

**ETABLIERUNG EINES NEUEN MODELLS AN DER RATTE MIT
EXTRAKORPORALER ZIRKULATION UND ZEREBRALEN
LUFTEMBOLIEN WOBEI DER EINFLUSS VON XENON AUF
NEUROPSYCHOLOGISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT UND
MORTALITÄT MIT UNTERSUCHT WERDEN SOLL**

Janette Maria Carlsen

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

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

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

**ETABLIERUNG EINES NEUEN MODELLS AN DER RATTE MIT
EXTRAKORPORALER ZIRKULATION UND ZEREBRALEN
LUFTEMBOLIEN WOBEI DER EINFLUSS VON XENON AUF
NEUROPSYCHOLOGISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT UND
MORTALITÄT MIT UNTERSUCHT WERDEN SOLL**

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

Janette Maria Carlsen
aus
Lille Bårderud, Kirkenær, Norwegen

München 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent: Univ. -Prof. Dr. M. H. Erhard
Koreferent: Priv. -Doz. .Dr. Dr. R. G. Erben

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

In Liebe zu den Tieren und ganz besonderes zu meinem Dalmatiner, Dalmos Last Victor und in großer Dankbarkeit und in Erinnerung an meine zwei lieben Omas, die immer an mich geglaubt haben.

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	3
2.1	Lern- und Gedächtnisprozesse	3
2.1.1	Ein Überblick	3
2.1.2	Deklarative und nicht-deklarative Gedächtnissysteme	4
2.1.3	Kurzzeitgedächtnis	5
2.1.4	Arbeitsgedächtnis	6
2.1.5	Langzeitgedächtnis	6
2.1.6	Tertiäres Gedächtnis	6
2.1.7	Neuronale Einflüsse auf Lernprozesse	7
2.1.8	Verhaltens- und Kognitionstests	9
2.1.9	Überblick über gebräuchliche Verhaltenstests	10
2.1.9.1	Der modifizierte Hole Board Test nach OHL: Erfindung und Funktion	11
2.1.9.2	Testbeschreibung des modifizierten Hole Board Tests	13
2.2	Das Gehirn	16
2.2.1	Gefäßversorgung des Gehirns	17
2.2.2	Regulierung der Gehirndurchblutung	18
2.2.3	Definition der zerebralen Ischämie	18
2.3	Extrakorporale Zirkulation (EKZ)	20
2.3.1	Vollständige und partielle extrakorporale Zirkulation	21
2.3.2	Oxygenator	22
2.3.3	Komplikationen der EKZ	23
2.3.4	Zentralnervöse Schäden nach EKZ	24
2.3.5	Pathophysiologie und Ätiologie zentralnervöser Schäden	25
2.3.6	Prophylaxe und Therapie	28
2.4	Luftembolien	30
2.4.1	Pathophysiologie und Auswirkungen auf die zerebrale Funktion	30
2.4.2	Symptomatik	33
2.4.3	Diagnostik	34
2.4.4	Behandlungsstrategien und mögliche Prophylaxe	35
2.5	Xenon	40
2.5.1	Allgemeines	40
2.5.2	Xenon als Anästhetikum	40
2.5.3	Xenon und dessen neuroprotektive Eigenschaften	43
2.5.4	Verfügbarkeit und Wiedergewinnung des Narkosegases Xenon	46
3	Eigene Untersuchungen	48
3.1	Zielvorstellung	48
3.2	Tiere, Material und Methodik	48
3.2.1	Versuchstiere	49
3.2.2	Allgemeine Haltungsbedingungen	49
3.2.3	Versuchskäfig	50
3.2.4	Versuchsplan	51
3.2.5	Operation mit extrakorporaler Zirkulation und Herz-Lungen-Maschine	55
3.2.5.1	Präparation	56
3.2.5.2	Die Herz-Lungen-Maschine	58
3.2.5.3	Präparation des Blutspendetieres	60
3.2.5.4	Applikation der Luftembolien	61
3.2.5.5	Anästhesie	62
3.2.5.6	Nachbeobachtungsphase	65
3.2.5.7	Euthanasie und anschließende Gehirnentnahme	66

3.2.6	Tägliche Versuchsdurchführung nach der Operation.....	67
3.2.6.1	Tägliche Untersuchung des Allgemeinzustandes der Ratten	67
3.2.7	Das modifizierte Hole Board.....	69
3.2.7.1	Sonstige Utensilien zur Versuchsdurchführung.....	70
3.2.7.2	Gewöhnung an das modifizierte Hole Board	71
3.2.7.3	Habituation an die Versuchsarena	72
3.2.7.4	Lernphase mit dem modifizierten Hole Board Test	72
3.2.7.5	Allgemeines zum Hole Board Protokoll	74
3.2.7.6	Im modifizierten Hole Board Test untersuchte Parameter	76
3.2.8	Statistische Bewertung der Befunde.....	81
3.3	Ergebnisse	83
3.3.1	Überleben bzw. Mortalität.....	84
3.3.2	Parameter des modifizierten Hole Board Test	85
3.3.2.1	Kognitive Fähigkeiten	86
3.3.2.2	Verhalten	87
4	Diskussion.....	90
4.1	Diskussion der Methoden.....	91
4.1.1	Verhaltenstests.....	91
4.1.2	Modifizierter Hole-Board Test.....	92
4.1.3	Zerebrale Luftembolien	95
4.1.4	Zerebrale Luftembolien während extrakorporaler Zirkulation	97
4.1.5	Xenon	103
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	107
4.2.1	Überlebensrate.....	107
4.2.2	Parameter in Verbindung mit dem modifizierten Hole-Board Test.....	109
4.3	Abschließender Überblick.....	112
5	Zusammenfassung	113
6	Summary	115
7	Literaturverzeichnis	117
8	Tabellenverzeichnis	138
9	Abbildungsverzeichnis	139
10	Abkürzungsverzeichnis.....	141
11	Danksagung.....	143

1 Einleitung

Seit Einführung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) mit extrakorporaler Zirkulation (EKZ) in der Mitte des letzten Jahrhunderts sind Schäden am zentralen Nervensystem (ZNS) nach herzchirurgischen Eingriffen bekannt und beschrieben. Die Häufigkeit neurologischer Komplikationen wie Schlaganfall und Koma wird bei herzchirurgischen Patienten mit 1 bis 8% beziffert, wobei neurokognitive Störungen über einen kurzen Zeitraum (Monate) bei ca. 80% und längerfristig (bis fünf Jahre) bei ca. 20% der Patienten dokumentiert sind (ROACH et al., 1996, NEWMAN et al., 2001b). Bei den betroffenen Patienten lassen sich häufig schwerwiegende Defizite, wie Lern- und Gedächtnisstörungen, als auch Verhaltens- und Orientierungsprobleme feststellen. Neurologische Probleme nach zerebraler Schädigung äußern sich als Beeinträchtigung der Motorik, des Gleichgewichtes und der Sensorik, die häufig zur Pflegebedürftigkeit der betroffenen Patienten führen. Obwohl die oben genannten ZNS-Komplikationen nach herzchirurgischen Eingriffen v. a. in den letzten zwei Jahrzehnten intensiv untersucht wurden, sind die Ätiologie sowie die zugrunde liegenden Mechanismen noch nicht vollständig geklärt. Die Pathogenese zerebraler Komplikationen nach herzchirurgischen Eingriffen ist am ehesten multifaktoriell. Zerebrale Embolien, insbesondere gasförmig oder korpuskulär, die über einen Verschluss der zerebralen Blutgefäße zu einer zerebralen Ischämie mit konsekutivem neuronalen Zelltod führen, werden als eine wichtige Ursache diskutiert.

Aus klinischen Untersuchungen an herzchirurgischen Patienten ist bekannt, dass das Ausmaß postoperativer neurokognitiver Defizite mit der Häufigkeit mikroembolischer Ereignisse und der Dauer der EKZ assoziiert ist (STUMP et al., 1996). Es gibt Hinweise dafür, dass diese beim Menschen mit der transkraniellen Dopplersonographie gemessenen Mikroembolien überwiegend durch Luftbläschen repräsentiert sind (BORGER und FEINDEL, 2002). In der vorliegenden Arbeit soll deshalb an einem Rattenmodell gezielt und quantitativ der Einfluss von Luftembolien während EKZ auf das neurokognitive Outcome als auch auf die Mortalität untersucht werden. Als Narkosegas wird Xenon eingesetzt, ein Edelgas mit anästhetischen Eigenschaften, die erstmals vor ca. 50 Jahren beschrieben wurden. Seit 1990 wird Xenon im Rahmen von wissenschaftlichen Untersuchungen erfolgreich eingesetzt (LACHMANN et al., 1990). Die anästhetischen Eigenschaften des Xenon werden in erster Linie über eine antagonistische Wirkung am N-methyl-D-aspartat-(NMDA)-Rezeptor vermittelt. NMDA-

Einleitung

Rezeptor-Antagonisten verhindern den durch Glutamat bedingten Calciueinstrom und wirken dadurch neuroprotektiv, was auch für herzchirurgische Patienten gezeigt werden konnte (ARROWSMITH et al., 1998). Bevor Xenon bei herzchirurgischen Patienten eingesetzt werden kann, muss jedoch sichergestellt werden, dass es durch Vergrößerung der Luftembolien, die während Herzchirurgie unter Verwendung der EKZ zwangsläufig entstehen, nicht eher einen negativen Effekt auf das neurokognitive Outcome hervorruft. Die Tendenz von Xenon, ähnlich wie Lachgas Luftbläschen zu vergrößern wurde bereits beschrieben (LOCKWOOD, 2002).

Zur Beurteilung der neurokognitiven Fähigkeiten wird der modifizierte Hole Board Test nach OHL (2001a) verwendet. Der modifizierte Hole Board Test ist ein visuell-räumlicher Test, der die Untersuchung des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses bei Ratten ermöglicht. Außerdem erlaubt dieser Test die Unterscheidung zwischen motorischen und kognitiven Defiziten, und die Beurteilung des Explorations- und Motivationsverhalten der Ratte.

In der vorliegenden Studie soll erstmalig ein Modell mit EKZ und repetitiven zerebralen Luftboli an der Ratte etabliert werden. In Vorbereitung einer nachfolgenden Studie (BERKMANN in Vorbereitung) soll eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen Größe der verabreichten Luftboli und Mortalität sowie auch für kognitiver Leistungsfähigkeit erstellt werden. Der Effekt von Xenon in diesem Zusammenhang soll außerdem bestimmt werden.

