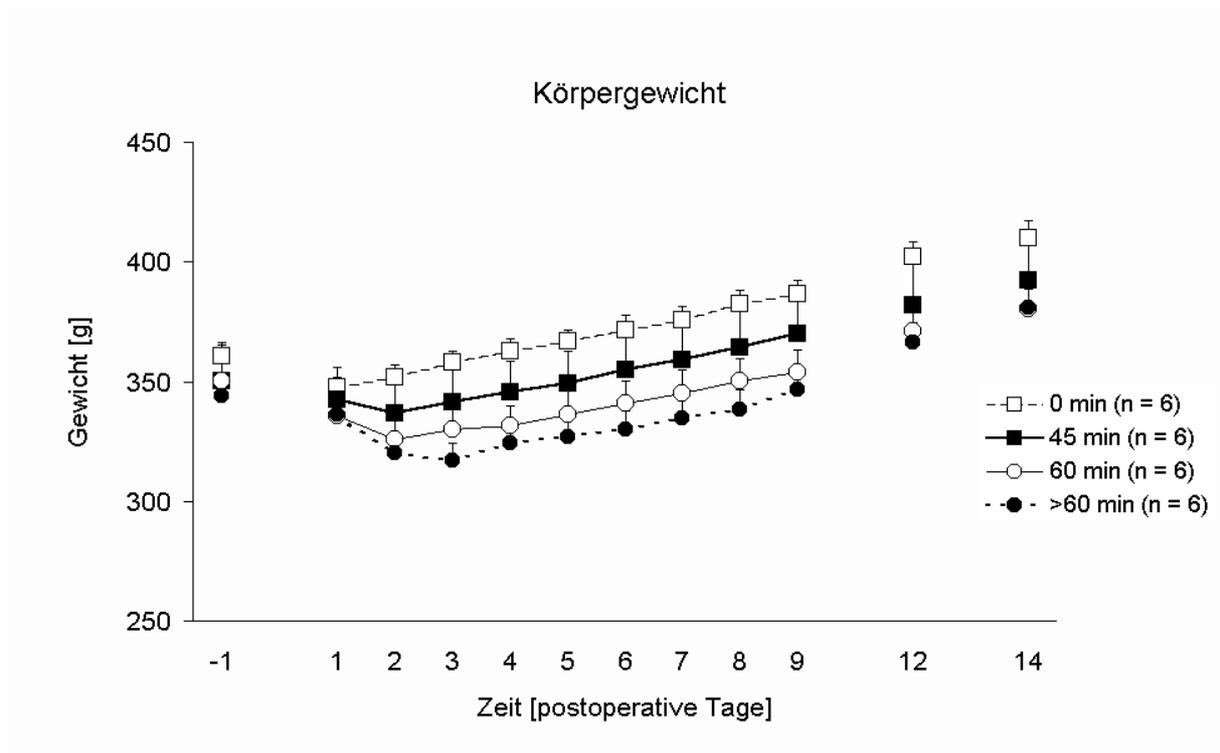


Abbildung 23: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) des Körpergewichts (Gewicht (g)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Sensorik (Sehen, Hören, Vibrissenreaktion, Propriozeption und Bewusstsein)

Die sensorischen Funktionen sind bei keinem der überlebenden Tiere am postoperativen Tag 12 beeinträchtigt.

Gleichgewicht im Balkentest (Beam-Walking- und Beam-Balance-Test)

Muskelkraft und Gleichgewicht werden in der neurologischen Untersuchung mit sensorisch-motorischen Tests untersucht, wobei die Tiere über Balken gehen (Beam-Walking-Test) und auf schmälere Balken balancieren (Beam-Balance-Test). Aus den erbrachten Leistungen in beiden Tests errechnete Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (±SD) sind in folgender Tabelle dargestellt.

Table 9: Neurological Parameters for Balance in the Beam Test: Beam-Walking- and Beam-Balance-Test

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Beam- Walking- Test	-1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,4
	1	0,8 ± 0,8	1,0 ± 0,9	25,6 ± 4,5	41,8 ± 18,3
	2	0,3 ± 0,4	0,3 ± 0,6	17,2 ± 23,2	34,1 ± 22,5
	3	0,4 ± 0,6	0,0 ± 0,0	9,3 ± 18,3	33,8 ± 22,9
	12	0,6 ± 0,6	0,3 ± 0,4	1,6 ± 1,7	15,3 ± 17,3
Beam- Balance- Test	-1	59 ± 1	60 ± 1	60 ± 0	58 ± 4
	1	55 ± 11	59 ± 2	46 ± 19	13 ± 21
	2	59 ± 3	58 ± 5	78 ± 19	20 ± 23
	3	60 ± 0	56 ± 9	53 ± 16	37 ± 21
	12	56 ± 9	60 ± 0	58 ± 4	45 ± 17

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der neurologischen Parameter für Gleichgewicht im Balkentest: Beam-Walking-Test (Fehlritte pro Distanz (Anzahl pro m)) und Beam-Balance-Test (Balancezeit (s)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je $n = 6$).

Die Balancezeit beim Beam-Balance-Test ist initial (präoperativer Tag -1) in allen vier Gruppen gleich. Während die Mittelwerte in den Gruppen mit 0 und 45 min DHCA bis zum Ende der Testphase (postoperativer Tag 3) annähernd gleich bleiben, sinken sie in den Gruppen mit 60 und > 60 min DHCA am ersten postoperativen Tag und steigen bis zum Ende der Testphase wieder. Dabei erreicht die Gruppe mit > 60 min DHCA während der ersten drei postoperativen Tage sehr niedrige Werte und bleibt am postoperativen Tag 12 immer noch hinter den anderen drei Gruppen zurück (siehe Abbildung 24).

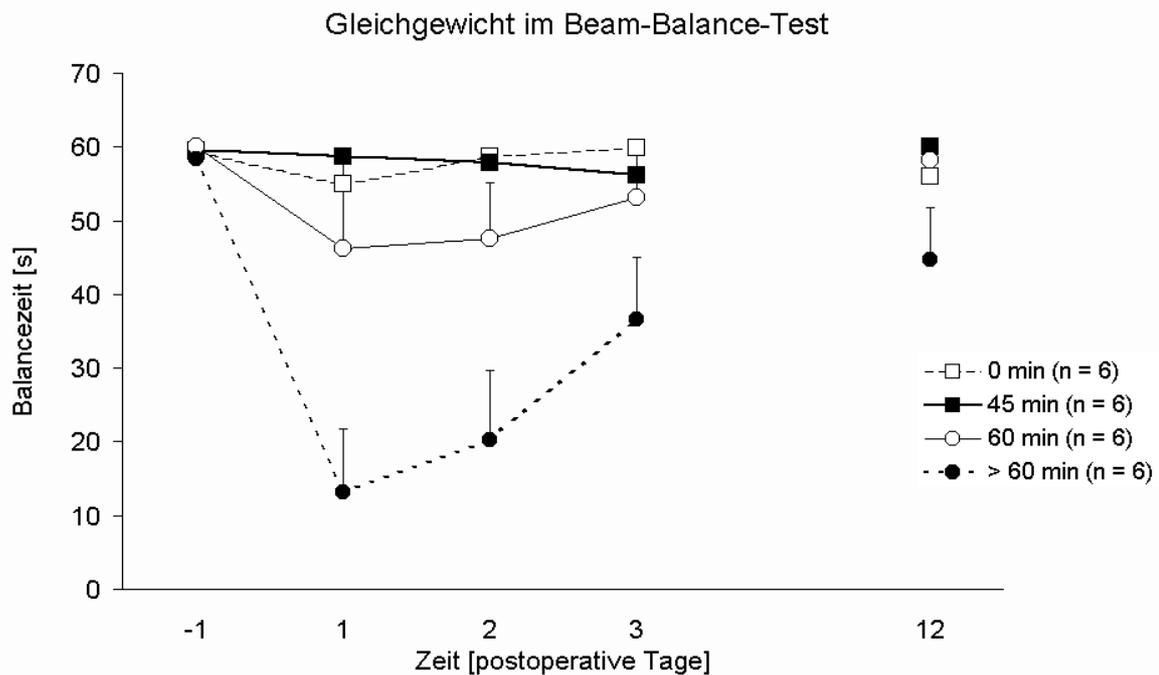


Abbildung 24: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Balancezeit (s) beim Beam-Balance-Test zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Mittelwerte der Fehlritte pro Distanz beim Beam-Walking-Test sind in allen Gruppen initial (präoperativer Tag -1) im Normbereich. In den Gruppen mit 0 und 45 min DHCA bleiben die Werte bis zum Ende der Testphase (postoperativer Tag 3) auf diesem niedrigen Niveau. Dagegen erreichen die Werte der Gruppen mit 60 und > 60 min DHCA am ersten postoperativen Tag ihr relatives Maximum und sinken bis zum Ende der Testphase (postoperativer Tag 3) wieder ab. Während die Gruppe mit 60 min DHCA am postoperativen Tag 12 wieder ihr Ausgangsniveau erreicht, zeigen die Tiere der Gruppe mit > 60 min DHCA immer noch pathologische Werte (siehe Abbildung 25).

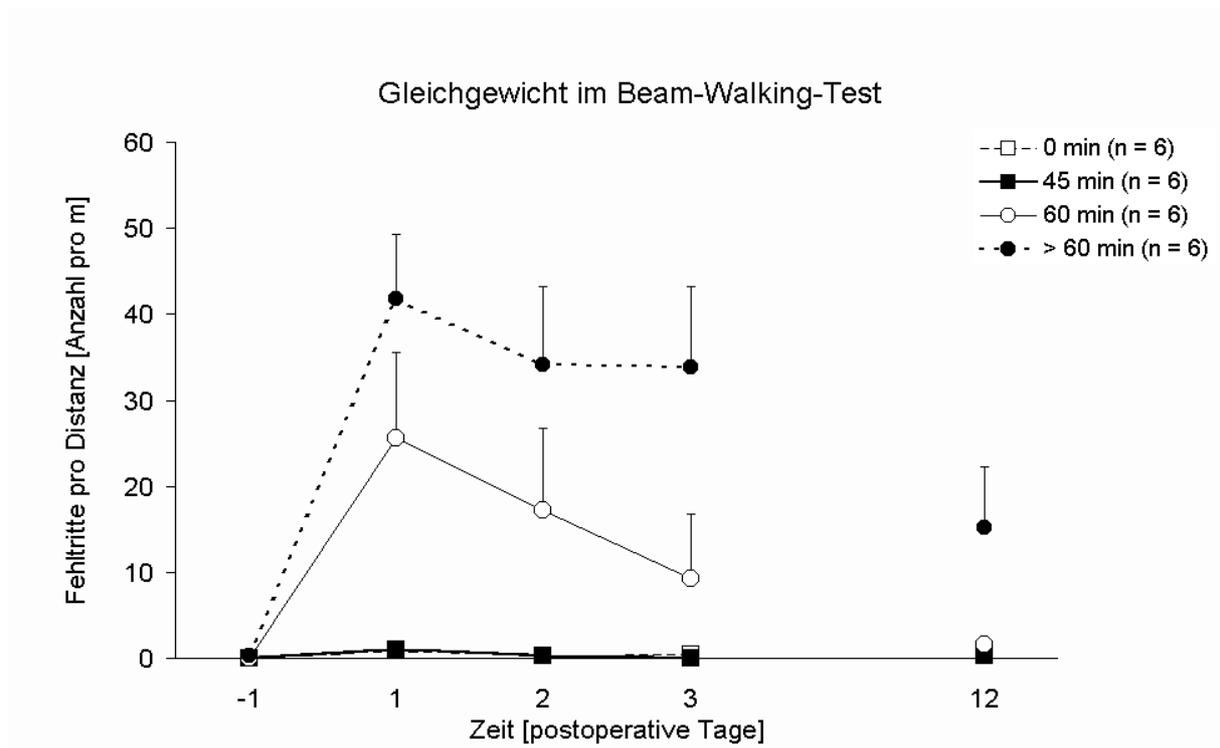


Abbildung 25: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Fehlritte pro Distanz (Anzahl pro m) beim Beam-Walking-Test zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Greif- und Haltevermögen (Greif-Zug- und Drahtgitter-Test)

Das Greif- und Haltevermögen von beiden Vordergliedmaßen (Greif-Zug-Test) bzw. von allen vier Gliedmaßen (Drahtgitter-Test) wird in der neurologischen Untersuchung mit sensorisch-motorischen Tests bewertet. Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ($\pm SD$) der Haltezeit, in der sich die Tiere im Greif-Zug Test mit den Vordergliedmaßen an einem Drahtseil und im Drahtgitter-Test mit allen vier Gliedmaßen auf einem unterschiedlich geneigten Drahtgitter festhalten, sind in folgender Tabelle aufgeführt.

Tabelle 10: Neurologische Parameter für Greif- und Haltevermögen: Greif-Zug- und Drahtgitter-Test

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Greif-Zug- Test	-1	13 ± 3	9 ± 5	11 ± 4	8 ± 4
	1	12 ± 3	9 ± 5	6 ± 5	2 ± 1
	2	11 ± 4	9 ± 4	9 ± 5	5 ± 4
	3	13 ± 3	8 ± 5	9 ± 4	8 ± 5
	12	11 ± 5	7 ± 4	7 ± 5	8 ± 6
Drahtgitter- Test	-1	4,0 ± 1,2	4,3 ± 1,5	4,4 ± 0,7	4,7 ± 0,5
	1	4,2 ± 1,5	4,2 ± 0,9	3,0 ± 1,3	3,3 ± 1,1
	2	4,0 ± 1,2	4,7 ± 0,5	2,8 ± 1,6	3,8 ± 1,1
	3	4,8 ± 0,4	4,2 ± 1,2	4,0 ± 0,8	4,7 ± 0,8
	12	4,5 ± 1,1	4,3 ± 1,4	4,2 ± 0,9	4,2 ± 0,9

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der neurologischen Parameter für Greif- und Haltevermögen: Greif-Zug-Test (Haltezeit (s)) Drahtgitter-Test (Haltezeit (s)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je n = 6).

Die Ausgangswerte der Haltezeit im Greif-Zug- und Drahtgitter-Test liegen nicht auf dem gleichen Niveau und es lassen sich auch im Verlauf keine Unterschiede zwischen den vier Gruppen erkennen. (Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich einzelne Tiere bereits präoperativ frühzeitig fallen lassen. Der Grund dafür ist wohl eher, dass sie wussten weich zu fallen, was nicht als neurologisches Defizit interpretiert werden soll. Deswegen werden diese Tiere bei der Analyse der neurologischen Punktezahl nicht berücksichtigt.)

Die folgende Abbildung 26 illustriert die Inzidenz, mit der die Tiere ohne neurologische Defizite überleben abhängig von der DHCA-Zeit.

50 % der Tiere überleben ohne neurologisches Defizit nach einer DHCA-Zeit von 48 min. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % liegt diese Zeit zwischen 19 und 63 min DHCA (95% Konfidenzintervall). Außerdem sinkt der Anteil der Tiere ohne neurologische Defizite mit steigenden DHCA-Zeiten.

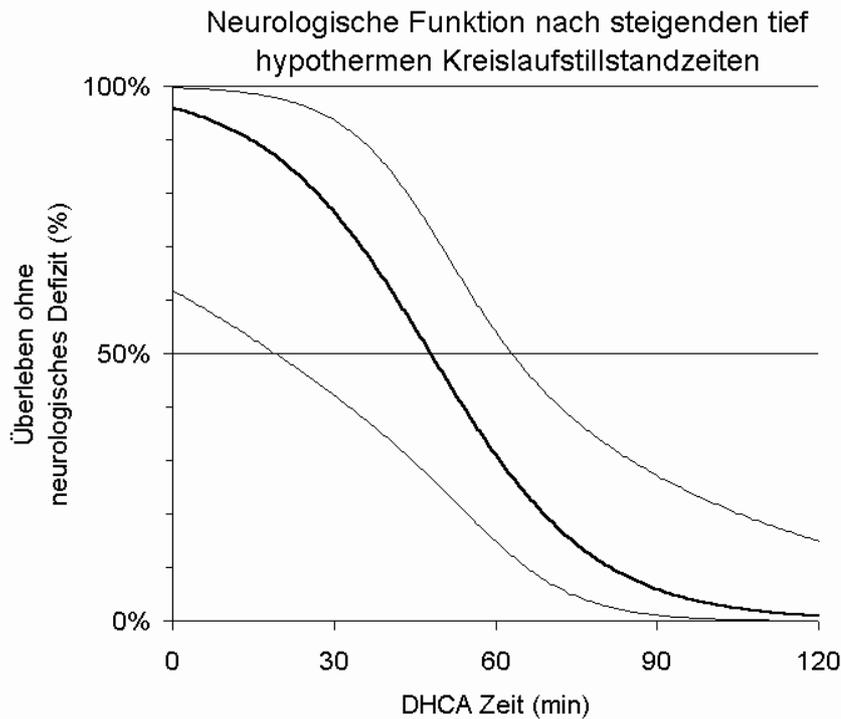


Abbildung 26: Illustration der Dosis-Wirkungsbeziehung ($MW \pm 95\% \text{ KI}$) von tief hypothermer Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit (min)) und neurologischer Funktion nach steigenden DHCA-Zeiten (Überleben ohne neurologisches Defizit (%)).

Dunkle Linie: MW = Mittelwert, helle Linien: KI = Konfidenzintervall

3.3.4 Parameter des modifizierten Hole-Board-Tests

Auch bei den Ergebnissen des modifizierten Hole-Board (mHB) -Tests gilt die Gruppeneinteilung der neurologischen Untersuchung (siehe Tabelle 7).

3.3.4.1 Kognitive Parameter

Die errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ($\pm SD$) von kognitiven Parametern (Gesamtzeit (Time Complete, TC), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices) und wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices)), die während der Lernphase im mHB-Test aufgezeichnet werden, sind in folgender Tabelle dargestellt.

Table 11: Cognitive Parameter: Gesamtzeit (Time Complete, TC), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices), wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices)

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Gesamtzeit des Durchlaufes (Time Complete)	4	116 ± 65	142 ± 101	272 ± 185	332 ± 217
	5	90 ± 56	185 ± 167	218 ± 191	305 ± 225
	6	82 ± 50	119 ± 132	193 ± 192	257 ± 246
	7	74 ± 52	104 ± 100	122 ± 126	243 ± 254
	8	69 ± 28	107 ± 108	96 ± 99	241 ± 254
	9	51 ± 20	118 ± 159	80 ± 86	239 ± 256
	14	67 ± 25	54 ± 19	89 ± 63	237 ± 257
Falsch besuchte Löcher (Wrong Choices)	4	0,4 ± 0,7	0,3 ± 0,4	0,9 ± 0,9	1,3 ± 1,2
	5	0,4 ± 0,5	1,0 ± 0,9	0,9 ± 0,9	1,2 ± 1,3
	6	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,4	0,6 ± 0,4	1,1 ± 1,3
	7	0,2 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3	1,2 ± 1,3
	8	0,4 ± 0,6	0,3 ± 0,4	0,3 ± 0,4	1,3 ± 1,3
	9	0,3 ± 0,3	0,2 ± 0,4	0,4 ± 0,5	1,0 ± 1,4
	14	0,3 ± 0,5	0,3 ± 0,4	0,1 ± 0,2	1,1 ± 1,4
Wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices)	4	0,7 ± 0,9	0,3 ± 0,3	0,4 ± 0,6	1,0 ± 0,7
	5	0,5 ± 0,8	0,4 ± 0,4	0,4 ± 0,4	0,7 ± 0,4
	6	0,4 ± 0,5	0,2 ± 0,3	0,6 ± 0,5	0,3 ± 0,4
	7	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,3	0,5 ± 0,5	0,2 ± 0,3
	8	0,4 ± 0,6	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,4	0,6 ± 0,5
	9	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,3	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,1
	14	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der kognitiven Parameter: Gesamtzeit (Time Complete, TC (s)), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)) und wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je $n = 6$).

Die Gesamtzeit des Durchlaufes (Time Complete, TC) fällt in allen vier Gruppen vom Beginn (postoperativer Tag 4) bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9). Während die Werte in den Gruppen mit 0, 60 und > 60 min DHCA kontinuierlich abnehmen, erreicht die Gesamtzeit der Gruppe mit 45 min DHCA am postoperativen Tag 5 ihren Höhepunkt und fällt bis zum postoperativen Tag 7 ab, um dann erneut bis zum Ende der Lernphase (postoperativer Tag 9) leicht anzusteigen. Die Gruppe mit > 60 min DHCA weist ab dem siebten postoperativen Tag tendenziell höhere Gesamtzeiten verglichen mit den Gruppen mit

0, 45, 60 min DHCA auf. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegt die Gesamtzeit der Gruppe mit > 60 min DHCA weiterhin über den Mittelwerten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA (siehe Abbildung 27).

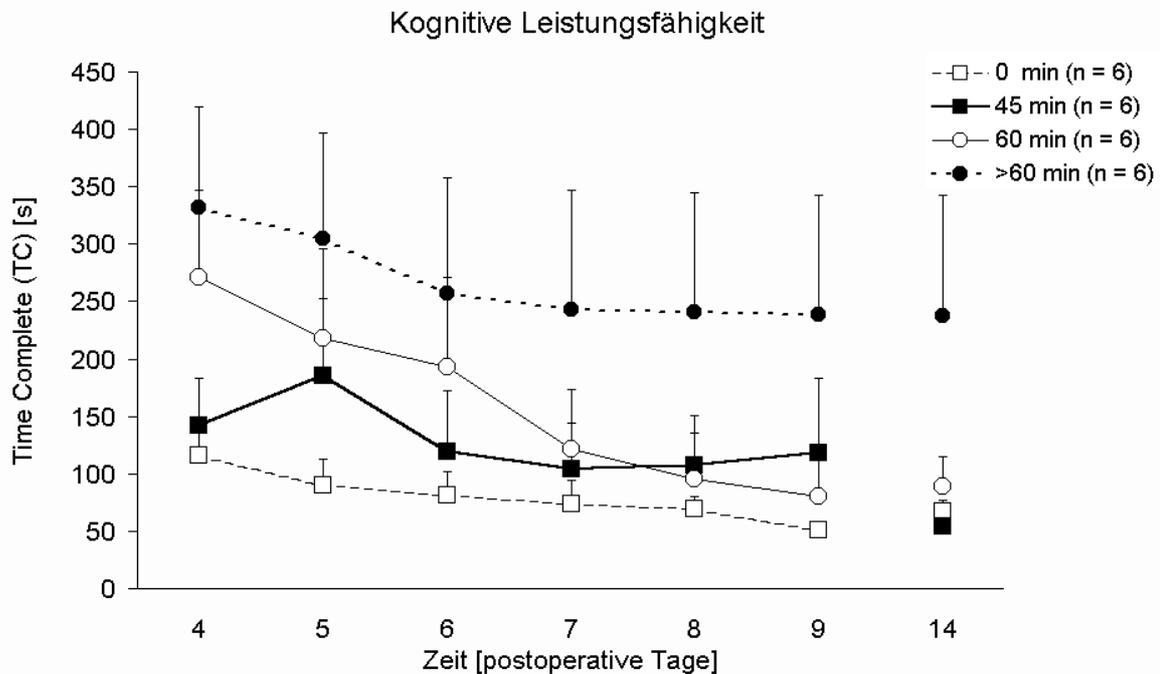


Abbildung 27: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Gesamtzeit eines Durchlaufes (Time Complete, TC (s)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Anzahl falsch besuchter Löcher und nicht besuchter Löcher (Wrong Choices) nimmt in allen Gruppen vom Beginn (postoperativer Tag 4) bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) ab. Während die Werte in den Gruppen mit 0, 60 und > 60 min DHCA zur Mitte der Lernphase hin (postoperativer Tag 6 bzw. 7) stetig abfallen, steigt die Anzahl falsch besuchter Löcher in der Gruppe mit 45 min DHCA zunächst (postoperativer Tag 5) noch an, um dann ebenfalls abzusinken. Die Anzahl falsch besuchter Löcher der Gruppe mit > 60 min DHCA liegt während des gesamten Zeitverlaufs tendenziell über den Werten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegt die Anzahl falsch besuchter Löcher in der Gruppe mit > 60 min DHCA weiterhin über den Mittelwerten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA (siehe Abbildung 28). (Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Tiere dieser Gruppe den mHB-Test

nicht erlernen und demzufolge viele nicht besuchte Löcher (Omission Errors) aufweisen, die zu den falschen besuchten Löchern summiert werden.)

