

**DER EINFLUSS VON HYPERVENTILATION
AUF DIE KOGNITIVEN LEISTUNGEN, DIE NEUROLOGISCH-MOTORISCHEN
FÄHIGKEITEN UND DEN HISTOLOGISCHEN SCHADEN
NACH EINEM KONTROLLIERTEN ZEREBRALEN TRAUMA BEI DER RATTE**

Inaugural-Dissertation von

Stephanie Ruf

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
Prof. Dr. med. M. Blobner

vorgelegt über das
Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. med. vet. M. Erhard)

**DER EINFLUSS VON HYPERVENTILATION
AUF DIE KOGNITIVEN LEISTUNGEN,
DIE NEUROLOGISCH-MOTORISCHEN FÄHIGKEITEN
UND DEN HISTOLOGISCHEN SCHADEN
NACH EINEM KONTROLLIERTEN ZEREBRALEN TRAUMA BEI DER RATTE**

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

von
Stephanie Ruf
aus Neustadt a. d. Waldnaab
München, 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent: Univ.-Prof. Dr. M. H. Erhard
1. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. C. Poulsen Nautrup
2. Korreferent: Priv.-Doz. Dr. B. Schalch
3. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. J. Peters
4. Korreferent: Priv.-Doz. Dr. R. S. Müller

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

Für meine Familie

***“The Most Complex Injury to the
most Complex Organ of the Body”***

INHALTSVERZEICHNIS:

1	EINLEITUNG	1
2	SCHRIFTTUM	3
2.1	Grundlagen der Physiologie des Gehirns	3
2.1.1	Anatomischer und funktioneller Aufbau des Gehirns	3
2.1.2	Blutversorgung und Stoffwechsel des Gehirns	3
2.1.3	Kognition und Verhalten	5
2.1.3.1	Neuronale Grundlagen	5
2.1.3.2	Lern- und Gedächtnisprozesse	8
2.1.3.2.1	Gedächtnisspeicher	8
2.1.3.2.2	Gedächtnisleistungen	9
2.1.3.2.3	Räumliches Gedächtnis	14
2.2	Schädel-Hirn-Trauma	16
2.2.1	Folgeschäden des Schädel-Hirn-Traumas	16
2.2.2	Bewertung des Schädel-Hirn-Traumas	17
2.2.3	Pathomechanismen nach Schädel-Hirn-Trauma	17
2.2.4	Schädel-Hirn-Trauma im Tiermodell	20
2.2.4.1	Trägheitsbeschleunigung (<i>Inertial acceleration</i>)	21
2.2.4.2	Fallgewicht (<i>Weight drop</i>)	21
2.2.4.3	Kompression durch Flüssigkeit (<i>Fluid percussion</i>)	21
2.2.4.4	Kontrollierte traumatische Hirnrindenkontusion (<i>Controlled Cortical Impact</i>) ...	22
2.3	Therapie des Schädel-Hirn-Traumas: Die Hyperventilation	24
2.3.1	Stoffwechselveränderungen	25
2.3.2	Neuroprotektive Wirkungen	26
2.3.2.1	Regulation des zerebralen Blutflusses	26
2.3.2.2	Senkung des intrakraniellen Drucks (ICP)	27
2.3.2.3	Ausgleich der metabolischen Azidose	28
2.3.3	Unerwünschte Wirkungen	28
2.4	Neurokognitive, -motorische und histologische Evaluierung des posttraumatischen Schadens	32
2.4.1	Verhaltenstest	32
2.4.1.1	Definition von Verhaltenstests	32
2.4.1.2	Funktion von Verhaltenstests	33
2.4.1.3	Beispiele gebräuchlicher Verhaltenstests	34
2.4.1.4	Eignung des Verhaltenstests zur Evaluierung des Traumas	43
2.4.2	Histologie	45
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	47
3.1	Zielvorstellungen	47
3.2	Material und Methoden	49
3.2.1	Versuchstiere	49
3.2.1.1	Untersuchungsgut	49
3.2.1.2	Allgemeine Haltungsbedingungen	49
3.2.1.3	Haltungsbedingungen während des Versuchs	49

3.2.2	Versuchsablauf.....	51
3.2.3	Operation.....	52
3.2.3.1	Operationsablauf.....	52
3.2.3.2	Narkose.....	53
3.2.3.3	Präparation.....	53
3.2.3.4	Messung der Ausgangswerte.....	55
3.2.3.5	Induktion des Schädel-Hirn-Traumas.....	56
3.2.3.6	Nachbeatmungsphase: Normoventilation/Hyperventilation.....	57
3.2.4	Verhaltenstests.....	59
3.2.4.1	Der modifizierte Hole-Board-Test nach OHL.....	59
3.2.4.1.1	Versuchsplan.....	59
3.2.4.1.2	Versuchsvorbereitung.....	59
3.2.4.1.3	Versuchsdurchführung.....	62
3.2.4.1.4	Untersuchte Parameter im modifizierten Hole-Board-Protokoll.....	67
3.2.4.2	Neurologisch-motorische Tests.....	73
3.2.4.2.1	Versuchsplan.....	73
3.2.4.2.2	Versuchsvorbereitung.....	73
3.2.4.2.3	Versuchsdurchführung.....	75
3.2.4.2.4	Untersuchte Parameter bei den neurologisch-motorischen Tests.....	77
3.2.5	Ex-Vivo Untersuchung.....	78
3.2.5.1	Verarbeitung des Gewebes zur histologischen Untersuchung.....	78
3.2.5.1.1	Euthanasie, Perfusion, Entnahme und Tiefgefrieren des Gehirns.....	78
3.2.5.1.2	Herstellung der Gehirnschnitte für die histologische Untersuchung.....	78
3.2.5.2	Histologische Untersuchung des Gehirns.....	79
3.2.5.2.1	Kresylviolett-Färbung.....	79
3.2.5.2.2	Mikroskopische Untersuchung.....	80
3.3	Statistische Berechnungen und Dokumentation.....	81
3.4	Ergebnisse.....	82
3.4.1	Untersuchungsgut und Tierverlust.....	82
3.4.2	Physiologische Parameter.....	82
3.4.3	Im modifizierten Hole-Board-Test nach OHL erhobene Parameter.....	84
3.4.3.1	Gedächtnisparameter.....	85
3.4.3.2	Explorations- und Motivationsparameter.....	89
3.4.3.3	Angstbezogene Parameter.....	99
3.4.3.4	Das Allgemeinbefinden betreffende Parameter.....	107
3.4.4	Neurologisch-motorische Parameter.....	110
3.4.4.1	Einzelsscore.....	110
3.4.4.2	Absolutwerte.....	113
3.4.4.3	Gesamtscore.....	119
3.4.5	Histologische Parameter.....	121
4	DISKUSSION.....	125
4.1	Diskussion der Methoden.....	125
4.1.1	Modell des <i>Controlled Cortical Impact</i>.....	125
4.1.2	Verhaltenstests.....	127
4.1.2.1	Modifizierter Hole-Board-Test nach OHL.....	128
4.1.2.2	Neurologisch-motorische Tests.....	132

4.1.3	Histologische Auswertung.....	135
4.2	Diskussion der Ergebnisse	136
4.2.1	Untersuchungsgut und Tierverlust.....	136
4.2.2	Physiologische Parameter während der Operation	136
4.2.3	Modifizierter Hole-Board-Test nach OHL.....	138
4.2.3.1	Gedächtnisparameter.....	138
4.2.3.2	Explorations- und Motivationsparameter.....	141
4.2.3.3	Angstbezogene Parameter	143
4.2.3.4	Das Allgemeinbefinden betreffende Parameter.....	145
4.2.4	Neurologisch-motorische Parameter	146
4.2.4.1	Einzelsscore.....	146
4.2.4.2	Absolutwerte.....	148
4.2.4.3	Gesamtscore.....	149
4.2.5	Histologische Parameter	151
4.3	Abschlussbetrachtung	153
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	155
6	SUMMARY	156
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	157
8	TABELLENVERZEICHNIS.....	172
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	175
10	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	178
11	DANKSAGUNG.....	179

1 EINLEITUNG

Das Schädel-Hirn-Trauma (SHT) gehört zu den häufigsten Folgeerscheinungen von Unfällen im Straßenverkehr, nach einem Sturz oder durch sonstige Gewalteinwirkung. Exakte Daten über Häufigkeit, Schwere und Ursache gibt es nicht. Man weiß jedoch durch Erhebungen des Statistischen Bundesamts Wiesbaden, dass 1993 in Deutschland knapp 280.000 Menschen ein SHT erlitten. Meist sind Kinder und junge Erwachsene bis zu einem Alter von 24 Lebensjahren betroffen, davon sind 75 % Männer (STRIEBEL 2003). Insgesamt verstarben 10.000 Patienten und fast 5000 Patienten blieben schwerst behindert und sind auf lebenslange Pflege angewiesen (STATISTISCHES BUNDESAMT 1993).

Die Schädigung des Gehirns entscheidet nach der akuten Stabilisierung des Kreislaufs und der Vitalfunktionen über das weitere (Über-)Leben und die neurologischen Ausfälle der Betroffenen. Klinisch gesehen, bestehen diese Ausfälle aus motorischen Behinderungen, Sprachstörungen und kognitiven Defiziten. Etwa 1 bis 14 % dieser Patienten bleiben im apallischen Stadium, d.h. im Koma oder in einem rein vegetativen Zustand, ohne dass sie das Bewusstsein wiedererlangen. Den Grund für diese langandauernden Behinderungen muss man im Ausmaß des Gehirnschadens suchen bzw. in dem weitgehenden Unvermögen des Gehirns, sich selbst zu regenerieren. Besonders aus diesem Grund ist eine Vermeidung sekundärer pathologischer Prozesse, welche die unabwendbare Primärläsion vergrößern, das wichtigste Therapieziel. Eine effektive, neuroprotektive Therapie in der Frühphase der Behandlung kann zwar die primäre Verletzung nicht aufheben, wirkt aber zusätzlichen Substanzverlusten entgegen. Diese Erkenntnis hat dazu geführt, dass internationale und interdisziplinäre Expertengruppen (u.a. die Brain Trauma Foundation, das European Brain Injury Consortium, die European Society for Intensive Care Medicine) Empfehlungen ausgearbeitet haben, die zur Standardisierung einer möglichst effektiven Primärversorgung der Patienten mit schwerem SHT führen soll. In Deutschland wurden dazu die „Leitlinien zur Primärversorgung von Patienten mit SHT“ von der Deutschen Gesellschaft für Neurochirurgie, Anästhesie und Intensivmedizin herausgegeben (JANTZEN und PIEK 1997).

Bei schweren SHT-Fällen gehört nach diesen Richtlinien die Anästhesie unerlässlich zur Erstversorgung und bietet unterstützend zu operativen und medikamentösen Maßnahmen einige bedeutende Ansatzpunkte Hirndefekte einzudämmen. Als Standardtherapie wird die „prophylaktische“ Hyperventilation seit ca. 20 Jahren zu diesem Zweck eingesetzt. Patienten wurden lange Zeit aggressiv und langandauernd mit einem arteriellen Kohlendioxid-

partialdruck (PaCO₂) von ca. 20 bis 25 mmHg hyperventiliert. Die positive Wirkung beruht auf Absenkung des intrakraniellen Drucks und Abschwächung der Azidose in ischämischen Hirnarealen. Seit einiger Zeit mehren sich jedoch die Hinweise, dass hyperventilierte Patienten mit SHT noch nach Monaten einen schlechteren neurologischen Status aufweisen als Normoventilierte (MUIZELAAR et al. 1991). Hyperventilation ist deshalb nicht uneingeschränkt als positiv zu bewerten. Als Grund dafür wird zum einen der zu starke Verlust von Puffersubstanzen und zum anderen eine übermäßige Vasokonstriktion vermutet, die eine zerebrale Ischämie auslösen oder verstärken können.

Um neurobiochemische und neurophysiologische Pathomechanismen, Einflussfaktoren und Folgen in Zusammenhang mit einem SHT präziser abschätzen zu können, muss ein reproduzierbares Tiermodell erarbeitet werden. Daran sollen Schaden und Schadensbegrenzung unter verschiedensten Fragestellungen vergleichbar sein. In der vorliegenden Studie wird modifiziert das Modell eines „*Controlled Cortical Impact*“ (CCI), einer traumatischen kortikalen Kontusion als SHT gewählt, das sich schon in einigen Studien als erfolgversprechend zeigte (LIGHTHALL 1988; FORBES et al. 1998; THOMALE 2001). Mit Hilfe dieses Verfahrens soll der Einfluss von Hyperventilation auf die Größe des histopathologischen Schadens in einer Kresylviolett-Färbung ermittelt werden.

Besonderes Interesse gilt jedoch der begleitenden klinischen Studie kognitiver Fähigkeiten, die mit einem visuell-räumlichen Verhaltenstest, dem modifizierten Hole-Board-Test nach OHL erhoben werden (OHL et al. 2001a). Entscheidend ist, dass mit diesem Test durchgehend über einen längeren Zeitraum Erkenntnisse über Leistungen und Defizite des deklarativen Gedächtnisses, des Arbeitsgedächtnisses, der Exploration, Motivation und Motorik von Ratten gesammelt werden können. Ergänzend werden die neurologisch-motorischen Leistungen mit einer Auswahl verschiedener Verhaltenstests überprüft.

2 SCHRIFTTUM

2.1 Grundlagen der Physiologie des Gehirns

2.1.1 Anatomischer und funktioneller Aufbau des Gehirns

Das Gehirn ist das kraniorostrale übergeordnete Verarbeitungszentrum des zentralen Nervensystems (ZNS). In Grundprinzip, Bauplan, Blutversorgung und Funktion gleicht das menschliche Hirn dem anderer Säugetiere. Anatomisch lässt sich am Gehirn annähernd die phylogenetische und ontogenetische Entwicklung aus dem Neuralrohr ersehen. Von kaudal nach rostral verdickt sich das Rückenmark zuerst zum Hirnstamm, der die Hirnnervenabgänge und das lebenswichtige Zentrum für Atmung und Kreislauf bildet. Hier angeschlossen befindet sich das Kleinhirn, das der Koordination von Motorik und Gleichgewicht des Körpers dient. Im weiteren Verlauf stößt man auf das Zwischenhirn (Diencephalon). Es besteht aus dem Thalamus, Hypothalamus mit Hypophyse und Epiphyse. Den Abschluss bildet das Endhirn (Telencephalon). Diesem werden tieferliegende Kerngebiete und die Großhirnrinde (Neokortex) zugeordnet. Bei höheren Säugetieren ist diese immer deutlicher und vielschichtiger als Hirnmantel (Pallium) ausgeprägt, der sich ventral in das phylogenetisch ältere Riechhirn (Palaeopallium), in das mediale Archipallium und den jüngsten dorsolateralen Anteil, den Neuhirnmantel (Neopallium) teilt (NICKEL et al. 1991).

Von der Fissura longitudinalis wird die Hirnrinde in zwei Hemisphären geteilt, die mittig vom Sulcus centralis gekreuzt werden. Neben einer rostralen und hippokampalen Kommissur, ergänzt der Balken (Corpus callosum) die Querverbindung beider Hälften anatomisch und funktionell durch Überleitung von Nervensträngen. Die ursprüngliche Funktion des Telencephalon als Riechhirn wurde im Laufe der Evolution mit zahlreichen neuen übergeordneten Integrations- und Steuerungsfunktionen ausgebaut. Das sind bewusstes Wahrnehmen, Speichern und Modulieren von Sinneseindrücken und der Sitz des Gedächtnisses (NICKEL et al. 1991; SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991).

2.1.2 Blutversorgung und Stoffwechsel des Gehirns

Im Vergleich zum Körper nimmt das Gehirn nur 2 % des Gesamtgewichtes ein. Die metabolischen Anforderungen an Energie- und Sauerstoffversorgung benötigen dagegen ca. 20 % des Herzzeitvolumens. Die Blutversorgung des Gehirns wird, unabhängig vom systemischen Kreislauf, autoregulatorisch unter physiologischen Bedingungen konstant gehalten. Gesteuert wird diese durch die Kapazität der Gefäße, die sich auf metabolische, myogene oder neurogene Reize als Antwort weit stellen oder verengen. Lokale Neuronenaktivität benötigt

einen lokal gesteigerten Stoffwechsel, zu dessen Aufrechterhaltung mehr Blut zugeführt wird. Folglich wirken metabolische Komponenten wie Wasserstoffionen (H^+), Adenosin und Kalium vasodilatatorisch und Blutfluss-steigernd. Bestimmende Parameter für eine adäquate Perfusion sind der zerebrale Blutfluss (CBF) mit 50 ml/100 g/min und der zerebrale Perfusionsdruck (CPP) von mindestens 50 mmHg. Der CPP berechnet sich aus dem mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) minus dem intrakraniellen Druck (ICP), der im Normbereich unter 10 mmHg liegt. Blutdruckänderungen von 60 bis 130 mmHg werden allein von der zerebralen Autoregulation kompensiert. Darüber oder darunter reicht diese nicht mehr aus den CBF konstant zu halten (LASSEN und CHRISTENSEN 1976).

Der zerebrale Stoffwechsel teilt sich in einen Struktur- und Funktionsstoffwechsel, die beide durch einen Abfall der Perfusion gestört werden (KEMPSKI 1994). Der Funktionsstoffwechsel verbraucht 60 % des Gehirnstoffwechsels zur Energiebereitstellung für alle funktionellen Zelleistungen (Weiterleitung elektrischer Afferenzen und Efferenzen). Unterschreitet der CBF 20 bis 18 ml/100 g/min, kommt es zum Sistieren dieser Funktionen, nachweisbar am isoelektrischen Elektroenzephalogramm. Der Strukturstoffwechsel dagegen trägt zu 40 % zum Gesamtstoffwechsel bei und entspricht der energetischen Grundlage für den Unterhalt des transmembranösen Ionengradienten, der Biosynthese von Strukturproteinen, Neurotransmittern und anderen Komponenten des Zellstoffwechsels. Im Blutflussbereich von 12 bis 18 ml/100 g/min bleibt er erhalten (SIESJO 1992).

In einem Modell beschreiben ASTRUP et al. 1981 die Zustände bei einem ischämischen Infarkt. Zwischen dem Infarktkern (Core) und dem gesunden Hirngewebe existiert ein Blutflussgradient. Er ist verantwortlich für die Randzone um den Infarktkern, die Penumbra genannt wird (Halbschatten). Diese Zone ist weit größer als der Infarkt selbst. Im Kerngebiet ist das Gewebe irreversibel geschädigt. In der Penumbra beginnt aber die synaptische Erregungsübertragung bereits zu sistieren, während Zellmembran und Ionengradient noch intakt sind. Es kommt zu einem funktionellen Defizit, aber nicht zu strukturellen Verlusten. Erfolgt rechtzeitig eine Reperfusion, kann die neurologische Funktion vollständig regeneriert werden. Bleibt die Blutversorgung unzureichend, ist die Ischämie irreversibel (ASTRUP et al. 1981).

2.1.3 Kognition und Verhalten

Grundlage für sinnvolles Verhalten ist das Lernen von neuen Fähigkeiten, die Erinnerung an bereits gespeicherte Erfahrungen und das Vermögen dieses Wissen wiederzugeben. Bei höheren Lebewesen spricht man von Bewusstsein, Denken, Emotion und Willkürmotorik. All diese Gehirnleistungen nennt man kognitive Funktionen. Sie sind naturwissenschaftlich nicht direkt erfassbar, prägen jedoch ein Individuum in maßgeblicher Weise und heben sich weit von der reinen Lebenserhaltung des Organismus ab (KLINKE und SILBERNAGEL 1996).

2.1.3.1 Neuronale Grundlagen

Neurokognitive Leistungsfähigkeit wird vom Neokortex (KESNER et al. 1987), insbesondere dem präfrontalen Anteil (KOLB 1984), dem Hippokampus und angehöriger Strukturen vermittelt (SQUIRE et al. 1993).

Der Neokortex

Der phylogenetisch jüngste Teil des Gehirns, die Neuhirnrinde, ist beim Menschen am differenziertesten entwickelt. Je nach Lage zur Schädelkapsel unterscheidet man vier Gehirnlappen mit spezifischen Aufgaben: Stirnlappen (Lobus frontalis) vorwiegend mit motorischen, Scheitellappen (Lobus parietalis) mit somatosensorischen Anteilen, Hinterhauptslappen (Lobus occipitalis) mit der Sehrinde und Schläfenlappen (Lobus temporalis) für das Gehör (NICKEL et al. 1991; KÖNIG und LIEBICH 1999).

Noch detaillierter lassen sich funktionell zusammengehörige Areale abgrenzen, wobei sich sensorische, motorische und assoziative Kortizes unterscheiden lassen (s. Abbildung 1):

Als primäres somatosensorisches Projektionsfeld liegt der **sensorische Kortex** kaudal des Sulcus centralis im Gyrus postcentralis und vermittelt die bewusste Sinneswahrnehmung. Fast alle auf der Körperoberfläche oder inneren Organen ausgelösten afferenten Reize, werden dorthin verschaltet. Auf dieses Gebiet werden von medial nach lateral entsprechende Körperregionen projiziert (KLINKE und SILBERNAGEL 1996).

Der primär **motorische Kortex** ist für die Willkürmotorik zuständig. Dort wird sie unter dem Einfluss von sensorischem und frontalem Kortex gebildet. Der Antrieb zu Handlungen geht aber von subkortikalen Motivationsarealen (limbisches System) aus. Über eine kortikospinale Bahn, die Pyramidenbahn, werden Efferenzen an die Peripherie vermittelt und in der Pyramidenkreuzung kontralateral verschaltet. Ähnlich wie die somatosensorischen Projek-

tionsfelder sind diese motorischen Hirnareale somatotopisch angeordnet. Das heißt, dass zusammenliegende Neuronengruppen Efferenzen zu derselben Körperregion aussenden (KLINKE und SILBERNAGEL 1996).

Schädigungen in den primär sensorischen oder motorischen Kerngebieten führen zu kontralateralen Lähmungsercheinungen bis hin zum vollständigen Verlust der Motorik (FEENEY et al. 1982; KOLB und WHISHAW 1985; SOBLOSKY et al. 1996).

Nach GENTILE et al. (1978) vermögen Ratten Defizite binnen zwei Wochen zu kompensieren, so dass dann keine Beeinträchtigung der Motorik mehr feststellbar ist.

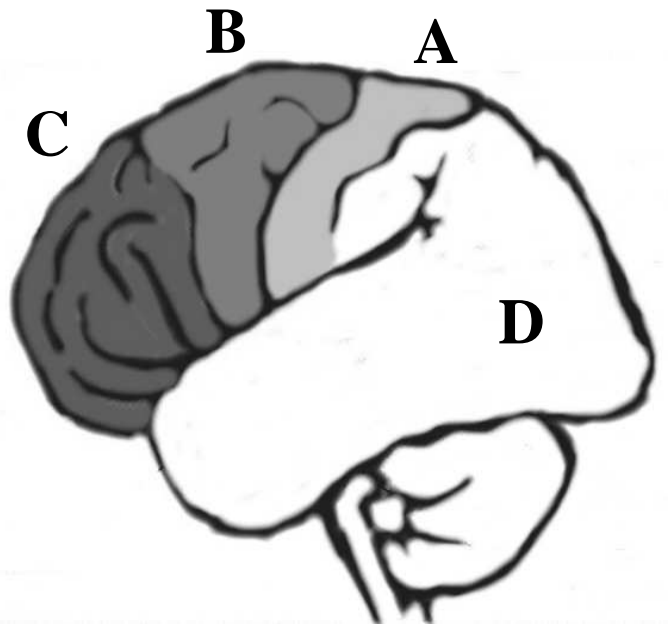


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Hirnareale modifiziert nach SCHMIDT und THEWS (1993). A: Primär sensorisches Hirnareal, B: Primär motorisches Hirnareal, C: Präfrontaler assoziativer Kortex, D: Assoziativer Kortex

Je höher entwickelt ein Lebewesen ist, desto größer ist der Anteil der **assoziativen Kortizes**. Diese Teile stehen nicht mit der Körperperipherie in Verbindung, sondern interagieren nur mit den primär sensorischen oder motorischen Hirnanteilen. Ihre Funktionen sind sehr vielfältig, unter anderem werden von ihnen kognitive Prozesse mediiert (KOLB 1984). Der bisher am wenigsten verstandene Komplex ist der präfrontale Kortex, der für das Verhalten eines Individuums essentiell ist und als innere Steuereinheit wirkt (GOLDMAN-RAKIC 1988).

Der Hippokampus und angehörige Strukturen

Diese funktionelle Großhirneinheit besteht aus Hippokampus, Gyrus parahippocampalis, Gyrus dentatus und Subiculum-Komplex (AMARAL und WITTER 1989). Obwohl der Hippokampus eine untypische Morphologie aufweist, gehört er zu den phylogenetisch alten Strukturen des limbischen Kortex (Archikortex) (NICKEL et al. 1991).

Der frühe Anatom ARANTIUS (1530-1589) sprach ihm wegen seiner in sich gefalteten Form Ähnlichkeit mit einem Seepferdchen (griech.: Hippokampus) zu; in späterer Zeit wird er auch als Ammonshorn (lat.: cornu ammonis; Ammonshorn; Abk.: CA) bezeichnet. Er liegt im medialen Temporallappen der Großhirnrinde als Vorwölbung im Unterhorn des Seitenventrikels

und wird erst nach dessen Eröffnung sichtbar. Er gleicht einer nach unten geklappten Großhirnfalte, die vom Gyrus dentatus kappenartig überzogen wird (NICKEL et al. 1991).

Der Hippokampus gehört zu den für Sauerstoffmangel empfindlichsten Strukturen im Gehirn. Strukturiert ist er in vier verschiedene Zelllagen, die wiederum unterschiedlich vulnerabel auf ischämische Einflüsse reagieren (s. Abbildung 2): CA1, CA2, CA3 und CA4. Dabei weist die CA1-Region nach experimentell erzeugter zerebraler Ischämie die größte Empfindlichkeit für Sauerstoff (O₂)- und Energiemangel auf (PULSINELLI et al. 1982; JENKINS et al. 1989).

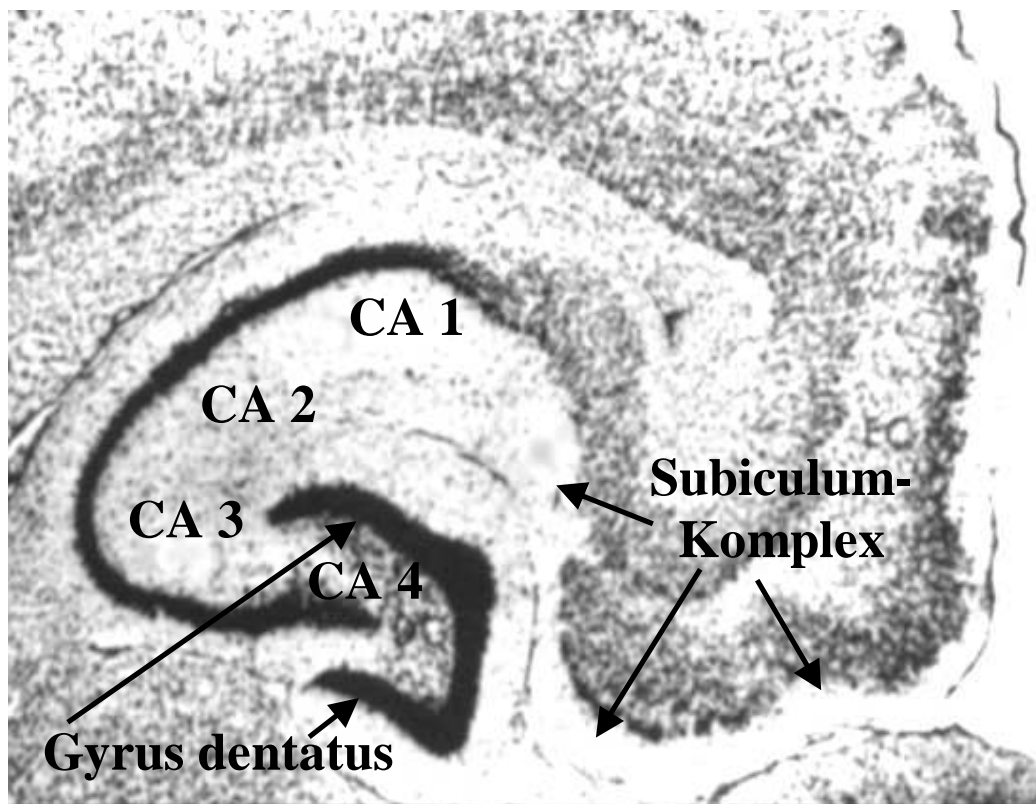


Abbildung 2: Histologische Kompartimentierung des Hippokampus modifiziert nach AMARAL und WITTER (1989)

2.1.3.2 Lern- und Gedächtnisprozesse

Lern- und Gedächtnisprozesse gehören zu den neurokognitiven Leistungen. Die Einteilung und Lokalisation kognitiver Prozesse ist nicht eindeutig wissenschaftlich zu belegen, da sie nur in den seltensten Fällen direkt beobachtet und zugeordnet werden können. Der deutsche Psychologe EBBINGHAUS entdeckte bereits 1885 einen Unterschied zwischen Gedächtnisspanne und natürlichem Gedächtnis, dem heutigen Kurz- und Langzeitgedächtnis (SCHMIDT 1993). Inzwischen gelten weit differenziertere Vorstellungen. Im Folgenden wird zuerst eine chronologische Einteilung des Informationsflusses gegeben, bevor Inhalt und Lokalisation kognitiver Prozesse beschrieben werden.

2.1.3.2.1 Gedächtnisspeicher

Höhere Lebensformen verfügen über weit entwickelte kognitive Prozesse. Diese sind die Grundlage sich aktiv mit der Umwelt auseinander zu setzen, Wissen anzusammeln und auf Reize sinnvoll zu reagieren. Prinzipiell beruhen diese Prozesse auf Reizaufnahme (Enkodierung), Speicherung (Transfer), Pflege und Modulation gespeicherter Informationen (Konsolidierung) und Abfrage dieser als Erinnerungen (Recall) (STECKLER und MUIR 1996). Je nach Dauer von Reizaufnahme bis Abfrage der Information lässt sich das Gedächtnis in verschiedene zeitliche Speicher unterteilen:

Sensorisches Gedächtnis

Jede Sekunde fluten unzählige Sinneseindrücke auf ein Lebewesen ein. Ein sehr großer Teil wird automatisch als flüchtige Impression aufgenommen und kaum eine Sekunde festgehalten. Danach verblassen die Informationen wieder oder werden weiter verarbeitet.

Kurzzeitgedächtnis

Aus der Vielzahl von Informationen, die jeden Moment aufgenommen werden, verbleiben einige kurze Zeit (Sekunden bis Minuten) im Gedächtnis. Die Speicherkapazität ist dabei geringer als im sensorischen Gedächtnis.

Langzeitgedächtnis

Informationen, die für lange Zeit oder sogar lebenslang gesichert bleiben, werden ins Langzeitgedächtnis transferiert. Dazu ist aber die Konsolidierung nötig, die Tage bis Monate andauert, bis es zur endgültigen Abspeicherung von unbewusstem oder bewusstem Wissen kommt. Die Speicherkapazität ist nahezu unbegrenzt und die Erinnerungen erweisen sich sehr resistent gegen eintreffende Störungen (Elektroschocks, Bewusstlosigkeit, neurologische Erkrankungen, epileptische Anfälle).

Generell beruht das Aufnehmen und Speichern von Informationen auf der Erregung von Nervenzellen. Diese Erregungen hinterlassen eine Spur im Neuronenverband, die als Engramm bezeichnet wird (BLISS und COLLINGRIDGE 1993). Je nach Intensität und Wiederholung der Erregung und der Verschaltung zu anderen Synapsen, wird sie in irgendeiner Form als Erinnerung behalten. Kurz gespeicherte Informationen beruhen vermutlich auf kreisenden Erregungen, so dass sie durch akute Störungen der Neuronenaktivität (Trauma, Hypothermie, Elektroschock) verloren gehen und es zur retrograden Amnesie kommt. Langzeiterinnerungen arbeiten dagegen eher in Form biochemischer Mechanismen (Proteinsynthesen) oder Strukturveränderungen, die dauerhaft erhalten bleiben.

Das bisher bestverstandene Modell für modulierende Prozesse an Synapsen als zelluläres Gedächtnis stellt die Langzeitpotenzierung (LTP) dar. Entdeckt wurde dieser Mechanismus zuerst am Hippokampus, also einer Struktur, die für Teile der Langzeiterinnerung zuständig ist (s. u.). Aber auch in anderen Teilen des Gehirns findet sich dieser Mechanismus (BLISS und COLLINGRIDGE 1993). Durch zusammenlaufende Erregungen erfolgt eine längere und starke Depolarisation, die die Übertragungseigenschaften an der Synapse verändert. Es werden neue Verknüpfungen gebildet, gespeichert und weitergegeben. Im Hippokampus als Schaltzentrale für Lernen und Gedächtnis ist dieser Mechanismus verantwortlich für die Formation neuer Zusammenhänge (SQUIRE 1992). Dabei spielen Glutamat-sensible N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoren eine wichtige Rolle. Die LTP verstärkt den Kalziumeinstrom und ändert damit die Funktion der Zelle. Mit der Zeit durchlaufen die Rezeptoren einen Reifungsprozess, der mit der Anzahl der Rezeptoren korreliert (FELDMAN und KNUDSEN 1998).

2.1.3.2.2 Gedächtnisleistungen

Wie Lernen und Gedächtnis im Nervensystem organisiert wird, ist noch nicht detailliert nachgewiesen. Die Neurowissenschaften streben nach einem einheitlichen System, das nach human- und tierphysiologischen Untersuchungen am ehesten die Interaktionen verschiedener anatomischer Strukturen beschreibt. In der Humanphysiologie sind Erforschung und Darstellung verschiedener Erinnerungssysteme möglich, die bei Tieren auf Grund fehlender Verständigung nicht durchführbar sind, wie z.B. Befragen nach autobiographischen Ereignissen (VARGHA-KHADEM et al. 1997), verbale Wiedergabe von Fakten (BROOKS 1972) oder der „*digit-span-test*“, der durch sofortige Wiederholung von Zahlenreihen das Kurzzeitgedächtnis überprüft (CAVE und SQUIRE 1992). Grundsätzlich kann aber von dem annähernd gleichen strukturellen Bauplan auf ähnliche neuro-physiologische

und –pathologische Mechanismen geschlossen werden. Für einige Funktionen und Strukturen (Erinnerung und Hippokampus) stimmen bereits größtenteils Untersuchungsergebnisse an Mensch, Affe und Ratte überein (SQUIRE 1992).

In der Gedächtnisforschung haben im letzten Jahrhundert einige elementare Fortschritte stattgefunden. Auf der schon lange existierenden Theorie eines Lang- und Kurzzeitgedächtnisses aufbauend, gelingt dabei vor allem der Arbeitsgruppe um SQUIRE die systematische Einteilung kognitiver Leistungen und deren Zuweisung zu bestimmten Hirnarealen (SQUIRE 1982; ZOLA-MORGAN et al. 1986; CAVE und SQUIRE 1992; SQUIRE 1992; ZOLA-MORGAN und SQUIRE 1993; SQUIRE 1998).

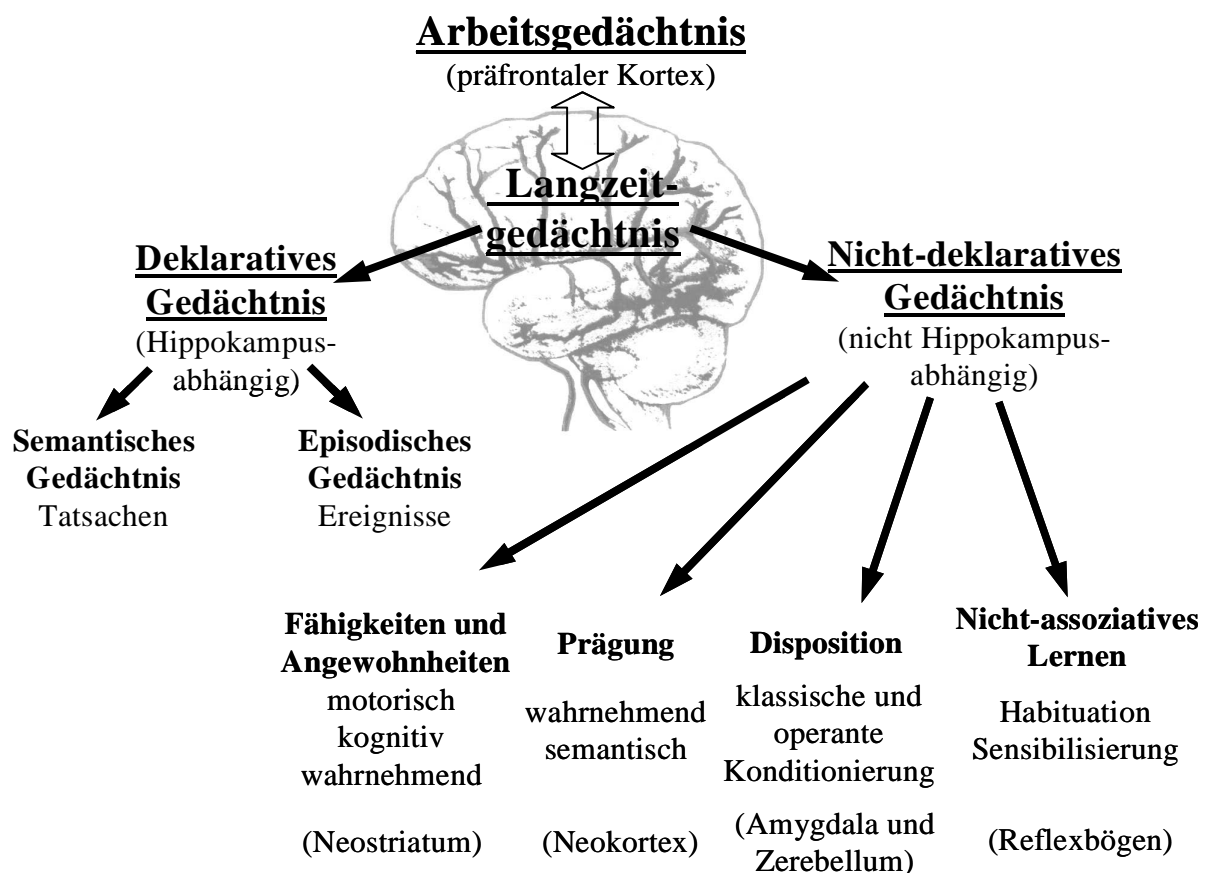


Abbildung 3: Einteilung der Gedächtnissysteme und deren neurokognitive Funktionen, modifiziert nach SQUIRE 1993 und SQUIRE et al. 1998

Das Prinzip dieser Theorie gründet auf der Unterscheidung zweier getrennter Langzeitsysteme: Das Hippokampus-abhängige »deklarative Gedächtnis« und das nicht Hippokampus-abhängige »nicht-deklarative Gedächtnis«. Beide Systeme umfassen bewusste und unbewusste Langzeiterinnerungen, deren endgültige Langzeitspeicherung der Hirnrinde zugeschrieben wird (KESNER et al. 1987; SQUIRE 1998). Für die zeitlich begrenzte Verarbeitung und Bereitstellung von Informationen sorgt dagegen das Arbeitsgedächtnis (s. Abbildung 3).

Deklaratives Gedächtnis:

Dieser Gedächtnisort beinhaltet alle bewussten Erinnerungen an Fakten wie z.B. Namen, Vokabular, Wortlisten, Orte, Gesichter, Erlebnisse, Gerüche und Formen. Wenn umgangssprachlich die Begriffe „Gedächtnis“ oder „erinnern“ fallen, wird üblicherweise dieser Gedächtnisinhalt gemeint (ZOLA-MORGAN und SQUIRE 1993). All dieses Wissen bleibt auf lange Zeit gespeichert, verfügt aber über begrenzte Kapazität und zeigt sich wenig störanfällig. Trotz schneller und flexibler Zugriffsmöglichkeit auf dieses Wissen, steht es nicht immer sicher zur Verfügung, weil Vergessen und Abfragefehler auftreten können. Zur Bildung dieses Gedächtnisses scheint zudem ein gewisser Reifegrad notwendig. Ein Beispiel dafür besteht in dem Unvermögen, dass der Mensch bis zum dritten Lebensjahr keine bewussten Erinnerungen bewahren kann (SQUIRE et al. 1993).

In den frühen 1950er Jahren beschrieben SCOVILLE und MILNER (1957) an dem berühmten Patienten H.M., dass nach bilateraler Entfernung der medialen temporalen Schleife tief greifende Vergesslichkeit auftritt, aber normales Verhalten und eingeübte Fähigkeiten durchaus funktionieren. Diese Befunde kennzeichnen das Amnesie-Syndrom (SQUIRE 1998). Weitere Untersuchungen zeigten immer wieder den engen Zusammenhang solcher Informationen zu dieser Region, der Hippokampusformation und des Hippokampus an sich. Sogar die umschriebene Schädigung der Sauerstoff-empfindlichen CA1-Region reicht aus, das Gedächtnis nachhaltig zu beeinträchtigen (ZOLA-MORGAN et al. 1986). Ohne den Hippokampus ist eine dauerhafte Bildung von bewussten Langzeiterinnerungen nicht möglich, das Kurzzeitgedächtnis dagegen scheint völlig unabhängig vom Hippokampus zu arbeiten (CAVE und SQUIRE 1992).

Inhaltlich wird unser Wissen entweder dem semantischen Gedächtnis für Allgemeinwissen (wissenschaftliche Fakten, historische Daten, theoretisches Wissen) oder dem episodischen Gedächtnis für autobiographische Ereignisse („wann hat sich was wo und mit wem ereignet?“) zugeordnet (TULVING 1995). Nach einer Schädigung des medialen Temporallappens kann auch nur eine Untereinheit betroffen sein. Eine Theorie besagt, dass semantischer Inhalt durch mehrmalige Wiederholung unabhängig von besagten Strukturen trotzdem erlernt werden kann, während episodische Erlebnisse wegen ihrer Einmaligkeit nicht gespeichert werden können und völlig abhängig von Kerngebieten des deklarativen Gedächtnisses sind (SQUIRE et al. 1993). Andererseits kann die Lokalisation der verantwortlichen Regionen ausschlaggebend sein und somit besteht Notwendigkeit diese genauer zu bestimmen (TULVING und MARKOWITSCH 1998).

Eine weitere Komponente, die auf die Erinnerungsbildung Einfluss nimmt, gewinnt neuerdings immer mehr an Beachtung. Es ist die emotionale Beimischung zu Gedächtnisinhalten, der man Verstärkerfunktion für Erinnerungen im deklarativen Gedächtnis zuschreibt. Verantwortlich für diesen Einfluss ist die Amygdala des limbischen Systems. Auf Grund dieser klaren Abgrenzung wird eine Zuordnung als eigenes Gedächtnissystem diskutiert (BADDELEY et al. 2000).

Nicht-deklaratives Gedächtnis

Dieses Gedächtnissystem umfasst ein Sammelsurium an heterogenem, unbewusstem Wissen oder besser „Fähigkeiten“ (s. Abbildung 3) (HEINDEL et al. 1989; SQUIRE et al. 1993). Es entwickelt sich aus einer engen, teils reflektorischen und teils antrainierten Reiz-Reaktions-Beziehung und beeinflusst alle unbewussten Verhaltensweisen (ZOLA-MORGAN und SQUIRE 1993). Deswegen arbeitet es langsam, unbewusst und unflexibel, und ist an die Prozesse gebunden, die an seiner Entstehung beteiligt waren. Andererseits ist es aber sehr zuverlässig und sogar dann noch intakt, wenn im deklarativen Gedächtnis Fehler auftreten (SQUIRE et al. 1993).

Bei Läsionen des Hippokampus und abhängiger Strukturen resultieren für dieses Gedächtnissystem keine Einschränkungen, so dass deren Beteiligung auszuschließen ist. Bisher konnte auch kein einheitlicher Neuronenbereich lokalisiert werden, aber SQUIRE (1998) ordnet nach neueren Erkenntnissen den verschiedenen Funktionen getrennte anatomische Bereiche zu, die im Folgenden genannt werden:

▪ Fähigkeiten und Angewohnheiten

Oft eingeübte Fähigkeiten oder Angewohnheiten hängen stark vom Neostriatum ab (SQUIRE 1998). Sie werden Schritt für Schritt erlernt, ohne dass sie bewusst wahrgenommen werden. Es entstehen automatisierte Prozesse, über die man nicht mehr nachdenkt (SQUIRE 1992).

▪ Prägung

Seit einiger Zeit ist das Phänomen der Prägung bekannt, worunter man ein Wiedererkennen bestimmter Situationen, Wörter oder Laute versteht. Durch das Wiedererkennen baut sich eine Erwartung an folgende Ereignisse auf. Wahrnehmende Prägung ist eng mit der Großhirnrinde verbunden (SQUIRE 1998).

▪ **Disposition**

Das nicht-deklarative Gedächtnis beinhaltet auch die Disposition als klassische und operante Konditionierung. PAWLOW (1849-1936) erklärte die klassische Konditionierung als eine Verknüpfung des unbedingten, natürlich ausgelösten Speichelreflexes mit einem passiv neu erlernten, bedingten Reflex (akustisches Signal). Durch Assoziation beider Reize wird ein neues Verhaltensmuster erlernt (assoziatives Lernen). Wird als Hilfsmittel eine Motivation in Form von Belohnung oder Bestrafung eingesetzt, die den Lerneffekt positiv oder negativ verstärken, spricht man von operanter Konditionierung. Beinhaltet die Konditionierung motorische Abläufe, ist das Kleinhirn essentiell in den geregelten Ablauf eingebunden (THOMPSON 1988). Emotionale Antworten werden durch die Amygdala beeinflusst (SQUIRE 1998).

▪ **nicht-assoziatives Lernen**

Schließlich müssen Erregungsprozesse beachtet werden, die von Natur aus (nicht-assoziativ) eine starke Reaktion hervorrufen (z.B. Lärm, Lichtblitze) und über Reflexbögen geschaltet sind (SQUIRE 1998). Werden diese Reize selten wiederholt, tritt eine Empfindlichkeitssteigerung auf, eine Sensitivierung. Halten die Reize permanent an, kommt es zur Gewöhnung an diese Situation, was auch als Habituation bezeichnet wird. Dabei ruft der Reiz mit der Zeit eine immer schwächere Verhaltensreaktion hervor.

Arbeitsgedächtnis

Dieses Verarbeitungssystem entspricht einem modifizierten und erweiterten Konzept des ursprünglichen Kurzzeitgedächtnisses (BADDELEY 1996). Mit der zeitlichen Begrenzung auf Minuten und der Beschränkung in der Speicherkapazität besitzt es die selben Hauptmerkmale. Es wird vor allem dem präfrontalen Kortex zugeschrieben. Anfangs stellte man sich eine Gedächtniseinheit vor, die Informationen kurzzeitig aufnimmt, wieder verliert oder die Speicherung als Langzeiterinnerung kontrolliert (ATKINSON und SHIFFRIN 1971). Die Interaktionen sind jedoch weit komplexer und das Arbeitsgedächtnis nimmt eine Sonderstellung darin ein. Es werden nicht nur neue Informationen eingespeist, sondern es besteht ebenfalls eine enge wechselseitige Beziehung zum Langzeitgedächtnis, das auch unabhängig vom Arbeitsgedächtnis Inhalte generieren kann (SHALLICE und WARRINGTON 1970).

Langzeiterinnerungen modulieren bewusst neue Informationen, wodurch Verhaltensweisen sinnvoll organisiert werden. Im Gegensatz zum Langzeitgedächtnis ist das Arbeitsgedächtnis äußerst störanfällig, weil es Ereignisse, die gerade geschehen, sofort aufnimmt, aufeinander abstimmen muss und mit Wissen aus dem Langzeitgedächtnis ergänzt. Eine Theorie besagt, dass es mehrere neuronale Zuläufe erhält, die unterschiedliche Informationen einbringen. So

ist der Hippokampus für die räumlich-zeitliche Koordination verantwortlich, die Amygdala für die emotionale Beimischung, der Nucleus caudatus vermittelt motorische Reaktionen und vom extrastriellen visuellen Kortex werden visuell-sensorische Merkmale eingebracht (KESNER und HOLBROOK 1987; JACKSON et al. 1998).

BADDELEY und HITCH schlugen 1974 eine bis heute gültige Einteilung des Arbeitsgedächtnisses vor. Weitgehend unabhängig voneinander existieren drei Untereinheiten. Eine davon ist der viso-spatiale Zwischenspeicher, in dem visuell-räumliche Eindrücke verarbeitet werden. Verbale und akustische Informationen vermittelt der phonologische Anteil, die phonologische Schleife. Von diesen visuellen und phonetischen Informationen ist übergeordnet eine zentrale Exekutive im Frontallappen abzugrenzen. Neuerdings vermutet man einen vierten Anteil als episodischen Zwischenspeicher (BADDELEY 2003).



Abbildung 4: Die drei Grundkomponenten des Arbeitsgedächtnisses nach BADDELEY und HITCH (1974)

2.1.3.2.3 Räumliches Gedächtnis

SQUIRE und CAVE (1991) zählen das Wissen um Raum, Formen und Orientierung genauso wie Wortlisten, Gerüche und Tasteindrücke zum deklarativen Gedächtnis. Dementsprechend korrelieren Schädigungen des Hippokampus mit Defiziten in der Orientierungsfähigkeit. Räumliches Gedächtnis wird vom Hippokampus vermittelt (SQUIRE et al. 1993), was auch im Tierversuch verifiziert werden kann (O'KEEFE und CONWAY 1978; OLTON und PAPAS 1979).

O'KEEFE und CONWAY veröffentlichten 1978, dass hauptsächlich der Hippokampus für die Verarbeitung und Speicherung räumlicher Informationen verantwortlich ist und bezeichneten ihn als „kognitive Orientierungskarte“. Doch nicht nur der Hippokampus ist an diesen Prozessen maßgeblich beteiligt, auch dem medialen präfrontalen Kortex ist eine grundlegende Aufgabe dabei zuzuordnen (HARRISON und MAIR 1996). Bei Schäden in diesem Bereich finden sich immer wieder ähnliche Beeinträchtigungen in der räumlichen Orientierung, wie sie mit Hippokampusläsion zu finden sind. Dabei kommt es nicht zum völligen Verlust, sondern nur zu verzögerter Aufgabenlösung, die einer Störung im Arbeitsgedächtnis

zuzuschreiben ist (POUCET 1990). Je mehr der rostrale Anteil betroffen ist, desto stärker zeigen sich Ausfälle im räumlichen Arbeitsgedächtnis (DUNNETT 1990).

Demzufolge ist das räumliche Gedächtnis nicht einer einheitlichen Struktur zuzuordnen, sondern vor allem dem Hippokampus für das Wissen an sich und dem medialen präfrontalen Kortex für die zeitlich begrenzte Verarbeitung. Unterstützt wird diese These dadurch, dass beide Strukturen durch einen innigen Austausch vieler Projektionsbahnen in enger Verbindung miteinander stehen. Deshalb wird vorgeschlagen, sie als funktionelle Einheit zu betrachten und als „*spatial mapping system*“ zusammenzufassen (NONNEMAN et al. 1974; KOLB et al. 1982).

Für die Wissenschaft eröffnen sich durch die Zuordnung von spezifischen Aufgabenstellungen zu bestimmten Verarbeitungszentren verbesserte Perspektiven, diese Strukturen zu überprüfen. Während in der Humanforschung bevorzugt verbale Tests, d.h. für das Arbeitsgedächtnis der phonologische Anteil untersucht wird, greift man in Tierstudien auf räumlich-visuelle Medien zurück (GOLDMAN-RAKIC 1988). Versuchsaufbauten, die das räumliche Orientierungsverhalten beurteilen, sind deswegen sehr gut geeignet, Störungen in diesen Systemen zu erkennen (OLTON und PAPAS 1979; MORRIS et al. 1982; HODGES 1996).

2.2 Schädel-Hirn-Trauma

Jährlich sterben Tausende von Menschen an den Folgen eines Schädel-Hirn-Traumas (SHT). In Deutschland wurden 1993 laut Erhebungen des Statistischen Bundesamtes in Wiesbaden, knapp 280.000 Patienten mit intrakraniellen Verletzungen hospitalisiert. Mehr als 10.000 verstarben und fast 5.000 blieben auf lebenslange Pflege angewiesen (STATISTISCHES BUNDESAMT 1993). Auch wenn SHT-Opfer den Unfall überleben, ist die Prognose auf vollständige Rekonvaleszenz meistens sehr schlecht. Bei Kindern und Jugendlichen liegt die Mortalität sogar zwei- bis dreimal so hoch wie bei Erwachsenen (STRIEBEL 2003). Oft können nur die Vitalfunktionen erhalten werden, ohne dass das Bewusstsein wiedererlangt wird, oder es bleiben Schwerstbehinderung und Pflegebedürftigkeit.

2.2.1 Folgeschäden des Schädel-Hirn-Traumas

Dem SHT liegt eine Gewalteinwirkung auf den Kopf mit Verletzung des Gehirns zugrunde. Dabei unterscheidet man zwischen einer unvermeidbaren, irreversiblen Primärläsion, die als unmittelbare Folge der Gewalteinwirkung entsteht, und einem zeitlich verzögerten Sekundärschaden extra- oder intrakranieller Genese. Er bietet die einzige Chance für eine therapeutische Intervention mit Erfolg, weil er prinzipiell hemmbar ist (STRIEBEL 2003).

Wie wichtig diese sekundären Prozesse sind, wurde von REILLY et al. (1975) beeindruckend durch das Beispiel „*Talk and die*“ veranschaulicht. Es wird beschrieben, dass Patienten, die nach einem SHT noch fähig waren zu sprechen, kurz darauf trotzdem verstorben sind. Ursprünglich ist die Primärläsion also begrenzt und ermöglicht noch eine derart komplexe Leistung wie das Sprechen. Trotzdem können die Patienten versterben. Rechtzeitiges Erkennen und Behandeln dieser Sekundärprozesse, die den Schaden vergrößern, steigert die Chance zu überleben deutlich.

Trotz bestmöglicher intensivmedizinischer Betreuung nach erlittenem SHT und Anwendung vielversprechender Forschungsergebnisse bleibt die Lebensqualität noch heute auf die eine oder andere Weise eingeschränkt: Motorische Ausfälle (v.a. Hemiparesen) (SOBLOSKY et al. 1996), Gleichgewichtsprobleme, Sprachstörungen und emotionale Veränderungen prägen das Krankheitsbild. Patienten verändern ihr Verhalten, werden lethargisch oder übererregbar. Kognitive Dysfunktionen äußern sich im frühen posttraumatischem Stadium häufig in Amnesie, Lernschwäche und Orientierungslosigkeit, die bei schweren SHT-Fällen andauern. Andere Störungen betreffen die Geschwindigkeit der Informationsverarbeitung oder es kommt zu verringerter Aufmerksamkeit und der Unfähigkeit, Problem-Lösungs-Strategien zu erarbeiten (POVLISHOCK et al. 1994).

2.2.2 Bewertung des Schädel-Hirn-Traumas

Das klinische Bild des SHT reicht von einer als Begleitsymptom auftretenden Gehirnerschütterung, offener oder gedeckter Traumatisierung bis hin zum schweren SHT mit langer Bewusstlosigkeit (STRIEBEL 2003). Um den Schweregrad für die einzuleitenden Therapiemaßnahmen und Prognose besser abschätzen zu können, wurden Motorik und Bewusstsein bald als geeigneter Maßstab erkannt. Davor wurde die therapeutische Vorgehensweise in der Praxis äußerst uneinheitlich gehandhabt. Bei nicht wenigen Patienten verkannte man die Anzeichen einer lebensbedrohlichen Situation auf Grund zeitlich verzögerter Sekundärmechanismen und deren Symptome (REILLY et al. 1975).

TEASDALE und JENNETT (1974) führten deshalb ein einheitliches Bewertungssystem, die Glasgow-Coma-Scale (GCS, Punktebewertung 1-15) ein. Mit Hilfe dieses einfachen Punkteschemas wurde erstmals die Möglichkeit geboten, den akuten Zustand des Patienten nach motorischer Überprüfung, Sprachvermögen und Augenöffnung systematisch zu überprüfen und abzuschätzen. Bei schweren ($GCS \leq 8$) oder mittelschweren ($GCS 9-12$) SHT-Fällen, die einen Ausfall der Spontanatmung vermuten lassen, gehört die Intubation und Beatmung immer zur ersten Notfallmaßnahme, genauso wie die Stabilisierung des Kreislaufs und das Einleiten einer medikamentösen, insbesondere neuroprotektiven Therapie (JANTZEN und PIEK 1997).

2.2.3 Pathomechanismen nach Schädel-Hirn-Trauma

Bei einem SHT kann es zu den verschiedensten Verletzungen kommen. Deren Pathomechanismen, die im Moment des Traumas initiiert werden, sind trotz intensiver Forschung immer noch nicht vollständig verstanden. Ein kompliziertes Netzwerk von Interaktionen läuft auf struktureller, funktioneller, zellulärer und molekularer Ebene ab. Akut wird dies sichtbar im Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke (BHS) mit Entwicklung eines Hirnödems, der Beeinträchtigung des Energiemetabolismus, Perfusionsstörungen, inflammatorischen Veränderungen mit Freisetzung zytotoxischer Mediatoren und freier Radikale, bis hin zu Modifikationen auf Genebene. Nach Abheilung bleiben Zelltod, Gewebsverluste, Hohlrumbildung und Vernarbungen bestehen (LAURER und MCINTOSH 1999).

Ein wesentlicher Teilaspekt eines Traumas, den viele dieser Mechanismen begleiten und der bei 60 bis 100 % aller SHT-Opfern auftritt, ist die Kontusion. Intrakranielle Blutungen (v.a. subdurale oder subarachnoidale Hämatome), Blutflussstörungen, Hirnschwellungen mit Anstieg des ICP und unmittelbar durch den Druck verletztes Nervengewebe bilden das pathologische Bild (BULLOCK et al. 1999). Direkt nach einer Kontusion steigt der Blut-

druck enorm an. Für Minuten stimuliert der Aufprall das Kreislaufzentrum. An der Aufprallstelle entsteht oftmals ein subdurales Hämatom infolge einer Kontusionsblutung. In den nächsten 24 Stunden fällt der MAP und die Aufrechterhaltung des CPP wird zum Problem, weil dieser direkt vom MAP abhängig ist ($CPP=MAP-ICP$). Bei einem MAP unter 70 mmHg steigt die Mortalitätsrate rapide an. Ab dieser Schwelle kommt es zur zerebralen Hypoperfusion mit insuffizienter Energie- und Sauerstoffversorgung (STRIEBEL 2003).

Ein ischämischer Sekundärschaden ist extrem häufig nach einem Trauma. Bei 80 bis 90 % der Patienten finden sich in histopathologischen Untersuchungen nach ihrem Tod Anzeichen dafür (GRAHAM 1985). Schlüsselrolle der Perfusionsstörungen nach einem SHT spielt neben dem Perfusionsdruck der CBF. Zwei konträre Patientengruppen können dabei unterschieden werden: Die eine Gruppe unterliegt einer Reduktion des CBF. Diese Patienten mit geringem CBF haben von Beginn an eine schlechte Prognose, was daraus zu ersehen ist, dass einem CBF mit ischämischen Werten fast immer eine erhöhte Mortalitätsrate, Schwerstbehinderung oder vegetative Zustände folgen (OBRIST et al. 1979). Gerade in den ersten posttraumatischen Stunden sind Patienten von irreversibler Ischämie bedroht (BOUMA et al. 1992b). Untersuchungen im Tiermodell zeigen, dass der CBF für ca. drei Stunden nach dem Trauma global fällt (um >80 % auf der Kontusionsseite), sich innerhalb eines Tages erholt, aber auf der geschädigten Seite lokal erniedrigt bleibt (HENDRICH et al. 1999). Im Vergleich zum unverletzten Gewebe wird der regionale CBF im Kontusionsareal signifikant reduziert. Dabei erreicht er Werte, die für eine unzureichende Blutzufuhr sprechen (FORBES et al. 1997a). Wie bei einem ischämischen Infarkt kann für Traumapatienten ein Ischämie-Schwellenwert von ≤ 18 ml/100 g/min durch erhöhte Mortalität oder schlechteres funktionelles Endergebnis bestätigt werden (BOUMA et al. 1991). Die Minderperfusion des Kerngebietes dehnt sich innerhalb kurzer Zeit immer weiter auf distale Areale wie Stammganglien, Hippokampus und später auch den Thalamus aus. Ob ein Übergriff auf die kontralaterale Seite erfolgt, hängt jedoch von der Schwere des Traumas, einem ausreichenden CPP und der ICP-Erhöhung ab. Um ischämische Bereiche im Zentrum des Traumas bilden sich Zonen mit Hyperperfusion. Auslöser dafür kann zum einen eine erhöhte Metabolismusrate und zum anderen eine entkoppelte Autoregulation der Gefäße sein (BRYAN et al. 1995).

Bei der zweiten Patientengruppe wird generell eine Hyperperfusion des Gehirns beobachtet. Es sind vor allem jüngere Patienten, die tendenziell zur Hyperämie neigen (MUIZELAAR et al. 1989). Nach einem Trauma verkleinert sich die arteriovenöse O_2 -Differenz, d.h. das Gehirn verbraucht weniger Sauerstoff und die Metabolisierungsrate sinkt. Wenn der zerebrale O_2 -Bedarf fällt, gewährleistet schon ein gleichbleibender CBF eine Überversorgung mit

Blut. In vielen Fällen steigt er sogar darüber hinaus an. Eine hyperämische Phase wird für drei Tage nach dem Trauma beobachtet (OBRIST et al. 1984). Dieses Entkoppeln der Metabolismus-CBF-Regulation wurde schon 1966 als „*luxury perfusion syndrom*“ bezeichnet. Es ist auf eine gestörte Autoregulation der zerebralen Gefäße zurückzuführen (LASSEN 1966). Statt sich dem gesenkten Bedarf anzupassen, kommt es zur Paralyse der Gefäße. Diese Areale werden sozusagen „luxusperfundiert“. Das überschüssige Blutvolumen trägt einen Teil zur ICP-Erhöhung bei. Auslösender Faktor ist die metabolische Azidose, die in geschädigtem Gewebe unter ischämisch-hypoxischen Bedingungen entsteht. Viele Autoren stellen in traumatisierten Regionen immer wieder eine veränderte Autoregulation der Gefäße fest, aber bis zu einem gewissen Grad einen Erhalt der CO₂-Reaktivität (PAULSON et al. 1972; MADSEN 1990).