2 Schrifttum

2.1 Lern- und Gedächtnisprozesse

2.1.1 Ein Überblick

Lernen kann als grundlegender Prozess der Anpassung von neuen Erfahrungen, erworbenen Kenntnissen und Fertigkeiten definiert werden. Der Lernvorgang führt zu relativ stabilen Veränderungen des Verhaltens. Unter dem Begriff Gedächtnis versteht man die Fähigkeit, die schon gelernte Information zu bewahren und zu speichern. Es kann zwischen dem Prozess der Speicherung, der Pflege der gespeicherten Information und deren Abruf unterschieden werden. Die Eigenschaft, Ereignisse aus der Umgebung zu interpretieren und zu bearbeiten, sie zu verstehen und sich zu erinnern, ist sehr wichtig für das menschliche und weitgehend auch für das tierische Verhalten. Diese Fähigkeit repräsentiert eine zentrale Voraussetzung für das tägliche Überleben. Der Lernprozess entsteht sowohl durch Wechsel der Gedächtnissysteme, als auch durch eine Veränderung auf molekularer Ebene. Die Entwicklung von Gedächtnisprozessen erfordert vermutlich lang anhaltende Veränderungen in der synaptischen Effektivität, auch synaptische Plastizität genannt (RICHTER-LEVIN und AKIRAV, 2003).

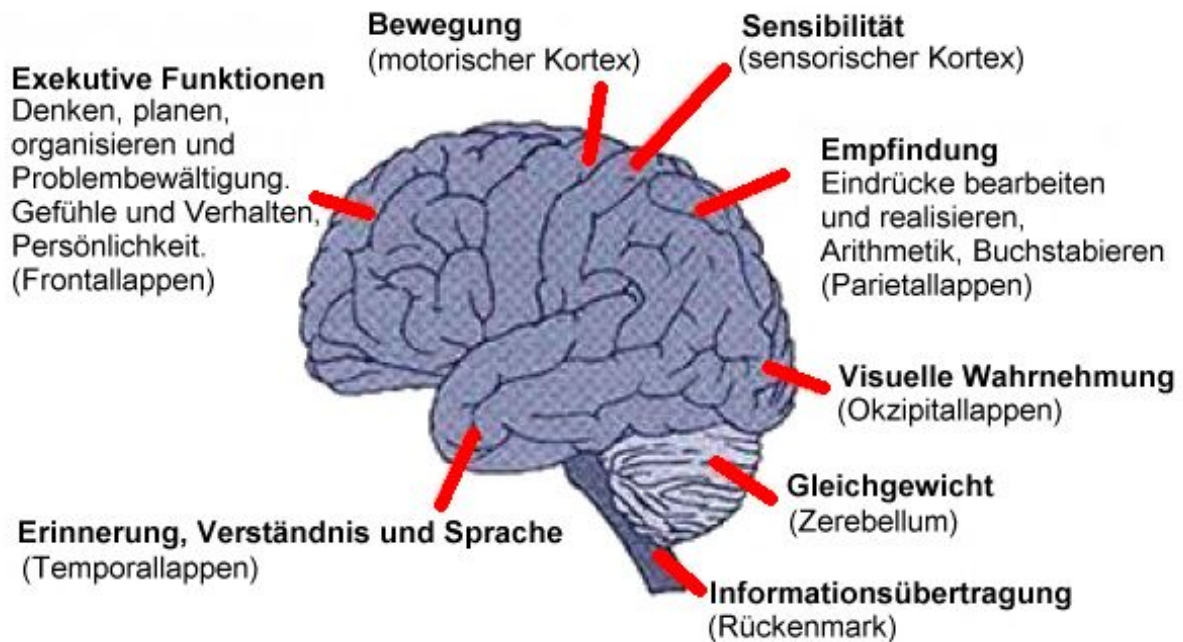


Abbildung 1: Überblick über die Einteilung von Gedächtnisprozessen, sensorische- und motorische Funktionen im Gehirn, modifiziert nach Trevor Powel (Child Brain Injury Trust, Oxford 2004)

2.1.2 Deklarative und nicht-deklarative Gedächtnissysteme

Das Lernen und der Abruf des Gedächtnisses, werden durch unterschiedliche Gedächtnisleistungen hervorgerufen. Es wird unterschieden zwischen **nicht deklarativem Gedächtnis**, das durch unbewusste Erinnerung, die eher in einer Handlung ausgedrückt wird, und **deklarativem Gedächtnis**, das sich auf ein bewusstes und konkretes Wissen von Fakten bezieht. Das deklarative Gedächtnis ist schnell und flexibel, nicht immer zugänglich, und wird weiter in semantisches und episodisches Gedächtnis unterteilt. Das semantische Gedächtnis besitzt Kenntnisse über Ereignisse, die nicht spezifische persönliche Erlebnisse beinhalten. Das episodische Gedächtnis dagegen enthält personengebundene Informationen, wie persönliche Erfahrungen mit ihren zeitlichen und örtlichen Bezügen. Informationen werden unabhängig vom episodischen in das semantische Gedächtnis eingespeichert, aber umgekehrt gelangen Informationen nur über das deklarative in das episodische Gedächtnis. Beim Abruf der gespeicherten Informationen agieren die Systeme jedoch wiederum vollkommen unabhängig voneinander (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

Der große Vorteil dieser oben genannten Einteilung und Funktion des deklarativen Gedächtnisses ist, dass sie bis auf einige Ausnahmen für Mensch und Tier gleichermaßen gilt. Im Tiermodell wird deklaratives Gedächtnis oft als Verarbeitung räumlicher, konfiguraler, kontextabhängiger und relationaler Informationen beschrieben (BUNSEY und EICHENBAUM, 1996). Letztendlich kann der Abruf deklarativer Speicherungen optimal in ein offenkundiges Verhalten münden, da es eine enge Verkopplung mit anderen Gehirn- und Verhaltenssystemen hat (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

Das nicht-deklarative Gedächtnis besteht aus keiner homogenen Gedächtnisform, es setzt sich vielmehr aus verschiedenen unbewussten Gedächtnissystemen zusammen (SQUIRE, 1998). Dazu gehört das prozedurale Gedächtnis, das motorisch erworbene Fähigkeiten, die perzeptuelle Differenzierung und die allgemeinen kognitiven Leistungen umfasst. Zusätzlich werden Konditionierung, Habituation, Sensitivierung, und auch das Priming dem nicht-deklarativen Gedächtnis zugeordnet. Diese Gedächtnisform ist langsam und wenig flexibel, aber immer wieder abrufbar.

2.1.3 Kurzzeitgedächtnis

Das Kurzzeitgedächtnis besitzt eine geringe Speicherkapazität. Informationen werden bis zu einer Zeitdauer von Minuten gespeichert. Das Kurzzeitgedächtnis lässt sich in einen visuell-räumlichen, einen phonologischen und in einen zentralen exekutiven Speicher einteilen. Der phonologische Teil ist für das Lautverständnis und für die Lautäußerung verantwortlich. Er umfasst die vorübergehende Speicherung und die Wiedergabe von gehörten Äußerungen. Der visio-spatiale Teil enthält und manipuliert visuell-räumliche Informationen (BADDELEY, 1998). Dieses Gedächtnis befindet sich vor allem im präfrontalen Kortex, im okzipitalen und im parietalen Lappen des Gehirns. In Bezug auf die anatomische Struktur ist das Kurzzeitgedächtnis unabhängig vom Langzeitgedächtnis. Aber in deren Funktion ist es teilweise vom Langzeitgedächtnis abhängig, z. B. in der Verarbeitung von phonologischen Informationen.

2.1.4 Arbeitsgedächtnis

Das Arbeitsgedächtnis ist schwer vom Kurzzeitgedächtnis abzugrenzen. Es besitzt ebenfalls ein begrenztes Speichervermögen, hat eine Speicher-Zeitspanne von wenigen Minuten und ist sehr empfänglich für Störungen (OLTON et al., 1979).

Das Arbeitsgedächtnis unterstützt körpereigene Denkprozesse, die für eine Vielzahl komplexer kognitiver Tätigkeiten essentiell sind. Nach dem heutigem Wissenstand besteht das Arbeitsgedächtnis aus einer zentralen Steuerung, zwei Speichersystemen und einem episodischen Speicher (BADDELEY et al., 2000). Dieses Gedächtnis wird dem präfrontalen Kortex zugeordnet und umfasst alle zeitlich begrenzt gespeicherten Informationen (BADDELEY, 1998).

2.1.5 Langzeitgedächtnis

Das Langzeitgedächtnis besitzt eine nahezu unbegrenzte Speicherkapazität und lässt zum Teil eine permanente Speicherung zu. Es erlaubt nur einen langsamen Zugriff auf gespeicherte Information (KLINKE und SILBERNAGL, 2000). Das Langzeitgedächtnis ist sehr resistent gegen alle Formen von Störungen. Die Entwicklung dieses Gedächtnisses erfolgt in der Hirnrinde.

2.1.6 Tertiäres Gedächtnis

Das Tertiärgedächtnis enthält sehr schnell abrufbare Informationen. Es ist verantwortlich für lange geübte Kenntnisse, wie täglich ausgeübte Handlungen. Die im Tertiärgedächtnis gespeicherten Informationen bleiben lebenslänglich erhalten (ERVIN und ANDERS 1970).