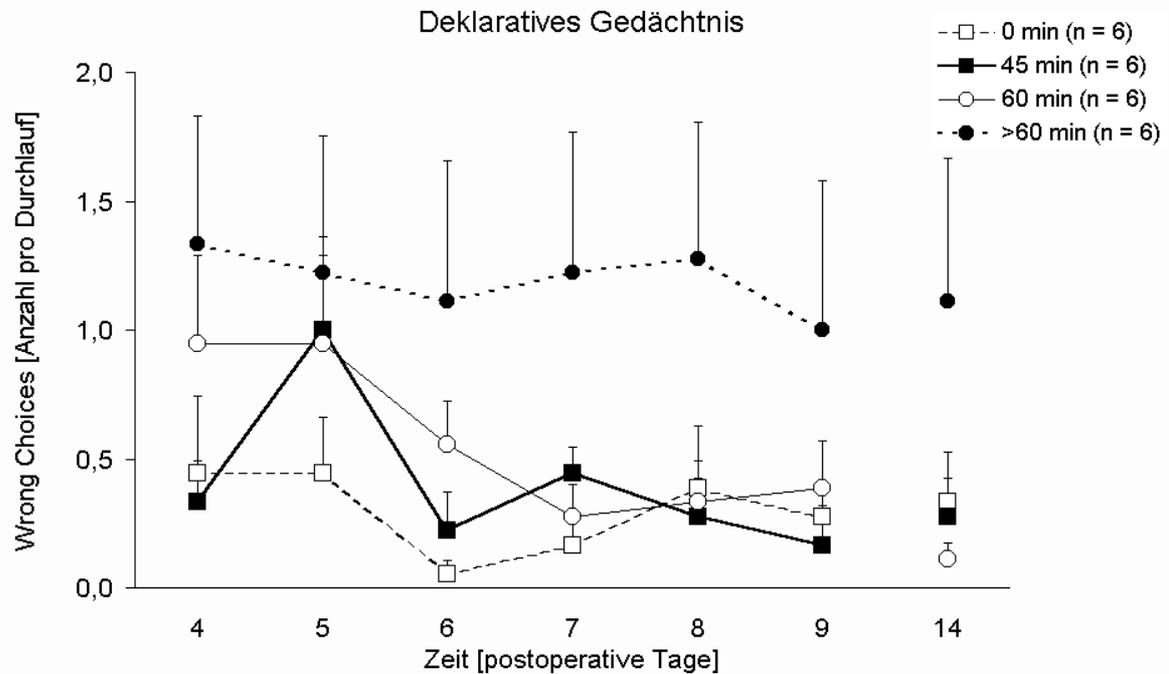


Abbildung 28: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl falsch besuchter Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices) nimmt in allen Gruppen von Beginn (postoperativer Tag 4) bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) in nicht linearem Verlauf ab. Tendenziell unterscheiden sich die Werte der vier Gruppen im Zeitverlauf nicht. Dasselbe gilt auch für den Wiederholungstest (postoperativer Tag 14), bei dem alle vier Gruppen nahezu identische Mittelwerte aufweisen (siehe Abbildung 29). (Dabei ist zu bemerken, dass diejenigen Tiere, die drei nicht besuchte markierte Löcher aufweisen, in der Bewertung der wiederholt besuchten Löcher mit keinem Wert eingehen, weil diese Tiere keines der drei markierten Löcher besucht haben und somit keine Wiederholungen machen können.)

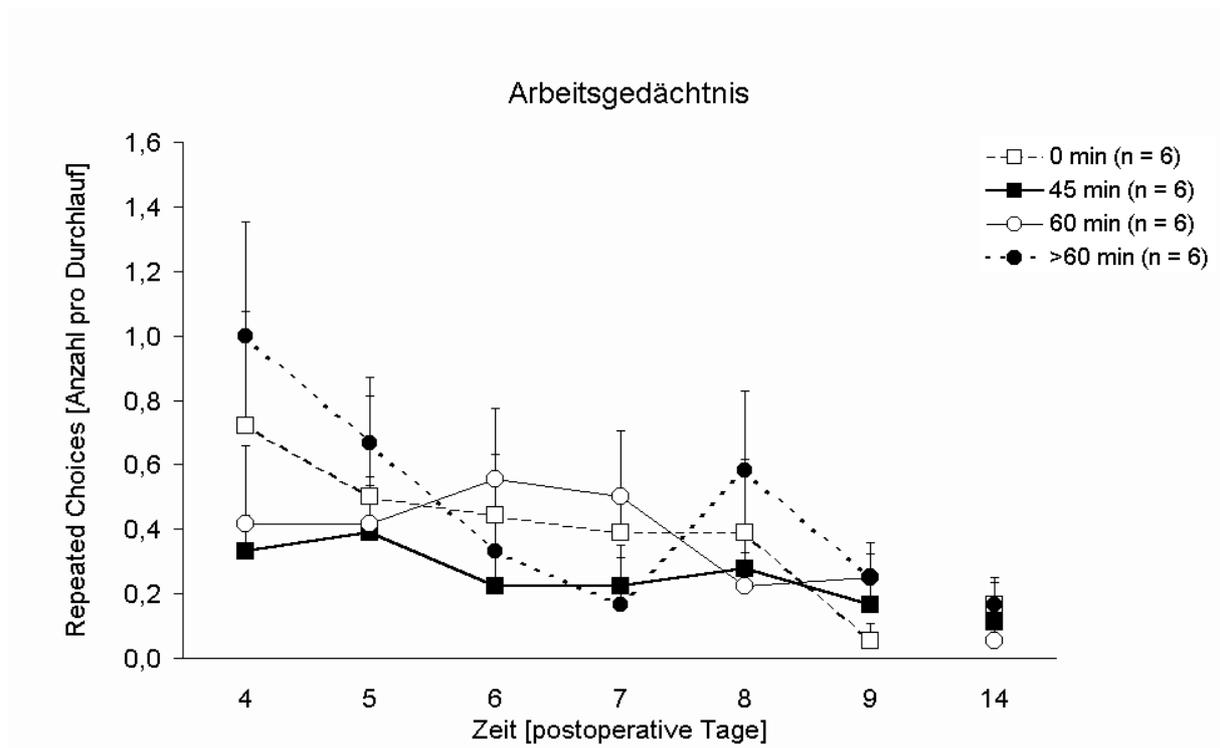


Abbildung 29: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die folgende Abbildung 30 illustriert die Inzidenz von Tieren ohne kognitive Defizite, abhängig von der DHCA-Zeit.

Dabei überleben 50 % der Tiere ohne kognitive Defizite nach einer DHCA-Zeit von 40 min. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % liegt diese Zeit zwischen 0 und 60 min DHCA. (95 % Konfidenzintervall). Darüber hinaus wird ersichtlich, dass mit steigenden DHCA-Zeiten der Anteil der Tiere ohne kognitive Defizite sinkt.

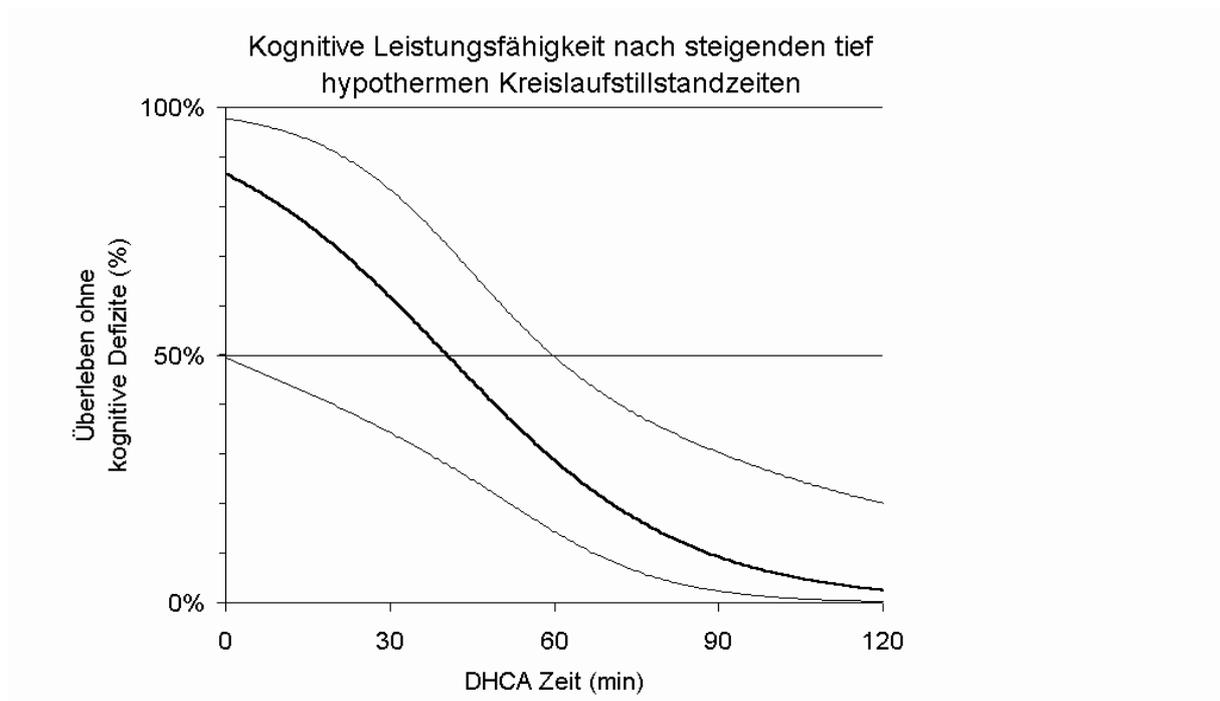


Abbildung 30: Illustration der Dosis-Wirkungsbeziehung ($MW \pm 95\%$ KI) von tief hypothermer Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit (min)) und kognitiver Funktion nach steigenden DHCA-Zeiten (Überleben ohne kognitives Defizit (%)).

Dunkle Linie: MW = Mittelwert, helle Linien: KI = Konfidenzintervall

3.3.4.2 Verhaltensparameter

Angstverhalten

Indikatoren für Angstverhalten umfassen im modifizierten Hole-Board (mHB) -Test folgende Verhaltensparameter: Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries), Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First entry on Board) und auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board). Daraus errechnete Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ($\pm SD$) sind in folgender Tabelle dargestellt.

Tabelle 12: Verhaltensparameter für Angstverhalten: auf dem Board verbrachte Gesamtzeit (Time on Board), Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board), Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries)

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Gesamtzeit auf dem mHB (Time on Board)	4	34 ± 10	28 ± 6	25 ± 13	31 ± 17
	5	26 ± 5	27 ± 10	29 ± 7	33 ± 14
	6	29 ± 8	23 ± 7	27 ± 9	28 ± 11
	7	29 ± 5	23 ± 9	27 ± 10	36 ± 9
	8	35 ± 5	28 ± 10	26 ± 12	30 ± 15
	9	29 ± 6	23 ± 9	27 ± 6	29 ± 16
	14	33 ± 6	30 ± 7	28 ± 6	41 ± 13
Erster mHB- Besuch (Latency First Entry on Board)	4	6,8 ± 7,3	13,9 ± 10,0	42,5 ± 73,4	19,8 ± 22,4
	5	4,9 ± 6,4	36,2 ± 62,1	16,5 ± 16,3	6,6 ± 3,8
	6	4,7 ± 4,4	8,8 ± 7,2	5,9 ± 3,7	5,8 ± 4,5
	7	3,7 ± 3,6	6,5 ± 4,7	7,2 ± 7,3	4,8 ± 2,2
	8	3,0 ± 2,4	8,5 ± 8,5	6,2 ± 6,1	14,3 ± 24,9
	9	2,9 ± 2,2	54,7 ± 110,3	5,9 ± 6,0	9,7 ± 15,8
	14	1,7 ± 0,6	2,7 ± 1,1	3,1 ± 1,8	2,9 ± 1,7
Anzahl mHB- Besuche (Number of Board Entries)	4	5,6 ± 2,2	4,8 ± 1,9	5,6 ± 2,4	7,2 ± 4,5
	5	4,1 ± 2,4	5,2 ± 4,4	6,4 ± 3,7	7,6 ± 3,7
	6	4,1 ± 1,4	3,8 ± 1,4	5,8 ± 2,9	5,9 ± 3,0
	7	4,4 ± 3,2	3,8 ± 1,1	5,1 ± 2,7	7,4 ± 5,9
	8	4,0 ± 1,9	3,3 ± 1,0	3,7 ± 2,7	4,9 ± 2,2
	9	2,5 ± 1,1	2,6 ± 1,2	2,7 ± 1,1	6,3 ± 5,9
	14	4,5 ± 2,0	3,2 ± 1,2	3,5 ± 0,4	9,5 ± 7,7

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (±SD) der Verhaltensparameter für Angstverhalten: auf dem Board verbrachte Gesamtzeit (Time on Board (% TC)), Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board (s)), Anzahl der mHB-Besuche (Board Entries (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je n = 6).

Die auf dem Board verbrachte Gesamtzeit (Time on Board) schwankt in allen vier Gruppen von Beginn (postoperativer Tag 4) bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) auf einem annähernd gleichbleibendem Niveau. Tendenziell unterscheiden sich die Werte der vier Gruppen im Zeitverlauf nicht. Lediglich zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegt die auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit der Gruppe mit > 60 min DHCA tendenziell über den Mittelwerten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA (siehe Tabelle 12).

Die Mittelwerte der Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board) verlaufen in der Gruppe mit 0 min DHCA vom Beginn (postoperativer Tag 4) bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) annähernd linear. Die Werte der Gruppen mit 60 und > 60 min DHCA erreichen nach höheren Ausgangswerten (postoperativer Tag 4) erst am sechsten bzw. fünften postoperativen Tag das durchgehend niedrige Niveau der Gruppe mit 0 min DHCA und verlaufen bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) annähernd parallel. Die Latenz bis zum ersten mHB-Besuch der Gruppe mit 45 min DHCA steigt auf einen Höhepunkt am fünften postoperativen Tag und verläuft bis zum achten postoperativen Tag annähernd parallel zu den anderen Gruppen mit 0, 60 und > 60 min DHCA. Am Ende der Lernphase (postoperativer Tag 9) erreichen die Werte der Gruppe mit 45 min DHCA einen erneuten Höhepunkt, wogegen die Werte der anderen Gruppen weiter absinken. Aus dieser Diskrepanz ergibt sich der einzige erkennbare tendenzielle Unterschied zwischen den Gruppen im Zeitverlauf. (Dies ist auf ein einziges Tier zurückzuführen und soll nicht weiter erläutert werden.) Am Tag des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) weisen alle vier Gruppen nahezu identische Latenzen bis zum ersten mHB-Besuch auf (siehe Tabelle 12).

Die Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries) sinkt in den Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA vom Beginn (postoperativer Tag 4) bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) in nicht linearem Verlauf. Die Werte der Gruppe mit > 60 min DHCA schwanken dagegen auf einem annähernd konstanten Niveau. Im Zeitverlauf bis zum achten postoperativen Tag unterscheiden sich die Werte der Gruppen nicht, lediglich am Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) können tendenzielle Unterschiede zwischen der Gruppe mit > 60 min DHCA und den Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA festgestellt werden. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegt die Anzahl der mHB-Besuche der Gruppe mit > 60 min DHCA tendenziell über den Mittelwerten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA (siehe Tabelle 12).

Angst und Allgemeinbefinden

Als Verhaltensparameter für Angst und Allgemeinbefinden dient die Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility), die im mHB-Test während der Lernphase dokumentiert wird. Die errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) sind in folgender Tabelle 13 aufgezeigt.

Table 13: Behavioral parameters for anxiety and general well-being: Total time of immobility phases (Immobility)

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Immobilität (Immobility)	4	0 ± 0	6 ± 8	19 ± 27	23 ± 28
	5	0 ± 1	8 ± 16	13 ± 18	17 ± 20
	6	0 ± 0	5 ± 11	9 ± 13	14 ± 19
	7	0 ± 0	6 ± 14	4 ± 8	5 ± 11
	8	0 ± 0	5 ± 12	0 ± 1	13 ± 18
	9	0 ± 0	7 ± 15	4 ± 9	10 ± 22
	14	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 10	6 ± 13

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der Verhaltensparameter für Angst und Allgemeinbefinden: Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% TC)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je $n = 6$).

Die Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility) ist in der Gruppe mit 0 min DHCA verschwindend gering und verläuft auch in der Gruppen mit 45 min DHCA annähernd linear auf niedrigem Niveau. Dagegen sinken die hohen Ausgangswerte (postoperativer Tag 4) der Gruppen mit 60 und > 60 min DHCA bis zum achten bzw. siebten postoperativen Tag annähernd linear auf das Niveau der Werte der Gruppe mit 45 min DHCA. Während die Werte der Gruppe mit 60 min DHCA in diesem Bereich bleiben, steigen die Werte der Gruppe mit > 60 min bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9). Tendenziell unterscheiden sich die Gruppen im Zeitverlauf nicht, und die Mittelwerte aller Gruppen liegen stets unter einer Gesamtzeit der Immobilitätsphasen von 25 %. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegt die Gesamtzeit der Immobilitätsphasen der Gruppe mit 60 und > 60 min DHCA tendenziell über den Mittelwerten der Gruppen mit 0 und 45 min DHCA (siehe Abbildung 31).

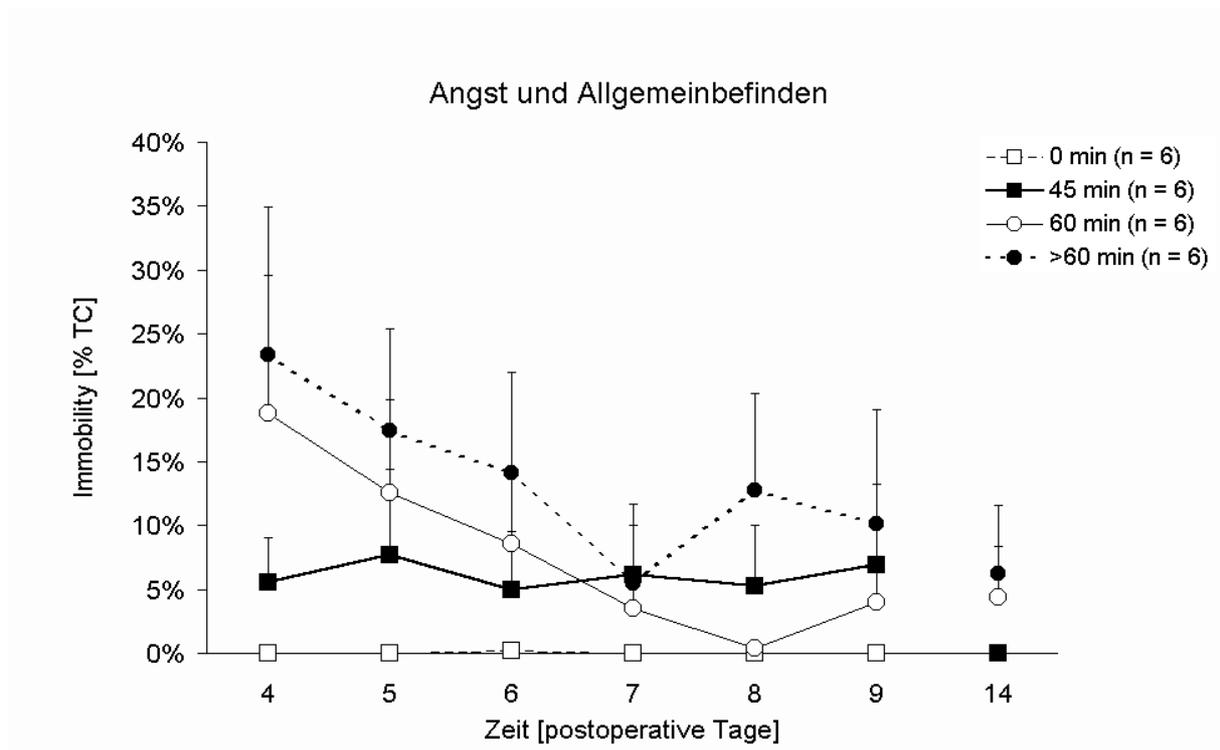


Abbildung 31: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% TC)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Soziale Affinität

Als Maß für die soziale Affinität gilt im mHB-Test die während der Lernphase ermittelte Kontaktaufnahme zur Gruppe (Group Contact). Die errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ($\pm SD$) sind in folgender Tabelle aufgezeigt.

Tabelle 14: Verhaltensparameter für Soziale Affinität: Kontaktaufnahme mit der Gruppe (Group Contact)

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Kontakt mit der Gruppe (Group Contact)	4	3 ± 3	2 ± 2	4 ± 1	2 ± 2
	5	2 ± 1	3 ± 5	6 ± 3	2 ± 2
	6	1 ± 1	1 ± 1	4 ± 1	2 ± 2
	7	1 ± 1	1 ± 2	4 ± 2	4 ± 5
	8	1 ± 1	2 ± 2	3 ± 2	4 ± 5
	9	0 ± 1	2 ± 3	4 ± 2	3 ± 5
	14	1 ± 1	1 ± 1	5 ± 2	3 ± 3

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der Verhaltensparameter für Soziale Affinität: Kontaktaufnahme mit der Gruppe (Group Contact (% TC)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je n = 6).

Die Mittelwerte der Kontaktaufnahme mit der Gruppe (Group Contact) variieren im Zeitverlauf in allen vier Gruppen. Tendenzen lassen sich über den Zeitverlauf hinweg nicht erkennen. Lediglich zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (Re-Test am postoperativen Tag 14) liegen die Mittelwerte der Gruppen mit 60 und > 60 min DHCA tendenziell über den Mittelwerten der Gruppen mit 0 und 45 min DHCA (siehe Tabelle 14).

Exploration

Exploration wird im mHB-Test in eine gerichtete und ungerichtete Form aufgeteilt. Als gerichtete Exploration gilt das zielgerichtete Besuchen von Löchern, wobei die Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited) und die Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit) gewertet werden. Unter genereller, ungerichteter Exploration der Umgebung wird das Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings) verstanden. Die für jeden Parameter errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) sind in folgender Tabelle einzeln aufgeschlossen.

Table 15: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit), Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited) und ungerichtete Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Erster Lochbesuch (Latency First Hole Visit)	4	22,5 ± 16,4	60,6 ± 82,0	153,3 ± 178,0	238,7 ± 260,8
	5	14,4 ± 11,2	101,1 ± 135,7	118,9 ± 133,3	221,1 ± 269,2
	6	18,0 ± 16,2	36,4 ± 51,1	32,3 ± 30,7	209,2 ± 276,5
	7	9,7 ± 6,1	9,3 ± 4,2	31,1 ± 48,5	208,1 ± 277,2
	8	7,5 ± 4,1	14,6 ± 16,7	31,8 ± 53,4	205,0 ± 279,3
	9	7,4 ± 5,1	59,1 ± 113,9	39,8 ± 77,1	203,3 ± 280,5
	14	9,3 ± 2,8	6,2 ± 1,8	9,0 ± 4,0	208,7 ± 276,9
Besuchte Löcher (Number of Holes Visited)	4	4,3 ± 1,6	3,6 ± 0,6	3,4 ± 1,6	2,8 ± 2,1
	5	4,1 ± 1,4	3,6 ± 0,9	3,5 ± 1,6	2,8 ± 2,1
	6	3,5 ± 0,6	3,3 ± 0,4	3,8 ± 0,3	2,5 ± 1,8
	7	3,6 ± 0,4	3,6 ± 0,6	3,7 ± 0,6	2,4 ± 1,8
	8	3,9 ± 1,2	3,4 ± 0,2	3,4 ± 0,4	2,7 ± 2,0
	9	3,3 ± 0,4	3,0 ± 0,5	3,3 ± 0,4	2,2 ± 1,5
	14	3,5 ± 0,6	3,4 ± 0,3	3,1 ± 0,2	2,2 ± 1,6
Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)	4	2,6 ± 1,8	1,7 ± 1,1	2,1 ± 2,1	0,7 ± 1,1
	5	1,8 ± 1,6	1,8 ± 2,5	2,1 ± 1,9	1,4 ± 1,9
	6	1,1 ± 1,4	0,9 ± 0,5	1,0 ± 1,4	1,4 ± 2,0
	7	0,6 ± 0,7	1,2 ± 1,4	0,8 ± 1,0	1,6 ± 2,8
	8	1,3 ± 0,7	0,2 ± 0,3	1,2 ± 1,8	1,7 ± 3,3
	9	0,4 ± 0,6	0,3 ± 0,4	0,7 ± 0,9	1,7 ± 2,1
	14	1,8 ± 1,2	0,7 ± 0,5	0,7 ± 0,4	4,7 ± 6,0

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited, NHV (Anzahl pro Durchlauf)), Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit, LFHV (s)) und ungerichtete Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je $n = 6$).

Als Maß für die gerichtete Exploration wird unter anderem die Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit) gewertet. Die Mittelwerte der Gruppe mit 0 min DHCA bleiben während der gesamten aufgezeichneten Lernphase auf niedrigem Niveau verglichen mit den anderen Gruppen. Die Ausgangswerte (postoperativer Tag 4) steigen mit höheren DHCA-Zeiten, so dass die Gruppe mit > 60 min die höchsten Werte aufweist. Im weiteren Verlauf sinkt die Latenz bis zum ersten Lochbesuch in der Gruppe mit 45 und 60 min bis zum sechsten postoperativen Tag bereits wieder auf Werte der Gruppe mit 0 min DHCA. Dagegen sin-

ken die Werte der Gruppe mit > 60 min DHCA nur ganz leicht bis zum Ende der Lernphase (postoperativer Tag 9) und liegen stets über den Werten der anderen Gruppen. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegt die Latenz bis zum ersten Lochbesuch in der Gruppe mit > 60 min DHCA weiterhin über den Mittelwerten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA (siehe Abbildung 32).