Die posttraumatischen Perfusionsverhältnisse im Gehirn werden durch intrakranielle Druckanstiege verkompliziert. Drücke ab 20 mmHg verschlechtern das neurologische Endergebnis rapide und über 40 mmHg ist das Leben des Patienten direkt bedroht (MILLER et al. 1981). Ein Druckanstieg kommt durch raumfordernde Prozesse in der unnachgiebigen knöchernen Schädelhöhle zustande. Ursachen sind die oben bereits beschriebene Hyperämie mit Blutvolumenzunahme und Hämorrhagien mit raumgreifenden Hämatomen. Aber auch Hirnödeme fördern diesen Vorgang. Dabei steigt der Gehalt an zerebralem Gewebwasser. Beim vasogenen Hirnödem bricht die BHS zusammen und Ödemflüssigkeit tritt in den Extrazellulärraum aus. BASKAYA et al. (1997) zeigen ein biphasisches Öffnen der BHS nach vier bis sechs Stunden und drei Tagen nach Kontusion an der Ratte. Im ersten Fall beschreiben sie eine traumatische Schädigung der Gefäße. Für die verzögerte Öffnung werden zytotoxische Mediatoren verantwortlich gemacht. Auf ähnliche Weise wird auch das gesamte Hirngewebe betroffen. Aus untergehendem Gewebe werden Zytotoxine freigesetzt. Sie stören die Zellintegrität und erhöhen die innere Osmolarität. Intrazellulär sammelt sich Wasser an und es kann zur Zellyse kommen. Dieser Vorgang ist typisch für die ischämische Penumbra. Wenn ein Hirnödem nach einem Trauma entsteht, nimmt es in den ersten 24 Stunden am stärksten zu, dehnt sich bis zum zweiten Tag am weitesten aus und wird größtenteils nach einer Woche resorbiert (KOCHANNEK et al. 1995). Damit verbunden treten massive Druckerhöhungen auf. Doch egal auf welche Art der ICP steigt, die Folgen sind gefährlich: Hirnstammhernien, -kompressionen und Druckatrophie von Neuronen. Vor allem aber die posttraumatische Hypoperfusion wird verursacht oder verstärkt, insbesondere in der Mikrozirkulation. Kleine Gefäße werden dort stranguliert und abgequetscht. Ebenso wird der CPP davon beeinträchtigt und fällt. Eine Therapie zur Senkung eines erhöhten ICP gehört deshalb zu den ersten Notfallmaß-

nahmen. Ziel ist, das Volumen intrakranieller Kompartimente wie Blut, Gewebswasser, Liquor oder raumgreifender Prozesse zu verkleinern (LAFHEY und KAVANAGH 2002). Kenntnisse über den zeitlichen Ablauf pathologischer Prozesse ermöglichen eine sinnvolle Anwendung therapeutischer Interventionen. CRUZ (1995) folgert aus mehreren Studien, dass sich einer kurzen Phase der Hypoperfusion eine Hyperämie im Sinne des „*luxury perfusion syndroms*“ für ca. drei Tage anschließt. Diese Luxusperfusion ist verantwortlich für hochgradige ICP-Anstiege. Auch MARTIN et al. (1997) dokumentieren auf Grund eigener klinischer Untersuchungen und in Übereinstimmung mit anderen Arbeitsgruppen bestimmte Perfusionsphasen nach einem SHT. In den ersten 24 Stunden beschreiben sie eine Hypoperfusion, woran sich bis zum dritten Tag eine Hyperämie anschließt. In den nächsten zwei Wochen kann darauf ein Vasospasmus erfolgen. Die Vermutung, dass es innerhalb der ersten sechs Stunden zur gefährlichen Hypoperfusion des Gehirns kommt, scheint bestätigt (BOUMA et al. 1992a). In diesen Stunden ist die Vulnerabilität des Gehirns für sekundäre Noxen, im Speziellen einer Ischämie am größten (CHERIAN et al. 1996).

2.2.4 Schädel-Hirn-Trauma im Tiermodell

Wann, wo und wodurch ein SHT zustande kommt und wie schwer sich nach dem Überleben die Folgen gestalten, unterscheidet sich von Fall zu Fall erheblich. In klinischen Studien am Menschen erschweren viele Variable (z.B. Alter, Ursache, Basiserkrankungen, Zeit bis zum Ergreifen therapeutischer Maßnahmen, Behandlungsmöglichkeiten, Kontrollgruppen, Randomisierung, Blindung) die Standardisierung und machen den Datenvergleich fast unmöglich. Weil eine Aussage über Ursache, deren interagierende Mechanismen und Wirkung objektivierbar bleiben muss, wird versucht mit Tiermodellen einen zuverlässig reproduzierbaren, gleichartigen Schaden nachzuahmen. Es existieren verschiedene Modelle, die dabei helfen, selektiv bestimmte Teilaspekte der klinischen Situation nachzustellen. Als Untersuchungsgut bieten Laborratten einige Vorteile (DIXON et al. 1987):

- genaue Kenntnis von Alter, Gewicht, Zustand und genetischem Material
- Existenz vieler physiologischer und Verhaltens-Parameter als Vergleich
- Kompatibilität zu anerkannten neurochemischen und pharmakologischen Techniken
- hohe Resistenz gegen Infektionen
- niedrige Anschaffungs- und Unterhaltskosten
- niedrige Arzneimittelmengen auf Grund des geringen Körpergewichts

Einige der bedeutendsten Modelle für mechanische Traumatisierung des Gehirns werden im Folgenden beschrieben:

2.2.4.1 Trägheitsbeschleunigung (*Inertial acceleration*)

Das *Inertial acceleration*-Modell wurde von ROSS et al. (1994) am Minipig evaluiert. Durch freie, ungehinderte Rotation des Schädels wird eine Deformation und Traumatisierung des Gehirns erreicht. Einzige Steuerungsmöglichkeit besteht in der Rotationsbeschleunigung. Es entsteht vor allem tief in der weißen Substanz ein diffuser Axonschaden ohne Kontusion oder Blutungen, wie er beispielsweise beim Aufprall des Kopfes auf weiche Gegenstände zustande kommt.

2.2.4.2 Fallgewicht (*Wheight drop*)

Mit dem *Wheight drop*-Modell wurde das Prinzip der *impact acceleration*, einer durch ein fallendes Gewicht erzeugten unkontrollierten Kompression des Schädels, weiterentwickelt. Nach MARMAROU und Mitarbeitern (1994) besteht der Versuchsaufbau aus einem Stahlzylinder, der in einer Röhre geführt wird und im freien Fall auf den intakten Schädel auftrifft. Neu eingeführt wurden die Fixation des Kopfes, sowie ein Stahlzylinder mit definiertem Gewicht als Fallgewicht und eine Silikonscheibe unter dem Kopf, die den Aufprall dämpfen und vor Frakturen schützen soll. Durch Zylindergewicht, Fallhöhe und die Elastizität der Schädelunterlage kann die Traumastärke beeinflusst werden (MARMAROU et al. 1994).

Grenzen weist das Modell bei höheren Traumastärken mit zunehmender Anzahl von Schädelfrakturen und steigender Mortalitätsrate auf. Das pathologische Bild zeigt eine diffuse Hirnschädigung, geringe Kontusion an der Aufprallstelle, leichte petechiale und intraventrikuläre Einblutungen, aber dafür starke haemodynamische Auswirkungen. Für Teilaspekte wie langandauernde Hypertension, Blutflussdynamik und zerebrale Autoregulation infolge eines Traumas ist es gut geeignet (ENGELBORGHIS et al. 2000). Auch motorische und kognitive Funktionen werden inhibiert (SHAPIRA et al. 1988; TANG et al. 1997a).

Histologisch findet sich ein bilateral diffuser Axonschaden mit selektiven Verlusten vor allem im Kortex und Hippokampus (CA2 und CA3) (TANG et al. 1997b). Trotz der schlechten Quantifizierungsmöglichkeit des posttraumatischen Hirnschadens kann dieses Modell mit seiner einfachen minimalinvasiven Handhabung, der stark haemodynamischen Auswirkung und der Nachahmung eines ausgedehnten Traumas eine Alternative zu anderen Methoden bieten.

2.2.4.3 Kompression durch Flüssigkeit (*Fluid percussion*)

Mit dem *Fluid percussion*-Modell (*FP*) erreichten DIXON et al. 1987 eine bessere Kontrolle über das Trauma im Tiermodell an der Ratte. Heute gehört es zu den weitverbreitetsten SHT-Modellen und ist für viele Spezies etabliert (Hund, Katze, Schaf, Schwein, Ratte und Maus).

Der Versuchsaufbau ist jedoch aufwendig. Mit einer sagittalen oder lateralen Kraniotomie wird die unbeschädigte Dura mater freigelegt. Ein stabiles Plastikrohr muss unter hohem Zeitaufwand am Schädel montiert und abgedichtet werden, um Flüssigkeit in die Schädelhöhle leiten zu können. Diese Apparatur wird vollständig mit Flüssigkeit befüllt und mit einem Metallpendel, das am Kopf entgegengesetzten Ende die Flüssigkeitssäule komprimiert, wird das Trauma induziert. Es wird ein messbarer, variabler Druckimpuls, der sich konzentrisch im epiduralen Spalt über die komplette Gehirnoberfläche ausbreitet und eine kurzzeitige Deformation der Hirnmasse erzeugt.

Die Traumastärke wird durch die Höhe, aus der das Pendel die Flüssigkeitssäule trifft, reguliert. Es wird eine diffuse, bilaterale Axonschädigung in unterschiedlichen Hirnregionen verursacht. Abhängig von der Traumastärke können motorische (DIXON et al. 1987), aber auch kognitive Ausfälle (SMITH et al. 1991) belegt werden. Histologisch entstehen diffuse Blutungen, Ödem und nach längerer Überlebenszeit nekrotische Areale und Substanzverluste vor allem im Kortex. Als Nachteil zeigt sich die nachhaltige Beeinflussung des Hirnstamms und des Kleinhirns, was in der Praxis bei SHT-Patienten eher selten passiert und im Tiermodell zur Kreislaufinstabilität führt (DIXON et al. 1987). Die laterale FP bleibt dagegen unilateral begrenzt und spart den Hirnstamm aus (POVLISHOCK et al. 1994). Als Schwachstelle beider FP-Modelle offenbart sich jedoch ein Lungenödem, was nicht selten zum Tod der Tiere führt.

2.2.4.4 Kontrollierte traumatische Hirnrindenkontusion (*Controlled Cortical Impact*)

Das *Controlled Cortical Impact*-Modell (CCI) ist momentan das weitentwickeltste Traumamodell. Von LIGHTHALL wurde es 1988 am Frettchen etabliert und von DIXON et al. (1991) auf die Ratte übertragen. Von unabhängigen Arbeitsgruppen wurden inzwischen exakt reproduzierbare Ergebnisse geliefert (FORBES et al. 1998; THOMALE 2001; CHEN et al. 2003).

Dieses Traumamodell beruht ebenfalls auf einer Kraniotomie mit Freilegung der intakten Dura mater. Durch einen druckluftbetriebenen und computergesteuerten Schlagbolzen, der in einer Führungshülse gehalten wird, kann ein zielgerichtetes, lokal begrenztes Trauma gesetzt werden. Die Schwere der Schädigung ist mit Schussgeschwindigkeit, Eindringtiefe, Durchmesser des Bolzens und Kontaktdauer mit der Hirnoberfläche präzise einstellbar. Das Kontusionsareal ist schon makroskopisch als Schädigung der grauen Substanz deutlich abzugrenzen. Die ausführliche Beschreibung des Modells erfolgt im Kapitel 3.2.3.

Die Traumaschwere korreliert mit Störungen im CBF, Hirnödemen (KOCHANNEK et al. 1995), motorischen bzw. kognitiven Ausfällen und längeren Regenerationszeiten (GOODMAN et al.

1994; MARKGRAF et al. 2001). Ebenso werden Defizite des räumlichen Gedächtnisses (HAMM et al. 1992) und des nicht-deklarativen Gedächtnisses beschrieben (DIXON et al. 1999). Histologisch findet man zuerst ein hyperämisch begrenztes Kontusionsareal, im späteren Verlauf fokale hämorrhagische Nekrosen mit anschließender Hohlraumbildung und weitere nekrotische Zellbereiche auf der Einschlagseite, jedoch keinen diffusen Hirnschaden. Unter verschiedenen Bedingungen wurde außerdem besondere Sensitivität der CA1- (JENKINS et al. 1989) und der CA3-Region (FORBES et al. 1998) des Hippokampus nach dem Trauma belegt.

Der große Vorteil dieses Modells beruht auf der gezielten, kontrollierten und definierten Kontusion der Hirnrinde, der geringen Sterblichkeitsrate wegen fehlender Hirnstammläsionen und dem fokal begrenzten Gewebsschaden. Erst dadurch wird die systematische Bewertung in vergleichenden Studien für neuroprotektive Therapien ermöglicht (MARKGRAF et al. 2001; THOMALE 2001).

Tabelle 1 zeigt Unterschiede der verschiedenen SHT-Modelle im Vergleich. Bisher existiert kein einziges Tiermodell, das den zahllosen Variationen der Insulte, die sich in der Praxis bei einem SHT ergeben, gerecht wird. Spezifische Aspekte müssen an geeigneten Versuchsaufbauten einzeln etabliert werden (POVLISHOCK et al. 1994; BULLOCK et al. 1999).

Tabelle 1: Vergleichende Darstellung, in der die oben genannten Eigenschaften unterschiedlicher SHT-Modelle zusammengefasst werden.
(Bewertungsskala von - =nicht vorhanden bis +++ =sehr stark vorhanden)

<u>Eigenschaft:</u> / <u>Modell:</u>	Inertial acceleration	Wheight drop	Fluid percussion	Controlled cortical impact
Schädeleröffnung	-	-	+	+
Aufwand	+	+	+++	+++
Kontusion	-	+/-	+	+++
Steuerbarkeit	-	+	++	+++
Ausdehnung	diffus	diffus	diffus	fokal
Blutung	-	+	+	+++
diffuser Axonschaden	+	+	+++	-
Schadensquantifizierung	-	-	+	+++

2.3 Therapie des Schädel-Hirn-Traumas: Die Hyperventilation

Bislang existiert keine alleinige und direkt wirksame Therapiemaßnahme gegen die pathologischen Mechanismen, die von einem SHT initiiert werden. Eine adäquate symptomatische Behandlung nach neuestem Wissensstand über Neuroprotektion ist die einzige Möglichkeit, einen Sekundärschaden abzumildern (JANTZEN und PIEK 1997). Es gibt vielversprechende experimentelle Ergebnisse wie u.a. der Einsatz von Hypothermie (CLARK et al. 1996), die medikamentöse Anwendung von schwachen Pufferbasen (YOSHIDA und MARMAROU 1991) oder Stoffen mit neuroprotektiver Wirkung, wie z.B. die Aminosäure L-Arginin (CHERIAN et al. 2003). Trotzdem besteht auf diesem Gebiet immer noch Forschungsbedarf nach wirkungsvolleren Optionen und der richtigen Anwendung etablierter Methoden. Als Hauptleitlinien werden die CPP-Steigerung über 70 mmHg und die ICP-Senkung unter 20 mmHg angestrebt (HIMMELSEHER und PFENNINGER 2000).

Entscheidend für eine neuroprotektive Therapie nach erfolgtem SHT ist die Vermeidung einer zerebralen Ischämie, bzw. die Aufrechterhaltung der zerebralen Blutversorgung für O₂- und Energiemetabolismus. Diese werden in erster Linie von einem ausreichend hohen CPP gesichert, der wiederum direkt vom MAP abhängt. Volumensubstitution und Vasopressoreinsatz sind deswegen zur Stabilisierung des Kreislaufs und Blutdrucks indiziert (JANTZEN und PIEK 1997). Nach der Formel $CPP = MAP - ICP$ muss auch der ICP kontrolliert werden, weil Druckanstiege über 20 mmHg ebenfalls eine ausreichende Blutzufuhr gefährden. In deutschen Kliniken wird dazu am häufigsten eine Diurese mit Mannitol eingeleitet (HIMMELSEHER und PFENNINGER 2000). Akut wird dadurch eine Haemodilution, die den Kreislauf unterstützt, erreicht und nach einiger Zeit tritt die osmotische Wirkung ein, die einem Hirnödem und damit einem erhöhten ICP entgegenwirkt. Von Nachteil ist hierbei, dass bei gestörter BHS Mannitol ins Gewebe gelangen kann und lokal osmotisch den ICP erhöht. Zusätzlich besteht die Gefahr einer Nierenschädigung (akute tubuläre Nekrose). Fremdmassen in der Schädelhöhle (z.B. Hämatome), die den ICP steigern und zur Abschnürung der Blutzufuhr führen, können durch bildgebende Verfahren nachgewiesen und durch eine dekompressive Kraniektomie behoben werden. Für massive, therapieresistente Druck erhöhungen steht die Möglichkeit der Trepanation und Liquordrainage zur Verfügung. Für beide Verfahren ist allerdings ein invasiver, chirurgischer Eingriff nötig, der zeitintensiv ist und die Gefahr zusätzlicher Infektionen birgt (STRIEBEL 2003).

Die Senkung des ICP ist akut für das Überleben des Patienten essentiell und auf längere Sicht für die Vermeidung weiterer Folgeschäden absolut notwendig (MILLER et al. 1981). Da beim schweren SHT Beatmung und Anästhesie als lebenserhaltende Therapiemaßnahme

durchgeführt werden, gibt es hierbei ebenfalls Ansatzpunkte Druckanstiege zu minimieren. So haben Barbiturate den Vorteil, dass sie den Gehirnmotabolismus reduzieren. Dadurch wird im Gehirn eine Vasokonstriktion induziert, mit der eine Blutvolumensenkung und eine Reduzierung des ICP erreicht wird (STRIEBEL 2003). Nach ähnlichem Mechanismus wirkt die Hyperventilation. Ihre Vorteile liegen in der Effektivität den ICP schnell und zuverlässig zu senken und der leichten Anwendbarkeit während der mechanischen Beatmung (CROCKARD et al. 1973).

Eine der ersten Veröffentlichungen, die den positiven Einfluss der Hyperventilation auf einen erhöhten ICP beschrieb, stammt von LUNDBERG et al. (1959). Seitdem ist diese Methode schon jahrzehntelang Bestandteil des Therapiekonzepts von SHT-Opfern, die intubiert und kontrolliert beatmet werden. 1997 gaben in einer Umfrage 91 % aller beteiligten Kliniken an, dass sie Hyperventilation als zweithäufigste Maßnahme anwenden, um den ICP unter Kontrolle zu halten (HIMMELSEHER und PFENNINGER 2000). Dabei wird Hyperventilation nicht nur bei krisenhaften Druckanstiegen, sondern auch prophylaktisch ohne Hirndruckkontrolle eingesetzt (LAFHEY und KAVANAGH 2002). Generell wird zwischen aggressiver ($\text{PaCO}_2 \leq 28$ mmHg) und moderater Hyperventilation (PaCO_2 zwischen 28 und 35 mmHg) unterschieden.

2.3.1 Stoffwechseleränderungen

Unter Hyperventilation versteht man eine im Vergleich zur Produktion von Kohlendioxyd (CO_2) überwiegende CO_2 -Abatmung über die Lunge. Definiert wird sie über den Abfall des im Blut gelösten Kohlendioxydpartialdrucks (PaCO_2) unter den physiologischen Gehalt des arteriellen Blutes von 40 ± 5 mmHg (Hypokapnie). Eine Hypokapnie repräsentiert in diesem Sinne eine gesteigerte Eliminationsrate von CO_2 aus dem Extrazellulärraum mit nachfolgendem Verlust aus dem Intrazellulärraum. Diese Ausschleusung und der Abtransport von CO_2 bewirkt einen H^+ -Abfall mit gleichzeitiger Abpufferung des pH-Werts. Zusätzlich beeinflusst der niedrige CO_2 -Gehalt des Gewebes und damit verbunden der erhöhte pH-Wert die Aufnahme und Abgabe von O_2 . In CO_2 -reichem, saurem Milieu kann O_2 leicht abgegeben werden. Im alkalischen Milieu entsteht dagegen eine Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve und mehr O_2 verbleibt am Hämoglobin (BOHR-Effekt) (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991; LAFHEY und KAVANAGH 2002).

Als zweite Funktion im CO_2 -Stoffwechsel wird der Säure-Basen-Haushalt beeinflusst. Im Organismus gelöstes CO_2 liegt zum größten Teil als Bikarbonatpuffer ($\text{H}^+/\text{HCO}_3^-$) vor. Neben Hämoglobin, Plasmaproteinen und anorganischen Phosphatpuffern bildet es die

wichtigste, schnellste und respiratorisch beeinflussbare Regulationsgröße des pH-Wertes. Bei Ausfall dieses Systems ist der Organismus nur begrenzt fähig, Schwankungen des pH-Wertes auszugleichen. Erst nach einiger Zeit kann der pH-Wert über die Nieren kompensiert werden. Azidosen entstehen systemisch oder lokal z.B. in hypoxisch und entzündlich veränderten Geweben. Durch Entfernung von abgesättigtem H^+/HCO_3^- wird der pH-Wert ausgeglichen und kann sogar alkalisch werden. So reagiert der Körper physiologisch auf akute Krankheitszustände, die mit Azidose einhergehen (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 1991; LAFFEY und KAVANAGH 2002).

2.3.2 Neuroprotektive Wirkungen

In der Notfall- und Intensivmedizin wird die Hyperventilation als Therapieansatz zur Neuroprotektion geschätzt. Die Hyperventilation besitzt drei Wirkungsmechanismen:

- Regulation des zerebralen Blutflusses
- Senkung eines erhöhten ICP
- Ausgleich der metabolischen Azidose

2.3.2.1 Regulation des zerebralen Blutflusses

CO_2 diffundiert als kleines, lipidlösliches Molekül ungehindert über die BHS. Wird der $PaCO_2$ gesenkt, nimmt im Gehirn der Gehalt an CO_2 in Interstitium, im Liquor (CSF) und letztendlich in den Zellen selbst ab. Daraufhin wird eine globale, zerebrale Vasokonstriktion beobachtet. In vitro kann ein direkter und linear dosisabhängiger Effekt unterschiedlicher CO_2 -Konzentrationen im Bereich von 16 bis 95 mmHg auf intraparenchymal gelegene Arteriolen nachgewiesen werden (HARKIN et al. 1997). Hohe Konzentrationen erweitern die Gefäße, niedrige verengen das Lumen. Den Zusammenhang zwischen $PaCO_2$ und der hypokapnischen Vasokonstriktion sehen RAICHLE und PLUM schon 1972 als Antwort der Gefäße auf induzierte Veränderung des pH-Wertes im umliegenden Gewebe. Der Blut-pH ist dabei von geringer Bedeutung. Grund dafür ist das H^+ -Ion, ein sehr potentes Relaxans für die glatte Muskulatur zerebraler Arteriolen. Diese Reaktionen findet innerhalb weniger Sekunden statt (KONTOS et al. 1977). Im intakten Gefäßsystem des Gehirns agiert diese Interaktion als Autoregulationsmechanismus, d.h. der CBF wird in weiten Grenzen unabhängig vom Blutdruck konstant gehalten und den metabolischen Anforderungen angepasst. Sobald mit Hyperventilation eine Vasokonstriktion induziert wird, sinkt der CBF global ab. Unter langanhaltender (48 h) Hyperventilation wird keine Beeinträchtigung der CO_2 -Reaktivität an SHT-Patienten festgestellt. Nur in Zusammenhang mit einer Ischämie bei

geringen CBF-Werten tritt eine Beeinträchtigung der CO₂-Reaktivität auf (OBRIST et al. 1984) und in Arealen mit ischämischer Azidose ist die Autoregulation gestört (GOLDING et al. 1999). Trotz der unzureichenden Blutversorgung sind die Gefäße abhängig von der Azidose maximal dilatiert. Wegen dieser Vasoparalyse reagieren ischämische Hirnareale nicht auf Hyperventilation. Demnach geht man von einer Umverteilung des Blutes aus gesunden Hirnarealen zugunsten geschädigter Gebiete aus. Paradoxe Weise wird dort die regionale Perfusion angeregt, wogegen der CBF global fällt (RAICHLE und PLUM 1972). Dieses Phänomen beschreiben DARBY et al. (1988) an einem Patienten und bezeichnen es als „*Inverse Steal*“.

2.3.2.2 Senkung des intrakraniellen Drucks (ICP)

Intrakranielle Druckanstiege korrelieren mit zunehmend schlechteren Überlebenschancen und neurologischen Defiziten (MILLER et al. 1981). Wenn andere Hirnkompartimente ihre maximale Volumenkompensation erreicht haben, steigt der ICP exponentiell an. Solch exzessive Druckanstiege im Gehirn gefährden direkt den CPP. Wenn der CPP im gesunden Gehirn unter 50 mmHg fällt, reicht die zerebrale Perfusion nicht mehr zur Versorgung der Zellen aus. Nach einem Trauma ist ein Druck von mindestens 70 mmHg dafür nötig (STRIEBEL 2003). Es kommt zur zerebralen Ischämie, die wiederum eine Hirnschwellung durch Ödembildung verstärkt. Somit entsteht ein Circulus vitiosus, der unbedingt im Rahmen der Therapie unterbrochen werden muss. Hyperventilation induziert eine zerebrale Vasokonstriktion, wodurch der Gefäßwiderstand gesteigert und die zerebrale Blutzufuhr global gedrosselt wird. Der Blutvolumenanteil am intrakraniellen Fassungsvermögen sinkt dementsprechend stark. Einer Korrektur des PaCO₂ um 1 mmHg folgt sehr schnell eine ca. 3%ige Veränderung des CBF (GOLDING et al. 1999). Dieser Volumensenkung verdankt man die Möglichkeit den ICP zu senken. Eine intrakranielle Hypertensionskrise kann dadurch unter Kontrolle gebracht werden.

Bei Patienten mit globaler Hyperämie und luxusperfundierten Arealen ist ein ähnlicher Mechanismus ausschlaggebend: Die gestörte Autoregulation, vermittelt über den hypokapnischen Ausgleich der metabolischen Azidose, soll regeneriert werden. Die Gefäße können sich wieder verengen und CBV sowie ICP normalisieren sich. Zusätzlich wird der Bildung eines vasogenen Ödems entgegengewirkt. In hyperämischen Geweben ist der CPP erhöht. Getrieben von diesem hydrostatischen Druck erfolgt vermehrt eine Extravasation von Flüssigkeit und Molekülen über die BHS. Wenn der CBV erniedrigt wird, sinkt gleichzeitig der Druck in den Gefäßen und weniger Flüssigkeit kann austreten (LASSEN und CHRISTENSEN 1976).

2.3.2.3 Ausgleich der metabolischen Azidose

Nach dem SHT bestehen Perfusionsstörungen im geschädigten Gewebe. Wenn die Perfusion dort zu stark abfällt, kommt es zum O₂-Mangel und der Zellstoffwechsel schaltet von aerober auf anaerobe Glykolyse um. Dabei fallen H⁺-Ionen und Laktat aus dem Glukoseabbau an, was zur interstitiellen und neuronalen Gewebsazidose führt. Durch Hyperventilation kann diese Azidose schnell respiratorisch kompensiert werden. Abgesättigtes Bikarbonat wird aus den Geweben eliminiert und der pH-Wert erhöht sich rasch (LAFFEY und KAVANAGH 2002).

Wie in Kapitel 2.3.2.1 bereits erwähnt, ist die metabolische Azidose einerseits verantwortlich für eine Entgleisung der zerebralen Autoregulation, andererseits verändert sie die Permeabilität der Zellmembranen und fördert damit die Denaturierung von Enzymen und Membranproteinen. Zusätzlich laufen in saurem Milieu Reaktionen bevorzugt ab, die die Bildung und Wirkung von freien Radikalen fördern. Freie Radikale greifen die Zellmembran an und schädigen dadurch die Zellen (KEMPSKI 1994). Nach einem Trauma ist die Laktatazidose ausschlaggebend für ein schlechteres neurologisches Endergebnis (DE SALLES et al. 1986; DE SALLES et al. 1987).

2.3.3 Unerwünschte Wirkungen

Nach neueren Erkenntnissen kann Hyperventilation, trotz ihrer nützlichen Vorteile, weitreichende negative Wechselwirkungen mit sich bringen (MUIZELAAR et al. 1991; COLES et al. 2002). Diese können sein:

- zerebrale Ischämie
- Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt und Energiemetabolismus
- Folgewirkungen auf den intrakraniellen Druck

Hyperventilation induziert eine Abnahme des CBF, d.h. eine verminderte Perfusion des Gehirns. Man vermutet seit einiger Zeit, dass diese Minderperfusion so weit reicht, dass die metabolischen Anforderungen des Gehirns nicht mehr erfüllt werden können und dass die zerebrale Ischämie verstärkt oder sogar verursacht wird (RUTA et al. 1993). Diese Zunahme regional minderperfundierter Bereiche korrelieren mit einer ungünstigen Prognose für die Patienten, insbesondere wenn schon vor der Hyperventilation niedrigere CBF-Werte existieren (COLD 1989). Auch MUIZELAAR et al. (1991) konnten anhand einer Langzeitstudie nachweisen, dass SHT-Opfer, die nach dem Unfall aggressiv hyperventiliert werden, nach drei und sechs Monaten eine schlechtere neurologische Verfassung haben als die Kontrollgruppen. COLES et al. (2002) gehen in einer klinischen Studie an SHT-Patienten und gesunden Frei-

willigen dem Effekt moderater Hyperventilation auf den CBF nach. Bei den SHT-Patienten mit niedrigen CBF-Werten messen sie eine signifikante Zunahme kritisch durchbluteter Hirnareale (<20 ml/100 g/min). Unter ständiger Kontrolle der Oxygenierung wird aber kein ischämischer Schwellenwert erreicht. Im CCI-Modell mit einseitiger Hirnkontusion kann 24 Stunden nach dem Trauma an aggressiv hyperventilierten Ratten eine bedeutende Reduktion des Blutflusses in der geschädigten Hemisphäre gezeigt werden (FORBES et al. 1997b).

Allein die Senkung des CBF muss allerdings nicht zur Verstärkung einer Ischämie führen, wenn gleichzeitig die Sauerstoffrate konstant bleibt. DIRINGER et al. (2002) finden weder bei moderat noch aggressiv hyperventilierten Patienten Hinweise darauf, dass bei einem Absinken des CBF sogar unter 10 ml/100 g/min das Hirngewebe mit O_2 unterversorgt wird. Unter vollständiger Sättigung des Blutes mit Sauerstoff wird eine gleichbleibende arteriovenöse O_2 -Differenz und metabolische Sauerstoffrate gemessen. Erklärt werden diese gegensätzlichen Ergebnisse damit, dass traumatisiertes Gewebe eine reduzierte Metabolisierungsrate aufweist. Die niedrigen Flusswerte werden dementsprechend als Anpassung an den fallenden O_2 - und Energiebedarf gewertet. Kontinuierliche Messungen des zerebrovenösen PO_2 beweisen aber im Vergleich zum lokalen PO_2 im Hirngewebe des Thalamus, dass während Hyperventilations-Phasen ein Unterschied existiert. Der tatsächliche Gewebsgehalt an O_2 ist nämlich weit geringer als der venöse O_2 -Gehalt. Dieser Unterschied ist mit dem BOHR-Effekt zu erklären (LAFHEY und KAVANAGH 2002). Hinsichtlich dieser Ergebnisse wird auch die Anwendung von Messungen der arteriovenösen O_2 -Differenz in der Praxis als Kontrolle ausreichender Sauerstoffsättigung im Gehirn in Frage gestellt (NWAIGWE et al. 2000).

Weiterhin bestätigen metabolische Veränderungen den Verdacht, dass es unter der Anwendung von Hyperventilation zu beträchtlichen Perfusionsstörungen und zerebraler Ischämie kommt. Im hypoxischen Gewebe reichert sich Laktat an (s. Kapitel 2.3.2.3). SUTTON et al. (1990) stellen an gesunden Katzen dar, dass $PaCO_2$ -Werte unter 25 mmHg zu einer deutlichen Abnahme der venösen Sauerstoffsättigung und einem Anstieg der zerebralen Laktatkonzentration führen. Auch nach einem Trauma während Hyperventilation werden bedeutend höhere Laktatspiegel im Gehirn nachgewiesen (MUIZELAAR et al. 1991; VANNUCCI et al. 1997). Im gesunden, reaktionsfähigen Gewebe mag diese Veränderung keine Konsequenzen haben, aber in vorgeschädigtem Gewebe kann dieser Konzentrationsanstieg eine nicht tolerierbare Einschränkung der Blutzufuhr bedeuten.

Dem Anstieg der Laktatkonzentration folgt auch eine schadhafte Zunahme an H^+ -Ionen, die durch das Entfernen von abgesättigtem Bikarbonatpuffer ausgeglichen und somit der pH-Wert abgepuffert wird. Der Effekt der pH-Pufferung wirkt jedoch nur begrenzt und nach kurzer

Zeit kehrt sich der positive Einfluss um. Während prolongierter Hyperventilation zeigte sich ein deutlicher Verlust an Bikarbonatpuffer und damit ein Rückfall des pH-Wertes ins saure Milieu innerhalb von 20 Stunden (MUIZELAAR et al. 1988). YOSHIDA und MARMAROU (1991) demonstrierten genauer, dass es bereits nach 4 Stunden zu einem signifikanten Abfall des Bikarbonatpuffers (bis 15,9 mmol/l) kommt.

Einhergehend mit den pH-Wert-Verschiebungen lässt sich auch der Umkehreffekt auf den ICP erklären. Sobald hyperventiliert wird, fällt der ICP rasch. Die Anhebung des pH-Wertes im Blut und Liquor sorgt für effiziente Vasokonstriktion mit vermindertem Blutvolumen. Unter dem Einfluss kontinuierlicher Hypokapnie bleibt der Blut-pH-Wert erhöht. Im Liquor fällt er allerdings nach 24 Stunden wieder auf Ausgangswerte (MUIZELAAR et al. 1988), was auch an völlig gesunden Menschen bestätigt werden kann (RAICHLE und PLUM 1972). Abhängig von dieser pH-Wert-Änderung und nicht vom PaCO₂ erweitern sich die Gefäße zu diesem Zeitpunkt wieder. Sie öffnen sich sogar leicht über den ursprünglichen Zustand hinaus. Wird der PaCO₂ wieder in den normalen Bereich angehoben, verschiebt sich der pH-Wert im CSF in den azidotischen Bereich. Die Bedeutung liegt aber in der daraus resultierenden Überempfindlichkeit auf transiente PaCO₂-Unterschiede, die aus Mangel an Pufferbasen nicht kompensiert werden kann. Eine geringe Vergrößerung des Gefäßvolumens hat im traumatisierten Gehirn aber eine enorme Steigerung des CBF, eine Hyperperfusion des geschädigten Gewebes und damit eine erneute Erhöhung des ICP zur Folge (MUIZELAAR et al. 1988; LAFFEY und KAVANAGH 2002). MUIZELAAR et al. (1991) zeigen als Reaktion auf diese transienten PaCO₂-Unterschiede ca. 40 Stunden nach Beginn der Hyperventilation zunehmend sprunghafte ICP-Erhöhungen bei SHT-Patienten.

Außerdem befürworten manche Autoren eine starke Erhöhung des pH-Wertes nicht unbedingt. Kultivierte Nervenzellen sind an sich sehr widerstandsfähig gegen Azidose. Ein moderater pH-Abfall hat damit einen neuroprotektiven Effekt auf den Erhalt von NMDA-Rezeptor-Aktivitäten. Am Rezeptor-assoziierten Ionenkanal wird der toxische Kalziumeinstrom inhibiert, der unter anderem für den ischämischen Zelluntergang verantwortlich gemacht wird (GIFFARD et al. 1990; TAKADERA et al. 1992; EKHOLM et al. 1995). Zudem steigert die hypokapnische Alkalose die Erregungsbereitschaft von Neuronen. Da die Versorgung der Zellen mit O₂ vermindert ist (BOHR-Effekt, absolute Ischämie), reicht die Aktivität der Na⁺-K⁺-Pumpe nicht mehr aus, das Membranpotential aufrecht zu erhalten. Die Depolarisationsschwelle und damit auch die Krampfneigung steigt. Infolgedessen erhöht sich der Stoffumsatz und damit der O₂-Verbrauch allerdings noch zusätzlich, was eine perfusionsbedingte Ischämie schließlich weiter fördert (LAFFEY und KAVANAGH 2002).

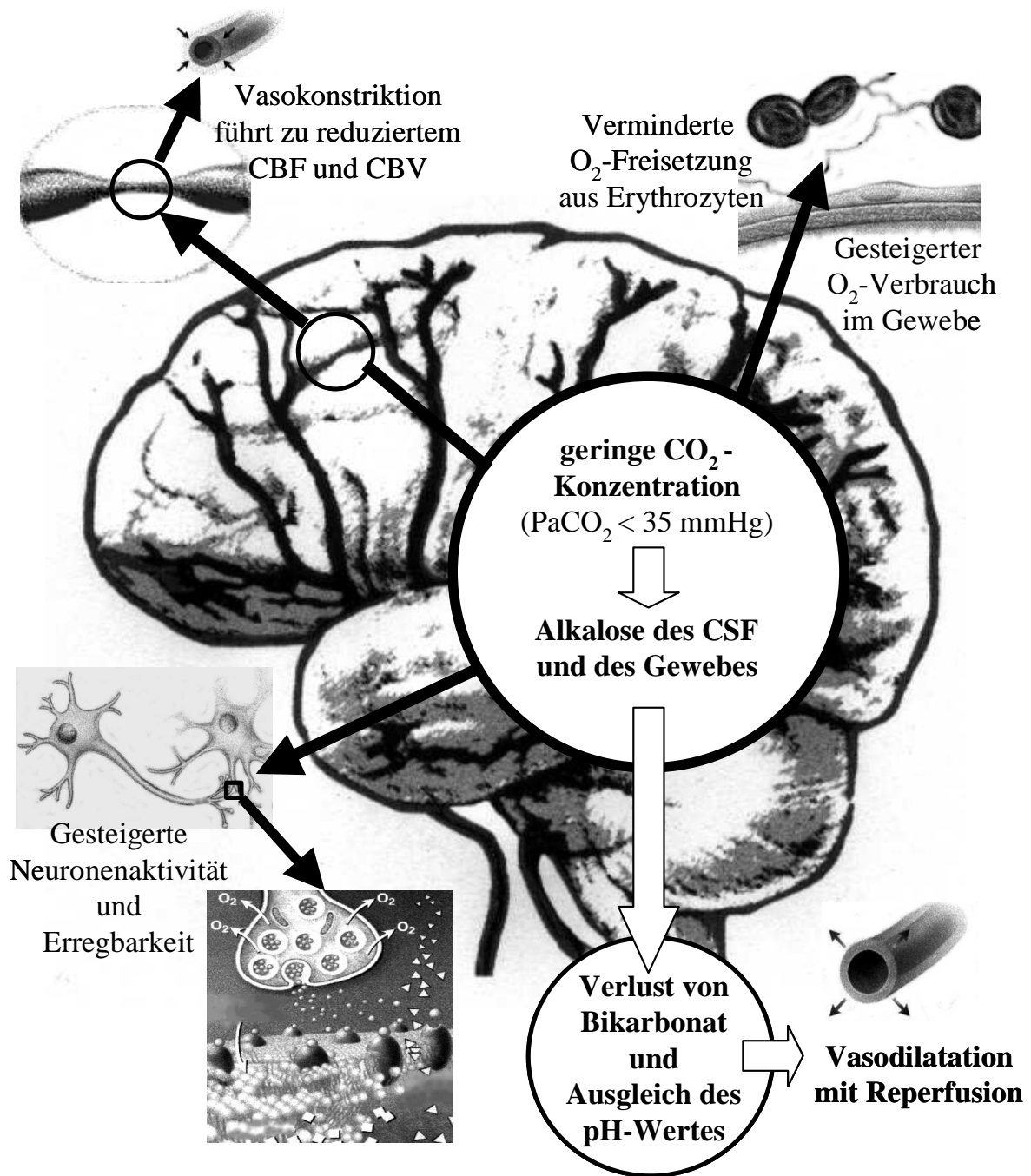


Abbildung 5: Schema über Wechselwirkungen von Hypokapnie auf das Gehirn, modifiziert nach LAFFEY und KAVANAGH (2002);

Abkürzungen: CBF (zerebraler Blutfluss), CBV (zerebrales Blutvolumen), CSF (Liquor), O₂ (Sauerstoff), CO₂ (Kohlendioxid), PaCO₂ (arterieller Kohlendioxid-Partialdruck)

2.4 Neurokognitive, -motorische und histologische Evaluierung des posttraumatischen Schadens

Experimentelle Techniken umfassen ein weites Spektrum an Untersuchungsmöglichkeiten. Je mehr Daten und Informationen sich über eine Fragestellung ermitteln lassen, desto sinnvoller und aussagekräftiger ist ein Versuch. Bildgebende Verfahren, Laboruntersuchen und molekularbiologische Methoden bilden ein umfangreiches Schadensspektrum. Eine Überprüfung der klinischen Auswirkungen ist allerdings nur am lebenden Organismus mit spezifischen Tests, die das Verhaltensspektrum der Tiere erfassen, eingeschränkt möglich.

2.4.1 Verhaltenstest

2.4.1.1 Definition von Verhaltenstests

Ethologie ist die Lehre vom artspezifischen Verhalten. Alle Verhaltensweisen einer Tierart werden in einem sogenannten Ethogramm erfasst, das bestimmte Verhaltensweisen mit gleicher Aufgabe und Wirkung in Funktionskreisen erfasst, so z.B. für Nahrungsaufnahme, Fortbewegung und Aggressionsverhalten (IMMELMANN 1982). Tiere können sich ihrer Umwelt nur durch ihr Verhalten und begrenzt akustisch mitteilen. Das Verhalten jeder Tierart basiert auf angeborenen und erworbenen Erfahrungen, d.h. ihrem naturgegebenen Instinkt, einer von Generation zu Generation vererbten Handlungsweise, und individuell erworbenem Wissen. Einige Reizantworten liegen präformiert als unbedingte Reflexe vor (z.B. Drohreflex, Fluchtreflex, Kniesehnenreflex), andere laufen automatisch ohne bewusstes Lernen oder Erinnern ab. Zielgerichtete Handlungen werden dagegen immer unter Beteiligung von Bewusstsein und bewusstem Erinnern generiert.

Speziell über kognitive und emotionale Gefüge können bei Tieren keine direkten Messungen und Aussagen eingeholt werden. Weil der Zweck des Nervensystems aber unter anderem die Prägung von Verhalten ist, geben Verhaltensanalysen Einblick in die neurologische Funktion (WHISHAW et al. 1997). Als einen ethologischen Funktionstest bezeichnet man demnach einen Verhaltenstest, mit dem Rückschlüsse auf neurologische Funktionsstörungen von Tieren gewonnen werden (GÜTTNER et al. 1993).

Abweichungen vom normalen, artspezifischen Verhalten deuten Änderungen im genetischen Material, Fehlprägung, schadhafte Umweltbedingungen und Krankheiten an (GÜTTNER et al. 1993). Mit solchen Verhaltensstörungen versuchen Tiere endogene oder exogene Mängel zu kompensieren. 1972 wurde der Einfluss des tierspezifischen Verhaltens auf das Wohlbefinden auch im Tierschutzgesetz verankert, indem „verhaltensgerechte Haltung“ für Tiere gefordert

wird, um Schmerz und Leid zu vermeiden (GRAUVOGL 1984). In einer vergleichenden Untersuchung kann gezeigt werden, dass Verhaltenstests Einschränkungen des Wohlbefindens, Schmerz und Leid von Labortieren durch Verhaltensänderungen aufspüren (LAININGER 1989).

2.4.1.2 Funktion von Verhaltenstests

Es gibt viele Hinweise, dass während der Evolution vor allem innerhalb derselben Tiergruppe grundlegende Prozesse erhalten geblieben sind, auf die Medikamente oder andere Manipulationen Auswirkungen zeigen. Solche Prozesse werden auf zellulärer Ebene, wie z.B. das Phänomen der Langzeitpotenzierung (BLISS und COLLINGRIDGE 1993), genauso wie im Verhalten der Tiere deutlich. Dazu zählen motorische Bewegungsmöglichkeiten oder Reflexe, sowie die komplexen Prozesse des Lernens und des Gedächtnisses (SQUIRE 1992; MACPHAIL 1996).

Viele Testaufbauten stellen Ansprüche an Bewegungsapparat und Kognition, die in der Natur nicht vergleichbar vorliegen, oder es unbekannt ist, wie die Tiere in ihrer ursprünglichen Wildform darauf reagieren würden. Nach MACPHAIL (1996) muss ein Test speziesgerecht konstruiert und die Eigenheiten der jeweiligen Tierart berücksichtigt werden. Unterschiedliche Tierarten benötigen unterschiedlich lange Lernzeiten und eine variierende Anzahl von Wiederholungen, um einen Test zu beherrschen (STECKLER und MUIR 1996). Vorzugsweise Säugetiere sind ähnlich wie der Mensch fähig, komplexe Fragestellungen zu erlernen, sich aktiv vorwärts zu bewegen und räumlich zu orientieren. Im Unterschied zu vielen anderen Tierarten vermögen Nagetiere darüber hinaus, feinmotorische Bewegungen mit der Kau- und Lippenmuskulatur auszuführen und ihre Vordergliedmaßen als Greifwerkzeuge zu gebrauchen (WHISHAW et al. 1997). PANG et al. (1992) bestätigen zudem, dass Ratten durch ständige Wiederholung komplexe Aufgabenstellungen lösen und ihre Reaktionszeit verbessern. Auf Reize, die sie ähnlich schon kennen gelernt haben, machen sie wie der Mensch Routinefehler, wenn der Ablauf einmal anders ist, als sie erwarten.

Die Bewertung des Verhaltens setzt viel Erfahrung des Untersuchers und Kenntnisse über die jeweilige Tierspezies voraus. Eine objektive Analyse muss darüber hinaus durch test-spezifische Parameter gesichert werden. Direkte Beobachtung vermittelt einen Gesamteindruck über das Verhalten des Tieres und auch feine Bewegungsmuster entgehen dem aufmerksamen Auge nicht (KOLB und WHISHAW 1985). Trotzdem ist bei selbst erstellten Versuchsprotokollen der subjektive Einfluss des Untersuchers nicht sicher auszuschalten. Aktives Testen spezifischer Parameter ist passivem Beobachten vorzuziehen (COMBS und D'ALECY

1987). Solche Parameter ermöglichen obendrein den Einsatz automatisierbarer Aufzeichnungsgeräte und digitaler Auswertung, welche die Objektivität erhöhen (KOLB und WHISHAW 1985) und Untersuchungen an mehreren Tieren gleichzeitig und kontinuierlich über ein langes Intervall zulassen (BENINGER et al. 1985; SANBERG et al. 1985).

Tests, die sich in Aufbau und Aussagekraft gleichen, lassen trotzdem keinen direkten Vergleich der Parameter zu. Es gibt immer abweichende Eigenschaften (Motivation, Stress, Lernablauf), die ein Ergebnis verändern (HODGES 1996). Um eine konkrete Aussage über den Grad einer Abweichung vom Normalverhalten machen zu können, muss eine Vergleichsgruppe gebildet werden. In vergleichenden Studien kann damit der Einfluss eines Medikamentes oder von Manipulationen verdeutlicht werden. Bei dieser Kontrollgruppe handelt es sich um Tiere gleichen Alters und Geschlechts, die identisch gehalten und behandelt werden. Als einzigen Unterschied erhalten sie nicht die zu prüfende Substanz oder den speziellen Eingriff (ARCHER 1973).

Entsprechend der Vorgehensweise in der humanen Neurophysiologie ist es sinnvoll, als Standardmethode den physiologischen Verhaltensstatus kennen zu lernen (KOLB und WHISHAW 1985) oder Tieren vor einem Eingriff etwas beizubringen, um nachher über einen längeren Zeitraum Veränderungen erkennen zu können. Diese Methodik beinhaltet drei Vorteile: Erstens gelingt es, die Variabilität zwischen den Tieren zu minimieren, zweitens kann jedes Tier mit seiner Ausgangsleistung verglichen werden und drittens verlieren äußere Einflüsse an Bedeutung (OLTON und PAPAS 1979).

2.4.1.3 Beispiele gebräuchlicher Verhaltenstests

Verhaltenstests zeigen Veränderungen im Verhalten von Lebewesen auf, die Rückschlüsse auf die neurologische Funktion zulassen (WHISHAW et al. 1997). Jeder Test setzt spezifische Schwerpunkte in seiner Aussagekraft. In den ersten Verhaltenstests gelang es, emotionale Veränderungen im Verhalten von Tieren nachzuweisen (ARCHER 1973). Daraus entwickeln sich komplexere Versuchsaufbauten, insbesondere räumliche Tests (OLTON und PAPAS 1979; MORRIS et al. 1982; FURUYA et al. 1988; OHL et al. 2001a), mit denen sogar einzelne abstrakte Gedächtnisparameter gemessen werden können. Neurologisch-motorische Funktionen dagegen werden leichter durch exakt definierte pathologische Bewegungsabläufe oder Reflexausfälle beurteilt. Es ist aber ebenso möglich, Aussagen über motorische Leistungen in kognitiven Tests zu ermitteln oder zusätzlich speziell motorisch ausgerichtete Verhaltenstests einzusetzen.

Im Folgenden werden etablierte und gebräuchliche Verhaltenstests bei Ratten beschrieben. In vergleichenden Zusammenstellungen zeigen sich gravierende Unterschiede in der Aufwendigkeit des Versuchsaufbaus, den Ansprüchen an die Tiere, den Messparametern und deren Aussagekraft. Diese werden vergleichend in Tabellen dargestellt. Überschneidungsbereiche in der Auswertbarkeit, insbesondere explorative, emotionale und motorische Komponenten, gibt es bei nahezu allen Tests. Die Unterteilung in emotional, kognitiv und motorisch beschreibt den Schwerpunkt, auf den der jeweilige Versuch abzielt.

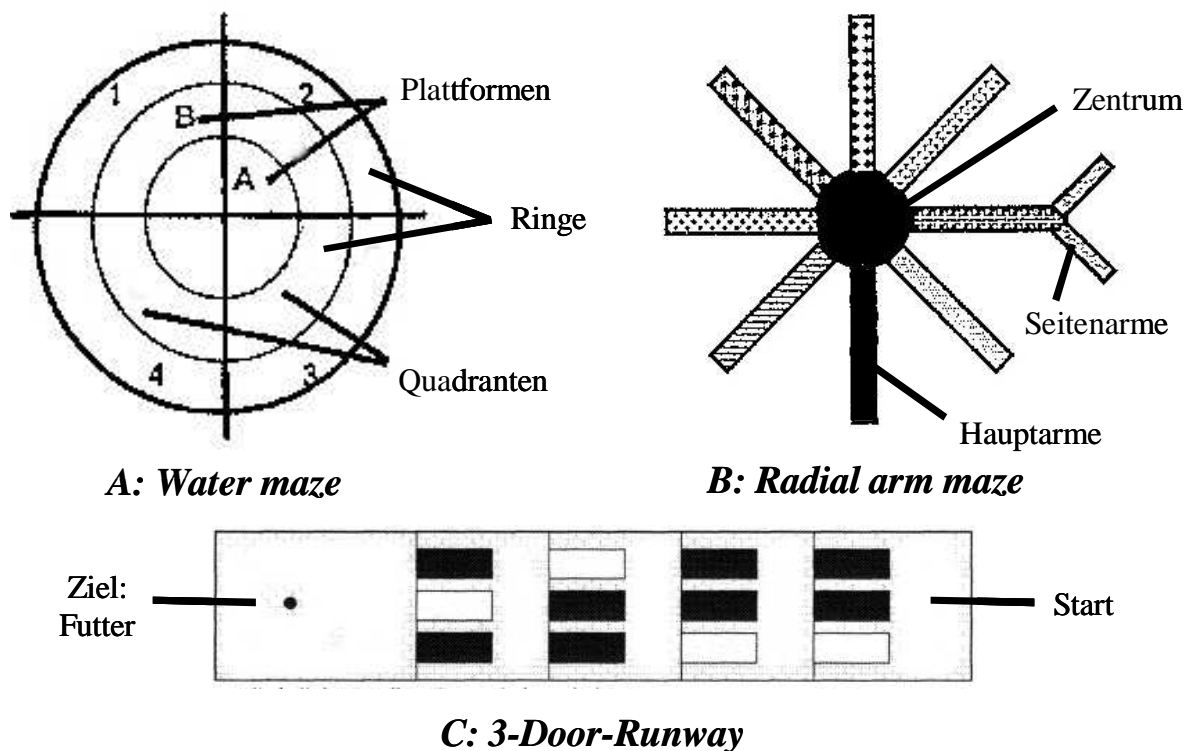


Abbildung 6: Schematische Darstellung verschiedener Labirinth-Test (A: Morris' water Maze, B: Radial arm Maze, C: 3-Door-Runway) modifiziert nach HODGES (1996)

Verhaltenstests zur Untersuchung emotionaler Aspekte

▪ **Hole-Board-Test (HB-Test)**

(BOISSIER und SIMON 1962; FILE und WARDILL 1975)

Im Boden einer Box befinden sich mehrere eingelassene Löcher. Die Tiere werden im Zentrum der Box abgesetzt und ihr Verhalten wird eine definierte Zeit lang beobachtet. Es gibt folgende Optionen: Lochanzahl, Zeitbeschränkungen und Wiederholung des Tests in gewissen Zeitabständen (Retests), um über eine längere Periode ohne Gewöhnungseffekt Verhaltensänderungen zu erfassen.

Table 2: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Hole-Board-Test

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Anzahl aller Lochbesuche • Lochbesuche am selben Loch • Zeit am Loch • Aufrichten, Putzaktionen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ v.a. Exploration ➤ Angst ➤ Motorik 	<ul style="list-style-type: none"> + wenig Material- und Zeitaufwand + kaum durch motorische Defizite beeinträchtigt —eingeschränkte Aussagekraft

▪ **Open-Field-Test**

(HALL 1934; BROADHURST 1957; ARCHER 1973)

Eine offene, runde Versuchsarena mit hoher undurchsichtiger Umrandung und ohne Rückzugsmöglichkeit wird gleichmäßig intensiv ausgeleuchtet. Ihre Grundfläche ist in Außenfelder um ein Zentralfeld unterteilt und ein definiertes Außenfeld wird als Startpunkt festgelegt. Mit diesem Aufbau wird eine ungewohnte, stark emotionsgespannte Atmosphäre erzeugt. Dieser Effekt ist nötig, um feine Verhaltensänderungen zu verstärken, kann aber nur einmalig oder kurzfristig ausgenutzt werden. Als Wecksignal ertönt nach einiger Zeit ein lauter Ton in sämtlichen Frequenzen, damit jene Frequenz dabei ist, auf die Versuchstiere besonders empfindlich reagieren.

Table 3: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Open-Field-Test

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Zeitmessungen • Feldüberquerungen • Bewegungsbeobachtung • Anzahl des Aufrichtens • Urin- u. Kotabsatz • Putzaktionen • Futteraufnahme 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ v.a. Emotionalität, insbesondere Angst ➤ Exploration ➤ Motivation ➤ Allgemeinbefinden ➤ Motorik 	<ul style="list-style-type: none"> + feinste Verhaltensänderung in Stresssituation sichtbar + subjektiver Untersuchereinfluss + auch psychischer Aspekt —Nahrungskarenz —Stresssituation —schneller Gewöhnungseffekt, keine Langzeitbeobachtung

▪ **Automatisierte Bewegungsmessung**

(BENINGER et al. 1985; SANBERG et al. 1985)

Nach Prinzip des Open-Field-Tests wird die Beobachtung durch automatisierte Messung durch vertikale und horizontale Infrarotsensoren ersetzt.

***Tabelle 4:** Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile bei automatisierter Bewegungsmessung*

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Bewegungsaktivität, -dauer und -geschwindigkeit • zurückgelegte Distanz • Ruhezeiten • Stereotypien 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ v.a. motorische Aktivität ➤ Exploration ➤ Motivation ➤ Allgemeinbefinden 	<ul style="list-style-type: none"> + erhöhte Objektivität + kontinuierliche Beobachtung mehrerer Tiere zugleich –Verlust von feinen Bewegungsmustern –eingeschränkte Aussagekraft –Gewöhnungseffekt

Verhaltenstests zur Untersuchung neurokognitiver Fähigkeiten

▪ **Maze-Tests (Labyrinth-Tests)**

Maze-Tests sind labyrinthartig aufgebaute Testfelder. Ihr Prinzip ist es, das Tier zu motivieren Aufgaben zu bewältigen, die das Erinnerungsvermögen und die optisch-räumliche Orientierung erfordern. Unterschiedliche Testaufbauten tasten einzelne kognitive Funktionen von Versuchstieren ab (Gedächtnis, optisch-räumliche Orientierung, Exploration, Motivation und auch Motorik). Nicht jeder Test eignet sich gleich gut für spezielle Fragestellungen (HODGES 1996).

Im Folgenden werden einige wichtige Maze-Tests vorgestellt (s. Abbildung 6):

▪ **Morris' water maze (MWM-Test)**

(MORRIS et al. 1982; MORRIS 1984; HODGES 1996)

Die Versuchsarena ist ein schwarz gestrichenes Schwimmbecken, das optisch markiert in vier Quadranten und drei Ringbereiche unterteilt ist. Das Wasser wird mit ungiftigen Substanzen (Milchpulver, Sägemehl) undurchsichtig gemacht. An definierter Stelle befindet sich unter Wasser eine durchsichtige Zielplattform, die bewegt werden kann. Die Tiere müssen schwimmend diese Plattform erreichen und sich aus dem Wasser begeben.

Optional: unterschiedliche Startpunkte, eine zweite, nicht befestigte „falsche“ Plattform mit oder ohne optischer Markierung, Wiederholungen des Versuchs (s. Abbildung 6, Figur A).

Table 5: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Morris' water Maze

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Schwimmstrecke • Schwimmgeschwindigkeit • durchschnittlicher Abstand zur Plattform • Aufenthalt in den verschiedenen Quadranten • Auffinden der Plattform • Betreten der falschen Plattform 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ räumliche Orientierung (veränderte Startposition mit fixer versteckter Plattform) ➤ visuell-räumliche Orientierung (Unterscheidung der optisch markierten falschen Plattform) ➤ Deklaratives Gedächtnis (Wahl der richtigen von zwei Plattformen) ➤ Arbeitsgedächtnis (Wiederholungsversuche bei wechselnder Plattformlokation) ➤ Motorik 	<ul style="list-style-type: none"> + keine Nahrungskarenz + schnell erlernbar + testet v.a. Lernunterschiede und das Arbeitsgedächtnis + unterschiedlichste Aussagekraft durch flexible Testaufbauten + hohe Vergleichbarkeit, da häufig verwendet –für Langzeitbeobachtungen des Gedächtnisses ungeeignet –hoher physischer Stressfaktor, bei körperlicher Beeinträchtigung (OP) sind mehrtägige Regenerationszeiten nötig –Motivation (Fluchtreaktion vor Wasser) ist psychischer Stress –hoher Materialaufwand

▪ **Radial arm maze (RAM-Test)**

(OLTON und SAMUELSON 1976; HODGES 1996)

Eine sternförmige Anordnung von in Muster und Textur unterschiedlichen Labyrintharmen, laufen auf eine kleine zentrale Arena als Start zu. Bestimmte Arme enthalten Futter, das von den Tieren gefunden werden soll. Optional kann durch Seitenarme die Komplexität erhöht werden (s. Abbildung 6).

Table 6: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Radial arm Maze

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Anzahl der Armbesuche • Wiederholte Besuche (Wiederholung) • Besuche in Armen, die nie Futter enthalten (Fehler) • Gesamtzeit bis zum Auffinden aller Belohnungen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Arbeitsgedächtnis (Wiederholungen) ➤ Langzeitgedächtnis (Fehler) ➤ visuell-räumliche Orientierung ➤ Motivation/ Exploration ➤ Motorik 	<ul style="list-style-type: none"> + unterschiedlichste Aussagekraft + Arbeits- u. Langzeitgedächtnis im selben Test zu ermitteln + Langzeitbeobachtung möglich –Nahrungskarenz –Transport und ungewohnte Umgebung –langes Training –olfaktorische Beeinflussung

▪ **3-Door-Runway**

(FURUYA ET AL. 1988; HODGES 1996)

Ein Versuchsgang wird durch drei Barrieren in vier Abteilungen getrennt. In jeder Barriere befinden sich drei Türen, von denen jeweils nur eine offen steht. Im ersten Abteil wird die Ratte eingesetzt. Sie muss den offenen Weg zum Futter im letzten Abteil erreichen. Die Kombination des offenstehenden Weges ändert sich täglich (s. Abbildung 6).

Table 7: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im 3-Door-Runway

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Gesamtzeit bis zum Erreichen der Futterbelohnung • Wiederholungen einer Tür • Fehler bei gleicher Wegkombination 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Arbeitsgedächtnis (Wiederholungen) ➤ Langzeitgedächtnis (Fehler) ➤ visuell-räumliche Orientierung 	<ul style="list-style-type: none"> + vielseitig auswertbar + wenig Material- und Zeitaufwand –Nahrungskarenz –Transport und ungewohnte Umgebung

▪ **Modifizierter Hole-Board-Test nach OHL**

(OHL ET AL. 1998; OHL ET AL. 2001A)

Kombination aus Open-Field (s.o.) und HB-Test (s.o.): Versuchsaufbau im artspezifischen Heimtierkäfig mit integrierter Versuchsarena, die ein offenes Feld darstellt. Darin wird zusätzlich ein Hole-Board genutzt, an dem die Tiere erlernen, markierte Löcher, in denen sich eine Futterbelohnung befindet, zu öffnen. Eine detailgenaue Beschreibung erfolgt in Kapitel 3.2.4.1.

Table 8: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im modifizierten Hole-Board-Test nach OHL

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Fehlerhaft und wiederholt geöffnete, sowie ausgelassene Löcher • Zeit bis zum Betreten des Hole-Board, Gesamtzeit • Fresszeiten • Immobilitäten • Aufrichten, Putzaktionen • Urin-, Kotabsatz • Sozialkontakte • Linienüberquerungen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Arbeitsgedächtnis (Wiederholungen) ➤ Deklaratives Gedächtnis (Fehler) ➤ räumliche oder räumlich-visuelle Orientierung ➤ Angst, Emotion ➤ Motivation ➤ Exploration ➤ Allgemeinbefinden ➤ Motorik 	<ul style="list-style-type: none"> + sehr vielseitiger Test + Gedächtnistest + Langzeitbeobachtung möglich + stressarm + Sozialkontakte möglich + kein Transport –intensive Beobachtungszeit –hoher Materialaufwand –langes Training

Verhaltenstests zur Untersuchung neurologisch-motorischer Fähigkeiten

▪ **Drahtgitter-Test (Screen-Test)**

(COMBS UND D'ALECY 1987)

Die Tiere werden auf ein horizontales Drahtgitter, das über eine weiche Unterlage gehalten wird, gesetzt. Das Gitter wird langsam über den Kopf der Ratte in eine vertikale (90 °) und eine umgekehrt horizontale (180 °) Position gedreht.

Tabelle 9: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Drahtgitter-Test

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Haltezeit während der verschiedenen Neigungswinkel • Greifvermögen • Verhalten nach Fallenlassen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Gleichgewichtssinn ➤ Muskelkraft ➤ Motorik ➤ Stellreflex nach Fallenlassen 	<ul style="list-style-type: none"> + einfach, geringer Zeit- und Materialaufwand –hoher psychischer und physischer Stressfaktor

▪ **Balken-Gleichgewichts-Test (Beam Balance)**

(DIXON ET AL. 1987; SHAPIRA ET AL. 1995)

Die Ratten sollen auf einem schmalen Balken (Breite 1,5 cm), der in ca. 40 cm Höhe installiert wird, balancieren. Optional kann die Balkenbreite verändert werden.

Tabelle 10: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Balken-Gleichgewichts-Test

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Zeit bis Gleichgewichtsverlust • Zeit bis zum Fallenlassen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Gleichgewichtssinn ➤ Muskelkraft 	<ul style="list-style-type: none"> + hohe Vergleichbarkeit, da häufig verwendet + einfacher Versuchsaufbau

▪ **Balken-Geh-Test (Beam Walking)**

(FEENEY ET AL. 1982; BECKER ET AL. 1987)

Die Ratten sollen einen schwebenden Balken (Breite 2,5 cm) überqueren. Als Motivation zum Laufen fungiert eine Licht- und Geräuschquelle am Startpunkt. Das Ziel ist eine schwarze Box am anderen Ende des Balkens, in die die Tiere flüchten. Optional können die Tritte durch Einfärben der Pfoten besser sichtbar gemacht oder kleine Hindernisse aufgestellt werden.