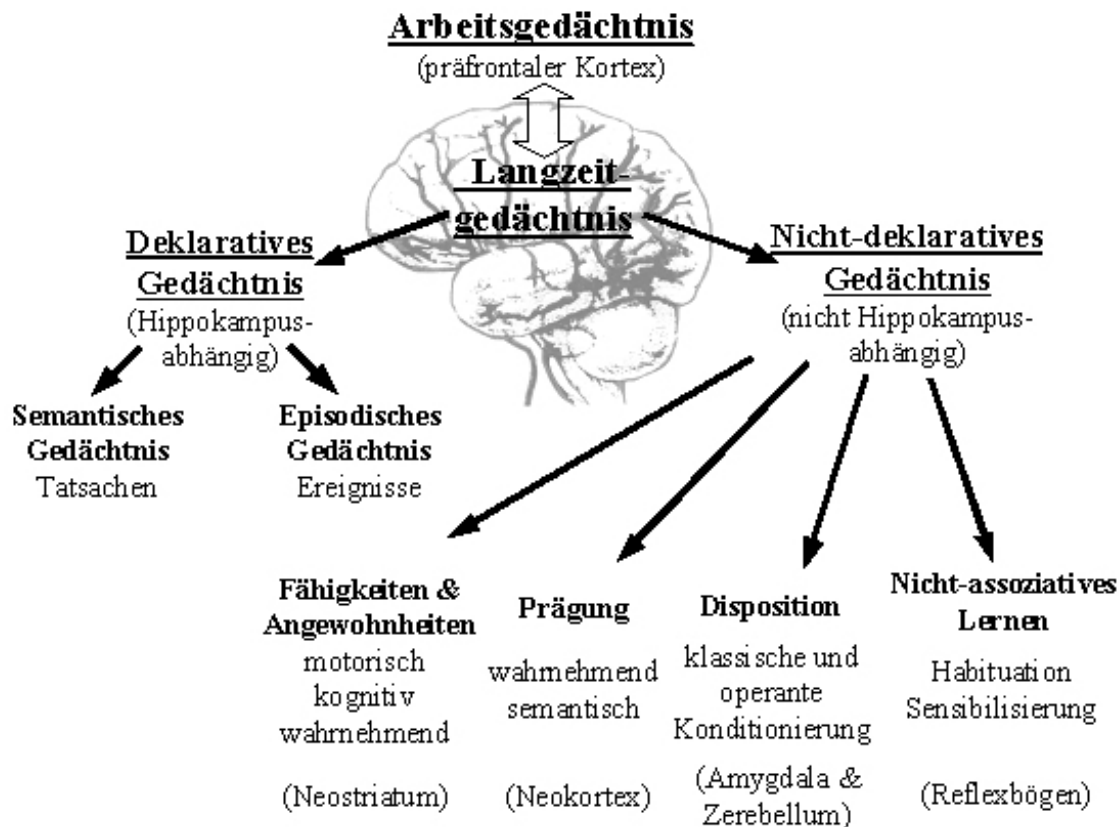


Abbildung 2: Einteilung der Gedächtnissysteme und deren neurokognitive Funktionen, modifiziert nach (SQUIRE, 1993) und (SQUIRE, 1998).

2.1.7 Neuronale Einflüsse auf Lernprozesse

Der Lernprozess und die Mechanismen, die dafür verantwortlich sind, diese erlernten Informationen zu speichern, so dass sie zu einem späteren Zeitpunkt wieder abrufbar sind, beruhen auf strukturellen Veränderungen in den synaptischen Verschaltungen und der Effizienz synaptischer Übertragung. Dabei spielen die N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDA) eine besondere Rolle in der Depolarisation an den Synapsen, indem diese Rezeptoren eine Aktivierung von kurz-, mittel- und langfristigen Veränderungen an der Prä- und vor allem an der Postsynapse verursachen. Die Gedächtnisinhalte werden nicht nur in einer einzelnen Zelle oder Synapse repräsentiert, sondern dafür sind neuronale Netze notwendig (MILTNER und WEISS, 1999).

Es existieren Regelmechanismen, die für eine gleichmäßige Aktivierung zwischen den Gedächtnissystemen sorgen. Der neurochemische Modulator Azetylcholin (ACh) besitzt in dieser Hinsicht eine wichtige Funktion, indem er an der Regulierung unabhängiger Systeme bei der Gedächtnisbildung und beim Abruf beteiligt ist. Erhöhte ACh-Freisetzung in der Amygdala fördert z. B. die Verarbeitung von Informationen in Systemen, die für Lernen und Gedächtnis essentiell sind (GOLD et al., 2001).

Der präfrontale Kortex hat neben der Hippokampusformation eine zentrale Bedeutung für Lern- und Erinnerungsprozesse. Er stellt keine homogene Struktur dar und wird bei der Ratte von dorsal nach ventral in den medial-agranulären, anterior-cingulären, prä- und infralimbischen Kortex unterteilt, wobei ersteren die Verantwortung für motorisches Verhalten und der letzteren vor allem die emotionalen und kognitiven Gedächtnisprozesse zugesprochen werden (OLTON, 1989). Der präfrontale Kortex ist involviert in Aufmerksamkeits- und Entscheidungsprozesse und determiniert zielgerichtetes Verhalten. Er unterstützt das Arbeitsgedächtnis und besitzt eine enge Beziehung zum limbischen System (SANCHEZ-SANTED et al., 1997). Das limbische System speichert erst Informationen, die zunächst in das Langzeitgedächtnis gelangen. Darin wird die Information kognitiv verarbeitet und emotional relevante Information wird integriert (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003). Der Hippokampus und die Amygdala spielen hierbei eine Schlüsselrolle. Diese Strukturen sind wegen ihrer vielfältigen Verbindungen mit anderen Hirnregionen in der Lage, die Bedeutung der jeweils verarbeiteten Signale zu bewerten. Der Hippokampus ermöglicht es, ein genaues episodisches Gedächtnis zu formen und wandelt Kurzzeitgedächtnis in Langzeitgedächtnis um (RICHTER-LEVIN und AKIRAV, 2003).

Bei emotional erregenden Ereignissen wird die Amygdala aktiviert, markiert die Erfahrung als wichtig und unterstützt die Steigerung der synaptischen Plastizität in anderen Gehirnarealen (RICHTER-LEVIN und AKIRAV, 2003). Die oben genannten limbischen Strukturen spielen vor allem eine wichtige Rolle bei den deklarativen Gedächtnisfunktionen (SQUIRE et al., 1993). Das nicht-deklarative Gedächtnis dagegen bleibt nach Schädigung des Hippokampus weitgehend unbeeinträchtigt (SQUIRE, 1994).

Neokortikale Strukturen werden für die gesamte Speicherung der Information im Langzeitgedächtnis verantwortlich gemacht. Die Zeitspanne für diese Speicherung, hängt sowohl von der Spezies als auch von der anfänglichen Lernintensität ab (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

2.1.8 Verhaltens- und Kognitionstests

Ein Verhaltenstest ist ein ethologischer Funktionstest, bei dem man das Verhalten als Hinweis für funktionelle Störungen nutzt. Da Krankheit, Leiden und allgemein gestörtes Wohlbefinden eine Änderung des Verhaltens hervorrufen kann, sind Verhaltenstests auch geeignet, eine subjektiv nicht feststellbare Reduktion der Lebensqualität zu diagnostizieren (GRAUVOGL 1983). Da der Lebensraum der Laborratten stark eingeschränkt ist, ist eine Bewertung des Verhaltens im Vergleich zu dem der wildlebenden Ratten sehr schwierig. Zusätzlich ist über die natürliche Lebensform der Wildratte sehr wenig geforscht worden. Die Beurteilung möglicher Änderungen des Verhaltens erfordert daher viel Erfahrung und wird auch häufig durch den subjektiven Eindruck des Beobachters beeinflusst. Wichtige Hinweise für das Wohlbefinden sind vor allem eine stabile Gewichtszunahme, regelmäßiges Putzen, das sich in einem glatten und glänzenden Fell widerspiegelt und schließlich die Freude der Tiere am gemeinsamen Spiel.

Die Versuchstiere zur Bewältigung bestimmter Testaufgaben aufzufordern hat den Vorteil, dass man über eine objektive und messbare Bewertung auftretende motorische und/ oder physische Defizite identifizieren kann (SPINELLI und MARKOWITZ, 1987).

Kognition ist einer der wichtigsten Bestandteile allen menschlichen Verhaltens. Die Eigenschaft zu besitzen, Ereignisse aus der Umwelt zu beachten und verarbeiten, sie zu verstehen und sich daran zu erinnern, ermöglicht die Bewältigung des alltäglichen Lebens. Dadurch, dass sich im Leben immer etwas verändert, modifiziert sich das Verhalten auf Basis vergangener Erfahrungen mit dem der neu gewonnenen, und das „Klarkommen“ im Leben wird dabei erhalten. Störungen in dieser kognitiven Funktion können verheerende Auswirkungen mit sich bringen (DECKER, 1995). Kognitive Dysfunktionen kommen leider relativ häufig vor, z. B. bei Schlaganfall und nach Herzoperationen.

Tiermodelle zur Untersuchung der kognitiven Fähigkeiten dienen einer Vielzahl von Zwecken. Solche Tiermodelle verschaffen ein größeres Verständnis für die grundlegenden elektrophysiologischen und biochemischen Mechanismen kognitiver Lern- und Gedächtnisprozesse. Um geschädigte Gehirnstrukturen und deren beteiligten Kreisläufe zu identifizieren werden besondere Schädigungs-Modelle eingesetzt, die Information über die neuronalen Ursachen kognitiver Defizite gewährleisten können (DECKER, 1995).

2.1.9 Überblick über gebräuchliche Verhaltenstests

Für einen effektiven Versuchsablauf sollten die Tests eine möglichst geringe Beeinträchtigung für das Wohlbefinden der Tiere darstellen, Schmerzlosigkeit garantieren, eine Möglichkeit für tiergerechte Haltung und Umgang mit den Versuchstieren bieten und eine einfache Durchführung der Tests, mit möglichst geringem instrumentellen, personellem und finanziellem Aufwand, ermöglichen.

Im Laufe der Zeit und nach dem heutigen Stand der Forschung, stehen eine Vielzahl unterschiedlichen Paradigmen zu Verfügung, alle mit dem gleichen Ziel, nämlich bestmögliche Ergebnisse in der Untersuchung von kognitiven Defiziten zu gewähren. Am häufigsten finden die Maze Tests Anwendung, auch Labyrinthmodelle genannt. Bei den Maze Tests, werden mit einer bestimmten labyrinthischen Anordnung umweltbedingte und optisch-räumliche Aufgaben gestellt. Diese Maze Tests sind gut geeignet, um Orientierungsvermögen und kognitive Fähigkeiten der Tiere zu untersuchen.

Maze Tests unterscheiden sich hinsichtlich ihres Aufbaus, aber auch in den prinzipiellen Aufgaben, die das Tier bewältigen muss, gibt es zum Teil gravierende Unterschiede. Der am häufigsten eingesetzte Maze Test, ist der Morris-Water-Maze (MORRIS, 1984), der aus einer zusammenklappbaren Plattform innerhalb eines kreisförmigen Wasserbehälters besteht. Die Tiere lernen mit Hilfe von an der Wand sichtbar angebrachten Symbolen, schwimmend eine im Zentrum dieses Wasserbehälters gelegene, überschwemmte Plattform zu erreichen. Der Morris-Water-Maze eignet sich gut für Untersuchungen der räumlichen Orientierung und der motorischen Aktivität.