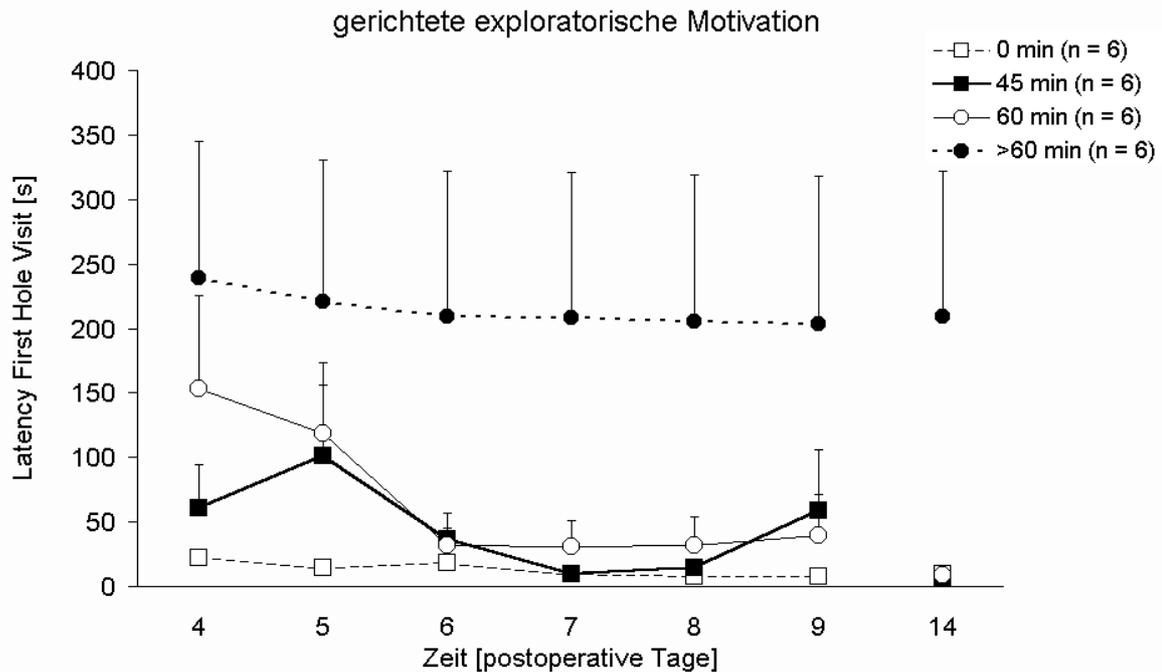


Abbildung 32: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit (s)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die gerichtete Exploration umfasst daneben auch die Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited). Die Mittelwerte aller Gruppen verlaufen während der gesamten aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 4 bis 9) nahezu parallel, ohne an einem bestimmten Zeitpunkt stark anzusteigen oder abzufallen. Tendenziell liegen die Werte der Gruppe mit > 60 min DHCA im Zeitverlauf unter denen der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA. Dies gilt ebenso für die Anzahl besuchter Löcher am Tag des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) (siehe Tabelle 15).

Die als ungerichtete Exploration geltende Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings) weist in allen Gruppen einen schwankenden Verlauf ohne erkennbare Tendenzen auf. Zum

Zeitpunkt des Wiederholungstest (postoperativer Tag 14) liegt die Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine in der Gruppe mit > 60 min DHCA tendenziell über den Mittelwerten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA (siehe Tabelle 15).

Erregung

Die physiologische Erregung wird im mHB-Test mit der Anzahl der Kotbällchen (Boli) und Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) während eines Durchlaufs erfasst. Errechnete Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) sind in folgender Tabelle angeführt.

Tabelle 16: Verhaltensparameter für Erregung: Anzahl an Kotbällchen (Boli) und Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming)

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Kotbällchen (Boli)	4	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,3 \pm 0,5
	5	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,3
	6	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,3
	7	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1
	8	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
	9	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1
	14	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
Putzphasen (Grooming)	4	1 \pm 2	0 \pm 1	5 \pm 5	3 \pm 3
	5	0 \pm 1	1 \pm 1	6 \pm 4	3 \pm 3
	6	2 \pm 4	1 \pm 1	4 \pm 4	4 \pm 3
	7	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 2	2 \pm 2
	8	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 3	3 \pm 5
	9	0 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 3	1 \pm 1
	14	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 1	3 \pm 6

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der Verhaltensparameter für Erregung: Anzahl an Kotbällchen (Boli (Anzahl pro Durchlauf)) und Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming (% TC)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je n = 6).

Die Anzahl an Kotbällchen (Boli) sinkt in der Gruppe mit > 60 min DHCA vom Beginn (postoperativer Tag 4) bis zum Ende der aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 9) in nicht linearem Verlauf, um am achten postoperativen Tag die Nulllinie zu schneiden. Die Mittelwerte der Gruppe mit 45 min DHCA fallen dagegen bereits am fünften postoperativen Tag auf Nullniveau. Die Gruppen mit 0 und 60 min zeigen während der gesamten aufgezeichneten

Lernphase (postoperativer Tag 4 bis 9) kleine Anzahlen an Kotbällchen. Tendenziell unterscheiden sich die Werte der Gruppe mit > 60 min DHCA nur vom vierten bis sechsten postoperativen Tag von den Werten der anderen Gruppen. Am Tag des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) sind die Mittelwerte der Anzahlen an Kotbällchen in allen vier Gruppen gleich null (siehe Abbildung 33).

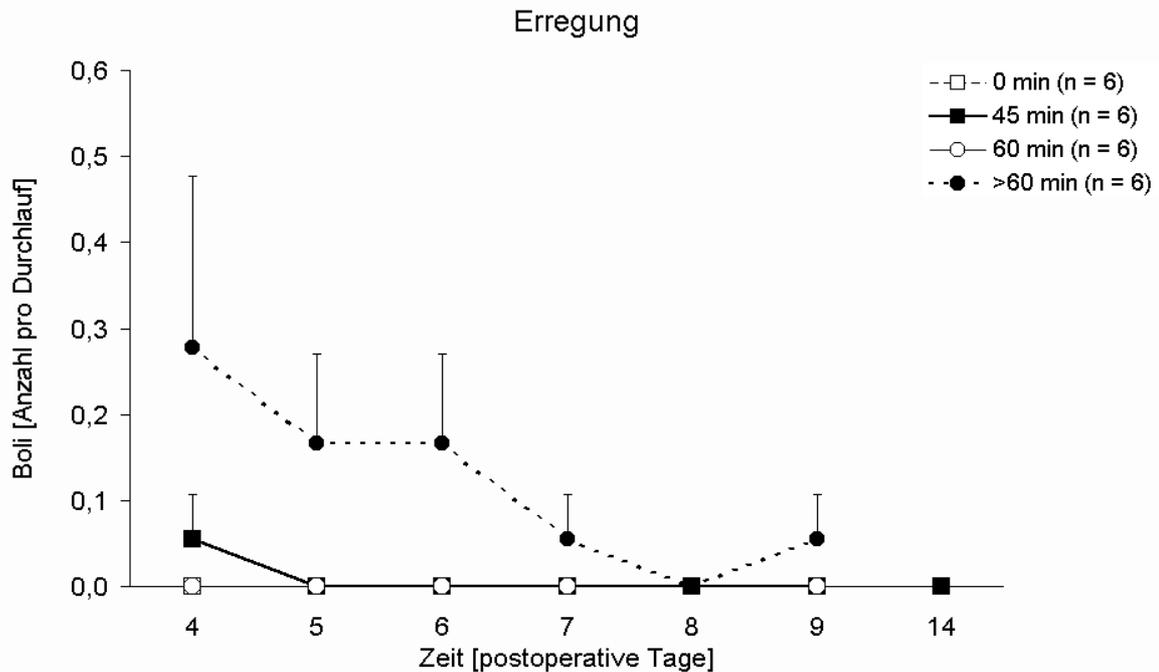


Abbildung 33: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl an Kotbällchen pro Durchlauf (Boli (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) variiert in allen vier Gruppen während der gesamten aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 4 bis 9). Tendenziell lassen sich keine unterschiedlichen Verläufe herausstellen. Lediglich am fünften postoperativen Tag erreichen die Werte in der Gruppe mit 60 min DHCA tendenziell eine höhere Gesamtzeit der Putzphasen verglichen mit den anderen Gruppen mit 0, 45 und > 60 min DHCA.

Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegt die Gesamtzeit der Putzphasen in der Gruppe mit > 60 min DHCA tendenziell über den Mittelwerten der Gruppen mit 0, 45 und 60 min DHCA (siehe Abbildung 34).

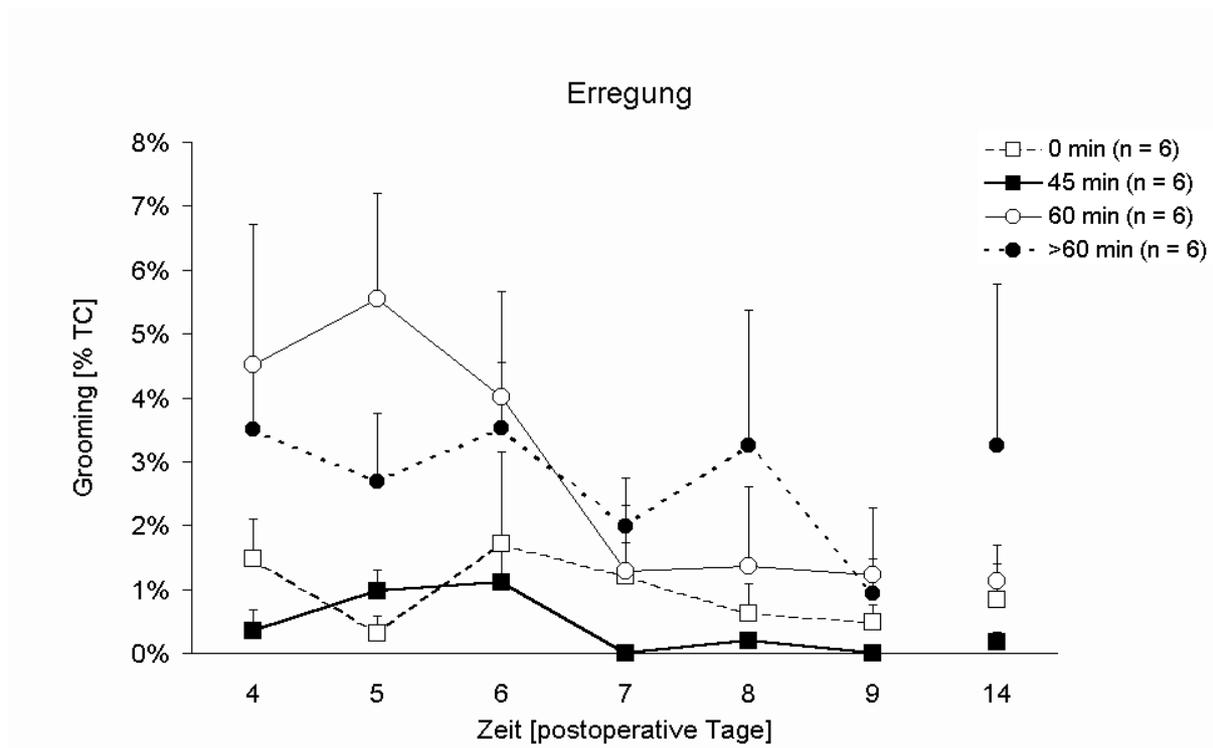


Abbildung 34:) Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming (% TC)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Lokomotion

Die Bewegungsaktivität (Lokomotion), auf der letztendlich jedes sichtbare Verhalten basiert, wird im mHB-Test mit der Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings) gewertet und ist in folgender Tabelle mit errechneten Mittelwerten (MW) und Standardabweichungen ($\pm SD$) aufgeführt.

Table 17: Behavioral parameters for locomotion: Number of Line Crossings (Line Crossings)

	Tag	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Linien- übertritte (Line Crossings)	4	2,1 ± 1,0	2,3 ± 0,9	1,5 ± 0,8	1,8 ± 1,4
	5	1,8 ± 0,5	2,3 ± 0,7	1,9 ± 0,8	1,7 ± 1,1
	6	2,1 ± 1,0	2,5 ± 1,1	2,0 ± 0,7	1,4 ± 0,7
	7	1,6 ± 0,6	2,8 ± 1,4	2,5 ± 0,7	1,5 ± 1,0
	8	1,9 ± 1,0	2,7 ± 1,8	2,8 ± 1,9	1,7 ± 1,4
	9	1,5 ± 1,0	1,8 ± 1,4	2,6 ± 1,1	1,8 ± 1,4
	14	1,0 ± 0,9	2,5 ± 1,5	2,5 ± 0,7	2,9 ± 2,0

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der Verhaltensparameter für Lokomotion: Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings (Anzahl pro min)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen (je n = 6).

Die Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings) bleibt in den Gruppen mit 0 und > 60 min DHCA während der gesamten aufgezeichneten Lernphase (postoperativer Tag 4 bis 9) auf annähernd konstantem Niveau. Dagegen steigen die Werte in den Gruppen mit 45 und 60 min bis zum siebten bzw. achten postoperativen Tag und fallen bis zum Ende der Lernphase (postoperativer Tag 9) wieder. Tendenziell unterscheiden sich die Werte der vier Gruppen im Zeitverlauf jedoch nicht. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstests (postoperativer Tag 14) liegen die Mittelwerte der Anzahl an Linienübertritten in der Gruppe mit 45, 60 und > 60 min DHCA tendenziell über den Mittelwerten der Gruppe mit 0 min DHCA (siehe Abbildung 35).

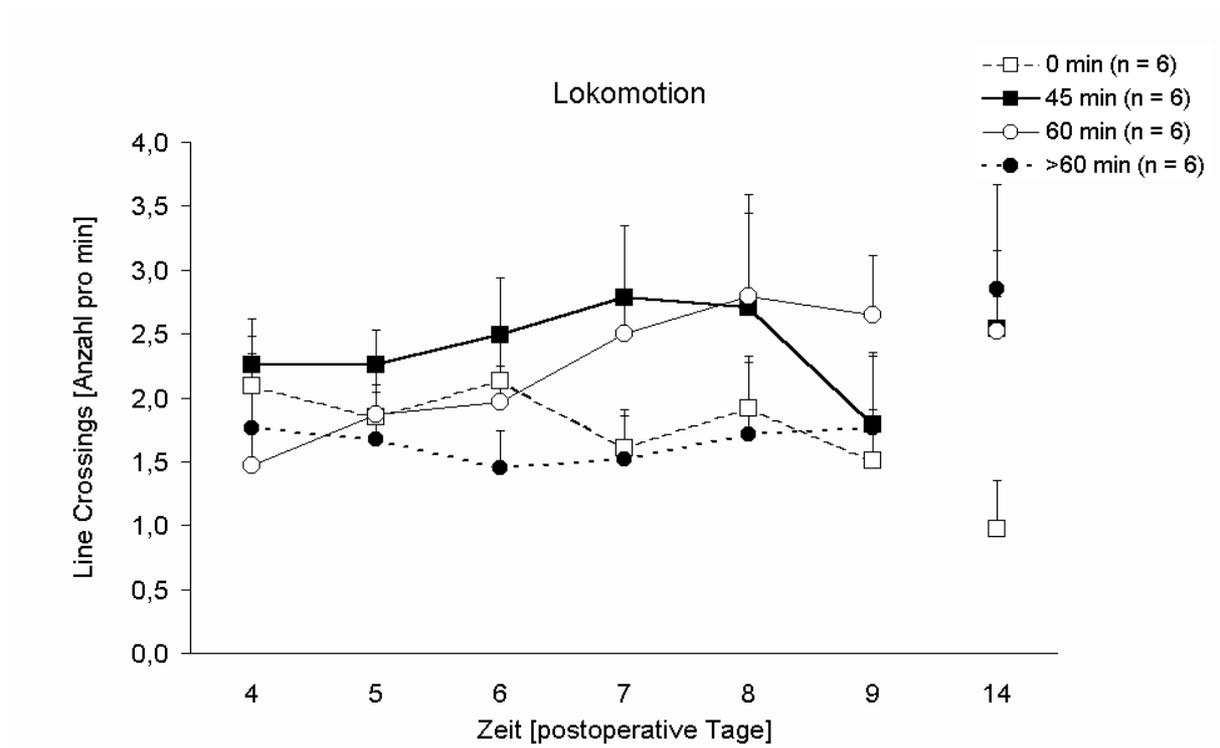


Abbildung 35: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings (Anzahl pro min)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

3.3.5 Hirngewebeuntersuchung

H & E-Färbung

Steigende DHCA-Zeiten rufen unterschiedliche zerebrale Schädigungen hervor, die histologisch mit der H & E-Färbung unter dem Lichtmikroskop beurteilt und klassifiziert werden (siehe 3.2.6). Sowohl die linke als auch die rechte Gehirnhälfte werden mit gefärbten Schnitten untersucht, wobei das Hauptaugenmerk auf Gehirnanteilen, die besonders empfindlich auf Sauerstoff- und Substratmangel reagieren liegt: Zingulum, motorischer Kortex, Striatum, Hippokampus und Zerebellum. Parallel zu den Versuchstieren werden sechs gesunde unbehandelte Kontrolltiere bewertet. In der folgenden Tabelle 18 sind die errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (±SD) aufgeführt.

Table 18: Histologische Bewertung der verschiedenen Gehirnregionen

		Kontrolle	0 min DHCA	45 min DHCA	60 min DHCA	> 60 min DHCA
Zingulum	(re)	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,5	1,7 ± 3,1	1,0 ± 1,3	7,8 ± 7,9
	(li)	0,0 ± 0,0	1,2 ± 1,6	1,2 ± 1,6	0,5 ± 0,8	5,7 ± 6,3
Motorischer Kortex	(re)	2,0 ± 2,8	4,0 ± 4,0	5,0 ± 3,3	4,3 ± 3,1	9,2 ± 6,7
	(li)	1,5 ± 2,1	2,3 ± 3,7	5,7 ± 3,7	6,7 ± 3,7	9,5 ± 6,3
Striatum	(re)	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,5	0,7 ± 1,0	0,7 ± 0,8	5,7 ± 5,5
	(li)	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,4	2,3 ± 2,9	1,5 ± 1,4	5,7 ± 5,9
Hippokampus	(re)	1,0 ± 1,4	2,0 ± 2,1	2,2 ± 2,0	3,3 ± 1,8	3,2 ± 1,5
	(li)	2,0 ± 2,8	2,3 ± 2,2	2,5 ± 1,2	3,0 ± 2,1	4,3 ± 1,5
Zerebellum	(re)	1,0 ± 0,0	1,5 ± 1,2	0,7 ± 0,8	0,8 ± 1,0	0,3 ± 0,8
	(li)	0,0 ± 0,0	1,5 ± 1,9	1,2 ± 1,3	0,7 ± 1,2	0,7 ± 1,6

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) der histologischen Bewertung der verschiedenen Gehirnregionen: Zingulum, motorischer Kortex, Striatum, Hippokampus und Zerebellum der rechten (re) und linken (li) Gehirnhälfte aller vier Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe (je $n = 6$).

Im Bereich des Zingulum sind vor allem die Werte in der Gruppe mit > 60 min DHCA erhöht verglichen mit den anderen Gruppen. Dabei weist die rechte Gehirnhälfte dieser Gruppe circa fünffach und die linke siebenfach höhere Werte als die anderen Gruppen auf (siehe Tabelle 18).

Der motorische Kortex wird bei allen Gruppen mit sehr hohen Punktzahlen bewertet, wobei die Werte der Gruppe mit > 60 min DHCA ca. doppelt so hoch sind verglichen mit den anderen Gruppen (siehe Tabelle 18).

Im Bereich von Striatum, Hippokampus und Zerebellum sind die Werte geringer im Vergleich zu den Punktzahlen von Zingulum und motorischem Kortex. Betrachtet man die einzelnen Gehirnregionen der Tiere nach unterschiedlichen DHCA-Zeiten, so sind die Werte im Bereich des Striatums vor allem in der Gruppe mit > 60 min DHCA erhöht verglichen mit den anderen Gruppen, während im Bereich von Hippokampus und Zerebellum keine Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen sind (siehe Tabelle 18).

Allgemein herrschen vor allem einzelne geschädigte Neurone bei Tieren mit steigenden DHCA-Zeiten vor. Lediglich drei Tiere weisen einen zerebralen Infarkt mit fortgeschrittener Entzündungsreaktion auf.

3.3.6 Korrelation der Histologie mit der zentralnervösen Leistung

Histologischer Befund (siehe 3.3.5) und die zentralnervöse Gesamtfunktion, die sowohl motorische, kognitive und sensitive Funktionen als auch Verhaltensleistungen umfasst (siehe 3.3.3; 3.3.4), werden miteinander korreliert.

Die folgende Abbildung 36 illustriert die Korrelation zentralnervöser und histologischer Gesamtpunktezahlen von den überlebenden Tieren ($n = 24$) dieser Studie.

Die zentralnervöse Funktion, die am 12. bzw. 14. postoperativen Tag bestimmt wird, korreliert nicht mit den histologischen Ergebnissen am 14. postoperativen Tag (Korrelationskoeffizienten $r = 0,51$, $p > 0,05$). Zwei von insgesamt 24 Tieren weisen sowohl in der funktionellen als auch in der histologischen Gesamtpunktezahl normale Werte auf. Umgekehrt zeigen zehn Tiere mit histologisch belegter Gehirnschädigung auch beeinträchtigte zentralnervöse Funktionen. Bei zwölf Tieren mit histologischer Schädigung ist jedoch 14 Tage nach tief hypothermen Kreislaufstillstand keine funktionelle Beeinträchtigung nachzuweisen.

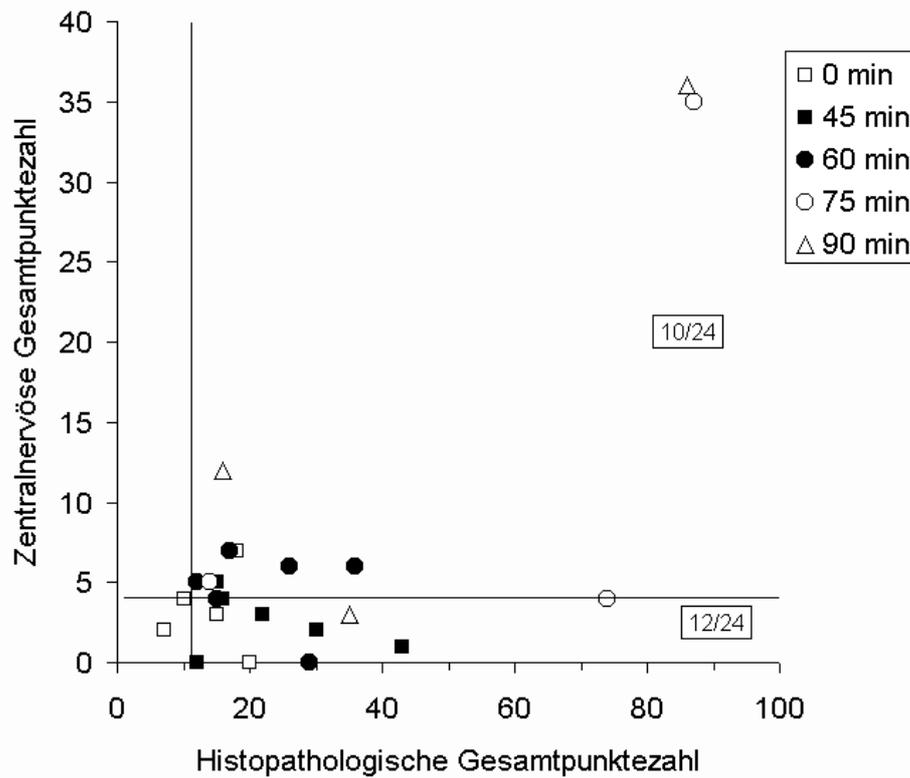


Abbildung 36: Illustration der Korrelation von histologischer und zentralnervöser Gesamtpunktezah aller 24 Tiere nach steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten. Korrelationskoeffizient $r = 0,51$.

Die ergänzte senkrechte und horizontale Linien kennzeichnet pathologische Grenzen (siehe 3.2.7). Die einzelnen funktionellen Normalwerte sind in Tabelle 1, 2, 4 und 5 aufgeführt.

4 Diskussion

Mit dieser Studie gelang es erstmals ein Modell des tief hypothermen Kreislaufstillstandes bei der Ratte zu entwickeln, das mit langfristigem Überleben vereinbar ist und klinische Standards widerspiegelt. Es basiert auf einem kürzlich veröffentlichten und beachtlich verbesserten Modell der kompletten Extrakorporalen Zirkulation (EKZ) bei der Ratte (MACKENSEN et al., 2001; JUNGWIRTH et al., 2003; SWIRCZEK, 2005).

Darüber hinaus konnten in dieser Studie Dosis-Wirkungs Beziehungen zwischen Arrestzeit und Überleben sowie zum Ende der Versuchsperiode zwischen Arrestzeit, Neurologie und Kognition beschrieben werden. Zu diesem Zeitpunkt korrelierte die gesamte funktionelle Leistungsfähigkeit nicht mit den histopathologischen Ergebnissen.

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Modell des tief hypothermen Kreislaufstillstandes

Bisher boten Modelle bei größeren Tieren, wie Lämmern (BOKESCH et al., 1996), Welpen (FOLKERTH et al., 1975) oder Ferkeln (MAULT et al., 1993), die einzige Möglichkeit, die mit tief hypothermem Kreislaufstillstand assoziierten pathophysiologischen Mechanismen aufzudecken oder neuroprotektive Strategien zu entwickeln. Diese Modelle scheiterten entweder an zu hohen Kosten, Personal- und Materialaufwand oder waren schlicht mit dem längerfristigen Überleben der Tiere nicht vereinbar. Darüber hinaus existieren kaum etablierte Tests über Neurologie und Kognition bei diesen Spezies. Die Ratte wurde dagegen schon im Zuge zahlreicher zerebraler Ischämie Modelle intensiv hinsichtlich histologischer, neurokognitiver und Verhaltensvariablen untersucht (GINSBERG und BUSTO, 1989; GIONET et al., 1991) und die Anwendung einer vollständigen EKZ mit längerfristiger Nachuntersuchung bereits etabliert (MACKENSEN et al., 1999). Weitere Vorteile bieten geringere Kosten (Zucht und Haltung), vergleichbare Anatomie und Physiologie zu höheren Säugetieren und letzten Endes auch bessere ethische Akzeptanz.