Table 11: Vergleichende Zusammenstellung von Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Balken-Geh-Test

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Zeitmessung • Zählung der Fehlritte 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ motorische Fähigkeiten, ➤ Stellreflex ➤ Gleichgewicht 	<ul style="list-style-type: none"> + gezielte Beurteilung der kontralateralen Schädigung der Hirnrinde zu beurteilen + hohe Vergleichbarkeit, da häufig verwendet + einfacher Versuchsaufbau

▪ **Greif-Zug-Test (Prehensile traction)**

(COMBS UND D'ALECY 1987)

Die Ratte wird mit den Vorderpfoten an ein hoch und horizontal gespanntes Seil gehängt, so dass die Hinterfüße den Boden nicht berühren.

Table 12: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Greif-Zug-Test

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Fähigkeit zu greifen • Haltezeit des Tieres • Fähigkeit mit den Hinterbeinen nachzugreifen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Motorik ➤ Muskelkraft der vorderen Extremität ➤ Gleichgewicht ➤ Stellreflex 	<ul style="list-style-type: none"> + hohe Vergleichbarkeit, da häufig verwendet + einfacher Versuchsaufbau

Alternativ gibt es einen weiteren Greif-Zug-Test (MÜLLER 2004), der fast dieselbe Aussagekraft hat, aber nicht so häufig verwendet wird. Die Ratte wird dabei mit den Vorderpfoten an die Kante eines rechtwinkligen (horizontaler und vertikaler Anteil), mit Teppich überzogenem Holzplattengestells gehängt. Sie muss sich aus eigener Kraft auf das Podest ziehen.

▪ **Röhren-Test (Chimney-Test)**

(BOISSIER ET AL. 1960; PALISSA UND BECKER 1986)

Die Tiere klettern in eine enge, waagrechte Röhre, in der sie sich nicht umdrehen können. Die Röhre ist durchsichtig und hat Löcher zum besseren Greifen. Nach Aufstellen der Röhre in die Vertikale muss das Tier rückwärts entgegengesetzt der Schwerkraft wieder hinausklettern. Optional kann die Röhre auf Tuch mit Repellens (z.B. Formalin) gestellt werden, damit die Tiere zum Klettern motiviert werden.

Table 13: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Röhren-Test

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Latenzzeit bis Kletterbeginn • Kletterzeit • Urin-, Kotabsatz 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Motorisch: negative Geotaxis, Koordinationsvermögen, Muskelkraft ➤ Psychische Ebene: Exploration, Angst 	<ul style="list-style-type: none"> + geringer Zeit- und Materialaufwand + auch psychischer Aspekt + einfacher Versuchsaufbau –hoher psychischer und physischer Stressfaktor

▪ **Rotierender Stab (Rotarod)**

(HAMM ET AL. 1994)

Die Tiere werden auf einen runden Stab als Walze in Ruhestellung gesetzt. Nachdem sie Halt gefunden haben, wird der Stab mit definierter Umdrehungszahl gedreht. Zur Steigerung des Schwierigkeitsgrades wird die Drehzahl verändert.

Table 14: Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile des Rotierenden Stabs

Parameter:	Aussagekraft:	Vor-/Nachteile:
<ul style="list-style-type: none"> • Zeitmessung bis zum Verlust des Gleichgewichts durch Fallen oder Hängen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Gleichgewicht ➤ Motorik 	<ul style="list-style-type: none"> + hohe Vergleichbarkeit, da häufig verwendet –Drehvorrichtung

2.4.1.4 Eignung des Verhaltenstests zur Evaluierung des Traumas

Nach SHT kommt es – zunächst unabhängig vom Schweregrad – zu neurologischen Ausfällen sowohl kognitiver, als auch motorischer Art. In einer Vielzahl neurophysiologischer Untersuchungen hat man die langandauernde Beeinträchtigung kognitiver Prozesse bei Menschen beschrieben (s. Kapitel 2.2.1). Dazu werden humanphysiologische Untersuchungen des Gedächtnisses durchgeführt, wie z.B. das Merken und Wiedergeben von Wortreihen auf auditivem oder visuellem Weg, visuelle Reproduktion geometrischer Formen (BROOKS 1972), „*non matching-to-sample*“- (SQUIRE 1992) oder „*matching-to-sample*“-Tests (LEVIN et al. 1976).

Auch bei Labornagern können solche Schädigungen nach experimentellem SHT nachgewiesen werden (SMITH et al. 1991; HAMM et al. 1992; DIXON et al. 1999). Weil sich Tiere nicht mitteilen können, bleiben gezielte Nachweismöglichkeiten vieler Ausfälle begrenzt. Trotzdem gibt es, wie in Kapitel 2.4.1.4 genannt, eine Vielzahl von Testmethoden, die geeignet sind, sowohl motorische als auch kognitive Defizite nachzuprüfen. Labornager, die am häufigsten als Versuchstier eingesetzt werden, eignen sich dafür sehr gut. In Verhaltensstudien sind sie größeren Tierspezies aus räumlichen (Testaufbau, Haltung, Handling) und finanziellen Gründen (Anschaffungskosten, Testutensilien) eindeutig vorzuziehen. DIXON et al. (1987) nennen weitere Vorzüge dieser Tiere für die Forschung (s. Kapitel 2.2.4).

In der experimentellen Therapieforschung muss damit gerechnet werden, dass sich mit rein chemischen oder histologischen Methoden Veränderungen nicht detektieren lassen (LYETH et al. 1990; HAMM et al. 1992). Vermutet wird insbesondere bei neurokognitiven Prozessen, dass es sich nur um subletale Alterationen in der Transmitterbildung oder Übertragung, bzw. um Störungen in der Agonist-Rezeptor-Interaktion handelt. Diese können nicht messbar sein, aber am lebenden Organismus zu Ausfallserscheinungen führen. Theoretisch können auch Unterbrechungen des Informationsflusses von schwer geschädigten Axonen aus anderen Regionen ausgehen, ohne dass elementare Kerngebiete des Gedächtnisses histologisch auffällig sind. Dabei können Verhaltensanalysen erste Hinweise auf pathologische Prozesse geben. Änderungen im Verhalten werden meist schon vor anderen Auswirkungen applizierter Substanzen oder Eingriffen sichtbar. Außerdem bieten Verhaltenstests eine ergänzende Methode, weil sie keine Rückwirkungen hinterlassen und keine vorzeitige Tötung des Tieres erfordern (PALISSA und BECKER 1986).

Nichtsdestotrotz muss man sich bei Verhaltensanalysen von Tieren immer bewusst machen, dass es selektive anatomische als auch neurophysiologische Unterschiede gibt (MACPHAIL 1996). So weist das Sensorium von Mensch und Tier einige gravierende Unterschiede auf.

Ratten sind nachtaktiv und sehen z.B. schlechter als Menschen. Ihr Geruchsvermögen ist dagegen weit ausgeprägter und beeinflusst ihr Verhalten wesentlich. Der Hauptunterschied ist natürlich die Fähigkeit des Menschen zur komplexen Verbalisierung und eine stark visuelle Orientierung. PANG et al. (1992) stellen fest, dass Ratten auf akustische Reize schneller reagieren als auf visuelle Stimuli. Dementsprechend benutzen Ratten zur räumlichen Orientierung vermutlich überwiegend taktile und olfaktorische Sinneseindrücke (HODGES 1996). Emotionale Unterschiede dürfen ebenfalls nicht vergessen werden. Während eines Tests sind Ratten häufig physischem Stress ausgesetzt (Schwimmen, Klettern, Laufen). Menschen erfahren dagegen eher psychische Belastung (OHL et al. 1998).

Auf Grund dieser Vielzahl an speziesspezifischen Besonderheiten ist darauf zu achten, dass ein festgelegter Parameter wirklich die angenommene Aussagekraft hat und nicht andere neurologische Leistungen zur Erfüllung der Aufgabe miteinbezogen werden. Besonders schwierig ist zu unterscheiden, ob wirklich zielgerichtete (deklaratives Gedächtnis) oder unbewusst eingeübte (nicht-deklaratives Gedächtnis) Handlungen vorliegen. Diese Frage stellt sich immer wieder, weil Nagetiere längere Übungszeiten und mehr Wiederholungen benötigen, bis sie eine Aufgabe erlernen. Es ist nicht vollständig gesichert, ob demnach nicht unterschiedliche Gedächtnisanteile (automatisierter Ablauf statt Abruf deklarativer Informationen) in diesen Prozess verknüpft sind. Angesichts dieser Tatsachen darf keine uneingeschränkte, unüberlegte Übertragung von Ergebnissen aus Tierversuchen auf den Menschen erfolgen (STECKLER und MUIR 1996).

Gerade Erkenntnisse, die an lissenzephalen Tieren gewonnen wurden, d.h. an Tieren mit einem weit weniger strukturierten Großhirn (kaum Gyri und Sulci) (NICKEL et al. 1991), sind nicht uneingeschränkt auf den Menschen anwendbar. Um komplexe Funktionen eines lebenden Organismus jedoch verstehen zu können, ist eine Nachahmung im Tiermodell die einzige Alternative zu klinischen Studien.

2.4.2 Histologie

Die histologische Bewertung des Gehirns ist nach der Induktion eines Traumas essentiell, um Schadensprozesse auf zellulärer Ebene zu erkennen und sie in Kontext mit klinischen Veränderungen zu bringen. Primär verletzte Strukturen sollen von neuronalen Reaktionen des umliegenden Gewebes abgegrenzt werden, durch die im weiteren Verlauf die Primärläsion vergrößert wird. Der zeitliche Verlauf und dementsprechend der Zeitpunkt der Untersuchung sind ausschlaggebend, wo und wie groß sich Läsionen darstellen.

Speziell nach fokalem Trauma, wie es im *CCI*-Modell erzeugt wird, entdeckt man im Kerngebiet des Aufschlags eine direkte, durch das mechanische Trauma verursachte Zellschädigung. Sie ist geprägt von akutem Zelltod, der Nekrose, die sich in Zellschwellung und Axonzerreißungen zeigt (LIU et al. 2003). Funktionsunfähiges Gewebe wird von einwandernden Makrophagen resorbiert. Auch die Neuroglia wird zur Reparation aktiviert und in der Randzone wird eine Astrozytenreaktion sichtbar. Neurone können sich nur sehr begrenzt teilen, ihre Regenerationsfähigkeit reicht nicht aus, einen Gewebsverlust adäquat zu ersetzen. Als Reparations- und Ersatzgewebe kompensiert die Neuroglia deshalb Schäden des ZNS (KÖNIG und LIEBICH 1999). Es bleibt dennoch ein Hohlraum bestehen, der von einer Gliebarbe abgedichtet ist.

Reparationsvorgänge bedürfen längere Zeit und unterliegen noch Monate nach dem Trauma Veränderungen. In Jahresstudien beobachten DIXON et al. (1999) im *CCI*- und SMITH et al. (1991) im *FP*-Modell eine Verdoppelung der Infarktausdehnung zwei Wochen nach dem Trauma bis zum Jahresabschluss. Beide Studien zeigten, dass der primäre Läsionsbereich, dessen Gewebsverlust in einer Kavität bestehen bleibt, sich mit dem Seitenventrikel verbindet. Das ist ein Bereich, der nicht direkt betroffen ist, aber wohl von sekundären Mechanismen (z.B. Perfusionsverhältnisse oder Toxine) beeinflusst wird. Ergebnisse einer Studie, bei der ein blutdrucksenkendes Mittel getestet wurde, zeigen, dass das Läsionsvolumen durch den perfusionsmindernden Effekt bedeutend vergrößert wird (THOMALE 2001).

Sekundäre Prozesse sind am Untergang von Nervengewebe beteiligt, vergrößern nicht nur den primären Läsionsbereich, sondern schädigen auch weiter entfernt liegende Regionen, die daraufhin einen Funktionsausfall mit klinischer Symptomatik erleiden. Über diese Prozesse gibt es momentan diverse Theorien, die mit den vermuteten Pathomechanismen des SHT konform gehen: Sekundär ischämische Prozesse, Apoptose durch freigesetzte exzitatorische Neurotransmitter (Glutamat, Aspartat) aus untergegangenen Zellen, Entzündungsreaktionen, fortgeleitete Axonverletzungen oder Störungen in der Genexpression (CLARK et al. 1997; FORBES et al. 1998).

Speziell Regionen, welche die Grundlage kognitiver Fähigkeiten bilden, werden sehr häufig betroffen. In Studien zur zerebralen Ischämie ist ein selektiver Verlust an neuronalem Gewebe in der besonders vulnerablen CA1-Region des Hippokampus zusammen mit einer Beeinträchtigung des Gedächtnisses nachgewiesen worden (AUER et al. 1989). Auch nach Induktion eines SHT zeigt sich der Hippokampus sensitiv für pathologische Veränderungen. Ungewöhnlich ist, dass neben der CA1- (JENKINS et al. 1989) hauptsächlich die CA3-Region betroffen ist. Dort wiesen FORBES et al. (1998) zwar einen fortschreitenden Neuronenverlust auf, aber keine kognitiven Alterationen. Beim Untergang des Gewebes scheint es sich um einen verzögerten Zelltod um mindestens zwei Wochen zu handeln (COLICOS et al. 1996), was auf sekundäre Pathomechanismen hinweist. CHEN et al. (2003) konnte im weiteren Verlauf sogar eine Ausdehnung des Gewebsschadens bis zum Thalamus feststellen. Messungen des Kontusionsareals können damit speziell bei vergleichenden Untersuchungen positive oder negative Einflüsse auf den Schaden in Form des Größenvergleichs einfach quantifizieren.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielvorstellungen

Jährlich erleiden Tausende von Menschen ein Schädel-Hirn-Trauma, das mit hoher Mortalität, Koma oder Schwerstbehinderung einhergeht. Selbst bei gut verlaufender Rekonvaleszenz bleiben fast immer neurologische Defizite bestehen. Bis heute gibt es noch keine allein wirksame Therapiemaßnahme, sondern nur durch symptomatische Behandlungsstrategien können Folgeschäden vermindert werden.

Die Hyperventilation gehört seit Jahrzehnten zur posttraumatischen Standardtherapie. Schon in den 70er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde erkannt, dass dadurch lebensbedrohliche intrakranielle Druckerhöhungen gesenkt und Azidosen ausgeglichen werden können. Beide sind als Sekundärfaktoren dafür verantwortlich, dass posttraumatisch die unvermeidliche Primärläsion verschlimmert wird. Seitdem wurde die Hyperventilation uneingeschränkt in das Behandlungskonzept für SHT-Patienten aufgenommen. In neueren Untersuchungen mehren sich jedoch Hinweise, dass die prophylaktische Anwendung aggressiver Hyperventilation ohne Hirndruckkontrolle auch negative, für die Genesung des Patienten eventuell sogar gefährliche Nebenwirkungen mit sich bringt. Zerebrale Ischämie, Störung des Gehirnstoffwechsels und Verlust von Pufferbasen werden für diese Mechanismen verantwortlich gemacht.

Ziel dieser Studie ist es, zum einen ein SHT-Modell zu evaluieren, mit dessen Hilfe ein zuverlässig steuerbarer und reproduzierbarer Schaden erzielt wird. Solch ein etabliertes Modell erleichtert die zukünftige Forschung mit neuroprotektiven Therapieansätzen. Zum anderen werden durch einen posttraumatischen Vergleich normo- und hyperventilierter Ratten Hinweise auf den Einfluss moderater Hyperventilation ohne Hirndruckkontrolle in die kognitive, sensorische und motorische Leistungsfähigkeit, bzw. den histologischen Schaden erwartet. Es soll dabei beurteilt werden, welche Untersuchungsmethoden sinnvoll das SHT-Modell ergänzen. Nur ein umfassendes Tiermodell, das von mehreren Seiten untersucht wird und Befundbeschreibungen sowohl aus klinischer als auch histologischer Sicht bietet, kann annähernd die Komplexität eines lebenden Individuums im posttraumatischen Zustand wiedergeben. Weder klinische Studien noch In-Vitro-Modelle an Nervengewebe alleine ermöglichen einen vergleichbar qualitativ hochwertigen Einblick in die pathophysiologischen und biochemischen Regulationsmechanismen.

Für das SHT-Modell wird ein kontrollierter Aufschlag eines Bolzens auf die Hirnrinde (*Controlled Cortical Impact*) nach LIGHTHALL (1988), bzw. DIXON et al. (1991) gewählt. Zwei Versuchsgruppen werden gebildet, von denen die eine nach dem Trauma normoventiliert (PaCO₂ 38 bis 42 mmHg) und die andere moderat hyperventiliert (Pa CO₂ 28 bis 32 mmHg) wird. Vor und nach dem Trauma finden über einen längeren Zeitraum Verhaltensversuche statt: Der modifizierte Hole-Board-Test nach OHL (mHB-Test; OHL et al. 2001a) und eine Auswahl an neurologisch-motorischen Tests (NM-Tests). Diese Tests ermöglichen eine Beurteilung klinischer Defizite sowohl im kognitiven Bereich, als auch der Motorik, des Gleichgewichtsvermögens, der Muskelkraft und des Allgemeinzustands der Tiere. Schließlich wird durch eine Nissl-Färbung mit Kresylviolett histologisch das Ausmaß der Gehirnläsion bestimmt.

3.2 Material und Methoden

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 des deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

3.2.1 Versuchstiere

3.2.1.1 Untersuchungsgut

Es werden 21 männliche Sprague-Dawley-Ratten (Stamm: CD, Charles River, Sulzfeld) eingesetzt. 42 Tage vor der Operation (OP) werden diese Tiere mit ca. 50 g Körpergewicht (KGW) geliefert. Bei einer durchschnittlichen Gewichtszunahme von 6 g/Tag erreichen die Tiere bis zum OP-Termin das vorgesehene KGW von 350±40 g.

3.2.1.2 Allgemeine Haltungsbedingungen

Der Tierstall erfüllt gleichzeitig den Zweck eines Versuchsraums. Es handelt sich um einen klimatisierten Raum mit Temperaturen von 19 bis 25 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 50 bis 60 % bei konstantem Luftwechsel (500 l/min). Die Beleuchtung wird automatisch in 12-stündige Hell- und Dunkelphasen gesteuert. Die Lichtphase beginnt um 24.00 Uhr nachts und endet um 12.00 Uhr mittags. Dabei hängt die Lichtintensität von der Position ab, auf der der jeweilige Käfig steht. Im Durchschnitt werden 50 bis 100 Lux erzielt. Parallel zu diesem Licht-Zeit-Rhythmus ist ein Radio mit Musiksender in gleichbleibender normaler Lautstärke synchron zur hellen Phase geschaltet, um die Tiere an externe Geräusche zu gewöhnen. Futter (ALTROMIN-Haltung 1324, Fa. Altromin, Lage) und Leitungswasser sind den Tieren ad libitum zugänglich.

In den ersten drei Wochen akklimatisieren sich die Ratten, d.h. sie gewöhnen sich an den neuen Licht-Zeit-Rhythmus und erfahren den Raum, seine Gerüche und Geräusche als angstfreie und natürliche Umwelt. Auch Gruppenhaltung trägt zu einem wesentlichen Teil dazu bei. Die Tiere werden in Gruppen in Akklimatisationskäfigen (Standardkäfige, Typ IV aus Makrolon, 1800 cm²) gehalten. Als Einstreu wird entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin GmbH, Lage) verwendet.

3.2.1.3 Haltungsbedingungen während des Versuchs

Der Versuchsaufbau erfordert eine ruhige und zielgerichtete Behandlung der Tiere. Zu diesem Zweck wurde ein spezieller Käfig entwickelt, der während der Testzeit bis zum Ende der

Beobachtungszeit gleichzeitig als Versuchskäfig und der Unterbringung der Tiere dient. Deshalb wird er auch „Homecage“ genannt.

Dieser Versuchskäfig entspricht einer Kiste aus 1 cm dicken, grauen PVC-Platten (Firma Josef Weiss Plastik GmbH, München) mit den Dimensionen 60x80x50 cm. Mit einer durchsichtigen, ebenfalls 1 cm starken PVC-Trennwand (59x50 cm) mit Löchern (\varnothing 2 cm) im Abstand von 5 cm, kann der Innenraum in zwei gleich große Abteile getrennt werden. Somit entsteht in der Kiste zum einen ein Bereich für die Versuchsarena und zum anderen ein Heimtierabteil (s. Abbildung 7, links). Letzteres kann durch Einsetzen von ein oder zwei Trennwänden maximal in drei 19x39 cm große Räume unterteilt werden. Mit Hilfe von 50 mm langen PVC-U-Profilschienen (13x15x1,5 mm; Firma Karmann und Droll, Karlsfeld) lassen sich die Trennwände völlig unabhängig voneinander einbauen. Getrennte Haltung ist nur vorgesehen, wenn es ein schlechter Allgemeinzustand eines Tieres erfordert (s. Abbildung 7, rechts).

An einer Längsseite des Tierkäfigs befinden sich je drei Löcher für den Durchlass der Tränkenippel und drei Futterraufen. Trinkflaschen und Futterspender befinden sich außen am Käfig (s. Abbildung 7, rechts). Als Abdeckung wird ein rostfreier Lochmetalldeckel (Lochweite 10 mm, Metallsteg 2 mm) mit den Abmessungen 61x81 cm verwendet. Die Gitterstruktur sorgt für ausreichend Lichteinfall in den Innenraum.



Abbildung 7: Aufnahmen eines Homecages; links: mit Innenaufteilung in Versuchsarena und Heimtierabteil; rechts: inneres Tierabteil mit komplett eingezogenen Trennwänden, äußere Ansicht mit Futterspendern und Trinkflaschen

3.2.2 Versuchsablauf

Ein Zeitschema dient zur Erfassung aller geplanten Aktionen und deren Rahmenbedingungen. Danach richtet sich der Versuchsablauf und wird bei den jeweiligen Tests separat beschrieben. Es werden zwei Versuchsgruppen gebildet. Bei den Tieren beider Gruppen wird ein identisches zerebrales Trauma induziert, sie werden aber posttraumatisch unterschiedlich beatmet:

Normoventilation mit PaCO₂ 38-42 mmHg; n=10
Hyperventilation mit PaCO₂ 28-32 mmHg; n=11

Welche Behandlungsmethode das jeweilige Tier erfährt, wird erst direkt nach Induktion des Traumas durch das Los entschieden. Den Untersuchern des Verhaltenstests und der Histologie ist die Gruppenzugehörigkeit nicht bekannt.

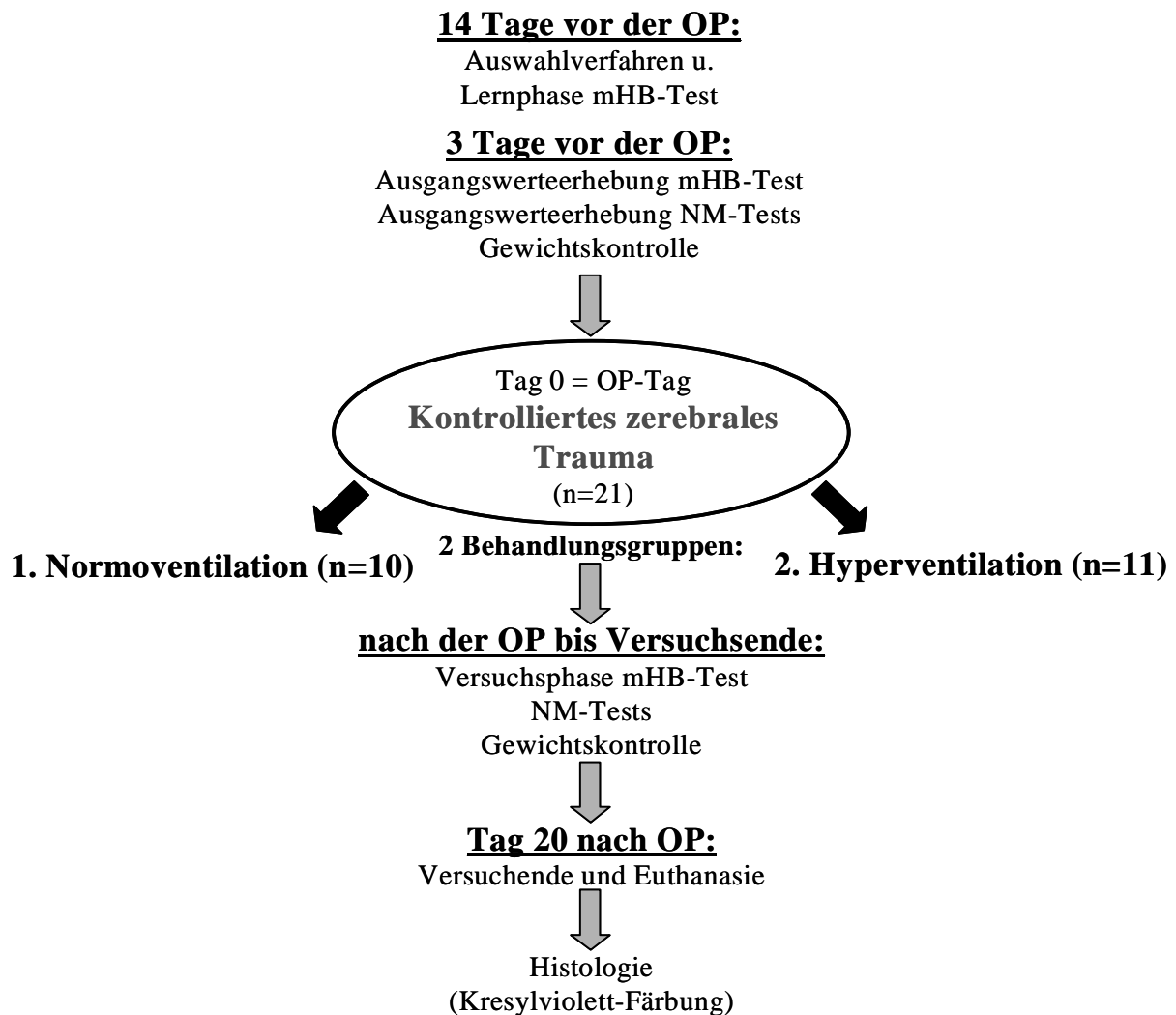


Abbildung 8: Schematische Darstellung des gesamten Versuchablaufs

3.2.3 Operation

3.2.3.1 Operationsablauf

Die Operation ist das zentrale Ereignis für die Verhaltenstests. Aus Verständlichkeitsgründen erfolgt deshalb die Beschreibung geschlossen vor der Erläuterung der Verhaltenstests an dieser Stelle. Der Ablauf der Operation wird in Abbildung 9 schematisch dargestellt.

Nur Tiere, auf die bestimmte Voraussetzungen zutreffen, werden zur OP zugelassen:

- unauffälliges Verhalten bei allen Tests und ungestörtes Allgemeinbefinden
- KGW zwischen 350±40 g bei stetiger Gewichtszunahme
- Anforderungen für einen korrekt erlernten mHB-Test:
Erfüllen der Ausgangskriterien (s. Kapitel 3.2.4.1.1)

Deswegen stellt sich z.T. erst am OP-Tag, nach Abschluss des letzten präoperativen mHB-Durchlaufs heraus, ob die entsprechende Ratte in den Versuch eingeht.

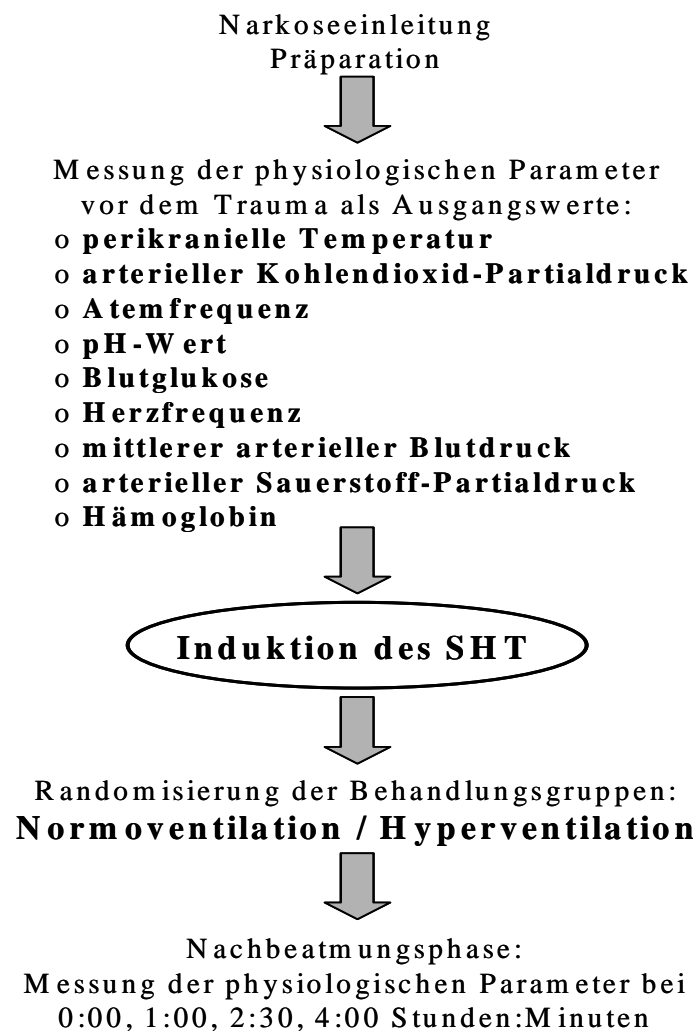


Abbildung 9: Schematische Darstellung des operativen Versuchsablaufs

3.2.3.2 Narkose

Nach dem letzten präoperativen mHB-Test werden die Tiere in den OP-Raum gebracht. Zur Einleitung der Anästhesie kommen die Ratten in einen Standzylinder aus Glas, in dem sich eine mit Halothan (Halothan, Halocarbon Laboratories, North Augusta, SC, USA) getränkte Zellstofflage befindet. Wenn die Tiere bewusstlos sind, werden sie herausgenommen und endotracheal intubiert. Sie werden an einen Beatmungsapparat angeschlossen (Harvard Rodent Ventilator, Model 683, Harvard Apparatus Inc., South Natick, Massachusetts, USA) und bis zum Ende der Präparation mit 1,2 bis 1,7 Vol% Halothan in einem Lachgas/Sauerstoffgemisch ($FiO_2=0,33$) maschinell beatmet. Das Narkosesystem ist halb-offenen mit Gasabsaugung und konstanter Frischgaszufuhr von ca. 2 l/min.

3.2.3.3 Präparation

Für die Präparation sind ca. 60 min vorgesehen. Zur Platzierung des EKG (Elektrokardiogramm) und der Katheter liegt das Tier in Rückenlage, den Rest der OP in Brust-Bauchlage. Als Schutz vor Austrocknung wird Dexpenanthol-Augen- und Nasensalbe (Bepanthen, Fa. Hoffmann-LA Roche AG, Grenzach-Whylen) auf die Kornea beider Augen verteilt und mit gepolstertem Klebeband abgedeckt. Zwei Nadelelektroden werden subkutan an der ventralen Brustwand eingestochen und leiten das EKG für die Herzfrequenzüberwachung ab. Die Anzeige erscheint auf dem Kreislaufmonitor (Cardicap Ultima II, Fa. Datex, Helsinki, Finnland), wobei erst durch Ausmessen der EKG-Anzeige die Herzfrequenz errechnet werden kann. Eine kontinuierliche Temperaturüberwachung geschieht einerseits peripher mit einer rektalen Temperatursonde (Exacon-Asmuth, Asmuth Medizintechnik GmbH Minden, Minden) für die Körpertemperatur. Andererseits wird perikraniell unmittelbar am Schädel eine 0,3 mm dicke Sonde (Hypodermic Needle Probe Hyp f-30-1/2-T-G-60-SMP-M, Ω Omega, Stamford, CT/USA) in den rechten M. temporalis platziert. Ein Kontrollgerät (Ω Omega, Stamford, CT/USA) misst diese Temperatur, die der Gehirntemperatur annähernd gleicht. Gekoppelt mit einer Wärmelampe, die über dem Kopf des Tieres hängt, wird sie automatisch während der ganzen OP bei 37,5 °C konstant gehalten.

Für die Applikation von Medikamenten wird ein venöser Zugang mit einem Polyethylen-Katheter in die V. femoralis medial am Oberschenkel gelegt. Hiermit kann bei Kreislaufproblemen mit Norepinephrinhydrochlorid (Arterenol, Aventis Pharma, Frankfurt a. M.) oder bei zu starker Azidose mit Natriumbikarbonat (8,4 % Natriumhydrogencarbonat-Lsg., Delta Pharma, Puffingen) ausgeglichen werden. Für einen arteriellen Katheter wird die A. coccygea kanüliert, was zur Blutprobenentnahme und permanenten, invasiven Messung

des systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Blutdrucks dient („Druckdom“ auf Druckwandler: DPS Einfach-Druckmess-System, medexmedical, Lancashire, England; Anzeige über: Capnomac Ultima II, Fa. Datex, Helsinki, Finnland).

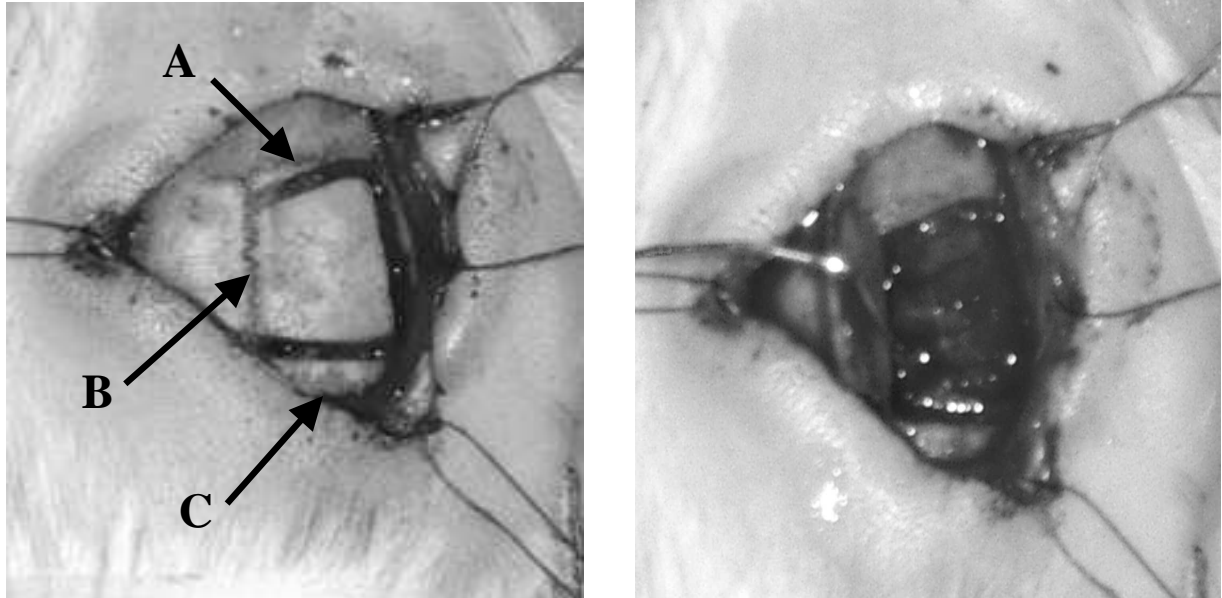


Abbildung 10: Links: Anatomische Begrenzungslinien - die Knochennähte, A: rostral - Bregma, B: median - Sagittalnaht, C: kaudal - Lambda, Rechts: Offene Präparation mit hochgeklapptem Knochendeckel an der Sagittalnaht

Für die Kraniotomie und das Schädel-Hirn-Trauma ist eine absolut bewegungslose Fixierung des Kopfes unabdingbar. Dafür sorgt ein stereotaktischer Rahmen (Kopf Instruments, Modell 961 und 962, Tujunga, CA, USA), in den der Kopf über eine Halterung mit Trommelfellschutz eingespannt wird. Nach der Rasur erfolgt median auf dem Schädeldach ein 1 cm langer Hautschnitt. Die Hautränder werden mit Haltefäden auf die Seite gezogen und am Rahmen fixiert. Die vorgesehene Präparationsstelle liegt frei und übersichtlich da. Das Periost wird vom darunter liegenden Schädeldach abgetrennt und das rechte parietal-temporale Schädeldach wird entlang einer anatomischen Begrenzung aufgebohrt (Diamantbohrer, Kugelform 0,5 cm Ø, Proxxon GmbH, Niersbach): Lateral orientiert man sich am Ansatz des M. temporalis. An den anderen Seiten umranden drei Knochennähte (rostral Bregma, kaudal Lambda und medial die Sagittalnaht) die zu eröffnende Stelle (s. Abbildung 10) und bilden mit dem Muskelansatz ein Rechteck. Ohne Verletzung der Dura mater werden ca. 1 mm innerhalb der rostralen, lateralen und kaudalen Begrenzungen die drei Seiten dieses anatomischen Rechteckes aufgebohrt. Um das umliegende Gewebe zu schonen, wird während des Bohrvorganges zur Kühlung ständig mit physiologischer Kochsalzlösung (Thomaejonin)

gespült. Es wird kontrolliert, ob die Bohrrinnen vollständig durchbrochen sind und die Dura mater intakt ist. Bei Einriss der Dura mater wird das Tier von der Studie ausgeschlossen. Der Knochendeckel wird über die Sutura sagittalis hochgeklappt und mit einem hakenförmigen Draht in der Senkrechten fixiert.

3.2.3.4 Messung der Ausgangswerte

Während der OP werden physiologische Parameter gemessen. Die erste Messung erfolgt zur Erhebung der Ausgangssituation vor der Induktion des Traumas. Bevor diese Messung durchgeführt werden kann, wird die Neurotrauma-Erzeugungsanlage (Typ SHTM-3, Eigenbau, Mainz) vorbereitet. Die festgelegten Einstellungen am Kontrollapparat (SHTM-3 CCI-Controller, Eigenbau, Mainz) (s.u.) werden vor dem Trauma nochmals getestet und die Funktionstüchtigkeit wird durch drei Probeschüsse überprüft. Vor Induktion des Traumas werden die Ausgangswerte der physiologischen Parameter bestimmt. Für die Blutgasuntersuchung, d.h. PaCO₂ und PaO₂, die Bestimmung des pH-Werts, des Hämoglobins (Modell 865, Chiron Diagnostics, Fernwald) und der Blutglukose (Glucometer Elite, Fa. Bayer, Leverkusen) wird Blut in eine heparinisierte Kapillare (Multi Cap, Fa. Bayer, Leverkusen) aus dem arteriellen Katheter entnommen. Gemessen und dokumentiert werden:

- Perikranielle Temperatur
- Arterieller Kohlendioxid-Partialdruck (PaCO₂)
- Atemfrequenz
- pH-Wert
- Blutglukose
- Herzfrequenz
- Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)
- arterieller Sauerstoff-Partialdruck (PaO₂)
- Hämoglobin

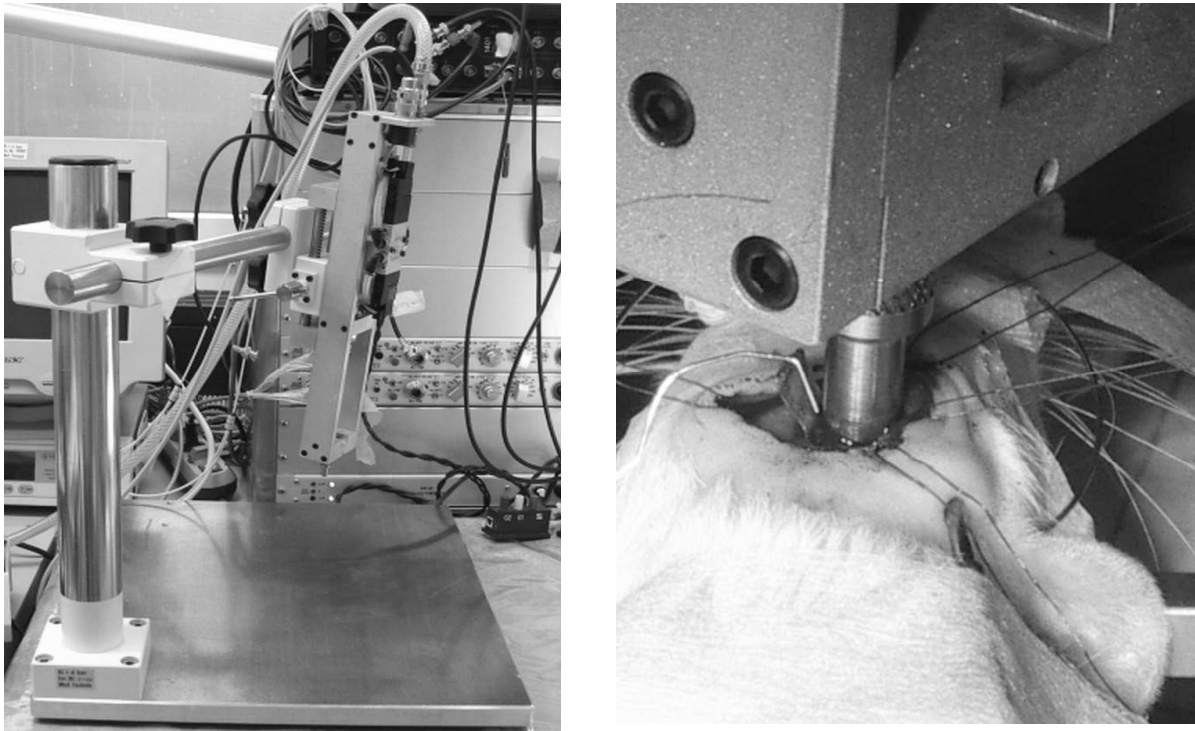


Abbildung 11: Links: Druckluftbetriebener Schussapparat, Rechts: Präparationsstelle mit aufgesetzter Führungshülse

3.2.3.5 Induktion des Schädel-Hirn-Traumas

Innerhalb von 15 Minuten nach Dokumentation der Ausgangswerte wird das SHT induziert. Bei dem verwendeten Gerät handelt es sich um eine Druckluft betriebene Maschine ähnlich einem Schlagbolzen, deren Schussgeschwindigkeit, Eindringtiefe und Dauer des Einschlages reguliert werden kann. Der Stempel mit 5 mm Durchmesser setzt vertikal auf der Hirnoberfläche auf, wobei die freipräparierte Stelle direkt unter der Führungshülse des Schlagstempels zu liegen kommt. Die Eindringtiefe von 1,75 mm, die Einschlaggeschwindigkeit von 4 m/s und die Eindringdauer von 200 ms werden vor Studienbeginn festgelegt und nicht mehr geändert. Vor dem Aufschlag wird die Gehirnoberfläche getrocknet und auf den Bolzen Vaseline gerieben, damit kein Gewebe daran haften bleibt.

Der Schuss wird ausgeführt. Danach ist makroskopisch abzuklären, ob die Dura mater intakt ist. Ist sie verletzt, geht das Tier nicht in die Wertung ein. Nach erfolgreicher Traumatisierung wird der Knochendeckel reponiert und die Bohrränder mit Gewebekleber (Histoacryl, B. Braun, Tuttlingen) fixiert. Das Narkosegas wird auf eine Konzentration von 1,0 Vol% eingestellt und das Lachgas durch Luft ersetzt. Vor Herausnahme des Kopfes aus dem stereotaktischen Rahmen, wird die Schädelhaut mit 4/0 Prolene (Ethicon Manufacturer, Brüssel, Belgien) vernäht. Als Flüssigkeitsdepot für die folgenden vier Stunden erhalten die Tiere 10 ml angewärmte physiologische Kochsalzlösung (Thomaejonin, Deltaselect, Pfullingen) subkutan.

3.2.3.6 Nachbeatmungsphase: Normoventilation/Hyperventilation

Erst zu diesem Zeitpunkt werden die Tiere einer Behandlungsgruppe durch das Los zugewiesen. Es gibt zwei unterschiedliche Behandlungsmethoden, bei denen sich die Beatmungsfrequenz und das Beatmungsvolumen nach dem PaCO₂-Gehalt (mmHg) richtet:

Normoventilation mit PaCO₂ 38 bis 42 mmHg; n = 10

Hyperventilation mit PaCO₂ 28 bis 32 mmHg; n = 11

Die Nachbeatmungsphase dauert vier Stunden. Innerhalb dieser Zeit werden vier mal die physiologischen Parameter gemessen, direkt nach induziertem SHT bei (0:00), eine Stunde (1:00), zweieinhalb (2:30) und vier (4:00) Stunden danach. Die Beatmung wird nach dem PaCO₂ und dem endexpiratorischen CO₂ korrigiert. Weil nach einem Trauma der Blutdruck abfällt, wird prophylaktisch in einer Dauerinfusion Norepinephrin (Arterenol 1:1000, Aventis Pharma GmbH, Wien, Österreich) 75 µg/kg/min verabreicht. Die Nachbeatmungsphase wird durch das Abdrehen des Narkosegases Halothan beendet, wobei der im Körper verbleibende Restanteil durch Umstellen der Beatmung auf 100 Vol% O₂ eliminiert wird. Die Katheter werden aus der V. femoralis, bzw. A. coccygea entfernt. Als postoperative Analgesie werden beide Hautwunden ebenso wie die Schädelnaht mit Bupivacainhydrochlorid (Bupivacain 0,5 %, Curasan AG, Kleinostheim) infiltriert und mit 4/0 Prolene vernäht. Am Zeitpunkt 4:30 nach der Traumatisierung erfolgt die Extubation. Weil die Temperaturregulierung der Tiere noch nicht normal funktioniert, werden diese postoperativ noch eine Stunde in warmer Umgebung unter Beobachtung gehalten. Wegen der guten Langzeitwirkung wird als Schmerzmedikation 0,1 ml Buprenorphinhydrochlorid (Temgesic, Essex Pharma, Grünthal GmbH, München) pro Tier s.c. nach dem Aufwachen verabreicht. Die Tiere werden nun in die jeweilige Box aus der sie stammen zurückgebracht.

Tabelle 15: Versuchsplan – modifizierter Hole-Board-Test nach OHL

<u>Phase/Aktion</u>	<u>Zeitangabe</u>
Ankunft:	6 Wochen vor der OP
Eingewöhnung der Tiere:	
Gruppenhaltung, Makrolonkäfig	3 Wochen bis Tag -21 vor der OP
Gruppenhaltung im ungeteilten Homecage mit Gewöhnung an die Futterbelohnung => Gewöhnung an das Board =>	1 Woche bis Tag -14 vor der OP tägliche Fütterung am letzten Tag über Nacht
Auswahlverfahren:	
Auswahl der Versuchstiere, die antrainiert werden	Tag -14 vor der OP einer Rattengruppe
Lernphase (LP):	
3 Durchläufe: ohne Markierung/ Federn ohne Computeraufzeichnung	Beginn Tag -13 vor OP bis Tag 0 => 1. Lerntag
4 Durchläufe: Markierung und Federn ohne Computeraufzeichnung	=> 2. Lerntag
4 Durchläufe: randomisierte Lochkombination Computeraufzeichnung	=> folgende Lerntage
letzter Durchlauf ohne Markierung, rein räumlich	
3 Durchläufe: randomisierte Lochkombination letzter Durchlauf ohne Markierung, rein räumlich	=> ab Tag -6 vor der OP
Erhebung der Ausgangswerte (Baseline)	=> ab Tag -3 vor der OP
Operation:	
OP-Tag (Tag 0)	
Voraussetzungen	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ guter Allgemeinzustand ▪ Gewicht: 350±40 g ▪ Erfüllung der Ausgangskriterien: <ul style="list-style-type: none"> - Gesamtzeit eines Durchlaufs ≤120 s - ≤3 falsche Löcher/Trainingstag - ≤0,5 wiederholte Löcher/Trainingstag 	
Versuchsphase (VP):	
3 Durchläufe: randomisierte Lochkombination letzter Durchlauf ohne Markierung, rein räumlich	Beginn Tag 1 nach OP bis Tag 20 Dauer 20 Tage Ende des Versuchs: Tag 20

3.2.4 Verhaltenstests

3.2.4.1 Der modifizierte Hole-Board-Test nach OHL

3.2.4.1.1 Versuchsplan

Der mHB-Test bietet die Möglichkeit entweder das Lernen oder das Vergessen von Ratten zu testen. Für diese Studie wird ein Versuchsprotokoll verwendet, welches das Gedächtnis der Tiere, bzw. Vergessen bereits gelernter Informationen analysiert. Einer solchen Analyse geht demnach eine Phase des Lernens und als Voraussetzung ein gewisses Können voraus.

3.2.4.1.2 Versuchsvorbereitung

Der Homecage

Unter dem Homecage versteht man den oben beschriebenen Testkäfig, in dem Tierabteil und Versuchsarena (39x59 cm) direkt nebeneinander liegen. Die mittige Trennwand, bzw. deren Löcher ermöglichen den Kontakt von Tieren im Heimtierabteil zu dem Tier in der Arena (genaue Beschreibung s. 3.2.1.3).

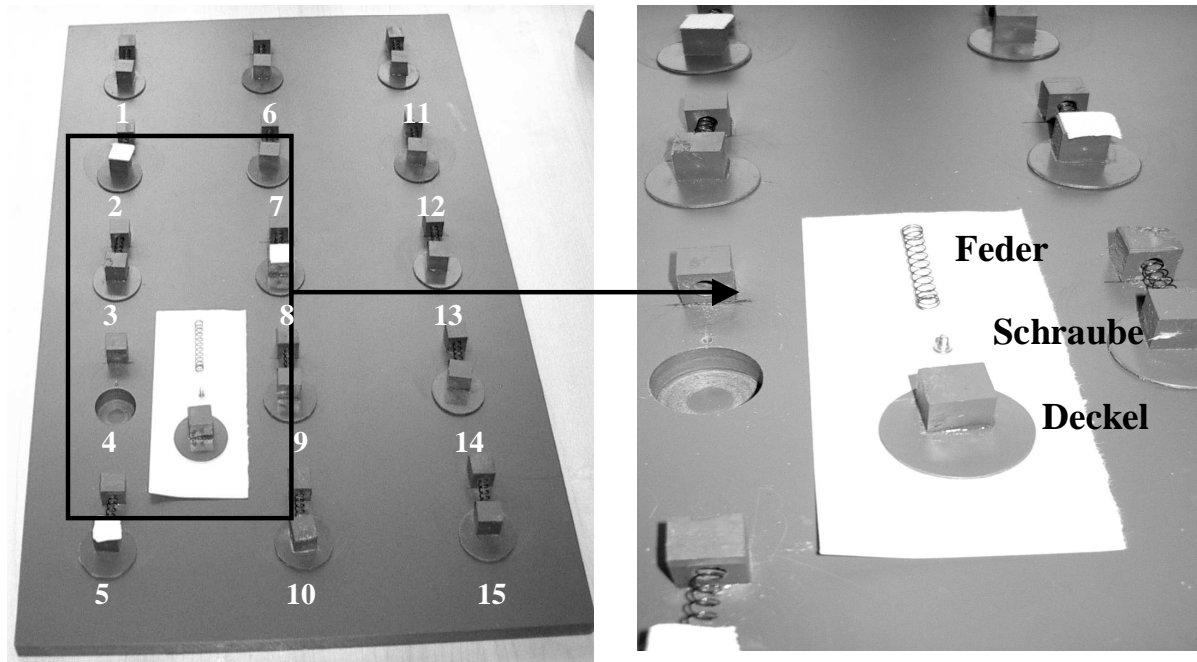


Abbildung 12: Das modifizierte Hole-Board nach OHL mit Lochnummerierung, markierten Löchern 2-5-8 und den einzelnen Bestandteilen in Nahaufnahme

Das modifizierte Hole-Board nach OHL

Bei dem modifizierten Hole-Board nach OHL handelt es sich um ein 25x40 cm großes Brett aus grauem, 1 cm dickem PVC. 15 Löcher (\varnothing 2 cm) mit 0,7 cm Tiefe werden in drei Fünferreihen gleichmäßig über dessen Fläche verteilt, weshalb es Hole-Board genannt wird. Jedes Loch wird auf Grund seiner Lage von 1 bis 15 beziffert (s. Abbildung 12). Die Löcher werden von einer verschiebbaren Abdeckung bedeckt, die aus einer runden, 2 mm starken PVC-Scheibe (\varnothing 2,5 cm) besteht. Als Drehpunkt wird die Scheibe an einer Seite mit einer kleinen Schraube lose am Rand des Lochs befestigt und lässt sich somit leicht drehen. Dieser Deckel muss automatisch in seine Ausgangsstellung, nämlich mittig über dem Loch, zurückrasten. Dazu wird ein Rückstellmechanismus benötigt: eine Halterung mit Rückstellfeder. Die Halterung wird pro Loch aus zwei PVC-Würfeln mit einer Kantenlänge von 1 cm gebildet. Eine Seite wird 0,3 cm tief eingebohrt (\varnothing 0,5 cm). Der eine Würfel wird mittig auf dem Deckel, der andere im Abstand von 2 cm zu den Schraubenlöchern in gerader Linie auf dem Brett festgeklebt. Die gebohrten Würfelseiten müssen zu den Schrauben zeigen, damit die Rückstellfedern aus Metall (\varnothing außen 4,5 mm, \varnothing innen 4,0 mm, 11 Windungen, Drahtdicke 0,3 mm; Münchner Federnzentrale, München) unter leichter Kompression in die Bohrlöcher eingespannt werden können. Die Federn verbinden den Würfel auf dem Board mit dem auf der kleinen Scheibe. Bei Verschieben des Deckels wird gleichzeitig das Loch freigelegt und die Feder so zusammengedrückt, dass sich bei Loslassen des Deckels das Loch selbstständig schließt.

Die Futterbelohnung

Die Ratten sollen lernen, Löcher mit einer Farbmarkierung auf den Würfeln als richtig zu erkennen und zu öffnen. Dafür wird das Futtersuchverhalten der Tiere ausgenutzt. Für das Auffinden eines richtigen Lochs werden die Tiere mit einem Stück Puffreis (Knusperpuffreis, Frigo-Werke, Remshalden) in den Löchern belohnt.

Die Futterbelohnung wird wie folgt vorbereitet:

Die Puffreiskörner werden kurz in Johannisbeeraromalösung eingetaucht und darauf auf ein Papier gelegt bis keine Flüssigkeit mehr abtropft. Die Lösung wird hergestellt aus 0,1 g Johannisbeeraroma (Micro-Plus, Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf) gelöst in 50 ml Leitungswasser.

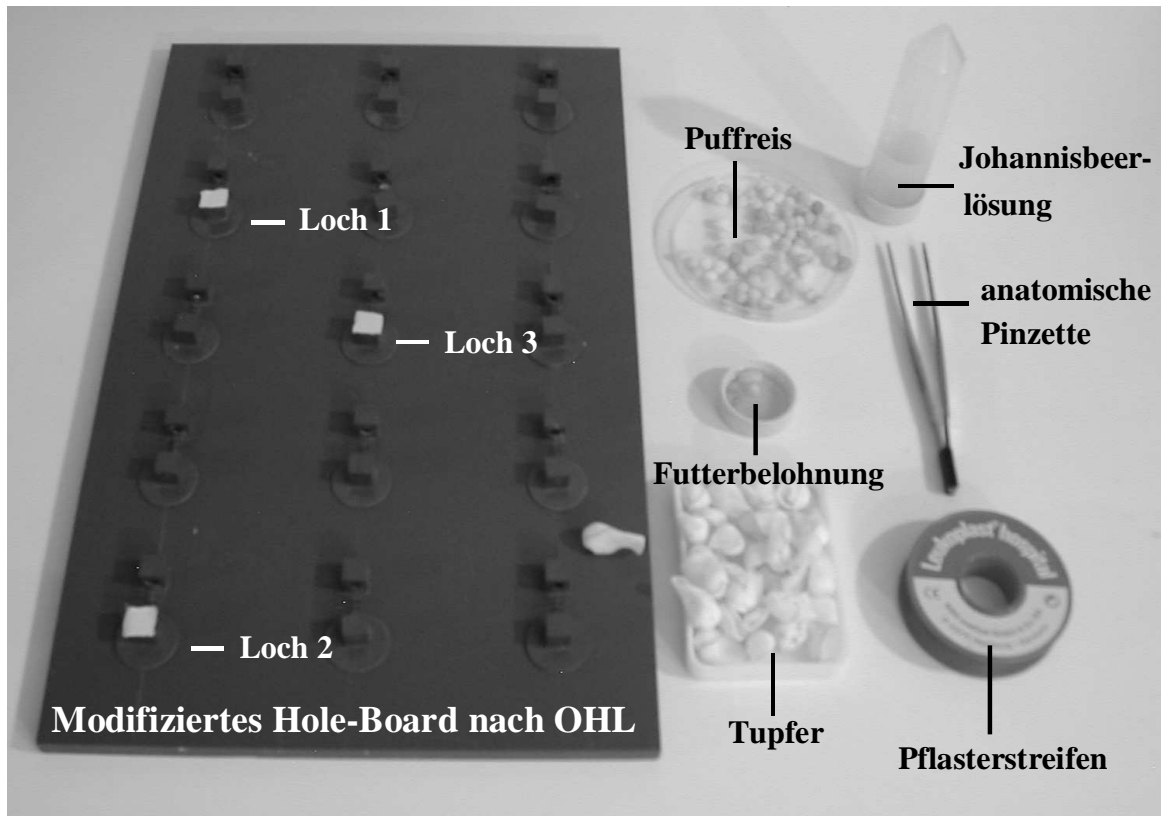


Abbildung 13: Das modifizierte Hole-Board nach OHL mit allen Utensilien, die zum Befüllen der drei korrekten Löcher mit Futterbelohnung nötig sind

Sonstige Gerätschaften

Visuell werden die Testdurchläufe mit einem digitalen Camcorder (Modell-Nr.: GR-DV 1800 E, Sony Cooperation, Japan) auf einem Stativ aufgezeichnet. Bespielt werden Mini DV-Kassetten (TDK 60).

Mit einem Computer wird das Versuchsprotokoll erstellt. Eine störungsvermeidende, geräuschlose Dateneingabe ermöglicht die spezielle, flexible Tastatur (Foldable Keyboard; 5,0 VDC-30 mA; Model-Nr.: Fold-2000, Taiwan; s. Abbildung 14).

Für die Präparation des Hole-Boards werden als Markierung der bestückten Löcher weiße 1 cm breite Pflasterstreifen (Leukoplast, Beiersdorf S.A., Argenta, Spanien) benutzt. Gereinigt wird es mit Schlinggaze-Tupfern (Telasling, NO.1, Paul Hartmann AG, Heidenheim). Eine anatomische Pinzette erleichtert das Einlegen der Futterbelohnung.

Beim Kontrollieren des KGW kommt eine digitale Waage (Fa. Kern, Albstadt) mit Maximalgewicht von 2000 g, d=0,1 g zum Einsatz.

3.2.4.1.3 Versuchsdurchführung

Eingewöhnung der Tiere

Für eine störungsfreie Testdurchführung ist die Eingewöhnungszeit unverzichtbar. Deshalb ist es sinnvoll, diesen Zeitraum so lange wie möglich auszudehnen. Nach Anlieferung werden die Jungtiere direkt in den Versuchsraum gebracht. Hier sitzen sie drei Wochen gruppenweise zusammen im Akklimatisationskäfig und haben Zeit, sich mit ihrer neuen Umwelt, deren äußeren Haltungsbedingungen, dem Tagesablauf und dem neuen Zeit-Licht-Rhythmus auseinanderzusetzen und ihren Lebensraum zu akzeptieren. Konstanz erfahren die Ratten auch in einer homologen Tiergruppe, d.h. ohne Zu-/Abgang. Grundsätzlich besteht diese Gruppe aus zwei Tieren mehr als nötig (s. Auswahlverfahren).

Eine Woche vor Testbeginn werden die Ratten in den ungeteilten Homecage übergesiedelt. Durch tägliches Zufüttern einiger in Johannisbeeraromalösung getauchter Puffreiskörner lernen die Ratten diese Belohnung kennen.

Zwei Tage vor dem ersten Trainingstag wird ein Hole-Board ohne Federn oder Markierung, aber vollständig mit Puffreis befüllt, in den späteren Arenabereich gelegt. Gemeinschaftliches Erkunden und Markieren über Nacht nimmt die Angst vor dem Brett und dessen Charakter als Fremdgegenstand. Das Hole-Board dieser Versuchsgruppe wird in Zukunft nur noch oberflächlich, vor allem aber im Aktionsradius der Lochdeckel, mit purem Wasser gereinigt. Damit werden bestehende Markierungen (Urin) nicht vollständig entfernt oder chemische Fremdgerüche angebracht.

Auswahlverfahren

Bevor die Ratten einzeln antrainiert werden, muss eine Auswahl der Tiere getroffen werden, die sich für den mHB-Test am besten eignen. Dieses Auswahlverfahren findet am Tag -14 vor der ersten OP der jeweiligen Rattengruppe statt. Gleichzeitig werden die Ratten mit dem Versuchsaufbau vertraut gemacht und die Angst in der ungewohnten Situation vermindert. Das setzt voraus, dass der Homecage endgültig mit der großen Trennwand unterteilt und Einstreu aus der Versuchsarena entfernt wird. Während des Auswahlverfahrens hat das Hole-Board keine Federn und Markierungen, alle Löcher sind mit einer Belohnung befüllt und halb geöffnet. Korrekt eingelegt befindet sich das Brett zentral in der Versuchsarena mit den beweglichen Deckeln zum Untersucher zeigend. Zwei Ratten werden gleichzeitig in das Versuchsabteil gesetzt und beobachtet. Das Tier, das als erstes drei Puffreiskörner gefressen hat, wird ausgewählt und markiert, bevor beide Ratten in das Heimtierabteil zurückgesetzt werden. Auf diese Weise ermittelt man die zwei Tiere der Gruppe, die sich am ängstlichsten

verhalten oder zu wenig Interesse für die Futterbelohnung zeigen. Diese beiden Tiere sind am wenigsten für den Verhaltenstest geeignet und werden nicht für den Versuch verwendet. Eine Ratte verlässt die Versuchsgruppe zugunsten der Platzverhältnisse, das andere Tier wird bis zum letzten Versuchstag im Sozialverband belassen.