Der Radial-Arm-Maze (OLTON et al., 1979) besteht aus einer strahlen-förmigen Anordnung von mehreren ausgestreckten Armen, alle mit gleichen Ausgangspunkt. Hier werden die Tiere

vorher restriktiv gefüttert, um die Motivation, die Futterbelohnungen zu suchen, zu steigern. Mit dieser Testanordnung werden die räumliche und die visuell-räumliche Orientierung, die motorische Aktivität und auch das Arbeits- und Langzeitgedächtnis beurteilt.

Der Elevated-Plus-Maze (HODGES, 1996) besteht aus zwei Gängen, die kreuzförmig angeordnet sind. Einer der Gänge ist bedeckt und geschlossen, der andere ist nach oben hin offen. Dieser Test ist entwickelt worden, um das Angstverhalten der Tiere zu erforschen.

2.1.9.1 Der modifizierte Hole Board Test nach OHL: Erfindung und Funktion

Alternativ zu herkömmlichen Testbatterien gelingt es mit dem neu entwickelten modifizierten Hole Board (mHB) Paradigma, eine Vielzahl von Verhaltensmustern in einem einzigen Test zu erfassen (OHL et al., 2001a). Es beinhaltet im Wesentlichen die Eigenschaften eines Hole Boards und eines offenen Feldes.

Das offene Feld (open field) wurde erstmals 1936 von HALL (1936) zur Untersuchung von unkonditioniertem Angstverhalten der Ratte in einer zirkulären, hell erleuchteten und allseits von einer Wand umgebenen Arena beschrieben. Die Standardprozedur impliziert eine erzwungene Konfrontation mit dem offenen Feld, wobei das Tier entweder zentral oder peripher platziert wird. In dieser Situation ziehen Nagetiere spontan die Peripherie der Mitte vor, und bewegen sich am liebsten nahe den Wänden fort (Thigmotaxis) (PRUT und BELZUNG, 2003). Dabei gilt das Vermeidungsverhalten gegenüber dem offenen z. B. ungeschützten Gebiet oder Zentrum auch als Angstindikator und steht im Gegensatz zum Explorationsverhalten. Exploration umfasst ein breites Spektrum an Verhaltensmustern, wie Risikoabschätzungsverhalten oder Erkunden durch Laufen, Aufrichten auf die Hinterbeine, Schnuppern und Objekte manipulieren (OTTER et al., 1997).

Ursprünglich wurde das Hole Board zur Evaluierung rein exploratorischer Parameter von Nagetieren konzipiert (FILE und WARDILL, 1975b). Nach einer Abwandlung diente das mHB Paradigma zur Untersuchung der kognitiven Funktion als auch stressrelativiertem Verhalten bei Spitzmäusen (OHL und FUCHS, 1999) und wurde daraufhin für die Untersuchung einer Vielzahl von Verhaltensmustern bei Nagetieren adaptiert (OHL et al., 2001b).

Erstmals können mit dem mHB Paradigma komplexe Verhaltensmuster in einem einzigen Test erfasst werden, wodurch eine echte Alternative zu den häufig verwendeten Testbatterien geschaffen wurde. Die entstehenden Vorteile sind nicht nur in geringeren benötigten GesamtTierzahlen, sondern auch immenser Zeit-, Personal- und Kostenersparnis zu sehen. Darüber hinaus können mit dem mHB Test auch wesentliche Nachteile herkömmlicher experimenteller Verhaltenstests überwunden werden, die ansonsten mit der gemessenen Leistung der Tiere im Test interferieren könnten. Bei Untersuchungen der kognitiven Funktion von Nagetieren werden hauptsächlich physikalische Stressoren, wie z.B. die Nahrungskarenz, verwendet (HODGES, 1996). Futterentzug dient in vielen Testprozeduren dazu, die Motivation den Test zu absolvieren, noch zu erhöhen. Ein anderer großer Stressfaktor für die Tiere ist der Transport aus dem gewohnten Versuchskäfig bis in den Versuchsraum und/oder zur Testapparatur. Diese Nachteile sind auch mit ein Grund, weshalb die meisten Verhaltenstests für Nagetiere eher deren Reaktion auf ein stressvolles Ereignis messen, als spezifische Einflüsse auf verschiedene Verhaltens- und/ oder kognitive Parameter, wie manchmal behauptet wird (PRUT und BELZUNG, 2003). Im mHB Test kann Transportstress durch die spezielle Konzeption des Versuchskäfigs verhindert werden. Der außergewöhnliche Versuchskäfig umfasst sowohl Tierabteil als auch Versuchsarena, die nur durch eine durchsichtige durchlöchernde Trennwand voneinander getrennt sind. Auch Isolationsstress, ein wichtiger Einflussfaktor v. a. von Angstassoziertem Verhalten (OHL et al., 2001a), (PRUT und BELZUNG, 2003) wird minimiert, indem die Tiere während eines Durchlaufs durch die Trennwandlöcher Kontakt zu ihren im Tierabteil verbleibenden Gruppenmitgliedern aufnehmen können (OHL, 2004) (Siehe Abbildung 3). Insgesamt tragen diese Faktoren vermutlich zur hohen Motivation der Tiere bei, den mHB Test stressfrei und auch ohne Futter- und Wasserentzug zu absolvieren. Der mHB ermöglicht es, ein breites Spektrum an Verhaltensänderungen zu erfassen, v. a. angstassoziertes Verhalten, Risikoabschätzung, Explorationsstrategien, Fortbewegungsaktivität, Erregung und soziale Affinität. Darüber hinaus können auch kognitive Parameter untersucht und evaluiert werden (OHL et al., 2001b). In den letzten Jahren ist der mHB Test in der eigenen Arbeitsgruppe zur Untersuchung der postoperativen kognitiven Funktion nach zerebralen Schädigungsmodellen in Verbindung mit EKZ an Ratten eingesetzt worden. Er wurde auch erfolgreich angewandt, um vergleichende kognitive Fähigkeiten von Ratten nach Infektion mit *E. coli* Bakterien bzw. Infektionen mit devitalisierten *Corynebacterium parvum* zu untersuchen (MICHAELIS 2002). Auch MANNIS (2001) nutzte diesen Test um zu untersuchen, ob die Induktion zerebraler

Stickoxidsynthesen während einer systemischen Infektion kognitive Leistungsstörungen an der Ratte verursacht.



Abbildung 3: Kontaktaufnahme (schnuppern der Trennwand) zwischen einer Ratte während eines Durchlaufes mit deren im Tierabteil zurückgebliebenen Artgenossen (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

2.1.9.2 Testbeschreibung des modifizierten Hole Board Tests

Das modifizierte Hole Board (mHB) ist ein PVC Brett, mit 15 Löchern, auf denen sich Deckel befinden, die von den Tieren geöffnet werden können. Die Tiere werden vor dem Versuchsbeginn an das Hole Board gewöhnt und habituiert, um mögliche Angst- und Stressfaktoren zu reduzieren und/oder zu vermeiden (OHL et al., 2001a), um anschließend im Versuch bestmögliche Ergebnisse zu erzielen. Danach werden täglich in der Lernphase drei verschiedene Löcher mit einem weißen Klebestreifen markiert. In jedem von den markierten Löchern befindet sich eine Futterbelohnung. Die Gesamtzeit wird gemessen, bis alle Futterbelohnungen gefunden und gefressen sind, außerdem werden Fehler, das Öffnen eines nicht markierten Lochs und Wiederholungen, von bereits erfolgreich besuchten markierten

Löchern bestimmt. Ebenso wird die Zeit, die das Tier unbeweglich in einer Position verharrt (Immobilität) und die Zeit, die es mit Kontaktaufnahme zu den anderen Tieren verbringt aufgezeichnet. Mit diesem Test können Explorations- und Motivationsparameter bei Nagetieren beobachtet werden.

Exploration wird weiter in gerichtete und ungerichtete Exploration unterteilt, wobei erstere die zielgerichtete Exploration definierter Objekte umfasst (FILE und WARDILL, 1975a). Im mHB Test wird dementsprechend das Besuchen von Löchern als gerichtete Exploration gewertet. Als Indikator für generelle, ungerichtete Exploration der Umgebung wird das Aufrichten des Oberkörpers und Erheben auf die Hinterbeine (Rearings) verstanden. Auf der Bewegungsaktivität (Lokomotion) oder deren Abwesenheit (Immobilität) basiert letztendlich jedes sichtbare Verhalten (LISTER, 1987). Daher muss jeder Parameter während eines Durchlaufs in Bezug zur Lokomotion, gemessen an den Linienübertritten (Line Crossings) bzw. in Bezug zur vollständigen Bewegungslosigkeit (Immobilität), gesetzt werden. Sowohl die Immobilität, als auch die erhöhte Anzahl an Linienübertritten kann ein Zeichen für artspezifisches Angstverhalten bei Nagetieren sein. So wird z. B. Vermeidungsverhalten offener Flächen als Angst interpretiert (CRAWLEY, 1981). Außerdem laufen Nagetiere in einer fremden Umgebung bevorzugt dicht an den Wänden entlang (Thigmotaxis). Erst nach einer gewissen Zeit trauen sie sich, den geschützten Wandbereich zu verlassen und eine offene Fläche zu explorieren (PRUT und BELZUNG, 2003). Dabei entspricht das mHB dem ungeschützten, offenen Areal, da es sich zentral in der Versuchsarena befindet.