Obwohl bereits zwei Studien die EKZ mit tief hypothermem Kreislaufstillstand bei der Ratte beschrieben, weisen sie doch Einschränkungen auf. Die Erstbeschreibung der EKZ in tiefer Hypothermie liegt mehr als drei Jahrzehnte zurück und ist schon allein wegen technischer Fortschritte auf heutige klinische Standards kaum noch übertragbar (MENDLER et al., 1969). Die zweite Studie benutzte 30 Jahre später nur die partielle EKZ mit Flussraten von 30 bis 36 ml / kg / min, was nur ca. 1/5 des physiologischen Herzminutenvolumens der Ratte entspricht. Um eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu gewährleisten, musste zudem die künstliche Beatmung auch während der EKZ fortgesetzt werden, weshalb kaum von Vergleichbarkeit mit der üblichen klinischen Praxis gesprochen werden kann. Außerdem ist die Kanülierung der A. carotis, die als arterieller Zufluss gewählt wurde, problematisch wegen einer möglichen Einschränkung des zerebralen Blutflusses, wodurch wiederum neurologische und kognitive Parameter beeinflusst werden können (KAWAGUCHI et al., 1998).

Deshalb wurde in der hier dargestellten Studie ein Zugang über die Schwanzarterie vorgezogen. Erstmals beschreibt das in der vorliegenden Studie verwendete Modell eine vollständige EKZ zur Kühlung und Wiedererwärmung mit tief hypothermem Kreislaufstillstand. Die größten Vorteile bieten dabei der erst kürzlich speziell für den Gebrauch bei der Ratte entwickelte Membranoxygenator mit kleinem Volumen und das ebenfalls kleine benötigte Füllungsvolumen („prime volume“) der Extrakorporalen Zirkulation (EKZ). Dadurch können die EKZ und der tief hypotherme Kreislaufstillstand ohne jegliche (Fremd-) Bluttransfusion durchgeführt werden und es können Flussraten der EKZ erreicht werden, die dem physiologischen Herzminutenvolumen der Ratte entsprechen, ohne die Oxygenierungsleistung zu beeinträchtigen.

In der vorliegenden Studie führten steigende tief hypotherme Kreislaufstillstandzeiten (DHCA-Zeiten) von 90 bis 105 min außerhalb klinischer Praxis zu hochgradigen zentralnervösen Schädigungen, weshalb die Tiere in den ersten postoperativen Stunden euthanasiert werden mussten (siehe 3.3.2). Nach Reduzierung der DHCA-Zeiten auf 75 min überlebten die Tiere zwar initial, mussten aber in den ersten postoperativen Tagen wegen intestinaler Dysfunktionen euthanasiert werden. Diese Ergebnisse spiegeln die komplexe Situation beim Patienten nach Herzchirurgie mit EKZ und tief hypothermem Kreislaufstillstand, wobei verschiedene Organsysteme an der postoperativen Morbidität und Mortalität beteiligt sind.

Bisher richtete sich die Aufmerksamkeit hauptsächlich auf zentralnervöse Schädigungen, die häufige und signifikante Komplikationen nach Herzoperationen darstellen. Vor allem von intraoperativen Faktoren, wie der tief hypothermen Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit), wird angenommen, dass sie das Risiko einer zentralnervösen Schädigung erhöhen. Jedoch ist die

maximale sichere DHCA-Zeit noch umstritten (NEWBURGER et al., 1993; OATES et al., 1995; KIRKHAM, 1998; WYPIJ et al., 2003). In Tiermodellen konnten bisher noch keine neurologischen Defizite nachvollzogen werden, außer die DHCA-Zeiten überstiegen 80 bis 120 min, was nicht den gängigen klinischen Standards entspricht (KAWAGUCHI et al., 1998; KURTH et al., 1999; NOLLERT et al., 1999). In der vorliegenden Studie erzeugen dagegen bereits DHCA-Zeiten bis 60 min nachweisbare Änderungen sowohl der neurologischen (siehe 3.3.3) und kognitiven Funktion (siehe 3.3.4.1) als auch auf histologischer Ebene (siehe 3.3.5). Diese Beeinträchtigungen sind sogar noch bis zum 14. postoperativen Tag nachzuweisen. Indessen kann in dieser Studie keine maximale sichere DHCA-Zeit festgestellt werden, worin die Ergebnisse mit klinischen Studien übereinstimmen (OATES et al., 1995).

Klinische Studien über Kinder mit zentralnervösen Schäden nach kongenitalen Herzdefekten liefern wertvolle Informationen über physiologische Änderungen während einer Herzoperation. Gleichzeitig sind deren Möglichkeiten aber begrenzt. Zum einen stellt das Kollektiv an Kindern mit kongenitalen Herzdefekten eine sehr inhomogene Population dar, von variierenden kardialen Defekten bis zu verschiedensten extrakardialen genetischen Defekten. Zum anderen ist die Bewertung des Entwicklungsstandes im Säuglings- oder Kleinkindesalter sehr schwierig und erfolgt deshalb meist erst im Schulalter, wobei auch mehr evaluierte Tests ab diesem Alter zur Verfügung stehen. Folglich erfordert die Durchführung klinischer Studien zur Untersuchung ätiologischer Faktoren oder neuroprotektiver Strategien sowohl ein großes Kollektiv, um statistische Aussagekraft zu erlangen als auch eine längere Beobachtungszeit (DEL NIDO, 2002; HOVELS-GURICH et al., 2002a; BELLINGER et al., 2003; UNGERLEIDER und GAYNOR, 2004).

Obwohl dieses EKZ- und tief hypotherme Kreislaufstillstand-Modell bei der Ratte klinische Standards schon sehr gut widerspiegeln, bleiben einige wichtige Einschränkungen. Dazu zählen unter anderem eine fehlende mediane Sternotomie und eine direkte Kanülierung und Operation des Herzens, worauf wegen des langfristigen Überlebens der Tiere verzichtet wurde.

4.1.2 Verhaltenstests

Nagetiere zählen zu den bevorzugten Spezies, um neurobiologische Grundlagen von Gedächtnisprozessen aufzudecken (STECKLER und MUIR, 1996) und Modelle menschlicher Gedächtnisstörungen zu entwickeln (SQUIRE, 1992). Obwohl Ergebnisse dieser Studien

weithin anerkannt sind, wird nach wie vor kontrovers diskutiert, zu welchem Ausmaß Leistungen von Nagetieren in komplexeren kognitiven Aufgaben ein geeignetes Modell der menschlichen kognitiven Funktion darstellen können (DECKER, 1995). Dies wird vor allem vom Vorhandensein ähnlicher neurophysiologischer und psychologischer Systeme abhängig gemacht. Grundlegende neurophysiologische Prozesse, zum Beispiel in der synaptischen Transmission, gleichen sich über Speziesgrenzen hinweg und es existieren Hinweise, dass einige psychologische Prozesse, die in kognitive Funktionen wie Lernen und Gedächtnis involviert sind, während der Evolution konserviert wurden. So wurde zum Beispiel das Phänomen der Langzeitpotenzierung (LTP) ursprünglich im Hippokampus eines Säugetieres entdeckt (MACPHAIL, 1996). Auch hinsichtlich fundamentaler Formen des Lernens, wie Habituation bzw. Sensitivierung und Konditionierung, scheinen sich Säugetiere nicht zu unterscheiden und die involvierten kognitiven Prozesse können größtenteils verstanden werden (D'MELLO und STECKLER, 1996). Deshalb sind Tiermodelle sehr gut geeignet, einfache menschliche Lern-, Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsprozesse zu beschreiben. Höhere menschliche kognitive Funktionen, wie Denken, Begreifen und Sprachentwicklung, können im Tiermodell nur schwer abgebildet werden. Dennoch scheint es mit komplexen Systemen zu gelingen, menschliche kognitive Funktionen wiederzuspiegeln (DECKER, 1995). Außerdem scheinen sich Wirbeltiere in komplexeren Aufgaben, die zum Beispiel das räumliche Gedächtnis miteinbeziehen, wenn überhaupt nur gering zu unterscheiden. Ein Grund sollen assoziative Mechanismen sein, die in allen ökologischen Nischen überlebensnotwendig sind, um kausale Verbindungen zwischen wichtigen Ereignissen zu erkennen. Als größter kognitiver Unterschied zwischen Mensch und Tier wird deshalb der einzigartige Gebrauch der Sprache angeführt. Dies bedeutet, dass vom Tier benutzte Lernmechanismen ebenso beim Menschen vorkommen und darüber hinaus eine wichtige Rolle in der menschlichen Kognition spielen (MACPHAIL, 1996).

Wenn man Tiermodelle mit menschlicher kognitiver Funktion in Bezug zueinander setzt, muss jedoch bedacht werden, dass der Begriff des Arbeitsgedächtnisses häufig nicht synonym verwendet wird. Studien mit menschlichen Individuen beziehen sich für gewöhnlich auf die übliche Definition vom Arbeitsgedächtnis als Kurzzeitspeicher von Information mit weiterer Unterteilung in verschiedene Untereinheiten (BADDELEY, 2003b). Davon muss die in Tiermodellen häufig verwendete Vorstellung des Arbeitsgedächtnisses klar abgegrenzt werden (OLTON et al., 1980). Es wird nämlich unterschieden zwischen Information, die spezifisch für einen bestimmten Durchlauf eines Tests ist (Arbeitsgedächtnis) und zwischen allgemeiner Information, die in allen Durchläufen gültig bleibt (deklaratives Langzeitgedächtnis). Nach

dieser Definition dauert das Arbeitsgedächtnis genauso lange wie die Zeitdauer eines Durchlaufs, der je nach Versuchsdesign Minuten bis Stunden dauern kann, und deshalb eher einer Form des Langzeitgedächtnisses entspricht. Dieser wichtige Unterschied sollte bei einer Gegenüberstellung von Mensch und Tier nicht übersehen werden (STECKLER und MUIR, 1996).

Um die zentralnervöse Gesamtfunktion möglichst vollständig abzubilden, werden in der vorliegenden Studie eine Vielzahl unterschiedlicher Tests verwendet. Zu dieser Testbatterie zählen neben etablierten motorischen und sensorischen Tests auch der modifizierte Hole-Board (mHB) –Test (COMBS und D'ALECY, 1987; OHL et al., 2001a; OHL et al., 2001b).

4.1.2.1 Neurologische Untersuchung

Sensorisch-motorische Tests stellen einen wichtigen Bestandteil der differenzierten neurologischen Untersuchung dar, denn mit quantifizierbaren Testmethoden können motorische Funktionen objektiver bewertet werden. Außerdem können aktive Tests Aufschluss geben über spezifische neurologische Defizite, die durch passives Beobachten allein nicht zu erkennen wären (COMBS und D'ALECY, 1987). Zu den sensorisch-motorischen Tests dieser Studie zählen Gleichgewicht im Balkentest (Beam-Walking- und Beam-Balance-Test) sowie Greif- und Haltevermögen (Drahtgitter- und Greif-Zug-Test) (siehe 3.2.4.2).

Die zahlreichen beschriebenen Modifikationen der ursprünglich entwickelten sensorisch-motorischen Tests deuten darauf hin, dass eine weitgehende Standardisierung der einzelnen Tests noch fehlt. So variieren zum Beispiel Durchmesser, Länge, Form und Bewertungssystem der verschiedenen Balkentests in weiten Teilen. Trotzdem zählt der Beam-Balance-Test, bei dem die Tiere eine bestimmte Zeitdauer auf einem schmalen Holzbalken balancieren sollen, zu einer weitverbreiteten Technik. Dabei dient er der Bewertung von Defiziten der vestibulomotorischen Funktion (COMBS und D'ALECY, 1987) in Modellen zerebellarer (TUPPER und WALLACE, 1980), traumatischer (LYETH et al., 1993), post-subarachnoidaler hämorrhagischer (GERMANO et al., 1994), globaler (COMBS und D'ALECY, 1987) und fokaler zentralnervöser Schädigungen (BARONE et al., 1992).

Mit dem Beam-Walking-Test gelingt es sensorisch-motorische Störungen, die durch Kortexschädigung hervorgerufen werden, zu identifizieren (FEENEY et al., 1982). Diese können als Störungen der Bewegung der Vorder- und Hintergliedmaßen, zum Beispiel in Fehlritten, ge-

messen werden, während das Tier eine bestimmte Strecke über einen Balken läuft. Von einer erfolgreichen Verwendung des Beam-Walking-Tests zur Bewertung von sensorisch-motorischen Störungen nach Kortexablation (GOLDSTEIN und DAVIS, 1990), zerebraler Ischämie (OHLSSON und JOHANSSON, 1995) und Schädel-Hirn-Trauma (SOBLOSKY et al., 1996) berichten zahlreiche Studien.

Der Drahtgitter-Test entspricht einer Variation des Screen-Test und dient als Indikator der allgemeinen Muskelkraft zum Beispiel nach Vorhirn- und fokaler zerebraler Ischämie (COMBS und D'ALECY, 1987). Hierfür soll sich das Tier auf einem unterschiedlich geneigtem Gitter (horizontal, vertikal und um 180° gedreht) für eine bestimmte Zeitdauer festhalten.

Beim Greif-Zug-Test sollen sich die Tiere nur mit den Vordergliedmaßen an einem horizontal gespannten Seil über eine bestimmte Zeitdauer halten. Dadurch können taktile bzw. propriozeptorische Platzierungsreaktionen der Vordergliedmaßen und die Muskelkraft zum Beispiel nach Vorhirn- und fokaler zerebraler Ischämie (COMBS und D'ALECY, 1987), (GIONET et al., 1991) bewertet werden. Das Phänomen, dass sich einzelne Tiere bereits präoperativ frühzeitig fallen lassen, wurde in oben genannten Studien noch nicht beschrieben. In der vorliegenden Untersuchung deuten die Ergebnisse der Tiere im Drahtgitter- und Greif-Zug-Test jedoch darauf hin, dass einzelne Tiere wohl eher wussten, weich zu fallen, was nicht als neurologisches Defizit interpretiert werden soll. Abhilfe könnte dabei eine Vergrößerung des standardisierten Abstandes von Seil beziehungsweise Drahtgitter und untergelegter Schaumstoffmatte schaffen. Ob diese Maßnahmen das Auftreten des Phänomens verringern oder gar verhindern können, sollen weitere Studien klären (BERKMANN, 2005).

Am 14. postoperativen Tag von der neurologischen Gesamtfunktion erstellte Dosis-Wirkungsbeziehungen mit der DHCA Zeit ergeben in dieser Untersuchung mit klinischen Studien vergleichbare Inzidenzen von funktionellen neurologischen Beeinträchtigungen. Deshalb scheinen die verwendeten Testmethoden gut geeignet zu sein, die zentralnervöse Funktion in diesem Modell zuverlässig wiederzuspiegeln.

In Anlehnung an REASONER et al. (1997) wird in der vorliegenden Studie ein Gesamtpunkteschema entwickelt, um die zentralnervöse Funktion mit dem histologischen Befund korrelieren zu können. In die zentralnervöse Gesamtpunktezahl fließen dabei die einzelnen Punktezahlen für Motorik, Sensibilität, Kognition und Verhalten (siehe 3.2.7).

4.1.2.2 Modifizierter Hole-Board-Test

Der mHB-Test vereint die wesentlichen Eigenschaften eines Open-Fields (offenen Feldes) und eines klassischen Hole-Boards (HB). Wobei mit dem offenen Feld hauptsächlich die Fortbewegungsaktivität von Nagetieren hochstandardisiert evaluiert wurde (KELLEY, 1993) und mit dem HB rein exploratorische Parameter von Nagetieren beurteilt werden konnten (FILE und WARDILL, 1975b). Das mHB wurde ursprünglich für die Untersuchung kognitiver und exploratorischer Parameter bei Tupaia konzipiert (OHL et al., 1998; OHL und FUCHS, 1999) und dann an Nagetiere adaptiert (OHL et al., 2001b).

Erstmals können mit dem modifizierten Hole-Board (mHB) -Paradigma komplexe Verhaltensmuster in einem einzigen Test erfasst werden, wodurch eine echte Alternative zu den häufig verwendeten Testbatterien geschaffen wurde (OHL et al., 2001a). Die entstehenden Vorteile sind nicht nur in geringeren benötigten Gesamtanzahlen, sondern auch immenser Zeit-, Personal- und Kostenersparnis zu sehen. Darüber hinaus können mit dem mHB-Test auch wesentliche Nachteile herkömmlicher experimenteller Verhaltenstests überwunden werden, die ansonsten mit der gemessenen Leistung der Tiere im Test interferieren könnten:

Erstens werden bei Untersuchungen der kognitiven Funktion von Nagetieren hauptsächlich physikalische Stressoren wie Einschränkungen, zum Beispiel Nahrungskarenz, verwendet (HODGES, 1996). Zweitens sind die schon an sich stressreichen Bedingungen meistens noch zusätzlich mit irritierenden Stressfaktoren verbunden (HODGES, 1996; KANETO, 1997). Dazu zählt unter anderem, die Tiere aus dem gewohnten Versuchskäfig zu entfernen und in den Versuchsraum und / oder in die Testapparatur zu transportieren. Auch Futterentzug wird in vielen Testprozeduren verwendet, um die Motivation den Test zu absolvieren, noch zu erhöhen. Diese Nachteile sind auch mit ein Grund, weshalb die meisten Verhaltenstests von Nagetieren eher deren Reaktion auf ein stressvolles Ereignis messen, als spezifische Einflüsse auf verschiedene Verhaltens- und / oder kognitive Parameter, wie manchmal behauptet wird (PRUT und BELZUNG, 2003). Im mHB-Test kann Transportstress durch die spezielle Konzeption des Versuchskäfigs vermieden werden. Dieser umfasst sowohl Tierabteil als auch Versuchsarena, die nur durch eine durchsichtige durchlöchernde Trennwand voneinander getrennt sind. Auch Isolationsstress, ein wichtiger Einflussfaktor vor allem von angstassoziiertem Verhalten (OHL et al., 2001a; PRUT und BELZUNG, 2003), wird minimiert, indem die Tiere während eines Durchlaufs durch die Trennwandlöcher Kontakt zu ihren im Tierabteil verbleibenden Gruppenmitgliedern aufnehmen können (OHL, 2003). Insgesamt tragen diese

Faktoren vermutlich zur hohen Motivation der Tiere bei, den mHB-Test stressfrei und deshalb ohne Futter- oder Wasserentzug zu absolvieren. Auch in Hinblick auf eine zuverlässige Bewertung gemessener Verhaltens- und kognitiver Parameter erscheint die Reduktion zusätzlicher irritierender Stresseinflüsse wichtig, da die kognitive Funktion sowohl bei Mensch als auch beim Tier extrem durch Stress beeinflusst werden kann (MCEWEN und SAPOLSKY, 1995).

Als weiterer Vorteil ermöglicht das mHB-Paradigma den Tieren einerseits, ihr komplexes Verhaltensrepertoire ohne Zwang offen zu zeigen und offeriert andererseits dem Untersucher die Möglichkeit, durch Bewertung der sorgfältigen Analyse eines trainierten Beobachters, subtile und unerwartete Verhaltenseffekte zu entdecken (OHL, 2003). Auch scheint die direkte Verhaltensbeobachtung vor allem hinsichtlich ihrer Sensitivität automatisierten Messmethoden überlegen zu sein (KOLB und WHISHAW, 1985).

Wegen der genannten Vorzüge wurde das mHB-Paradigma schließlich für diese Studie ausgewählt, um die Auswirkungen von steigenden DHCA-Zeiten auf kognitive Leistungsfähigkeit und Verhalten zu untersuchen.

Bewertung der kognitiven Funktion im mHB-Test

In der kognitiven Variante des mHB-Tests sollen die Tiere durch Assoziation lernen, visuell markierte Löcher mit Futterbelohnungen zu verbinden. Dementsprechend wird die kognitive Leistungsfähigkeit eines Tieres anhand der Besuche von markierten Löchern während eines Durchlaufs gemessen. Ein Loch wird als besucht gewertet, wenn das Tier den Deckel aktiv, d.h. mit den Vorderpfoten oder der Schnauze, bewegt.

Die Gesamtzeit (Time Complete, TC) eines Durchlaufs errechnet sich aus der Zeit, die ein Tier benötigt, alle drei Futterbelohnungen zu finden. Dafür wird eine Maximalzeit von 10 min veranschlagt. Deshalb dient die Gesamtzeit als Indikator für die Motivation, aber auch für die Lernleistung des Tieres. Diese wird als umso besser eingeschätzt, je schneller ein Tier alle drei Futterbelohnungen findet (siehe Tabelle 4).

Besuche von nicht markierten Löchern ohne Futterbelohnung (Wrong Choices) werden als Fehler des deklarativen Gedächtnisses gewertet. Diese Gedächtnisform umfasst bewusste Erinnerung an Fakten und Ereignisse (SQUIRE, 1998). Um den mHB-Test zu erlernen, muss das Tier markierte Löcher mit Futterbelohnungen assoziieren und sich deren Sequenzen über mehrere Versuchsdurchläufe hinweg merken können. Da die Sequenz der markierten Löcher

täglich wechselt, soll ein automatisierter, nicht deklarativer Gedächtnisprozess zum Auffinden der markierten Löcher ausgeschlossen werden (siehe Tabelle 4).

Markierte Löcher, die während eines Durchlaufs nicht besucht werden, gelten als Auslassungsfehler (Omission Errors). Weil die vom mHB-Test geforderte Assoziationsleistung dabei nicht erbracht wird, zählt man sie zur Anzahl der falsch besuchten Löcher (Wrong Choices) dazu (siehe Tabelle 4).

Wiederholte Besuche (Repeated Choices) eines bereits erfolgreich besuchten markierten Lochs, d.h. die Futterbelohnung wurde vom Tier entnommen und gefressen, werden in einem Durchlauf als Wiederholung definiert. Um Wiederholungen zu vermeiden, muss sich ein Tier während eines Durchlaufs erinnern, welches markierte Loch von ihm bereits erfolgreich besucht wurde. Diese zeitlich begrenzte Speicherung von Information wird als Arbeitsgedächtnisprozess betrachtet (OLTON, 1989; GOLDMAN-RAKIC, 1996). Entsprechend gelten wiederholt besuchte, markierte Löcher als Arbeitsgedächtnisfehler (siehe Tabelle 4).

Bewertung des Verhaltens im mHB-Test

Angstverhalten drückt sich bei Nagetieren in einem artspezifischen Verhaltensmuster aus. So wird zum Beispiel Vermeidungsverhalten offener Flächen als Angst interpretiert (CRAWLEY, 1981). Außerdem laufen Nagetiere in einer fremden Umgebung bevorzugt dicht an den Wänden entlang (Thigmotaxis) (PRUT und BELZUNG, 2003). Erst nach einer gewissen Zeit trauen sie sich, den geschützten Wandbereich zu verlassen und eine offene Fläche zu explorieren. Dabei entspricht das mHB dem ungeschützten, offenen Areal, da es sich zentral in der Versuchsarena befindet. Entsprechend gelten folgende Parameter als Indikatoren für Angstverhalten (siehe Tabelle 5): Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries, NBE), Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency first Entry on Board, LFEB) und die auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board, TOB).

Exploration wird weiter in gerichtete und ungerichtete Exploration unterteilt, wobei erstere die zielgerichtete Exploration definierter Objekte umfasst (FILE und WARDILL, 1975a). Im mHB-Test wird dementsprechend das Besuchen von Löchern als gerichtete Exploration gewertet (siehe Tabelle 5): Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited, NHV) und Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency first Hole Visit, LFHV). Als Indikator für generelle, ungerichtete Exploration der Umgebung wird das Aufrichten des Oberkörpers und Erheben auf die Hinterbeine (Rearings) verstanden.

Auf der Bewegungsaktivität (Lokomotion) oder deren Abwesenheit (Immobilität) basiert letztendlich jedes sichtbare Verhalten (LISTER, 1987). Daher muss jeder Parameter während eines Durchlaufs in Bezug zur Lokomotion, gemessen an den Linienübertritten (Line Crossings) bzw. in Bezug zur vollständigen Bewegungslosigkeit (Immobility), gesetzt werden (siehe Tabelle 5). Die Immobilität kann sowohl auf Angst als auch auf einem beeinträchtigten Allgemeinbefinden beruhen.

Die soziale Affinität (Group Contact) zu den auf der anderen Seite der Trennwand verbleibenden Artgenossen der Gruppe wird über die Zeit ermittelt, in der das Tier während eines Durchlaufs durch ein Trennwandloch schnuppert (siehe Tabelle 5).

Die physiologische Erregung äußert sich beim Nagetier durch Absetzen von Kotbällchen (FLINT et al., 1995) und durch Reinigen des eigenen Fells (TO und BAGDY, 1999). Entsprechend werden im mHB-Test folgende Parameter erfasst: Anzahl der Kotbällchen (Boli) und Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) während eines Durchlaufs (siehe Tabelle 5).