Täglicher Ablauf

Ein täglicher Routineablauf ist für den Untersucher genauso wichtig wie für die Rahmenbedingungen. Weil Ratten nachtaktive Tiere sind, startet der Versuch gegen Ende der Schlafphase der Tiere (=Lichtphase). Die untersuchende Person muss einheitliche Kleidung, institutsübliche grüne OP-Wäsche tragen, strenge, abstoßende Gerüche (Parfum, Deo, Zigarettenrauch, Knoblauch, Kaffee etc.) vermeiden und auf Ruhe und Gelassenheit achten. Der Homecage wird in die Beobachtungsposition neben dem Arbeitsplatz geschoben, abgedeckt und die Versuchsarena von Einstreu gereinigt. Der Computer wird angeschaltet und die Videokamera genau auf die Arena ausgerichtet. Am Arbeitsplatz liegen sämtliche Utensilien bereit: Pinzette, Johannisbeerlösung, Puffreis, Papier, Wattetupfer, Laborbuch. In diesem Buch werden die laufenden Löcherkombinationen und das Gewicht handschriftlich protokolliert. Bei der Eingabe in den Computer werden daraus Daten übernommen. Das Hole-Board einer Gruppe liegt in der Versuchsarena bereit. Vom Vortag ist es vollständig mit Leukoplastmarkierungen beklebt, um einer olfaktorischen Beeinflussung auf die Löcherkombination vorzubeugen. Das Leukoplast wird entfernt und auf den drei korrekten Löchern, die für diesen Tag vorgesehen sind (s. Tabelle 16), mit frischem Klebeband ersetzt. Diese optische Markierung wird auf den Würfeln der Deckel aufgeklebt. Bevor der präparierte Puffreis eingelegt wird, muss auch hier eine Geruchsneutralisation erfolgen. Zu diesem Zweck werden alle Löcher mit einem in Johannisbeeraromalösung vollgesogenem Stück Puffreis üppig ausgestrichen und Flüssigkeitsreste anschließend mit einem Tupfer entfernt. Dadurch riechen alle Löcher identisch, auch wenn eine Futterbelohnung eingelegt ist. Das Brett wird mittig in der Arena platziert. Während der Durchläufe kommt es immer wieder zu Verunreinigungen und Verklebungen der Löcher. Es ist zu kontrollieren, ob die Löcher von selbst komplett schließen. Wenn nötig, werden die Gleitflächen der Deckel feucht und trocken gereinigt. Jeder Durchgang wird im Computerprogramm mit Durchlaufnummer, aktueller Lochkombination und der jeweiligen Tiernummer beschrieben. Bevor ein Tier in die Arena gesetzt wird, muss die Kamera auf Aufnahme geschaltet werden. Das Einsetzen der Tiere erfolgt vorsichtig, aber ohne Zögern an der Schwanzwurzel in eine festgelegte Ecke. Im Augenblick des Loslassens wird das Programm gestartet. Während des Durchlaufs sitzt

der Untersucher völlig still an der rechten Käfigseite und überblickt die Versuchsarena. Eine Hand ruht auf der Tastatur und protokolliert das Verhalten der Ratte (s. Tabelle 17). Erst wenn alle drei Futterbelohnungen gefressen oder maximal zehn Minuten verstrichen sind, stoppt das Programm automatisch und die Ratte wird zurück in ihre Gruppe gesetzt.

Je nach Tagesprotokoll muss ein Tier mehrere Durchläufe absolvieren. Die Reihenfolge der Tiere wird völlig willkürlich am Untersuchungstag gewählt und am selben Tag nicht wieder geändert. Jeden Tag beginnt aber ein anderes Tier. Während das nächste Tier seinen Durchlauf absolviert, hat das Tier vorher bis zu seinem zweiten Durchlauf ca. 15 min Ruhepause. Trotz des Wechsels gilt einen Tag lang dieselbe Lochmarkierung für das jeweilige Tier.

Ab dem 3. Tag der Lernphase wird der letzte Durchlauf ohne Markierung erhoben. Damit wird die visuelle Komponente ausgeschlossen und der Test beruht nur auf räumlicher Orientierung. Es wird kontrolliert, ob die Tiere die korrekte Lochkombination aus den ersten zwei Durchläufen erlernt haben.

Wenn mehrere Versuchskäfige zur Untersuchung anstehen, wird der Zeitpunkt der Untersuchung konstant gehalten. Nach dem mHB-Test werden die Tiere ab Tag -3 nach dem Test zur Kontrolle gewogen. Alle Tiere werden völlig gleich behandelt.

Lernphase, LP (vor der OP)

Die Lernphase beginnt 13 Tage vor der OP des ersten Tieres. Nach Gewicht sortiert beginnt das Einzeltraining der Tiere. Pro OP-Tag wird nur ein Tier operiert, mit der Konsequenz, dass die Tiere versetzt antrainiert werden. Deshalb wird für jede Ratte die entsprechende Lochkombination zwischen den Durchgängen geändert. In der LP weisen folgende Tage Besonderheiten auf:

1. Tag der Lernphase

Der erste Tag entspricht dem Tag -13 vor der OP. An ihm finden drei, statt normalerweise vier Durchgänge statt. Dies beugt einer Ermüdung der Ratte, wie es am Anfang üblich ist, vor. Die Ratten werden zum ersten Mal alleine in die Versuchsarena gesetzt. Zunächst zeigen sie Angst, die aber schnell überwunden wird. Darauf wird das Board exploriert und sie erlernen die Funktion des Deckel-Öffnens. Zur Erleichterung gibt es noch keine Federn oder Markierungen.

1. Durchlauf: Alle Löcher werden mit vorbereitetem Puffreis befüllt und stehen halb offen. Die Ratte wird herausgenommen, sobald sie drei Puffreiskörner gefressen hat.

2. Durchlauf: Zehn Löcher werden mit Futterbelohnungen bestückt. Fünf davon sind geschlossen, fünf halb offen. Die restlichen Löcher stehen leer weit offen.

3. Durchlauf: Alle Löcher mit Belohnung werden geschlossen. Lediglich 5 leere Löcher bleiben geöffnet.

2. Tag der Lernphase

Ab dem zweiten Tag wird die Markierung wichtig. Dazu wird eine durch das Los ermittelte Lochkombination (2, 5, 8) mit Leukoplast optisch hervorgehoben. Nur noch markierte Löcher werden mit Puffreis versehen. Weiterhin soll das Öffnen der Deckel mit Pfoten oder Schnauze bei Widerstand eingeübt werden. Vor dem dritten und vierten Durchlauf werden deshalb die Federn zwischen die Würfel gespannt. Ende eines Durchgangs bedeutet, es werden alle drei Belohnungen gefressen oder die Maximalzeit (zehn Minuten) wird überschritten.

3. Tag der Lernphase

Ab diesem Zeitpunkt sind Markierung, Federn und eine randomisierte Tageskombination der Löcher eingeführt. Im Anschluss an Tag 2 werden ausnahmsweise nochmals die Löcher 2, 5, 8 gewählt, um das Lernen zu erleichtern. In der LP gilt es, die Verbindung weiße Farbmarkierung = Futterbelohnung zu erlernen und zu festigen. Außerdem wird der letzte, rein räumliche Durchlauf ohne Markierung erhoben. Damit entspricht der Ablauf des Tests dem geplanten Versuchsdesign und die vollständige Erhebung des Verhaltensprotokolls mit Datenerfassung im Computer beginnt.

Wie aus Tabelle 15 zu entnehmen ist, besteht die LP nur am ersten und dann erst wieder ab Tag -6 vor der OP und in der Versuchsphase aus drei Testläufen.

Tag -3

Um für alle Tiere annähernd von gleichen Voraussetzungen und Kenntnissen auszugehen, legt man drei Tage vor dem geplanten OP-Datum Ausgangskriterien fest, die Baseline genannt werden. Als erfüllt bezeichnet man diese Ausgangskriterien, wenn die Gesamtzeit eines Durchlaufs ≤ 120 s ist und pro Trainingstag maximal drei Löcher falsch oder 0,5 wiederholt besucht wurden. Nur wenn dies erfüllt ist, wird das Tier zur OP zugelassen. Um so wenig Ratten wie möglich aus dem Versuch nehmen zu müssen, darf ein Tier um einen Tag vor- oder zurückgeschoben werden, vorausgesetzt, dass die Ausgangskriterien mindestens drei Tage und am OP-Tag konstant sind, d.h. die Baseline erfüllt ist. Dies ist zulässig, da die Ausschlusskriterien relativ streng gefasst sind.

Tag 0, Operation

Der Tag 0 ist gleichbedeutend mit dem Operationszeitpunkt. Die Induktion des SHT ist im zeitlichen Ablauf eigentlich das zentrale Ereignis und mitten in den Verhaltensversuch eingebunden. Um den Testablauf zusammenhängend darstellen zu können, wird die OP vorangestellt und in Kapitel 3.2.3 beschrieben.

Versuchsphase, VP (nach der OP)

Der erste Tag nach der OP bezeichnet den Tag 1 der Versuchsphase. Der Verhaltenstest ist für 20 postoperative Tage angesetzt, die sich im Ablauf nicht voneinander unterscheiden. Täglich werden drei Durchläufe beibehalten, deren Lochkombinationen durch das Los ermittelt werden und aus Tabelle 16 zu ersehen sind.

Tabelle 16: Randomisierte Lochkombinationen während Lern- und Versuchsphase

<u>Lernphase</u>		<u>Versuchsphase</u>	
Tag	Lochkombination	Tag	Lochkombination
2./3. Lerntag	2, 5, 8	Tag 1	10, 11, 14
4. Lerntag	4, 12, 13	Tag 2	4, 9, 13
5. Lerntag	3, 10, 12	Tag 3	2, 5, 11
6. Lerntag	1, 2, 15	Tag 4	3, 6, 13
7. Lerntag	4, 6, 9	Tag 5	3, 8, 15
8. Lerntag	9, 12, 13	Tag 6	1, 7, 10
9. Lerntag	2, 11, 14	Tag 7	6, 9, 12
10. Lerntag	3, 4, 10	Tag 8	1, 11, 13
11. Lerntag	3, 7, 14	Tag 9	1, 6, 15
12. Lerntag	5, 6, 8	Tag 10	3, 7, 9
13. Lerntag	1, 10, 13	Tag 11	1, 4, 14
14. Lerntag	6, 13, 15	Tag 12	8, 9, 15
15. Lerntag	2, 10, 12	Tag 13	1, 11, 12
16. Lerntag	3, 9, 4	Tag 14	4, 9, 10
17. Lerntag	1, 5, 12	Tag 15	7, 9, 15
		Tag 16	11, 12, 14
		Tag 17	4, 5, 10
		Tag 18	3, 5, 12
		Tag 19	2, 9, 11
		Tag 20	6, 14, 15

3.2.4.1.4 Untersuchte Parameter im modifizierten Hole-Board-Protokoll

Das modifizierte Hole-Board-Protokoll entsteht synchron zu den Verhaltensaktivitäten der Ratten während der Durchläufe. Aufgezeichnet wird es mit einem speziell entwickelten Computerprogramm (von Hr. J. Frühauf) durch den geblindeten Untersucher.

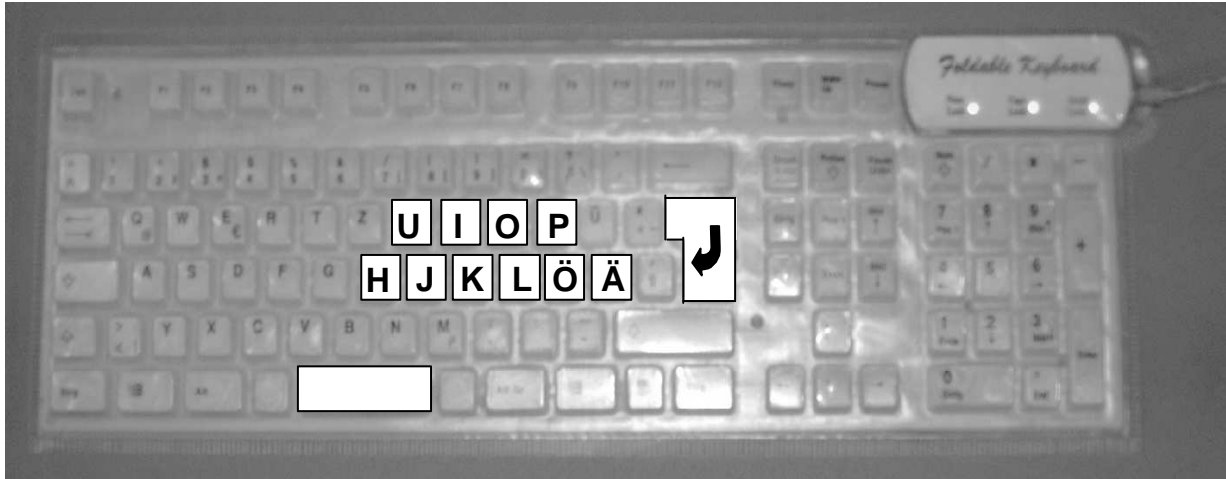


Abbildung 14: Kodierte Tastenbelegung zur Eingabe des Hole-Board-Protokolls auf der flexiblen Tastatur

Das Computerprogramm:

Das Programm besitzt eine Stoppuhrfunktion, mit der jeder Aktivität die dazugehörige Zeit zugeordnet wird. Der erste Druck auf die Tastatur startet die Zeitmessung. Bestimmte Tasten kodieren verschiedenen Aktionen der Tiere. Beim Aktivieren der Tasten notiert das Programm die Aktion in einer Textdatei und überträgt die Daten automatisch in eine Exceldatei. Das Programm beendet das Untersuchungsprotokoll, wenn die Stoppuhr maximal zehn Minuten erreicht hat oder ein dreimaliger korrekter Lochbesuch mit Futteraufnahme stattgefunden hat.

In Tabelle 17 ist das modifizierte Hole-Board-Protokoll dargestellt.

Table 17: Das modifizierte Hole-Board-Protokoll

<u>Aktion</u> [Tastaturbelegung]	<u>Definition</u>
Start [Druck auf Leertaste]	Loslassen des Tieres von der Hand
Betritt Board [Leertaste]	Das Tier signalisiert die Absicht das Hole-Board zu betreten, wenn sich eine Vorderpfote und die Nase der Ratte auf dem Hole-Board befinden.
Verlässt Board [Leertaste]	Das Tier signalisiert die Absicht das Hole-Board zu verlassen, wenn die Ratte mit Vorderpfoten und Nase vom Hole-Board tritt.
Erstmals am Loch [Ö]	Das Tier bewegt mit Schnauze oder Vorderpfoten erstmals ein markiertes Loch.
Loch 1 zu [J]	Aktives Öffnen des Lochs mit der niedrigsten Zahl der Tageslochkombination
Loch 2 zu [K]	Aktives Öffnen des Lochs mit der mittleren Zahl der Tageslochkombination
Loch 3 zu [L]	Aktives Öffnen des Lochs mit der höchsten Zahl der Tageslochkombination
Wiederholung Loch 1, 2, 3 [Erneutes Drücken der Tasten J, K oder L]	Das Tier bewegt mit Vorderpfoten oder Schnauze aktiv den Deckel eines markierten Lochs, das zuvor bereits besucht wurde. Nicht gewertet wird ein erneutes Nachschauen, ob noch Futterreste im Loch sind, sofern sich die Ratte während des Fressens nicht von dem Loch abwendet oder eine neue Aktion ausführt.
Falsches Loch [Ä]	Die Ratte bewegt mit Vorderpfoten oder Schnauze den Deckel eines nicht markierten Lochs. Wiederholte Besuche nicht markierter Löcher werden nicht als Wiederholungen gewertet, da die Ratten keine Tendenz zeigen, die jeweilige Sequenz der nicht belegten Löcher zu lernen.
Fressen beendet [H]	Beendigung des Kauvorganges
Männchen machen [I]	Das Tier erhebt sich auf die Hinterbeine, entweder frei stehend oder an der Wand der Versuchsarena.
Beginn Schnuppern Trennwand [U]	Das Tier beschnuppert die Abtrennung zu einem der Tierabteile und steckt seine Nase in eines der Löcher.
Ende Schnuppern Trennwand [U]	Das Tier beendet Schnuppern und widmet sich einer anderen Tätigkeit.

Beginn grooming [O]	Das Tier beginnt sich zu putzen
Ende grooming [O]	Das Tier hört auf sich zu putzen
Bolus [P]	Kotabsatz
Beginn Inaktivität [Return Taste]	Die Ratte verharrt 3-5 Sekunden in einer Position und zeigt keine andere Aktion
Ende Inaktivität [Return Taste]	Das Tier wird wieder aktiv

Der mHB-Test erfasst viele Verhaltensparameter, mit denen sich Rückschlüsse auf die übergeordneten Systeme ermitteln lassen. Es werden Aussagen über kognitive Funktionen, motorische Fähigkeiten, Motivations- und Explorationsverhalten, Angst und Schmerz gemacht. Nachstehende Parameter fließen in die Auswertung ein:

Gedächtnisparameter

Mit dieser Kategorie wird das Gedächtnis der Ratten überprüft.

▪ Fehler

Das aktive Öffnen eines nicht markierten Lochs ist eine fehlerhafte Leistung. Die Summe aller Fehler während eines Durchlaufs wird gewertet. Als Erweiterung der Gedächtnisüberprüfung addiert man die Auffindungsfehler (s.u.) zu der obigen Anzahl pro Durchgang, so dass man den Totalwert aller Fehler, d.h. die Gesamtfehler erhält. Falsch geöffnete Löcher ohne Markierung und nicht aufgefundene markierte Löcher weisen auf eine Beeinträchtigung des deklarativen Gedächtnisses hin.

▪ Auffindungsfehler

Auffindungsfehler bezeichnen korrekte, markierte Löcher, die nicht aufgefunden wurden. Diese Löcher enthalten noch nach Beendigung des Durchgangs die Futterbelohnung und werden manuell in das Untersuchungsprotokoll nachgetragen.

▪ Wiederholungen

Werden korrekte Löcher mit Futterbelohnung im selben Testlauf mehrmals besucht, obwohl sie schon geleert wurden, hält man diese Lochbesuche als Wiederholungen fest. Falsche Löcher besuchen die Ratten völlig willkürlich, ohne ersichtliches Lernsystem. Aus diesem Grunde

rechnet man wiederholtes Öffnen desselben nicht markierten Lochs als falsches Loch und nicht als Wiederholung. Lochwiederholungen bezeichnen Defizite des Arbeitsgedächtnisses.

Explorations- und Motivationsparameter

Das Interesse am Erforschen und der Antrieb, den Test erfolgreich zu beenden, geben Hinweise auf mehrere Bereiche: Lokomotorische Aktivität, Exploration, Motivation, Aufmerksamkeit und Allgemeinzustand.

▪ Gesamtzeit

Diese Zeitspanne entspricht der Gesamtzeit eines Durchgangs in Sekunden. Das Ende dieser Zeitspanne wird entweder durch dreimaliges Drücken der Taste *Fressen beendet* oder Ablauf des Zeitlimits bestimmt. Die Gesamtzeit vermittelt einen Überblick über Allgemeinzustand, Explorations-, Motivationsverhalten und die kognitive Leistung der Versuchstiere.

▪ Zeit auf dem Board

Ratten brauchen, bis sie auf Futtersuche gehen, eine gewisse Zeit sich auf dem Board zu orientieren. Das Intervall kodiert die Zeit in Sekunden von *betrifft Board* bis *verlässt Board* abzüglich der Fressdauer von *Loch zu* bis *Fressen beendet* bzw. *verlässt Board* für diesen Parameter. Der prozentuale Zeitanteil, den die Tiere auf dem Board verbringen weist auf exploratives Verhalten hin, bzw. je kleiner dieser ist, desto ängstlicher sind die Tiere.

▪ Betreten des Boards

Es wird gezählt, wie oft eine Ratte das Board innerhalb eines Testlaufs betritt. Diese Anzahl entspricht der Häufigkeit des Drückens der Taste *betrifft Board*. Dieser Parameter fällt um so niedriger aus, je ängstlicher Tiere sind. Explorative, motivierte Tiere sind aktiver und betreten das Board häufiger.

▪ Anzahl aller besuchten Löcher

Dies ist die Summe aller Lochbesuche: Markierte Löcher (maximal *Loch 1 bis 3 zu*), Fehler und Wiederholungen. Diese ermöglicht ebenfalls eine Aussage über zielgerichtetes exploratives Verhalten von Ratten.

▪ Zeit auf dem Board pro besuchtem Loch

Dies ist ein Quotient aus der Zeit auf dem Board durch die Anzahl aller besuchten Löcher. Die Zeit auf dem Board pro besuchtem Loch gibt genauere Informationen über die Motivation und Zielstrebigkeit der Tiere, auf dem Board ein Loch aufzusuchen und mit dem Öffnen zu beginnen. Je länger die Tiere brauchen, desto mehr Zeit verbringen sie zur Exploration des Boards und zur Orientierung im Raum. Kognitive Defizite verlängern diesen Zeitraum.

▪ Männchen machen

Die Häufigkeit mit der sich Tiere auf die Hinterbeine erheben, wird aus den *Männchen machen* eines Testlaufs berechnet. Das Aufrichten auf die Hinterbeine oder Männchen machen gehört zum normalen, allgemeinen Explorationsverhalten von Ratten. Es ist ein Zeichen für das Interesse ihre Umgebung kennen zu lernen.

Angstbezogene Parameter

Emotionen, Stress und Störungen kommen in einem ängstlichen Verhalten der Tiere zum Ausdruck. Sie erschweren die objektive Auswertung der Testergebnisse. Im Versuchsaufbau wird alles vermieden, was Auslöser für solche Situationen sein kann. Den Ratten wird eine angstfreie, vertraute Umgebung speziell in der Arena geschaffen. Angst führt zu Immobilität, längeren Handlungszeiten, erhöhtem Urin- und Kotabsatz bis hin zur vollständigen Futtermittelverweigerung. Tiere, die sich wohlfühlen, verhalten sich aktiv, motiviert, bzw. zielgerichtet oder nehmen sich Zeit zum Putzen.

Sollten äußere Störungen während des Testdurchgangs eintreten, wird im jeweiligen Fall entschieden, ob es zu Verhaltensunstimmigkeiten während des Durchlaufs geführt hat. Trifft dies zu oder wird ein anderes untypisches Tierverhalten beobachtet, macht der Untersucher in der Spalte „Kommentar“ Notizen darüber. Bei begründetem Verdacht auf Fremdeinflüsse werden Daten aus der Wertung genommen.

▪ Zeit bis zum ersten Betreten des Boards

Bei dem ersten Ereignis *betrifft Board* misst der Computer die bis dahin verstrichene Zeit in Sekunden. Die Zeit ist um so länger je ängstlicher Ratten sind. Der Außenbereich bietet den Tieren Schutz und Deckung in den Ecken. Neugierige, explorative Tiere, die sich wohlfühlen, versuchen schneller ihre ganze Umgebung zu erkunden und das Board zu betreten.

▪ Zeit bis zum ersten Lochbesuch

Der Zeitraum bis zum Besuch des ersten Lochs wird notiert. Ähnlich der Zeit bis zur ersten Boardbegehung weist die Zeit bis zum ersten Lochbesuch auf ein ängstliches Verhalten von Ratten hin. Je länger diese ist, desto zögerlicher und unmotivierter sind die Tiere.

▪ Gruppenkontakte

Dies ist die Zeit, in der die Tiere Kontakt mit der Tiergruppe im Heimtierabteil aufnehmen, d.h. die Einzeleingaben *Schnuppern Trennwand* werden summiert. Ängstliche Ratten und aktive Ratten neigen dazu, mit ihrer Gruppe engeren Kontakt zu halten. Demzufolge nimmt in Stresssituationen und unter Angst einflößenden Bedingungen die Anzahl der Aktionen, bei denen der Gruppenkontakt gesucht wird, zu.

▪ **Kotabsatz**

Die Summe der einzelnen Kotabsätze *Boli* werden zusammengezählt. Ratten setzten bevorzugt unter Stress- und Angstsituationen Kot ab.

▪ **Putzzeit**

Sämtliche Zeiträume zwischen *Beginn grooming* und *Ende grooming* während eines Durchgangs werden in Sekunden addiert. Putzen gehört zum normalen Wohlfühlverhalten von Ratten. Außerdem ist es ein Ausdruck von Erregung und deutet auf ein agiles Tier hin. Ängstliche Tiere oder Tiere, die sich nicht wohl fühlen, putzen sich weniger.

Das Allgemeinbefinden betreffende Parameter

Das Allgemeinbefinden wird im Versuchsablauf adspektorisch begutachtet. Stärkere Manipulationen bedeuten Stress, der sich negativ auf den mHB-Test auswirkt. Demzufolge wird sich auf Verhaltensparameter aus dem mHB-Test, den NM-Tests (s. u.) und auf die Messung des KGW beschränkt, die einen Überblick auf den aktuellen Zustand des Tieres geben.

▪ **Inaktivität**

Die Sekunden von *Beginn Inaktivität* bis *Ende Inaktivität* stellen die Inaktivitätszeit dar.

▪ **Fresszeit**

Die Fresszeit erstreckt sich von *Loch 1 bis 3 zu* bis *Fressen beendet*. Pro Durchlauf besteht sie höchstens aus drei Zeiten, entsprechend den drei Löchern. Bei Versuchsaufbauten, bei denen das Gedächtnis getestet wird, kommt es fast nie zu korrekten Lochbesuchen ohne Fressen der Futterbelohnung, es sei denn die Tiere sind hochgradig motorisch gehemmt oder im Allgemeinbefinden zu stark geschwächt (z.B. Defizite der Kaumuskulatur, Kräfte reichen nicht aus, den Deckel zu bewegen). Je schlechter das Allgemeinbefinden ist, desto länger brauchen die Tiere für das Aufnehmen der Futterbelohnung aus dem Loch und deren Verzehr. Weiterhin kommt es in der LP zu längeren Fresszeiten, weil die Tiere noch zu ängstlich sind oder zu schnell aufgeben, wenn sie das Loch nicht sofort öffnen können.

▪ **Körpergewicht**

Jeden Tag wird das Körpergewicht der Ratten nach dem Versuch protokolliert. Diese Messung gehört nicht direkt zum mHB-Test, doch ist diese einfache Kontrolle des Allgemeinbefindens schon allein aus Tierschutzgründen bei experimentellen Vorgehen angebracht.

3.2.4.2 Neurologisch-motorische Tests

Ergänzend zum mHB-Test wird eine Auswahl an Verhaltenstests durchgeführt, mit denen ein breites Spektrum neurologisch-motorischer Fähigkeiten untersucht werden kann:

- Bewertung des Bewusstseins, Pflegeverhaltens und Laufvermögens
- Kletterverhalten-Test
- Drahtgitter-Test (Drehendes Gitter)
- Greif-Zug-Test (*Prehensile Traction*)
- Balken-Gleichgewichts-Test (*Beam Balance*)
- Balken-Geh-Test (*Beam Walking*)

3.2.4.2.1 Versuchsplan

Die neurologisch-motorischen Tests (NM-Tests) beginnen am Tag -3. Vor der OP wird das Tier an das Handling gewöhnt, die andersartigen Bewegungsanforderungen geübt und die Ausgangswerte bestimmt. Nach der OP bis Versuchsende wird jeder Tag protokolliert. Die Vorlage für das neurologische Untersuchungsprotokoll wird in Tabelle 18 dargestellt.

3.2.4.2.2 Versuchsvorbereitung

Bewusstsein, Pflegeverhalten und Laufvermögen

Die Bewertung wird durch Beobachtung im Homecage und bei anderen Tests, die durchgeführt werden, erhoben.

Kletterverhalten-Test

Geeignet ist ein rechtwinkliges Holzgestell aus zwei Sperrholzplatten von ca. 50 cm Höhe. Ein Überzug aus rauem Teppich sorgt dafür, dass die Tiere daran gut greifen können.

Drahtgitter-Test (Drehendes Gitter)

Dafür wird ein ca. 57x49 cm großes Metallgitter benötigt. Um vor Verletzungen zu schützen ist das Drahtgitter (Lochabstand 1 cm, Drahtsteg 1 mm) abgerundet.

Für folgende Tests wird dasselbe Grundgerüst verwendet: Zwei 40 cm hohe Seitenstützen aus Holz und eine 8 cm dicke Bodenmatte aus Schaumstoff. Die Verbindungen der Seitenteile werden je nach Test ausgetauscht, haben aber ca. 30 cm Abstand zur Bodenmatte. Als Verbindungsteil wird benutzt:

Greif-Zug-Test (Prehensile Traction):

ein 50 cm langes Drahtseil (Ø 3 mm), Stoppuhr

Balken-Gleichgewichts-Test (Beam Balance):

ein 1,5 cm breiter und 130 cm langer Holzbalken (*Beam*), Stoppuhr

Balken-Geh-Test (Beam Walking):

ein 2,5 cm breiter und 130 cm langer Holzbalken

Tabelle 18: Neurologisches Untersuchungsprotokoll

<u>Kategorie</u>	<u>Score</u>			<u>Parameter</u>	<u>Absolut- werte:</u>	<u>Bemer- kungen:</u>
1. Bewusstsein	0			normal	-	
	1			gedämpft o. ruhelos		
	2			lethargisch		
2. Pflege- Verhalten	0			normal	-	
	1			eingeschränkt		
	2			nicht vorhanden		
3. Laufen	0			normal	-	
	1			Einschränkung der Mobilität		
	2			Bewegung im Kreis		
4. Kletter- Verhalten	0			klettert auf die 90 ° Ebene	-	
	1			hängt 5s und zieht Beine an		
	2			bleibt 5s hängen		
	3			bleibt <5s hängen		
	4			kein Greifreflex vorhanden		
5. Drehendes Gitter	0			greift bei 180 ° ≥5s	-	
	1			greift bei 180 ° <5s		
	2			greift bei 90 ° und nicht bei 180 °		
	3			fällt vertikal vom Gitter		
6. Prehensile Traction (2 Durchläufe)	0	0	0	11-15 Sekunden	Zeit: s	
	1	1	1	6-10	Zeit: s	
	2	2	2	1-5	Zeit: s	
7. Beam Balance (3 Durchläufe)	0	0	0	50-60 Sekunden	Zeit: s	
	1	1	1	30-49	Zeit: s	
	2	2	2	10-29	Zeit: s	
	3	3	3	<10		
8. Beam Walking	0			<15 Fußfehler	links: rechts:	(jeweils nur Trittfehler der Hinter- gliedmaße)
	1			16-25		
	2			26-35		
	3			>35		

3.2.4.2.3 Versuchsdurchführung

Jedes Tier wird täglich nach beendetem mHB-Test individuell untersucht.

Kategorie Bewusstsein (s. Abbildung 15)

Abweichungen vom bewussten Verhalten gesunder Ratten zeigen sich in Ruhelosigkeit, Hyperaktivität, Stereotypien, Teilnahmslosigkeit, Futtermittelverweigerung oder Unansprechbarkeit auf äußere Reize. Ihr Interesse an der Umwelt wird beim Öffnen des Käfigs und der ersten Kontaktaufnahme mit dem Untersucher beurteilt. Reaktionen wie Männchen machen an die Käfigwand und Beschnüffeln der Hände werden positiv gewertet. Kranke Tiere wenden sich dagegen ab, zeigen Abweichungen vom Normalverhalten bis hin zum völligen Verlust der Ansprechbarkeit auf Reize (Lethargie). In letzterem Fall wird abgeklärt, ob das Tier unter neuen Reizsituationen (Verhalten beim Handling, in neuer Umgebung, bei anderen Tests) überhaupt reagiert.



Abbildung 15: Situation nach Öffnen des Homecage - Beurteilung des Bewusstseins und Pflegeverhaltens im Tierabteil: Normalsituation mit neugierigen, aufmerksamen und interessierten Tieren; im Gegensatz dazu rechts oben isolierte, apathische Ratte mit struppigem Fell

Kategorie Pflegeverhalten (s. Abbildung 15)

Eine Zuordnung ist eindeutig, wenn während der intensiven Beobachtung der Tiere im Käfig oder mHB-Test das Putzverhalten beobachtet wird. Deutliche Zeichen von mangelnder Pflege werden in struppigem Fell und stumpfem Haarkleid erkannt. Bei Fehlen jeglicher

Putzaktivität wird bewertet ob rotbraune Ringe aus dem rotbraunem Sekret der Haderschen Drüse um die Augen entstehen, das nicht mehr mit den Pfoten verteilt wird oder ob sich Krusten an den Nasenlöchern bilden.

Kategorie Laufvermögen

Einschränkungen der Mobilität treten als mangelnde Adduktion der Pfoten, Hypo- oder Hypermobilität, Paresen oder Paralysen auf. Laufen im Kreis spricht für einen schwerwiegenden zentralen Schaden.

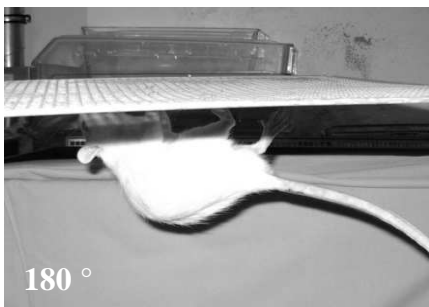
Kategorie Kletterverhalten



Die Tiere werden mit den Vorderpfoten an der Kante des Holzgerüsts auf die vertikale Ebene des Gerüsts gehängt. Gesunde Ratten greifen sicher und halten sich fest, stemmen sich mit den Hinterbeinen ab und können sich über die Teppichkante nach oben auf das Plateau ziehen. Geschwächte, kranke Tiere besitzen nicht genug Kraft in die Horizontale zu klettern, während motorisch gehemmte Tiere schon am Greifen und Festhalten scheitern.

Abbildung 16: Ratte beim Klettern

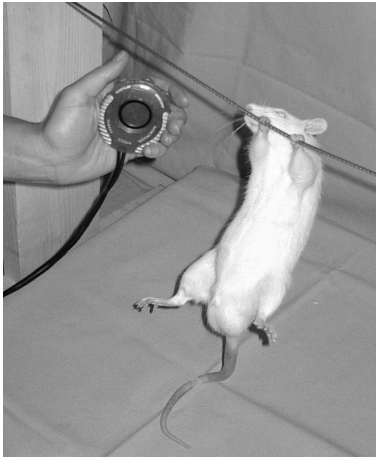
Drahtgitter-Test (Drehendes Gitter)



Ausgangsposition ist die Horizontale. Beim Aufrichten des Gitters in die Vertikale (90 ° Position) greifen gesunde Tiere fest und finden sicheren Halt. Durch zügiges über Kopf drehen in die umgekehrt horizontale 180 ° Position verlieren Ratten mit Defiziten das Gleichgewicht oder haben nicht genug Kraft sich länger als 5 Sekunden zu halten. Dieser Test macht Aussagen über Motorik, Muskelkraft und Gleichgewicht der Versuchstiere.

Abbildung 17: Vertikale 90 ° und 180 ° Position beim Drahtgitter-Test

Greif-Zug-Test (Prehensile Traction)



Zwischen zwei Seitenstützen wird ein Drahtseil gespannt. An dieses Seil werden die Tiere mit den Vorderpfoten gehängt, so dass sie das Seil ergreifen. Gesunde Tiere vermögen sich einige Sekunden daran zu halten. Ein frühzeitiges Loslassen zeigt Schwäche und motorische Defizite der Vordergliedmaße und fehlendes Gleichgewichtsvermögen.

Abbildung 18: Hängende Ratte beim Greif-Zug-Test

Balken-Gleichgewichts-Test (Beam Balance)



Bei diesem Balken-Test balancieren die Tiere auf einem 1,5 cm schmalen Stab. Aus drei Durchgängen, in denen das Gleichgewicht max. 60 Sekunden gehalten werden muss, wird der Mittelwert in Sekunden ermittelt.

Abbildung 19: Putzende Ratte auf dem Balken

Balken-Geh-Test (Beam Walking)

Hierbei legen die Tiere auf einem 2,5 cm breitem Balken eine definierte Laufstrecke zurück. Gezählt werden die Fehlritte, die innerhalb der festgelegten Distanz vorkommen.



Abbildung 20: Ratte ohne Fehlritte beim Beam Walking-Test

3.2.4.2.4 Untersuchte Parameter bei den neurologisch-motorischen Tests

Wie aus dem Untersuchungsprotokoll ersichtlich wird, werden zum einen viele Daten mit Absolutwerten (Sekunden, Fehlritte) ermittelt. Zum anderen fasst man die Leistungen als Gesamtüberblick in ein Punktebewertungssystem zusammen, dem neurologischen Score.

3.2.5 Ex-Vivo Untersuchung

3.2.5.1 Verarbeitung des Gewebes zur histologischen Untersuchung

3.2.5.1.1 Euthanasie, Perfusion, Entnahme und Tiefgefrieren des Gehirns

Die Euthanasie erfolgt einleitend in einem Standzylinder mit einer Halothan getränkten Zellstofflage. In tiefer Narkose wird das Tier an das Narkosesystem angeschlossen und mit überdosiertem Halothan weiter beatmet. Der Brustkorb wird eröffnet und die Lebergefäße aufgeschnitten. Vom Herzen ausgehend werden sämtliche Gefäße 10 min mit isotonomischer Kochsalz-Lösung (NaCl, Fresenius Kabi, Bad Homburg) gespült, bevor zur Gewebefixierung mit 4 % Paraformaldehyd perfundiert wird. Um das Gehirn freipräparieren und entnehmen zu können, erfolgt eine Dekapitation. Für den Gefrierprozess gibt man die Proben in einen 1,5 cm breiten Aluminiumzylinder, der mit einem gewebeschützenden Eingefriermedium Tissue Teck (Tissue freezing medium, Fa. Jung, Nußloch) aufgefüllt wird. Das Gefäß friert in Methylbutan (2-Methylbutane, Aldrich, Milwaukee, USA) auf Trockeneis langsam durch und wird bei -70 °C bis zur späteren Verarbeitung aufbewahrt.

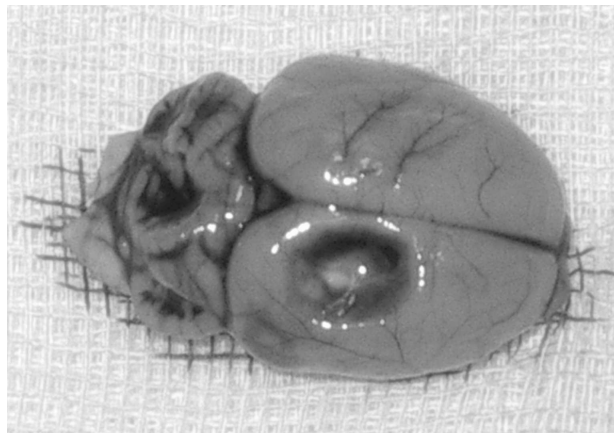


Abbildung 21: Aufsicht auf ein frisch entnommenes Rattengehirn mit umschriebenem traumatisierten Areal auf dem rechten Parietal-/Temporallappen

3.2.5.1.2 Herstellung der Gehirnschnitte für die histologische Untersuchung

Die Gehirnschnitte werden mit einem Kryotom (Microtom-Kryostat, HM 500 QM, Fa. Microtom GmbH, Walldorf) bei -23 °C angefertigt. Vor dem Schneiden wird das Eingefriermedium beseitigt und die Probe auf dem Objektisch aufgefroren. Es wird eine Nullebene definiert, ab der die Herstellung der Schnitte zur Auswertung des Läsionsvolumen dienen. Diese Nullebene entspricht der Schnittebene „Plate 11“ des Atlases „*Maps and Guide to Microdissection of the Rat Brain*“ und ist makroskopisch zu erkennen (PALKOVITS und BROWNSTEIN

1988). Vordere Anteile werden vom rostralen Gehirnde mit dicken Schnitten (30 µm) abgehobelt, wobei das Messer gleichzeitig senkrecht zur Sagittalebene ausgerichtet wird, um die Hemisphären symmetrisch abzubilden. Von der Null-ebene ausgehend werden 11 Schnittebenen gewählt, an denen jeweils zwei 10 µm dünne Scheibchen auf drei Objektträger (SuperFrost Plus, Fa. Menzel-Gläser, Braunschweig) aufgenommen werden. Die Schnittebenen haben grundsätzlich 1000 µm Abstand von der Nullebene und untereinander, d.h. die ersten befindet sich bei 1000, 2000 und 3000 µm. Im Vorfeld hat man herausgefunden, dass die Läsion meistens im Bereich von 3000 bis 3500 µm ihren rostralen Ursprung nimmt und zwischen 8500 und 9000 µm kaudal endet. Aus diesem Grunde wird die vierte Ebene nur mit 500 µm Zwischenraum zur dritten Schnitt-ebene bei 3500 µm gelegt, genauso wie zwischen der Schnittebene von 8500 und 9000 µm nur 500 µm Abstand gewählt wurde. Ein Objektträger wird zur Untersuchung genutzt, zwei werden als Reserve aufgehoben.

3.2.5.2 Histologische Untersuchung des Gehirns

3.2.5.2.1 Kresylviolett-Färbung

Die Kresylviolett-Färbung wird zur Färbung von Nisslsubstanz (Nissl-Färbung) und als Kernfärbung genutzt. Die Nisslsubstanz liegt im Zytoplasma von Nervenzellen und besteht aus rauem endoplasmatischen Retikulum. Der verwendete Farbstoff bindet basophile Strukturen wie RNS und DNS. Dadurch zeichnet sich der Zellinhalt deutlich ab (ROMEIS 1989).

Alle Gehirnschnitte werden nach folgendem Standardprotokoll gefärbt:

- Wässerung des Gewebes in absteigender Alkoholreihe:
 - 15 min 100%iger Alkohol (Ethanol 100 % pro analysi, Merck, Darmstadt)
 - 1 min 96%iger Alkohol (Ethanol 96 % pro analysi, Merck, Darmstadt)
 - 1 min 70%iger Alkohol (Ethanol 70 % pro analysi, Merck, Darmstadt)
 - abschließend 2 x in ddH₂O (doppelt destilliertes Wasser) spülen
- 5-minütiges Färben basophiler Strukturen mit Kresylviolett 1 %
- <30 s 1%ige Essigsäure bleicht und bläut das Gewebe nach
- Entwässerung des Gewebes in aufsteigender Alkoholreihe:
 - <15 s 96%iger Alkohol
 - 2 min 100%iger Alkohol
- 2 min Roti-Histol (Fa. Roth, Karlsruhe) zur Gewebefixierung
- 5 min Roti Histokitt (Fa. Roth, Karlsruhe) zur Gewebefixierung

Die Schnitte werden eingedeckt und bei Raumtemperatur aufbewahrt.

3.2.5.2.2 Mikroskopische Untersuchung

Die Kresylviolett gefärbten Schnitte werden von einer Assistentin im Doppelblindverfahren unter dem Lichtmikroskop ausgewertet. Von den zwei Präparaten auf dem Objektträger geht das qualitativ hochwertigere in die Auswertung ein. Anhand eines morphometrischen Computerprogramms (Optimas 6.5 Image Analysis Software, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) wird die nichttraumatisierte linke Hemisphäre umfahren und deren Fläche ermittelt. Von dieser wird die ungeschädigte Gewebefläche der rechten Seite abgezogen. Untergegangene Gewebsabschnitte und Areale mit Zellschäden werden ausgespart. In der Kresylviolett-Färbung hebt sich ein intensiv gefärbter „Rasen“ von Gliazellen um das Läsionsgebiet herum deutlich ab. Auch dieses Gewebe ist geschädigt und wird als Zellgrenze von gesundem zu geschädigtem Gewebe erhoben. Die Differenz aus gesundem Gewebe der taumatisierten Gehirnhälfte von der kontralateralen Seite desselben Schnittes ergibt die Läsionsfläche einer Hirnebene. Das Läsionsvolumen berechnet sich unter Berücksichtigung der Ebenenanzahl und des Abstandes der Ebenen voneinander.

3.3 Statistische Berechnungen und Dokumentation

Die Parameter der durchgeführten Nachweismethoden werden in Mittelwerten (MW) \pm Standardabweichungen (SD) tabellarisch angegeben. Zusätzlich werden die wichtigsten Parameter graphisch ergänzt und als Mittelwert mit Standardfehler (SEM) dargestellt. Zwei Versuchsgruppen werden gebildet: Die Normoventilationsgruppe, im folgenden NV-Gruppe, und die Hyperventilationsgruppe, HV-Gruppe abgekürzt.

Die Hole-Board-Parameter werden 3 Tage vor bis 20 Tage (Versuchsende) nach der OP angegeben. Pro Tag und Tier werden die ersten 2 Durchläufe (visuell-räumlich) und der 3. Durchlauf unabhängig voneinander innerhalb der Versuchsgruppe ausgewertet. Mit der Zweifache-ANOVA wird geprüft, ob sich die jeweilige Variable innerhalb derselben Gruppe (Faktor=Zeit²), zwischen den zwei Versuchsgruppen (Faktor=Ventilation) oder im Verlauf zwischen den beiden Gruppen (Zeit²x Versuchsgruppe) signifikant unterscheiden ($p < 0,05$). Auf eine Posthoc Analyse wird bewusst verzichtet, da es keinen medizinischen Grund gibt, einen bestimmten Tag speziell hervorzuheben. Insbesondere kann der letzte Tag der Untersuchung dieser Tiere nicht als Endergebnis (Outcome) interpretiert werden.

Die physiologischen Parameter werden während der OP an 5 Messzeitpunkten dokumentiert und tabellarisch dargestellt. Sie wurden ebenfalls mit einer Zweifache-ANOVA statistisch bewertet. Die unabhängigen Variablen sind erneut die Gruppe (HV gegen NV), der Untersuchungszeitpunkt (0, 1, 2, 3 bzw. 4 Stunden) und deren Wechselwirkung. Falls die Gruppe oder die Wechselwirkungsfaktoren signifikant sind, wird an den jeweiligen Messzeitpunkten mit dem T-Test zwischen den Gruppen verglichen. Als Signifikanzniveau wird $p < 0,05$ gesetzt. Bei den Posthoc-Tests wird nach Bonferoni korrigiert.

Die Einzelflächenberechnung der Histologie wird mit dem morphometrischen Computerprogramm erarbeitet. Für die MW \pm SD wird genauso wie im Hole-Board-Test die Software SPSS Version 11.5 für Windows benutzt. Diese werden mit dem T-Test für ungepaarte Stichproben ausgewertet (Signifikanzniveau= $p < 0,05$).

3.4 Ergebnisse

3.4.1 Untersuchungsgut und Tierverlust

Ein Tier aus der HV-Gruppe verstirbt am Tag 1 nach der OP aus ungeklärter Ursache. Bei einem Tier aus der NV-Gruppe wird das Probenmaterial für die histologische Untersuchung beschädigt und unbrauchbar. Die Daten, die in den Verhaltenstests bis dahin erhoben, und die physiologischen Parameter, die während der OP dokumentiert wurden, ergänzen die Auswertung. Eine histologische Untersuchung kann allerdings bei keinem der beiden Tiere stattfinden. Deswegen besteht die Anzahl der Tiere für die histologische Untersuchung in der HV-Gruppe aus 10 Tieren, in der NV-Gruppe aus 9 Tieren.

3.4.2 Physiologische Parameter

Während der OP werden mehrere physiologische Parameter erhoben, die zur Überwachung der Vitalfunktionen und als standardisierte Richtwerte für operative Phase nötig sind.

In Tabelle 19 werden die wichtigsten Parameter gezeigt, die als Baseline vor der Traumainduktion und an vier Messzeitpunkten danach gesammelt wurden (MW \pm SD). Die perikranielle Temperatur wird kontinuierlich auf 37,5 °C konstant gehalten und entspricht an jedem Messzeitpunkt diesem Wert.

Der PaCO₂ muss als standardisierter Richtwert für die NV-Gruppe bei 38 bis 42 mmHg und für die HV-Gruppe bei 28 bis 32 mmHg eingestellt werden. Auf diesem Parameter basiert die Untersuchung. Während der Ausgangswertemessung besteht in beiden Versuchsgruppen ein PaCO₂ von ca. 41 \pm 2 mmHg. Während der Nachbeatmungsphase liegen beide Gruppen beständig innerhalb des Zielbereichs. Die NV-Gruppe erreicht durchschnittlich 41,2 \pm 1,7 mmHg und die HV-Gruppe 30,8 \pm 0,8 mmHg. Die Werte liegen an jedem Zeitpunkt nach dem Trauma in den definierten Bereichen und unterscheiden sich dabei zwischen den Versuchsgruppen signifikant (p<0,05).

Über die Atemfrequenz wird der PaCO₂ kontrolliert. Während der Ausgangswertemessung werden beide Versuchsgruppen mit einer Frequenz von 50 pro Minute ventiliert. Im weiteren Verlauf zeigt die NV-Gruppe eine unbedeutend geringere Frequenz von 47 \pm 5. Zur Absenkung des PaCO₂ wird die Atemfrequenz in der HV-Gruppe jedoch deutlich gesteigert, so dass diese sich signifikant zur NV-Gruppe unterscheidet (p<0,05). Um den gewünschten PaCO₂ zu erzielen, wird eine Atemfrequenz von 80 \pm 10 konstant bis zum Ende der Operation durchgeführt.

Ausgehend von einem durchschnittlichen pH-Ausgangswert von 7,42 wird durch die Ventilationsveränderung der pH-Wert der HV-Gruppe ins Alkalische verschoben. Dieser steigt auf 7,5 an und bleibt bei 7,49 während der OP stabil. Die NV-Gruppe bleibt beständig unter diesen Werten und nahe am Baseline-pH-Wert von 7,41 im Verlauf der Nachbeatmung bestehen, so dass sich die HV-Gruppe signifikant zu diesen Werten unterscheidet ($p < 0,05$).

Table 19: Physiologische Parameter, die während der Operation erhoben werden:

Arterieller Kohlendioxid-Partialdruck ($PaCO_2$), Atemfrequenz (AF), pH-Wert, Blutglukose, mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), arterieller Sauerstoff-Partialdruck (PaO_2) und Hämoglobin (Hb) der normoventilierten (NV) und hyperventilierten (HV) Versuchsgruppe vor der Traumainduktion als Baseline (BL) und an vier Messzeitpunkten nach dem Trauma (MW \pm SD; Signifikanz= $p < 0,05 = *$)

Parameter	Gruppe	Ausgangswerte (vor Trauma) (MW \pm SD)		Messzeitpunkte (nach Trauma) (MW \pm SD)			
				0:00	1:00	2:30	4:00
PaCO₂ (mmHg)	NV	40,7 \pm 2,9	38,8 \pm 3,2	42,0 \pm 2,9	42,6 \pm 1,8	41,4 \pm 2,6	
	HV	41,3 \pm 2,1	29,7 \pm 3,0*	31,3 \pm 2,1*	30,9 \pm 2,3*	31,3 \pm 2,7*	
AF pro Minute	NV	49 \pm 4	47 \pm 4	46 \pm 5	47 \pm 5	48 \pm 4	
	HV	50 \pm 5	83 \pm 8*	77 \pm 11*	81 \pm 14*	80 \pm 13*	
pH-Wert	NV	7,42 \pm 0,02	7,44 \pm 0,01	7,41 \pm 0,02	7,41 \pm 0,02	7,41 \pm 0,02	
	HV	7,41 \pm 0,03	7,53 \pm 0,04*	7,49 \pm 0,02*	7,49 \pm 0,03*	7,49 \pm 0,03*	
Blutglukose mg/dl	NV	130 \pm 18	115 \pm 14	108 \pm 23	109 \pm 23	107 \pm 16	
	HV	142 \pm 33	123 \pm 29	121 \pm 19	114 \pm 12	117 \pm 11	
MAP (mmHg)	NV	83 \pm 8	90 \pm 9	86 \pm 6	83 \pm 7	81 \pm 9	
	HV	77 \pm 7	90 \pm 15	93 \pm 10	88 \pm 10	86 \pm 12	
PaO₂ (mmHg)	NV	113 \pm 10	121 \pm 14	138 \pm 15	131 \pm 11	125 \pm 11	
	HV	127 \pm 20	135 \pm 20	121 \pm 18	120 \pm 18	116 \pm 15	
Hb g/dl	NV	13,6 \pm 1,4	12,4 \pm 0,9	12,7 \pm 0,9	12,8 \pm 1,2	12,6 \pm 1,5	
	HV	13,3 \pm 0,6	13,0 \pm 0,8	12,7 \pm 0,7	13,1 \pm 0,8	13,1 \pm 0,6	

Die Blutglukose liegt in der Ausgangsmessung bei beiden Versuchsgruppen im Bereich von ca. 120 bis 150 mg/dl. Im Verlauf der OP sinkt diese bei beiden Gruppen um ca. 30 mg/dl ab. Relevante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen gibt es nicht.

Die Ergebnisse der Herzfrequenzmessung weisen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen oder im zeitlichen Verlauf auf. Die NV-Gruppe schwankt zwischen 318 und 348 Schlägen pro Minute und die HV-Gruppe zeigt eine Frequenz von 299 bis 325.

Der MAP beider Gruppen steigt nach dem SHT kurzzeitig leicht an und erreicht zum ersten Messzeitpunkt 90 mmHg. Durch die Kreislauf-stabilisierende Dauerinfusion mit Arterenol wird der MAP kontinuierlich zwischen 80 und 100 mmHg konstant gehalten und erreicht keine signifikanten Unterschiede. Der Arterenolverbrauch ist in beiden Versuchsgruppen gleich hoch.

Beide Versuchsgruppen werden während der ganzen OP mit einem Sauerstoffgehalt von 33 Vol% beatmet. Dementsprechend bleibt der PaO₂ zwischen 110 und 140 mmHg konstant, erreicht Durchschnittswerte von 125 mmHg in der NV-Gruppe und 124 mmHg in der HV-Gruppe und führt zu keinem signifikanten Unterschied.

Auch die Hämoglobinwerte zeigen keine Unterschiede und bewegen sich zwischen 12 bis 14 mmHg im physiologischen Rahmen.

3.4.3 Im modifizierten Hole-Board-Test nach OHL erhobene Parameter

Alle aufgeführten Ergebnisse aus dem mHB-Test beziehen sich nur auf die ersten zwei visuell-räumlichen Durchläufe. Der dritte, rein räumlich ausgerichtete Testdurchlauf zeigt keine beachtenswerten Unterschiede, wird aber auf Grund der andersartigen Versuchsdurchführung nicht in die visuell-räumliche Bewertung aufgenommen.

3.4.3.1 Gedächtnisparameter

Gesamtfehler

*Tabelle 20: Anzahl aller Fehler und Auffindungsfehler, angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der Operation bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).*

Deklaratives Gedächtnis (Fehler[n])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation*
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,3
-2	0,1 ± 0,2	0,4 ± 0,4
-1	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,3
OPERATION	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,4
1	0,3 ± 0,4	1,2 ± 1,2
2	0,3 ± 0,5	0,6 ± 0,9
3	0,4 ± 0,6	0,4 ± 0,6
4	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,3
5	0,1 ± 0,2	0,5 ± 0,5
6	0,4 ± 0,7	0,3 ± 0,4
7	0,1 ± 0,2	0,3 ± 0,3
8	0,2 ± 0,3	0,3 ± 0,4
9	0,3 ± 0,6	0,3 ± 0,3
10	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,3
11	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
12	0,2 ± 0,3	0,3 ± 0,4
13	0,2 ± 0,2	0,5 ± 0,5
14	0,2 ± 0,5	0,3 ± 0,5
15	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,2
16	0,5 ± 0,7	0,4 ± 0,5
17	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,9
18	0,1 ± 0,2	0,4 ± 0,4
19	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,2
20	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,7

In Tabelle 20 werden die Gesamtfehler eines Durchlaufs pro Untersuchungstag aufgeführt (MW±SD), d.h. Fehler und Auffindungsfehler wurden summiert. Da alle Tiere jederzeit die richtigen Löcher aufgefunden haben, entspricht die Gesamtfehleranzahl der Fehleranzahl.

Die Tiere der NV-Gruppe erreichen vor der OP einen durchschnittlichen Ausgangswert von 0,1±0,1 Fehlern, die der HV-Gruppe von knapp 0,3±0,4 Fehlern. Die NV-Gruppe verändert ihre Leistung während der Beobachtungszeit unbedeutend. Die HV-Gruppe dagegen macht

einen sprunghaften Anstieg am Tag 1 auf 1,2 Fehler und findet erst bis Tag 6 auf 0,3 Fehler zurück. Bis Versuchsende zeigen sich keine weiteren Veränderungen. Damit zeigt sich im zeitlichen Verlauf der Untersuchungsergebnisse ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen, der in Abbildung 22 als Kurve dargestellt wird ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

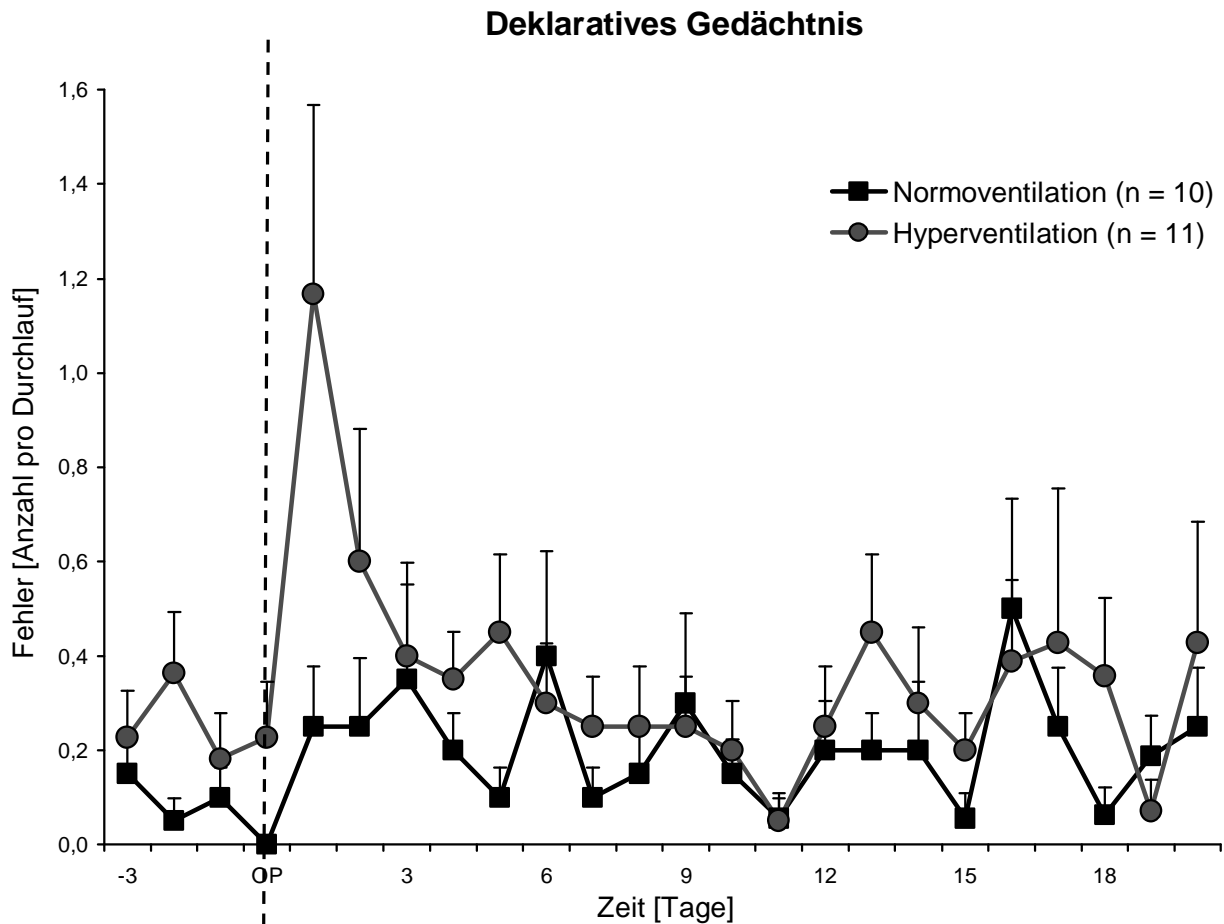


Abbildung 22: Durchschnittliche Gesamtfehleranzahl [n] eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Die Tiere der Hyperventilations-Gruppe machen mehr Fehler als die Tiere der Normoventilations-Gruppe. Die Zweifache-ANOVA zeigt, dass sich die Anzahl der Gesamtfehler im modifizierten Hole-Board-Test zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Untersuchung signifikant unterscheidet ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

Auffindungsfehler

Während des bewerteten Untersuchungszeitraumes gibt es keine richtigen, d.h. markierten Löcher, die nicht aufgefunden werden, demnach gibt es auch keine Auffindungsfehler.

Wiederholungen

Tabelle 21: Anzahl aller Wiederholungen, angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Arbeitsgedächtnis (Wiederholungen[n])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,2
-2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
-1	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,1
OPERATION	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,2
1	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,4
2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
3	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,5
4	0,2 ± 0,3	0,0 ± 0,0
5	0,3 ± 0,3	0,2 ± 0,2
6	0,4 ± 0,6	0,1 ± 0,2
7	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
8	0,3 ± 0,4	0,3 ± 0,3
9	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
10	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,2
11	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2
12	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0
13	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,3
14	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,2
15	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
16	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
17	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,5
18	0,1 ± 0,2	0,3 ± 0,5
19	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,3
20	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,5

Richtige Löcher, die in einem Durchlauf wiederholt geöffnet werden, entsprechen Wiederholungen. Diese werden in Tabelle 21 pro Durchlauf und Untersuchungstag (MW±SD) dargestellt. Keine Versuchsgruppe erreicht eine annähernd konstante Leistung (s. Abbildung 23), aus der man Unterschiede im zeitlichen oder Gruppenvergleich erkennen kann.

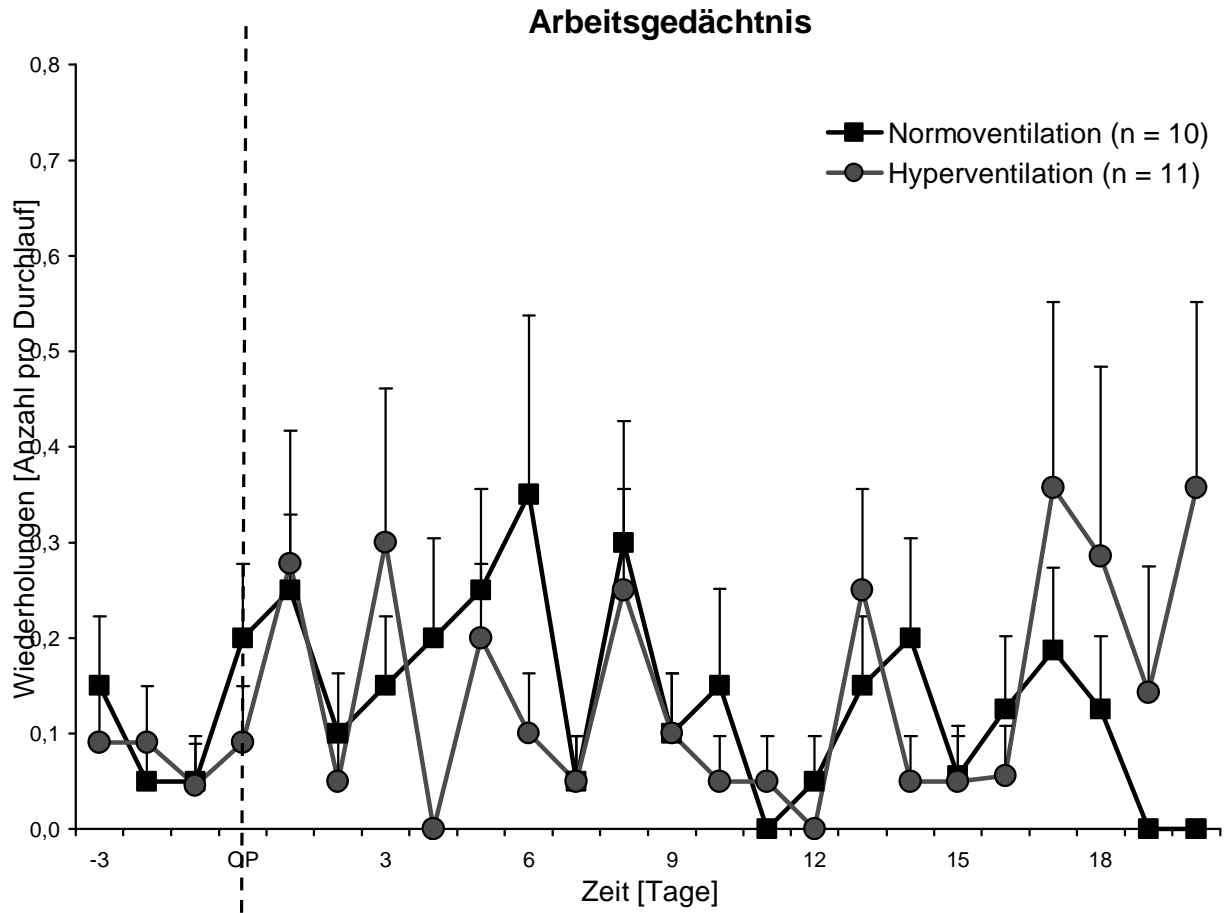


Abbildung 23: Durchschnittliche Wiederholungsanzahl [n] eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweiwege-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede im Arbeitsgedächtnis während des modifizierten Hole-Board-Tests zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden.