In der kognitiven Variante des mHB Tests sollen die Tiere durch Assoziation lernen, visuell markierte Löcher mit Futterbelohnungen zu verbinden. Dementsprechend wird die kognitive Leistungsfähigkeit eines Tieres anhand der Besuche von markierten Löchern während eines Durchlaufs gemessen. Die Gesamtzeit eines Durchlaufs errechnet sich aus der Zeit, die ein Tier benötigt, um alle drei Futterbelohnungen zu finden und zu fressen. Dadurch dient die Gesamtzeit als Indikator für die Motivation, aber auch für die Lernleistung des Tieres. Besuche von nicht markierten Löchern ohne Futterbelohnung (Wrong Choices) werden als Fehler des deklarativen Gedächtnisses gewertet. Diese Gedächtnisform umfasst bewusste Erinnerung an Fakten und Ereignisse (SQUIRE, 1998). Um den mHB Test zu erlernen, muss das Tier markierte Löcher mit Futterbelohnungen assoziieren und sich deren Sequenzen über mehrere Versuchsdurchläufe hinweg merken können. Da die Sequenz der markierten Löcher täglich wechselt, soll ein automatisierter, nicht deklarativer Gedächtnisprozess zum Auffinden

Schrifttum

der markierten Löcher ausgeschlossen werden. Wiederholte Besuche (Repeated Choices) eines bereits erfolgreich besuchten markierten Lochs, werden in einem Durchlauf als Wiederholung definiert. Um solche zu vermeiden, muss sich ein Tier während eines Durchlaufs erinnern, welches markierte Loch von ihm bereits erfolgreich besucht wurde. Diese zeitlich begrenzte Speicherung von Information wird dem Arbeitsgedächtnis zugeordnet (GOLDMAN-RAKIC, 1996).

2.2 Das Gehirn

Das Gehirn ist der kraniorostrale Teil des zentralen Nervensystems (ZNS). Beim Menschen wird das Gehirn anatomisch in verschiedene Abschnitte eingeteilt. Man unterscheidet das Endhirn (Telencephalon) mit den beiden Hemisphären, das Zwischenhirn (Diencephalon), zu dem der Hypothalamus gehört, das Mittelhirn (Mesencephalon) und das Rautenhirn (Rhombencephalon). Dieser Aufbau stimmt im Grundprinzip mit dem Gehirn der Ratte überein. Auch ist das menschliche Gehirn in seiner Funktion und Blutversorgung mit dem der Ratte vergleichbar. Deshalb geht man davon aus, dass die aus dem Tierversuch gewonnenen Erkenntnisse weitgehend auf die Humanmedizin übertragbar sein können (LIEBMANN, 1993).

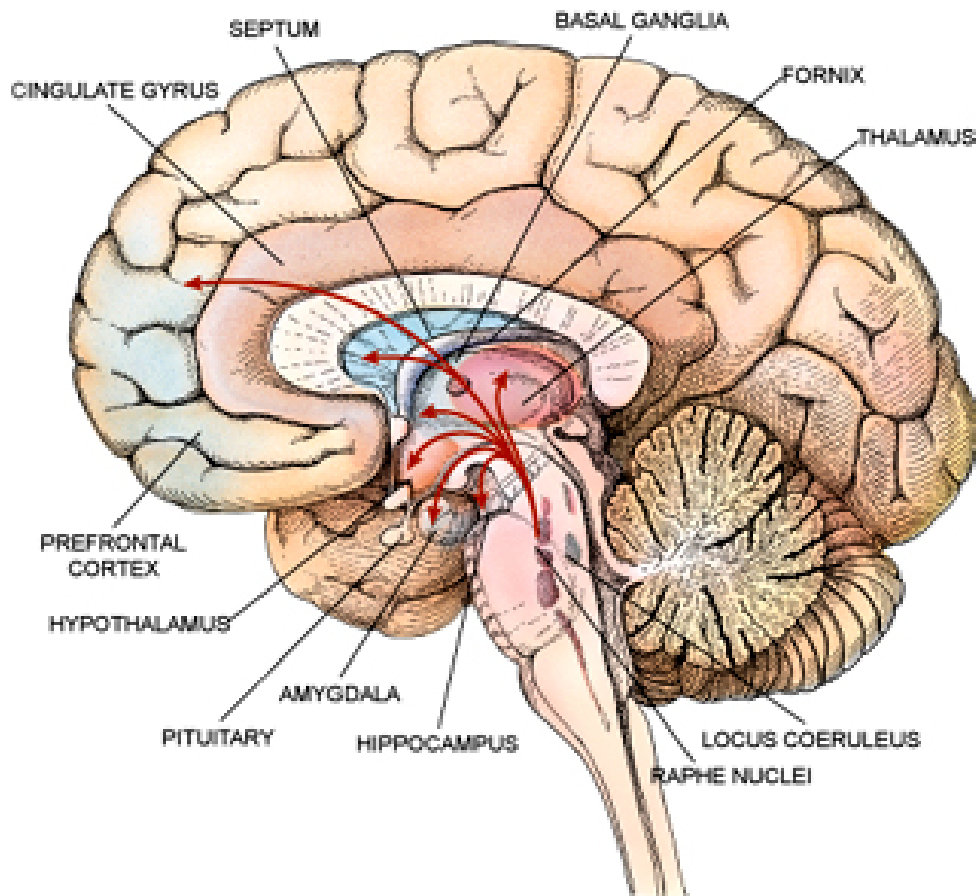


Abbildung 4: Überblick über die verschiedenen Gehirnstrukturen und deren Blutversorgung (Donner 1992)

2.2.1 Gefäßversorgung des Gehirns

Das Gehirn macht nur 2% des Körpergewichtes aus. Vom Herzzeitvolumen (HZV) fließen 16 bis 17% zum Gehirn. Es benötigt ca. 20% des gesamten im Körper umgesetzten Sauerstoffes. Dadurch wird die Bedeutung einer adäquaten Blutversorgung des Gehirns deutlich (LIEBMANN, 1993). Die Durchblutung des Gehirns sichert die Zufuhr von Sauerstoff, Glukose und anderen Nährstoffen und entfernt gleichzeitig Kohlendioxid, Laktat und andere Abbauprodukte.

2.2.2 Regulierung der Gehirndurchblutung

Das Gehirn besitzt zur Aufrechterhaltung eines relativ konstanten zerebralen Blutflusses (CBF) muskuläre, neuronale und chemische Kontrollmechanismen. Dazu gehören die Autoregulation des Blutdruckes, d. h. eine Konstriktion der Gehirnarteriolen bei steigendem systemischem Blutdruck und eine Erweiterung bei systemischer Blutdrucksenkung (LIEBMANN, 1993).

Die zweite Form der Autoregulation erfolgt über die Blut- und Gewebegase und den pH-Wert. Bei Absinken des arteriellen Kohlendioxid-Partialdruckes ($P_a \text{CO}_2$) im Rahmen einer Hyperventilation, verengen sich die Gefäße und die zerebrale Durchblutung nimmt ab. Wenn der arterielle $P_a \text{CO}_2$ wiederum steigt, erweitern sich die Arteriolen und der zerebrale Blutfluss nimmt zu (LIEBMANN, 1993).

2.2.3 Definition der zerebralen Ischämie

Eine Ischämie stellt eine Reduktion oder Unterbrechung der Durchblutung eines Organs, Organteils oder Gewebes infolge mangelnder arterieller Blutzufuhr dar. Die Ischämie kann demnach inkomplett bei erhaltener Residualdurchblutung, oder komplett bei vollständig sistierender Durchblutung sein (WERNER, 1993). Diese allgemeinen Grundsätze der Pathologie treffen auch auf das Gehirn zu. Das Gehirn besitzt eine sehr geringe Toleranz gegenüber Minderdurchblutung. Der Grund dafür ist die begrenzte Sauerstoff- und Glukose-Speicherkapazität. Ausgangspunkt der zerebralen Ischämie ist deshalb das gegenüber dem benötigten Bedarf erniedrigte Angebot an Sauerstoff und Glukose. Außerdem ist die Menge an zerebralem Adenosintriphosphat (ATP) sehr gering.

Die zerebrale Ischämie kann als Folge von Trauma, Neoplasien, Blutungen, Ödemen, chirurgischer Intervention mit Gefäßligatur, Blutverlust, Schock, Embolien, Thrombose, Vasospasmus, Herzstillstand oder der Verlegung von Gefäßen durch einen raumfordernden Prozess in unmittelbarer Umgebung auftreten (WERNER, 2000).

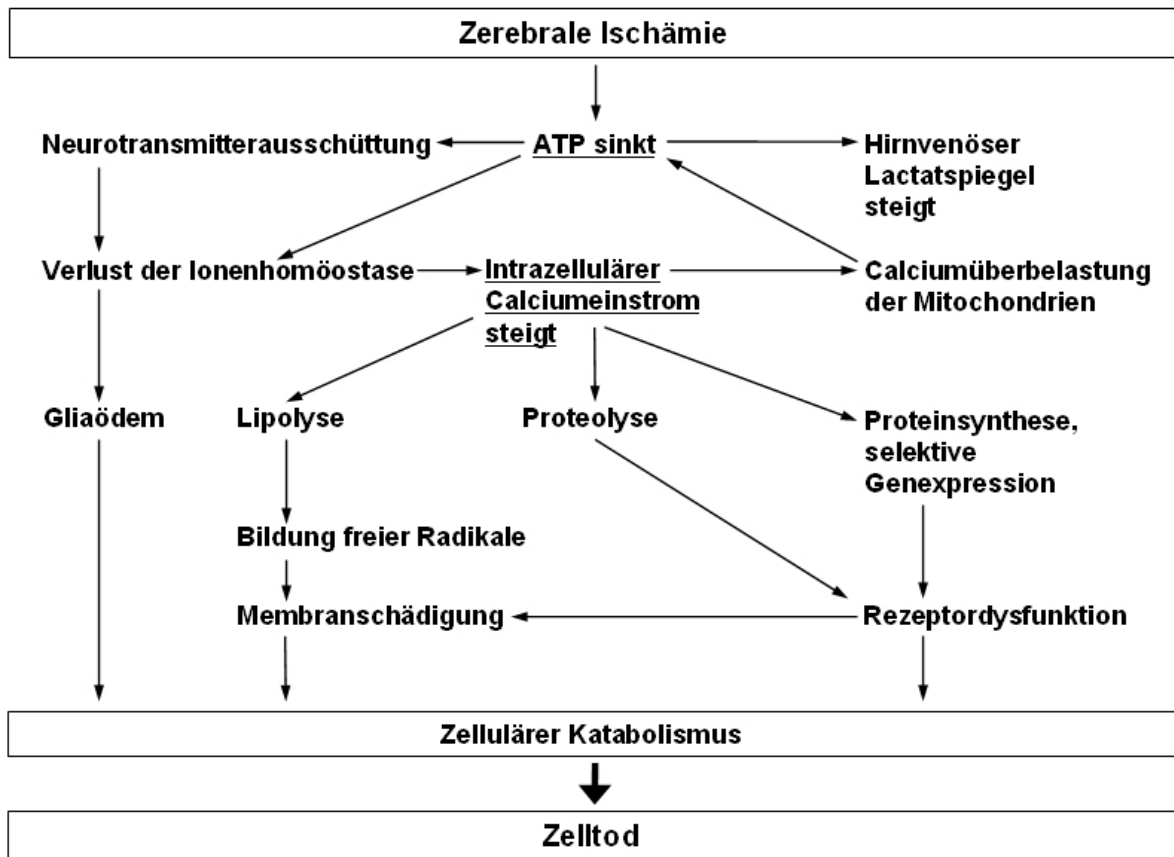


Abbildung 5: Ischämiekaskade im Verlauf des hypoxisch-ischämischen Nervenzellschadens. (WERNER 1993).