Verschiedene kognitive Verhaltenstests zu vergleichen, mag schwierig erscheinen. Dennoch sollten verschiedene Aspekte des mHB-Tests bedacht werden, vor allem in Bezug auf das Wasserlabyrinth (Morris Water Maze) (MORRIS, 1984). Obwohl das Morris Water Maze als etabliertes Lernparadigma in zerebralen Ischämie-Modellen bei Nagetieren häufig angewendet wird, bleibt es dennoch umstritten. In der Fluchtversion entspricht dieses Labyrinth einem angstgetriebenen Test, der naturgemäß Stress hervorruft. Dies kann aber auch als möglicher Störfaktor interpretiert werden, da gewisse Stresszustände unterschiedliche Auswirkungen auf Versuchsgruppen haben können (HODGES, 1996). Auch könnte der Einfluss weiterer nicht-kognitiver Faktoren auf die Leistung im Morris Water Maze allgemein unterschätzt worden sein. Denn auch alte, blinde Ratten schnitten in diesem visuell-räumlichen Test erstaunlich gut ab (LINDNER et al., 1997). Idealerweise sollten beide Tests, der Morris Water Maze und der mHB-Test, simultan angewendet werden, um die kognitive Leistungsfähigkeit und das Verhalten in dieser Studie zu untersuchen. Dies ist aber leider nicht möglich, da sich beide Tests direkt störend beeinflussen würden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Intraoperative physiologische Messparameter

Umfangreiche Messungen physiologischer Parameter zu bestimmten intraoperativen Zeitpunkten (siehe 3.3.1, Tabelle 6) sollen einen standardisierten Versuchsablauf ermöglichen und zusätzliche Einflussfaktoren weitestgehend ausschließen.

Perikranielle Temperatur (°C)

Der perikraniellen Temperatur wird in dieser Studie besondere Bedeutung beigemessen, da sie vor allem in der Zeitspanne nach einem ischämischen Ereignis von der rektal gemessenen Temperatur abweichen kann (BUSTO et al., 1987). Außerdem spielt die postoperative Hyperthermie des Gehirns vermutlich eine wichtige Rolle als Risikofaktor bei der Entwicklung postoperativer zentralnervöser Schädigungen (GROCOTT et al., 2002). In der vorliegenden Studie ist die perikranielle Temperatur während der Wiedererwärmung nach 105 min DHCA signifikant erhöht, verglichen mit den anderen Gruppen (siehe 3.3.1). Dies könnte in dieser Gruppe mit protrahierten tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten auf einen stärkeren ischämischen Insult des Gehirns hindeuten, was mit dem klinischen Bild des intraoperativen Hirntodes dieser Tiere vereinbar ist. Auch in zerebralen Ischämie-Modellen reichte bereits eine Hyperthermie von klinisch relevanten 1 – 2 °C, um den hypoxisch-ischämischen Zelltod signifikant zu erhöhen (WASS et al., 1995).

Ätiologisch könnten bei der Hyperthermie nach tief hypothermem Kreislaufstillstand ischämisch bedingte Inflamationsprozesse eine wichtige Rolle spielen. Im Zuge der ischämischen Degradation von Membranlipiden werden Entzündungsmediatoren freigesetzt, zum Beispiel Leukotriene und Arachidonsäuremetabolite. Dabei induziert vor allem der Arachidonsäuremetabolit Prostaglandin E eine erhöhte Körpertemperatur, um optimale Bedingungen für physiologische Abwehrprozesse und assoziierte Enzymsysteme zu schaffen. Hypothermie scheint sich kontrovers auf ischämische Inflamationsprozesse auszuwirken. Zum einen verringert milde Hypothermie das postischämische vasogene Ödem (DEMPSEY et al., 1987), zum anderen erhöht sich jedoch auch das postoperative Infektionsrisiko (SCHUBERT, 1992). Bei Mäusen konnte mit Kältestress eine Immunsuppression ausgelöst werden (CHYATTE et al., 1989).

Diese inflammatorischen und immunregulatorischen Effekte der Hypothermie könnten eine Rolle spielen, weshalb in der vorliegenden Studie signifikant erhöhte Temperaturen nach protrahierten DHCA-Zeiten beobachtet werden (siehe 3.3.1).

Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP (mmHg))

Der Mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wird während der Wiedererwärmungsphase mit Norepinephrinhydrochlorid Infusionen über 50 mmHg gehalten, sobald eine rektale Körpertemperatur von über 30 °C erreicht ist (siehe 3.3.1). In Anlehnung an die Empfehlungen der Amerikanischen Herz Assoziation, Epinephrin nicht unter einer Körpertemperatur von 30 °C anzuwenden (THE AMERICAN HEART ASSOCIATION, 2000) wurde in der vorliegenden Studie die Norepinephrinhydrochlorid Infusion erst ab einer Temperatur von 30 °C begonnen.

Dabei fällt auf, dass nach 105 min DHCA signifikant mehr Norepinephrinhydrochlorid benötigt wird, als in den anderen Gruppen (siehe 3.3.1). Dies könnte mit lokal an Blutgefäßen im Zuge der Ischämie freigesetztem NO (Stickoxid) begründet werden. Denn vor allem mit Hilfe von pro-inflammatorischen Zytokinen und Endotoxin kann NO aus Endothelzellen und glatten Muskelzellen hauptsächlich über die induzierbare Form des Enzyms NO Synthetase (iNOS) in großen Mengen freigesetzt werden (MONCADA und HIGGS, 1993). NO spielt eine wichtige Rolle bei der Regulierung des Blutdrucks (PALMER et al., 1988) und bei der Pathophysiologie von Entzündungsprozessen durch Vasodilatation und gesteigerte vaskuläre Permeabilität (SCHALLER und GRAF, 2003). Protrahierte DHCA-Zeiten könnten also zu einer erhöhten Freisetzung von NO führen mit zunehmender Vasoplegie, wodurch der systemische Widerstand sinkt und ein großer Teil des Blutvolumens in der Peripherie versackt. Dies könnte den signifikant höheren Verbrauch von Norepinephrinhydrochlorid erklären, der benötigt wird, um den MAP nach 105 min DHCA über 50 mmHg zu halten (siehe 3.3.1).

Blutglucose-Konzentration (mg / dl)

EKZ verändert die Insulin Sekretion und Resistenz, wodurch sich die Wahrscheinlichkeit einer signifikanten Hyperglycämie erhöht (LANIER, 1991). Dieses Phänomen kann zum Teil auch in der vorliegenden Studie beobachtet werden. Dementsprechend steigt die Blutglucose-Konzentration in dieser Studie in allen Gruppen bis zum Ende der Wiedererwärmung (siehe 3.3.1). Dies kann auch als physiologische Stressreaktion, zum Beispiel auf ein protrahiertes ischämisches Ereignis (tief hypothermer Kreislaufstillstand), gewertet werden. Dabei schüttet der Körper vermehrt antiinsulinerge Hormone (Glukagon, Adrenalin, Kortisol und langfristig

auch STH) aus und die Blutglucose-Konzentration steigt. Fokale und globale Ischämie Modelle assoziieren Hyperglycämie häufig mit schlechteren zentralnervösen Ergebnissen (WARNER et al., 1992; DIETRICH et al., 1993). Interessanterweise fallen die Mittelwerte in der Gruppe mit 105 min DHCA jedoch bis unter das Ausgangsniveau eine Stunde nach der EKZ und unterscheiden sich zu diesem Messzeitpunkt signifikant von den anderen Gruppen mit 0, 45, 60, 75 und 90 min DHCA. Weiterhin kann die Blutglucose-Konzentration in der Gruppe mit 105 min DHCA nur mit Glucose Infusion über 60 mg/dl gehalten werden (siehe 3.3.1). Als mögliche Ursache für diesen dramatischen Abfall der Blutglucose-Konzentration nach protrahierten tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten kommt vermutlich eine Erschöpfung des Stressgegenregulationssystems des Körpers und der antiinsulinergen Hormone in Frage oder die Glucosereserven des Körpers sind einfach aufgebraucht.

Basenüberschuss (BE (mmol / l)) und Standardbicarbonat (mmol / l)

Mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten wird im Organismus durch die anaerobe Stoffwechsellage vermehrt Glucose zu Laktat umgewandelt. In Folge sinkt der Blut pH-Wert und es resultiert mit zunehmender Erschöpfung des körpereigenen Säure-Basen Puffersystems ein absinkender BE-Wert. In der vorliegenden Studie ist der BE-Wert in den Gruppen mit 75, 90 und 105 min DHCA zu Beginn der Wiedererwärmungsphase signifikant erniedrigt, verglichen mit der Gruppe mit 0 min DHCA (siehe 3.3.1). Dabei gebildete saure Metabolite, vor allem Laktat, stellen wiederum einen wichtigen Risikofaktor für die ischämische Schädigung dar. So wurde postuliert, dass Hyperglycämie die neurologische Funktion hauptsächlich über die vermehrte Produktion von Laktat beeinflusst, die letztendlich in intrazellulärer Azidose mündet und die intrazelluläre Homöostase und Metabolismus beeinträchtigt (FEERICK et al., 1995). Außerdem ist in zerebralen Ischämie Modellen die metabolische Azidose umso stärker ausgeprägt, je gravierender der Insult war (HOSSMANN und TAKAGI, 1976; DING et al., 2000). In dieser Studie wird der BE-Wert kontrolliert und mit Natriumbikarbonat ab dem Abgang von der EKZ in engen Grenzen gehalten. Dabei benötigt die Gruppe mit 105 min DHCA signifikant mehr Bikarbonat, um den Basenüberschuss über -3 mmol / l zu halten als die anderen Gruppen (siehe 3.3.1), was mit einem größeren ischämischen Schaden erklärt werden kann.

Entsprechend dem BE verhält sich die Standardbicarbonat Konzentration, das bedeutet je länger die DHCA-Zeit und damit die Ischämiephase, desto niedriger ist das Standardbicarbonat.

pH-Wert

Gemäß dem in der vorliegenden Studie verwendeten pH-Management (pH-stat) wurde der pH-Wert intraoperativ in engen Grenzen gehalten (siehe 3.3.1). Um den Blut-pH, der mit sinkender Körpertemperatur progressiv ansteigt, konstant zu halten, muss der CO₂-Gehalt der Zuluft zum Oxygenator der EKZ erhöht werden. Das temperatur-korrigierte (pH-stat) pH-Management wurde in der vorliegenden Studie gewählt, weil es häufig bei Eingriffen am offenen Herzen von Kindern verwendet wird (HICKEY, 1998), da es eine verbesserte zerebrale Durchblutung zur Folge hat (TAYLOR, 1998a). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass wegen der entstehenden metabolischen Acidose die pH-Werte während steigenden DHCA-Zeiten sinken. Der Wert in der Gruppe mit 105 min DHCA ist relativ hoch, was durch einen sehr niedrigen PaCO₂ zu diesem Zeitpunkt erklärt werden kann.

Arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck (PaCO₂ (mmHg))

Der PaCO₂ liegt bis zum Ende der Abkühlungsphase, während der EKZ, in allen Gruppen in physiologischen Bereichen. Zu Beginn der Wiedererwärmung fällt auf, dass die Werte in allen Gruppen absinken, was eher darauf zurückzuführen ist, dass während der DHCA-Zeit keine Blutgasanalyse durchgeführt wird und deshalb die CO₂-Zufuhr zur EKZ nicht adaptiert werden kann. Dass die Werte allesamt eher niedrig sind zu diesem Zeitpunkt, ist möglicherweise zurückzuführen auf die reduzierte Stoffwechselsituation während Hypothermie und Kreislaufstillstand (KAVANAGH und LAFFEY, 2003).

Arterieller Sauerstoffpartialdruck (PaO₂ (mmHg))

Der PaO₂ blieb während der gesamten operativen Phase in physiologischen Bereichen (siehe 3.3.1). Was darauf hindeutet, dass während der EKZ über den zwischengeschalteten Oxygenator (ohne zusätzliche Ventilation) eine ausreichende Sauerstoffspannung erzielt und während der gesamten Versuchsphase aufrechterhalten werden konnte. Dagegen gelang es anderen Studien lediglich eine partielle EKZ mit Flussraten, die nur etwa 1/5 des physiologischen Herzminutenvolumens der Ratte entsprechen, zu entwickeln. Um eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu gewährleisten, musste in dieser Studie deshalb die künstliche Beatmung auch während der EKZ fortgesetzt werden (KAWAGUCHI et al., 1998). Dies entspricht aber nicht klinischem Standard. In der vorliegenden Studie wurde entsprechend der klinischen Praxis lediglich ein PEEP (positiver endexpiratorischer Druck) von 5 mmHg aufrechterhalten, um schwere Atelektasen der Lunge zu vermeiden (siehe 3.2.3.2).

Hämoglobin Konzentration (g/dl)

Zu Beginn der EKZ wird das Kreissystem mit Hydroxyethylstärke (HAES) 6 % gefüllt, darauf fällt die Hämoglobin Konzentration um ca. die Hälfte des Ausgangswertes (siehe 3.3.1). Hämodilution während Extrakorporaler Zirkulation und Hypothermie wird in der Klinik standardmäßig angewendet, um die Rheologie zu verbessern, da die Blutviskosität mit sinkender Temperatur zunimmt. Dadurch kann nicht nur der zerebrale Blutfluss verbessert, sondern auch die gesunkene Sauerstoffträgerkapazität des Blutes kompensiert werden (PUA und BISSONNETTE, 1998). Wenn der Hämatokrit jedoch unter kritische Bereiche sinkt, könnte die Grenze dieses Kompensationsmechanismus erreicht werden und die Sauerstoffversorgung ernsthaft eingeschränkt werden. Jedoch schien die zerebrale metabolische Sauerstoffrate oder die Sauerstoffversorgung bei Patienten selbst bei Hämoglobin Konzentrationen bis zu 6,2 g / dl, was noch unter den Minimalwerten der vorliegenden Studie liegt, nicht eingeschränkt zu sein (SUNGURTEKIN et al., 1999). In weiteren Studien bestand auch kein Zusammenhang zwischen minimalen Hämatokrit Werten und zentralnervösen Schädigungen wie Schlaganfall oder erhöhter postoperativer Mortalität (VAN WERMESKERKEN et al., 2000). So kann zum derzeitigen Wissensstand eine mögliche Beeinflussung der zerebralen Funktion durch minimale Hämoglobin Werte nicht abschließend geklärt werden. Wichtig für die vorliegende Studie ist jedoch, dass sich die Hämoglobin Werte zwischen den Gruppen nicht unterscheiden (siehe 3.3.1), um einen möglichst standardisierten Versuch zu gewährleisten. Eine Stunde nach der EKZ wird aus der EKZ gewonnenes Erythrozytenkonzentrat retransfundiert, wodurch die Hämoglobin Konzentration wieder ansteigt. Auf diese Weise muss kein Fremdblut transfundiert werden und die erreichten Hämoglobin Endwerte sind gut mit dem längerfristigen Überleben der Tiere vereinbar. Diese Vorgehensweise entspricht größtenteils gängigen klinischen Standards. Denn seit Entdeckung des humanen Immundefizienz Virus (HIV) und verschiedenen Hepatitisviren werden exzessive Bluttransfusionen weitestgehend vermieden. Auch kann durch Verzicht auf Fremdblut ein weiterer Einflussfaktor in dieser Studie vermieden und Komplikationsmöglichkeiten ausgeschaltet werden. Eine annähernd physiologische Hämoglobin Konzentration erscheint vor allem in der ersten postoperativen Zeit wichtig, da sie oftmals mit einem erhöhten Sauerstoffbedarf, beeinträchtigter Myokardfunktion und mangelnder Kompensationsfähigkeit einer Anämie durch das Herz einhergeht (HARDY et al., 1998).

4.2.2 Überlebensrate

Herzchirurgische Operationen an Kindern und Erwachsenen, die einen tief hypothermen Kreislaufstillstand erfordern, weisen wegen beachtlicher Fortschritte auf dem Gebiet der operativen Technik und der Anästhesie, sowie entscheidender technischer Verbesserung der Extrakorporalen Zirkulation (EKZ) nur noch sehr wenige Todesfälle auf. Dadurch sind vor allem konsekutive zentralnervöse Komplikationen in den Mittelpunkt des Interesses und der Wissenschaft gerückt, da nun von ihnen die größte Bedrohung für langfristige Gesundheit und Wohlergehen auszugehen scheint (DU PLESSIS, 1997b). Diesen Trend spiegelt auch die vorliegende Studie wieder. Betrachtet man zum Beispiel klinisch relevante DHCA-Zeiten von 45 min, liegt die Überlebensrate auch in dieser Studie bei nahezu 100 % (siehe 3.3.2). Selbst bei DHCA-Zeiten über 80 min, außerhalb jeglicher klinischer Relevanz, überleben immerhin noch über 50 % der Tiere. Wobei auch bei Patienten die Morbidität und Mortalität ab DHCA-Zeiten von > 45 bis 60 min signifikant zunimmt (KIRKLIN und BARRATT-BOYES, 1993). Zu intraoperativem Hirntod (alle Tiere nach 105 min DHCA-Zeiten) und postoperativer Euthanasie (je 3 Tiere nach 90 und 75 min DHCA) führten in dieser Studie entweder hochgradige zentralnervöse Schädigungen und / oder hochgradige gastrointestinale Störungen (siehe 3.3.2). Auch bei Kindern sind postoperative zentralnervöse Komplikationen bekannt, wobei hauptsächlich Krampf- und Schlaganfälle, aber auch seltenerere Ereignisse, wie Rückenmarks- und Plexus brachialis Schädigungen vorkommen (DU PLESSIS, 1997b). Gastrointestinale Dysfunktionen wurden in Form von Pankreatitis nach Hypothermie beobachtet, wobei beteiligte Pathomechanismen noch nicht klar verstanden werden (SCHALLER und GRAF, 2003). Darüber hinaus manifestieren sich Rückenmarksschädigungen häufig neben Paraplegie auch in gastrointestinalen Dysfunktionen (DU PLESSIS, 1997b). Als ätiologische Ursache käme dafür auch eine Darmischämie nach protrahierten DHCA-Zeiten in Frage, die in weiterer Folge zu einem Ileus mit den beschriebenen Symptomen führen könnte.

4.2.3 Neurologische Funktion

Körpergewicht (g)

Das Körpergewicht der Tiere während der neurokognitiven Testperiode (siehe 3.3.3) lässt in allen vier Gruppen keine signifikanten Unterschiede erkennen, die den Versuch hätten beeinflussen können. Allerdings geht der Trend der Körpergewichtsreduktion Hand in Hand mit

steigenden DHCA-Zeiten, was vermuten lässt, dass die Tiere durch steigende DHCA-Zeiten und dies auch vor allem in den ersten postoperativen Tagen soweit beeinträchtigt zu sein scheinen, dass sie ihr physiologisches Körpergewicht nur langsam steigern können. Erst nach 14 postoperativen Tagen nehmen die Tiere der vier Gruppen wieder annähernd gleich zu, ohne die entstandenen Gewichtsunterschiede zwischen den Gruppen wieder aufzuholen (siehe Tabelle 8 und Abbildung 23).

Sensorisch-motorische Tests

Neurologische Defizite nach steigenden DHCA-Zeiten konnten in dieser Studie vor allem mit Aufgaben, die Gleichgewicht und Koordination erfordern, nachgewiesen werden (siehe 3.3.3). So zeigten Tiere der Gruppe bis >60 min DHCA bis zum 12. postoperativen Tag anhaltende, die Tiere mit 60 min DHCA dagegen transiente neurologische Defizite. Dabei waren vor allem Gleichgewicht und Koordination betroffen, so dass die Tiere nicht nur mehr Fehlritte pro Distanz beim Balancieren über einen schmalen Balken, sondern auch nur deutlich kürzer auf einem schmalen Balken balancieren konnten. Das Greif- und Haltevermögen der Tiere als Parameter der physischen Kraft war dagegen nicht längerfristig eingeschränkt. Die Tiere der Gruppen mit 0 und 45 min DHCA verhielten sich neurologisch unauffällig (siehe 3.3.3).

Auch andere Tiermodelle des tief hypothermen Kreislaufstillstandes beobachteten neurologische Defizite, die hauptsächlich als Gleichgewichtsstörungen und Ataxie beschrieben werden (KURTH et al., 1999; DITSWORTH et al., 2003; MYUNG et al., 2003). Evident waren diese Defizite allerdings nur bis zum zweiten (DITSWORTH et al., 2003), sechsten (MYUNG et al., 2003) oder siebten (KURTH et al., 1999) postoperativen Tag. Daher scheinen diese Defizite eher transienter Natur zu sein, weshalb ein Vergleich mit den bei Patienten beschriebenen langfristigen neurologischen Defiziten schwer fällt. Klinische Studien weisen neurologische Defizite nach Herzoperationen mit tief hypothermem Kreislaufstillstand noch bis acht Jahre später nach (HOVELS-GURICH et al., 2002c). Ob die neurologischen Defizite der vorliegenden Studie einem langfristigen Vergleich besser standhalten werden, müssen weitere Untersuchungen mit längerfristiger Beobachtungszeit ergeben. Jedoch können neurologische Defizite in dieser Studie (siehe 3.3.3) sehr differenziert herausgestellt werden, was in dieser Form bisher sicherlich für kein anderes Tiermodell berichtet wurde. Darüber hinaus stellte man auch bei Kindern hauptsächlich neurologische Defizite in motorischen Bereichen fest, was gut mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie korreliert. So waren Kinder im Vorschulalter vor

allem in der motorischen Koordination, Intention (BELLINGER et al., 1999) und auch im Schulalter noch in ihren feinmotorischen Fähigkeiten eingeschränkt (BELLINGER et al., 2003).

In Anlehnung an klinische Studien (MOLLER et al., 1998; NEWMAN et al., 2001b) werden in der vorliegenden Studie Leistungen in verschiedenen sensorisch-motorischen Tests zusammengefasst, um Inzidenzen zeigen zu können, ob die neurologische Funktion nach steigenden DHCA-Zeiten beeinträchtigt ist oder nicht (siehe 3.2.7). Diese Dosis-Wirkungsbeziehungen ergeben, dass bereits bei klinisch relevanten DHCA-Zeiten von 48 min (95 % KI: 19 - 63 min) in dieser Studie nur 50 % der Tiere ohne neurologische Defizite überleben (siehe 3.3.3). Diese Werte sind durchaus vergleichbar mit klinischen Studien, wobei 41 % der ein- bis anderthalb-jährigen Patienten nach tief hypothermem Kreislaufstillstand im Säuglingsalter an neurologischen Defiziten litten (LIMPEROPOULOS et al., 2002). Anderen Tiermodellen gelang es dagegen bisher nicht, bei klinisch relevanten DHCA-Zeiten neurologische Defizite nachzuweisen (FOLKERTH et al., 1975; MAULT et al., 1993; BOKESCH et al., 1996; KAWAGUCHI et al., 1998).

4.2.4 Kognitive Leistungsfähigkeit und Verhalten

Während dem modifizierten Hole-Board (mHB) -Test werden verschiedene Gedächtnis- und Verhaltensparameter dokumentiert (siehe 3.2.5.6).

Anhand kognitiver Parameter lässt sich die Lernleistung differenzieren und verschiedene Gedächtnisprozesse unterscheiden, mit denen die Tiere den mHB-Test bewältigen. Da diese Gedächtnisprozesse von unterschiedlichen intakten neuronalen Strukturen abhängen, können fehlerhafte Gedächtnisleistungen im mHB-Test einen ersten Hinweis auf zerebrale Schädigungen geben. Neben Gedächtnisdefiziten werden mit dem mHB-Test aber auch verschiedene Verhaltensänderungen bewertet, die geeignet sind, kognitive Parameter zu beeinflussen (BEUZEN und BELZUNG, 1995).

Defizite der kognitiven Funktion

Defizite in der kognitiven Leistungsfähigkeit können in dieser Studie nach protrahierten tiefen hypothermen Kreislaufstillstandzeiten festgestellt werden (siehe 3.3.4.1). Dabei sind vor allem

kognitive Parameter der Lernleistung (Gesamtzeit, Time Complete) und des deklarativen Gedächtnisses (falsch besuchte Löcher, Wrong Choices) betroffen.

Die Gruppe mit > 60 min DHCA braucht tendenziell länger, um alle drei Futterbelohnungen zu finden, verglichen mit den anderen Gruppen (siehe 3.3.4.1). Dadurch erhöht sich die benötigte Gesamtzeit des Versuchsdurchlaufs (Time Complete, TC) in dieser Gruppe, die als Indikator der Lernleistung gilt. Deshalb scheint die kognitive Leistung nach > 60 min DHCA auch noch am postoperativen Tag 14 tendenziell schlechter zu sein, verglichen mit den anderen Gruppen. Dabei verläuft die Lernleistung in dieser Studie ähnlich zur Anzahl an falsch besuchten Löchern (Wrong Choices). Auch Tupaias zeigten im mHB-Test ohne zusätzliche Stressfaktoren einen ähnlich korrespondierenden Verlauf der unterschiedlichen Lernkurven (OHL et al., 1998).