3.4.3.2 Explorations- und Motivationsparameter

Gesamtzeit

Tabelle 22: Zeit, in der die Tiere einen Testdurchlauf absolvieren=Gesamtzeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Exploration/Motivation (Gesamtzeit[n])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	40,1 ± 13,7	39,8 ± 9,1
-2	46,8 ± 23,4	45,8 ± 23,6
-1	53,1 ± 26,8	43,6 ± 26,8
OPERATION	50,6 ± 16,8	43,5 ± 20,1
1	113,9 ± 67,2	76,6 ± 27,1
2	64,7 ± 23,5	56,4 ± 24,9
3	72,8 ± 23,2	67,5 ± 24,6
4	73,0 ± 34,1	62,7 ± 33,8
5	57,2 ± 24,5	55,9 ± 32,3
6	87,3 ± 78,9	52,3 ± 26,7
7	54,7 ± 30,0	40,7 ± 15,2
8	57,3 ± 23,3	38,0 ± 16,1
9	37,5 ± 14,0	35,9 ± 12,0
10	47,8 ± 23,0	36,6 ± 14,9
11	37,2 ± 11,0	35,2 ± 11,1
12	37,7 ± 18,2	33,3 ± 6,7
13	47,8 ± 16,2	37,3 ± 13,1
14	41,3 ± 16,5	34,2 ± 11,1
15	33,6 ± 16,8	50,0 ± 64,3
16	37,3 ± 12,3	35,1 ± 15,2
17	38,4 ± 23,7	37,8 ± 18,4
18	40,3 ± 18,6	38,6 ± 24,3
19	36,0 ± 18,0	35,9 ± 17,0
20	36,5 ± 10,6	33,9 ± 11,8

In Tabelle 22 werden die Gesamtzeiten pro Durchlauf und Untersuchungstag (MW±SD) erfasst. Alle Tiere erreichen vor der OP eine stabile Ausgangsleistung und brauchen zwischen 40 bis 50 Sekunden zur Erfüllung des Tests. Am Tag 1 nach der OP benötigt die NV-Gruppe rund die 2,5fache, die HV-Gruppe 1,7fache Zeit. Die Tiere der NV-Gruppe finden zudem nach 8 Tagen zu einer konstant niedrigen Gesamtzeit zurück, während die Tiere der HV-Gruppe schon ab Tag 7 Werte unter 40 Sekunden erreichen. Signifikante

Unterschiede zeigen sich im Gruppenvergleich des zeitlichen Verlaufs nicht. Tendenziell braucht die NV-Gruppe jedoch mehr Zeit für einen Durchlauf nach der OP als die HV-Gruppe (s. Abbildung 24).

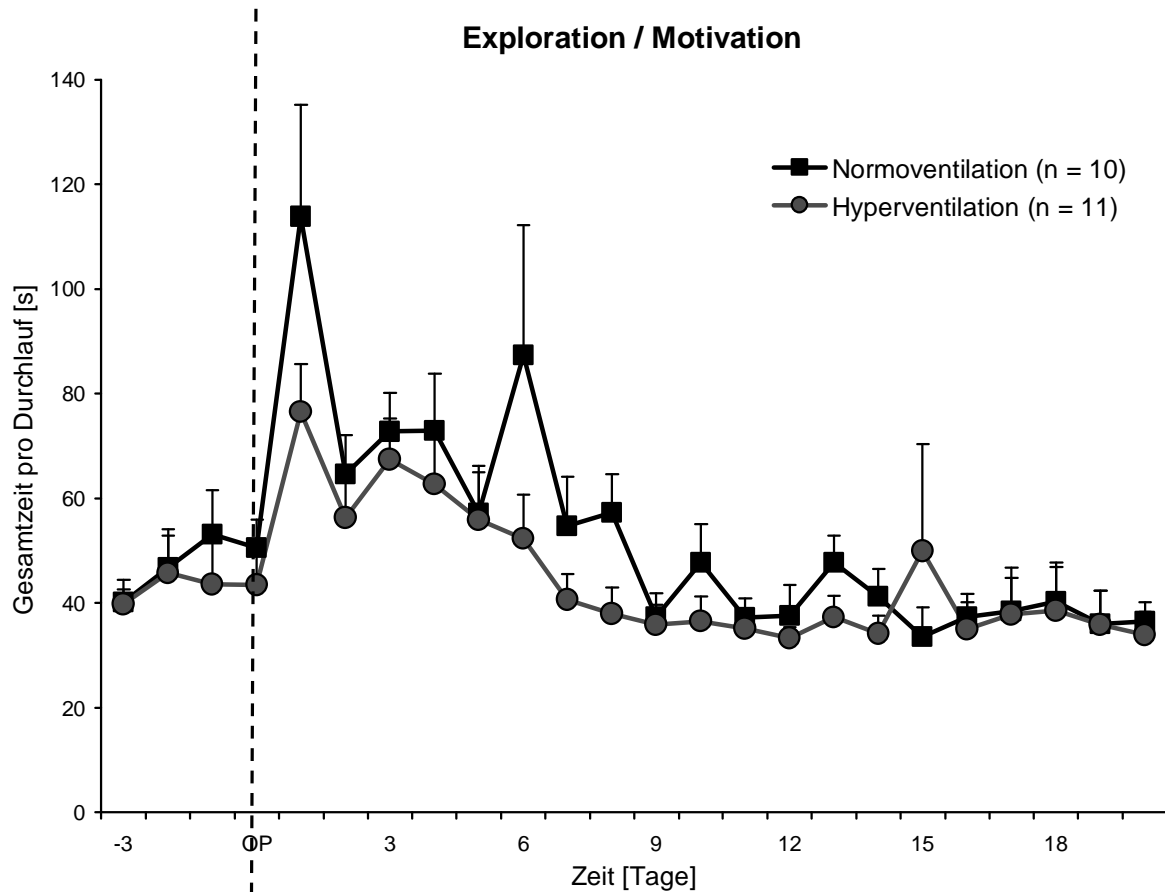


Abbildung 24: Durchschnittliche Gesamtzeit [s] eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweifache-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede in der Gesamtzeit während des modifizierten Hole-Board-Tests zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden. Tendenziell ist jedoch zu erkennen, dass die Tiere der Normoventilations-Gruppe vorübergehend mehr Zeit brauchen und bis zum Zurückfinden auf eine konstante niedrigere Gesamtzeit mehr Tage benötigen als die Tiere der Hyperventilations-Gruppe.

Zeit auf dem Board

Die Zeit auf dem Board wird pro Durchlauf ermittelt. Es stellt sich heraus, dass die Tiere generell um die 30 % der Gesamtzeit auf dem Board verbringen. Im zeitlichen Verlauf lassen sich weder Unterschiede zwischen Ausgangswerten und nach der OP noch zwischen den Versuchsgruppen erkennen.

Betreten des Boards

*Tabelle 23: Anzahl wie oft das Board betreten wurde, angegeben im arithmetischen Mittelwert in einem Durchlauf pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).*

<i>Exploration/Angst (Betreten des Boards[n])</i>		
	Normoventilation* (n=10)	Hyperventilation (n=11)
Versuchstag	MW ± SD	MW ± SD
-3	3,2 ± 0,6	3,0 ± 0,8
-2	3,5 ± 1,5	3,9 ± 2,2
-1	4,3 ± 2,3	3,6 ± 2,0
OPERATION	4,1 ± 2,0	3,7 ± 1,5
1	5,1 ± 2,0	5,1 ± 1,9
2	3,7 ± 1,8	4,0 ± 2,1
3	4,7 ± 2,0	5,4 ± 2,6
4	5,1 ± 2,8	3,9 ± 1,6
5	4,5 ± 2,3	3,2 ± 1,2
6	4,9 ± 3,3	3,5 ± 1,9
7	3,3 ± 1,5	3,2 ± 1,0
8	4,0 ± 1,1	3,2 ± 1,3
9	3,2 ± 1,3	3,1 ± 1,3
10	3,2 ± 1,2	3,0 ± 1,8
11	2,8 ± 0,9	3,1 ± 1,4
12	2,9 ± 1,3	2,7 ± 0,7
13	3,3 ± 1,2	2,8 ± 1,0
14	2,8 ± 1,7	2,4 ± 0,9
15	2,5 ± 0,9	2,9 ± 3,2
16	2,8 ± 1,3	2,3 ± 1,1
17	3,5 ± 2,5	2,5 ± 1,6
18	3,3 ± 1,9	2,5 ± 1,6
19	2,3 ± 1,7	2,4 ± 1,2
20	2,6 ± 0,6	2,4 ± 0,7

In Tabelle 23 wird die Anzahl, wie oft das Board innerhalb eines Durchlaufs betreten wird, pro Untersuchungstag dargestellt (MW±SD). Beide Versuchsgruppen betreten nach der OP öfter das Board als vorher. Die Tiere der HV-Gruppe betreten ab Tag 4 wieder weniger das Board, während die Tiere der NV-Gruppe erst ab Tag 7 weniger oft das Board begehen. Das bedeutet, dass diese Phase bei den Tieren der NV-Gruppe länger andauert als bei denen der HV-Gruppe. Gegen Versuchsende nimmt die Explorationsaktivität in beiden Gruppen ab.

Damit zeigt sich im zeitlichen Verlauf der Untersuchungsergebnisse ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen, der in Abbildung 25 als Kurve verdeutlicht dargestellt wird (Zeit²×Gruppe: p<0,05).

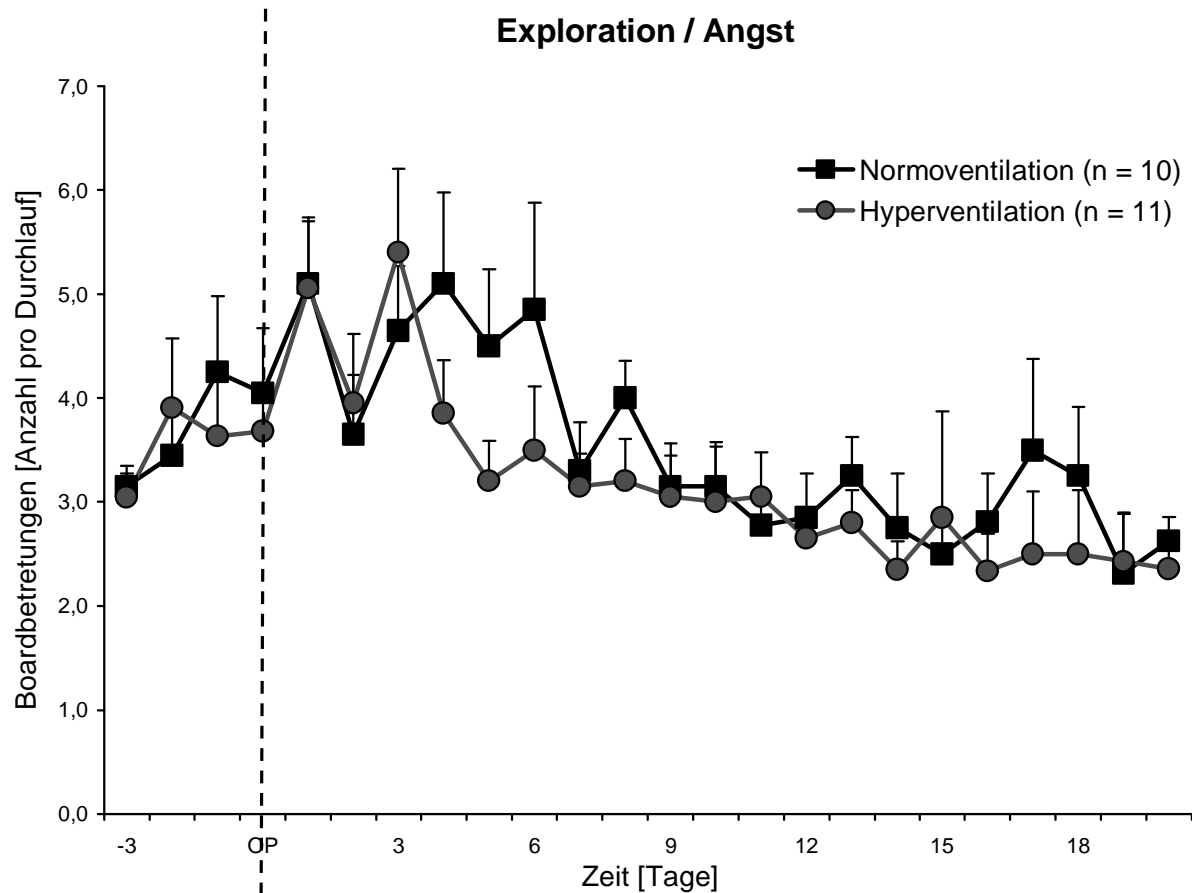


Abbildung 25: Durchschnittliche Anzahl [n] wie oft das Board innerhalb eines Durchlaufs betreten wird pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Die Tiere der Normoventilations-Gruppe betreten öfter das Board als die Tiere der Hyperventilations-Gruppe. Die Zweifache-ANOVA zeigt, dass sich die Anzahl, wie oft das Board betreten wird, zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Untersuchung signifikant unterscheidet (Zeit²×Gruppe: p<0,05).

Anzahl aller besuchten Löcher**Tabelle 24:** Anzahl aller besuchten Löcher, angegeben im arithmetischen Mittelwert in einem Durchlauf pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Zielgerichtete Exploration (Anzahl aller besuchten Löcher[n])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	3,3 ± 0,3	3,3 ± 0,4
-2	3,1 ± 0,2	3,5 ± 0,4
-1	3,2 ± 0,2	3,2 ± 0,4
OPERATION	3,2 ± 0,2	3,3 ± 0,4
1	3,5 ± 0,5	4,4 ± 1,3
2	3,4 ± 0,5	3,7 ± 0,9
3	3,5 ± 0,7	3,7 ± 0,8
4	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,3
5	3,4 ± 0,5	3,7 ± 0,6
6	3,8 ± 1,0	3,4 ± 0,4
7	3,2 ± 0,2	3,3 ± 0,3
8	3,5 ± 0,5	3,5 ± 0,6
9	3,4 ± 0,7	3,4 ± 0,5
10	3,3 ± 0,5	3,3 ± 0,3
11	3,1 ± 0,2	3,1 ± 0,3
12	3,3 ± 0,4	3,3 ± 0,4
13	3,4 ± 0,4	3,7 ± 0,6
14	3,4 ± 0,6	3,4 ± 0,5
15	3,1 ± 0,2	3,3 ± 0,5
16	3,6 ± 0,7	3,4 ± 0,5
17	3,4 ± 0,5	3,8 ± 1,4
18	3,2 ± 0,3	3,6 ± 0,9
19	3,2 ± 0,2	3,2 ± 0,4
20	3,3 ± 0,4	3,8 ± 1,2

Die Anzahl aller besuchten, d.h. die Summe der richtigen, falschen und wiederholt geöffneten Löcher wird in Tabelle 24 pro Durchlauf und Untersuchungstag erfasst (MW±SD). Wie die Werte der Tiere beider Versuchsgruppen zeigen, gibt es kaum Abweichungen. Nur am Tag 1 nach der OP zeigt die HV-Gruppe einmalig eine höhere Lochanzahl.

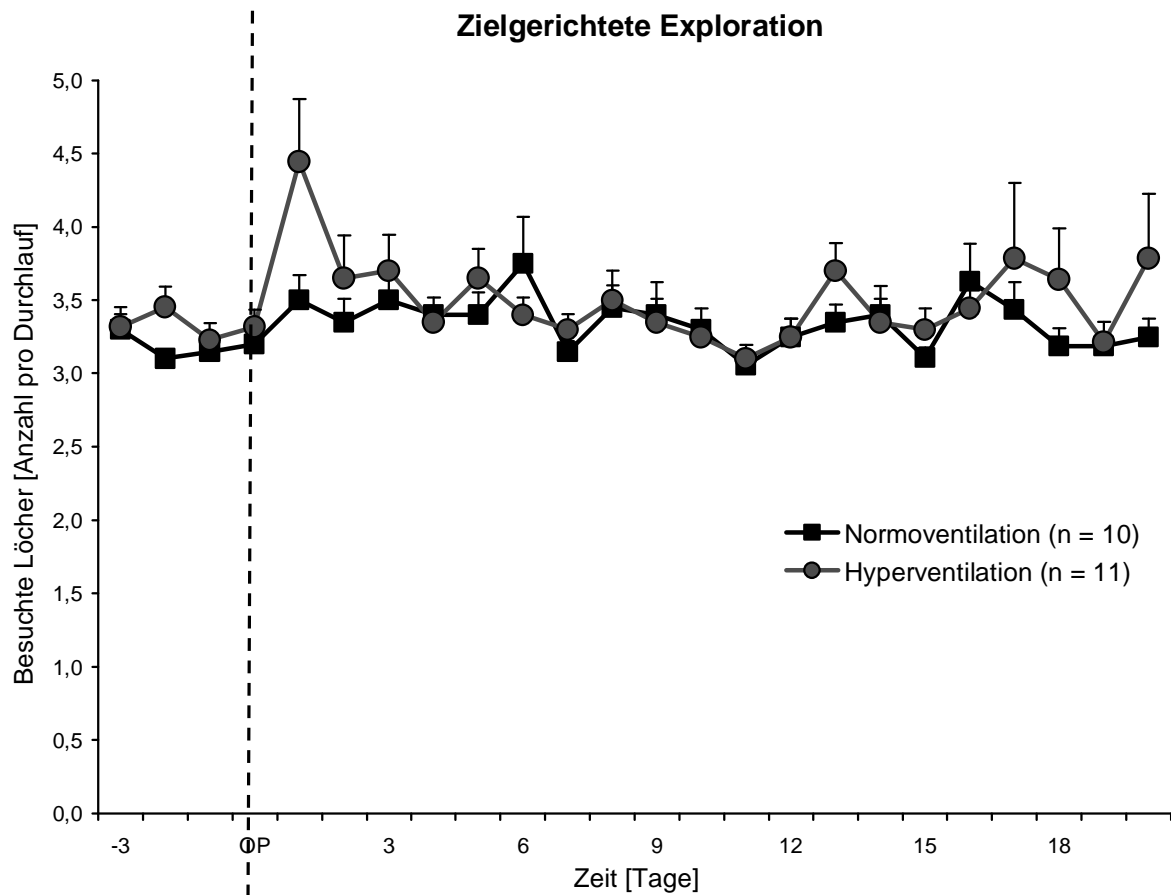


Abbildung 26: Durchschnittliche Anzahl [n] aller besuchten Löcher eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweifache-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede in der Gesamtzeit während des modifizierten Hole-Board-Tests zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden.

Zeit auf dem Board pro besuchtem Loch

*Tabelle 25: Zeit auf dem Board pro besuchtem Loch [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert in einem Durchlauf pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).*

Exploration/Motivation (Zeit auf dem Board pro besuchtes Loch[s])

Versuchstag	Normoventilation*	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	3,7 ± 1,6	3,1 ± 1,0
-2	4,9 ± 3,1	4,2 ± 2,2
-1	5,3 ± 2,5	3,8 ± 2,7
OPERATION	4,9 ± 1,9	4,2 ± 3,7
1	7,9 ± 4,3	7,4 ± 5,8
2	5,9 ± 2,6	5,2 ± 2,5
3	8,1 ± 2,9	6,3 ± 3,5
4	7,6 ± 4,8	4,4 ± 1,6
5	5,0 ± 2,0	4,4 ± 1,7
6	6,8 ± 5,1	4,7 ± 2,1
7	4,9 ± 2,3	3,0 ± 0,6
8	5,4 ± 2,1	3,1 ± 1,2
9	3,5 ± 1,5	3,1 ± 1,5
10	4,4 ± 2,0	3,8 ± 1,9
11	3,6 ± 1,3	3,7 ± 1,9
12	3,6 ± 1,9	3,4 ± 1,4
13	4,9 ± 2,1	3,2 ± 1,2
14	3,6 ± 1,3	3,4 ± 1,4
15	3,5 ± 1,5	4,9 ± 7,7
16	3,5 ± 1,9	3,1 ± 1,7
17	3,4 ± 2,4	3,6 ± 1,8
18	3,7 ± 1,8	2,8 ± 1,0
19	3,4 ± 2,2	3,7 ± 2,7
20	4,0 ± 2,0	2,9 ± 1,2

Mit Tabelle 25 wird die Zeit pro Durchlauf und Untersuchungstag dargestellt (MW±SD), welche die Tiere zum Aufsuchen eines Lochs auf dem Board benötigen. Am Tag 1 nach der OP brauchen beide Gruppen mehr als das 1,5fache länger, um auf dem Board ein Loch aufzusuchen. Die NV-Gruppe braucht in den ersten 8 Tagen nach der Operation durchschnittlich länger zum Aufsuchen der Löcher, während die HV-Gruppe nur bis Tag 3 mehr Zeit benötigt. Abbildung 27 verdeutlicht den zeitlichen Verlauf der Untersuchungsergebnisse und zeigt, dass zwischen den Versuchsgruppen ein signifikanter Unterschied besteht ($Zeit^2 \times Gruppe: p < 0,05$) und die NV-Gruppe mehr Zeit auf dem Board braucht, um ein Loch aufzufinden.

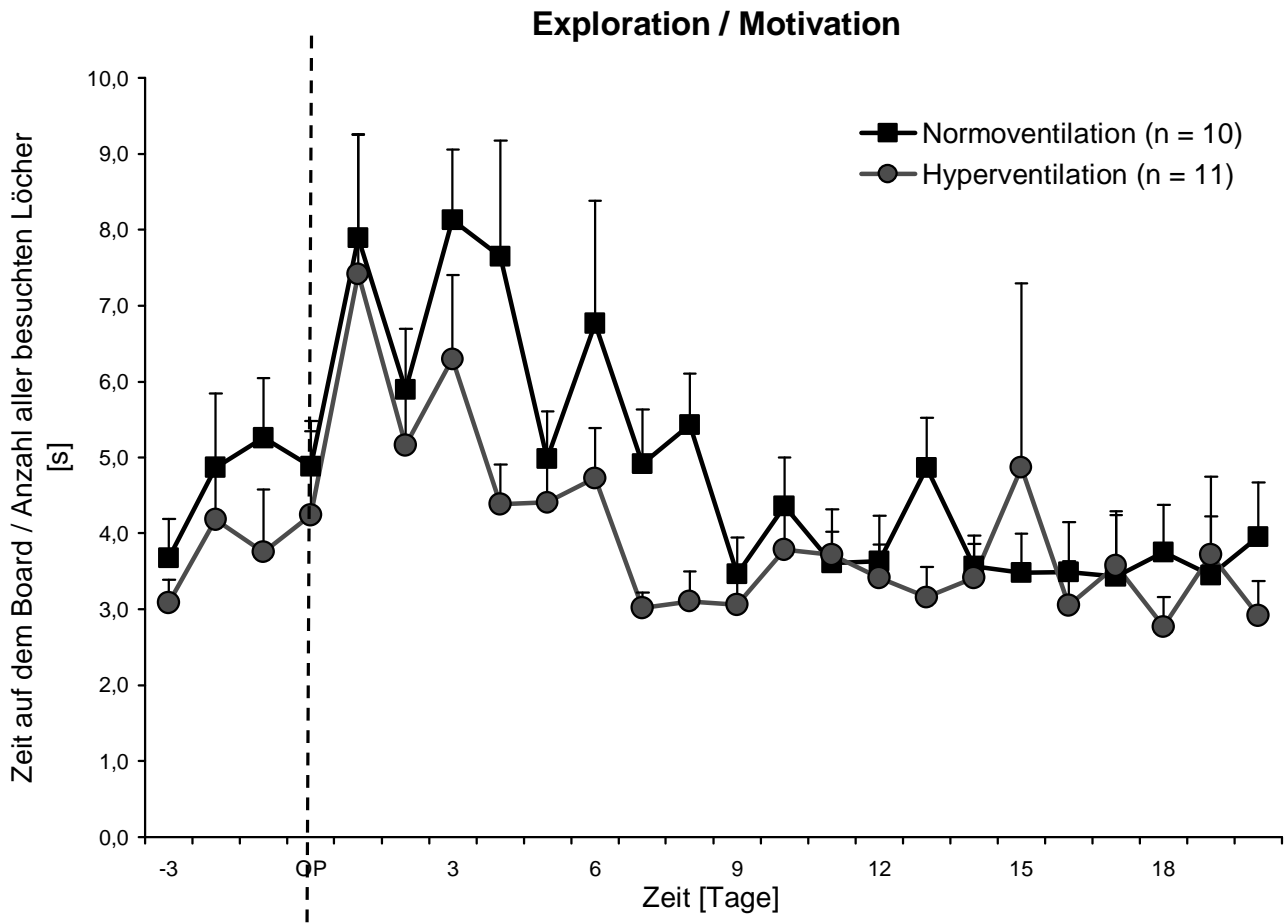


Abbildung 27: Durchschnittliche Zeit auf dem Board [s] pro besuchtes Loch eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Die Tiere der Normoventilations-Gruppe benötigen mehr Zeit als die Tiere der Hyperventilations-Gruppe. Die Zweifache-ANOVA zeigt, dass sich die Zeit auf dem Board pro besuchtes Loch zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Untersuchung signifikant unterscheidet ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

Männchen machen

Tabelle 26: Anzahl aller Aktionen, in denen sich das Tier in einem Durchlauf aufrichtet, angegeben im arithmetischen Mittelwert pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Allgemeine Exploration (Männchen machen[n])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	0,30 ± 0,33	0,45 ± 0,62
-2	0,65 ± 1,03	0,68 ± 0,83
-1	1,45 ± 1,85	0,41 ± 0,47
OPERATION	1,00 ± 0,74	0,91 ± 1,14
1	1,20 ± 1,40	0,44 ± 0,64
2	0,55 ± 0,65	0,75 ± 0,96
3	0,55 ± 0,88	1,00 ± 1,34
4	1,45 ± 1,06	0,80 ± 0,87
5	0,80 ± 0,68	1,00 ± 0,74
6	1,20 ± 1,54	1,70 ± 2,11
7	0,60 ± 0,73	0,40 ± 0,30
8	0,95 ± 1,23	0,10 ± 0,20
9	0,30 ± 0,33	0,55 ± 0,65
10	0,55 ± 0,57	0,50 ± 0,71
11	0,17 ± 0,33	0,40 ± 0,44
12	0,50 ± 0,67	0,35 ± 0,50
13	0,45 ± 0,57	0,50 ± 0,74
14	0,60 ± 0,94	0,20 ± 0,33
15	0,22 ± 0,34	0,55 ± 1,49
16	0,19 ± 0,24	0,17 ± 0,33
17	0,25 ± 0,50	0,29 ± 0,70
18	0,06 ± 0,17	0,29 ± 0,52
19	0,13 ± 0,33	0,07 ± 0,17
20	0,19 ± 0,24	0,21 ± 0,25

In Tabelle 26 wird die Häufigkeit, mit der sich Tiere innerhalb eines Durchlaufs auf die Hinterbeine erheben, pro Untersuchungstag angegeben (MW±SD). Die Werte weisen weder auf verändertes Verhalten durch die OP, noch auf Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen hin. Im Verlauf des Versuchs machen alle Tiere immer weniger Männchen als am Anfang (s. Abbildung 28).

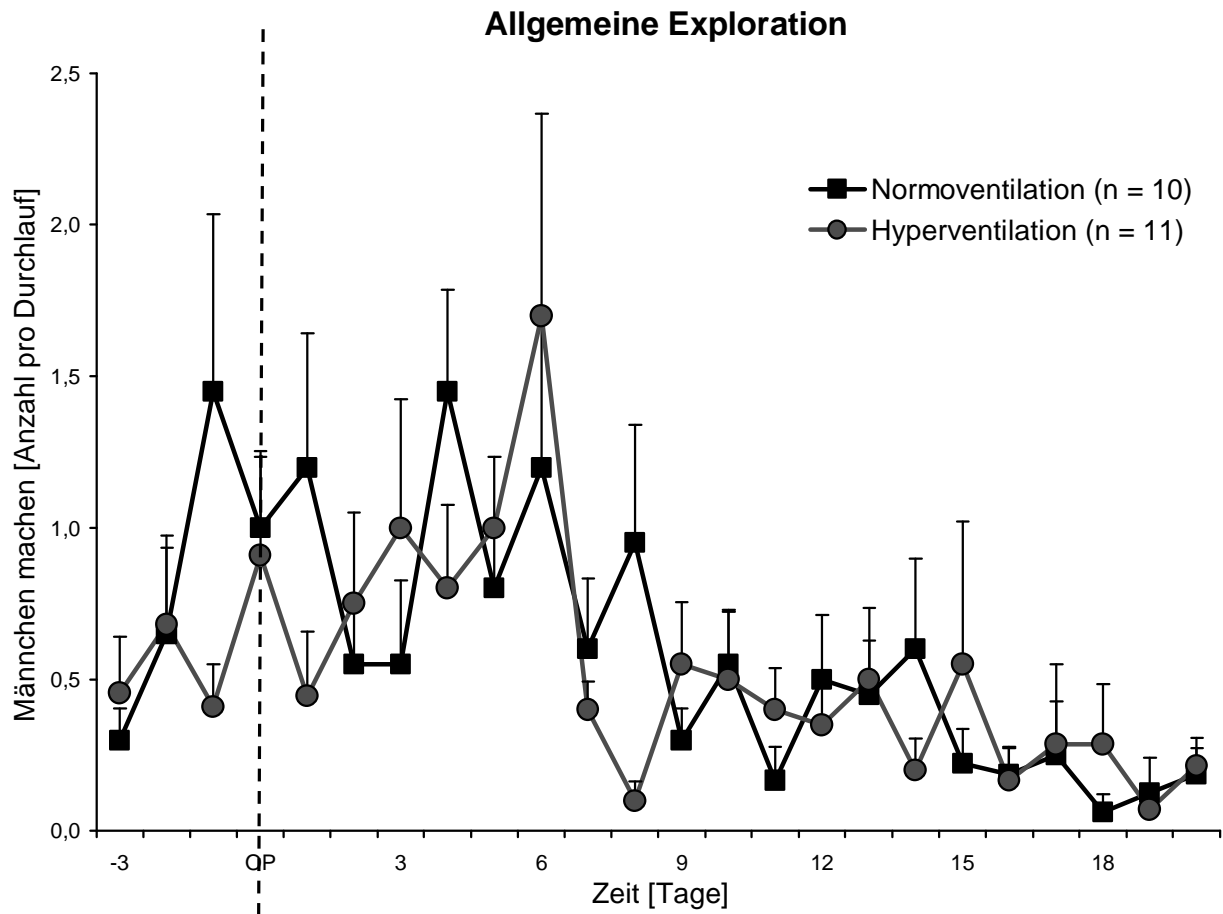


Abbildung 28: Durchschnittliche Anzahl [n] der Aktionen Männchen machen eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweifache-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede im Männchen machen während des modifizierten Hole-Board-Tests zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden.

3.4.3.3 Angstbezogene Parameter

Zeit bis zum ersten Betreten des Boards

Tabelle 27: Zeit bis zum ersten Betreten des Boards [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Angst (Zeit bis zum ersten Betreten des Boards[s])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	1,9 ± 1,2	2,2 ± 1,3
-2	2,0 ± 1,9	1,5 ± 0,5
-1	2,0 ± 1,2	1,5 ± 0,5
OPERATION	2,1 ± 0,9	1,9 ± 1,1
1	5,9 ± 3,7	4,4 ± 2,9
2	2,9 ± 1,8	4,3 ± 3,1
3	3,3 ± 2,6	3,0 ± 1,1
4	3,5 ± 2,8	4,5 ± 3,2
5	3,2 ± 2,2	5,2 ± 3,4
6	3,0 ± 2,7	3,5 ± 2,4
7	2,5 ± 2,0	2,6 ± 1,1
8	2,9 ± 2,1	3,0 ± 2,4
9	3,1 ± 2,4	2,2 ± 1,1
10	3,6 ± 3,3	2,6 ± 1,9
11	3,2 ± 2,6	2,7 ± 1,4
12	2,4 ± 1,7	2,5 ± 1,4
13	3,0 ± 2,3	2,5 ± 1,2
14	2,6 ± 2,4	2,6 ± 2,2
15	1,9 ± 1,4	4,7 ± 8,0
16	2,1 ± 1,9	1,9 ± 1,0
17	2,3 ± 1,6	1,9 ± 1,2
18	1,9 ± 1,0	2,1 ± 1,2
19	2,4 ± 2,0	1,9 ± 1,1
20	2,1 ± 1,6	2,1 ± 1,5

Die Zeit, bis die Tiere bei einem Durchlauf das erste Mal das Board betreten, wird in Tabelle 27 in Sekunden dargestellt (MW±SD). Vor der OP brauchen die Tiere durchschnittlich 2 Sekunden bis sie das Board betreten. Nach der OP verzögert sich kurzfristig diese Zeit um das 2- bis 3-fache. Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen sind nicht zu bemerken. Bis zum Ende des Versuchs erreichen alle Tiere wieder Ausgangswerte (s. Abbildung 29).

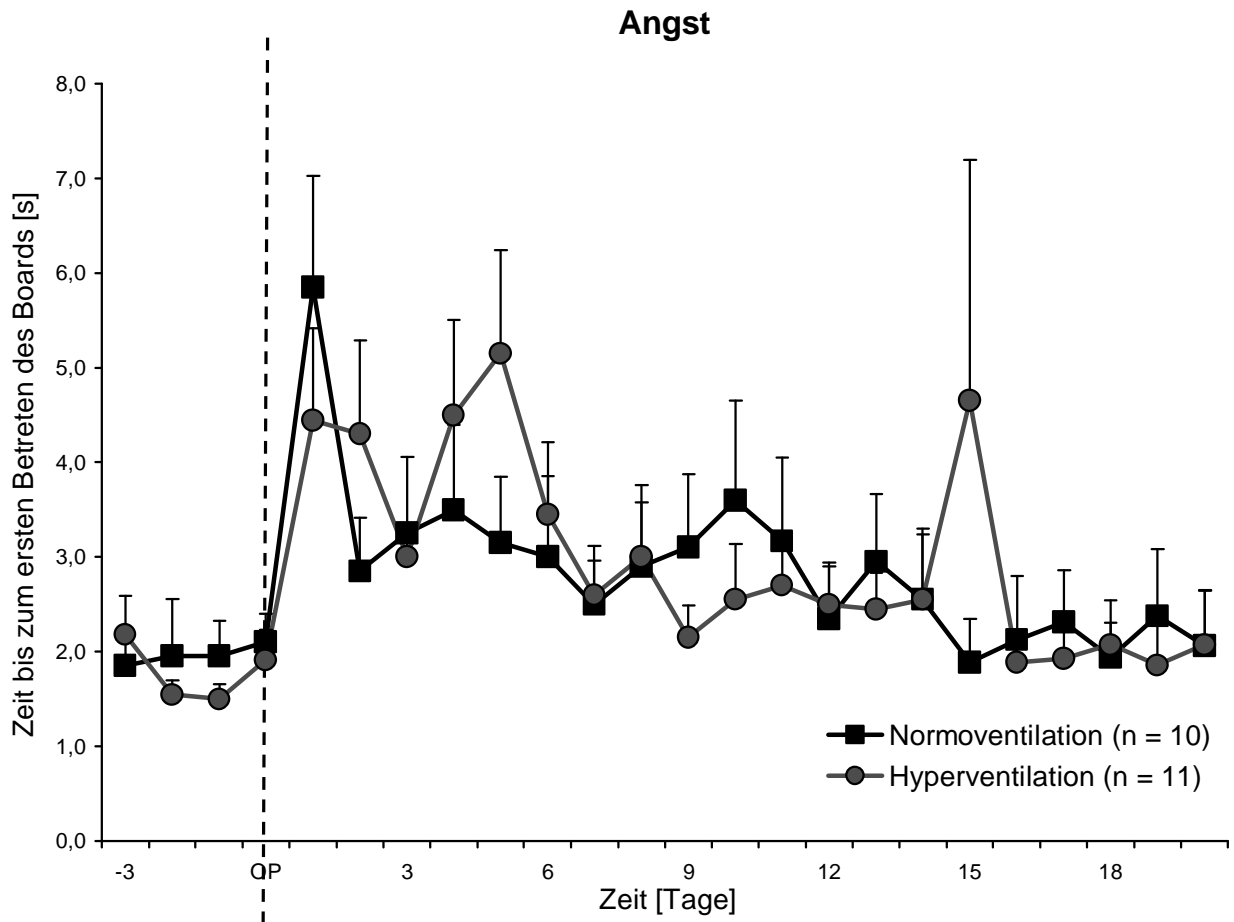


Abbildung 29: Durchschnittliche Zeit[s] bis das Board betreten wird innerhalb eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweiwege-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede in der Zeit bis zum ersten Betreten des Boards zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden.

Zeit bis zum ersten Lochbesuch

Tabelle 28: Zeit bis zum ersten Lochbesuch [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Angst/Motivation (Zeit bis zum ersten Lochbesuch[s])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	5,1 ± 3,5	6,3 ± 4,9
-2	6,8 ± 5,0	4,7 ± 5,1
-1	10,5 ± 8,8	4,8 ± 4,0
OPERATION	7,0 ± 4,7	6,5 ± 4,0
1	18,3 ± 15,8	15,9 ± 13,5
2	9,1 ± 5,8	10,0 ± 7,7
3	10,0 ± 9,2	11,0 ± 8,4
4	16,0 ± 9,5	12,2 ± 9,5
5	9,5 ± 7,3	9,0 ± 5,7
6	12,8 ± 25,9	6,7 ± 3,2
7	10,4 ± 8,1	6,4 ± 5,1
8	6,8 ± 5,7	5,6 ± 3,0
9	5,7 ± 3,5	3,8 ± 2,0
10	6,1 ± 4,4	5,8 ± 3,2
11	5,4 ± 3,5	4,3 ± 2,0
12	4,6 ± 2,5	4,5 ± 2,2
13	5,7 ± 3,0	5,0 ± 1,9
14	5,5 ± 4,3	5,7 ± 3,7
15	4,3 ± 2,7	9,2 ± 17,2
16	7,1 ± 5,3	4,7 ± 2,0
17	7,1 ± 5,3	4,7 ± 1,9
18	5,7 ± 4,4	4,1 ± 0,8
19	6,2 ± 5,2	3,6 ± 1,6
20	5,1 ± 3,9	3,5 ± 1,8

In Tabelle 28 wird die Zeit bis zum ersten Lochbesuch während eines Durchlaufs in Sekunden pro Untersuchungstag aufgeführt (MW±SD). In den ersten fünf Tagen nach der OP benötigen beide Versuchsgruppen mehr als das Doppelte an Zeit als vor der OP, wobei zwischen den Versuchsgruppen im Untersuchungsverlauf kein Unterschied besteht. Danach finden die Tiere beider Gruppen zu ihren Ausgangsleistungen vor der OP zurück.

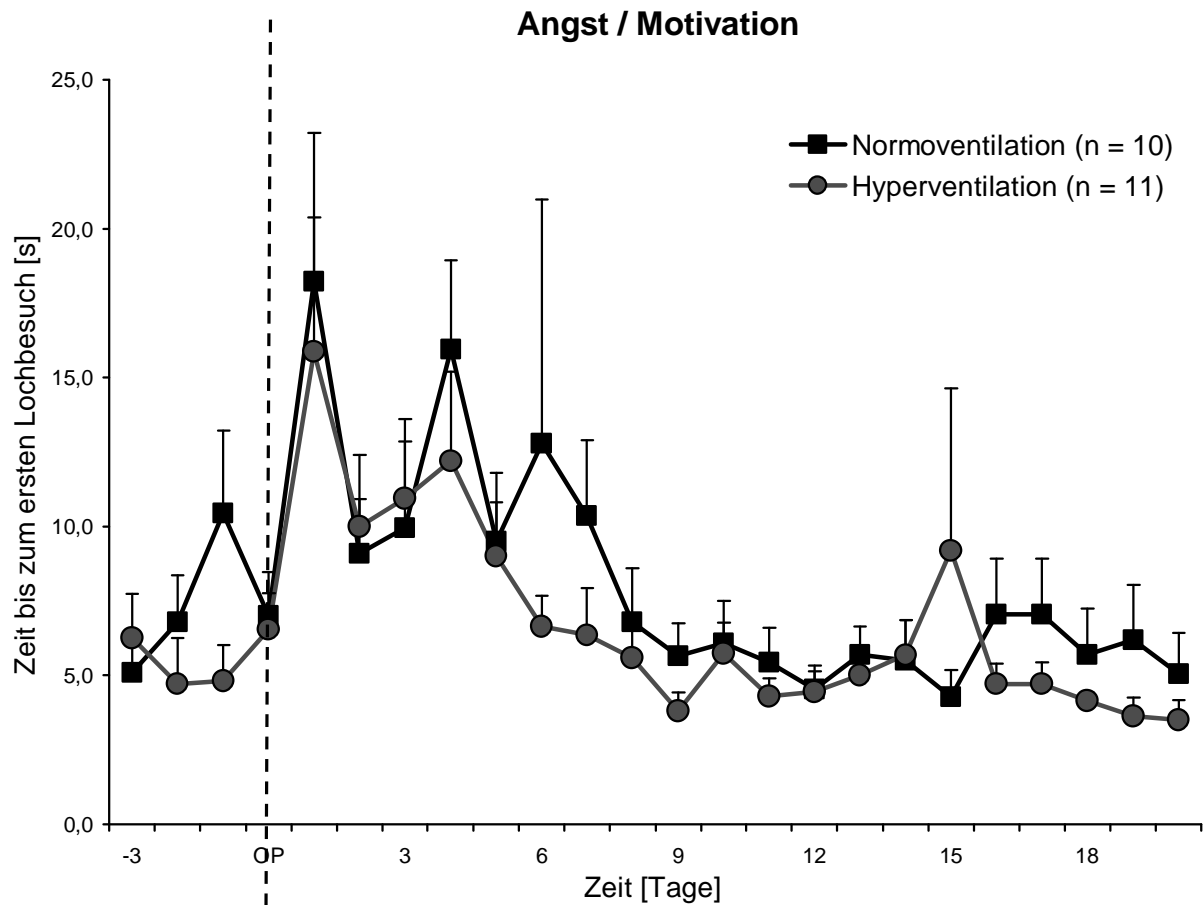


Abbildung 30: Durchschnittliche Zeit[s] bis das erste Loch besucht wird innerhalb eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweifache-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede in der Zeit bis zum ersten Lochbesuch zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden.

Gruppenkontakte

Tabelle 29: Zeit, in der die Tiere den Gruppenkontakt suchen, angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchs-ende Tag 20.

Angst (Zeitdauer der Gruppenkontakte[s])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	0,6 ± 0,5	0,7 ± 0,6
-2	0,8 ± 0,9	1,3 ± 2,5
-1	0,8 ± 0,7	1,5 ± 2,3
OPERATION	1,3 ± 0,9	1,9 ± 3,2
1	4,6 ± 5,4	3,9 ± 6,4
2	1,5 ± 1,7	1,6 ± 1,7
3	1,6 ± 2,0	1,7 ± 1,2
4	2,8 ± 2,0	1,9 ± 2,5
5	1,8 ± 1,7	1,2 ± 1,0
6	5,9 ± 11,0	0,9 ± 0,8
7	2,7 ± 3,5	0,9 ± 0,7
8	1,1 ± 1,4	0,4 ± 0,3
9	1,0 ± 1,6	0,6 ± 0,9
10	1,4 ± 1,8	0,5 ± 0,6
11	0,9 ± 1,5	0,6 ± 0,7
12	0,9 ± 1,1	0,6 ± 0,5
13	0,6 ± 0,5	0,4 ± 0,3
14	0,5 ± 0,5	0,8 ± 1,3
15	0,6 ± 0,5	2,8 ± 7,8
16	0,4 ± 0,5	0,2 ± 0,3
17	0,6 ± 0,7	0,5 ± 0,5
18	0,5 ± 0,8	0,1 ± 0,2
19	0,3 ± 0,5	0,2 ± 0,4
20	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2

In Tabelle 29 wird die Zeit in Sekunden, in der die Tiere den innerhalb eines Durchlaufs pro Untersuchungstag den Gruppenkontakt gesucht haben, dargestellt (MW±SD). Die Ergebnisse zeigen, dass die Ratten im Vergleich zu den präoperativen Ausgangswerten vor allem am Tag 1 nach der OP öfter Kontakt zur Gruppe suchen. Zwischen den Gruppen ist kein Unterschied zu erkennen (s. Abbildung 31).

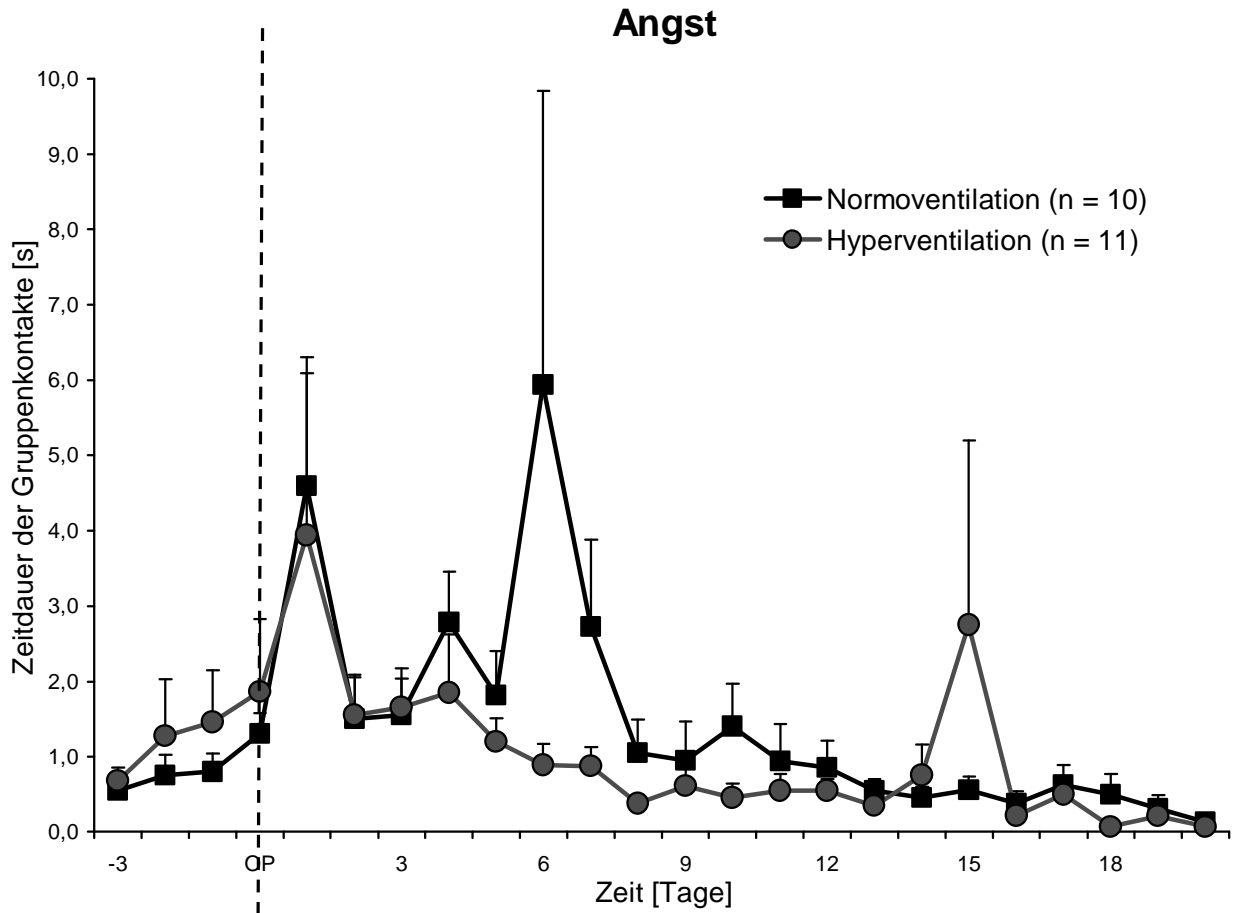


Abbildung 31: Durchschnittliche Zeit[s] eines Durchlaufs, in der die Ratten Kontakt mit der Tiergruppe aufnehmen, pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweifache-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede in der Zeit bis zum ersten Lochbesuch zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden.

Kotabsatz

Der Kotabsatz der Tiere beider Gruppen wurde registriert. Während der gesamten Untersuchung setzten nur vier Tiere sporadisch und zufällig in einem Durchlauf Kot ab.

Putzzeit

Tabelle 30: Zeit, in der die Ratten mit Putzen beschäftigt sind=Putzzeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

<i>Erregung (Putzzeit[s])</i>		
	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10)	(n=11)
Versuchstag	MW ± SD	MW ± SD
-3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
-2	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2
-1	0,2 ± 0,5	0,0 ± 0,0
OPERATION	0,2 ± 0,3	0,0 ± 0,0
1	3,4 ± 8,4	0,2 ± 0,3
2	0,1 ± 0,3	0,4 ± 1,0
3	0,7 ± 1,5	0,6 ± 1,8
4	1,7 ± 2,8	2,3 ± 5,9
5	0,3 ± 0,5	0,2 ± 0,3
6	5,0 ± 8,7	0,5 ± 1,3
7	1,7 ± 3,5	0,0 ± 0,0
8	1,7 ± 3,0	0,2 ± 0,5
9	1,0 ± 2,1	0,1 ± 0,2
10	0,5 ± 1,5	0,1 ± 0,3
11	1,4 ± 4,1	0,0 ± 0,0
12	0,4 ± 0,8	0,0 ± 0,0
13	1,1 ± 3,0	0,1 ± 0,2
14	0,4 ± 1,0	0,1 ± 0,2
15	0,3 ± 0,8	1,6 ± 4,0
16	0,4 ± 0,6	0,2 ± 0,3
17	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,2
18	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,7
19	0,3 ± 0,8	0,1 ± 0,2
20	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,7

In Tabelle 30 wird die Zeit, in der sich die Tiere innerhalb eines Durchlaufs pro Untersuchungstag putzen, aufgeführt (MW±SD). Viele Tiere putzen sich während des Versuchs überhaupt nicht. Trotz der großen Standardabweichungen kann man erkennen, dass die Tiere der NV-Gruppe zwischen Tag 5 und Tag 13 mehr Zeit zum Putzen während eines Durchlaufs aufwenden als die Tiere der HV-Gruppe. Daraus ist zu erkennen, dass sich die NV-Gruppe nach der OP im Untersuchungsverlauf tendenziell mehr putzt (s. Abbildung 32).

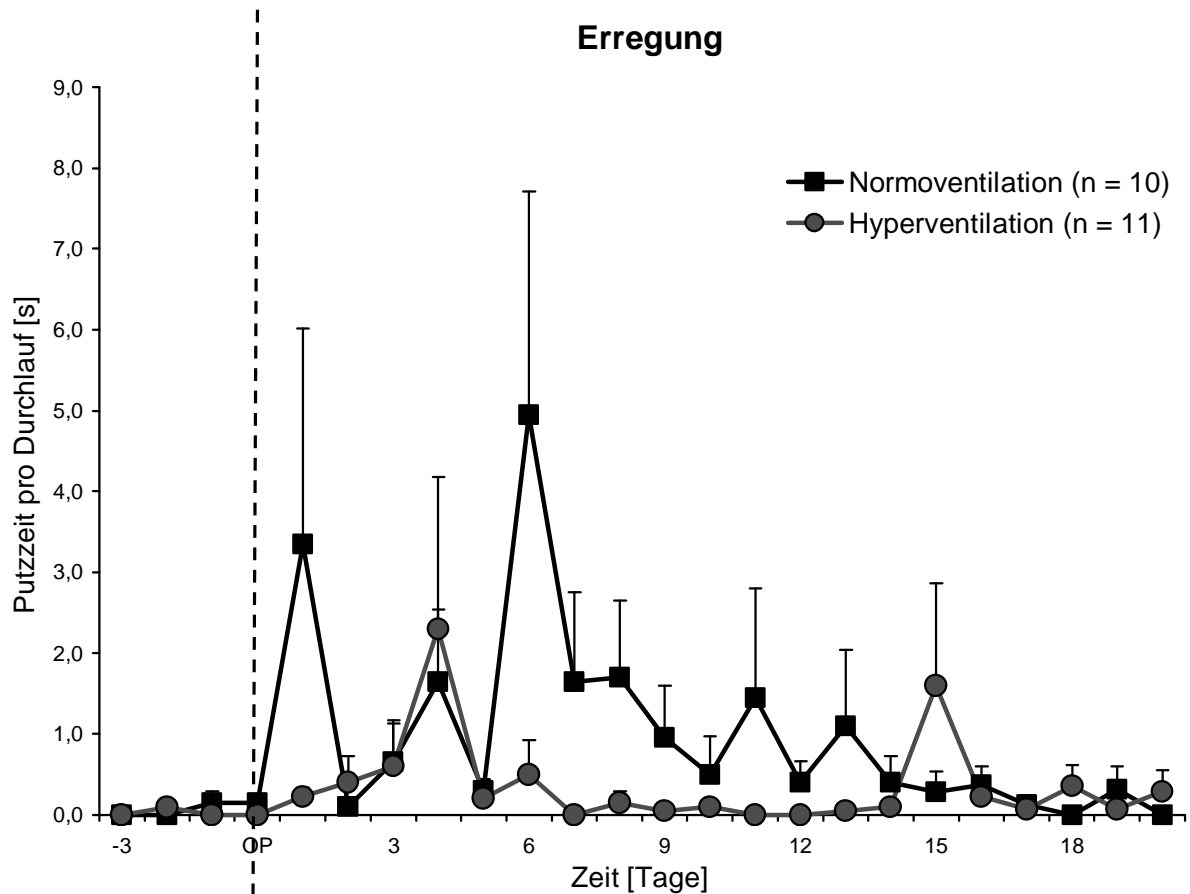


Abbildung 32: Durchschnittliche Zeit[s] eines Durchlaufs, in der die Ratten sich putzen, pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweifache-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede in der Putzzeit während des modifizierten Hole-Board-Tests zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden. Tendenziell ist jedoch zu erkennen, dass die Tiere der Normoventilations-Gruppe vorübergehend mehr Zeit zum Putzen brauchen als die Tiere der Hyperventilations-Gruppe.

3.4.3.4 Das Allgemeinbefinden betreffende Parameter

Das Allgemeinbefinden der Tiere ist aus Tierschutzgründen, als Zulassungsvoraussetzung für den Test und für die tägliche Pflege von großer Bedeutung einzuschätzen.

Inaktivität

Die Inaktivitätszeit wird beobachtet, gemittelt und in Prozent an der Gesamtzeit eines Durchlaufs festgehalten (MW \pm SD). Die Tiere der NV-Gruppe zeigen am OP-Tag bis Tag 2 und die HV-Gruppe am Tag 5 geringfügige Verlängerungen, die unter 0,1 Prozent bleiben.

Fresszeit

Tabelle 31: Zeit, in der die Tiere die Futterbelohnung fressen=Fresszeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Allgemeinbefinden (Fresszeit[s])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	19,1 ± 6,5	20,8 ± 5,9
-2	19,2 ± 6,8	17,8 ± 5,3
-1	19,0 ± 4,5	18,5 ± 5,8
OPERATION	19,3 ± 6,1	17,5 ± 5,0
1	27,0 ± 8,6	25,1 ± 7,5
2	26,1 ± 9,6	19,9 ± 7,0
3	24,7 ± 8,7	25,3 ± 8,8
4	20,9 ± 6,7	20,3 ± 7,1
5	19,9 ± 6,0	18,6 ± 5,6
6	19,8 ± 7,2	18,6 ± 2,4
7	19,2 ± 8,0	18,7 ± 8,0
8	20,2 ± 7,5	17,8 ± 7,6
9	15,1 ± 4,3	16,6 ± 4,5
10	17,2 ± 5,1	15,7 ± 5,7
11	16,0 ± 3,8	16,0 ± 4,5
12	15,1 ± 3,9	16,3 ± 3,0
13	20,1 ± 6,4	17,3 ± 5,8
14	18,8 ± 5,1	15,7 ± 4,0
15	15,3 ± 5,0	18,1 ± 6,3
16	17,3 ± 3,8	17,8 ± 5,0
17	17,1 ± 6,1	18,1 ± 4,0
18	19,6 ± 6,8	21,0 ± 9,5
19	20,0 ± 6,8	19,2 ± 8,1
20	17,5 ± 5,0	17,9 ± 5,6

In Tabelle 31 wird die Zeit eines Durchlaufs pro Untersuchungstag, in der die Tiere mit Fressen beschäftigt sind, aufgeführt (MW±SD). Generell brauchen die Tiere zwischen 15 und 21 Sekunden. Etwa drei Tage nach der OP ist die Zeit tendenziell bei allen Tieren verlängert. Im weiteren Verlauf zeigen sich jedoch keine Unterschiede.

Körpergewicht**Tabelle 32:** Körpergewicht [g], angegeben im arithmetischen Mittelwert pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Allgemeinbefinden (Körpergewicht[g])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	346,2 ± 11,5	346,9 ± 15,6
-2	351,2 ± 11,1	349,3 ± 17,0
-1	353,8 ± 12,3	352,4 ± 19,1
OPERATION	358,4 ± 12,3	355,4 ± 17,6
1	347,3 ± 12,5	344,5 ± 18,2
2	341,9 ± 13,0	337,3 ± 16,8
3	344,4 ± 14,8	333,2 ± 32,0
4	349,9 ± 15,2	346,9 ± 20,6
5	354,6 ± 15,3	349,7 ± 19,6
6	357,5 ± 15,4	353,6 ± 20,0
7	361,2 ± 16,0	359,0 ± 20,2
8	364,0 ± 15,9	361,4 ± 19,6
9	365,7 ± 16,6	365,4 ± 20,6
10	373,1 ± 15,2	369,1 ± 19,2
11	376,1 ± 16,3	375,9 ± 20,5
12	378,5 ± 15,8	379,2 ± 21,3
13	382,9 ± 15,9	381,8 ± 22,6
14	387,3 ± 18,8	384,7 ± 20,5
15	390,6 ± 21,8	387,9 ± 20,7
16	393,7 ± 22,5	391,2 ± 23,9
17	396,8 ± 24,0	392,9 ± 23,8
18	398,6 ± 24,0	394,4 ± 23,8
19	403,0 ± 24,3	398,1 ± 25,5
20	406,3 ± 26,0	400,3 ± 25,7

In Tabelle 32 wird das tägliche Körpergewicht der Tiere in Gramm gezeigt (MW ± SD). Das Ausgangsgewicht der Tiere vor der OP liegt in der NV-Gruppe bei 358±12 g, in der HV-Gruppe bei 355±18 g, d.h. beide Versuchsgruppen erreichen am OP-Tag dasselbe Körpergewicht. Bis zur OP nehmen die Tiere durchschnittlich 3-4 g zu. Nach der OP nehmen die Tiere der NV-Gruppe bis Tag 2 durchschnittlich 16 g ab, während die HV-Gruppe einen Tag länger bis Tag 3 durchschnittlich 22 g abnimmt. Danach steigt das KGW beider Gruppen wieder wie vor der OP konstant mit durchschnittlich 4 g pro Tag an. Daraus ergibt sich kein relevanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen.

3.4.4 Neurologisch-motorische Parameter

Die neurologisch-motorischen Parameter werden zum einen in jeder Kategorie einzeln, mit Absolutwerten oder Einzelscore-Einteilung, und zum anderen in einem neurologischen Gesamtscore, in den alle durchgeführten Tests einfließen, bewertet.

3.4.4.1 Einzelscore

Bewusstsein

Im Allgemeinen zeigen die Tiere auch nach der OP ein normales, aufmerksames und interessantes Verhalten an ihrer Umwelt. Ausnahmen bilden in der NV-Gruppe ein Tier am Tag 2, in der HV-Gruppe drei Tiere am Tag 1 und ein Tier am Tag 3. Kein Tier war jedoch unansprechbar oder lethargisch.

Pflegeverhalten

Das Pflegeverhalten ist in beiden Versuchsgruppen durchweg erhalten. Nur ein Tier aus der HV-Gruppe zeigt an Tag 1 bis 3 eine Einschränkung.

Laufvermögen

Das Laufvermögen im Homecage oder auf dem Boden war fast immer als ungestört zu beurteilen. Nur in der HV-Gruppe gab es jeweils am Tag 1 und 3 ein Tier, dass im Laufen Kreisbewegungen nach rechts zur geschädigten Seite zeigte.

Kletterverhalten

Alle Tiere waren jederzeit fähig, auf das Holzgerüst zu klettern.