2.3 Extrakorporale Zirkulation (EKZ)

Erste Anwendung fand die extrakorporale Zirkulation (EKZ) in der Herzchirurgie beim Menschen bereits Mitte des letzten Jahrhunderts (DENNIS et al., 1951, GIBBON, 1954). Seither sind beachtliche Fortschritte in der Anästhesie und Chirurgie gemacht worden. Darüber hinaus hat die Durchführung der EKZ technisch zu einer Reduktion der Morbidität und Mortalität geführt. Trotz dieser Meilensteine bleiben neurologische und kognitive Defizite nach herzchirurgischen Eingriffen mit EKZ als signifikante und häufige Komplikationen bestehen (ROACH et al., 1996).

GIBBON (1937) konstruierte die erste Herz-Lungen-Maschine, die er an Katzen testete und sie als „Pumpen-Oxygenator“ bezeichnete.

Das Modell von WEHBERG et al. (1996) wurde entwickelt, um den Einfluss von Stickstoffoxid auf die Flüssigkeitsakkumulation während eines totalen normothermen Bypasses mit zentraler Kanülierung an Ratten zu testen. Zur arteriellen Kanülierung diente die Aorta, zur venösen der rechte Vorhof. Der Bypass dauerte drei Stunden, danach wurden die Tiere euthanasiert. Das extrakorporale Volumen betrug 30 ml, so dass zusätzliches Spenderblut benötigt wurde.

Das partielle Ratten-Bypass-Modell von SASAKI et al. (1996) untersuchte das Ischämie-Reperfusion Phänomen. Die Kanülierung erfolgte peripher über die Jugularvene für die venöse Drainage und die Femoralarterie für den arteriellen Rückfluss. Die Fülllösung des Kreislaufs von 25 ml bestand aus frischem Spenderblut, Ringer-Laktat-Lösung, Mannitol und Natriumbikarbonat. Der Oxygenator hatte eine Oberfläche von 0,05 m² und sorgte ca. 2 Stunden für eine ausreichende Oxygenierung.

FABRE et al. (2001) erstellten ein Langzeit-Überlebensmodell nach einer 90 minütigen partiellen EKZ bei der Ratte. Kanüliert wurden die rechte Femoralvene und -arterie. Die Tiere wurden 3 Wochen nach dem Eingriff euthanasiert. In dieser Studie wurde auch demonstriert, dass dieses Modell erstens einfach durchzuführen war und zweitens ein gutes postoperatives Überleben erlaubte.

Das Modell von MACKENSEN et al. (2001) ermöglichte ein Langzeit-Überleben von 12 Tagen bei Ratten nach einer 60 minütigen normothermen kompletten EKZ (mit einem Gesamtfüllungsvolumen von 40 ml). Die Schwanzarterie wurde für den Einstrom des Blutes kanüliert, das rechte Atrium für die venöse Drainage. Untersucht wurden die neurologischen und neurokognitiven Dysfunktionen nach EKZ.

In einer Studie von JUNGWIRTH et. al (2003) wurde ein technisch verbessertes Modell des von MACKENSEN et al. (2001) und GROCOTT et al. (2001) verwendeten Bypassmodells für eine komplette extrakorporale Zirkulation und die Auswirkungen dieses Eingriffes auf die kognitiven Fähigkeiten von Ratten untersucht. Ein an die Rattengröße adaptierter Oxygenator, mit einem Füllungsvolumen von 4 ml, führte zu einer Verminderung des Gesamtvolumens auf 10 ml und der damit benötigten Spendertiere auf jeweils eines. Dieses verbesserte Modell weist weder bei den kognitiven, noch bei den neurologischen Untersuchungen bleibende Veränderungen auf (JUNGWIRTH et al., 2003). Alle bisherigen EKZ Modelle arbeiten mit Oxygenatoren die Blut von mehr als einer Spenderratte benötigten. GROCOTT et al. (2001) beschrieben in ihrer Studie neurologische Schäden, die nach einer kompletten extrakorporaler Zirkulation bei der Ratte auftraten. Sie verwendeten einen Oxygenator für Neugeborene und Kinder, dessen Nachteil das große Füllungsvolumen von 32 ml ist und für dessen Füllung zwei Spenderratten benötigt wurden (GROCOTT et al., 2001).

Aus technischen Gründen sind Ratten Modelle die kleinste vorstellbare und praktisch durchführbare EKZ Modelle. Abgesehen davon, dass das Herz der Ratte kleiner ist, unterscheidet sich seine Anatomie nicht wesentlich von der des menschlichen Herzens. Die einzig wichtige Abweichung tritt auf der venösen Seite auf (HEBEL und STROMBERG, 1986). Dem Rattenherz fließen drei Vv. Cavae zu: zwei Vv. Cavae superiores und eine V. cava inferior (MOMMA et al., 1992). Die Aufteilung der Aorta ascendens, des Aortenbogens und der Aorta descendens ist vollständig analog der des Menschen (GOLDBERGER 1990).

2.3.1 Vollständige und partielle extrakorporale Zirkulation

Eine vollständiger/totaler extrakorporale Zirkulation (EKZ) bedeutet, dass das gesamte venöse Blut aus der V. cava superior und inferior und aus dem Sinus coronarius direkt in den Oxygenator geleitet wird, und dass kein Restblut vom rechten Ventrikel in die Lunge

gepumpt wird. Die pulmonalarterielle Druckkurve zeigt dadurch einen nicht pulsatilen Flow an. Eine partielle EKZ bedeutet, dass ein Teil des venösen Blutes weiterhin durch den rechten Ventrikel gepumpt wird. Der andere Teil wird dem Oxygenator zugeleitet und dem arteriellen Kreislauf zugeführt (ARENS 1976).

2.3.2 Oxygenator

Der Oxygenator ist die „künstliche Lunge“ der HLM, in der das in die Maschine einströmende venöse Blut mit Sauerstoff angereichert und das Kohlendioxid eliminiert wird. Für den Gasaustausch im Oxygenator ist eine große Oberfläche erforderlich, damit sich Blut- und Gasphase äquilibrieren können. Grundsätzlich gibt es 2 Typen von Oxygenatoren, die sich durch die Art der Trennung von Blut- und Gasphase unterscheiden (KAPLAN, 1979):

→ Gemeinsame Blut-Gas-Phase (O_2 und CO_2 strömen durch die Blutsäule des Reservoirs):
Bubble- Oxygenator

→ Getrennte Blut-Gas-Phase (O_2 und CO_2 sind von der Blutsäule des Reservoirs durch eine Membran getrennt): Membranoxygenator



Abbildung 6: Herz-Lungen-Maschine mit venösem Reservoir, Rollerpumpe, Membranoxygenator, Flowmeter und verbindenden Silikonschläuchen (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

2.3.3 Komplikationen der EKZ

Häufige Komplikationen nach EKZ sind zentralnervöse und neurologische Schäden, die zu verlängerten Krankenhausaufenthalten sowie erhöhter Morbidität und Mortalität führen. Diese Komplikationen haben einen nachteiligen Einfluss auf die Lebensqualität (NEWMAN et al., 2001a) und führen zu einer allgemeinen Kostenerhöhung im Gesundheitssystem (ROACH et al., 1996).

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

Das nach internationalen Maßstäben (Internationale Klassifikation der Krankheiten ICD-10, World Health Organization) definierte Delirium stellt ein unspezifisches organisches Hirnsyndrom dar und ist gekennzeichnet durch akut auftretende Störungen von Bewusstsein,

Kognition, Gedächtnis, Emotion und psychomotorischer Funktion, sowie Störungen des Schlaf-Wach Zyklus (O'KEEFE und NI CHONCHUBHAIR, 1994). Für gewöhnlich entwickelt es sich akut mit einem Manifestationsmaximum am zweiten postoperativen Tag und ist gekennzeichnet durch einen fluktuierenden klinischen Verlauf (MARCANTONIO et al., 1994). Einer schnellen Diagnose mit Abstellen der Kausalfaktoren, unterstützt durch exzellente Pflegehilfe, kommt vermutlich eine Schlüsselrolle bei der erfolgreichen Vermeidung und Therapie des postoperativen Deliriums zu (MARCANTONIO et al., 2001). Unbehandelt stellt das postoperative Delirium jedoch einen Risikofaktor für langanhaltende kognitive Dysfunktion dar (ROGERS et al., 1989). Dies ist dagegen eher durch subtilere Veränderungen charakterisiert, wie z.B. durch Bewusstseins Einschränkungen, Verluste kognitiver Fähigkeiten und des Orientierungsvermögens, sowie Gedächtnis- und Lerndefizite. In dieser Studie wurden v. a. die langfristigen neurokognitiven Defizite untersucht.

2.3.4 Zentralnervöse Schäden nach EKZ

Das Auftreten zentralnervöser Schäden nach Herzoperationen mit EKZ variiert beträchtlich wenn man die einzelnen Veröffentlichungen betrachtet. Ursache hierfür sind u. a. bereits erwähnte unterschiedliche Definitionen postoperativer zentralnervöser Schäden. Aber auch andere Faktoren, wie Alter der Patienten, präoperative kognitive Leistungsfähigkeit und Bildungsniveau, sowie gleichzeitig bestehende Krankheiten oder Art der Diagnosefindung tragen zur unterschiedlichen Häufigkeit eines postoperativen Deliriums oder postoperativen kognitiven Dysfunktionen bei (DYER et al., 1995).

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

Herzchirurgie. So konnte bei 80% der Patienten nach Herzoperationen mit EKZ noch während des Krankenhausaufenthalts POCD festgestellt werden, die bei 42% der Patienten sogar noch nach drei bis fünf Jahren bestanden (SELNES et al., 1999; NEWMAN et al., 2001b).