Deklarative Gedächtnisprozesse sind verantwortlich für bewusstes Erinnern an Fakten und Ereignisse und werden dem Hippokampus zugeschrieben (SQUIRE, 1998). Im Tiermodell wird deklaratives Gedächtnis häufig beschrieben als Verarbeitung räumlicher, konfiguraler, kontextabhängiger und relationaler Information (BUNSEY und EICHENBAUM, 1996). Deshalb sollen deklarative Gedächtnisprozesse im mHB-Test auch beteiligt sein, wenn Tiere lernen, visuell markierte Löcher mit Futterbelohnungen zu assoziieren. Demnach gelten falsch besuchte Löcher (Wrong Choices) und markierte Löcher, die während einem Versuchsdurchlauf nicht besucht werden (Omission Errors) und zu ersteren dazu gezählt werden, als Fehler des deklarativen Gedächtnisses (OHL et al., 1998). Interessanterweise scheint dieses Gedächtnissystem nach >60 min DHCA-Zeiten stärker beeinträchtigt zu sein im Vergleich zu den anderen Gruppen, was sogar noch bis zum postoperativen Tag 14 bestehen bleibt (siehe 3.3.4.1). Da die Anzahl falsch besuchter Löcher und die Gesamtzeit des Versuchsdurchlaufs (Time Complete, TC) korrespondieren, scheinen in der vorliegenden Studie vor allem Defizite des deklarativen Gedächtnisses nach > 60 min DHCA verantwortlich für die schlechtere Lernleistung zu sein. Denn das Arbeitsgedächtnis, ein weiterer Faktor der Lernleistung, schien in dieser Studie aus unterschiedlichen, unten aufgeführten Gründen nicht beeinträchtigt.

Das Arbeitsgedächtnis kann nicht nur zeitlich begrenzt Informationen speichern und sie bearbeiten, sondern es unterliegt und unterstützt zudem körpereigene Denkprozesse und basiert auf einem intakten präfrontalen Kortex (BADDELEY, 2000). Im mHB-Test wird die Arbeitsgedächtnisleistung danach bewertet, ob sich ein Tier während eines Durchlaufes erinnert, welches markierte Loch von ihm bereits erfolgreich besucht wurde. Wiederholte Besuche (Repeated Choices) eines bereits erfolgreich besuchten markierten Lochs, d.h. die Futterbe-

lohnung wurde vom Tier entnommen und gefressen, gelten als Fehler des Arbeitsgedächtnisses (OHL et al., 1998). In der eigenen Studie unterscheiden sich die verschiedenen Gruppen in diesem Gedächtnisparameter nicht (siehe 3.3.4.1). Dies lässt entweder darauf schließen, dass das Arbeitsgedächtnis von steigenden DHCA-Zeiten nicht beeinträchtigt wird oder aber methodische Ursachen eine Rolle spielen. Es könnte zum Beispiel eine mangelnde Sensitivität des Versuchsprotokolls vorliegen, denn um Fehler des Arbeitsgedächtnisses aussagekräftig bewerten zu können, bedarf es zuerst einer längeren Lernphase, an deren Ende die Tiere stabile Ausgangswerte erreichen (STECKLER und MUIR, 1996). Diese können dann zum Beispiel nach einer Schädigung mit der Ausgangsleistung verglichen werden. Es muss zudem bedacht werden, dass Tiere, die den Test nicht lernen und keine markierten Löcher besuchen, auch keine Löcher wiederholt besuchen können. Dadurch könnte eine fehlende Schädigung des Arbeitsgedächtnisses bei diesen Tieren nur vorgetäuscht sein. Im Versuchsprotokoll dieser Studie wurde jedoch absichtlich auf Bewertung des „Vergessens“ verzichtet, um stattdessen das Lernverhalten der Tiere zu untersuchen. Das Lernverhalten wurde vor allem deswegen gewählt, weil mit diesem Verfahren subtilere Veränderungen nachgewiesen werden können. Erlernen die Tiere den mHB-Test bereits präoperativ und erreichen eine stabile „Baseline“ (Ausgangsniveau), dann bedarf es größerer zerebraler Schädigungen, um veränderte kognitive Leistungsfähigkeiten zu detektieren. Außerdem kann man mit dieser Variante, das Lernverhalten zu testen, eine bessere Aussage über Verhaltensauffälligkeiten treffen, weil sich die Tiere dem mHB-Test gegenüber noch völlig naiv verhalten.

Allgemein betrachtet scheint in der vorliegenden Studie eher die Lernleistung und das deklarative Gedächtnis mit steigenden DHCA-Zeiten beeinträchtigt zu sein als das Arbeitsgedächtnis. Dies steht im Gegensatz zu klinischen Studien, in denen eher das Arbeitsgedächtnis als das Langzeitgedächtnis eingeschränkt war (IMMER et al., 2002; BELLINGER et al., 2003). Es bleibt jedoch fraglich, ob mit dem gewählten Versuchsprotokoll und der nur beschränkt aussagekräftigen Arbeitsgedächtnisleistung überhaupt eine Bewertung einzelner Gedächtnissysteme vorgenommen werden sollte. Darüber hinaus ist es auch in klinischen Studien üblich, Defizite einzelner Gedächtnisdomänen zu einer gemeinsamen Inzidenz von Defiziten der kognitiven Funktion zusammenzufassen (HOVELS-GURICH et al., 2002c). In Anlehnung an diese Studien wurden in der vorliegenden Untersuchung die verschiedenen Gedächtnisparameter zusammengefasst, um Inzidenzen zeigen zu können, ob die kognitive Leistungsfähigkeit beeinträchtigt ist oder nicht. Die berechneten Dosis-Wirkungsbeziehungen ergaben, dass 14 Tage nach klinisch relevanten 45 min DHCA-Zeiten durchschnittlich 45 % der Tiere ohne kognitive Defizite überleben (siehe 3.3.4.1). Diese Werte sind durchaus mit klinischen Stu-

dien vergleichbar, in denen Kinder acht Jahre nach herzchirurgischen Eingriffen in 45 % der Fälle keine neurologischen Entwicklungsdefizite aufwiesen (HOVELS-GURICH et al., 2002c). Auch bei Erwachsenen beträgt die Inzidenz von Patienten ohne postoperative kognitive Defizite (POCD) 45 % zwölf Wochen nach tief hypothermem Kreislaufstillstand (HARRINGTON et al., 2003). Im Gegensatz dazu konnten andere Tiermodelle bisher lediglich Gedächtnisdefizite bei DHCA-Zeiten von > 80 min herausstellen (KAWAGUCHI et al., 1998), wodurch deren klinische Relevanz jedoch in Frage zu stellen ist.

Defizite des Verhaltens

Kognitive Prozesse können durch Verhaltensänderungen, zum Beispiel Angst entschieden beeinflusst werden (BEUZEN und BELZUNG, 1995). In der eigenen Studie allerdings scheinen jedoch Verhaltensparameter nicht so stark beeinträchtigt zu sein, dass dadurch kognitive Parameter beeinflusst würden (siehe 3.3.4.2).

Wenn Nagetiere mit einem Open-Field (offenen Feld) konfrontiert werden, ziehen sie spontan die Peripherie der Mitte vor, und bewegen sich am liebsten nahe den Wänden fort (Thigmotaxis) (PRUT und BELZUNG, 2003). Dieses Vermeidungsverhalten gegenüber dem ungeschützten Gebiet, hier dem mHB im Zentrum der Versuchsarena, gilt auch als Angstindikator (OHL, 2003). In der vorliegenden Studie verbringen alle Tiere ungefähr gleich viel Zeit auf dem mHB und die Werte schwanken im Verlauf nur mäßig (siehe 3.3.4.2). Daher kann vermutet werden, dass alle Tiere gleichermaßen an die Testumgebung habituiert wurden. Außerdem schienen alle Tiere gleich lang die Gelegenheit zu haben, Löcher auf dem mHB zu explorieren und den Zusammenhang zwischen Markierung und Futterbelohnung zu verfestigen. Darüber hinaus explorierten alle Tiere die Löcher des mHB gleichermaßen zielgerichtet (siehe 3.3.4.2), woraus geschlossen werden kann, dass kognitive Leistungsunterschiede nicht durch vermehrtes Angstverhalten oder geringere Motivation erklärt werden können. Das Angstverhalten scheint nicht zu verhindern, dass Zusammenhänge im mHB-Test erkannt und von den Tieren gelernt werden können (siehe 3.3.4.2). Viel eher scheinen schlechtere kognitive Fähigkeiten an beobachteten geringeren Lerneffekten der Gruppe mit > 60 min DHCA beteiligt zu sein (siehe 3.3.4.1).

In anderen tief hypothermen Kreislaufstillstandmodellen dokumentierte kognitive Defizite (KAWAGUCHI et al., 1998) könnten möglicherweise durch ihr Angstverhalten beeinflusst worden sein. Denn Tests oder Versuchsbedingungen, die mit angstausslösenden Bedingungen verbunden sind, können kognitive Leistungen beeinträchtigen (BEUZEN und BELZUNG,

1995). Eine durch Angst erzeugte Verhaltensinhibition kann zum Beispiel ein Tier daran hindern, der geforderten Lernaufgabe nachzukommen.

Während alle Tiere im Lauf der Beobachtungszeit immer weniger falsche Löcher besuchen, bleibt die Anzahl besuchter Löcher nahezu gleich (siehe 3.3.4.2). Daraus lässt sich schließen, dass vermehrt zielgerichtetes Besuchen der Löcher zur Lösung der Lernaufgabe führt, und nicht gesteigertes exploratives Verhalten. Die Tiere besuchen nicht alle Löcher gleichermaßen, sondern sie suchen gezielt markierte Löcher (siehe 3.3.4.2). Deshalb scheint die schlechtere kognitive Leistung der Tiere mit > 60 min DHCA nicht durch gesunkenes gerichtetes Explorationsverhalten, zum Beispiel durch Frustration und mangelndes Interesse an den Löchern, erklärt werden zu können. Wodurch die schlechtere kognitive Leistung (siehe 3.3.4.1) als Ausdruck beeinträchtigter kognitiver Fähigkeiten dieser Gruppe bestätigt werden kann.

In einer anderen Studie waren kognitive Leitungsfähigkeiten von Ratten erst bei höheren DHCA-Zeiten signifikant beeinträchtigt (KAWAGUCHI et al., 1998). Dabei ist jedoch zu beachten, dass in diesen Tiermodellen häufig zeitliche oder räumliche Parameter, zum Beispiel Latenz (KAWAGUCHI et al., 1998) oder Entfernungen (im Wasserlabyrinth) als Indikator für kognitive Leistungen gewertet wurden. Zusätzlich verwendete angstausslösende Bedingungen (Stromschläge) (KAWAGUCHI et al., 1998) könnten jedoch vor allem diese Parameter direkt beeinflussen, indem sie zielgerichtetes Verhalten verhindern und die Tiere so kognitiv schlechter erscheinen lassen.

In der vorliegenden Studie schließt die ausgeprägte Aktivität der Tiere (siehe 3.3.4.2) eine vermehrte Ängstlichkeit durch Verhaltensinhibition aus. Darüber hinaus explorierten sie uneingeschränkt die Testumgebung, was sich in der Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine und der Lokomotion zeigte (siehe 3.3.4.2). Die Tiere verharrten nicht bewegungslos in einer geschützten Ecke der Versuchsarena wie extrem ängstliche Ratten, die in einer neuen Umgebung häufig in Immobilität „zu erstarren“ scheinen (OHL et al., 2001a).

Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die kognitive Leistung der Tiere in dieser Studie nicht durch Verhaltensinhibition oder gesunkene Motivation beeinträchtigt zu sein schien, sondern dass sie wirklich die kognitive Leistungsfähigkeit der Tiere widerspiegeln.

4.2.5 Histologische Untersuchung

Nach einem globalen ischämischen Insult, zum Beispiel einem tief hypothermen Kreislaufstillstand, gehen bestimmte Nervenzellpopulationen zu Grunde, während andere unbeeinträchtigt bleiben (LAPTOOK et al., 1994). Dieses Phänomen ist auch unter dem Begriff der selektiven Vulnerabilität bekannt und ereignet sich sowohl im Gehirn von Erwachsenen als auch von Kleinkindern und Säuglingen. In adulten Tiermodellen normothermer Ischämie waren vor allem Nervenzellen des Hippokampus, Zerebellum, Striatum, Amygdala, Thalamus und Neokortex besonders empfindlich gegenüber Sauerstoff- und Substratmangel (BOTTIGER et al., 1998). Bei nicht-neonatalen tief hypothermen Kreislaufstillstandmodellen dominierten vor allem neuronale Nekrose und Infarkt von Zerebellum, Striatum und Neokortex (SHIN'OKA et al., 1996), während bei neonatalen tief hypothermen Kreislaufstillstandmodellen hauptsächlich neuronale Apoptose des Hippokampus, der grauen Substanz des zerebralen Kortex vorherrschten (PRIESTLEY et al., 2001). In der vorliegenden Studie können vor allem Nervenzelluntergänge vornehmlich im motorischen Kortex und im Zingulum, aber auch geringgradig im Striatum, Hippokampus und Zerebellum festgestellt werden (siehe 3.3.5). Da dieser Zelltod noch 14 Tage nach steigenden DHCA-Zeiten nachzuweisen ist (siehe 3.3.5), ist ein kontinuierlicher Prozess zu vermuten, der sich über mehrere Tage erstreckt.

Die histologischen Befunde (siehe 3.3.5) der vorliegenden Studie sind interessanter Weise nicht mit der funktionellen Gesamtpunktzahl korreliert, zu der Einzelleistungen aus Motorik, Sensibilität, Kognition und Verhalten zählten (siehe 3.2.7).

Die fehlende Korrelation befindet sich in Einklang mit andere Studien. Diese wiesen mit anderen gängigen neurokognitiven Verhaltenstests ebenso Diskrepanzen zwischen den funktionellen und histologischen Ergebnissen nach (ZAUSINGER et al., 2000; REGLODI et al., 2003; BAYONA et al., 2004). Von speziellem Interesse in der vorliegenden Studie ist die Tatsache, dass einige Tiere, obwohl sie histologisch zum Teil schwere Gehirnschädigungen aufwiesen, 14 Tage nach tief hypothermem Kreislaufstillstand keine funktionellen Defizite zeigten. Diese Ergebnisse können auf vielfältige Art und Weise interpretiert werden:

Erstens postulierten verschiedene Studien eine verstärkte Neurogenese als Reaktion auf zentralnervöse Schädigungen. Dabei zeigten diejenigen Tiere mit stimulierter Neurogenese verbesserte funktionelle Ergebnisse (NAKATOMI et al., 2002; FELLING und LEVISON, 2003). Zweitens könnten alternativ auch Trainingseffekte durch wiederholt absolvierte Verhaltenstests das neurokognitive Ergebnis verbessern. Vergleichbare Ergebnisse wurden kürzlich ver-

öffentlich, wobei Tiere bessere Leistungen auf dem Rotarod (rotierendes Rad auf dem die Tiere laufen und balancieren sollen) erbrachten während der ersten Tage nach zerebraler Ischämie. Die gezeigten funktionellen Leistungen korrelierten ebenfalls nicht mit dem Infarktvolume (ZAUSINGER et al., 2000). Drittens könnte die gesamte in der vorliegenden Studie verwendete Testbatterie nicht sensitiv genug sein. Jedoch stehen die Ergebnisse der vorliegenden Studie in Einklang mit denen von anderen Untersuchungen, die ebenfalls keine Assoziation von Infarktvolume 21 Tage nach zerebraler Ischämie und motorischer Funktion mit einer anderen Testbatterie beschrieben (BAYONA et al., 2004). Wichtig erscheint, dass in der vorliegenden Studie kein Tier ohne pathologischen Histologie-Befund auch eine pathologische funktionelle Gesamtpunktezah aufwies. Umgekehrt muss aber ein pathologischer histologischer Befund nicht unbedingt ein beeinträchtigt funktionelles Ergebnis prognostizieren.

4.2.6 Abschließende Betrachtung und Ausblick

Zusammenfassend beschreibt diese Studie erstmals ein neues Langzeit-Überlebensmodell des tief hypothermen Kreislaufstillstandes bei der Ratte. Mit verschiedenen sensorisch-motorischen Tests kann die neurologische Funktion bewertet und mit dem modifizierten Hole-Board (mHB) -Test die kognitive Leistungsfähigkeit ermittelt werden. Die Auswertung von Arrestzeit, Überleben, Neurologie, Kognition und Verhalten ergibt Dosis-Wirkungs-Beziehungen zwischen klinisch relevanten DHCA-Zeiten und nachweisbaren Defiziten. Die abschließende histologische Untersuchung der Gehirne mit der H & E-Färbung (siehe 3.3.5) korreliert, wie auch in anderen Studien bereits gezeigt werden konnte, nicht mit Ergebnissen aus einem erstellten Punktesystem für Motorik, Sensibilität, Kognition und Verhalten (siehe 3.3.6). Folglich scheint dieser experimentelle Aufbau ein geeignetes Schädigungsmodell darzustellen, um die mit Herzchirurgie und tief hypothermem Kreislaufstillstand assoziierte Pathophysiologie genauer zu untersuchen und potentielle neuroprotektive Strategien zu entwickeln.

5 Zusammenfassung

„Neurologische und kognitive Leistungsfähigkeit nach tief hypothermem Kreislaufstillstand bei der Ratte - Etablierung eines neuen Modells“

Herzchirurgische Operationen bei Kindern und Erwachsenen, die einen tief hypothermen Kreislaufstillstand (DHCA) erfordern, können zu zentralnervösen Defiziten führen. Ziel der vorliegenden Studie ist es, mit einem neuen kliniknahen DHCA-Modell bei der Ratte diesen Phänomenen experimentell standardisiert näher kommen zu können.

34 männliche Sprague-Dawley Ratten (ca. 350 g KGW) wurden mit Isofluran anästhesiert, intubiert und mit 2,0 – 2,5 Vol% Isofluran in 45 % O₂ beatmet. Die rechte A. epigastrica superficialis, V. jugularis externa sowie A. sacralis mediana kanülierte man zur arteriellen Blutdruckmessung, Blutentnahme, Medikamentenapplikation und Anschluss an die Extrakorporale Zirkulation (EKZ). In der Abkühlungsphase wurden die Tiere innerhalb von 30 min mit Hilfe von Kühlmatten und dem Wärmetauscher der EKZ auf eine rektale Temperatur von 15 – 18 °C gekühlt und dabei die Flussrate der Herz-Lungen-Maschine (HLM) von 160 – 180 ml/min/kg um die Hälfte reduziert. In dieser Phase anästhesierte man die Tiere mit 1,0 - 1,5 Vol% Isofluran (45 % O₂ / 55 % Druckluft), repetitiv Fentanyl (5 µg Boli) und 1,6 mg / h Cisatracurium. Die Tiere wurden randomisiert in sechs Gruppen mit unterschiedlichen DHCA-Zeiten eingeteilt. Während man die Gruppe mit 0 min DHCA-Zeit (n=6) sofort wieder ohne Kreislaufstillstand erwärmte, stellte man bei den anderen Gruppen die Rollerpumpe ab, drainierte das Blut aus dem rechten Vorhof in das venöse Reservoir und hielt den Kreislaufstillstand (Asystolie und kein MAP) für 45, 60, 75, 90 (je n=6) und 105 (n=4) min aufrecht. Dann wurden die Tiere in 40 min auf rektale Temperaturen von 35,5 °C wiedererwärmt und die Flussrate der HLM bis auf Ausgangswerte gesteigert. Die Anästhesie erfolgte entsprechend der Abkühlungsphase. Nach Abgehen von der HLM wurden die Tiere 1 h nachbeatmet. In dieser Zeit verabreichte man ihnen Blut (aus der EKZ) retransfundierte und nach Bedarf Bikarbonat, Calcium und Glucose. Postoperativ wurde täglich die neurologische (sensorisch-motorische Tests) und die kognitive Funktion (mHB-Test) untersucht und die Tiere abschließend am postoperativen Tag 14 getötet.

Eine 50 %ige Wahrscheinlichkeit des Überlebens wurde für eine DHCA-Zeit von 83 min (71 bis 99 min) bestimmt. Die motorische Funktion erreichte wie die neurokognitive Leistungsfähigkeit zum Ende der Versuchsperiode wieder stabile Werte, war aber nach klinisch relevan-

ten DHCA-Zeiten bis 60 min noch beeinträchtigt. Zu diesem Zeitpunkt korrelierte die gesamte funktionelle Leistungsfähigkeit nicht mit den histopathologischen Ergebnissen.

Mit dieser Studie gelang erstmalig die Beschreibung eines kliniknahen DHCA Modells bei der Ratte, das mit einem langfristigen Überleben der Tiere vereinbar ist. Die Etablierung dieses neuen Modells ist ein wichtiger Fortschritt, um die Pathomechanismen, die zentralnervösen Defiziten zugrunde liegen, näher zu untersuchen. Außerdem kann dieses Modell dazu genutzt werden, potentielle neuroprotektive Medikamente oder Strategien präklinisch zu überprüfen.

6 Summary

“Neurological and cognitive function after deep hypothermic circulatory arrest in the rat – introduction of a new model”

Heart surgery that requires deep hypothermic circulatory arrest (DHCA) can lead to neurocognitive deficits. The aim of this study was to establish a new model of DHCA in rats and to evaluate neurocognitive outcome following DHCA.

34 male Sprague-Dawley rats (350 g BW) were anesthetized using Isoflurane, intubated and ventilated with 2,0 - 2,5 Vol% Isoflurane in 45 % O₂. The right superficial epigastric artery, the external jugular vein as well as the tail artery were cannulated for arterial blood pressure measurements, drawing of blood, drug administration and access to the extracorporeal circulation (ECC). During a 30 min cooling phase, the animals were cooled down to rectal temperatures of 15 – 18 °C with the help of cooling mats and heat exchangers of the ECC. During this period, the flow rate of the cardiopulmonary bypass (CPB) was reduced from 160 – 180 ml / min / kg at the beginning to 80 – 90 ml / min /kg. In this cooling phase, the animals were also anesthetized using 1,0 – 1,5 Vol% Isoflurane (45 % O₂ / 55 % air pressure), repetitive Fentanyl (5 µg Boli) and 1,6 mg / h Cisatracurium. The animals were then randomly assigned to one of six groups with different durations of DHCA. The group with 0 min DHCA-time (n=6) was rewarmed immediately without any cardiac arrest. In the other 5 groups ECC was terminated and circulatory arrest was identified by asystole and no detectable MAP. The blood was drained from the right atrium in the venous reservoir and dependent to group assignment DHCA was performed for 45, 60, 75, 90 (n=6) or 105 (n=4) min. The animals were then rewarmed to rectal temperatures of 35,5 °C within 40 min and the flow rate of CPB was increased to the initial values. Anaesthesia was performed according to the cooling phase. After terminating CPB the animals were anaesthetized and ventilated for one hour. During this time, they received blood transfusions (from the ECC), bicarbonate, calcium and glucose if required. Postoperative assessment of both neurological (sensoric-motoric) and cognitive function (mHB-test) were performed daily. On postoperative day 14 the animals were killed.

The survival rate was 50 % for 83 min (71 – 99 min) DHCA. The motor function as well as the neurocognitive performance reached stable values towards the end of the trial period, but were still impaired following clinically relevant DHCA-times of up to 60 min. There was no

correlation between the total neurological function and the histopathological results determined during this study.

The current study presents the primary description of a long-term recovery model of DHCA. The introduction of this new model is an important step forward in investigating pathomechanisms associated with adverse cerebral outcome following cardiac surgery and DHCA. Furthermore, this model seems to be suitable to investigate potential neuroprotective strategies in a preclinical setting.