Drahtgitter-Test

*Tabelle 33: Einzelscore (0=ungestört bis 3=sehr stark gestört), angegeben im arithmetischen Mittelwert pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).*

<i>Drahtgitter-Test [Score]</i>		
	Normoventilation*	Hyperventilation
	(n=10)	(n=11)
Versuchstag	MW ± SD	MW ± SD
-3	0,7 ± 0,6	0,5 ± 0,7
-2	0,7 ± 0,8	0,3 ± 0,4
-1	0,4 ± 0,7	0,2 ± 0,4
OPERATION	0,4 ± 0,5	0,2 ± 0,4
1	0,6 ± 0,5	0,6 ± 0,7
2	0,7 ± 1,0	0,5 ± 0,5
3	0,8 ± 1,0	0,4 ± 0,5
4	0,9 ± 0,8	0,2 ± 0,4
5	0,5 ± 0,5	0,6 ± 0,5
6	0,4 ± 0,5	0,3 ± 0,5
7	0,3 ± 0,5	0,2 ± 0,4
8	0,1 ± 0,3	0,4 ± 0,5
9	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5
10	0,5 ± 0,5	0,3 ± 0,5
11	0,5 ± 0,5	0,1 ± 0,3
12	0,3 ± 0,5	0,3 ± 0,5
13	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5
14	0,4 ± 0,5	0,2 ± 0,4
15	0,4 ± 0,5	0,3 ± 0,5
16	0,6 ± 0,5	0,3 ± 0,5
17	0,5 ± 0,7	0,1 ± 0,3
18	0,5 ± 0,5	0,1 ± 0,3
19	0,4 ± 0,5	0,1 ± 0,3
20	0,4 ± 0,5	0,1 ± 0,3

In Tabelle 33 wird der Einzelscore (0=ungestört bis 3=sehr stark gestört) pro Untersuchungstag gezeigt, den die Versuchsgruppen im Drahtgittertest erreichen (MW±SD). Vor der OP verbessern sich die Tiere und der Score fällt ab. Im weiteren zeitlichen Verlauf halten sich die Tiere der HV-Gruppe kurzzeitig nach der OP besser als die Tiere der NV-Gruppe. Die HV-Gruppe verschlechtert sich nach der OP von Tag 1 bis Tag 3, während die NV-Gruppe erst am Tag 5 zu ihrem Ausgangswert zurückfindet. In den letzten 5 Tagen des Versuchs hält sich die HV-Gruppe jeweils bis auf ein Tier sehr gut. Die NV-Gruppe lässt sich dagegen tendenziell viel schneller fallen. Damit zeigt sich im zeitlichen Verlauf

der Untersuchungsergebnisse ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen, der in Abbildung 33 als Kurve verdeutlicht wird ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

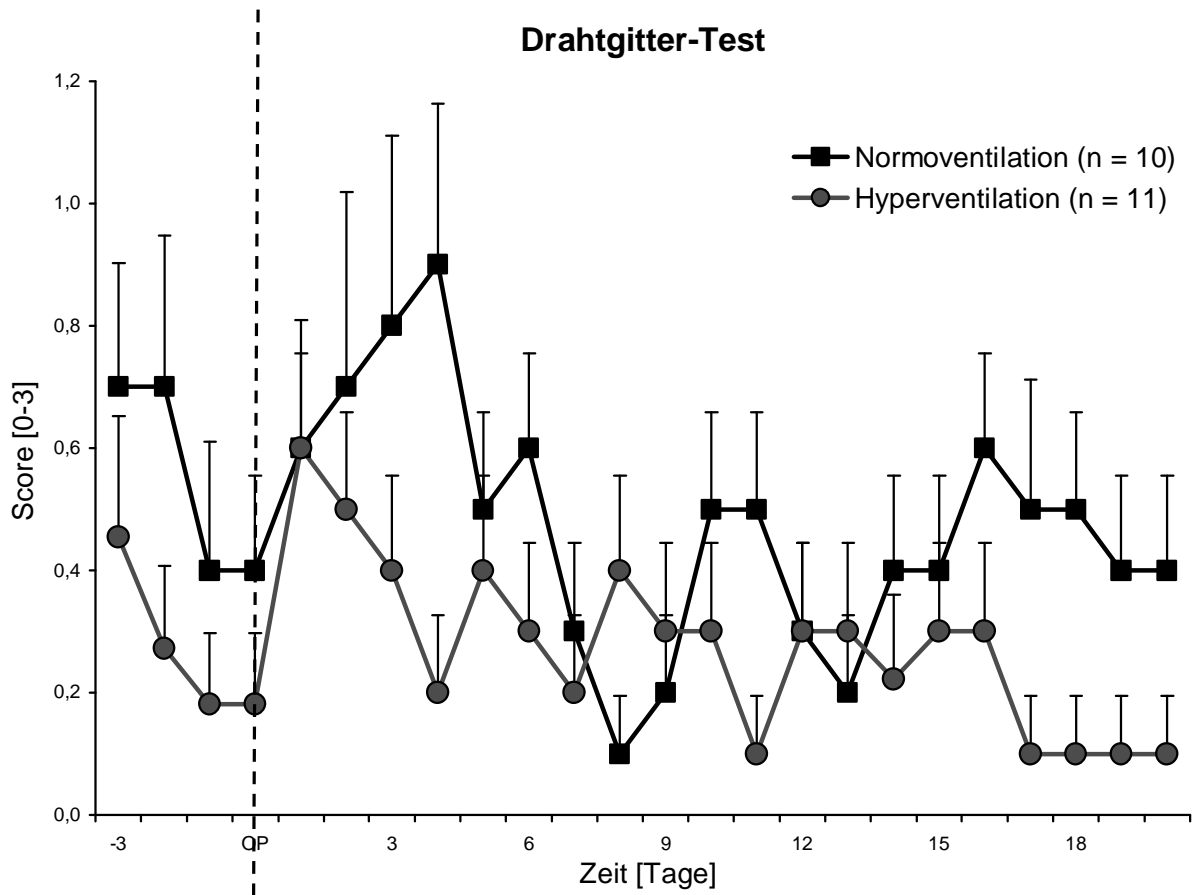


Abbildung 33: Durchschnittlicher Score im Drahtgitter-Test von (0=ungestört bis 3=sehr stark gestört) mit Standardfehler pro Tag. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Die Tiere der Hyperventilations-Gruppe halten sich besser als die Tiere der Normoventilations-Gruppe. Die Zweifache-ANOVA zeigt, dass sich die Haltezeit im Drahtgittertest zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Untersuchung signifikant unterscheidet ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

3.4.4.2 Absolutwerte

Greif-Zug-Test (Prehensile Traction)

Tabelle 34: Haltezeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.

Greif-Zug-Test (Haltezeit[s])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	4,6 ± 2,7	7,8 ± 8,4
-2	6,2 ± 3,6	3,9 ± 4,0
-1	7,3 ± 5,2	8,6 ± 5,5
OPERATION	7,9 ± 4,7	9,1 ± 5,3
1	5,5 ± 4,4	6,6 ± 5,7
2	4,3 ± 2,8	6,9 ± 5,4
3	7,9 ± 3,9	7,5 ± 5,3
4	8,0 ± 5,5	8,2 ± 6,1
5	8,9 ± 6,3	8,4 ± 4,8
6	9,7 ± 5,9	12,1 ± 4,2
7	7,8 ± 5,3	9,4 ± 5,5
8	9,1 ± 5,1	8,8 ± 6,3
9	8,7 ± 5,4	8,2 ± 6,1
10	8,7 ± 5,6	9,4 ± 5,3
11	6,9 ± 5,6	8,8 ± 5,7
12	7,8 ± 5,2	11,0 ± 5,0
13	7,2 ± 4,1	9,6 ± 4,8
14	8,3 ± 3,8	7,9 ± 6,0
15	8,2 ± 4,5	8,3 ± 5,8
16	8,0 ± 4,7	8,3 ± 5,8
17	7,7 ± 4,2	9,0 ± 5,2
18	8,0 ± 4,8	7,8 ± 6,0
19	7,8 ± 4,1	8,2 ± 5,9
20	7,6 ± 4,1	8,6 ± 6,1

In Tabelle 34 wird die Zeit aus den zwei Durchläufen des Greif-Zug-Tests in Sekunden gemittelt (MW±SD). Die Maximalzeit, in der sich die Tiere halten sollen, sind 15 Sekunden. In den drei Tagen vor der OP steigt die Haltezeit konstant an. Die Tiere der NV-Gruppe halten sich in den Ausgangswerten eine Sekunde kürzer als die Tiere der HV-Gruppe. Nach der OP sinkt die Halteleistung beider Versuchsgruppen ab und liegt bis Tag 2 der HV-Gruppe und bis Tag 3 bei der NV-Gruppe unter den Ausgangswerten vor der OP. Die Tiere der NV-Gruppe

halten sich demnach tendenziell schlechter als die Tiere der HV-Gruppe (s. Abbildung 34). Danach ist bei beiden Versuchsgruppen keine relevante Veränderung mehr zu beobachten.

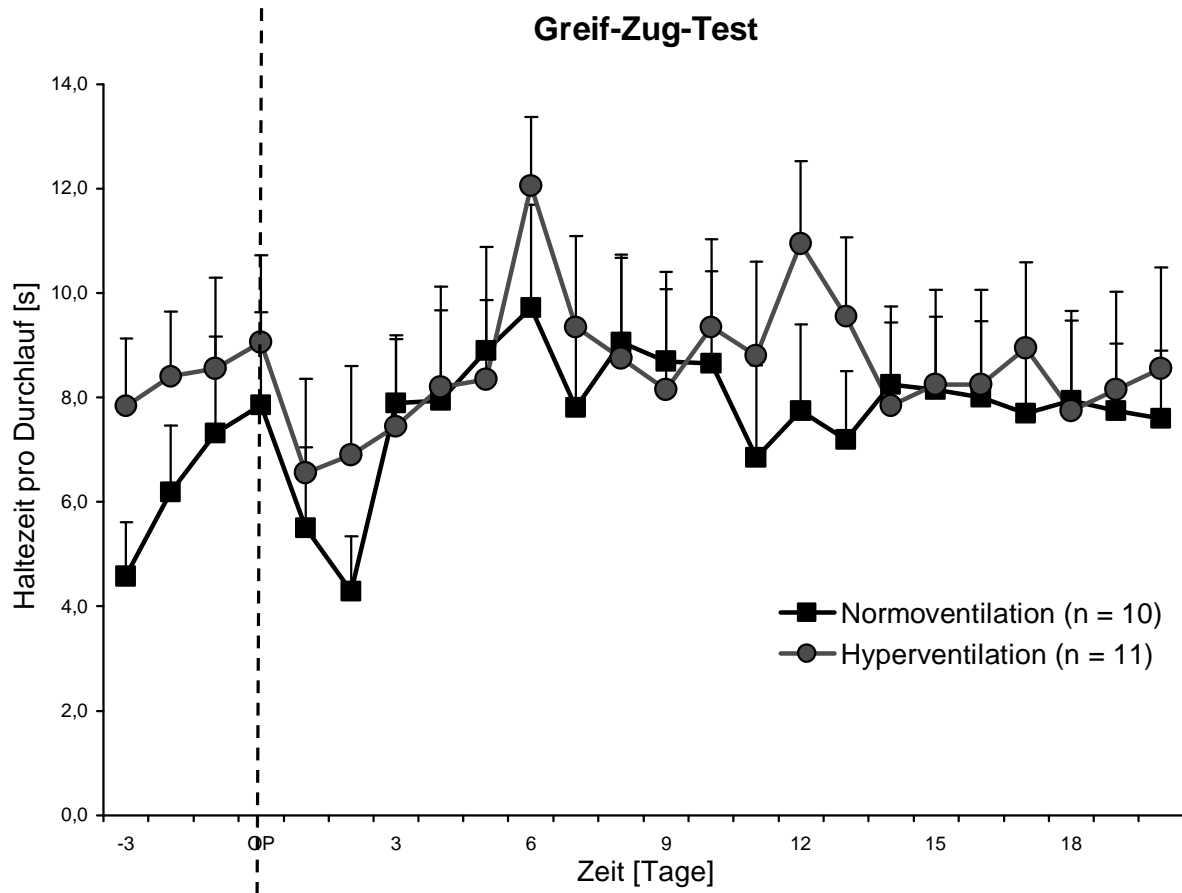


Abbildung 34: Durchschnittliche Haltezeit [s] eines Durchlaufs mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Mit der Zweiwege-ANOVA können keine signifikanten Unterschiede in der Haltezeit im Greif-Zug-Test zwischen den Versuchsgruppen gezeigt werden. Tendenziell ist jedoch zu erkennen, dass sich die Tiere der Normoventilations-Gruppe vorübergehend nicht so lange halten können als die Tiere der Hyperventilations-Gruppe.

Balken-Gleichgewichts-Test

*Tabelle 35: Balancierzeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).*

Balken-Gleichgewichts-Test (Balancierzeit[s])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation*
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	37 ± 14	43 ± 12
-2	44 ± 22	51 ± 11
-1	54 ± 8	51 ± 14
OPERATION	59 ± 2	60 ± 0
1	48 ± 17	35 ± 20
2	58 ± 6	46 ± 16
3	58 ± 5	48 ± 21
4	58 ± 5	59 ± 4
5	60 ± 0	60 ± 1
6	60 ± 1	59 ± 3
7	58 ± 5	60 ± 1
8	57 ± 7	60 ± 0
9	57 ± 6	60 ± 0
10	59 ± 3	60 ± 1
11	58 ± 4	60 ± 0
12	57 ± 8	60 ± 0
13	58 ± 5	60 ± 0
14	58 ± 6	59 ± 4
15	60 ± 0	60 ± 0
16	59 ± 5	60 ± 0
17	59 ± 2	59 ± 5
18	60 ± 0	60 ± 0
19	60 ± 0	60 ± 0
20	59 ± 3	59 ± 2

In Tabelle 35 wird die Balancierzeit aus den drei Durchläufen eines Untersuchungstages in Sekunden gemittelt dargestellt (MW±SD). Die Maximalzeit, in der sich die Tiere halten sollen, sind 60 Sekunden. In den drei Tagen vor der OP steigt die Balancierzeit deutlich an und fast alle Tiere erreichen am OP-Tag 60 Sekunden. Nach der OP halten sich die Tiere der NV-Gruppe am Tag 1 durchschnittlich um 10 Sekunden kürzer als vor der OP, während die Balancierzeit der HV-Gruppe fast um 30 Sekunden verringert ist. Aus Abbildung 35 ist im zeitlichen Verlauf noch klarer zu erkennen, dass hyperventilierte Tiere vorübergehend schlechter balancieren als Normoventilierte. Die NV-Gruppe erreicht am Tag 2 nach der OP

fast wieder die Maximalzeit. Die HV-Gruppe erlangt diese Verbesserung erst am Tag 4. Bis Versuchsende können keine weiteren relevanten Veränderungen im Verlauf festgestellt werden. Damit zeigt sich im zeitlichen Verlauf der Untersuchungsergebnisse ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen, der in Abbildung 35 als Kurve verdeutlicht wird ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

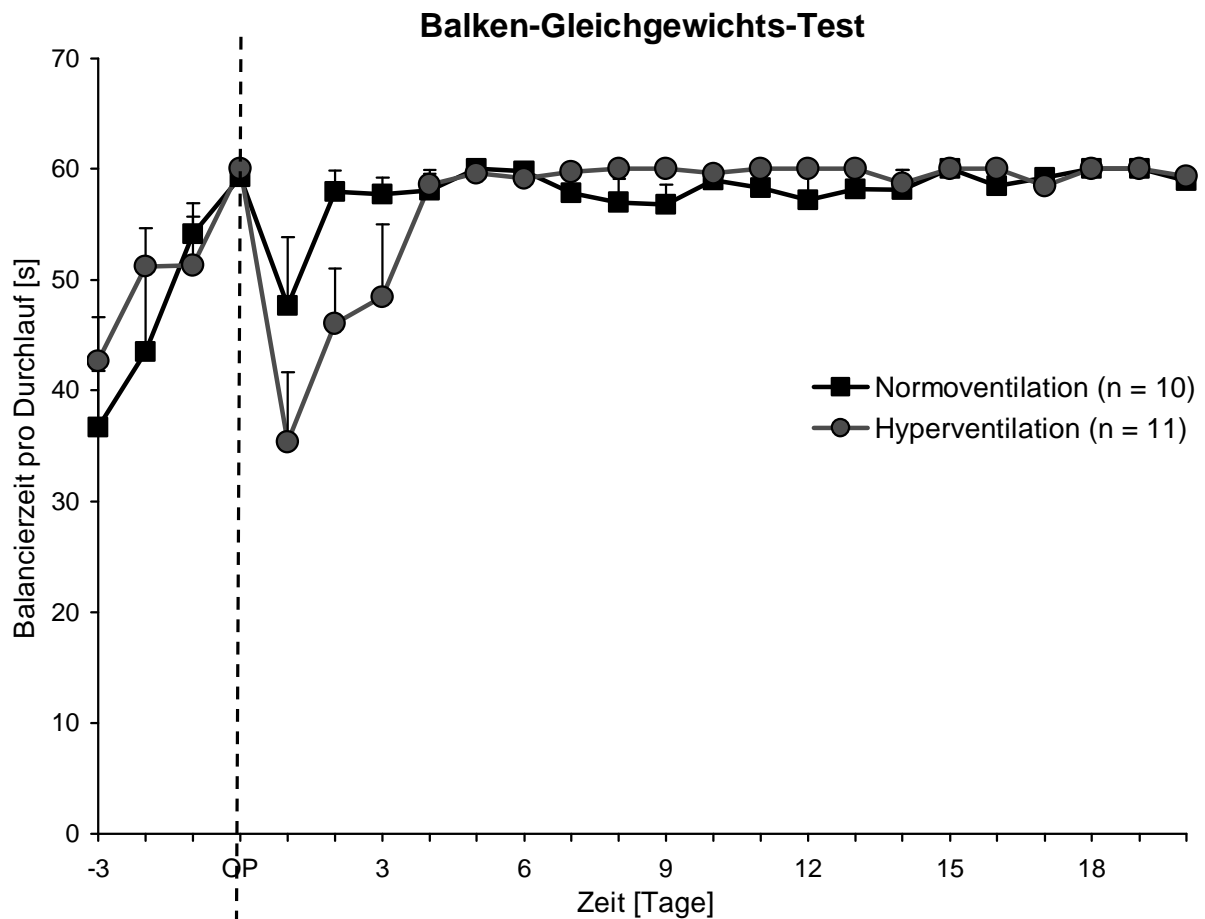


Abbildung 35: Durchschnittliche Balancierzeit eines Durchlaufs in Sekunden mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Die Tiere der Hyperventilations-Gruppe können vorübergehend schlechter das Gleichgewicht halten als die Tiere der Normoventilations-Gruppe. Die Zweifach-ANOVA zeigt, dass sich die Balancierzeit im Balken-Gleichgewichts-Test zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Untersuchung signifikant unterscheidet ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

Balken-Geh-Test

*Tabelle 36: Anzahl der Fehlritte, die über eine definierte Laufstrecke mit der linken Hintergliedmaße gemacht werden, angegeben im arithmetischen Mittel pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).*

Balken-Geh-Test (Fehlritte linke Hintergliedmaße[n])

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation*
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	1,6 ± 1,5	1,5 ± 1,6
-2	0,4 ± 0,5	0,4 ± 0,7
-1	0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,0
OPERATION	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3
1	11,6 ± 13,2	26,4 ± 16,3
2	4,4 ± 7,4	20,4 ± 18,9
3	3,7 ± 6,2	10,6 ± 13,9
4	0,8 ± 1,3	7,0 ± 11,0
5	0,4 ± 1,0	5,8 ± 8,0
6	0,3 ± 0,7	4,0 ± 6,3
7	0,3 ± 0,7	1,9 ± 2,5
8	0,1 ± 0,3	0,6 ± 0,8
9	0,1 ± 0,3	0,9 ± 2,4
10	0,0 ± 0,0	0,7 ± 1,6
11	0,4 ± 1,0	0,3 ± 0,7
12	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,5
13	0,7 ± 1,6	0,7 ± 1,5
14	0,3 ± 0,6	0,7 ± 1,3
15	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5
16	0,3 ± 0,4	0,8 ± 1,8
17	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,3
18	0,8 ± 2,1	0,4 ± 1,0
19	0,3 ± 0,6	0,3 ± 0,9
20	0,3 ± 0,6	0,1 ± 0,3

Beim Balken-Geh-Test muss eine definierte Strecke überwunden werden, entlang derer Fehlritte der linken und rechten Hintergliedmaße vom Balken gezählt werden. In Tabelle 35 werden nur die Fehlritte der linken Hintergliedmaße pro Untersuchungstag aufgeführt (MW±SD), weil mit der rechten Hintergliedmaße im postoperativen Verlauf nur äußerst selten Fehlritte gemacht werden. Vor der OP werden völlig willkürlich rechts oder links Fehlritte gemacht. Am Tag der OP sind alle Tiere nahezu fehlerfrei. Am Tag 1 steigt die Fehltrittanzahl der linken Hintergliedmaße sprunghaft an. Die NV-Gruppe macht durch-

schnittlich 15 Fehlritte, wogegen es in der HV-Gruppe über 10 Fehlritte mehr sind. Die Tiere der NV-Gruppe bleiben bis Tag 4 behindert, die HV-Gruppe findet erst am Tag 9 auf Ausgangsniveau zurück. Im zeitlichen Verlauf der Untersuchungsergebnisse ist dies als signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen zu werten ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$). Wie Abbildung 36 zeigt, gehen hyperventilierte Tiere signifikant schlechter und treten häufiger und länger fehl als Normoventilierte. Im weiteren Versuch werden von beiden Versuchsgruppen kaum mehr Fehlritte gemacht.

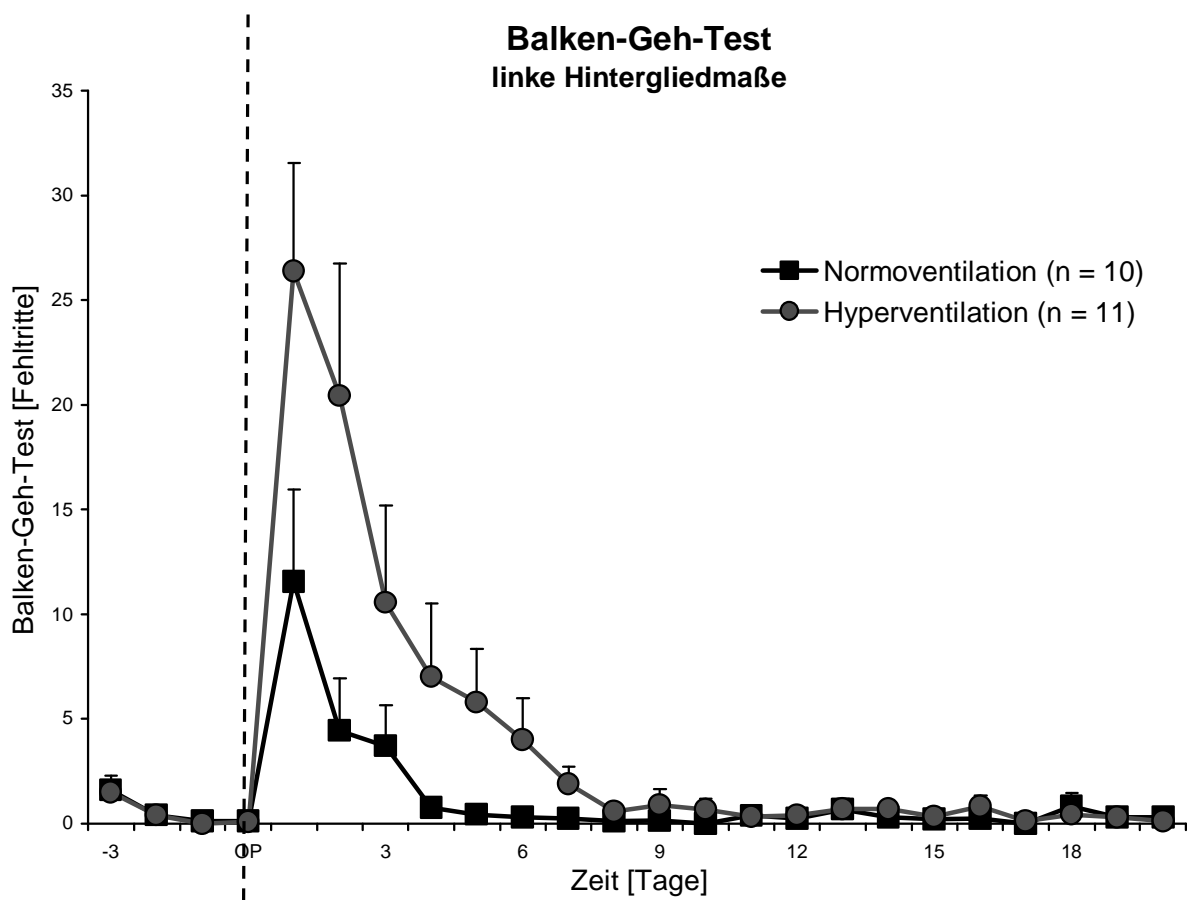


Abbildung 36 Durchschnittliche Anzahl von Fehlritten der linken Hintergliedmaße mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Die Tiere der Hyperventilations-Gruppe machen mehr Fehlritte als die Tiere der Normoventilations-Gruppe. Die Zweifache-ANOVA zeigt, dass sich die Anzahl der Fehlritte der linken Hintergliedmaße zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Untersuchung signifikant unterscheidet ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

3.4.4.3 Gesamtscore

Tabelle 37: Neurologisch-motorischer Gesamtscore (0=ungestört bis 29=sehr stark gestört), zusammgezählt aus den arithmetischen Mittelwerten der Einzelscores aller acht Kategorien (MW±SD), angegeben pro Tag im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).

Neurologisch-motorischer Gesamtscore [Score]

Versuchstag	Normoventilation	Hyperventilation*
	(n=10) MW ± SD	(n=11) MW ± SD
-3	6,6 ± 1,4	5,2 ± 2,8
-2	5,6 ± 4,0	3,8 ± 2,8
-1	3,5 ± 2,9	3,7 ± 3,5
OPERATION	3,8 ± 2,6	2,0 ± 2,0
1	7,2 ± 3,3	8,8 ± 4,0
2	4,6 ± 2,4	6,8 ± 4,4
3	3,7 ± 2,3	6,1 ± 6,5
4	3,2 ± 2,2	2,7 ± 2,1
5	2,4 ± 1,9	2,6 ± 1,4
6	2,6 ± 2,1	1,5 ± 2,0
7	2,9 ± 2,1	1,9 ± 1,8
8	2,1 ± 2,3	2,2 ± 2,1
9	2,3 ± 2,2	2,8 ± 1,9
10	2,5 ± 2,1	2,4 ± 1,9
11	3,3 ± 2,1	2,1 ± 1,9
12	2,9 ± 2,7	1,6 ± 1,6
13	3,0 ± 2,2	2,0 ± 2,0
14	2,7 ± 1,6	2,6 ± 2,4
15	2,6 ± 1,6	2,3 ± 2,1
16	3,1 ± 1,9	2,4 ± 2,0
17	2,9 ± 1,6	1,9 ± 1,8
18	2,6 ± 1,6	2,4 ± 2,0
19	2,8 ± 1,6	2,3 ± 2,0
20	2,8 ± 1,5	1,8 ± 2,0

Im neurologisch-motorischen Gesamtscore summieren sich alle gemittelten Einzelscorewerte der acht verschiedenen Kategorien (Bewusstsein, Pflegeverhalten, Laufvermögen, Kletterverhalten, Drahtgittertest, Greif-Zug-Test, Balken-Gleichgewichts- und -Geh-Test). Er gibt einen zusammenfassenden Überblick über die neurologisch-motorische Gesamtsituation der Versuchstiere. In Tabelle 36 werden diese Werte von 0=ungestört bis 29=sehr stark gestört einzeln an den Untersuchungstagen dargestellt (MW±SD).

Vor der OP fällt der Gesamtscore ab, was bedeutet, dass die Tiere innerhalb dieses Zeitraumes ihre Leistung verbessern. Alle Tiere erreichen am OP-Tag einen niedrigen Ausgangswert. Am Tag 1 nach der OP verschlechtern sich die Werte beider Gruppen, wobei die Tiere der NV-Gruppe ihre Ausgangsleistungswerte verdoppeln, während die Tiere der HV-Gruppe ihre Werte sogar vervierfachen. Die Beeinträchtigung dauert bei den Tieren der NV-Gruppe drei Tage, bei der HV-Gruppe jedoch vier Tage an. Während der restlichen Versuchsphase finden beide Gruppen wieder zu niedrigen Werten und guten konstanten Leistungen zurück. Abbildung 37 stellt die Werte im zeitlichen Verlauf graphisch dar, wobei ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen verdeutlicht wird ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

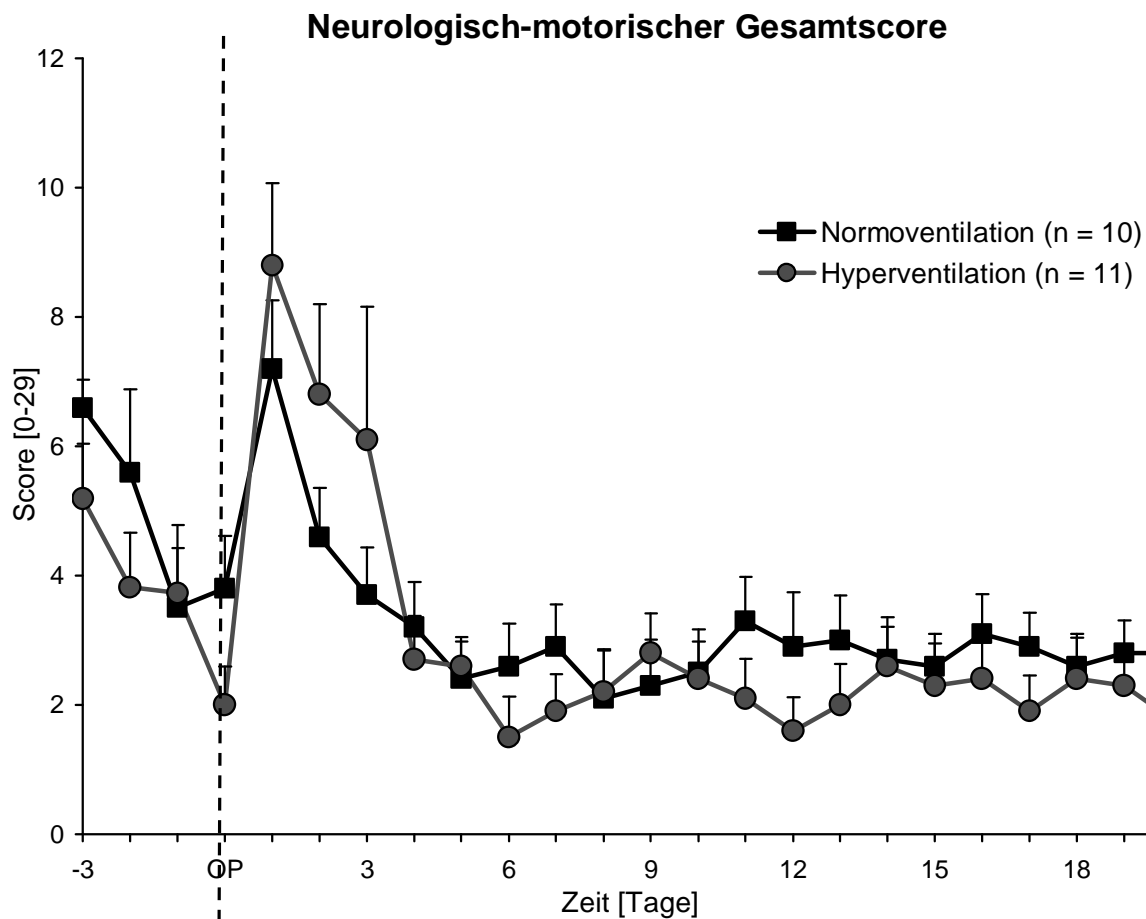


Abbildung 37: Durchschnittlicher neurologisch-motorischer Gesamtscore von 0=ungestört bis 29=sehr stark gestört mit Standardfehlern pro Untersuchungstag. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.

Die Tiere der Hyperventilations-Gruppe weisen mehr Defizite auf als die Tiere der Normoventilations-Gruppe. Die Zweifache-ANOVA zeigt, dass sich der neurologisch-motorische Gesamtscore zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf der Untersuchung signifikant unterscheidet ($\text{Zeit}^2 \times \text{Gruppe}$: $p < 0,05$).

3.4.5 Histologische Parameter

Tabelle 38: Läsionsvolumenbestimmung der traumatisierten rechten Gehirnhemisphäre bei 9 normoventilierten und 10 hyperventilierten Tieren mit Hilfe der Kresylviolett-Färbung, ausgehend von bestimmten Abständen zu einer definierten Nullebene durch Berechnung der jeweiligen Einzelflächen [mm²] und des daraus hervorgehenden Läsionsvolumens [mm³] (MW±SD; Signifikanz=p<0,05=*)

Histologische Untersuchung

Abstand von der Nullebene in [mm]												
	1	2	3	3,5	4,5	5,5	6,5	7,5	8,5	9	10	
Ratten	Läsionsfläche [mm ²]											Läsions-
Normoventilation												volumen [mm ³]
1	0,00	0,00	0,00	0,00	8,33	7,45	8,94	10,84	8,31	11,33	3,42	52,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,46	11,49	10,19	7,17	3,86	0,00	37,41
3	0,00	0,00	2,95	4,07	6,39	8,64	2,43	3,09	7,29	8,29	7,27	41,14
4	0,00	0,00	0,00	0,00	6,19	11,22	12,88	14,40	8,99	6,15	0,00	56,05
5	0,00	0,00	1,64	0,00	3,56	4,65	5,01	3,06	0,00	0,00	0,00	17,51
6	0,00	3,82	0,00	8,23	10,93	11,24	11,10	8,85	7,65	0,00	0,00	57,85
7	0,00	0,00	0,00	9,27	14,05	15,51	15,09	12,88	6,27	6,33	0,00	73,93
8	0,00	1,87	6,33	11,43	8,35	10,55	7,61	5,48	-2,07	0,00	0,00	48,30
9	0,00	0,00	4,84	8,93	9,46	9,89	8,18	8,69	0,00	0,00	0,00	50,89
Mittelwert											48,3	
± Standardabweichung:											± 15,6	
Hyperventilation*												
1	0,00	0,00	0,00	9,70	9,67	10,68	10,55	10,47	7,92	5,57	0,00	58,76
2	0,00	0,00	0,00	11,97	14,35	16,99	15,42	12,14	7,82	6,96	0,00	78,96
3	0,00	2,95	6,06	8,03	14,69	13,86	15,23	12,16	11,02	10,60	0,00	85,67
4	0,00	0,00	5,85	9,51	11,94	13,96	14,88	13,05	12,74	8,39	0,00	81,2
5	0,00	0,00	3,21	8,23	11,63	12,76	10,73	10,23	7,65	0,00	0,00	59,67
6	0,00	0,00	0,00	0,00	6,32	13,49	13,01	8,11	3,45	5,63	5,59	54,59
7	0,00	2,85	5,97	9,95	10,70	7,81	9,06	4,54	0,00	0,00	0,00	49,17
8	2,95	7,37	11,88	13,25	12,11	9,89	8,56	7,98	0,00	0,00	0,00	70,22
9	0,00	0,00	0,00	3,85	11,44	13,39	11,48	13,92	11,30	10,20	6,80	79,6
10	0,00	0,00	0,00	4,37	12,20	15,55	14,24	11,77	11,15	9,93	0,00	78,73
Mittelwert											69,7	
± Standardabweichung:											± 13,0	

Mit Hilfe der Kresylviolett-Färbung gelingt die quantitative Erfassung des histologisch sichtbaren Zellschadens der rechten Hemisphäre und dessen Vergleich zwischen den normoventilierten und hyperventilierten Versuchstieren. Dazu zeigt Tabelle 38 die Einzelberechnung der gemessenen Läsionsfläche im jeweiligen Abstand zu der definierten Nullebene in mm². Aus dieser Bestimmung der einzelnen Läsionsflächen wird unter Einberechnung des jeweiligen Abstandes das Läsionsvolumen in mm³ ermittelt und ist ebenfalls in Tabelle 38

dargestellt. Die Mittelwerte (MW±SD) des Läsionsvolumens zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen ($p < 0,05$). Der Zellschaden der HV-Gruppe ist um ca. 20 mm³ größer als der Zellschaden der NV-Gruppe bei annähernd gleichem Standardfehler.

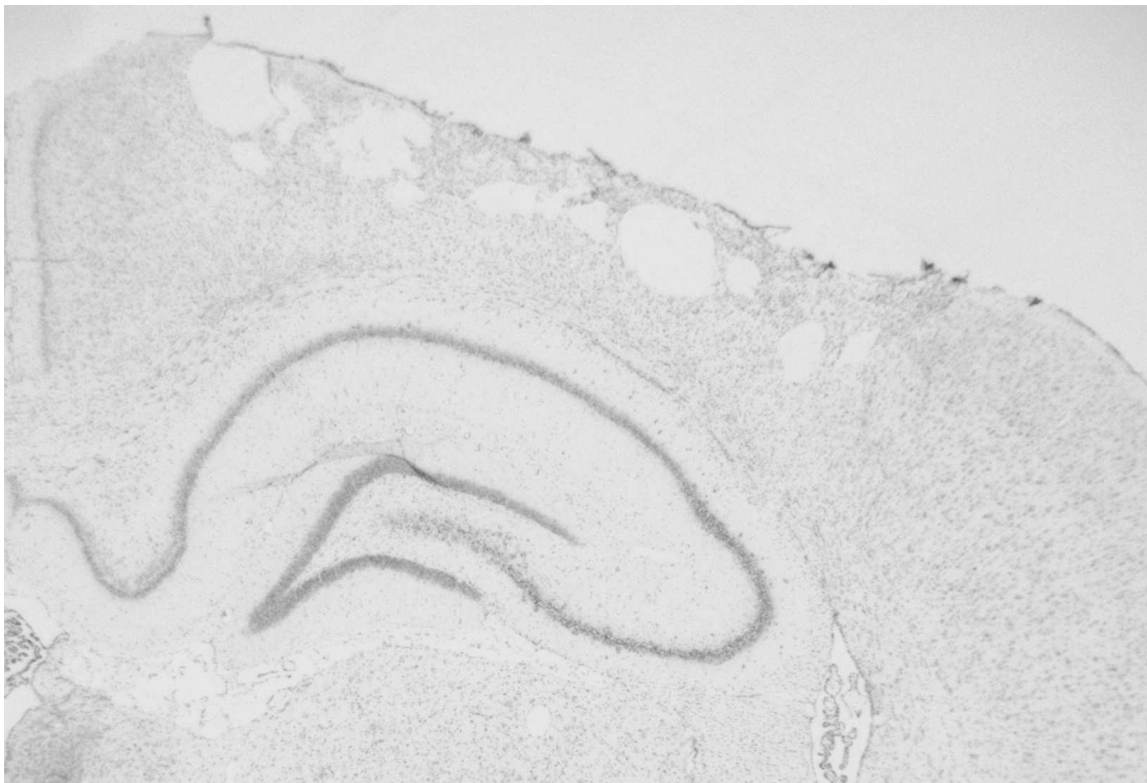
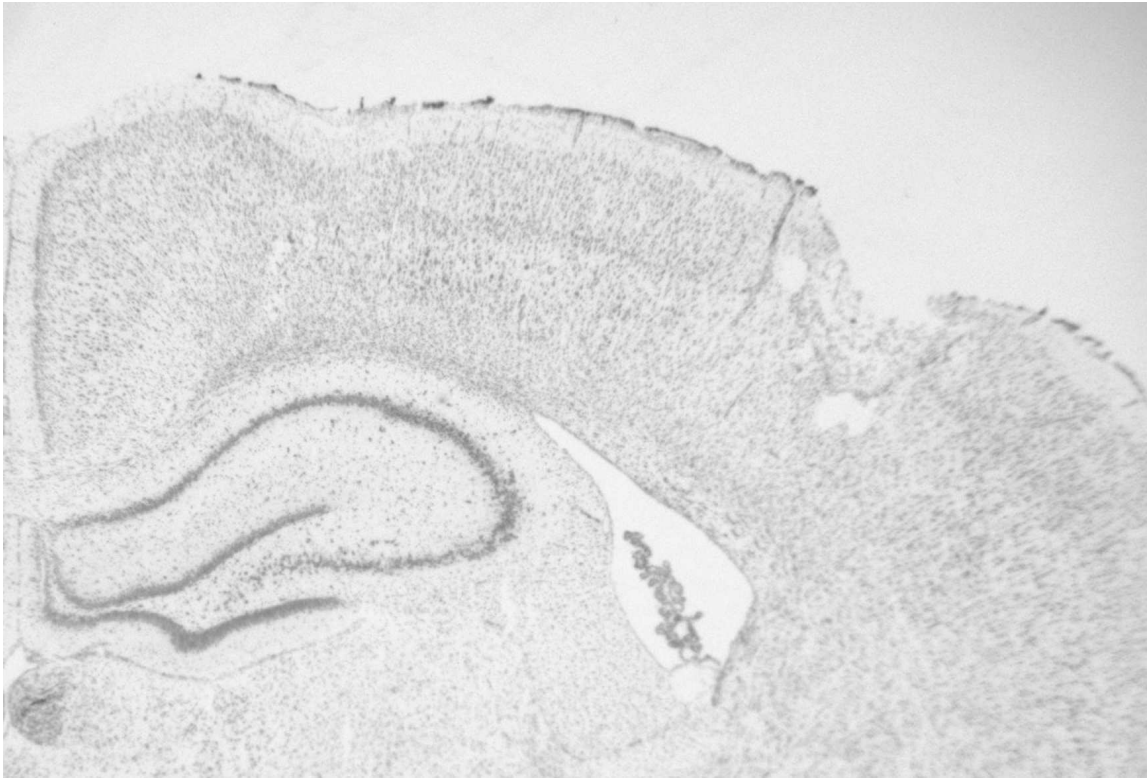


Abbildung 38: *Histologische Schnittflächen von Gehirnen normoventilierter Tiere in der Kresylviolett-Färbung. Die Ebene liegt im Zentrum der Läsion mit 5500 μ m Abstand zur definierten Nullebene. Vergrößerung 1:25.*

Der Kontusionsschaden in der rechten Hemisphäre ist bei den normoventilierten Ratten im Durchschnitt signifikant geringer als bei den hyperventilierten Ratten.

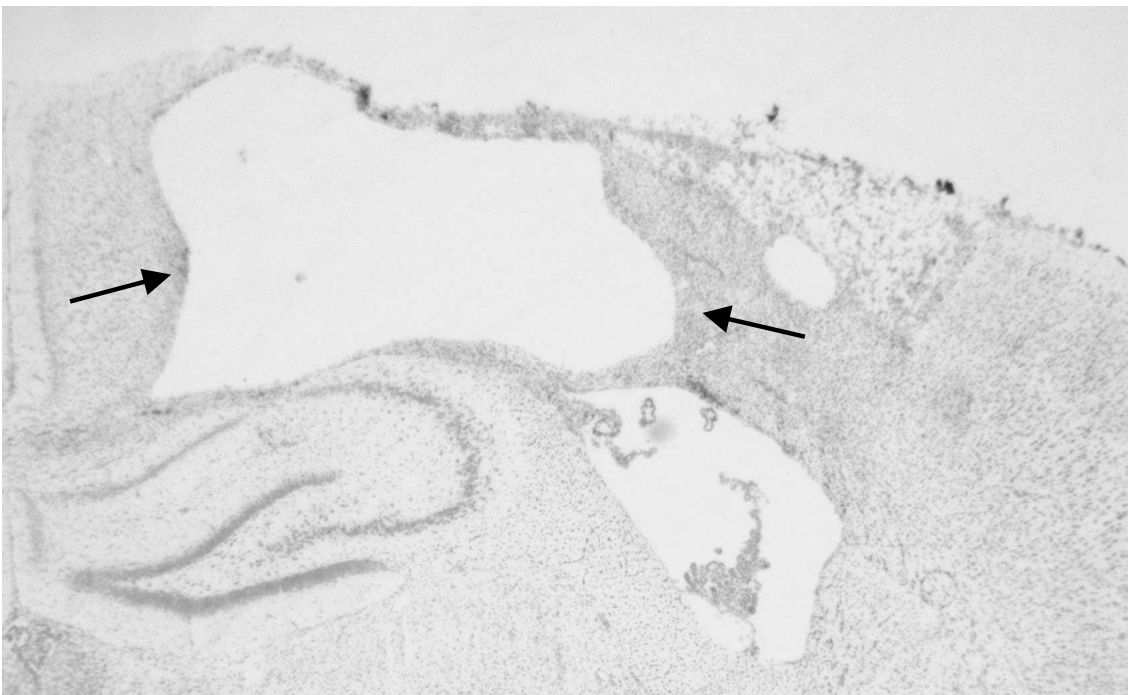
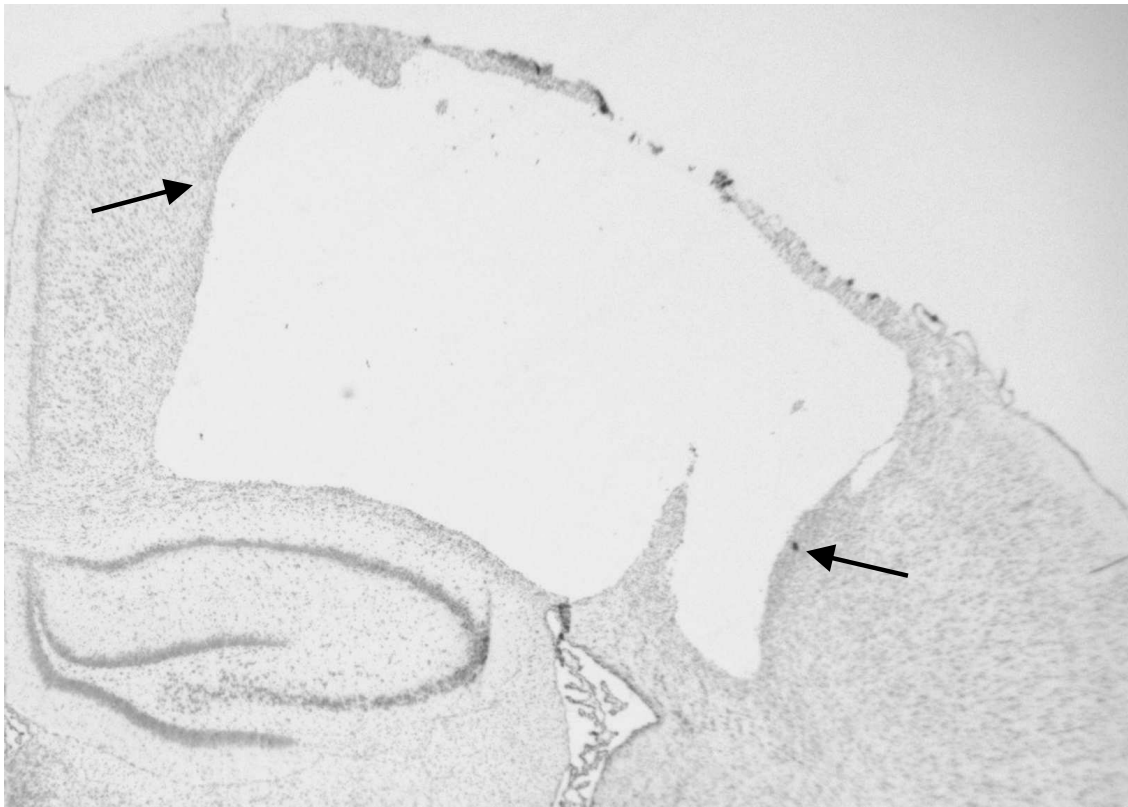


Abbildung 39: Histologische Schnittflächen von Gehirnen hyperventilierter Tiere in der Kresylviolett-Färbung. Die Ebene liegt im Zentrum der Läsion mit 5500 μm Abstand zur definierten Nullebene. Vergrößerung 1:25.

Der Kontusionsschaden in der rechten Hemisphäre hat sich in den zwei Wochen nach dem Trauma bei fast allen hyperventilierten Ratten zu einer deutlichen Kavität entwickelt. In den Randzonen ist ein dunklerer Randbereich (Pfeile) zu erkennen, der dem Gliazellrasen als Abgrenzung zum gesunden Gehirngewebe entspricht.

4 DISKUSSION

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Modell des *Controlled Cortical Impact*

Bisher existiert im experimentellen Bereich kein SHT-Modell, das alle Aspekte und pathologischen Mechanismen des komplexen SHT, wie es in der Praxis meist vorkommt, nachzubilden vermag (POVLISHOCK et al. 1994). Dies ist auch nicht möglich, weil sich die Ursachen, der Vorgang an sich, der Schweregrad, und die darauffolgende Behandlung in der Klinik von Fall zu Fall völlig unterscheiden können. Um Pathomechanismen zu verstehen, ist es zunächst wichtig, einzelne Vorgänge zu betrachten und den Schaden exakt steuer- und kontrollierbar zu standardisieren. Diese Steuerbarkeit ist mit keinem anderen SHT-Modell in dem Maße wie mit dem *Controlled Cortical Impact (CCI)* zu erreichen. Bei der *Inertial acceleration* kann die Rotationsbeschleunigung zwar eingestellt werden, aber die Schleuderkraft auf den Kopf ist nicht zu kontrollieren und der Schaden nicht quantifizierbar. Dafür ist die Versuchsdurchführung relativ einfach, genauso wie beim *Weight drop*-Modell. Bei diesem Modell sind die unerwünschten Nebenwirkungen (Knochenbrüche, Tierverluste) jedoch schlecht einzugrenzen und der Schaden ebenso diffus und ungenau vergleichbar. Mit dem Modell des *Fluid percussion (FP)* wurde hinsichtlich der Vergleichbarkeit ein großer Fortschritt erzielt. Für das SHT bedarf es ebenfalls einer Kraniotomie ähnlich dem *CCI*. Die Installation zur Traumainduktion ist allerdings noch aufwendiger und vor allem zeitintensiver als beim *CCI*, da die Anfertigung der Apparatur erst noch am Tier erfolgen muss. Die Fixation des Plastikrohres mit der Aushärtung des Zementes dauert mehrere Stunden bis zu einem Tag an. Außerdem ist mit verhältnismäßig hohen Tierverlusten und Komplikationen zu rechnen.

Mit dem *CCI*-Modell wird eine relativ neue und sehr erfolgversprechende Methode für SHT im Tiermodell entwickelt. Dieses Modell wurde für die vorliegende Evaluierungsstudie ausgewählt, weil es als einziges bisher etabliertes SHT-Modell einen reproduzierbaren, gut steuerbaren und vor allem fokal begrenzten Schaden erzeugt. Es muss zwar eine Kraniotomie erfolgen, aber das Trauma kann innerhalb von Minuten nach der Präparation durchgeführt werden. Nebenwirkungen und hämodynamische Auswirkungen sind begrenzt und können gut reguliert werden. Andererseits bedeutet das, dass dieses Modell nicht für SHT-Versuche geeignet ist, in denen es auf pathologische Mechanismen wie z.B. Hämodynamik ankommt. Der Teilaspekt der fokalen Kontusion mit begrenzten Durchblutungsstörungen und fokalen

Axonschäden wird in den Vordergrund gestellt. Nicht einmal das laterale *FP*-Modell kann den Zellschaden so genau fokal begrenzen und damit eine einfache, aber qualitativ bestmögliche Quantifizierbarkeit in der histologischen Untersuchung bieten. Wie bereits in einigen Studien gezeigt wurde, korrelieren auch motorische und kognitive Ausfallserscheinungen mit der angewendeten Traumastärke (GOODMAN et al. 1994; MARKGRAF et al. 2001).

Aus eben genannten Gründen eignet sich das *CCI*-Modell wegen des eindeutig quantifizierbaren Ergebnisses besonders gut für vergleichende Therapiestudien, in denen erkannt werden soll, ob eine Therapie das Schadensausmaß verändert (THOMALE 2001). Generell ist es möglich, den positiven oder negativen Effekt einer Behandlungsmethode auf das funktionelle Endergebnis nach SHT klinisch und histologisch zu überprüfen.

Seit einigen Jahren gibt es Hinweise auf schlechtere Endergebnisse nach dem Einsatz von Hyperventilation als SHT-Therapie (MUIZELAAR et al. 1991). Der neuroprotektive Effekt wird vielfach angezweifelt, aber bisher liegen kaum Hinweise aus gut standardisierten Tiermodellen mit moderater Hyperventilation vor, die diese Vermutungen abklären. In Studien über CBF-Veränderungen (FORBES et al. 1997b) und in der histologischen Auswertung (FORBES et al. 1998) konnte eine Verschlechterung durch Hyperventilation bestätigt werden. Der direkte Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Hyperventilation, der Vergrößerung des Hirnschadens und der Verschlechterung des klinischen Erscheinungsbildes konnte jedoch bisher noch nicht verknüpft werden.

Bei den Parametern für die Traumastärke ist es wichtig, Einstellungen zu etablieren, bei denen mit wenig Komplikationen zu rechnen ist und es den Tieren nach der OP so gut geht, dass begleitende Verhaltenstests erstens bewältigt werden können und zweitens sensitiv genug bleiben, um Unterschiede zu erkennen. FORBES et al. (1998) konnten in ihrem *CCI*-Hyperventilationsversuch keine positiven Unterschiede im MWM-Test, Balken-Geh- und Balken-Gleichgewichts-Test, sondern nur post mortem in der histologischen Untersuchung nachweisen. Sie mutmaßten, dass das primäre Trauma (Eindringtiefe 2,5 mm) zu schwer war, als dass sekundäre Insulte zum Tragen kommen und mögliche Therapiemethoden sich in Veränderungen des klinischen Verhaltens oder in der histologischen Läsionsgrößenbestimmung ausdrücken könnten. Besonders bei der Analyse klinischer Veränderungen ist es sehr schwierig das Trauma so einzustellen, dass feine Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen erkennbar sind. Außerdem muss der Verhaltenstest aussagekräftig sein und qualitativ hochwertig durchgeführt werden, weswegen in vorliegender Studie der mHB-Test gewählt wurde. Im Vorfeld ist es ungewiss, ob die Schadensgröße sich zwischen den Versuchsgruppen so stark verändert, dass diese Unterschiede auch klinisch detektiert werden

können. Deshalb wurde eine Eindringtiefe des Stempels gewählt (1,75 mm), die das Überleben der Tiere sichert und aussagekräftige Ergebnisse durch den mHB-Test gewährleisten soll.

Der Ablauf und die Durchführung der Operation tragen ebenfalls zum Gelingen des Versuchs bei und grenzen unkontrollierbare Faktoren aus, die das Ergebnis verfälschen würden. Die Operation wird von einer erfahrenen und gut eingewöhnten Fachkraft ausgeführt, die einen zügigen Ablauf und eine gelungene Präparation sicherstellt. Durch die zusätzliche Kontrolle der „Traumaerzeugungsanlage“, die direkt vor dem Schuss erfolgt, wird ein Zeitverlust durch technische Probleme, falsche Einstellungen oder gar ein Fehlschuss ausgeschlossen. Auf präzise Lagerung unter der Führungsröhre des Schlagstempels wird besonders geachtet und der Hirnschaden wird sehr gleichförmig bei allen Versuchstieren platziert. Des Weiteren ist die operierende Person gegenüber den Verhaltenstests geblindet, so dass eine subjektive Beeinflussung, d.h. eine Selektion nach Intelligenz und Motivation der Ratten, ausgeschlossen wird. Zusätzlich erfolgt die Randomisierung erst nach Induktion des Traumas völlig willkürlich durch das Los. Der primäre Schaden wird demnach bei allen Tieren unvoreingenommen und so gleichartig wie möglich induziert. Während der Nachbeatmungsphase wird die Ventilation kontinuierlich über das endexpiratorische PaCO₂ und die Atemfrequenz, der Kreislauf über die Herzfrequenz und den Blutdruck kontrolliert. Zusätzlich werden zu den Messzeitpunkten die physiologischen Parameter unverwechselbar dokumentiert. Auf Grund dieser Vorsichtsmaßnahmen kann man von einer qualitativ hochwertigen, sorgfältig durchgeführten Operation ausgehen.

4.1.2 Verhaltenstests

Verhaltenstests erweitern die Nachweismöglichkeiten, mit denen im Tiermodell ein neurologischer Schaden qualitativ und quantitativ erfasst werden kann. Sowohl ohne äußere schädliche Einflüsse auf die Tiere als auch ohne Veränderung innerer Mechanismen werden neben chemischen und histologischen Nachweismethoden ergänzende Informationen gewonnen (PALISSA und BECKER 1986). Natürlich ist dieses Vorhaben nur möglich, wenn der Zeitablauf reibungslos durchgeplant wird, fachkundiges Personal zur Verfügung steht und der finanzielle Mehraufwand, separate Räumlichkeiten und die materielle Grundlage geschaffen werden. Trotzdem bietet außer den Verhaltensanalysen keine andere Untersuchungsmethode den Vorteil, das klinische Erscheinungsbild der Versuchstiere frühzeitig zu erfassen und Veränderungen mit Ergebnissen aus anderen Nachweismethoden zu vergleichen. Wie schon einige andere Studien bewiesen haben (LYETH et al. 1990; HAMM et al. 1992),

können sonst feine Verhaltensänderungen, die klinisch durchaus relevante Folgen mit sich bringen, mit ungeeigneten chemischen oder histologischen Methoden übersehen werden. Bei der Kombination dieser Methoden erhält man eine breitgefächerte, detaillierte Schadensanalyse, der kaum eine Veränderung entgeht.

4.1.2.1 Modifizierter Hole-Board-Test nach OHL

Bei SHT-Patienten sind sowohl Verhaltensänderungen als auch Gedächtnisschwächen vor allem im Langzeitgedächtnis klinisch sehr häufig zu beobachten. Diese stellen eine besonders ernstzunehmende Charakteränderung dar, weil die individuelle Persönlichkeit dadurch geprägt und ein selbstständiges Leben oft unmöglich gemacht wird. Forschung auf diesem Gebiet wurde schon mehrmals in einigen SHT-Tiermodellen ergänzend praktiziert und Gedächtnis- und Lernschwächen konnten mit Hilfe kognitiver Verhaltenstests aufgedeckt werden. Hauptsächlich angewandt wurde dabei der MWM-Test (DIXON et al. 1999; MARKGRAF et al. 2001) und der RAM-Test (LYETH et al. 1990). Diese Tests sind geeignet, Arbeitsgedächtnis und deklaratives Gedächtnis, bzw. deren zugehörige neuronalen Gebiete des präfrontalen Kortex und des Hippokampus zu überprüfen. Beide Tests haben sich bisher sensitiv für den anatomischen Schaden gezeigt, der im CCI-Modell induziert wird, in Verbindung mit der Fragestellung nach dem Einfluss der Hyperventilation konnte aber bisher kein Ergebnis erzielt werden (FORBES et al. 1998).

Der mHB-Test (OHL et al. 2001a) ist ähnlich den oben genannten Verfahren ein visuell-räumlicher Verhaltenstest, der sehr vielseitige Einblicke in das Verhalten von Ratten gibt und einige Vorteile gegenüber anderen Verhaltenstests, insbesondere dem MWM-Test, bietet. Der MWM-Test stellt wegen der physischen Belastung des Schwimmens und der Tatsache, dass sich die Tiere dieser Belastung nicht entziehen können, hohe Anforderungen an die Versuchstiere. Deswegen sollte der MWM-Test sinnvoller Weise erst einige Tage nach dem Eingriff gestartet werden, wenn sich die Tiere erholt haben. Der mHB-Test dagegen wird vor und direkt nach dem Trauma, d.h. während der sensiblen Phase durchgeführt. Für die Tiere ist die Anstrengung auf kurzes Laufen reduziert, was ihnen bereits einen Tag nach der OP offensichtlich nicht schwer fällt. Dadurch erhält man eine kontinuierliche Verlaufskontrolle über die neurologischen Funktionen der Tiere und kann speziell Veränderungen, die direkt auf das zu prüfende Ereignis folgen, aufzeigen. Außerdem besteht die Motivation, den Test zu absolvieren, nicht aus einer psychisch belastenden Situation (Fluchtreaktion beim MWM-Test, Lichteinfluss und Signalton beim Open-Field-Test) oder Wasser- bzw. Futterdeprivation (RAM-Test). Durch diese Faktoren wird das Wohlfühlverhalten der Tiere

eingeschränkt und die Aussagekraft der Parameter gerade in Bezug auf Motivation und Emotion können beeinflusst werden. Eine solche Ausgangssituation ist nicht erstrebenswert (BROADHURST 1957). Beim mHB-Test wird dagegen das natürliche Futtersuchverhalten durch eine Futterbelohnung positiv bestärkt. Dieser Antrieb ist nicht ganz so stark wie die Motivation anderer Methoden und nur bei wenig gestörtem Allgemeinbefinden ausreichend, aber in diesem Versuch genügt er vollkommen. Alle Tiere können die Futterbelohnung auffinden, fressen und beenden den Test weit unter der Maximalzeit. Die Tiere führen den mHB-Test völlig freiwillig, ohne belastende Zwangsmaßnahmen aus. Für eine unverfälschte Motivationsanalyse ist diese Methode auf jeden Fall vorzuziehen.

Des Weiteren hängt die Aussagekraft der Parameter, die Datentransparenz und die Anwendbarkeit bei bestimmten Fragestellungen vom Testaufbau des jeweiligen Verhaltenstests ab. Aus vorangehenden Untersuchungen ist bekannt, dass der mHB-Test -im Gegensatz zu den meisten anderen Verhaltenstests- sowohl einen Überblick über emotionale Aspekte bieten kann als auch gleichzeitig für die zielgerichtete Überprüfung der Gedächtnisleistungen sensitiv ist (OHL et al. 1998; MANNS 2001; OHL et al. 2001a; MÜLLER 2004). Man muss sich jedoch bewusst sein, dass diese Beobachtungen an Ratten erhoben werden und nicht direkt auf den Menschen übertragbar sind, worauf auch STECKLER und MUIR (1996) aufmerksam machen. Besonders die emotionalen Aspekte der kognitiven Parameter beruhen auf dem Versuch das Tierverhalten im Gesamtbild zu interpretieren. Auf die motorische Komponente des mHB-Tests wird in dieser Studie weniger Wert gelegt, weil darüber hinaus ein breites Spektrum an neurologisch-motorischen Verhaltenstests eingesetzt wird, um feine Defizite nicht zu übersehen. Die beiden ursprünglichen Tests, aus denen der mHB-Test entstanden ist (Open-Field und Hole-Board-Test), wurden kombiniert und in ihrer Aussagekraft über die neurologischen Funktionen der Versuchstiere erweitert. Zu der Aussagekraft des Open-Field-Tests (BROADHURST 1957) über die lokomotorische und emotionale Aktivität sowie der des Hole-Board-Tests (FILE und WARDILL 1975) über die explorative und emotionale Motivation gelingt es, den Tieren etwas beizubringen und dieses Wissen, bzw. ihr Gedächtnis zielgerichtet zu überprüfen. So werden sowohl Erkenntnisse über das Arbeitsgedächtnis, als auch über das deklarative Gedächtnis gewonnen.

Die erlernte Information »Futter ist unter der Markierung«, gehört als unveränderte, immer gleichbleibende Tatsache zum deklarativen Gedächtnis. In jedem Durchlauf wird diese Information über die Fehlerhäufigkeit »Futter wurde nicht an Hand der Markierung erkannt« abgefragt. Dadurch kann eine Aussage über dieses Langzeitgedächtnis getroffen werden, d.h. über Tage hinweg wird dieses Wissen erlernt und bleibt darauf in jedem Testdurchlauf

gleichermaßen präsent (OLTON et al. 1979). Täglich wechselnde Lochkombinationen schließen aus, dass nur eine bestimmte Lokalisation der Futterbelohnung erlernt wird. Das Johannisbeeraroma, bzw. das Ausstreichen der Löcher mit einem in der Lösung getränkten Puffreiskorns und das Bekleben aller Löcher mit Klebeband am Ende eines Versuchstages kommen einer Geruchsneutralisation gleich. Eine solche Präparation wirkt einer olfaktorischen Beeinflussung beim Auffinden der Futterbelohnung entgegen und grenzt neurokognitive Verhaltensweisen des nicht-deklarativen Gedächtnisses aus (Fähigkeiten, Konditionierung, Habituation). Außerdem ist die Zeit auf dem Board, welche die Tiere nach Erlernen der Aufgabe zum Auffinden eines Lochs benötigen, mit durchschnittlich 3 bis 4 Sekunden derart gering, dass ein ungerichtetes Absuchen aller Löcher nach dem stärksten Geruch sehr unwahrscheinlich ist.

Das Arbeitsgedächtnis ist zeitlich auf Minuten begrenzt und kann deshalb nur mit einer Variablen innerhalb eines Durchlaufs überprüft werden (OLTON et al. 1979). Wiederholungen richten sich nach einer Information, die sich innerhalb eines Durchlaufs ständig verändert »an welchen markierten Löchern ist die Futterbelohnung bereits gefressen – welche markierten Löcher müssen nicht mehr untersucht werden«. Das Arbeitsgedächtnis muss viele räumliche und zeitliche Informationen zur Beantwortung dieser Frage aufnehmen und aufeinander abstimmen. Die Tiere müssen und können sich aber nur kurzzeitig, innerhalb eines Durchlaufs merken, wo sie bereits gefressen haben. Durch besondere Vorkommnisse, die das Tier erschrecken oder dessen Aufmerksamkeit erfordern (Hintergrundgeräusche, Bewegungen des Untersuchers, Störungen von außen), können wichtige Informationen plötzlich aus dem Zusammenhang gerissen werden, verloren gehen und falsche Ergebnisse (Wiederholungen) provozieren. Um eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden, protokolliert der Untersucher solche Störungen nach dem Durchlauf, diskutiert sie und gegebenenfalls wird der betroffene Durchlauf aus der Wertung genommen.