Auch wiesen Patienten mit POCD sogar noch fünf Jahre nach herzchirurgischen Eingriffen eine deutlich reduzierte Lebensqualität auf, was sich u. a. darin widerspiegelte, dass sie wesentlich schlechter in den Arbeitsprozess reintegriert werden konnten (NEWMAN et al., 2001a).

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

2.3.5 Pathophysiologie und Ätiologie zentralnervöser Schäden

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

Zerebrale Embolien

Bei den zerebralen Embolien unterscheidet man Makro- (z.B. atherosklerotische Debris oder Fettpartikel) und Mikroembolien (z.B. Gasbläschen oder kleinere korpuskuläre Partikel), die entweder im Patienten selbst oder im Zuge der EKZ generiert werden. Dabei zählen patientenvermittelte Ursachen wie Grad der atheromatösen Erkrankung der Aorta, intrakardiale Thromben oder valvuläre Kalzifikationen des Herzen zu den individuellen Risikofaktoren für zerebrale Embolisierung und damit verbundene postoperative neurokognitive Defizite (BLAUTH et al., 1992). Vor allem während Kanülierung und Dekanülierung der Aorta (BAKER et al., 1995) sowie Klemmen der Aorta und Entfernung der Klemmen (SYLIVRIS et al., 1998) können sich atherosklerotische Plaques lösen und zu

zerebralen Embolien führen. Chirurgische Eingriffe an der offenen Herzkammer sind dagegen eher mit gasförmigen Embolien assoziiert (BRAEKKEN et al., 1997). Zusätzlich erhöht die Reinfusion von abgesaugtem Blut während der Thorakotomie die Anzahl nachweisbarer zerebraler Lipid-Mikroemboli um das sechsfache (BROOKER et al., 1998). Eine weitere wichtige Rolle spielt vor allem die Dauer der EKZ, die in der Literatur übereinstimmend mit einem Anstieg der embolischen Belastung assoziiert ist (BROWN et al., 2000).

Zerebrale Embolien kommen bei Patienten mit Herzoperationen und EKZ in sehr beträchtlichen Ausmaßen vor. PUGSLEY et al. (1994) untersuchten mit der nicht invasiven transkraniellen Dopplersonographie durch hochintensive transkraniale Signale (HITS) den Zusammenhang zwischen der Anzahl gemessener Embolien innerhalb der EKZ und dem Auftreten von neuropsychologischen Defiziten nach acht Wochen bei 94 Patienten. Bei einer HITS-Zahl von weniger als 200 zeigten 8,6% der Patienten neuropsychologische Defizite nach acht postoperativen Wochen, bei einer HITS-Zahl größer als 1000 zeigten dagegen 43% der Patienten neuropsychologische Defizite (PUGSLEY et al., 1994). Embolien verursachen durch distale Obstruktionen der Endarterienstrombahn im Gehirn eine zerebrale Ischämie mit konsekutivem Neuronenuntergang. Gasförmige Embolien neigen zudem zur Diffusion in die sehr kleinen Arterien (Durchmesser 30-60 μm) und können zusätzlich zu einer sofortigen Obstruktion und Ischämie, als auch zu einer Gasbläschenoberflächen-vermittelten Fremdkörperreaktion mit mechanischer Irritation des Gefäßendothels führen. Dies kann wiederum zelluläre und humorale Immunreaktionen hervorrufen, mit Folge von Gefäßödemen und weiterer Beeinträchtigung der Perfusion (MUTH und SHANK, 2000).

Hinweise, dass Embolien die zerebrale Funktion nachhaltig beeinträchtigen, erbrachte die Evaluierung von arteriellen Filtern bei Patienten mit EKZ und Gasdispersionoxygenatoren, wodurch die embolische Belastung und dadurch die postoperativen kognitiven Dysfunktionen verringert werden konnten (PUGSLEY et al., 1990).

Es wird auf Embolien, insbesondere Luftembolien, in Kapitel 2.4. sehr genau eingegangen.

Zerebrale Hypoperfusion

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

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

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

Neben diesen zwei Hauptfaktoren wurden aber noch weitere zahlreichen Mechanismen entdeckt, die isoliert oder in Kombination zur Ätiologie dieser Gehirnschädigung beitragen können.

Systemische Entzündungsreaktionen

Eine wichtige Rolle spielen dabei vor allem systemische Entzündungsreaktionen (SIRS), die zusätzlich zum allgemeinen Operationstrauma (DIEGELER et al., 2000) während der EKZ durch verschiedene Mechanismen, wie Oberflächenkontakt von Blut mit der EKZ Einheit (KIRKLIN et al., 1983), endotoxämische Prozesse durch Hypoperfusion im Splanchnikusgebiet (LANDOW und ANDERSEN, 1994) sowie Entwicklung von Ischämie und Reperfusionssyndrom ausgelöst und unterhalten werden können (HALL et al., 1997). Klinisch gesehen könnte die mit EKZ assoziierte SIRS sogar zum Erscheinungsbild des transienten zerebralen Ödems (HARRIS et al., 1993) beitragen, dessen Beteiligung an zentralnervösen Schäden allerdings unklar ist.

Genetische Einflüsse

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

2.3.6 Prophylaxe und Therapie

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

So wurden z.B. arterielle Filter in den extrakorporalen Kreislauf integriert, wodurch nachweislich postoperativ ein besseres neuropsychologisches Ergebnis erzielt wurde (PUGSLEY et al., 1994). Auch durch die Verwendung von Membran- anstatt Gasdispersionoxygenatoren (PEARSON et al., 1986) konnte die embolische Belastung, die durch die EKZ ausgelöst wurde, weiter verringert werden. Zerebrale Embolisation im Allgemeinen kann aber nicht völlig vermieden werden, weil ein relevanter Anteil, v. a. korpuläre Embolien, aus atherosklerotischen Veränderungen der Aorta stammen. Eine Vielzahl unterschiedlicher Verbesserungsstrategien, z. B. pharmakologisch, EKZ-technologisch und intraoperativ, wurden in der Zwischenzeit entwickelt, um die negativen Einflüsse von SIRS zu minimieren. Dabei erwies sich die hohe Komplexität der Mediatoren und ihrer Aktivierungskaskaden als großes Problem, denn, wie man inzwischen annimmt, muss für eine ausreichende Unterdrückung dieser Kaskade wahrscheinlich ein zentraler oder mehrfach involvierter Mediator, wie z.B. NF- κ B, inhibiert werden, um eine signifikante klinische Verbesserung beim Patienten zu erreichen (PAPARELLA et al., 2002). Neben diesen Maßnahmen bildet die Beeinflussung des intraoperativen Temperaturmanagements, um die Empfindlichkeit des Gehirns gegen Ischämie zu senken, eine Hauptstütze im Rahmen der Herzchirurgie.

2.4 Luftembolien

Luftembolien während herzchirurgische Operationen entstehen, indem Luftblasen über die Herz-Lungen-Maschine (HLM) oder über die offenen Herzkammern in das Blutsystem gelangen. Sie sind ein großes klinisches Problem und können zu umfangreichen Schäden führen und sogar tödlich enden. Die zwei wichtigsten Kategorien sind die venösen und die arteriellen Luftembolien: Arterielle Luftembolien entstehen, wenn Gas und/oder Luft in die pulmonale Zirkulation oder auch direkt in die Arterien der systemischen Zirkulation eindringt. Luft kann bei Überdehnung der Lunge, z. B. in Verbindung mit Dekompression, in die Arterien gelangen. Andere Ursachen für die Entstehung von arteriellen Gasembolien sind vor allem Herzoperationen, am häufigsten in Zusammenhang mit extrakorporaler Zirkulation über die Herz-Lungen-Maschine (HLM) (ZISER et al., 1999). Solche Embolien können in kleinen Arterien, insbesondere denen des Gehirns und des Herzens, erhebliche und irreversible Schäden verursachen. Zerebrale und koronare Kreisläufe sind sehr empfindlich für Veränderungen in der Blutzufuhr, da das Gehirn und auch das Herz von der regelmäßigen Versorgung mit Glukose und Sauerstoff wegen der kaum vorhandenen Speicherkapazität sehr abhängig sind.

2.4.1 Pathophysiologie und Auswirkungen auf die zerebrale Funktion

Man geht davon aus, dass zerebrale Luftembolien primär zu einer Obstruktion von Arteriolen führen. Weitere Ursachen für Schäden nach zerebrale Luftembolien sind sowohl die Einflüsse auf die Blutbestandteile (WARREN et al., 1973), als auch die Einwirkung auf vaskuläre Endothelzellen (HALLER et al., 1987a). Sekundär kommt es nach Einwirkung von Embolien zu einer Verdickung der Wand der Endothelzellen. Die Obstruktion der Blutgefäße, hauptsächlich distal der Embolien, verursacht auch eine lokale Ischämie und Entzündung des umliegenden Gewebes. Die mechanische Irritation der Endothelzellen führt zu einer vorübergehenden Schädigung der Blut-Hirn-Schranke und auch zu einer Endotelin-1-vermittelten Vasokonstriktion in der Lunge.

Im Gehirn führt die reduzierte Perfusion zum anaeroben Metabolismus und dadurch zu einer Reduktion der ATP-Produktion, so dass wiederum das neuronale Membranpotential nicht

länger aufrechterhalten werden kann. Dieser Vorgang setzt in exzitotoxischen Konzentrationen Glutamat frei, woraus sich ein zytotoxisches Ödem entwickeln kann (MUTH und SHANK, 2000).

An der Übergangsstelle Gas-Flüssigkeit kommt es zu starken elektrochemischen Kräften, die Proteine denaturieren und das Komplementsystem und die Gerinnungskaskade aktivieren. Gasembolien initiieren die lokale Immunantwort, dadurch kommt es zu einer Ansammlung und Infiltration mit Leukozyten. Diese entzündlichen Geschehen rufen noch zusätzliche Endothelschäden und die Bildung eines vaskulären Ödems hervor. Obwohl die Luftbläschen nur kurz durch das kapilläre Bett fließen, kommt es trotzdem zur Verlangsamung des Blutflusses. Die Ursache dafür sind vermutlich Leukozyten die sich an das geschädigte Endothel binden und dadurch das Lumen der Arterien und Arteriolen einengen (HELPS et al., 1990).