7 Literaturverzeichnis

ARROWSMITH J, GROCCOTT H, NEWMAN M

Neurologic risk assessment, monitoring and outcome in cardiac surgery
J Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 13:736-43

ATKINSON R, SHIFFRIN R

Human memory: a proposed system and its control processes, *In: Spence KW (Hrsg.)*
The psychology of learning and motivation: advances in research and theory
Academic Press, New York, 1968; 89-195

BADDELEY A

The episodic buffer: a new component of working memory?
Trends Cogn Sci 2000; 4:417-23

BADDELEY A

Working memory and language: an overview
J Commun Dis 2003a; 36:189-208

BADDELEY A

Working memory: looking back and looking forward
Nat Rev Neurosci 2003b; 4:829-39

BADDELEY A, BUENO O, CAHILL L, FUSTER JM, IZQUIERDO I, MCGAUGH JL,
MORRIS RG, NADEL L, ROUTTENBERG A, XAVIER G, DA CUNHA C

The brain decade in debate: I. neurobiology of learning and memory
Braz J Med Biol Res 2000; 33:993-1002

BADDELEY A, HITCH G

Working memory, *In: Bower GA (Hrsg.)*
Recent advances in learning and motivation
Academic Press, New York, 1974; 8:47-90

BAKER AJ, NASER B, BENARROIA M, MAZER CD

Cerebral microemboli during coronary artery bypass using different cardioplegia techniques
Ann Thorac Surg 1995; 59:1187-91

BARBUT D, LO YW, GOLD JP, TRIFILETTI RR, YAO FS, HAGER DN, HINTON RB,
ISOM OW

Impact of embolization during coronary artery bypass grafting on outcome and length of stay
Ann Thorac Surg 1997; 63:998-1002

BARONE FC, PRICE WJ, WHITE RF, WILLETTE RN, FEUERSTEIN GZ

Genetic hypertension and increased susceptibility to cerebral ischemia
Neurosci Biobehav Rev 1992; 16:219-33

BAYONA NA, GELB AW, JIANG Z, WILSON JX, URQUHART BL, CECHETTO DF

Propofol neuroprotection in cerebral ischemia and its effects on low-molecular-weight anti-oxidants and skilled motor tasks
Anesthesiology 2004; 100:1151-9

BELLINGER DC

Cardiac surgery and the brain: differences between adult and paediatric studies
Heart 2003; 89:365-6

BELLINGER DC, JONAS RA, RAPPAPORT LA, WYPIJ D, WERNOVSKY G, KUBAN KC, BARNES PD, HOLMES GL, HICKEY PR, STRAND RD, WALSH A, HELMERS S, CONSTANTINOU J, CARRAZANA E, MAYER J, HANLEY F, CASTANEDA A, WARE J, NEWBURGER J

Developmental and neurologic status of children after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass
N Engl J Med 1995; 332:549-55

BELLINGER DC, RAPPAPORT LA, WYPIJ D, WERNOVSKY G, NEWBURGER JW

Patterns of developmental dysfunction after surgery during infancy to correct transposition of the great arteries
J Dev Behav Pediatr 1997; 18:75-83

BELLINGER DC, WYPIJ D, DUDUPLESSIS AJ, RAPPAPORT LA, JONAS RA, WERNOVSKY G, NEWBURGER JW

Neurodevelopmental status at eight years in children with dextro-transposition of the great arteries: the Boston Circulatory Arrest Trial
J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126:1385-96

BELLINGER DC, WYPIJ D, KUBAN KC, RAPPAPORT LA, HICKEY PR, WERNOVSKY G, JONAS RA, NEWBURGER JW

Developmental and neurological status of children at 4 years of age after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass
Circulation 1999; 100:526-32

BELZUNG C, LE PAPE G

Comparison of different behavioral test situations used in psychopharmacology for measurement of anxiety
Physiol Behav 1994; 56:623-8

BERKMANN AJ

Einfluss von Luftembolien und Xenon auf die neurokognitiven Leistungen, den neurologischen Status und die Infarktgrösse - Untersuchungen am EKZ-Modell bei der Ratte
Vet Med Diss, 2005 (in Bearbeitung)

BEUZEN A, BELZUNG C

Link between emotional memory and anxiety states: a study by principal component analysis
Physiol Behav 1995; 58:111-8

BIGELOW W, LINDSAY W, HARRISON R

Oxygen transport and utilization in dogs at low body temperatures
Am J physiol 1950; 160:125-37

- BISSONNETTE B, HOLTBY HM, DAVIS AJ, PUA H, GILDER FJ, BLACK M
Cerebral hyperthermia in children after cardiopulmonary bypass
Anesthesiology 2000; 93:611-8
- BLAUTH C, COSGROVE D, WEBB B, RATLIFF N, BOYLAN M, PIEDMONTE M, LYTLE B, LOOP F
Atheroembolism from the ascending aorta: an emerging problem in cardiac surgery
J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 103:1104-12
- BOGDANSKI R, BLOBNER M, BECKER I, HANEL F, FINK H, KOCHS E
Cerebral histopathology following portal venous infusion of bacteria in a chronic porcine model
Anesthesiology 2000; 93:793-804
- BOKESCH PM, APPACHI E, CAVAGLIA M, MOSSAD E, MEE RB
A glial-derived protein, S100B, in neonates and infants with congenital heart disease: evidence for preexisting neurologic injury
Anesth Analg 2002; 95:889-92
- BOKESCH PM, MARCHAND J, SEIRAFI PA, DEISS JM, WARNER KG, BRONSON RT, KREAM RM
Immediate-early gene expression in ovine brain after cardiopulmonary bypass and hypothermic circulatory arrest
Anesthesiology 1996; 85:1439-46
- BOTTIGER BW, SCHMITZ B, WIESSNER C, VOGEL P, HOSSMANN KA
Neuronal stress response and neuronal cell damage after cardiocirculatory arrest in rats
J Cereb Blood Flow Metab 1998; 18:1077-87
- BRAEKKEN S, RUSSELL D, BRUCHER R, ABDELNOOR M, SVENNEVIG J
Cerebral microembolic signals during cardiopulmonary bypass surgery: frequency, time of occurrence, and association with patient and surgical characteristics
Stroke 1997; 28:1988-92
- BROOKER RF, BROWN WR, MOODY DM, HAMMON JW, JR., REBOUSSIN DM, DEAL DD, GHAZI-BIRRY HS, STUMP DA
Cardiotomy suction: a major source of brain lipid emboli during cardiopulmonary bypass
Ann Thorac Surg 1998; 65:1651-5
- BROWN J
Some tests of the decay theory of immediate memory
Quart J Exp Psychol 1958; 10:12-21
- BROWN WR, MOODY DM, CHALLA VR, STUMP DA, HAMMON JW
Longer duration of cardiopulmonary bypass is associated with greater numbers of cerebral microemboli
Stroke 2000; 31:707-13
- BUNSEY M, EICHENBAUM H
Conservation of hippocampal memory function in rats and humans
Nature 1996; 379:255-7

BUSTO R, DIETRICH W, GLOBUS M, VALDÉS I, SCHEINBERG P, GINSBERG M
Small differences in intraschemic brain temperature critically determine the extent of neuronal injury
J Cereb Blood Flow Metab 1987; 7:729-38

BUSTO R, GLOBUS M, DIETRICH W, MARTINEZ E, VALDES I, GINSBERG M
Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain
Stroke 1989; 20:904-10

CALABRESE P, MARKOWITSCH HJ
Memory and brain-neurobiological correlates of memory disturbances
Fortschr Neurol Psychiatr 2003; 71:211-9

CHANG Q, GOLD PE
Switching memory systems during learning: changes in patterns of brain acetylcholine release in the hippocampus and striatum in rats
J Neurosci 2003; 23:3001-5

CHYATTE D, ELEFTERIADES J, KIM B
Profound hypothermia and circulatory arrest for aneurysm surgery. Case report
J Neurosurg 1989; 70:489-91

COMBS DJ, D'ALECY LG
Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol
Stroke 1987; 18:503-11

CRAWLEY JN
Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines
Pharmacol Biochem Behav 1981; 15:695-9

CZERNY M, FLECK T, ZIMPFER D, DWORSCHAK M, HOFMANN W, HUTSCHALA D, DUNKLER D, EHRLICH M, WOLNER E, GRABENWOGER M
Risk factors of mortality and permanent neurologic injury in patients undergoing ascending aortic and arch repair
J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126:1296-301

DECKER MW
Animal models of cognitive function
Crit Rev Neurobiol 1995; 9:321-43

DEL NIDO PJ
Developmental and neurologic outcomes late after neonatal corrective surgery
J Thorac Cardiovasc Surg 2002; 124:425-7

DEMPSEY R, COMBS D, MALEY M, COEN D, ROY M, DONALDSON D
Moderate hypothermia reduces postischemia edema development and leukotriene production
Neurosurgery 1987; 21:177-81

DENNIS C, SPRENG DJ, NELSON G

Development of a pump-oxygenator to replace the heart and lungs; an apparatus applicable to human patients and application to one case

Ann Thorac Surg 1951; 134:709-21

DI EUSANIO M, WESSELINK RM, MORSHUIS WJ, DOSSCHE KM, SCHEPENS MA

Deep hypothermic circulatory arrest and antegrade selective cerebral perfusion during ascending aorta-hemiarch replacement: a retrospective comparative study

J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 125:849-54

DIEGELER A, DOLL N, RAUCH T, HABERER D, WALTHER T, FALK V, GUMMERT J, AUTSCHBACH R, MOHR FW

Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: a comparison of limited approach, "off-pump" technique, and conventional cardiopulmonary bypass

Circulation 2000; 102:III95-100

DIETRICH W, ALONSO O, BUSTO R

Moderate hyperglycemia worsens acute blood brain barrier injury after forebrain ischemia in rats

Stroke 1993; 24:111-5

DING D, MOSKOWITZ SI, LI R, LEE SB, ESTEBAN M, TOMASELLI K, CHAN J, BERGOLD PJ

Acidosis induces necrosis and apoptosis of cultured hippocampal neurons

Exp Neurol 2000; 162:1-12.

DITSWORTH D, PRIESTLEY MA, LOEPKE AW, RAMAMOORTHY C, MCCANN J, STAPLE L, KURTH CD

Apoptotic neuronal death following deep hypothermic circulatory arrest in piglets

Anesthesiology 2003; 98:1119-27

D'MELLO GD, STECKLER T

Animal models in cognitive behavioural pharmacology: an overview

Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:345-52

DOYERE V, BURETTE F, NEGRO CR, LAROCHE S

Long-term potentiation of hippocampal afferents and efferents to prefrontal cortex: implications for associative learning

Neuropsychologia 1993; 31:1031-53

DU PLESSIS AJ

Cerebral hemodynamics and metabolism during infant cardiac surgery. Mechanisms of injury and strategies for protection

J Child Neurol Aug 1997a; 12:285-300

DU PLESSIS AJ

Neurologic complications of cardiac disease in the newborn

Clin Perinatol 1997b; 24:807-26

DYER CB, ASHTON CM, TEASDALE TA

Postoperative delirium. a review of 80 primary data-collection studies
Arch Intern Med 1995; 155:461-5

ERGIN MA, GRIEPP EB, LANSMAN SL, GALLA JD, LEVY M, GRIEPP RB
Hypothermic circulatory arrest and other methods of cerebral protection during operations on the thoracic aorta
J Card Surg 1994; 9:525-37

FEENEY DM, GONZALEZ A, LAW WA
Amphetamine, haloperidol, and experience interact to affect rate of recovery after motor cortex injury
Science 1982; 217:855-7

FEERICK A, JOHNSTON W, JENKINS L, LIN C, MACKAY J, PROUGH D
Hyperglycemia during hypothermic canine cardiopulmonary bypass increases cerebral lactate
Anesthesiology 1995; 82:512-20

FELLING RJ, LEVISON SW
Enhanced neurogenesis following stroke
J Neurosci Res 2003; 73:277-83

FILE SE, WARDILL AG
The reliability of the hole-board apparatus
Psychopharmacologia 1975a; 44:47-51

FILE SE, WARDILL AG
Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified hole-board
Psychopharmacologia 1975b; 44:53-9

FLINT J, CORLEY R, DEFRIES JC, FULKER DW, GRAY JA, MILLER S, COLLINS AC
A simple genetic basis for a complex psychological trait in laboratory mice
Science 1995; 269:1432-5

FOLKERTH TL, ANGELL WW, FOSBURG RG, OURY JH
Effect of deep hypothermia, limited cardiopulmonary bypass, and total arrest on growing puppies
Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab 1975; 10:411-21

GAYNOR JW, GERDES M, ZACKAI EH, BERNBAUM J, WERNOVSKY G, CLANCY RR, NEWMAN MF, SAUNDERS AM, HEAGERTY PJ, D'AGOSTINO JA, MCDONALD-MCGINN D, NICOLSON SC, SPRAY TL, JARVIK GP
Apolipoprotein E genotype and neurodevelopmental sequelae of infant cardiac surgery
J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126:1736-45

GERMANO AF, DIXON CE, D'AVELLA D, HAYES RL, TOMASELLO F
Behavioral deficits following experimental subarachnoid hemorrhage in the rat
J Neurotrauma 1994; 11:345-53

GIBBON JHJ
Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of the pulmonary artery
Archives of Surgery 1954; 34:1105-31

GILLUM RF

Epidemiology of congenital heart disease in the United States
Am Heart J 1994; 127:919-27

GILMAN S

Cerebral disorders after open heart operations
N Engl J Med 1965; 272:489-98

GINSBERG M, BUSTO R

Rodent models of cerebral ischemia
Stroke 1989; 20:1627-42

GIONET TX, THOMAS JD, WARNER DS, GOODLETT CR, WASSERMAN EA, WEST JR

Forebrain ischemia induces selective behavioral impairments associated with hippocampal injury in rats
Stroke 1991; 22:1040-7

GOLANI I, KAFKAFI N, DRAI D

Phenotyping stereotypic behavior: collective variables, range of variation and predictability
Appl Animal Behav Sci 1999; 65:191-220

GOLD J, CHARLSON M, WILLIAMS-RUSSO P, SZATROWSKI T, PETERSON J, PIRRAGLIA P, HARTMANN G, YAO F, HOLLENBERG J, BARBUT D, HAYES J, THOMAS S, PURCELL M, MATTIS S, GORKIN L, POST M, KRIEGER K, ISOM O

Improvement of outcomes after coronary artery bypass. a randomized trial comparing intra-operative high versus low mean arterial pressure
J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 110:1302-14

GOLD PE, MCINTYRE C, MCNAY E, STEFANI MR, KOROL DL

Neurochemical referees of dueling memory systems, *In: Gold PE, Greenough WT (Hrsg.) Memory consolidation: essays in honor of James L. McGaugh- a time to remember*
American Psychological Association, Washington DC, 2001; 219-48

GOLDMAN-RAKIC PS

Regional and cellular fractionation of working memory
Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13473-80

GOLDSTEIN LB, DAVIS JN

Beam-walking in rats: studies towards developing an animal model of functional recovery after brain injury
J Neurosci Methods 1990; 31:101-7

GOTO Y, KASSELL N, HIRAMATSU K, SOLEAU S, LEE K

Effects of intraischemic hypothermia on cerebral damage in a model of reversible focal ischemia
Neurosurgery 1993; 32:980-5

GRIEPP EB, GRIEPP RB

Cerebral consequences of hypothermic circulatory arrest in adults

J Card Surg 1992; 7:134-55

GRIGORE A, PHILLIPS-BUTE B, GROCOTT H, BUTLER A, STANLEY T, REVES J, NEWMAN M

The association of rewarming rate and neurocognitive dysfunction after cardiac surgery
Anesth Analg 2000; 90:SCA 34

GROCOTT H, CROUGHWELL N, AMORY D, WHITE W, KIRCHNER J, NEWMAN M

Cerebral emboli and serum S100 β during cardiac surgery
Ann Thorac Surg 1998; 65:1645-50

GROCOTT HP, MACKENSEN GB, GRIGORE AM, MATHEW J, REVES JG, PHILLIPS-BUTE B, SMITH PK, NEWMAN MF

Postoperative hyperthermia is associated with cognitive dysfunction after coronary artery bypass graft surgery
Stroke 2002; 33:537-41

GV-SOLAS - GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE - SOCIETY FOR LABORATORY ANIMAL SCIENCE

Planung und Struktur von Versuchstierbereichen tierexperimentell tätiger Institutionen, *In*: GV-SOLAS (Hrsg.)

4. Auflage, Verlag GV-SOLAS, Biberach a.d. Riss, 1988

HAGL C, ERGIN MA, GALLA JD, LANSMAN SL, MCCULLOUGH JN, SPIELVOGEL D, SFEIR P, BODIAN CA, GRIEPP RB

Neurologic outcome after ascending aorta-aortic arch operations: effect of brain protection technique in high-risk patients
J Thorac Cardiovasc Surg 2001; 121:1107-21

HALL C

Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity

J Comp Physiol Psychol 1936; 22:345-52

HALL R, STAFFORD SMITH M, ROCKER G

The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations
Anesth Analg 1997; 85:766-82

HARDY JF, MARTINEAU R, COUTURIER A, BELISLE S, CARTIER R, CARRIER M

Influence of haemoglobin concentration after extracorporeal circulation on mortality and morbidity in patients undergoing cardiac surgery
Br J Anaesth 1998; 81 Suppl 1:38-45

HARRINGTON DK, BONSER M, MOSS A, HEAFIELD MT, RIDDOCH MJ, BONSER RS

Neuropsychometric outcome following aortic arch surgery: a prospective randomized trial of retrograde cerebral perfusion

J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126:638-44

HARRIS DNF, BAILEY S, SMITH P

Brain swelling in first hour after coronary artery bypass surgery

Lancet 1993; 342:586-87

HENNIGER MS, OHL F, HOLTER SM, WEISSENBACHER P, TOSCHI N, LORSCHER P, WIGGER A, SPANAGEL R, LANDGRAF R

Unconditioned anxiety and social behaviour in two rat lines selectively bred for high and low anxiety-related behaviour

Behav Brain Res 2000; 111:153-63

HICKEY PR

Neurologic sequelae associated with deep hypothermic circulatory arrest

Ann Thorac Surg 1998; 65:S65-9; discussion S9-70, S4-6

HINDMAN BJ, TODD MM

Improving neurologic outcome after cardiac surgery

Anesthesiology 1999; 90:1243-7

HODGES H

Maze procedures: the radial-arm and water maze compared

Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:167-81

HOSSMANN K-A, TAKAGI S

Osmolarity of brain in cerebral ischemia

Exp Neurol 1976; 51:124-31

HOVELS-GURICH HH, KONRAD K, WIESNER M, MINKENBERG R, HERPERTZ-DAHLMANN B, MESSMER BJ, VON BERNUTH G

Long term behavioural outcome after neonatal arterial switch operation for transposition of the great arteries

Arch Dis Child 2002a; 87:506-10

HOVELS-GURICH HH, SCHUMACHER K, VAZQUEZ-JIMENEZ JF, QING M, HUFFMEIER U, BUDING B, MESSMER BJ, VON BERNUTH G, SEGHAYE MC

Cytokine balance in infants undergoing cardiac operation

Ann Thorac Surg 2002b; 73:601-8; discussion 8-9

HOVELS-GURICH HH, SEGHAYE MC, DABRITZ S, MESSMER BJ, VON BERNUTH G

Cognitive and motor development in preschool and school-aged children after neonatal arterial switch operation

J Thorac Cardiovasc Surg 1997; 114:578-85

HOVELS-GURICH HH, SEGHAYE MC, SCHNITKER R, WIESNER M, HUBER W, MINKENBERG R, KOTLAREK F, MESSMER BJ, VON BERNUTH G

Long-term neurodevelopmental outcomes in school-aged children after neonatal arterial switch operation

J Thorac Cardiovasc Surg 2002c; 124:448-58

IMMER FF, BARMETTLER H, BERDAT PA, IMMER-BANSI AS, ENGLBERGER L, KRAHENBUHL ES, CARREL TP

Effects of deep hypothermic circulatory arrest on outcome after resection of ascending aortic aneurysm

Ann Thorac Surg 2002; 74:422-5

JARRARD L

Selective hippocampal lesions and behavior: implications for current research and theorizing,
In: Isaacson RL, Pibram KH (Hrsg.)

The Hippocampus

Plenum Press, New York, 1986; 4:93-126

JUNGWIRTH B, KOCHS E, MACKENSEN G

Development of a small volume oxygenator: an essential improvement to a model of cardio-pulmonary bypass in the rat

Anesth Analg 2003; SCA 72

KANETO H

Learning/memory processes under stress conditions

Behav Brain Res 1997; 83:71-4

KAVANAGH BP, LAFFEY JG

Perioperative control of CO₂

Can J Anesth 2003; 50:R1-6

KAWAGUCHI A, YAMANO M, NARITOMI H, ISHIBASHI-UEDA H, YAMATODANI A, KOIDE S

Neurological function after deep hypothermic circulatory arrest in the rat

Circulation 1998; 10:II385-9

KELLEY AE

Locomotor activity and exploration, *In: Sahgal A (Hrsg.)*

Behavioural Neuroscience: a practical approach

Oxford University Press, Oxford, 1993, 1-21

KIRKHAM FJ

Recognition and prevention of neurological complications in pediatric cardiac surgery

Pediatr Cardiol 1998; 19:331-45

KIRKLIN JW, BARRATT-BOYES BG

Hypothermia, circulatory arrest and cardiopulmonary bypass, *In: Kirklin JW, Barratt-Boyes BG (Hrsg.)*

Cardiac surgery

Churchill Livingstone, New York, 1993:66-73

KIRKLIN JK, WESTABY S, BLACKSTONE EH, KIRKLIN JW, CHENOWETH DE, PACIFICO AD

Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass

J Thorac Cardiovasc Surg 1983; 86:845-57

KOLB B, WHISHAW I

An observer's view of locomotor asymmetry in the rat

Neurobehav toxicol teratol 1985; 7:71-8

KOPP C, VOGEL E, MISSLIN R

Comparative study of emotional behavior in three inbred strains of mice

Behav Process 1999; 47:161-74

KURTH CD, PRIESTLEY M, GOLDEN J, MCCANN J, RAGHUPATHI R
Regional patterns of neuronal death after deep hypothermic circulatory arrest in newborn pigs
J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 118:1068-77

KURTH CD, STEVEN JM
Keeping a cool head
Anesthesiology 2000; 93:598-600

LANDOW L, ANDERSEN L
Splanchnic ischemia and its role in multiple organ failure
Acta Anaesthesiol Scand 1994; 38:626-39

LANIER WL
Glucose management during cardiopulmonary bypass: cardiovascular and neurologic implications
Anesth Analg 1991; 72:423-7

LAPTOOK AR, CORBETT RJ, STERETT R, BURNS DK, TOLLEFSBOL G, GARCIA D
Modest hypothermia provides partial neuroprotection for ischemic neonatal brain
Pediatr Res 1994; 35:436-42

LIMPEROPOULOS C, MAJNEMER A, SHEVELL MI, ROHLICEK C, ROSENBLATT B, TCHERVENKOV C, DARWISH HZ
Predictors of developmental disabilities after open heart surgery in young children with congenital heart defects
J Pediatr 2002; 141:51-8

LINDNER MD, PLONE MA, SCHALLERT T, EMERICH DF
Blind rats are not profoundly impaired in the reference memory Morris water maze and cannot be clearly discriminated from rats with cognitive deficits in the cued platform task
Brain Res Cogn Brain Res 1997; 5:329-33

LISTER RG
The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse
Psychopharmacology (Berl) 1987; 92:180-5

LYETH BG, JIANG JY, LIU S
Behavioral protection by moderate hypothermia initiated after experimental traumatic brain injury
J Neurotrauma 1993; 10:57-64

MACKENSEN G, GROCOTT H, PINEDA J, NEWMAN M, WARNER D
Cardiopulmonary bypass in the rat: the differential effects of hematocrit on tissue water content.
Anesthesiology 1999; 91:A-724

MACKENSEN GB, GELB AW
Postoperative cognitive deficits: more questions than answers
Eur J Anaesthesiol 2004; 21:85-8

MACKENSEN GB, SATO Y, NELLGARD B, PINEDA J, NEWMAN MF, WARNER DS, GROCOTT HP

Cardiopulmonary bypass induces neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat
Anesthesiology 2001; 95:1485-91.