Ein weiterer Faktor, der das Verhalten der Versuchstiere beeinflussen kann und zu falschen, nicht standardisierbaren und im Versuchsablauf nicht vorgesehenen Veränderungen führt, ist Stress. Schon BROADHURST (1957) erklärte, dass die Rahmenbedingungen eines Verhaltenstests großen Einfluss auf die Auswertung haben. OHL und FUCHS (1999) konnten im mHB-Test nachweisen, dass chronischer Stress auch noch nach Entfernung der Ursache das deklarative Gedächtnis negativ beeinflusst, während akuter Stress Störungen im Arbeitsgedächtnis verursacht. Deshalb zielt der mHB-Test von Anfang an auf die Vermeidung und den Abbau von Stresssituationen hin. Schon der frühe Bestelltermin mit langen Eingewöhnungszeiten und frühzeitiger Gewöhnung an Handling, Umgebung und Geräuschkulisse

machen die Rahmenbedingungen für die Tiere vertraut und sicher. Da zwar wenige aber doch mehrere Personen mit dieser Aufgabe beauftragt sind, werden durch Vermeidung starker Gerüche, allgemein ruhigem, fachkundigem Verhalten und Pflege durch den Untersucher selbst individuelle Einflüsse stark minimiert. Dadurch, dass der Untersucher eine Rattengruppe über die ganze Testphase begleitet, kennen und „akzeptieren“ die Tiere ihre Bezugspersonen. Der Untersucher ist nicht mit der Gruppenzugehörigkeit der Tiere vertraut und behandelt deshalb alle Tiere gleich. Ein Homecage ist nur einer einzigen Rattengruppe zugehörig. In der Vorphase wird die Erkundung des Boards und der Versuchsarena im Sozialkontakt ermöglicht und durch Geruchsmarkierungen akzeptieren die Ratten diese. Unnötiger Stress durch einen Transport vom Tierstall zum Versuchsraum wird vermieden. All diese Maßnahmen begrenzen chronische Stresssituationen wesentlich und führen zu einer konstanten emotionalen Ausgangssituation. Am wichtigsten ist jedoch der Erhalt der Sozialkontakte im speziesspezifischen Homecage mit Gruppenhaltung bis zum letzten Versuchstag. Eine konstante Tiergruppe, die durch das wochenlange Zusammengewöhnen eng verbunden ist und keinen Rangordnungskämpfen mehr ausgesetzt ist, gibt den Versuchstieren Sicherheit, um zielgerichtet Aufgaben erfüllen zu können. Ratten in Isolationshaltung nehmen weniger an ihrer Umwelt teil, sind weniger neugierig aber dafür ängstlicher (STERN et al. 1960; THIESSEN et al. 1962). Ihre motorische Aktivität nimmt ab, was für das Versuchsvorhaben im mHB-Test nicht förderlich wäre. Zudem wird die Zusatzfunktion geschaffen, Angst-auslösende Faktoren oder auf die OP folgende emotionale Veränderungen anhand der Gruppenkontakte zu messen.

Der Schwachpunkt des mHB-Test ist der offene Versuchsaufbau und die daraus resultierende Störanfälligkeit. Um Störungen des natürlichen Verhaltens und Beeinträchtigungen des Arbeitsgedächtnisses (s. oben) der Tiere zu beseitigen, läuft während der Lichtphase, inklusive der Testzeit ein Radio im Hintergrund, um die Reizschwelle für Hintergrundgeräusche zu heben. Bei der Eingabe kontrolliert der Untersucher seine Bewegungen, ist völlig ruhig und protokolliert das Verhalten auf einer flexiblen Tastatur, die beim Tippen keine Geräusche macht. Der Raum selbst liegt abseits vom Laborgeschehen sehr ruhig und ist durch eine dicke Metalltür abgeschirmt.

Als weitere Maßnahme, um unkontrollierbare Einflüsse auszuschließen, wurden die Baselinekriterien des mHB-Tests eingeführt. Zum einen muss sichergestellt sein, dass die Tiere den Test vor dem Eingriff erlernt haben, damit Veränderungen deutlich werden können. Zum anderen müssen individuelle Unterschiede angeglichen und eine standardisierte Ausgangssituation für alle Tiere geschaffen werden (OLTON und PAPAS 1979). Die

Gesamtzeit von ≤ 120 s sichert, dass der Test auf Grund des Wissens »Markierung=Futter« und ausreichender Motivation der Tiere erlernt wurde, die Fehleranzahl von ≤ 3 /Trainingstag sorgt für einen gleichmäßigen Wissensstand unter den Versuchstieren. Als weitere Kontrolle ergänzen die Wiederholungen von $\leq 0,5$ /Trainingstag, wobei diese jedoch auch auf ein standardisiertes, durch Störungen wenig beeinflusstes Testverfahren hindeuten. Die Länge der Trainingsphase vor der OP richtet sich nach der Tierart, da ein Verhaltenstest speziespezifisch auf das neurokognitive Leistungsniveau der Tiere angepasst werden muss (MACPHAIL 1996; STECKLER und MUIR 1996). Ursprünglich wurde der mHB-Test für Spitzmäuse (*Tupaia belangeri*) entwickelt, die innerhalb von zwei Tagen konstante Baselinekriterien erreichen (OHL et al. 1998). Ratten benötigen jedoch eine längere Lernphase und mehr Wiederholungen bis sie die Testaufgabe erlernt haben. Nach etwa sechs bis acht Tagen gleichen sich die Leistungen der Tiere an und stabile Ausgangswerte werden erreicht. Für diese Studie wurden ausgehend von den acht Tagen 11 ± 1 Tage mit dem Computer protokolliert, von denen die letzten drei Tage vor der OP als Baseline erhoben wurden. Länger dürfen die Tiere zum Erlernen des Tests nicht brauchen, damit kein Gewöhnungseffekt eintritt und Fähigkeiten des nicht-deklarativen Gedächtnisses getestet werden. Außerdem werden sechs Tage vor der OP die Durchläufe auf drei von anfangs vier reduziert, was die Motivation der Ratten (Futterbelohnung ist rar) fördern soll. Für den Testablauf bedeutet die lange Vorbereitungszeit allerdings einen hohen zeitlichen aber auch finanziellen Aufwand. Ein abgeschlossener, ungestörter Testraum ist voll eingerichtet bereitgestellt worden. Für die Pflege und Untersuchung der Tiere war fachkundiges Personal, das mit dem Verhalten von Ratten genauestens vertraut und in das Testverfahren gut eingeübt wurde, zuständig. Nur unter diesen Voraussetzungen sind mit dem mHB-Test qualitativ hochwertige Ergebnisse zu erstellen, wie diese Studie zeigt.

4.1.2.2 Neurologisch-motorische Tests

Ziel dieser Verhaltenstests ist es, die im mHB-Test untersuchten Kriterien zu ergänzen, das Allgemeinbefinden intensiver zu begutachten und vor allem motorische Defizite besser zu erkennen, welche ähnlich bei SHT-Patienten auftreten (v.a. Hemiparesen). Dazu werden acht Kategorien ausgewählt, die sich in ihrem Schwerpunkt etwas unterscheiden und damit ein breites Spektrum an möglichen Ausfällen abdecken. Reduziertes Allgemeinbefinden und Ausfallserscheinungen in Muskelkraft, Gleichgewicht und Motorik können nachgewiesen werden. Im Vorfeld dieser Studie ist noch nicht abzuschätzen, welcher Test sich als am

aussagekräftigsten erweist. Deswegen wird versucht, so viele Informationen zu erhalten, wie es Zeitablauf, Räumlichkeit und Zustand der Tiere nach dem SHT zulassen.

In dieser Studie werden als Grundlage Tests ausgewählt, die wegen ihrer einfachen Durchführbarkeit im Labor üblich sind (Bewusstsein, Pflegeverhalten, Laufvermögen, Kletterverhalten) oder auf einer modifizierten Bewertung nach COMBS und D'ALECY (1987) beruhen (Drahtgitter-Test, Greif-Zug-Test). Ergänzt werden diese vorzugsweise mit NM-Tests, die in der gängigen Literatur bei SHT-Modellen häufig angewendet werden und bereits Ergebnisse erbracht haben. So wird der Balken-Gleichgewichts-Test von MARKGRAF et al. (2001) zur Detektion von Veränderungen in einem SHT-Modell als sensitivster Test eingeschätzt. Außerdem wird er als Standardtest zum Nachweis motorischer Defizite gehandhabt (DIXON et al. 1987; FORBES et al. 1998; MARKGRAF et al. 2001). Häufig wird auch der Balken-Geh-Test genannt, dessen Ergebnisse mit veränderten Trauma-stärken korrelieren (LYETH et al. 1990). Zudem hebt dieser Test einseitige Gehirnläsionen, wie die Hemiparese als Folge des lateralen SHT, besonders hervor. Kontralateral zum betroffenen sensorischen oder motorischen Rindenzentrum zeigen sich Ausfälle, weil die Nervenbahnen zur anderen Seite kreuzen (SOBLOSKY et al. 1996).

Jeder Test wird für sich bewertet. Wie einige Autoren empfehlen, ist es sinnvoll, die einzelnen neurologischen Teilaspekte zu addieren, um eine allgemeine Übersicht über den neuromotorischen Zustand zu gewinnen (COMBS und D'ALECY 1987; SHAPIRA et al. 1988; SAATMAN et al. 1996). Dazu benötigt man ein objektives Punktebewertungssystem, mit dem sich die einzelnen Kategorien sowohl selbstständig als auch zusammenfließend in einem Gesamtscore darstellen lassen. Ursprünglich wird z.B. die exakte Zeit, welche die Tiere beim Balken-Gleichgewichts-Test benötigen, in Sekunden notiert. Um diese mit den anderen Tests, die in Einzelscores bewertet wurden, vergleichbar zu machen, teilt man die Sekunden ebenfalls in einen Score ein. Die Absolutwerte werden jedoch für die Einzelbewertung einiger Tests beibehalten, weil sonst Gefahr besteht, dass feine Unterschiede der Bewertung entgehen.

Es werden acht verschiedene NM-Test-Kategorien erhoben (Bewusstsein, Pflegeverhalten, Laufvermögen, Kletterverhalten, Drahtgittertest, Greif-Zug-Test, Balken-Gleichgewichts- und -Geh-Test), deren Durchführung einige Zeit in Anspruch nimmt und für die Ratten eine zusätzliche physische und psychische Belastung bedeutet. Der Untersucher des mHB-Tests ist ebenso für die Durchführung der NM-Tests verantwortlich, was den Personenverkehr im Versuchsraum einschränkt und die Tiere noch stärker an die Untersucher bindet. Durch die lange Beobachtungszeit im mHB-Test werden Bewusstsein, Laufen und Pflegeverhalten der Tiere intensiv analysiert und für die NM-Tests mitbewertet. Die restlichen Kategorien werden

täglich erst nach Abschluss des mHB-Tests durchgeführt, um eine Beeinflussung durch die physisch anstrengenderen Übungen und den zusätzlichen Stress auszuschließen. Da die Tiere vor der OP mit den NM-Tests vertraut gemacht werden, trägt diese Beeinflussung nicht zur Veränderung der emotionalen Ausgangssituation für den mHB-Test des folgenden Tages bei. Im Vorfeld ist abzuklären, welche Tests in Frage kommen. Zum einen ist schon aus Tierschutzgründen jederzeit auf die Durchführbarkeit zu achten, damit die Tiere nach einem schweren Eingriff nicht überanstrengt werden. Zum anderen ist für einen Vergleich der Versuchsgruppen absolut notwendig, dass die Tiere nach dem Eingriff generell fähig sind die Tests absolvieren zu können.

Viele Studien beschreiben bei der Durchführung motorischer Verhaltenstests oftmals überhaupt kein Training vor dem Versuch (COMBS und D'ALECY 1987; SOBLOSKY et al. 1996; FORBES et al. 1998; MARKGRAF et al. 2001; THOMALE 2001). Bei vorliegender Studie werden den Tieren drei Tage vor der OP zugestanden, um die NM-Tests zu erlernen. Dieser Zeitraum beruht auf bisherigen Beobachtungen (MÜLLER 2004) und wird als Kompromiss zwischen Zeitaufwand und den unterschiedlich schwierigen Anforderungen der Kategorien eingeplant. Durch ein Vortraining ist der Einfluss des SHT direkt mit der erlernten Leistung und unabhängig von der individuellen Geschicklichkeit der Tiere vergleichbar (OLTON und PAPAS 1979). Aus dem zeitlichen Verlauf des Gesamtscores und den einzelnen Kategorien ist zu ersehen, dass fast alle Tiere in dem dreitägigen Trainingszeitraum vor der OP die motorischen Anforderungen für den jeweiligen Test erlernen. Die Leistungen verbessern sich kontinuierlich und am OP-Tag erreichen fast alle Tiere Maximalleistungen. Ein Training vor dem Versuch ist auf jeden Fall zum objektiveren Vergleich der Veränderungen sinnvoll. Im Drahtgitter und Greif-Zug-Test kommt es jedoch auch nach drei Tagen Lernzeit immer noch zu relativ unterschiedlichen Ausgangswerten vor der OP. Daher wäre es ratsam, den Trainingszeitraum allgemein um mindestens zwei bis drei Tage zu verlängern.

Für zukünftige Untersuchungen wäre es weiterhin sinnvoll, sich bei ähnlichen Tiermodellen auf diejenigen Tests zu konzentrieren, die sich in vorliegender Studie als aussagekräftig erweisen. Hier sind in erster Linie beide Balken-Tests zu nennen. Zur Beurteilung des Allgemeinbefindens sollten die Kategorien Bewusstsein, Pflegeverhalten und Laufen immer der neurologischen Beurteilung vorausgehen. Für den Kletterverhalten-Test sind die Tiere zu unbeschadet, als dass sich Unterschiede zeigen. Beim Drahtgitter- und Greif-Zug-Test muss evtl. die Testdurchführung verbessert oder generell einer der Tests aus dem Versuchsprotokoll genommen werden, weil beide Kategorien das gleiche Aussagespektrum über Gleichgewicht und Muskelkraft vor allem der Vordergliedmaße haben. Man muss bedenken, dass sich

Quantität oftmals auf Kosten von Qualität vergrößert, weshalb ein Verzicht auf mindestens einen der beiden Tests anzuraten ist, um die restlichen Kategorien sorgfältig und ohne Zeitdruck durchführen zu können. Zu viele Informationen, bzw. Kategorien verfälschen die Aussagekraft und zur genauen Untersuchung fehlt es dann oftmals an Zeit.

4.1.3 Histologische Auswertung

Die histologische Auswertung ist für die Evaluierung des Schadens in einem SHT-Modell unerlässlich. In einer vergleichenden Therapiestudie wird mit der Bestimmung der Schadensgröße einfach und schnell der Unterschied zwischen Behandlungsgruppen quantifiziert. Zur Bestimmung der Läsionsfläche, bzw. des gesamten Volumens an geschädigtem Gewebe eignet sich die Kresylviolett-Färbung sehr gut (FORBES et al. 1998). Dabei handelt es sich um eine Färbemethode, mit der sowohl das neuronale Gewebe deutlich darstellbar ist und zugleich der neu gewachsene Gliazellrasen, der die Läsion Tage nach dem Trauma umgibt und ebenfalls zum Schaden zu rechnen ist, erkannt werden kann. Im Gegensatz zur häufig angewandten Hämatoxylin-Eosin-Färbemethode wird nur ein Farbstoff benutzt. Um das Zielgebiet kenntlich zu machen, reicht die Kresylviolett-Färbung jedoch völlig aus, ist einfacher zu handhaben und liefert damit sichere Ergebnisse.

Einige Punkte werden sehr sorgsam zum Erhalt eines qualitativ hochwertigen, objektiven Ergebnisses beachtet: Beim Herstellen der Schnitte zur Auswertung, bzw. Berechnung des Schadens wird auf größtmögliche Präzision Wert gelegt. Dazu gehört exaktes Einstellen des Kryotoms zur Schnittfläche, sicheres Identifizieren der definierten Nullebene und Herstellen der Einzelschnitte mit genauer Abstandsmessung. Es wird sehr gewissenhaft auf eindeutiges Zuordnen der Einzelschnitte und deren unverwechselbares Kennzeichnen geachtet. Die Datenerhebung und Auswertung erfolgt durch eine einzige Person, die mit der Gruppenzugehörigkeit der Tiere nicht vertraut ist. Dadurch werden subjektive Fehler minimiert und Voreingenommenheit ausgeschaltet.

Da die vorliegende Arbeit als Pilotstudie lediglich zur Evaluierung des *CCI*-Modells in unserem Labor geplant war, wurden auf weitere histologische Techniken und Auswertungen verzichtet. Für nachfolgende Projekte wäre zu empfehlen, die histologische Auswertung viel umfangreicher zu gestalten und auch immunhistochemische Methoden anzuwenden. Von Interesse ist vor allem, inwieweit entfernt liegende Regionen geschädigt werden. Damit könnte der Läsionsumfang besser charakterisiert, sekundäre pathologische Mechanismen von primären abgegrenzt und der histologische Schaden mit klinischen Ausfallerscheinungen verglichen werden. Wie aus gängiger Literatur bisher bekannt ist, sollten dabei besonders

der Hippokampus, der Thalamus (CHEN et al. 2003) und das Kleinhirn (SOBLOSKY et al. 1996) beachtet werden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Untersuchungsgut und Tierverlust

Während des Versuchs verstarb nur eines von den ursprünglich 21 Tieren nach der Traumainduktion. Für den Versuch an sich bedeutet dies eine minimale Ausfallsrate. Die Traumastärke ist nicht so schwer, als dass ein Weiterleben nicht gewährleistet wird. Die Ratte gehört zur Versuchsgruppe Hyperventilation und starb am Tag 1 nach der OP aus ungeklärter Ursache. Ob das Tier schon vor der OP geschwächt war oder die Hyperventilation den Gehirnschaden vergrößerte und somit zum Tode führte, ist nicht erwiesen.

4.2.2 Physiologische Parameter während der Operation

Die Erhebung und Überprüfung der physiologischen Parameter dienen zur Standardisierung der OP. Einige Parameter sind definiert (perikranielle Temperatur, PaCO₂) oder direkt von diesen festgelegten Parametern abhängig (Atemfrequenz, pH-Wert) und sollten bei allen Tieren wenig variieren. Technische oder personell bedingte Probleme während der Präparation, der Traumainduktion oder während der Nachbeatmung können auf Grund einheitlicher Parameter überprüft werden.

Die perikranielle Temperatur wird bei 37,5 °C festgelegt. Diese Festlegung schließt einerseits den neuroprotektiven Effekt von Hypothermie aus, falls die Körpertemperatur zwischenzeitlich absinkt (CLARK et al. 1997) und andererseits ist sie eine lokale Kontrolle der „Überhitzung“ des Hirngewebes, was wiederum einen schädlichen Einfluss auf die Hirnfunktionen hat. Um die Temperatur so konstant wie möglich zu halten, wird ein automatisch kontrollierter Regulationsmechanismus zwischen Temperaturmessung und Wärmelampe geschaltet.

Der zweite festgelegte Parameter ist die CO₂-Konzentration des arteriellen Blutes. Auf diesen Parameter bezieht sich die Zugehörigkeit des Tieres zur Versuchsgruppe. Dieser Parameter zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen, der auf Grund seiner Definition schon vor der OP vorgegeben ist. Deshalb spricht man auch von einem „kontrolliertem Parameter“. In der Nachbeatmungsphase wird dieser Parameter durch

die Atemfrequenz reguliert und alle Werte liegen in dem Zielbereich der Normoventilation von 38 bis 42 mmHg, bzw. 28 bis 32 mmHg für die moderate Hyperventilation.

Mit dem festgelegten PaCO₂-Wert korrelieren direkt die Atemfrequenz und der pH-Wert des Blutes. Die Senkung des PaCO₂ wird durch eine Erhöhung der Atemfrequenz gesteuert. Bei den Tieren der NV-Gruppe wird die normale Ventilation vor dem Trauma und zur Baseline-messung beibehalten. Für die Absenkung des PaCO₂ ist bei den Tieren der HV-Gruppe eine fast doppelt so frequente, zwischen den Gruppen signifikant unterschiedliche Beatmung nötig und wird während der ganzen Nachbeatmungsphase eingehalten. Gleichzeitig hat die Erniedrigung des PaCO₂ in den ersten Stunden einer Hyperventilation die Erhöhung des pH-Wertes zur Folge (LAFHEY und KAVANAGH 2002). Bei den Tieren der NV-Gruppe ist kein pH-Anstieg über die Zeit der Nachbeatmungsphase erkennbar. Im Gegensatz dazu erhöht sich der pH-Wert der HV-Gruppe signifikant von 7,41 auf ca. 7,5 und bleibt während der Nachbeatmungsphase knapp unter diesem Wert bestehen. Der lokale pH-Wert im Gehirn entspricht in den ersten Stunden dem Blut-pH-Wert und sinkt frühestens nach vier Stunden mit Verlust der Pufferbasen ab (YOSHIDA und MARMAROU 1991). Deshalb kann von einer adäquaten Übertragung des Blutstatus auf das Säure-Basen-Milieu des Gehirns ausgegangen werden. PaCO₂, Atemfrequenz und pH-Wert zeigen zwischen den Gruppen die geforderte, vorab definierte und „kontrollierte“ Signifikanz. Innerhalb der Gruppe unterscheiden sich die Werte aber nur unbedeutend und man kann von einem gelungenen, kontrollierten Versuch ausgehen.

Hohe Blutglukosespiegel verschlechtern die neurologischen Folgeerscheinungen nach einem Trauma (VOLL et al. 1989; CHERIAN et al. 1997). Die Konzentration der Blutglukose wird beobachtet, um eine relevante Beeinflussung des Schadens auszuschließen. Da die Tiere vor der OP auf Grund des mHB-Tests nicht nüchtern gesetzt werden können, muss eine derartige Veränderung in Betracht gezogen werden. Trotz unveränderter Gruppenhaltung und ad libitum Fütterung haben alle Tiere vor dem Trauma keine abnorm hohen Blutglukosewerte. Während der OP sinken die Werte durchweg ab als Zeichen, dass Energie verbraucht wird. Relevante Unterschiede zwischen den Gruppen gibt es nicht.

Weiterhin werden Parameter zur Überwachung des Herzkreislaufsystems und der Versorgung des Gehirns mit Sauerstoff dokumentiert. Weder in der Herzfrequenz noch im mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) werden während der OP relevante Veränderungen festgestellt. Die Herzfrequenz liegt während der Operation jederzeit im physiologischen Bereich zwischen 250 und 400 Schlägen/min (WIJNBERGEN 2001). Bei der ersten Messung nach dem Trauma ist der MAP leicht erhöht, weil das Kreislaufzentrum durch den Aufschlag

irritiert und mit Arterenol gegenreguliert wird. Dieses Einstellen des MAP auf minimal 70 mmHg dauert nur kurze Zeit. Bei der zweiten und den folgenden Messungen ist dieser kontrolliert im physiologischen Bereich bei 80 bis 100 mmHg, da der CBF und damit auch eine Ischämie hauptsächlich von einem ausreichend hohen MAP abhängen. Mit der Arterenol-Dauerinfusion gibt es nur geringe Absenkungen unter diesen Bereich und Werte unter den kritischen Bereich von 70 mmHg werden nie beobachtet. Auch der kontinuierlich überprüfte Arterenolverbrauch unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht, was keine relevante Beeinflussung vermuten lässt. Eine konstante und ausreichende Sauerstoffversorgung des Gehirns wird mit dem PaO₂ und Hämoglobin nachgeprüft. Beide Parameter zeigen insgesamt keine Besonderheiten und machen eine globale mangelhafte Sauerstoffzufuhr zum Gehirn unwahrscheinlich. Inwieweit sich der alkalische pH-Wert des Gehirns auf die lokalen Sauerstoffverhältnisse der geschädigten Bereiche auswirkt, d.h. Sauerstoff nach dem BOHR-Effekt im Gewebe abgegeben wird, hätte durch eine aufwendige lokale Hirngewebsmessung abgeklärt werden müssen (NWAIGWE et al. 2000).

Insgesamt kann aus den ermittelten Werten geschlossen werden, dass die OP bei allen Tieren wie geplant und ohne Komplikationen verläuft. Es werden keine Besonderheiten ermittelt, die zur Beeinflussung des Gehirnschadens führen. Damit wird sichergestellt, dass die OP erfolgreich und standardisierbar durchgeführt wird.

4.2.3 Modifizierter Hole-Board-Test nach OHL

4.2.3.1 Gedächtnisparameter

Das deklarative Gedächtnis, das vom Hippokampus abhängig ist, wird mit der Leistung »Futterbelohnung ist in dem Loch unter der Farbmarkierung« getestet. Diese allgemeingültige Information bleibt über die Zeit eines Durchlaufs konstant und kann Aussagen über das deklarative Langzeitgedächtnis machen (OLTON et al. 1979). Defizite entsprechen dabei einer erhöhten Fehleranzahl, d.h. die Ratten versuchen überall und ohne System Futter zu finden, auch unter nicht markierten Löchern. Zu den Gesamtfehlern, die hier ausgewertet werden, zählen normalerweise auch die Auffindungsfehler, d.h. die Ratten finden innerhalb eines Durchlaufs nicht alle richtigen Löcher auf. Dies wäre ebenfalls ein auffälliges Zeichen von „Vergessen“ und Orientierungslosigkeit oder die Zeit reicht oft bei stark geschwächten Tieren nicht aus, um alle Futterbelohnungen zu fressen. Alle beurteilten Tiere sind aber jederzeit fähig, die richtigen Löcher aufzufinden und beenden ihren Durchlauf viel schneller

als in der vorgesehenen Maximalzeit von zehn Minuten. Dieses Verhalten spricht dafür, dass die Tiere nur geringgradig im Allgemeinbefinden gestört sind.

Generell lernen alle Tiere vor der OP die Testaufgabe und machen innerhalb der Baseline kaum noch Fehler. Wenn solche Fehler noch beobachtet werden, handelt es sich häufig um sehr schnelle, aufgeweckte Tiere, die es kaum erwarten können, sich in den Test zu „stürzen“, sofort nach dem Loslassen auf das Board treten und aus Übereifer schnell ein Loch zuviel aufmachen. Nach dem Trauma tritt jedoch eine bedeutende Veränderung ein. Die hyperventilierten Tiere begehen vor allem am Tag 1 eindeutig mehr Fehler als die normoventilierten Tiere, welche die Aufgabe immer noch fast ungestört meistern. Diese sprunghafte Veränderung der Leistung der HV-Gruppe ist einem kurzfristigen neurologischen Funktionsdefizit zuzuordnen. Die neurologische Grundlage für das deklarative Gedächtnis ist der Hippokampus. Wie die aktuelle Gedächtnisforschung postuliert, führt eine Schädigung des Hippokampus zu Ausfällen im deklarativen Gedächtnis (ZOLA-MORGAN et al. 1986; SQUIRE 1998). Der Hippokampus liegt unterhalb der primär verletzten Strukturen und ist von der Kontusion nicht direkt betroffen. Schäden in diesem Bereich deuten also auf sekundäre Pathomechanismen hin, die erst nach der Induktion des Traumas wirken. Ein besonders interessanter Bereich des Hippokampus ist die CA1-Region, die sehr empfindlich auf Blutflussstörungen und Mangeldurchblutung reagiert (PULSINELLI et al. 1982; JENKINS et al. 1989). Die Hyperventilation löst eine globale Vasokonstriktion mit Verminderung des CBF im Gehirn aus. Normalerweise wird die damit verbundene Blutflussreduktion gut kompensiert. Bei einer unilateralen Kontusion der Gehirnoberfläche kommt es zu globalen, aber vor allem lokalen Durchblutungsstörungen der geschädigten Seite. Gerade in den ersten Stunden nach dem Trauma ist der CBF dort stark eingeschränkt (HENDRICH et al. 1999), das Gehirn unterliegt einer Minderperfusion (BOUMA et al. 1992a) und reagiert auf sekundäre Insulte wie einer Ischämie äußerst vulnerabel (CHERIAN et al. 1996). Wo genau die Schädigung im Hippokampus liegt, ist mit dem mHB-Test nicht zu ermitteln. Wäre die CA1-Region speziell betroffen, würde eine Hyperventilations-bedingte Ischämie mit verstärktem Untergang von Neuronen zu vermuten. In einer ähnlichen SHT-Studie (*CCI* mit anderen Einstellungen und aggressiver Hyperventilation) wurde unter derselben Fragestellung bisher jedoch nur in der CA3-Region des Hippokampus ein größerer Verlust von Neuronen nachgewiesen (FORBES et al. 1998). Allerdings konnten dabei auch keine Verhaltensänderungen zwischen den Versuchsgruppen mit dem MWM-Test belegt werden. Außer einem stärker eingeschränkten CBF unter Hyperventilation und dadurch verstärkter zerebraler Ischämie mit Ausweitung des irreversibel geschädigten Blutflussgebietes

kommen noch weitere unerwünschte Nebenwirkungen von Hyperventilation in Frage, die dieses Ergebnis bedingen könnten. So ist die Versorgung des Nervengewebes mit Sauerstoff bei angehobenem pH-Wert unter Hyperventilation durch den BOHR-Effekt vermindert. In geschädigten Regionen des Gehirns könnte dies zur Mangelversorgung und damit zu größeren Zellverlusten geführt haben. Außerdem ist der Verlust von Pufferbasen bereits nach 4 Stunden Hyperventilation signifikant (YOSHIDA und MARMAROU 1991). Dieser Pufferverlust kann dazu führen, dass in den ersten Stunden der Hyperventilation der ICP zwar gesenkt und eine Azidose abgemildert wird, nach Absetzen der Hyperventilation jedoch der ICP im Gegensatz zu dem der normoventilierten Tiere einen sekundären Anstieg zur Folge hat. Diese erneute ICP-Erhöhung kann ein schlechteres neurologisches Erscheinungsbild der hyperventilierten Tiere wahrscheinlich insbesondere am ersten Tag verursachen. Über einen Langzeiteffekt und bleibenden Schaden kann keine Aussage getroffen werden. Nach drei Tagen machen die Tiere der HV-Gruppe wieder genauso wenig Fehler wie die NV-Gruppe und behalten diese Leistung bis Versuchsende bei. Zur Detektion von Langzeitdefiziten müssten Wiederholungsversuche nach einer Testpause von einigen Wochen oder Monaten ähnlich wie es DIXON et al. (1999) im MWM-Test gezeigt haben, unternommen werden.

Um eine Aufgabe zielgerichtet ausführen zu können, ist es notwendig, sich Informationen über das Geschehen zu merken und auf die Zielsetzung abzustimmen. Diese Informationen werden für einige Zeit im Arbeitsgedächtnis parat gehalten (BADDELEY 1996). Das Arbeitsgedächtnis von Ratten im mHB-Test wird über die Wiederholung von besuchten und geleerten markierten Löchern beurteilt. Eine Wiederholung von bereits besuchten und geleerten Löchern innerhalb eines Durchlaufs ist nicht sinnvoll und zielstrebig. Da das Arbeitsgedächtnis zeitlich auf einige Minuten begrenzt ist, kann es nur über eine Information geprüft werden, die sich innerhalb eines Durchlaufs ändert (OLTON et al. 1979). In dem eigenen Versuch können bei den beiden Versuchsgruppen keine Defizite des Arbeitsgedächtnisses nachgewiesen werden. Die Verlaufskurven sind unregelmäßig mit relativ hohen Standardfehlern. Das kann einerseits tatsächlich belegen, dass die Ratten keine Defizite haben, so wie auch bei SHT-Patienten dieses Gedächtnissystem seltener betroffen ist als das deklarative Gedächtnis. Andererseits ist der neuronale Bereich dem präfrontalen Kortex zuzuordnen, die bei dem angewendeten SHT von der direkten Kontusion weitgehend verschont wird. Für sekundäre Pathomechanismen, insbesondere hinsichtlich der vermuteten Zunahme ischämischer Areale unter dem Einfluss von Hyperventilation, ist der Hippokampus anfälliger, der sich durch das signifikant schlechtere Ergebnis der hyperventilierten Tiere im

deklarativen Gedächtnis auch als betroffen erweist. Nicht ausschließen darf man jedoch, dass das Ergebnis auf Grund des Testaufbaues nicht aussagekräftig ist. Das Arbeitsgedächtnis ist nämlich äußerst anfällig für Störungen wie akuten Stress, Geräusche oder Bewegungen. Gegen chronischen Stress in der Haltung, der Behandlung und der Gewöhnung an ihre Umwelt, sind die Ratten sehr gut abgeschirmt (s. Kapitel 4.1.1.1). Chronischer Stress würde sich außerdem auf das deklarative Gedächtnis negativ auswirken. Da die Tiere der NV-Gruppe aber keine Veränderungen im deklarativen Gedächtnis zeigen, ist dieser Faktor irrelevant. Durch den offenen Versuchsaufbau und die manuelle Eingabe der Beobachtung besteht jedoch immer die Gefahr, dass die Ratten akut störenden Einflüssen ausgesetzt sind und das Arbeitsgedächtnis beeinflusst wird (OHL und FUCHS 1999). Das bedeutet, dass die Ratten spontan vergessen, dass sie bereits an einem Loch gefressen haben. Tatsächlich konnten aber in vorausgegangenen Untersuchungen mit dem gleichen Versuchsaufbau und gleichen Bedingungen bereits eindeutige Defizite im Arbeitsgedächtnis ermittelt werden (MANNNS 2001; MÜLLER 2004). Damit lässt sich aus dem vorliegenden Ergebnis schließen, dass es tatsächlich keine Defizite des Arbeitsgedächtnisses gibt und eine anderweitige Störung des Versuchs auszuschließen ist.

Die räumliche Orientierung, die durch ein Wechselspiel von Hippokampus und präfrontalem Kortex verarbeitet wird (s. Kapitel 2.1.3.2.3), scheint ebenso oder gerade weil das Arbeitsgedächtnis nicht geschädigt ist, vollständig erhalten zu bleiben. Dafür spricht zum einen die Tatsache, dass es keine Auffindungsfehler gegeben hat, zum anderen dass sich die Gesamtzeit nach der OP kaum verlängert (s. unten). Außerdem bringt der dritte, rein räumlich konzipierte Durchlauf keine aufschlussreichen neuen Erkenntnisse und entspricht den visuell-räumlichen Ergebnissen.

4.2.3.2 Explorations- und Motivationsparameter

Das Explorationsverhalten, bzw. die Motivation mit der Tiere vorwärtsgetrieben werden, drücken sich in der Gesamtzeit, der Zeit auf dem Board, den Boardbegehungen, der Anzahl aller besuchten Löcher und der Aktion „Männchen machen“ aus. Um diese Verhaltensweisen der Ratten verstehen und interpretieren zu können, ist es sinnvoll, alle Ergebnisse gegeneinander abzuwägen, bevor eine abschließende Beurteilung getroffen wird.

Die Gesamtzeit, in der die Tiere den Test bewältigen, steigt nach der OP an, d.h. alle Tiere brauchen länger, um die Testaufgabe zu lösen. Bis sie wieder so schnell wie vor der OP sind, dauert es ca. eine Woche. Auffallend ist dabei, dass die normoventilierten Tiere tendenziell mehr Zeit benötigen und erst zwei Tage später zu ihren Ausgangswerten zurück-

finden. Wichtig ist zu differenzieren, wofür die Ratten mehr Zeit investieren. Einflussfaktoren auf diesen Parameter sind Allgemeinbefinden, Gedächtnisleistung, motorische Fertigkeit, Angst oder exploratives Interesse. Die allgemeine Zeitverzögerung nach der OP hängt sicherlich von einer geschwächten Konstitution der Tiere, wie am reduzierten Körpergewicht zu erkennen ist, ab. Diese Schwächung kann jedoch nicht bedeutend sein, weil es sonst zu massiveren Verzögerungen kommen würde, bzw. einige Tiere den Test überhaupt nicht beenden hätten können. Aus der Beurteilung des Allgemeinbefindens mit Inaktivitätszeit, Fresszeit und KGW sind keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen zu ersehen (s. unten). Eine schlechtere Gedächtnisleistung ist auszuschließen, weil die normoventilieren Tiere weniger Fehler machen als die hyperventilieren. Motorische Defizite, die normoventilieren Tiere beim Laufen beeinträchtigen könnten, gibt es nicht, da die Tiere der HV-Gruppe in den NM-Tests durchschnittlich schlechter abschneiden. Auch aus den angst-bedingten Parametern lassen sich keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen erkennen. Es bleibt also der Einfluss des explorativen Interesses. Dazu müssen die anderen Parameter des Explorationsverhaltens betrachtet werden.

Wenn Ratten in eine neue Umgebung gesetzt werden, halten sie den ersten Platz, an den sie gesetzt wurden für sicher und legen ihn als Ausgangspunkt zur Exploration des Umfeldes fest. Exploriert wird mit Schnuppeln am Boden, erweitert beim Männchen machen, auf und ab gehen und Aufrichten an Wänden, an denen sie nicht weiterkommen (WHISHAW et al. 1997). Im mHB-Test entspricht der Bereich, in dem sich die Ratten sicher fühlen, den Außengängen um das Board, d.h. weniger explorativ gestimmte Ratten betreten das Board seltener und kürzer (OHL et al. 2001a). Wenn die Tiere erst einmal das Board betreten haben, verbringen beide Versuchsgruppen etwa gleich lange Zeit darauf. Die normoventilieren Tiere begehen aber Tage nach der OP das Board signifikant häufiger als die Tiere der HV-Gruppe. Dies bestätigt die Vermutung, dass die Tiere der NV-Gruppe nach der OP ein stärkeres exploratives Interesse an ihrer Umwelt entwickeln und aktiver sind als die Tiere der HV-Gruppe.

Explorativ engagierte Tiere besuchen im Allgemeinen auch mehr Löcher, was die ursprüngliche Aussage des Hole-Board-Tests von FILE und WARDILL (1975) belegt. Angesichts der erlernten Fähigkeit, gezielt richtige Löcher zu öffnen, würde die erhöhte Anzahl aller besuchten Löcher für ein Gedächtnisdefizit sprechen. Auf dem Board zeigen sich beide Versuchsgruppen gleichermaßen explorativ, wie auch die Zeit auf dem Board erkennen lässt. Nur am ersten Tag nach der OP besuchen die hyperventilieren Ratten mehr Löcher. Dieses Ergebnis spiegelt aber die erhöhte Fehleranzahl und Beeinträchtigung des deklarativen Gedächtnisses wieder und zeigt keine Veränderung im explorativen Verhalten auf.

Wichtiger ist die Zeit auf dem Board pro besuchtem Loch, d.h. wie lange die Tiere brauchen, um ein Loch aufzufinden. Erstaunlicherweise sind hier die Tiere der NV-Gruppe Tage nach dem Trauma signifikant schlechter als die Tiere der HV-Gruppe. Je weniger Zeit zum Auffinden der Löcher nötig ist, desto motivierter oder zielstrebigere sind die Ratten. Alle Tiere benötigen nach dem Trauma länger, bis sie auf dem Board ein Loch erreichen, die hyperventilierten Tiere verfolgen aber bis zum Tag 9 schneller ihr Ziel, ein richtiges Loch zu finden als die normoventilierten.

Weiterhin wird das „Männchen machen“ der Tiere erfasst. Weder die OP noch die Behandlungsmethode beeinflussen dieses Verhalten wesentlich. Der einzige Effekt, der an einer immer geringer werdenden Anzahl dieser Aktionen zu erkennen ist, ist die Gewöhnung der Tiere an die Testsituation bis Versuchsende. Ein Gewöhnungseffekt, Habituation, tritt völlig normal im Lauf der Zeit mit zunehmender Routine auf, wie Analysen des Open-Field-Tests ergaben (BROADHURST 1957; KOLB 1974). Fast alle Explorationsparameter und auch die angstbezogenen Parameter (s. unten) bestätigen dies durch eine abfallende Verlaufskurve gegen Versuchsende. Nur die Zeit auf dem Board und die Anzahl der Löcher sollte sich im Rahmen von Defiziten im Gedächtnis verändern, was auch der Fall ist.

Werden alle explorativen und motivationsbezogenen Parameter gegeneinander abgewogen, kann gefolgert werden, dass normoventilierte Ratten wirklich explorativer und aktiver auftreten als hyperventilierte und an ihrer Umwelt interessiert teilhaben. Hyperventilierte Tiere sind dagegen aber sehr motiviert, die Löcher nach Betreten des Boards schnell aufzusuchen. Diese Schlussfolgerung deckt sich auch mit eigenen Beobachtungen nach der OP, in denen manche Ratten zurückhaltender, geradezu gedämpft, aber sehr zielstrebig und fixiert bei der Lochsuche wirken, andere dagegen eher mit viel Bewegung und Aktion auf ihr Umfeld reagieren und mehr exploratives Verhalten zeigen als sich der Lochsuche zu widmen. Dieses Verhalten kann auf den größeren Gehirnschaden, den die Tiere der HV-Gruppe bekommen, zurückzuführen sein. Ein solcher Gehirnschaden kann zur eingeschränkten Wahrnehmung der Umwelt führen. Diese Tiere zeigen weniger Interesse ihr Gebiet zu erweitern, sondern konzentrieren sich auf ihr primäres, der Selbsterhaltung dienendes Ziel der Futtersuche.

4.2.3.3 Angstbezogene Parameter

Einige Parameter sind speziell geeignet, das Angstverhalten der Ratten zu beschreiben. Auch aus Inaktivitätszeit und vielen Explorationsparametern kann man ängstliches und zögerliches Verhalten erkennen, aber die Zeit bis das Board zum ersten Mal betreten wird, bis zum ersten Lochbesuch, die Gruppenkontakte, die Putzzeit und der Kotabsatz beschreiben

ein solches Verhalten spezifischer. Die Latenzzeit bis das Board zum ersten Mal betreten wird und bis das erste Loch besucht wird, stimmen in beiden Gruppen beinahe überein. Kurz nach der OP verzögern sich diese Zeiten, weil die Tiere natürlich etwas geschwächt sind und länger brauchen bis sie sich im Test zurecht finden. Trotzdem sind sie zudem durch die OP irritiert und etwas zögerlicher. Sie brauchen länger, bis sie sich aus der Sicherheit der Ecken und Umrandung auf das Board trauen und dort ein Loch öffnen. Zwischen den Versuchsgruppen gibt es dabei jedoch keinen Unterschied. Weder Normo- noch Hyperventilation wirken sich in Angst-verstärkender oder -vermindernder Weise auf die Tiere aus. Diese Zeitverzögerung schwindet im Rahmen des Gewöhnungseffekts bis Versuchsende immer mehr (s. oben.). Je mehr Tage die Tiere sich nach der OP wieder in den Testablauf einfinden, desto weniger zögerlich oder ängstlich sind sie.

Ein weiteres deutliches Zeichen von Angst zeigt sich durch die Gruppenkontakte. Ängstliche Ratten suchen von Natur aus den Gruppenverband, der Schutz und Sicherheit bietet. Andere Verhaltenstests können zeigen, dass unter angstauslösenden Einflüssen der Sozialkontakt, aber auch der Urin- und Kotabsatz steigt (FILE und HYDE 1978; OHL et al. 2001b). Entsprechend den Latenzzeiten suchen sowohl hyper- als auch normoventilierte Ratten kurz nach der OP ihre „Familienmitglieder“ gleichermaßen häufiger auf als vorher. Dieses Verhalten ändert sich mit der Gewöhnung an den Versuchsablauf und zwei Wochen nach der OP interessieren sich die Tiere beider Versuchsgruppen kaum mehr für ihre „Familie“ im Heimtierabteil. Die Frequenz des Kotabsatzes, die ebenfalls steigen würde, wenn die Tiere verängstigt sind (HALL 1934; FILE und HYDE 1978), verändert sich überhaupt nicht und kommt im Allgemeinen sehr selten vor. Hauptsächlich wird der Kotabsatz am Anfang der Lernphase, wenn die Testsituation noch völlig neu und fremd ist, beobachtet, fällt aber nicht in die Wertung der Versuchsphase. Dies ist ein weiterer Hinweis, dass es den Tieren nach der OP relativ gut geht und dass die Testsituation für die Tiere nicht bedeutend bedrohlicher wirkt als vorher.

Als Hinweis für Erregungs- und Angstzustände wird die Putzzeit gedeutet (OHL et al. 2001a). Die Gründe, warum sich Ratten putzen, sind jedoch vielschichtiger. Ratten putzen sich nämlich auch als Zeichen von Wohlfühlen in sicherer Umgebung (WHISHAW et al. 1997). Im Open-Field-Test werden Putzaktionen unter Stress und angsteinflößenden Bedingungen ebenfalls nicht beobachtet, sondern erst wenn sich die Tiere an den Test zu gewöhnen beginnen, ihre Angst überwinden und im Test aktiver werden (DOYLE und YULE 1959). Die Ergebnisse zeigen, dass normoventilierte Ratten nach der OP tendenziell eher dazu neigen sich zu putzen als hyperventilierte. Wie die Explorationsparameter belegen, sind die Tiere

der NV-Gruppe etwas aktiver und explorativer als die Tiere der HV-Gruppe. Aus diesem Grunde ist es wahrscheinlicher, dass sie sich nicht aus Angst, sondern durch ihre Aufmerksamkeit und Aktivität auch eher sich selbst zuwenden und kurz putzen. Die hyperventilierten Tiere halten sich dagegen eher zurück, wirken an der Umgebung und an sich selbst desinteressiert und wenden sich nur der Testsituation und ihrer Aufgabenbewältigung zu.

4.2.3.4 Das Allgemeinbefinden betreffende Parameter

Nähere Aussagen über das Allgemeinbefinden der Tiere machen im mHB-Test die Inaktivitäts- und Fresszeit der Tiere. Inaktivität tritt bei Tieren unter verschiedensten Situationen auf. Gewöhnlich gehört es zum normalen Orientierungsverhalten von Ratten, oder ist ein Zeichen von Angst (WHISHAW et al. 1997). Längere Inaktivität beruht eher auf Schwäche, neurologisch-motorischer Hemmung oder stärkeren Angstsituationen, d.h. es geht mit einer Reduktion des Wohl- und Allgemeinbefindens einher. Der Zeitanteil eines Durchlaufs, in dem die Ratten sich nicht bewegen, bleibt während des ganzen Versuchs gering. In den meisten inaktiven Phasen versuchen die Ratten sich zu orientieren. Eine Reduktion des Allgemeinbefindens ist nicht zu vermuten. Ebenso weist die Fresszeit auf keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Ratten hin. Je länger die Tiere zum fressen der Futterbelohnung brauchen, desto schlechter geht es ihnen. Einflussfaktoren sind dabei motorische Defizite beim Aufnehmen und Kauen des Puffreises, Schwäche oder Angst, wobei die Tiere dann die Futterbelohnung packen, in die nächste sichere Ecke bringen und dort verspeisen. Es wird eher beobachtet, dass die Ratten völlig ungestört den Puffreis in Sekunden aus dem Loch holen, ins Maul „stopfen“ und bereits auf dem Weg zum nächsten Loch fressen. Kurz nach der OP brauchen alle Tiere tendenziell länger zum Fressen, was auf die sicherlich etwas geschwächte Konstitution nach der OP zurückzuführen ist.

Zur Beurteilung des Allgemeinbefindens ist es unerlässlich, die tägliche Gewichtszunahme bzw. das Körpergewicht der Tiere zu kontrollieren. Dieser Parameter ist völlig objektiv und macht Aussagen, wie die Tiere sich, verglichen mit anderen Tieren in derselben Haltung und Rasse, entwickeln (WHISHAW et al. 1997). Die Futter- oder Wasseraufnahme wird nicht kontrolliert, weil zugunsten der ad libitum Fütterung und stressfreien Gruppenhaltung eine Einzelbestimmung pro Tier nicht möglich ist. Alle Tiere nehmen vor der OP kontinuierlich zu und erreichen etwa dasselbe Ausgangsgewicht von 358 ± 12 g (Normoventilation), bzw. 355 ± 18 g (Hyperventilation). Eine Operation ist immer ein Eingriff, währenddessen die Tiere vom Fressen und Trinken abgehalten werden. Noch dazu dauert die OP mit Vorbereitungszeit sehr lange und bis die Tiere aufgewacht sind, wieder in ihrem Käfig und zum

Fressen fähig sind, vergeht etwa ein Tag. Sie erhalten für diese Unterbrechung ein subkutanes Flüssigkeitsdepot, um den Flüssigkeitsverlust auszugleichen, trotzdem fehlen ihnen Nährstoffe. Auf Grund dieser Tatsache ist es nicht verwunderlich, dass alle Ratten nach dem Trauma zunächst abnehmen. Durch die Schwächung der Tiere nach der OP ist die Futter- und Wasseraufnahme sicherlich noch am ersten Tag reduziert, aber schon am 3., bzw. 4. Tag nehmen die Tiere wieder konstant zu.

Die OP wirkt sich mit Sicherheit negativ auf das Allgemeinbefinden der Versuchstiere aus, alles in allem bleibt diese Reduktion jedoch geringfügig und auf wenige Tage nach dem Trauma beschränkt. Ein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen ist hier nicht zu belegen.

4.2.4 Neurologisch-motorische Parameter

4.2.4.1 Einzelscore

Bewusstsein, Pflegeverhalten und Laufvermögen werden durch rein subjektive Beobachtung beurteilt. Aktives Testen (COMBS und D'ALECY 1987) oder automatisierte Messungen (KOLB und WHISHAW 1985) sind zwar objektiv aussagekräftiger, aber Feinheiten und ein Gesamteindruck des Tieres sind nur mit bloßem Auge umfassend zu beurteilen. Dem kommt entgegen, dass der Untersucher während der Tests und bei der Pflege lange Zeit pro Tag mit den Tieren verbringt, Kontakt aufnimmt, ihre Verhaltensweisen individuell kennen lernt und dadurch Veränderungen sofort registriert. Speziell diese drei Kategorien setzen den Schwerpunkt auf das Allgemeinbefinden, das der Untersucher jeden Tag erneut zu beurteilen hat. Ein quantitativer Vergleich motorischer Defizite ist hierbei nicht möglich, dafür werden aber die weiteren NM-Tests durchgeführt. In den genannten Kategorien kann keine bedeutende Beeinträchtigungen festgestellt werden. Nach der OP sind die Ratten bereits am nächsten Tag vollständig bei Bewusstsein, keine Ratte ist unansprechbar oder lethargisch und Pflegeverhalten war stets zu beobachten, bzw. nur bei einer hyperventilierten Ratte am Tag 1 und 3 reduziert. Auch das Laufen fällt allen Ratten nach der OP nicht schwer. Obwohl in den anderen Kategorien motorische Defizite auftreten, schränkten diese das Laufen auf dem Boden und im mHB-Test nicht ein. Nur zwei hyperventilierte Tiere zeigen an einem Tag Kreisbewegungen. Fasst man die Ergebnisse der drei Tests jedoch zusammen, kann man tendenziell erkennen, dass die Versuchsgruppe mit Hyperventilation stärker betroffen ist als mit Normoventilation. Wenn Defizite auftreten, betreffen diese hauptsächlich die hyperventilierten Tiere. Dieser wenig gravierende Unterschied ist ein Zeichen dafür, dass Verhaltensweisen geprüft werden, die durch das Trauma nicht besonders gestört sind. Bewusstsein und

Pflegeverhalten werden von anderen Hirnbereichen vermittelt, als hier direkt geschädigt werden und sind auch ansonsten nur bei starker Reduktion des Allgemeinbefindens merklich gestört. Ebenso ist der normale Laufvorgang kaum beeinträchtigt, wobei exakte Fußfolge und Reflexe hier nicht miteinbezogen werden. Die Kreisbewegung (s. S. 110, Kategorie Laufvermögen) der beiden Tiere der HV-Gruppe erfolgt ipsilateral zur geschädigten Hemisphäre und repräsentiert den zentralen Schaden. Vermutlich erleiden die Tiere einen kontralateralen Sensibilitätsverlust, dem zufolge sie sich der intakten Seite zuwenden, um ihr Umfeld möglichst gut zu erforschen, wie KOLB und WHISHAW 1985 schon bei hemidekortizierten Ratten nachwiesen.

Das Kletterverhalten wird als Einzelscore bewertet. Alle Tiere bewältigen diesen Test auch nach dem Trauma ohne besondere Probleme. In Zusammenarbeit von Greif- und Zugvermögen der Vordergliedmaße und Stütz- und Schubkraft der Hintergliedmaße gelingt es allen Tieren, jederzeit auf die horizontale Plattform zu gelangen. Daraus kann man wie bei oben angesprochenen Kategorien sehen, wie relativ gering der Einfluss des Traumas auf das Zusammenspiel der motorischen Funktionen, die Muskelkraft vor allem in der Vordergliedmaße und das Allgemeinbefinden der Ratten ist. Andererseits ist zu überdenken, ob sich der Test für den Vergleich von Versuchsgruppen in diesem SHT-Modell eignet und bei weiteren Studien durchgeführt werden sollte.

Auch der Drahtgitter-Test wird als Einzelscore für Motorik, Muskelkraft insbesondere der Vordergliedmaße und Gleichgewichtssinn beurteilt. Nach anfänglicher Lernphase vor der OP halten sich die Tiere der HV-Gruppe über einen längeren Zeitraum signifikant besser als die Tiere der NV-Gruppe. In Kraft und motorischer Koordination vor allem der Vordergliedmaße scheinen die hyperventilierten Tiere den normoventilierten nach der OP überlegen zu sein. Sogar bis zum Ende des Versuchs halten sie sich tendenziell besser. Dieses Ergebnis muss jedoch in seiner Aussagekraft überdacht werden. Die Tiere erlernen zwar anfangs den Test und halten sich immer besser, wie am sinkenden Score vor der OP zu erkennen ist, aber kurz darauf erlernen die Tiere darüber hinaus, dass ihnen nichts Unangenehmes passiert, wenn sie sich vom Drahtgitter auf die weiche Bodenmatte fallen lassen. Manche Tiere springen sogar kurz nach dem Umdrehen des Gitters in die 180 ° Position regelrecht auf die Matte ab. Bei diesen Tieren hat man nicht den Eindruck, dass ihr Verhalten auf Grund mangelnder Kraft oder geschädigtem Gleichgewichtssinnes geschieht, sondern absolut willentlich, mit zielgerichteter Landung auf den Füßen und sofortiger Absicht die Umgebung zu erkunden. Viel eher hat man bei Ratten, die sich besonders lang halten, den Eindruck, dass diese sich völlig auf das, was sie gerade tun fixieren und nichts anderes wahrnehmen.

Aus den anderen Tests und dem Allgemeinzustand der Tiere kann geschlossen werden, dass den Tieren, die schnell loslassen, weder Muskelkraft, motorisches Geschick noch Gleichgewicht fehlt, um sich fünf Sekunden zu halten. Auf die Aussagekraft des Testes übertragen, würde das evtl. sogar bedeuten, dass einige normoventilierte Tiere mehr gelernt haben als hyperventilierte Tiere. Auf alle Fälle ist das Ergebnis nicht zweifelsfrei zu betrachten und für die Zukunft zu überlegen, ob der Test sinnvoll ist.

4.2.4.2 Absolutwerte

Ähnlich dem Drahtgitter-Test muss der Greif-Zug-Test, der Gleichgewichtsvermögen, Motorik und Muskelkraft der Vordergliedmaße überprüft, überdacht werden. Die Verlaufskurve verhält sich hier umgekehrt zum Drahtgitter-Test, wobei höhere Werte einer besseren Leistung entsprechen und im Drahtgitter-Test die niedrigeren Werte günstiger sind. Somit verhalten sich beide Kurven gegenläufig, aber gemessen an der Leistung ähnlich. Zuerst erlernen die Tiere den Test, d.h. die Haltezeit steigt. Nach der OP sinkt diese Halteleistung bei allen Tieren ab. Dies geschieht, weil der Test im Vergleich zu den anderen NM-Tests physisch sehr anstrengend ist und eine gewisse Schwächung auf Grund der OP mit Sicherheit erfolgt ist. Gerade während dieser Zeit, wenn sie häufiger vorzeitig das Seil loslassen müssen, erlernen die Ratten, dass ihnen beim Loslassen nichts passiert. Im Folgenden kann man wiederum ähnliche Beobachtungen wie im Drahtgitter-Test (s.o.) machen. Das Ergebnis gibt keine Hinweise auf einen Unterschied zwischen den Versuchsgruppen und bleibt wenig aussagekräftig. Eine Verbesserung des Tests könnte vielleicht eine Höhenveränderung des Seils um etwa 20 cm bringen. Durch diese Änderung passiert den Ratten beim Landen natürlich genausowenig, weil die weiche Unterlage gut abpolstert, aber die Hemmschwelle loszulassen wird eventuell gesteigert. Außerdem könnte dieser Test gerade bei einseitigen Defiziten noch vielseitiger bewertet werden (Greiffähigkeit mit den Vorder- und Hintergliedmaßen, Klettern auf das Seil, Verhalten nach Loslassen auf dem Boden) und würde dadurch aussagekräftiger.

In Absolutwerten wird zudem der Balken-Gleichgewichts- und der Balken-Geh-Test gemessen. Beide Tests werden in der aktuellen Forschung wegen ihrer einfachen Durchführung und guten Aussagekraft häufig verwendet und beschrieben. Der Balken-Gleichgewichts-Test ist viel sensibler für die Bewertung des Gleichgewichtsvermögens als der Drahtgitter- oder Greif-Zug-Test. Außerdem ist keine Drehvorrichtung nötig, wie bei der Überprüfung des Gleichgewichts am rotierenden Stab. Die vier Trainingseinheiten vor der OP reichen aus, dass fast alle Tiere fehlerfrei über Minuten auf dem schmalen Balken balancieren können.

Nach dem Trauma verschlechtern sich die Leistungen aller Tiere. Zum einen fehlt ihnen die Kraft, sich nach einer solchen OP auf dem schmalen Balken halten zu können, zum anderen sind Gleichgewichtsstörungen nach einem SHT nicht ungewöhnlich. Der Versuchsgruppenvergleich zeigt hier einen deutlichen Unterschied. Die Tiere der HV-Gruppe haben am Tag nach der OP signifikant stärkere Probleme zu balancieren als die Tiere der NV-Gruppe. Weiterhin bleiben sie zwei Tage länger in ihrer Leistung eingeschränkt, während sich die normoventilierten Ratten am Tag 2 fast vollständig regenerieren. Dieses Ergebnis ist sehr eindrucksvoll, es wurde durch keinen Fremdeinfluss verfälscht und mit präzisen Absolutwerten belegt. Im weiteren Verlauf kompensieren alle Tiere den Schaden so gut, dass sie sich wie vor der OP ohne Probleme auf dem Balken halten. Oftmals kann man nach einer Woche sowohl normoventilierte als auch hyperventilierte Tiere beim Gehen, Putzen oder sogar Männchen machen beobachten.

Von Vorteil ist zusätzlich, dass an derselben Balkeninstallation der Balken-Geh-Test sehr einfach durch Auswechseln des Stabes zu kombinieren ist. Die Tiere erlernen diesen Test vor der OP nahezu fehlerfrei zu absolvieren. Fehltritte werden in dieser Zeit völlig willkürlich mit der linken oder rechten Hintergliedmaße gemacht. Nach dem Trauma wird die Anzahl der Fehltritte jedoch von den Fehlern der linken Hintergliedmaße repräsentiert. Die Tiere der HV-Gruppe zeigen auch hier eine weitaus schlechtere Leistung als die Tiere der NV-Gruppe. Sie machen mehr als doppelt so viele Fehler als die normoventilierten Tiere und brauchen zwei mal so lang, um wieder korrekt auf dem Balken laufen zu können. Vornehmlich hyperventilierte Tiere können an den ersten zwei Tagen überhaupt nicht auf dem Balken laufen und werden mit einer Maximalanzahl von Fehlritten bewertet. Manche können sich noch nicht einmal am Balken festhalten und fallen herunter. Schwierig ist es, geschwächte und geschädigte Tiere nach der OP zum Laufen zu motivieren. Besonders die Tiere, die vom Balken gefallen sind, entwickeln an den folgenden Tagen Angst vor dem Laufen. In der ursprünglichen Testbeschreibung nach FEENEY et al. (1982) wird auch die Zeit zur Überwindung der Strecke gemessen. Dieser Parameter wird nicht berücksichtigt, weil der Testaufbau dadurch verkompliziert würde und die Tiere vor der Versuchsphase den Test erst länger erlernen müssten. Die Tiere werden ausreichend lange zum Laufen animiert, um zu unterscheiden, ob sie nicht laufen können oder wollen.

4.2.4.3 Gesamtscore

Der neurologisch-motorische Gesamtscore gibt einen abschließenden zusammenfassenden Überblick über die neurologisch-motorischen Fähigkeiten und das Allgemeinbefinden der

Ratten. In der Zeit vor der OP erlernen alle Tiere die Tests und erreichen einen niedrigen Score. Das Trauma bewirkt bei allen Tieren erwartungsgemäß eine Verschlechterung der neurologisch-motorischen Funktion. Trotz Zusammenfassung aller Kategorien und Einbeziehung von besseren und schlechteren Leistungen, werden die hyperventilierten Tiere stärker und länger geschädigt als die normoventilierten.

Dieses Ergebnis wird vor allem geprägt von den signifikanten Ergebnissen des Balken-Gleichgewichts- und Balken-Geh-Tests. Im Gegensatz zu FORBES et al. (1998) kann in den eigenen Untersuchungen des Balken-Gleichgewichts-Tests sogar ein signifikanter Unterschied zwischen hyperventilierten und normoventilierten Ratten aufgezeigt werden. Auch der Balken-Geh-Test bestärkt diese Aussage. Für ein unilaterales SHT-Modell eignet sich dieser ausgezeichnet zur Detektion motorischer Defizite und zeigt sich sensibel für die kontralateralen Ausfälle, die auf der Schädigung von sensorisch-motorischen Hirnrindengebieten beruht, die wiederum bei SHT-Patienten zur Hemiparese führen. Eine genauere Untersuchung dieser einseitigen Defizite wäre bei weiteren Studien mit diesem SHT-Modell in Zukunft sinnvoll. SOBLOSKY et al. (1996) schlagen dazu auch Untersuchungen speziell der Vordergliedmaße vor und KOLB und WHISHAW (1985) mehrere einfache Testmöglichkeiten des Drehverhaltens. In diesen Bereichen werden zwar Defizite bei vielen Ratten beobachtet, aber in der vorliegenden Studie nicht eingehender dokumentiert. Da die Ergebnisse des Balken-Gleichgewichts- und des Balken-Geh-Tests mit der Traumastärke korrelieren, weisen die schlechteren Ergebnisse der hyperventilierten Tiere auf eine größere Hirnschädigung hin.

Der kritische Zeitraum, in dem sich die neurologisch-motorischen Leistungen aller Tiere verschlechtern, umfasst im Gesamtscore etwa vier Tage. Die HV-Gruppe benötigt im Balken-Geh-Test sogar neun Tage bis kaum mehr Fehlritte zu beobachten sind. Verhaltens-tests, die für dieses SHT-Modell angesetzt werden, sollten auf jeden Fall über eine Woche beobachtet werden. Danach bis Versuchsende absolvieren fast alle Ratten die Tests wieder so gut wie vor der OP. Diese Verbesserung ist vermutlich auf die Resorption des Gehirnödems während der ersten Woche (KOCHANNEK et al. 1995), und auf die gute Kompensationsfähigkeit von Ratten innerhalb weniger Tage zurückzuführen (GENTILE et al. 1978). Dementsprechend vermuten SOBLOSKY et al. (1996) ebenso, dass gesunde Hirnareale die Funktionen der geschädigten Bereiche übernehmen und ausgleichen.

4.2.5 Histologische Parameter

Das Ergebnis der histologischen Auswertung zeigt, dass die Tiere der HV-Gruppe durchweg mit Einsatz der Hyperventilation nach dem SHT einen signifikant größeren Zellschaden erleiden als die Tiere der NV-Gruppe. Dieser Zellschaden bleibt auf die geschädigte Hemisphäre im parietal-temporalen Anteil der Hirnrinde beschränkt und der Gliazellrasen, der den Schaden umrandet, reicht teilweise bis zum Hippokampus hinab. Da die Herstellung und Auswertung des histologischen Materials äußerst sorgfältig und mit größtmöglicher Qualität erfolgt, sind technische oder Untersucher-bedingte Beeinflussung sehr unwahrscheinlich. Die konstante, geringe Standardabweichung der histologischen Ergebnisse lässt auf ein gut standardisiertes Tiermodell schließen, in dem der Operationsverlauf und die Verarbeitung der Gefrierschnitte hohe Reproduzierbarkeit des Schadens bieten können.

Vergleicht man die histologisch signifikanten Unterschiede mit den Verhaltenstests, stellt man eine klare Übereinstimmung mit verschiedenen Ausfallserscheinungen fest. Der größere Zellschaden der HV-Gruppe zeigt sich klinisch deutlich in verstärkten neurologisch-motorischen Defiziten. Unter den geschädigten Arealen befinden sich insbesondere sensorische und motorische Rindenbezirke. Die motorischen Ausfälle, die vor allem kontralateral zur Traumaseite auftreten und bei der HV-Gruppe im Balken-Geh-Test signifikant ausgeprägter sind, stimmen mit diesen Befunden überein. Tiefergreifende Zellschäden reichen bis zum Hippokampus hinab. Darauf kann auch das signifikant schlechtere Ergebnis im deklarativen Gedächtnisse zurückzuführen sein.

Insgesamt ist festzustellen, dass das histologische Ergebnis die klinischen Veränderungen erklären kann, was bisher im *CCI*-Modell unter der Fragestellung der Hyperventilation nicht gelungen ist (FORBES et al. 1998).

Table 39: Zusammenfassende Darstellung aller Parameter und deren Ergebnisse im Vergleich zwischen den Versuchsgruppen Normoventilation und Hyperventilation (Tendenz=□, Signifikanz=■, besseres Ergebnis=+, schlechteres Ergebnis=-)

Versuchsgruppe	Ergebnis	Normo- ventilation	Hyper- ventilation
Parameter:			
GEDÄCHTNIS: Deklaratives Gedächtnis Arbeitsgedächtnis	■	+	-
EXPLORATION/MOTIVATION: Gesamtzeit Zeit auf dem Board Betreten des Boards Anzahl aller besuchten Löcher Zeit auf dem Board pro besuchtes Loch Männchen machen	□ ■ ■	- - -	+ + +
ANGST: Zeit bis zum ersten Betreten des Boards Zeit bis zum ersten Lochbesuch Gruppenkontakte Kotabsatz Putzzeit	 □	 -	 +
ALLGEMEINBEFINDEN: Inaktivität Fresszeit Körpergewicht			
NEUROLOGISCH-MOTORISCH: Bewusstsein, Pflegeverhalten, Laufen Kletterverhalten Drahtgitter Greif-Zug Balken-Gleichgewicht Balken-Gehen Gesamtscore	□ ■ □ ■ ■ ■	+ - - + + +	- + + - - -
HISTOLOGIE: Läsionsvolumen	■	+	-

4.3 Abschlussbetrachtung

In dieser Studie zur Evaluierung des *Controlled Cortical Impact*-Modells an der Ratte gelingt es, einen standardisierbaren- und reproduzierbaren Gehirnschaden zu erzeugen. Obwohl diese Studie zunächst nur als Orientierung für zukünftige Projekte durchgeführt wird, können bereits mit wenigen Tieren deutliche Aussagen zu der Problematik der Hyperventilation beim SHT erhoben werden. Wie die konstanten physiologischen Parameter zeigen, ist die OP sicher und komplikationslos zu kontrollieren.

In Tabelle 39 werden die erhobenen Parameter und die Bewertung ihrer Ergebnisse zusammenfassend dargestellt. Es zeigt sich, dass sich der modifizierte Hole-Board-Test nach OHL in diesem Modell hervorragend eignet, breitgefächerte Aussagen über die neurokognitiven Funktionen zu machen. Nach der OP ist der Einfluss des Traumas besonders bei den emotionalen Parametern wie Exploration, Motivation und Angst in einer Veränderung der Ausgangswerte zu erkennen. Zugleich ist der mHB-Test sensitiv genug, auch Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen aufzuzeigen. Hyperventilation verursacht kurzzeitig signifikante Defizite im deklarativen Gedächtnis und deutet damit eine Ausweitung über das primäre Läsionsareal des Schadens in tieferliegende Regionen des Gehirns (Hippokampus) an. Eine Beeinträchtigung des präfrontalen Kortex mit Defiziten im Arbeitsgedächtnis lassen sich nicht bestätigen. Des Weiteren verwenden normoventilierte Tiere Tage nach der OP mehr Zeit für exploratives Interesse und zeigen sich aktiver im Ausnutzen ihrer Aktionsmöglichkeiten (Betreten des Boards, Putzen) als die hyperventilierten Tiere. Diese brauchen dagegen deutlich kürzer um ein Loch aufzusuchen, scheinen dabei aber eher gedämpft und nur auf ihr Ziel konzentriert zu sein. Nach ca. einer Woche kann man fast bei allen Explorations- und Angstparametern einen Gewöhnungseffekt erkennen und alle Leistungen der beiden Versuchsgruppen gleichen sich wieder aneinander an. Nach der OP zeigen alle Ratten kurzfristig ein reduziertes Allgemeinbefinden (Körpergewichtsabnahme, verlängerte Test- und Futterzeiten) auf Grund der Schwächung durch das Trauma. Die Reduzierung ist jedoch nur gering und differiert unwesentlich zwischen den Versuchsgruppen, wie sich auch aus den neurologisch-motorischen Tests ergibt. Ebenso wie der mHB-Test werden sie nach der OP bewältigt und sind in diesem Modell durchführbar. Auf Grund des umstrittenen, abweichenden Verhaltens der Tiere beim Drahtgitter- und Greif-Zug-Test sind diese Tests nur bedingt aussagekräftig und in bisheriger Durchführung nicht weiter zu empfehlen. Als aussagekräftigste Tests erweisen sich Balken-Gleichgewichts- und Balken-Geh-Test. Daraus und aus dem neurologischen Gesamtscore ist ersichtlich, dass Hyperventilation einen deutlich negativen Einfluss auf die neurologisch-motorischen Leistungen der Ratten nach dem SHT

hat. An den Bereich des primären Traumas angelehnt, zeigen sich Defizite, die auf die Schädigung des sensorisch-motorischen Kortex beruhen. Aber auch das Gleichgewichtsvermögen der hyperventilierten Tiere scheint stärker beeinträchtigt zu werden als das der Normoventilierten. Evtl. ist eine Ausdehnung des Schadens in noch entferntere Bereiche wie das Kleinhirn zu vermuten. Die Ergebnisse der Verhaltenstests können mit der histologischen Auswertung untermauert werden. Das Läsionsvolumen der hyperventilierten Ratten ist fast doppelt so groß wie bei den Normoventilierten und der Schadensumfang reicht bis in tiefere Regionen hinab, die für die Bildung des deklarativen Gedächtnisses ausschlaggebend sind.

Mit diesen Ergebnissen wird nachgewiesen, dass moderate Hyperventilation in den ersten Stunden nach einem *CCI* ohne Berücksichtigung des Hirndrucks, negative Auswirkungen auf neurologische Funktionen und das Läsionsvolumen bei Ratten hat. Mögliche Ursachen für eine Ausweitung des primären Schadens lassen sich in erster Linie in einer übermäßigen, reflektorischen Vasokonstriktion vermuten, die zur Veränderung des Blutflusses und damit zur Minderperfusion oder Ischämie führt. Auch an mangelhafte Sauerstoffversorgung des Gehirns im Rahmen des BOHR-Effektes ist zu denken. Ein anderer Grund könnte in einem starken Verlust von Pufferbasen mit anschließenden unbeständigen pH-Wert-Schwankungen liegen, die zu erneuten Hirndruckkrisen führen. Ob die Hyperventilations-induzierte Alkalose Vor- oder Nachteile gegenüber dem protektiven Einfluss einer leichten Azidose auf die NMDA-Rezeptoren hat, ist dagegen eher fraglich. Die motorischen Ausfälle der hyperventilierten Tiere, die stärker und länger andauern, könnten auch in Verbindung mit einem ausgedehnteren Hirnödem stehen. Aus diesem Verhalten ließe sich folglich ableiten, dass das Hirngewebe durch ein vasogenes oder zytotoxisches Hirnödem vermehrt belastet wird als bei den normoventilierten Tieren.

In lebensbedrohlichen Hirndruckkrisen, die mit anderen therapeutischen Maßnahmen nicht gegenreguliert werden können, ist die Hyperventilation sicherlich immer noch ein wichtiges therapeutisches Hilfsmittel. Durch die Vielzahl der neueren Erkenntnisse in den letzten Jahren der Forschung und auch durch den erneuten Hinweis des negativen Einflusses in vorliegender Studie, ist Hyperventilation gerade in den ersten Stunden nach einem SHT, ohne Hirndruckkontrolle und auch in moderaten Bereichen nicht bedenkenlos einzusetzen. Die Leitlinien zur Primärversorgung von Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma, die 1997 von JANTZEN und PIEK herausgegeben wurden, empfehlen auch in diesem Sinne eine „prophylaktische“ Hyperventilation zu vermeiden.

5 ZUSAMMENFASSUNG**Der Einfluss von Hyperventilation auf die kognitiven Leistungen, die motorischen Fähigkeiten und das Läsionsvolumen nach einem kontrollierten zerebralen Trauma bei der Ratte**

Einleitung: Im Rahmen dieser Studie wurde der Einfluss kurzfristiger, moderater Hyperventilation auf neurokognitive Funktionen, motorische Fähigkeiten und histologischen Schaden an Ratten nach kontrolliertem zerebralen Trauma untersucht. Zusätzlich wurde dabei das Modell des *Controlled Cortical Impact (CCI)* etabliert und in Kombination dazu verschiedene Verhaltenstest in ihrer Aussagekraft evaluiert.

Methode: 21 männliche Sprague-Dawley Ratten (369 ± 15 g) wurden 14 Tage im modifizierten Hole-Board Test (mHB-Test) und 3 Tage in weiteren Verhaltenstests trainiert (z.B. *Beam Walking*, *Beam Balance*, Neurologischer Score). Nach Erfüllung bestimmter Ausgangskriterien im mHB-Test wurden die Ratten mit 1,0-1,5 Vol% Halothan in O_2/N_2O ($FiO_2=0,33$) anästhesiert, intubiert und mechanisch beatmet. Nach einer Kraniotomie wurde das kontrollierte zerebrale Trauma mit einem Luftdruck-betriebenen Schussapparat induziert (\varnothing 5 mm, 1,75 mm Eindringtiefe, 200 ms, 4 m/s). Die Tiere wurden in zwei Versuchsgruppen für die vierstündige Beatmung unter Halothan (0,8-1,0 Vol%) nach dem Trauma randomisiert: Gruppe 1=Normoventilation ($n=10$; $PaCO_2=38-42$ mmHg); Gruppe 2=Hyperventilation ($n=11$; $PaCO_2=28-32$ mmHg). Während der gesamten Operation wurden Hirntemperatur und mittlerer arterieller Blutdruck im physiologischen Bereich gehalten. Zusätzlich wurden Atem- und Herzfrequenz, arterieller Sauerstoff-Partialdruck, pH-Wert, Blutglukose und Hämoglobin gemessen. Nach dem Eingriff wurden alle Verhaltenstests bis zur Euthanasie am 20. Tag weitergeführt. Dazu erfolgte die Gehirnentnahme nach Dekapitation in tiefer Narkose. Aus den tiefgefrorenen Gehirnen wurden 10 μ m dicke Schnitte zur Bestimmung des Läsionsvolumens hergestellt und mit Kresylviolett gefärbt. Die Ergebnisse werden tabellarisch in Mittelwerten \pm Standardabweichung und graphisch in Mittelwerten \pm Standardfehler angegeben (Statistik: ANOVA und post hoc T-Test).

Ergebnisse: Nach dem Trauma entwickelten hyperventilierte Ratten signifikante Defizite im deklarativen Gedächtnis (mHB-Test), die am deutlichsten am Tag 1 und 2 zu Veränderungen führten. Dementsprechend zeigten sich signifikante Unterschiede im neurologischen Score, der besonders am Tag 1 bis 3 im Vergleich zu den normoventilierten Tieren, die nur am Tag 1 Veränderungen zeigten, verschlechtert war. Am sensitivsten unter den neurologisch-motorischen Tests stellten sich der *Beam Walking* und der *Beam Balance* mit Defiziten in beiden Gruppen nach CCI, wobei die hyperventilierten Tiere signifikant schlechtere Leistungen zeigten. Alle Defizite blieben nur vorübergehend bestehen und 6 Tage nach dem Trauma erreichten die Tiere wieder Ausgangsleistungen. Alle Ratten wurden durch das Trauma nur wenig im Allgemeinbefinden reduziert, wie Körpergewichtsmessung, Fress- und Inaktivitätszeit (mHB-Test) und die einzelnen motorischen Verhaltenstests zeigten. Explorationsparameter des mHB-Tests ergaben, dass normoventilierte Ratten nach der OP aktiver und explorativ interessierter waren als Hyperventilierte. Am 20. Tag nach dem Trauma war das Läsionsvolumen signifikant größer in der hyperventilierten ($69,7 \pm 13,0$ mm³) im Vergleich zur normoventilierten ($48,3 \pm 15,6$ mm³) Versuchsgruppe.

Diskussion: In vorliegender Studie wurde ein CCI-Modell evaluiert, das einen standardisierten und reproduzierbaren Gehirnschaden induziert. Hyperventilation in den ersten vier Stunden nach einem CCI beeinflusst vorübergehend sowohl das Hippokampus-abhängige deklarative Gedächtnis als auch neurokognitive und motorische Funktionen, der histologische Schaden vergrößert sich langandauernd. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Hyperventilation ohne Hirndruckkontrolle die primäre Läsion verschlechtern kann und nur mit Vorsicht nach einem akutem Schädel-Hirn-Trauma einzusetzen ist.

6 SUMMARY

The Effect of Hyperventilation on Cognitive Performance, Motor Functions and Lesion Volume after Controlled Cortical Impact in the Rat

Introduction: We investigated the effects of short-term moderate hyperventilation on neurocognitive and motor functions as well as lesion volume in rats subjected to focal traumatic brain injury. Thereby the model of *controlled cortical impact (CCI)* was established associated with the evaluation of a battery of behavioral tests.

Method: 21 male Sprague-Dawley rats (369±15 g) were trained to achieve the *modified Hole-Board Test (mHB-Test)* for a period of 14 days and some more behavioral tests (*Beam Walking, Beam Balance*, neurologic score) for 3 days. After completion of specific baseline parameters of the *mHB-Test* rats were anesthetized with 1.0-1.5 Vol% halothane in O₂/N₂O (FiO₂=0,33), intubated and mechanically ventilated for surgical preparation. After craniotomy *CCI* was induced using a pneumatic pistol (Ø 5 mm, 1,75 mm depth, 200 ms, 4 m/s). Animals were then randomly assigned to one of two groups for four hours post-traumatic ventilation with Halothan (0,8-1,0 Vol%): group 1=normoventilation (n=10; PaCO₂=38-42 mmHg); group 2=hyperventilation (n=11; PaCO₂=28-32 mmHg). During the entire study, brain temperature and mean arterial blood pressure were kept at normal physiological levels. Additionally breathing and heart rate, PaO₂, pH, glucose and heamoglobin were measured. Upon recovery all behavioral tests were continued to euthanasia on the 20th day. During deep anesthesia rats were decapitated and their brains were sampled, frozen and then cut in 10 µm thick sections to evaluate lesion volume after cresyl violet staining. Results are tabular shown Mean±SD and graphical Mean±SEM (statistic: ANOVA and post hoc t-test).

Results: Hyperventilated rats developed a significant deficit in declarative memory (*mHB-Test*), with variances especially on days 1-2 after trauma associated with a decreased neurological score on days 1-3 compared to normoventilated animals which had a decrease only on day 1. For motor impairments after *CCI* the *Beam Walking* and *Beam Balance* were most sensitive with deficits in both groups and a significant disability of hyperventilated rats. All impairments were just transient after the traumatic brain injury and adjusted to baseline parameters on day 6. Bodyweight measurements, time of food intake or inactivity (*mHB-Test*) and all several motoric parameters show a marginal reduction of constitution in the rats after *CCI*. Exploration parameters of *mHB-Test* demonstrate that normoventilated rats are more active and explorativ following the *CCI* in comparison to hyperventilated rats. On day 20 after injury, lesion volume was significant larger in the hyperventilated group (69,7±13,0 mm³) versus the normoventilated group (48,3±15,6 mm³).

Discussion: We evaluated a model of *CCI*, that is inducing a standardized and reproducible traumatic brain injury. Four hours of post-traumatic hyperventilation transiently impairs hippocampus-dependent declarative memory as well as neurocognitive and motor functions. Hyperventilation also enhances long-term histological damage. These data suggest, that hyperventilation without controlling intracranial pressure is able to deteriorate primary lesion and should be used with caution after acute head trauma.

7 LITERATURVERZEICHNIS**Amaral DG und Witter MP (1989)**

The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data
Neuroscience 31; S. 571-591

Archer J (1973)

Tests for emotionality in rats and mice: a review
Anim Behav 21; S. 205-235

Astrup J, Siesjo BK und Symon L (1981)

Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra
Stroke 12; S. 723-725

Atkinson RC und Shiffrin RM (1971)

The control of short-term memory
Sci Am 225; S. 82-90

Auer RN, Jensen ML und Wishaw IQ (1989)

Neurobehavioral deficit due to ischemic brain damage limited to half of the CA1 sector of the hippocampus
J Neurosci 9; S. 1641-1647

Baddeley A (1996)

The fractionation of working memory
Proc Natl Acad Sci U S A 93; S. 13468-13472

Baddeley A (2003)

Working memory and language: an overview
J Commun Disord 36; S. 189-208

Baddeley A, Bueno O, Cahill L, Fuster JM, Izquierdo I, McGaugh JL, Morris RG, Nadel L, Routtenberg A, Xavier G und Da Cunha C (2000)

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

Baddeley AD und Hitch GJ (1974)

Working memory
In: Bower G A (Hrsg.), The psychology of learning and motivation, Academic Press
New York, S. 47-89

Baskaya MK, Rao AM, Dogan A, Donaldson D und Dempsey RJ (1997)

The biphasic opening of the blood-brain barrier in the cortex and hippocampus after traumatic brain injury in rats
Neurosci Lett 226; S. 33-36

Becker JB, Snyder PJ, Miller MM, Westgate SA und Jenuwine MJ (1987)

The influence of estrous cycle and intraatrial estradiol on sensorimotor performance in the female rat
Pharmacol Biochem Behav 27; S. 53-59

Beninger RJ, Cooper TA und Mazurski EJ (1985)

Automating the measurement of locomotor activity
Neurobehav Toxicol Teratol 7; S. 79-85

Bliss TV und Collingridge GL (1993)

A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus
Nature 361; S. 31-39

Boissier JR und Simon P (1962)

La réaction d'exploration chez la souris
Thérapie 17; S. 1225-1232

Boissier J-R, Tardy J und Diverres J-C (1960)

Une nouvelle méthode simple pour explorer l'action "tranquillisante": le test de la cheminée
Med exp 3; S. 81-84

Bouma GJ, Muizelaar JP, Choi SC, Newlon PG und Young HF (1991)

Cerebral circulation and metabolism after severe traumatic brain injury: the elusive role of ischemia
J Neurosurg 75; S. 685-693

Bouma GJ, Muizelaar JP, Stringer WA, Choi SC, Fatouros P und Young HF (1992a)

Ultra-early evaluation of regional cerebral blood flow in severely head-injured patients using xenon-enhanced computerized tomography
J Neurosurg 77; S. 360-368

Broadhurst PL (1957)

Determinants of emotionality in the rat. I. Situational factors
Br J Psychol 48; S. 1-12

Brooks DN (1972)

Memory and head injury
J Nerv Ment Dis 155; S. 350-355

Bryan RM, Jr., Cherian L und Robertson C (1995)

Regional cerebral blood flow after controlled cortical impact injury in rats
Anesth Analg 80; S. 687-695

Bullock MR, Lyeth BG und Muizelaar JP (1999)

Current status of neuroprotection trials for traumatic brain injury: lessons from animal models and clinical studies
Neurosurgery 45; S. 207-220

Cave CB und Squire LR (1992)

Intact verbal and nonverbal short-term memory following damage to the human hippocampus
Hippocampus 2; S. 151-163

Chen S, Pickard JD und Harris NG (2003)

Time course of cellular pathology after controlled cortical impact injury
Exp Neurol 182; S. 87-102

Cherian L, Chacko G, Goodman C und Robertson CS (2003)

Neuroprotective effects of L-arginine administration after cortical impact injury in rats: dose response and time window

J Pharmacol Exp Ther 304; S. 617-623

Cherian L, Goodman JC und Robertson CS (1997)

Hyperglycemia increases brain injury caused by secondary ischemia after cortical impact injury in rats

Crit Care Med 25; S. 1378-1383

Cherian L, Robertson CS und Goodman JC (1996)

Secondary insults increase injury after controlled cortical impact in rats

J Neurotrauma 13; S. 371-383

Clark RS, Kochanek PM, Dixon CE, Chen M, Marion DW, Heineman S, DeKosky ST und Graham SH (1997)

Early neuropathologic effects of mild or moderate hypoxemia after controlled cortical impact injury in rats

J Neurotrauma 14; S. 179-189

Clark RS, Kochanek PM, Marion DW, Schiding JK, White M, Palmer AM und DeKosky ST (1996)

Mild posttraumatic hypothermia reduces mortality after severe controlled cortical impact in rats

J Cereb Blood Flow Metab 16; S. 253-261

Cold GE (1989)

Does acute hyperventilation provoke cerebral oligoemia in comatose patients after acute head injury?

Acta Neurochir (Wien) 96; S. 100-106

Coles JP, Minhas PS, Fryer TD, Smielewski P, Aigbirihio F, Donovan T, Downey SP, Williams G, Chatfield D, Matthews JC, Gupta AK, Carpenter TA, Clark JC, Pickard JD und Menon DK (2002)

Effect of hyperventilation on cerebral blood flow in traumatic head injury: clinical relevance and monitoring correlates

Crit Care Med 30; S. 1950-1959

Colicos MA, Dixon CE und Dash PK (1996)

Delayed, selective neuronal death following experimental cortical impact injury in rats: possible role in memory deficits

Brain Res 739; S. 111-119

Combs DJ und D'Alecy LG (1987)

Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol

Stroke 18; S. 503-511

Crockard HA, Coppel DL und Morrow WF (1973)

Evaluation of hyperventilation in treatment of head injuries

Br Med J 4; S. 634-640

Cruz J (1995)

An additional therapeutic effect of adequate hyperventilation in severe acute brain trauma: normalization of cerebral glucose uptake

J Neurosurg 82; S. 379-385

Darby JM, Yonas H, Marion DW und Latchaw RE (1988)

Local "inverse steal" induced by hyperventilation in head injury
Neurosurgery 23; S. 84-88

De Salles AA, Kontos HA, Becker DP, Yang MS, Ward JD, Moulton R, Gruemer HD, Lutz H, Maset AL, Jenkins L und et al. (1986)

Prognostic significance of ventricular CSF lactic acidosis in severe head injury
J Neurosurg 65; S. 615-624

De Salles AA, Muizelaar JP und Young HF (1987)

Hyperglycemia, cerebrospinal fluid lactic acidosis, and cerebral blood flow in severely head-injured patients
Neurosurgery 21; S. 45-50

Diringer MN, Videen TO, Yundt K, Zazulia AR, Aiyagari V, Dacey RG, Jr., Grubb RL und Powers WJ (2002)

Regional cerebrovascular and metabolic effects of hyperventilation after severe traumatic brain injury
J Neurosurg 96; S. 103-108

Dixon CE, Clifton GL, Lighthall JW, Yaghami AA und Hayes RL (1991)

A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat
J Neurosci Meth 39; S. 253-262

Dixon CE, Kochanek PM, Yan HQ, Schiding JK, Griffith RG, Baum E, Marion DW und DeKosky ST (1999)

One-year study of spatial memory performance, brain morphology, and cholinergic markers after moderate controlled cortical impact in rats
J Neurotrauma 16; S. 109-122

Dixon CE, Lyeth BG, Povlishock JT, Findling RL, Hamm RJ, Marmarou A, Young HF und Hayes RL (1987)

A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat
J Neurosurg 67; S. 110-119

Doyle G und Yule EP (1959)

Grooming activities and freezing behaviour in relation to emotionality in albino rats.
Anim behaviour 7; S. 17-22

Dunnett SB (1990)

Role of prefrontal cortex and striatal output systems in short-term memory deficits associated with ageing, basal forebrain lesions, and cholinergic-rich grafts
Can J Psychol 44; S. 210-232

Ekholm A, Kristian T und Siesjo BK (1995)

Influence of hyperglycemia and of hypercapnia on cellular calcium transients during reversible brain ischemia
Exp Brain Res 104; S. 462-466

Engelborghs K, Haseldonckx M, Van Reempts J, Van Rossem K, Wouters L, Borgers M und Verlooy J (2000)

Impaired autoregulation of cerebral blood flow in an experimental model of traumatic brain injury
J Neurotrauma 17; S. 667-677

Feeney DM, Gonzalez A und Law WA (1982)

Amphetamine, haloperidol, and experience interact to affect rate of recovery after motor cortex injury

Science 217; S. 855-857

Feldman DE und Knudsen EI (1998)

Experience-dependent plasticity and the maturation of glutamatergic synapses

Neuron 20; S. 1067-1071

File SE und Hyde JR (1978)

Can social interaction be used to measure anxiety?

Br J Pharmacol 62; S. 19-24

File SE und Wardill AG (1975)

The reliability of the hole-board apparatus

Psychopharmacologia 44; S. 47-51

Forbes ML, Clark RS, Dixon CE, Graham SH, Marion DW, DeKosky ST, Schiding JK und Kochanek PM (1998)

Augmented neuronal death in CA3 hippocampus following hyperventilation early after controlled cortical impact

J Neurosurg 88; S. 549-556

Forbes ML, Hendrich KS, Kochanek PM, Williams DS, Schiding JK, Wisniewski SR, Kelsey SF, DeKosky ST, Graham SH, Marion DW und Ho C (1997a)

Assessment of cerebral blood flow and CO₂ reactivity after controlled cortical impact by perfusion magnetic resonance imaging using arterial spin-labeling in rats

J Cereb Blood Flow Metab 17; S. 865-874

Forbes ML, Hendrich KS, Schiding JK, Williams DS, Ho C, DeKosky ST, Marion DW und Kochanek PM (1997b)

Perfusion MRI assessment of cerebral blood flow and CO₂ reactivity after controlled cortical impact in rats

Adv Exp Med Biol 411; S. 7-12

Furuya Y, Yamamoto T, Yatsugi S und Ueki S (1988)

A new method for studying working memory by using the three-panel runway apparatus in rats

Japan J Pharmacol. 4; S. 183-188

Gentile AM, Green S, Nieburgs A, Schmelzer W und Stein DG (1978)

Disruption and recovery of locomotor and manipulatory behavior following cortical lesions in rats

Behav Biol 22; S. 417-455

Giffard RG, Monyer H, Christine CW und Choi DW (1990)

Acidosis reduces NMDA receptor activation, glutamate neurotoxicity, and oxygen-glucose deprivation neuronal injury in cortical cultures

Brain Res 506; S. 339-342

Golding EM, Steenberg ML, Contant CF, Jr., Krishnappa I, Robertson CS und Bryan RM, Jr. (1999)

Cerebrovascular reactivity to CO₂ and hypotension after mild cortical impact injury

Am J Physiol 277; S. 1457-1466

Goldman-Rakic PS (1988)

Topography of cognition: parallel distributed networks in primate association cortex
Annu Rev Neurosci 11; S. 137-156

Goodman JC, Cherian L, Bryan RM, Jr. und Robertson CS (1994)

Lateral cortical impact injury in rats: pathologic effects of varying cortical compression and impact velocity
J Neurotrauma 11; S. 587-597

Graham DI (1985)

The pathology of brain ischaemia and possibilities for therapeutic intervention
Br J Anaesth 57; S. 3-17

Grauvogl A (1984)

Zum Begriff "artgerecht" und "verhaltensgerecht" in Bezug auf die Nutztierhaltung
Prakt Tierarzt 65; S. 232-243

Güttner J, Brahin H und Heinecke H (1993)

Wörterbuch der Versuchstierkunde
Gustav-Fischer Verlag, Jena, S. 397-399

Hall CS (1934)

Emotional behavior in the rat. I. Defaecation and urination as measures of individual differences in emotionality
J comp Psychol 18; S. 385-403

Hamm RJ, Dixon CE, Gbadebo DM, Singha AK, Jenkins LW, Lyeth BG und Hayes RL (1992)

Cognitive deficits following traumatic brain injury produced by controlled cortical impact
J Neurotrauma 9; S. 11-20

Hamm RJ, Pike BR, O'Dell DM, Lyeth BG und Jenkins LW (1994)

The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury
J Neurotrauma 11; S. 187-196

Harkin CP, Schmeling WT, Kampine JP und Farber NE (1997)

The effects of hyper- and hypocarbia on intraparenchymal arterioles in rat brain slices
Neuroreport 8; S. 1841-1844

Harrison LM und Mair RG (1996)

A comparison of the effects of frontal cortical and thalamic lesions on measures of spatial learning and memory in the rat
Behav Brain Res 75; S. 195-206

Heindel WC, Salmon DP, Shults CW, Walicke PA und Butters N (1989)

Neuropsychological evidence for multiple implicit memory systems: a comparison of Alzheimer's, Huntington's, and Parkinson's disease patients
J Neurosci 9; S. 582-587

Hendrich KS, Kochanek PM, Williams DS, Schiding JK, Marion DW und Ho C (1999)
Early perfusion after controlled cortical impact in rats: quantification by arterial spin-labeled MRI and the influence of spin-lattice relaxation time heterogeneity
Magn Reson Med 42; S. 673-681

Himmelseher S und Pfenninger E (2000)
[Neuroprotection in neuroanesthesia: current practices in Germany]
Anaesthesist 49; S. 412-419

Hodges H (1996)
Maze procedures: the radial-arm and water maze compared
Brain Res Cogn Brain Res 3; S. 167-181

Immelmann K (1982)
Wörterbuch der Verhaltensforschung
Paul Parey Verlag, Berlin, S. 89-90

Jackson PA, Kesner RP und Amann K (1998)
Memory for duration: role of hippocampus and medial prefrontal cortex
Neurobiol Learn Mem 70; S. 328-348

Jantzen JP und Piek J (1997)
Leitlinien zur Primärversorgung von Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma
Anästhesiol Intensivmed 10; S. 89-93

Jenkins LW, Moszynski K, Lyeth BG, Lewelt W, DeWitt DS, Allen A, Dixon CE, Povlishock JT, Majewski TJ, Clifton GL und et al. (1989)
Increased vulnerability of the mildly traumatized rat brain to cerebral ischemia: the use of controlled secondary ischemia as a research tool to identify common or different mechanisms contributing to mechanical and ischemic brain injury
Brain Res 477; S. 211-224

Kempfski OS (1994)
Neuroprotection, models and basic principles
Anaesthesist 43 Suppl 2; S. 25-33

Kesner RP, DiMattia BV und Crutcher KA (1987)
Evidence for neocortical involvement in reference memory
Behav Neural Biol 47; S. 40-53

Kesner RP und Holbrook T (1987)
Dissociation of item and order spatial memory in rats following medial prefrontal cortex lesions
Neuropsychologia 25; S. 653-664

Klinke R und Silbernagel S (1996)
Lehrbuch der Physiologie
2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 531-720

Kochanek PM, Marion DW, Zhang W, Schiding JK, White M, Palmer AM, Clark RS, O'Malley ME, Styren SD, Ho C und DeKosky ST (1995)
Severe controlled cortical impact in rats: assessment of cerebral edema, blood flow, and contusion volume
J Neurotrauma 12; S. 1015-1025

Kolb B (1974)

Some tests of response habituation in rats with discrete lesions to the orbital or medial frontal cortex

Can J Psychol 28; S. 260-267

Kolb B (1984)

Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review

Brain Res Rev 8; S. 65-98

Kolb B, Pittman K, Sutherland RJ und Whishaw IQ (1982)

Dissociation of the contributions of the prefrontal cortex and dorsomedial thalamic nucleus to spatially guided behavior in the rat

Behav Brain Res 6; S. 365-378

Kolb B und Whishaw IQ (1985)

An observer's view of locomotor asymmetry in the rat

Neurobehav Toxicol Teratol 7; S. 71-78

König HE und Liebich HG (1999)

Anatomie der Haussäugetiere: Band II - Organe, Kreislauf- und Nervensystem

Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, S. 203-230

Kontos HA, Raper AJ und Patterson JL (1977)

Analysis of vasoactivity of local pH, PCO₂ and bicarbonate on pial vessels

Stroke 8; S. 358-360

Laffey JG und Kavanagh BP (2002)

Hypocapnia

N Engl J Med 347; S. 43-53

Laininger M (1989)

Kann mit einfachen Verhaltenstests das Wohlbefinden von Labortieren beurteilt werden?

Verhaltensuntersuchung am Beispiel der Ratte

Vet Med Diss FU Berlin

Lassen NA (1966)

The luxury-perfusion syndrome and its possible relation to acute metabolic acidosis localised within the brain

Lancet 2; S. 1113-1115

Lassen NA und Christensen MS (1976)

Physiology of cerebral blood flow

Br J Anaesth 48; S. 719-734

Laurer HL und McIntosh TK (1999)

Experimental models of brain trauma

Curr Opin Neurol 12; S. 715-721

Levin HS, Grossman RG und Kelly PJ (1976)

Short-term recognition memory in relation to severity of head injury

Cortex 12; S. 175-182

Lighthall JW (1988)

Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model

J Neurotrauma 5; S. 1-15

Liou AK, Clark RS, Henshall DC, Yin XM und Chen J (2003)

To die or not to die for neurons in ischemia, traumatic brain injury and epilepsy: a review on the stress-activated signaling pathways and apoptotic pathways
Prog Neurobiol 69; S. 103-142

Lundberg N, Kjallquist A und Bien C (1959)

Reduction of increased intracranial pressure by hyperventilation. A therapeutic aid in neurological surgery
Acta Psychiatr Scand 34 Suppl 139; S. 1-64

Lyeth BG, Jenkins LW, Hamm RJ, Dixon CE, Phillips LL, Clifton GL, Young HF und Hayes RL (1990)

Prolonged memory impairment in the absence of hippocampal cell death following traumatic brain injury in the rat
Brain Res 526; S. 249-258

Macphail EM (1996)

Cognitive function in mammals: the evolutionary perspective
Brain Res Cogn Brain Res 3; S. 279-290

Madsen FF (1990)

Changes in regional cerebral blood flow after hyperventilation in the pig with an induced focal cerebral contusion
Acta Neurochir (Wien) 106; S. 164-169

Manns M (2001)

Verursacht die Induktion zerebraler Stickoxidsynthesen kognitive Leistungsstörungen während einer systemischen Infektion?
Vet Med Diss LMU-München

Markgraf CG, Clifton GL, Aguirre M, Chaney SF, Knox-Du Bois C, Kennon K und Verma N (2001)

Injury severity and sensitivity to treatment after controlled cortical impact in rats
J Neurotrauma 18; S. 175-186

Marmarou A, Foda MA, van den Brink W, Campbell J, Kita H und Demetriadou K (1994)

A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics
J Neurosurg 80; S. 291-300

Martin NA, Patwardhan RV, Alexander MJ, Africk CZ, Lee JH, Shalmon E, Hovda DA und Becker DP (1997)

Characterization of cerebral hemodynamic phases following severe head trauma: hypoperfusion, hyperemia, and vasospasm
J Neurosurg 87; S. 9-19

Miller JD, Butterworth JF, Gudeman SK, Faulkner JE, Choi SC, Selhorst JB, Harbison JW, Lutz HA, Young HF und Becker DP (1981)

Further experience in the management of severe head injury
J Neurosurg 54; S. 289-299

Morris R (1984)

Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat
J Neurosci Methods 11; S. 47-60

Morris RG, Garrud P, Rawlins JN und O'Keefe J (1982)

Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions
Nature 297; S. 681-683

Muizelaar JP, Marmarou A, DeSalles AA, Ward JD, Zimmerman RS, Li Z, Choi SC und Young HF (1989)

Cerebral blood flow and metabolism in severely head-injured children. Part 1: Relationship with GCS score, outcome, ICP, and PVI
J Neurosurg 71; S. 63-71

Muizelaar JP, Marmarou A, Ward JD, Kontos HA, Choi SC, Becker DP, Gruemer H und Young HF (1991)

Adverse effects of prolonged hyperventilation in patients with severe head injury: a randomized clinical trial
J Neurosurg 75; S. 731-739

Muizelaar JP, van der Poel HG, Li ZC, Kontos HA und Levasseur JE (1988)

Pial arteriolar vessel diameter and CO₂ reactivity during prolonged hyperventilation in the rabbit
J Neurosurg 69; S. 923-927

Müller K (2004)

Neurokognitive Defizite, neuronaler Schaden und Verhaltensstörungen bei Sevofluran anästhesierten Ratten als Folge einer inkompletten cerebralen Hemisphären-Ischämie und Reperfusion
Vet Med Diss LMU-München

Nickel R, Schummer A und Seiferle E (1991)

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere: Band IV - Nervensystem, Sinnesorgane, endokrine Drüsen
3. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin, S. 1-17 u. 74-208

Nonneman AJ, Voigt J und Kolb BE (1974)

Comparisons of behavioral effects of hippocampal and prefrontal cortex lesions in the rat
J Comp Physiol Psychol 87; S. 249-260

Nwaigwe CI, Roche MA, Grinberg O und Dunn JF (2000)

Effect of hyperventilation on brain tissue oxygenation and cerebrovenous PO₂ in rats
Brain Res 868; S. 150-156

Obrist WD, Gennarelli TA, Segawa H, Dolinskas CA und Langfitt TW (1979)

Relation of cerebral blood flow to neurological status and outcome in head-injured patients
J Neurosurg 51; S. 292-300

Obrist WD, Langfitt TW, Jaggi JL, Cruz J und Gennarelli TA (1984)

Cerebral blood flow and metabolism in comatose patients with acute head injury. Relationship to intracranial hypertension
J Neurosurg 61; S. 241-253

Ohl F und Fuchs E (1999)

Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew
Brain Res Cogn Brain Res 7; S. 379-387

Ohl F, Holsboer F und Landgraf R (2001a)

The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents
Behav Res Meth Instrum Comput 33; S. 392-397

Ohl F, Oitzl MS und Fuchs E (1998)

Assessing cognitive functions in tree shrews: visuo-spatial and spatial learning in the home cage
J Neurosci Meth 81; S. 35-40

Ohl F, Toschi N, Wigger A, Henniger MS und Landgraf R (2001b)

Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety
Behav Neurosci 115; S. 429-436

O'Keefe J und Conway DH (1978)

Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire
Exp Brain Res 31; S. 573-590

Olton DS, Becker JT und Handelmann GE (1979)

Hippocampus, space, and memory
Behav Brain Sci 2; S. 313-365

Olton DS und Papas BC (1979)

Spatial memory and hippocampal function
Neuropsychologia 17; S. 669-682

Olton DS und Samuelson RJ (1976)

Remembrance of places passed: spatial memory in rats
J Exp Psychol 2; S. 97-116

Palissa A und Becker A (1986)

[The chimney test. Experiences with the use of a behavioral test in the evaluation of drugs]
Z Versuchstierkd 28; S. 129-134

Palkovits M und Brownstein MJ (1988)

Plate 11

Maps and Guide to Microdissection of the Rat Brain, Elsevier, Amsterdam, S. 94-95

Pang K, Merkel F, Egeth H und Olton DS (1992)

Expectancy and stimulus frequency: a comparative analysis in rats and humans
Percept Psychophys 51; S. 607-615

Paulson OB, Olesen J und Christensen MS (1972)

Restoration of autoregulation of cerebral blood flow by hypocapnia
Neurology 22; S. 286-293

Poucet B (1990)

A further characterization of the spatial problem-solving deficit induced by lesions of the medial frontal cortex in the rat
Behav Brain Res 41; S. 229-237

Povlishock JT, Hayes RL, Michel ME und McIntosh TK (1994)

Workshop on animal models of traumatic brain injury
J Neurotrauma 11; S. 723-732

Pulsinelli WA, Brierley JB und Plum F (1982)

Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia
Ann Neurol 11; S. 491-498

Raichle ME und Plum F (1972)

Hyperventilation and cerebral blood flow
Stroke 3; S. 566-575

Reilly PL, Graham DI, Adams JH und Jennett B (1975)

Patients with head injury who talk and die
Lancet 2; S. 375-377

Romeis B (1989)

Mikroskopische Techniken
17. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, S. 575-576

Ross DT, Meaney DF, Sabol MK, Smith DH und Gennarelli TA (1994)

Distribution of forebrain diffuse axonal injury following inertial closed head injury in miniature swine
Exp Neurol 126; S. 291-299

Ruta TS, Drummond JC und Cole DJ (1993)

The effect of acute hypocapnia on local cerebral blood flow during middle cerebral artery occlusion in isoflurane anesthetized rats
Anesthesiology 78; S. 134-140

Saatman KE, Murai H, Bartus RT, Smith DH, Hayward NJ, Perri BR und McIntosh TK (1996)

Calpain inhibitor AK295 attenuates motor and cognitive deficits following experimental brain injury in the rat
Proc Natl Acad Sci U S A 93; S. 3428-3433

Sanberg PR, Hagenmeyer SH und Henault MA (1985)

Automated measurement of multivariate locomotor behavior in rodents
Neurobehav Toxicol Teratol 7; S. 87-94

Schmidt RF (1993)

Integrative Leistungen des Zentralnervensystems
In: Schmidt R F und Thews G (Hrsg.), Physiologie des Menschen, 25. Auflage, Springer Verlag Berlin, S. 132-174

Scoville WB und Milner B (1957)

Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions
J Neurochem 20; S. 11-21

Shallice T und Warrington EK (1970)

Independent functioning of verbal memory stores: a neuropsychological study
Q J Exp Psychol 22; S. 261-273

Shapira Y, Artru AA, Qassam N, Navot N und Vald U (1995)

Brain edema and neurologic status with rapid infusion of 0.9% saline or 5% dextrose after head trauma
J Neurosurg Anesthesiol 7; S. 17-25

Shapira Y, Shohami E, Sidi A, Soffer D, Freeman S und Cotev S (1988)

Experimental closed head injury in rats: mechanical, pathophysiologic, and neurologic properties
Crit Care Med 16; S. 258-265

Siesjo BK (1992)

Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology
J Neurosurg 77; S. 169-184

Silbernagel S und Despopoulos A (1991)

Taschenatlas der Physiologie

4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 78-120 u. 272-296

Smith DH, Okiyama K, Thomas MJ, Claussen B und McIntosh TK (1991)

Evaluation of memory dysfunction following experimental brain injury using the Morris water maze

J Neurotrauma 8; S. 259-269

Soblosky JS, Matthews MA, Davidson JF, Tabor SL und Carey ME (1996)

Traumatic brain injury of the forelimb and hindlimb sensorimotor areas in the rat: physiological, histological and behavioral correlates

Behav Brain Res 79; S. 79-92

Squire LR (1982)

The neuropsychology of human memory

Annu Rev Neurosci 5; S. 241-273

Squire LR (1992)

Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans

Psychol Rev 99; S. 195-231

Squire LR (1998)

Memory systems

C R Acad Sci III 321; S. 153-156

Squire LR und Cave CB (1991)

The hippocampus, memory, and space

Hippocampus 1; S. 269-271

Squire LR, Knowlton B und Musen G (1993)

The structure and organization of memory

Annu Rev Psychol 44; S. 453-495

Statistisches Bundesamt, Wiesbaden (1993)

Diagnosedaten von Krankenhauspatienten und -patientinnen: Sterbefälle nach Altersgruppen, Todesursachen und Geschlecht

SFG-Servicecenter Fachverlage GmbH, Fachserie 12

Steckler T und Muir JL (1996)

Measurement of cognitive function: relating rodent performance with human minds

Brain Res Cogn Brain Res 3; S. 299-308

Stern JA, Winokur G, Eisenstein A, Taylor R und Sly M (1960)

The effect of group vs. individual housing on behaviour and physiological responses to stress in the albino rat

J Psychosom Res 4; S. 185-190

Striebel HW (2003)

Die Anästhesie

Schattauer, Stuttgart, S. 990-1103

Sutton LN, McLaughlin AC, Dante S, Kotapka M, Sinwell T und Mills E (1990)

Cerebral venous oxygen content as a measure of brain energy metabolism with increased intracranial pressure and hyperventilation

J Neurosurg 73; S. 927-932

Takadera T, Shimada Y und Mohri T (1992)

Extracellular pH modulates N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity and calcium accumulation in rat cortical cultures
Brain Res 572; S. 126-131

Tang YP, Noda Y, Hasegawa T und Nabeshima T (1997a)

A concussive-like brain injury model in mice (I): impairment in learning and memory
J Neurotrauma 14; S. 851-862

Tang YP, Noda Y, Hasegawa T und Nabeshima T (1997b)

A concussive-like brain injury model in mice (II): selective neuronal loss in the cortex and hippocampus
J Neurotrauma 14; S. 863-873

Teasdale G und Jennett B (1974)

Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale
Lancet 2; S. 81-84

Thiessen DD, Zolman JF und Rodgers DA (1962)

Relation between adrenal weight, brain cholinesterase activity, and hole-in-wall behavior of mice under different living conditions
J Comp Physiol Psychol 55; S. 186-190

Thomale UWN (2001)

Evaluation des tierexperimentellen Modells einer traumatischen kortikalen Kontusion für Therapiestudien
Med Diss Humboldt-Universität Berlin

Thompson RF (1988)

The neural basis of basic associative learning of discrete behavioral responses
Trends Neurosci 11; S. 152-155

Tulving E (1995)

Organization of memory, quo vadis
In: Gazzaniga MS (Hrsg.), The cognitive neurosciences, MIT Press
Cambridge (MA), S. 839-850

Tulving E und Markowitsch HJ (1998)

Episodic and declarative memory: role of the hippocampus
Hippocampus 8; S. 198-204

Vannucci RC, Brucklacher RM und Vannucci SJ (1997)

Effect of carbon dioxide on cerebral metabolism during hypoxia-ischemia in the immature rat
Pediatr Res 42; S. 24-29

Vargha-Khadem F, Gadian DG, Watkins KE, Connelly A, Van Paesschen W und Mishkin M (1997)

Differential effects of early hippocampal pathology on episodic and semantic memory
Science 277; S. 376-380

Voll CL, Whishaw IQ und Auer RN (1989)

Postischemic insulin reduces spatial learning deficit following transient forebrain ischemia in rats
Stroke 20; S. 646-651

Whishaw IQ, Haun F und Kolb B (1997)

Analysis of behavior in laboratory rodents

In: Windhorst U, Johannsson H (Hrsg.), Modern technics in neuroscienic research, Springer
S. 1243-1275

Wijnbergen A (2001)

Ratten

In: Gabrisch K und Zwart P (Hrsg.), Krankheiten der Heimtiere, 5. Auflage, Schlütersche
Verlagsgesellschaft
Hannover, S. 127-130

Yoshida K und Marmarou A (1991)

Effects of tromethamine and hyperventilation on brain injury in the cat

J Neurosurg 74; S. 87-96

Zola-Morgan S und Squire LR (1993)

Neuroanatomy of memory

Annu Rev Neurosci 16; S. 547-563

Zola-Morgan S, Squire LR und Amaral DG (1986)

Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a
bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus

J Neurosci 6; S. 2950-2967

8 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Vergleichende Darstellung, in der die oben genannten Eigenschaften unterschiedlicher SHT-Modelle zusammengefasst werden. (Bewertungsskala von - =nicht vorhanden bis +++ =sehr stark vorhanden).....	23
Tabelle 2:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Hole-Board-Test.....	36
Tabelle 3:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Open-Field-Test	36
Tabelle 4:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile bei automatisierter Bewegungsmessung.....	37
Tabelle 5:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Morris' water Maze	38
Tabelle 6:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Radial arm Maze	38
Tabelle 7:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im 3-Door-Runway.....	39
Tabelle 8:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im modifizierten Hole-Board-Test nach OHL	39
Tabelle 9:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Drahtgitter-Test.....	40
Tabelle 10:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Balken-Gleichgewichts-Test.....	40
Tabelle 11:	Vergleichende Zusammenstellung von Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Balken-Geh-Test	41
Tabelle 12:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Greif-Zug-Test	41
Tabelle 13:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile im Röhren-Test.....	42
Tabelle 14:	Vergleichende Zusammenstellung der Parameter, Aussagekraft und Vor-/Nachteile des Rotierenden Stabs.....	42
Tabelle 15:	Versuchsplan – modifizierter Hole-Board-Test nach OHL	58
Tabelle 16:	Randomisierte Lochkombinationen während Lern- und Versuchsphase.....	66
Tabelle 17:	Das modifizierte Hole-Board-Protokoll.....	68
Tabelle 18:	Neurologisches Untersuchungsprotokoll	74
Tabelle 19:	Physiologische Parameter, die während der Operation erhoben werden:.....	83
Tabelle 20:	Anzahl aller Fehler und Auffindungsfehler, angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der Operation bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).	85
Tabelle 21:	Anzahl aller Wiederholungen, angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20..	87
Tabelle 22:	Zeit, in der die Tiere einen Testdurchlauf absolvieren=Gesamtzeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.	89

Tabelle 23:	Anzahl wie oft das Board betreten wurde, angegeben im arithmetischen Mittelwert in einem Durchlauf pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).....	91
Tabelle 24:	Anzahl aller besuchten Löcher, angegeben im arithmetischen Mittelwert in einem Durchlauf pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.....	93
Tabelle 25:	Zeit auf dem Board pro besuchtem Loch [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert in einem Durchlauf pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).....	95
Tabelle 26:	Anzahl aller Aktionen, in denen sich das Tier in einem Durchlauf aufrichtet, angegeben im arithmetischen Mittelwert pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.	97
Tabelle 27:	Zeit bis zum ersten Betreten des Boards [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.....	99
Tabelle 28:	Zeit bis zum ersten Lochbesuch [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.....	101
Tabelle 29:	Zeit, in der die Tiere den Gruppenkontakt suchen, angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.	103
Tabelle 30:	Zeit, in der die Ratten mit Putzen beschäftigt sind=Putzzeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.	105
Tabelle 31:	Zeit, in der die Tiere die Futterbelohnung fressen=Fresszeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.	108
Tabelle 32:	Körpergewicht [g], angegeben im arithmetischen Mittelwert pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.	109
Tabelle 33:	Einzelsscore (0=ungestört bis 3=sehr stark gestört), angegeben im arithmetischen Mittelwert pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).....	111
Tabelle 34:	Haltezeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20.....	113
Tabelle 35:	Balancierzeit [s], angegeben im arithmetischen Mittelwert eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).....	115
Tabelle 36:	Anzahl der Fehlritte, die über eine definierte Laufstrecke mit der linken Hintergliedmaße gemacht werden, angegeben im arithmetischen Mittel pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).....	117
Tabelle 37:	Neurologisch-motorischer Gesamtscore (0=ungestört bis 29=sehr stark gestört), zusammengezählt aus den arithmetischen Mittelwerten der Einzelscores aller acht Kategorien (MW±SD), angegeben pro Tag im Zeitraum Tag -3 vor der OP bis Versuchsende Tag 20 (Signifikanter Untersuchungsverlauf= $p < 0,05 = *$).	119

Tabelle 38: Läsionsvolumenbestimmung der traumatisierten rechten Gehirnhemisphäre bei 9 normoventilierten und 10 hyperventilierten Tieren mit Hilfe der Kresylviolett-Färbung, ausgehend von bestimmten Abständen zu einer definierten Nullebene durch Berechnung der jeweiligen Einzelflächen [mm²] und des daraus hervorgehenden Läsionsvolumens [mm³] (MW±SD; Signifikanz=p<0,05=*) 121

Tabelle 39: Zusammenfassende Darstellung aller Parameter und deren Ergebnisse im Vergleich zwischen den Versuchsgruppen Normoventilation und Hyperventilation (Tendenz=□, Signifikanz=■, besseres Ergebnis=+, schlechteres Ergebnis=-) 152

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Hirnareale modifiziert nach SCHMIDT und THEWS (1993). A: Primär sensorisches Hirnareal, B: Primär motorisches Hirnareal, C: Präfrontaler assoziativer Kortex, D: Assoziativer Kortex..... 6

Abbildung 2: Histologische Kompartimentierung des Hippokampus modifiziert nach AMARAL und WITTER (1989)..... 7

Abbildung 3: Einteilung der Gedächtnissysteme und deren neurokognitive Funktionen, modifiziert nach SQUIRE 1993 und SQUIRE et al. 1998..... 10

Abbildung 4: Die drei Grundkomponenten des Arbeitsgedächtnisses nach BADDELEY und HITCH (1974) 14

Abbildung 5: Schema über Wechselwirkungen von Hypokapnie auf das Gehirn, modifiziert nach LAFFEY und KAVANAGH (2002); Abkürzungen: CBF (zerebraler Blutfluss), CBV (zerebrales Blutvolumen), CSF (Liquor), O₂ (Sauerstoff), CO₂ (Kohlendioxid), PaCO₂ (arterieller Kohlendioxid-Partialdruck) 28

Abbildung 6: Schematische Darstellung verschiedener Labyrinth-Test (A: Morris' water Maze, B: Radial arm Maze, C: 3-Door-Runway) modifiziert nach HODGES (1996)..... 35

Abbildung 7: Aufnahmen eines Homecages; links: mit Innenaufteilung in Versuchsarena und Heimtierabteil; rechts: inneres Tierabteil mit komplett eingezogenen Trennwänden, äußere Ansicht mit Futterspendern und Trinkflaschen 50

Abbildung 8: Schematische Darstellung des gesamten Versuchablaufs..... 51

Abbildung 9: Schematische Darstellung des operativen Versuchablaufs..... 52

Abbildung 10: Links: Anatomische Begrenzungslinien - die Knochennähte, A: rostral - Bregma, B: median – Sagittalnaht, C: kaudal - Lambda, Rechts: Offene Präparation mit hochgeklapptem Knochendeckel an der Sagittalnaht..... 54

Abbildung 11: Links: Druckluftbetriebener Schussapparat, Rechts: Präparationsstelle mit aufgesetzter Führungshülse 56

Abbildung 12: Das modifizierte Hole-Board nach OHL mit Lochnummerierung, markierten Löchern 2-5-8 und den einzelnen Bestandteilen in Nahaufnahme..... 59

Abbildung 13: Das modifizierte Hole-Board nach OHL mit allen Utensilien, die zum Befüllen der drei korrekten Löcher mit Futterbelohnung nötig sind..... 61

Abbildung 14: Kodierte Tastenbelegung zur Eingabe des Hole-Board-Protokolls auf der flexiblen Tastatur 67

Abbildung 15: Situation nach Öffnen des Homecage - Beurteilung des Bewusstseins und Pflegeverhaltens im Tierabteil: Normalsituation mit neugierigen, aufmerksamen und interessierten Tieren; im Gegensatz dazu rechts oben isolierte, apathische Ratte mit struppigem Fell..... 75

Abbildung 16: Ratte beim Klettern..... 76

Abbildung 17: Vertikale 90 ° und 180 ° Position beim Drahtgitter-Test..... 76

Abbildung 18: Hängende Ratte beim Greif-Zug-Test 77

Abbildung 19: Putzende Ratte auf dem Balken 77

Abbildung 20: Ratte ohne Fehlritte beim Beam Walking-Test..... 77

Abbildung 21: Aufsicht auf ein frisch entnommenes Rattengehirn mit umschriebenem traumatisierten Areal auf dem rechten Parietal-/Temporallappen..... 78

Abbildung 22:	Durchschnittliche Gesamtfehleranzahl [n] eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	86
Abbildung 23:	Durchschnittliche Wiederholungsanzahl [n] eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	88
Abbildung 24:	Durchschnittliche Gesamtzeit [s] eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.	90
Abbildung 25:	Durchschnittliche Anzahl [n] wie oft das Board innerhalb eines Durchlaufs betreten wird pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.	92
Abbildung 26:	Durchschnittliche Anzahl [n] aller besuchten Löcher eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	94
Abbildung 27:	Durchschnittliche Zeit auf dem Board [s] pro besuchtes Loch eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	96
Abbildung 28:	Durchschnittliche Anzahl [n] der Aktionen Männchen machen eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	98
Abbildung 29:	Durchschnittliche Zeit[s] bis das Board betreten wird innerhalb eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	100
Abbildung 30:	Durchschnittliche Zeit[s] bis das erste Loch besucht wird innerhalb eines Durchlaufs pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	102
Abbildung 31:	Durchschnittliche Zeit[s] eines Durchlaufs, in der die Ratten Kontakt mit der Tiergruppe aufnehmen, pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	104
Abbildung 32:	Durchschnittliche Zeit[s] eines Durchlaufs, in der die Ratten sich putzen, pro Tag mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	106
Abbildung 33:	Durchschnittlicher Score im Drahtgitter-Test von (0=ungestört bis 3=sehr stark gestört) mit Standardfehler pro Tag. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	112
Abbildung 34:	Durchschnittliche Haltezeit [s] eines Durchlaufs mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	114
Abbildung 35:	Durchschnittliche Balancierzeit eines Durchlaufs in Sekunden mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.	116
Abbildung 36	Durchschnittliche Anzahl von Fehlritten der linken Hintergliedmaße mit Standardfehler. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20.....	118

- Abbildung 37: Durchschnittlicher neurologisch-motorischer Gesamtscore von 0=ungestört bis 29=sehr stark gestört mit Standardfehlern pro Untersuchungstag. Die Verlaufskurve zeigt die Ausgangswerte (Tag -3 bis einschließlich Tag 0=Operation) und die Versuchsphase bis Tag 20..... 120
- Abbildung 38: Histologische Schnittflächen von Gehirnen normoventilierter Tiere in der Kresylviolett-Färbung. Die Ebene liegt im Zentrum der Läsion mit 5500 μm Abstand zur definierten Nullebene. Vergrößerung 1:25. 123
- Abbildung 39: Histologische Schnittflächen von Gehirnen hyperventilierter Tiere in der Kresylviolett-Färbung. Die Ebene liegt im Zentrum der Läsion mit 5500 μm Abstand zur definierten Nullebene. Vergrößerung 1:25. 124

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent	m	Meter
°C	Grad Celsius	M.	Muskulus
µg	Mikrogramm	MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
A.	Arteria	max.	maximal
Aa.	Arteriae	mHB-Test	modifizierter Hole-Board-Test nach OHL
Abb.	Abbildung	min	Minute
Abk.	Abkürzung	ml	Milliliter
BHS	Blut-Hirn-Schranke	mm	Millimeter
bzw.	beziehungsweise	mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
CA	Cornu ammonis	ms	Millisekunden
ca.	circa	MW	Mittelwert
CBF	Zerebraler Blutfluss	MWM-Test	Morris' water Maze-Test
CBV	Zerebrales Blutvolumen	n	Anzahl
CCI	Controlled Cortical Impact	N ₂ O	Lachgas
cm	Zentimeter	NaCl	Natriumchlorid
cm ²	Quadratcentimeter	NMDA	N-methyl-D-aspartat
CO ₂	Kohlendioxid	NM-Test(s)	neurologisch-motorische Test(s)
CPP	Zerebraler Perfusionsdruck	NV	Normoventilation
CSF	cerebrospinal fluid; Liquor	Ø	Durchschnitt
d.h.	das heißt	o.ä.	oder ähnliches
ddH ₂ O	doppelt destilliertes Wasser	O ₂	Sauerstoff
DNS	Desoxyribonucleinsäure	OP	Operation
et al.	und andere	p≤0,05	Signifikanzniveau
etc.	et cetera	PaO ₂	Arterieller Sauerstoff-Partialdruck
evtl.	eventuell	PaCO ₂	Arterieller Kohlendioxid-Partialdruck
FP	Fluid Percussion	PVC	Polyvenylchlorid
g	Gramm	RAM-Test	Radial arm Maze-Test
GCS	Glasgow Coma Scale	s	Sekunde
griech.	griechisch	s.	siehe
h	Stunde	s.c.	subkutan
H ⁺	Wasserstoffion	SD	Standardabweichung
HV	Hyperventilation	SEM	Standardfehler
i.v.	intravenös	u.a.	unter anderem
ICP	Intrakranieller Druck	V.	Vena
kg	Kilogramm	v.a.	vor allem
KGW	Körpergewicht	Vol%	Volumen Prozent
l	Liter	VP	Versuchsphase
lat.	lateinisch	z.B.	zum Beispiel
LP	Lernphase	ZNS	Zentrales Nervensystem
Lsg.	Lösung		
LTP	Long term potentiation		

11 DANKSAGUNG

Am Ende meiner Arbeit möchte ich mich herzlich bei denjenigen bedanken, ohne die diese Arbeit nicht gelungen wäre:

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

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher für die Möglichkeit, die tierexperimentellen Studien an seinem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München durchführen zu können.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. phys. E. Kochs, Direktor des Instituts für Anaesthesiologie der Technischen Universität München, für die Bereitstellung der Rahmenbedingungen.

Herrn Prof. Dr. med. M. Blobner für die herausfordernde Betreuung meiner Arbeit und die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse.

Frau Dr. med. B. Eckel für die kritische, fachliche Anleitung bei der Durchführung des Versuchs und der Korrektur von Teilen dieser Arbeit.

Frau Dr. med. vet. E. Eberspächer für die Ausführung des operativen Teils dieser Studie, die vorwärtstreibende Motivation, die fachliche und inspirierende Kritik, den permanenten Rückhalt in allen Fragen, die im Laufe dieser Arbeit unlösbar schienen und die schnelle und detaillierte Korrektur von zweifelhaften Inhalten bis hin zum unterschlagenem Genitiv.

Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt für die Vermittlung der Dissertation, die stets freundliche und hilfreiche Unterstützung und die gründliche und zügige Korrektur.

Frau K. Heimann für die schnelle Bearbeitung der Histologie, die sorgfältige Auswertung, sowie ihre nette und kollegiale Unterstützung bei allen histopathologisch Fragen.

Meiner Freundin und Mitstreiterin Frau S. Swirzcek für ihre absolut zuverlässige Mitarbeit und ihre ständige Unterstützung bei fachbezogenen und privaten Problemen, die im Laufe dieser Arbeit aufgetreten sind.

Meinen Vorgängerinnen Frau Dr. med. vet. K. Müller und Dr. med. vet. Y. Pitz für das herzliche Einführen in die Testdurchführung und die nette Zusammenarbeit.

Den Tierpflegern für die stete Kooperation auch bei spontanen Änderungen.

Nicht zu vergessen bei meinen Ratten, die den Hauptbeitrag geleistet haben.

Und abschließend allen FreundInnen, KorrektorInnen und BestärkendInnen, für die hier leider nicht einzeln Platz bleibt, die sich aber meinen Wut- und Verzweiflungsanfällen entgegen gestellt haben. Zu diesen gehören an allererster Stelle meine lieben Eltern und mein Lebensgefährte Peter Meißner. Diesen wichtigsten Menschen in meinem Leben sei vorliegende Arbeit gewidmet. Ich danke euch für die finanzielle Unterstützung, aber mehr noch für eure ständige Begleitung und Bestärkung, in dem was ich tue:

Ohne euch wäre all das nicht möglich gewesen!