MACMANUS J, LINNIK M

Gene expression induced by cerebral ischemia: an apoptotic perspective
J Cereb Blood Flow Metab 1997; 17:815-32

MACPHAIL EM

Cognitive function in mammals: the evolutionary perspective
Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:279-90

MARCANTONIO E, JUAREZ G, GOLDMAN L, MANGIONE C, LUDWIG L, LIND L, KATZ N, COOK E, ORAV J, LEE T

The relationship of postoperative delirium with psychoactive medications
JAMA 1994; 272:1518-22

MARCANTONIO ER, FLACKER JM, WRIGHT RJ, RESNICK NM

Reducing delirium after hip fracture: a randomized trial
J Am Geriatr Soc 2001; 49:516-22

MARTIN TD, CRAVER JM, GOTT JP, WEINTRAUB WS, RAMSAY J, MORA CT, GUYTON RA

Prospective, randomized trial of retrograde warm blood cardioplegia: myocardial benefit and neurologic threat
Ann Thorac Surg 1994; 57:298-302

MAULT JR, OHTAKE S, KLINGENSMITH ME, HEINLE JS, GREELEY WJ, UNGERLEIDER RM

Cerebral metabolism and circulatory arrest: effects of duration and strategies for protection
Ann Thorac Surg 1993; 55:57-63

MAYEUX R, STERN Y, ROSEN J, LEVENTHAL J

Depression, intellectual impairment, and Parkinson disease
Neurology 1981; 31:645-50

MCDONALD RJ, WHITE NM

Information acquired by the hippocampus interferes with acquisition of the amygdala-based conditioned-cue preference in the rat
Hippocampus 1995; 5:189-97

MCEWEN BS, SAPOLSKY RM

Stress and cognitive function
Curr Opin Neurobiol 1995; 5:205-16

MCINTYRE CK, MARRIOTT LK, GOLD PE

Cooperation between memory systems: acetylcholine release in the amygdala correlates positively with performance on a hippocampus-dependent task
Behav Neurosci 2003; 117:320-6

MCNAY EC, GOLD PE

Memory modulation across neural systems: intra-amygdala glucose reverses deficits caused by intraseptal morphine on a spatial task but not on an aversive task
J Neurosci 1998; 18:3853-8

MENDLER N, WEISHAAR E, BRENDEL W

Eine Herz-Lungen-Maschine fuer Ratten als experimentelles Modell der extracorporalen Zirkulation
Thoraxchirurgie 1969; 17:534-8

MICHENFELDER J, MILDE J

The relationship among canine brain temperature, metabolism, and function during hypothermia
Anesthesiology 1991; 75:130-6

MOLLER JT, CLUITMANS P, RASMUSSEN LS, HOUX P, RASMUSSEN H, CANET J, RABBITT P, JOLLES J, LARSEN K, HANNING CD, LANGERON O, JOHNSON T, LAUVEN PM, KRISTENSEN PA, BIEDLER A, VAN BEEM H, FRAIDAKIS O, SILVERSTEIN JH, BENEKEN JE, GRAVENSTEIN JS

Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly ISPOCD1 study. ISPOCD investigators. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction
Lancet 1998; 351:857-61

MONCADA S, HIGGS A

The L-arginine-nitric oxide pathway
N Engl J Med 1993; 329:2002-12

MORRIS R

Developments of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat
J Neurosci meth 1984; 11:47-60

MURKIN JM, MARTZKE JS, BUCHAN AM, BENTLEY C, WONG CJ

A randomized study of the influence of perfusion technique and pH management strategy in 316 patients undergoing coronary artery bypass surgery. I. Mortality and cardiovascular morbidity
J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 110:340-8

MUTH C, SHANK E

Primary care: gas embolism
N Engl J Med 2000; 342:476-82

MYUNG RJ, KIRSHBOM PM, PETKO M, GOLDEN JA, JUDKINS AR, ITTENBACH RF, SPRAY TL, GAYNOR JW

Modified ultrafiltration may not improve neurologic outcome following deep hypothermic circulatory arrest
Eur J Cardiothorac Surg 2003; 24:243-8

NAKATOMI H, KURIU T, OKABE S, YAMAMOTO S, HATANO O, KAWAHARA N, TAMURA A, KIRINO T, NAKAFUKU M

Regeneration of hippocampal pyramidal neurons after ischemic brain injury by recruitment of endogenous neural progenitors
Cell 2002; 110:429-41

NEWBURGER JW, JONAS RA, WERNOVSKY G, WYPIJ D, HICKEY PR, KUBAN KC, FARRELL DM, HOLMES GL, HELMERS SL, CONSTANTINOU J, ET AL.
A comparison of the perioperative neurologic effects of hypothermic circulatory arrest versus low-flow cardiopulmonary bypass in infant heart surgery
N Engl J Med 1993; 329:1057-64

NEWMAN MF, GROCOTT HP, MATHEW JP, WHITE WD, LANDOLFO K, REVES JG, LASKOWITZ DT, MARK DB, BLUMENTHAL JA
Report of the substudy assessing the impact of neurocognitive function on quality of life 5 years after cardiac surgery
Stroke 2001a; 32:2874-81

NEWMAN MF, KIRCHNER JL, PHILLIPS-BUTE B, GAVER, GROCOTT H, JONES RH, MARK DB, REVES JG, BLUMENTHAL JA
Longitudinal assessment of neurocognitive function after coronary- artery bypass surgery
N Engl J Med 2001b; 344:395-402

NEWMAN MF, LASKOWITZ DT, SAUNDERS AF, GRIGORE AM, GROCOTT HP
Genetic predictors of perioperative neurologic and neuropsychological injury and recovery
Sem Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 3:34-46

NOLLERT G, NAGASHIMA M, BUCERIUS J, SHIN'OKA T, JONAS RA
Oxygenation strategy and neurologic damage after deep hypothermic circulatory arrest. I. Gaseous microemboli
J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 117:1166-71

O'KEEFE S, NI CHONCHUBHAIR A
Postoperative delirium in the elderly
Br J Anaesth 1994; 73:673-87

OATES RK, SIMPSON JM, TURNBULL JA, CARTMILL TB
The relationship between intelligence and duration of circulatory arrest with deep hypothermia
J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 110:786-92

OECD
Brain maps, Inner structure of the human brain
Online im Internet: URL: < <http://www.OECD.org/document/22> > (Abfrage 01.06.2004)

OHL F
Testing for anxiety
Clin Neurosci Res 2003; 3:233-238

OHL F, FUCHS E
Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew
Brain Res Cogn Brain Res 1999; 7:379-87

- OHL F, HOLSBOER F, LANDGRAF R
The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents
Behav Res Meth Instrum Comput 2001a; 33:392-7
- OHL F, OITZL MS, FUCHS E
Assessing cognitive functions in tree shrews: visuo-spatial and spatial learning in the home cage
J Neurosci Meth 1998; 81:35-40
- OHL F, TOSCHI N, WIGGER A, HENNIGER MS, LANDGRAF R
Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety
Behav Neurosci 2001b; 115:429-36
- OHLSSON AL, JOHANSSON BB
Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats
Stroke 1995; 26:644-9
- OLESEN PJ, WESTERBERG H, KLINGBERG T
Increased prefrontal and parietal activity after training of working memory
Nat Neurosci 2004; 7:75-9
- OLTON D, BECKER J, HANDELMAN G
Hippocampal function: working memory or cognitive mapping
Physiol Psychol 1980; 8:239-46
- OLTON DS
Frontal cortex, timing and memory
Neuropsychologia 1989; 27:121-30
- OTTER MH, MATTO V, SOUKAND R, SKREBUHHOVA T, ALLIKMETS L, HARRO J
Characterization of rat exploratory behavior using the exploration box test
Meth Find Exp Clin Pharmacol 1997; 19:683-91
- PALMER RM, ASHTON DS, MONCADA S
Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine
Nature 1988; 333:664-6
- PAPARELLA D, YAU T, YOUNG E
Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. an update
Eur J Cardiothorac Surg 2002; 21:232-44
- PEARSON DT, HOLDEN MP, POSLAD SJ, MURRAY A, WATERHOUSE PS
A clinical evaluation of the performance characteristics of one membrane and five bubble oxygenators: gas transfer and gaseous microemboli production
Perfusion 1986; 1:15-26
- PETERSON LR, PETERSON MJ
Short-term retention of individual verbal items
J Exp Psychol 1959; 58:193-8
- PRIESTLEY MA, GOLDEN JA, O'HARA IB, MCCANN J, KURTH CD

Comparison of neurologic outcome after deep hypothermic circulatory arrest with alpha-stat and pH-stat cardiopulmonary bypass in newborn pigs
J Thorac Cardiovasc Surg 2001; 121:336-43

PRUT L, BELZUNG C

The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review
Eur J Pharmacol 2003; 463:3-33

PUA HL, BISSONNETTE B

Cerebral physiology in paediatric cardiopulmonary bypass
Can J Anaesth 1998; 45:960-78

PUGSLEY W, KLINGER L, PASCHALIS C, ASPEY B, NEWMAN S, HARRISON M, TREASURE T

Microemboli and cerebral impairment during cardiac surgery
Vasc Surg 1990; 24:34-43

PUGSLEY W, KLINGER L, PASCHALIS C, TREASURE T, HARRISON M, NEWMAN S
The impact of microemboli during cardiopulmonary bypass on neuropsychological functioning

Stroke 1994; 25:1393-9

RANDT C, BROWN E, OSBORNE D

A memory test for longitudinal measurement of mild to moderate deficits
Clin Neuropsychol 1980; 4:184-94

REASONER D, HINDMAN B, DEXTER F, SUBIETA A, CUTKOMP J, SMITH T

Doxycycline reduces early neurologic impairment after cerebral arterial air embolism in the rabbit
Anaesthesiology 1997; 87:569-76

REGLODI D, TAMAS A, LENGVARI I

Examination of sensorimotor performance following middle cerebral artery occlusion in rats
Brain Res Bull 2003; 59:459-66

REITAN R

Validity of the trail making test as an indicator of organic brain damage
Percept Mot Skills 1958; 8:271-6

RICHTER-LEVIN G, AKIRAV I

Emotional tagging of memory formation-in the search for neural mechanisms
Brain Res Brain Res Rev 2003; 43:247-56

ROACH G, KANCHUGER M, MORA MANGANO C, NEWMAN M

Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery
N Engl J Med 1996; 335:1857-63

RODGERS R, CAO B, DALVI A, HOLMES A

Animal model of anxiety: an ethological perspective
Braz J Med Biol Res 1997; 30:289-304

ROGERS M, LIANG M, DALTROY L, EATON H, PETEET J, WRIGHT E, ALBERT M
Delirium after elective orthopedic surgery: risk factors and natural history.
Int J Psych Med 1989; 19:109-21

SAMBRAUS H

Normalverhalten und Verhaltensstörungen, *In*: Sambraus HH, Steiger A (Hrsg.)
Das Buch vom Tierschutz
Enke Verlag, Stuttgart, 1997; 57-69

SANCHEZ-SANTED F, DE BRUIN JP, HEINSBROEK RP, VERWER RW

Spatial delayed alternation of rats in a T-maze: effects of neurotoxic lesions of the medial prefrontal cortex and of T-maze rotations
Behav Brain Res 1997; 84:73-9

SCHALLER B, GRAF R

Hypothermia and stroke: the pathophysiological background
Pathophysiology 2003; 10:7-35

SCHUBERT A

Should mild hypothermia be routinely used for human cerebral protection? The flip side
J Neurosurg Anesthesiol 1992; 4:216-20

SELNES OA, GOLDSBOROUGH MA, BOROWICZ LM, MCKHANN GM

Neurobehavioural sequelae of cardiopulmonary bypass
Lancet 1999; 353:1601-6

SHARMA R, CHOUDHARY SK, MOHAN MR, PADMA MV, JAIN S, BHARDWAJ M, BHAN A, KIRAN U, SAXENA N, VENUGOPAL P

Neurological evaluation and intelligence testing in the child with operated congenital heart disease
Ann Thorac Surg 2000; 70:575-81

SHIN'OKA T, SHUM-TIM D, JONAS RA, LIDOV HG, LAUSSEN PC, MIURA T, DU PLESSIS A

Higher hematocrit improves cerebral outcome after deep hypothermic circulatory arrest
J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 112:1610-20; discussion 20-1

SMALL GW, RABINS PV, BARRY PP, BUCKHOLTZ NS, DEKOSKY ST, FERRIS SH, FINKEL SI, GWYTHYER LP, KHACHATURIAN ZS, LEBOWITZ BD, MCRAE TD, MORRIS JC, OAKLEY F, SCHNEIDER LS, STREIM JE, SUNDERLAND T, TERI LA, TUNE LE

Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society
JAMA 1997; 278:1363-71

SOBLOSKY JS, MATTHEWS MA, DAVIDSON JF, TABOR SL, CAREY ME

Traumatic brain injury of the forelimb and hindlimb sensorimotor areas in the rat: Physiological, histological and behavioral correlates
Behav Brain Res 1996; 79:79-92

SQUIRE LR

Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans
Psychol Rev 1992; 99:195-231

SQUIRE LR

Memory systems
C R Acad Sci III 1998; 321:153-6

SQUIRE LR, ZOLA SM

Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems
Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13515-22

SQUIRE LR, ZOLA SM

Episodic memory, semantic memory, and amnesia
Hippocampus 1998; 8:205-11

STECKLER T, MUIR JL

Measurement of cognitive function: relating rodent performance with human minds
Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:299-308

SUNGURTEKIN H, COOK DJ, ORSZULAK TA, DALY RC, MULLANY CJ

Cerebral response to hemodilution during hypothermic cardiopulmonary bypass in adults
Anesth Analg 1999; 89:1078-83

SWIRCZEK S

Beeinflusst die EKZ neurokognitive Leistungen und den neurologischen Status? Untersuchungen am EKZ-Modell an der Ratte
Vet Med Diss, 2005 (in Bearbeitung)

SYLIVRIS S, LEVI C, MATALANIS G, ROSALION A, BUXTON BF, MITCHELL A, FITT G, HARBERTS DB, SALING MM, TONKIN AM

Pattern and significance of cerebral microemboli during coronary artery bypass grafting
Ann Thorac Surg 1998; 66:1674-8

TARDIFF BE, NEWMAN MF, SAUNDERS AM, STRITTMATTER WJ, BLUMENTHAL JA, WHITE WD, CROUGHWELL ND, DAVIS RD, JR., ROSES AD, REVES JG

Preliminary report of a genetic basis for cognitive decline after cardiac operations. The Neurologic Outcome Research Group of the Duke Heart Center
Ann Thorac Surg 1997; 64:715-20

TAYLOR KM

Brain damage during cardiopulmonary bypass
Ann Thorac Surg 1998a; 65:S20-6; discussion S7-8

TAYLOR KM

Central nervous system effects of cardiopulmonary bypass
Ann Thorac Surg 1998b; 66:S20-4; discussion S5-8

THE AMERICAN HEART ASSOCIATION ICWTILCOR

Guidelines 2000 for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. International consensus on science
Resuscitation 2000; 46:1-447

TIL, MACKENSEN G, GROCOTT H, PHILLIPS-BUTE B, MATHEW J
Apolipoprotein E4 increases atheroma burden in cardiac surgical patients
Anesthesiology, 2000; A-401

TO CT, BAGDY G
Anxiogenic effect of central CCK administration is attenuated by chronic fluoxetine or ipsapirone treatment
Neuropharmacology 1999; 38:279-82

TULVING E, MARKOWITSCH HJ
Episodic and declarative memory: role of the hippocampus
Hippocampus 1998; 8:198-204

TUPPER DE, WALLACE RB
Utility of the neurological examination in rats
Acta Neurobiol Exp (Wars) 1980; 40:999-1003

UNGERLEIDER RM, GAYNOR JW
The Boston Circulatory Arrest Study: an analysis
J Thorac Cardiovasc Surg 2004; 127:1256-61

VAN WERMESKERKEN G, LARDENOYE J, HILL S, GROCOTT H, PHILLIPS-BUTE B, SMITH P, REVES J, NEWMAN M
Intraoperative physiologic variables and outcome in cardiac surgery: part II. Neurologic outcome
Ann Thorac Surg 2000; 69:1077-83

VERTES RP
Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat
Synapse 2004; 51:32-58

WARNER DS, GIONET TX, TODD MM, MCALLISTER A
Insulin-induced normoglycemia improves ischemic outcome in hyperglycemic rats
Stroke 1992; 22:1775-81

WASS C, LANIER W, HOFER R, SCHEITHAUER B, ANDREWS A
Temperature changes of $\geq 1^{\circ}\text{C}$ alter functional neurologic outcome and histopathology in a canine model of complete cerebral ischemia
Anesthesiology 1995; 83:325-35

WECHSLER D
The Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (Manual), *In*: Wechsler D (Hrsg.)
Psychological Corporation, New York, 1981

WHISHAW I, HAUN F, KOLB B
Analysis of behavior in laboratory rodents, *In*: Windhorst U, Johansson H (Hrsg.)
Modern Techniques in Neuroscience, Springer-Verlag, Berlin, 1999:1243-75

WHITE F

A comparative physiological approach to hypothermia

J Thorac Cardiovasc Surg 1981; 82:821-31

WHITE NM, MCDONALD RJ

Acquisition of a spatial conditioned place preference is impaired by amygdala lesions and improved by fornix lesions

Behav Brain Res 1993; 55:269-81

WHITE NM, MCDONALD RJ

Multiple parallel memory systems in the brain of the rat

Neurobiol Learn Mem 2002; 77:125-84

WOLMAN RL, NUSSMEIER NA, AGGARWAL A, KANCHUGER MS, ROACH GW, NEWMAN MF, MANGANO CM, MARSCHALL KE, LEY C, BOISVERT DM, OZANNE GM, HERSKOWITZ A, GRAHAM SH, MANGANO DT

Cerebral injury after cardiac surgery : identification of a group at extraordinary risk

Stroke 1999; 30:514-22

WYPIJ D, NEWBURGER JW, RAPPAPORT LA, DUPLESSIS AJ, JONAS RA, WERNOVSKY G, LIN M, BELLINGER DC

The effect of duration of deep hypothermic circulatory arrest in infant heart surgery on late neurodevelopment: the Boston Circulatory Arrest Trial

J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126:1397-403

ZAUSINGER S, HUNGERHUBER E, BAETHMANN A, REULEN H, SCHMID-ELSAESSER R

Neurological impairment in rats after transient middle cerebral artery occlusion: a comparative study under various treatment paradigms

Brain Res 2000; 863:94-105

ZHU L, FRATIGLIONI L, GUO Z, AGUERO-TORRES H, WINBLAD B, VIITANEN M

Association of stroke with dementia, cognitive impairment, and functional disability in the very old: a population-based study

Stroke 1998; 29:2094-9

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bewertungsschema der sensorischen Funktionen.....	46
Tabelle 2: Bewertungsschema der motorischen Funktionen.....	52
Tabelle 3: Postoperative Versuchsdurchführung des mHB-Tests.....	60
Tabelle 4: Bewertungsschema der kognitiven Funktion im mHB-Test.....	62
Tabelle 5: Bewertungsschema des Verhaltens im mHB-Test.....	64
Tabelle 6: Physiologische Parameter während der operativen Phase von sechs Gruppen mit steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten (min DHCA).....	69
Tabelle 7: Gruppeneinteilung: Gruppeneinteilung und Bezeichnung der Versuchstiere während der postoperativ fortgeführten Verhaltensuntersuchung.....	74
Tabelle 8: Körpergewicht von vier Gruppen.....	75
Tabelle 9: Neurologische Parameter für Gleichgewicht im Balkentest: Beam-Walking- und Beam-Balance-Test	77
Tabelle 10: Neurologische Parameter für Greif- und Haltevermögen: Greif-Zug- und Drahtgitter-Test	80
Tabelle 11: Kognitive Parameter: Gesamtzeit (Time Complete, TC), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices), wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices).....	82
Tabelle 12: Verhaltensparameter für Angstverhalten: auf dem Board verbrachte Gesamtzeit (Time on Board), Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board), Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries).....	87
Tabelle 13: Verhaltensparameter für Angst und Allgemeinbefinden: Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility)	89
Tabelle 14: Verhaltensparameter für Soziale Affinität: Kontaktaufnahme mit der Gruppe (Group Contact).....	91
Tabelle 15: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit), Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited) und ungerichtete Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)	92
Tabelle 16: Verhaltensparameter für Erregung: Anzahl an Kotbällchen (Boli) und Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming).....	94
Tabelle 17: Verhaltensparameter für Lokomotion: Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings).....	97
Tabelle 18: Histologische Bewertung der verschiedenen Gehirnregionen	99

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Taxonomie des Langzeitgedächtnisses mit neuronalen Korrelaten (modifiziert nach SQUIRE, 1998).....	3
Abbildung 2: Seriell-Parallel-Unabhängig (SPI) -Modell des deklarativen Gedächtnisses (modifiziert nach TULVING und MARKOWITSCH, 1998).	4
Abbildung 3: Illustration des aktuellen Multikomponenten Modells des Arbeitsgedächtnisses (modifiziert nach BADDELEY, 2003a).....	6
Abbildung 4: räumliche Illustration wichtiger Strukturen des menschlichen Gehirns (modifiziert nach OECD: Brain Maps, Inner structure of the human brain, Online im Internet: URL: < http://www.OECD.org/document/22 > (Abfrage 01.06.2004)).	7
Abbildung 5: Schema der am Lernen beteiligten Gedächtnisprozesse (modifiziert nach D`MELLO und STECKLER, 1996).....	10
Abbildung 6: Schema der am Lernen beteiligten Kognitions- und Verhaltensprozesse (modifiziert nach D`MELLO und STECKLER, 1996).	11
Abbildung 7: Schema der Autoregulation des zerebralen Blutflusses (modifiziert nach TAYLOR, 1998a).	20
Abbildung 8: Versuchsplan mit schematischem Überblick über die einzelnen Versuchsphasen.	33
Abbildung 9: schematischer Zeit- und Temperaturverlauf der einzelnen Operationsphasen mit Narkosemonitoring und Blutentnahmen zu definierten Messzeitpunkten.	34
Abbildung 10: Herz-Lungen-Maschine mit venösem Reservoir, Rollerpumpe, Membranoxygenator, Flowmeter und verbindenden Silikonschläuchen.....	38
Abbildung 11: Extrakorporale Zirkulation bei der Ratte mit der Herz-Lungen-Maschine.....	39
Abbildung 12: Membranoxygenator mit integrierter Wärmetauscherfunktion.	41
Abbildung 13: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Beam-Walking-Test.....	48
Abbildung 14: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Beam-Balance-Test mit Messung der Balancezeit.	49
Abbildung 15: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Drahtgitter-Test in 90° Position.	50
Abbildung 16: Beispiel einer nicht geschädigten Ratte beim Greif-Zug-Test.....	51
Abbildung 17: Versuchskäfig mit Tierabteil und modifiziertem Hole-Board in der Versuchsarena.....	53
Abbildung 18: modifiziertes Hole-Board exemplarisch zerlegt in Feder, Schraube und Deckel.	55
Abbildung 19: schematische Darstellung des mHB mit Nummerierung der Löcher in der Versuchsarena.....	56
Abbildung 20: Vorbereiten des modifizierten Hole-Boards mit Puffreis in markierten Löchern.....	57
Abbildung 21: Arbeitsplatz mit Computer, Tastatur und Kamera über der Versuchsarena. ...	60
Abbildung 22: Illustration der Dosis-Wirkungsbeziehung ($MW \pm 95 \% KI$) von tief hypothermer Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit (min)) und Überleben nach steigenden DHCA-Zeiten (Überleben nach 14 postoperativen Tagen (%)).	73
Abbildung 23: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) des Körpergewichts (Gewicht (g)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	76
Abbildung 24: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Balancezeit (s) beim Beam-Balance-Test zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	78

Abbildung 25: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Fehlritte pro Distanz (Anzahl pro m) beim Beam-Walking-Test zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	79
Abbildung 26: Illustration der Dosis-Wirkungsbeziehung (MW ± 95 % KI) von tief hypothermer Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit (min)) und neurologischer Funktion nach steigenden DHCA-Zeiten (Überleben ohne neurologisches Defizit (%)).	81
Abbildung 27: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Gesamtzeit eines Durchlaufes (Time Complete, TC (s)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	83
Abbildung 28: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl falsch besuchter Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	84
Abbildung 29: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	85
Abbildung 30: Illustration der Dosis-Wirkungsbeziehung (MW± 95 % KI) von tief hypothermer Kreislaufstillstandzeit (DHCA-Zeit (min)) und kognitiver Funktion nach steigenden DHCA-Zeiten (Überleben ohne kognitives Defizit (%)).	86
Abbildung 31: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% TC)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	90
Abbildung 32: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit (s)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	93
Abbildung 33: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl an Kotbällchen pro Durchlauf (Boli (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	95
Abbildung 34:) Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming (% TC)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	96
Abbildung 35: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings (Anzahl pro min)) zu definierten postoperativen Tagen aller vier Gruppen.	98
Abbildung 36: Illustration der Korrelation von histologischer und zentralnervöser Gesamtpunktezahl aller 24 Tiere nach steigenden tief hypothermen Kreislaufstillstandzeiten. Korrelationskoeffizient $r = 0,51$	101

10 Abkürzungsverzeichnis

P _{et}	endtidaler Druck
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
M.	Musculus
µl	Mikroliter
Vol%	Volumen Prozent
O ₂	Sauerstoff
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
ml	Milliliter
µg	Mikrogramm
A.	Arteria
V.	Vena
cm	Zentimeter
mm	Millimeter
ca.	circa
g	Gramm
kg	Kilogramm
mg	Milligramm
i.v.	intravenös
°C	Grad Celsius
SAP	systolischer arterieller Blutdruck
DAP	diastolischer arterieller Blutdruck
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
PE	Polyethylen
bzw.	beziehungsweise
d.h.	das heißt
s	Sekunde
min	Minute
h	Stunde
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoff Konzentration
PaO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PaCO ₂	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pH-Wert	Wasserstoffionen-Wert
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
HLM	Herz-Lungen-Maschine
DHCA	tief hypothermer Kreislaufstillstand
BE	Basenüberschuss
KGW	Körpergewicht
BW	Body Weight
RPM	Umdrehungen pro Minute
∅	Durchschnitt
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
KI	Konfidenzintervall
mHB	modifiziertes Hole-Board
TC	Time Complete

11 Danksagungen

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. Erhard danke ich für die Übernahme der Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher, Direktor des Instituts für experimentelle Onkologie und Therapieforschung der TU München, möchte ich mich dafür bedanken, dass es möglich war, die Arbeit an diesem Institut durchzuführen.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dipl. Phys. E. Kochs, Direktor der Klinik für Anaesthesiologie der TU München, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Mein großer Dank gilt zugleich Herrn Univ.-Prof. Dr. med. M. Blobner, Oberarzt der Klinik für Anaesthesiologie der TU München, für die Überlassung des Themas und die stets vorhandene Bereitschaft zur hilfreichen Diskussion.

Zudem möchte ich mich besonders bei Herrn Prof. Dr. med. W. Erhardt für die Durchsicht des Manuskripts und die jederzeit freundliche und geduldige Beratung bedanken.

Ein herzlicher Dank gilt Frau Dr. med. Bettina Jungwirth, Ärztin in der Klinik für Anaesthesiologie der TU-München, für die freundliche Unterstützung und Durchsicht der Arbeit.

Den Kolleginnen der Forschungsgruppe „Kognition und Verhalten“ in der Klinik für Anaesthesiologie der TU München Frau Dr. med. Barbara Eckel, Frau Anja Berkmann, Frau Susanne Swirczek und Frau Steffi Ruf danke ich für Ihre entscheidende Hilfe und Beratung.

Vielen Dank an Frau Doris Droese, Frau Anne Frye und Frau Dr. med. Lucia Gordan für ihre große Hilfe, ebenso an Frau Dr. med. vet. Kristine Kellermann, Frau Dr. med. Heidrun Fink, Frau Dr. Katja Freitag und Frau Kirsten Meßmer.

Bei den Tierpflegerinnen und Tierpflegern möchte ich mich sehr für die stets reibungslose Zusammenarbeit bei der verantwortungsvollen Pflege der Tiere bedanken.

Ein großer Dank gebührt auch Herrn Günther Gürtner und Herrn Sepp Straßmair für die freundliche und geduldige Hilfe bei der Gestaltung und Entwicklung der Versuchskäfige.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meiner Familie, Rupert, Michi, Felix und meinen Freunden für ihre großartige Unterstützung.