Bei der Entstehung von Gasembolien sind die physikalischen Eigenschaften der Gase von Bedeutung. Vor allem steht die Transportfähigkeit des Blutes für das jeweilige Gas, das durch einen Blut-Gas-Verteilungskoeffizienten charakterisiert ist, in Vordergrund. Kohlendioxid hat eine hohe Löslichkeit im Blut und besitzt den Vorteil, dass es erst in sehr hohen Mengen stabile Bläschen bilden kann. Diese vorhandene Pufferkapazität des Blutes für Kohlendioxid macht dieses Gas zu einem idealen Insufflationsgas bei vielen chirurgischen Eingriffen. Lachgas dagegen hat im Vergleich zu Kohlendioxid eine niedrige Löslichkeit im Blut. Gase wie Stickstoff, Sauerstoff und eine Reihe von Edelgasen darunter Xenon lassen sich nur schwer im Blut lösen (ROBERTS et al., 1997).

Gelangen große Luftvolumina (makroskopische Luftembolien), in die zerebrale Zirkulation, was heutzutage aber selten vorkommt, sind Schäden, wie Apoplex mit Hemiparesen, Koma und Tod die Folgen (GOLDENBERG et al., 1995). Kleine Luftvolumina (mikroskopische Luftembolien) dagegen treten trotz technischer Verbesserungen der EKZ immer noch häufig auf. Es sind v. a. neurologische Beeinträchtigungen wie Schwindelgefühl, Koordinationsstörungen, Nystagmus und reduzierte motorische Reflexe. Obwohl diese Symptome in der Regel nach einigen Wochen wieder abklingen, können langanhaltende neurokognitive und motorische Defizite zurückbleiben (O'BRIEN et al., 1997).

In einer Studie von HINDMAN et al. (1999) mit Kaninchen wurde eine Dosis-abhängige Beziehung zwischen Luftembolien und dem darauf folgenden Auftreten von neurologischen

Defiziten festgestellt. Sie zeigt, dass Mikroembolien, über einen Zeitraum von einer bis elf Minuten nach der Entstehung schnell absorbiert werden, und somit nur eine kurze Unterbrechung der zerebralen Zirkulation verursachen (HINDMAN et al., 1999). Dies wurde bestätigt durch somatosensorisch evozierte Potentiale (SSEP). SSEPs werden oft als Index für neurologische Defizite in experimentellen Modellen mit zerebralen Luftembolien eingesetzt. Nach einer Applikation von 50 μ l/kg KGW Luft in die A. carotis interna bei Kaninchen zeigte sich ein kurzes Erlöschen des SSEP-Signals, das wiederum eine Indikation dafür ist, dass die zerebrale Blutzirkulation (CBF) gleich Null ist (BRANSTON et al., 1974). Dennoch beginnt die Normalisierung der SSEPs schon nach 10 bis 15 Minuten und hat den Ausgangspunkt nach etwa 30 Minuten wieder erreicht. Ebenso stellten REASONER et al. (1996a) in einer Studie mit Kaninchen über zerebrale Luftembolien einen Dosis-abhängigen Effekt im Zusammenhang mit dem Auftreten von neurologischen Defiziten fest. Nach Injektion von Luft über die A. carotis interna wurden die Kaninchen sowohl mit SSEP als auch neurologisch untersucht, wobei eine Korrelation zwischen SSEP-Signalen und neurologischen Outcome festgestellt werden konnte (REASONER et al., 1996a).

Im Rahmen früherer Studien wurde vermutet, dass die postoperativen neurologischen Defizite nach Mikroembolien in nicht sehr starkem Maße mit der kurzen Ischämie-Dauer in Zusammenhang stehen. Sie seien vielmehr das Resultat thrombotischer und/oder entzündlicher Vorgänge, die in Verbindung mit der Reperfusion nach Reduktion des CBF entstehen (HELPS et al., 1991, RYU et al., 1996a). Im Gegensatz dazu benötigen makroskopische Luftembolien wesentlich mehr Zeit (85 bis 250 Minuten), um resorbiert zu werden (DEXTER und HINDMAN, 1997). Dadurch wird die CBF für eine längere Zeit unterbrochen und somit das Auftreten von erheblicheren ischämischen Schäden, die keine SSEP-Genesung zeigen, begünstigt (HINDMAN et al., 1999). Die Erklärung dafür ist noch nicht ganz geklärt, aber es geht um die Frage ob der CBF nach Makroluftembolien überhaupt wiederhergestellt wird, oder ob zur Zeit der Wiederherstellung der CBF schon irreversible neuronale Schäden eingetreten sind. Man kann auf jeden Fall davon ausgehen, dass das Ausmaß von ischämischen Schäden nach Makroluftembolien viel umfangreicher ist als bei Mikroluftembolien, da größere Arterien blockiert werden und dies auch für längere Zeit, was wiederum eine erhöhte Inzidenz für zerebrale Ischämien bedeutet (HINDMAN et al., 1999).

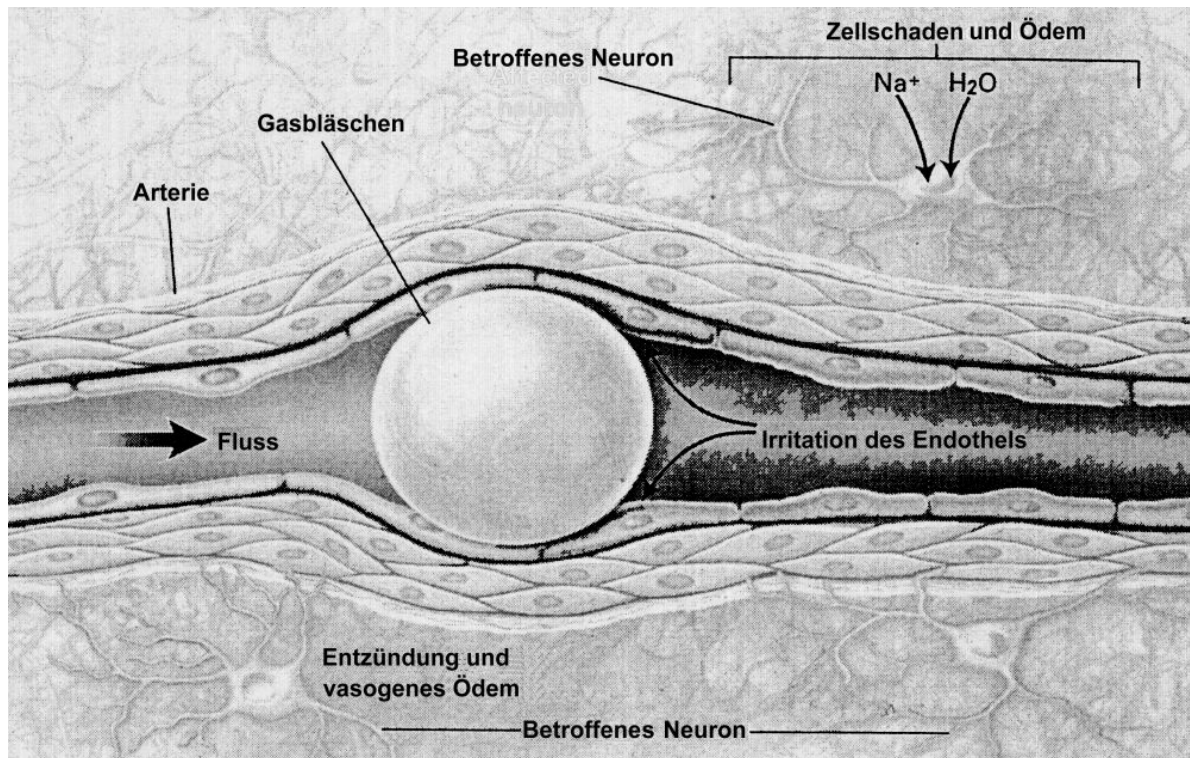


Abbildung 7: Obstruktion des end-arteriellen Blutflusses eines zerebralen Blutgefäßes wegen eines Bläschens mit Entwicklung einer Ischämie distal der Obstruktion. Die Obstruktion verursacht eine neuronale Schädigung und gleichzeitig ruft die Bläschenoberfläche eine Fremdkörperreaktion mit dem angrenzenden Gefäßendothel hervor. Es kommt zu zellulären und zytotoxischen Prozessen, die zu einem vaskulären Ödem und letztlich zu Zelluntergang und Nekrose führen (modifiziert nach MUTH und SHANK, 2000).

2.4.2 Symptomatik

Die Symptome als Folge der zerebralen arteriellen Luftembolien entwickeln sich sehr schnell. Die klinischen Zeichen werden allerdings sowohl von der quantitativen Menge Gas bestimmt, als auch davon, welche Gehirnareale betroffen sind. Die Symptome können von leichten motorischen Störungen, Kopfschmerzen und moderaten Verwirrungszuständen bis hin zur vollständigen Verwirrung, Hemiparese, Schlaganfällen, Bewusstseinsdefiziten und Koma reichen (TOVAR et al., 1995). Patienten sind während herzchirurgischer Eingriffe für Gasembolien prädisponiert und sollten deshalb in der Aufwachphase unter strenger Beobachtung gehalten werden, weil eine Verzögerung des Aufwachens nach der Anästhesie und/oder eine Beeinträchtigung des Bewusstseins Zeichen von perioperativen zerebralen Luftembolien sein könnten. Hier eine richtige Diagnose zu stellen ist mit Schwierigkeiten

verbunden, da Komplikationen in Verbindung mit der Anästhesie auftreten können, wie zum Beispiel sowohl das bekannte zentrale anticholinerge Syndrom als auch die Restwirkung von Anästhetika und Muskelrelaxantien, die Symptome der zerebralen arteriellen Luftembolien unterdrücken können.

2.4.3 Diagnostik

Der wichtigste Anhaltspunkt für die Diagnose ist die Vorgeschichte des Patienten, weil ein klinischer Verdacht auf Embolien in direkter Verbindung mit den auftretenden neurologischen Symptomen und deren zeitlichem Zusammenhang mit der Durchführung des chirurgischen Eingriffs steht. Mit Computertomographie (CT) können zerebrale arterielle Luftembolien von zerebralen Infarkten und von intrazerebralen Blutungen unterschieden werden (VOORHIES und FRASER, 1984). Dennoch sind pathologische Änderungen häufig sehr subtil und nicht deutlich zu erkennen im CT.

In Kernspintomographien vom Cerebrum können erhöhte Mengen Wasser in den geschädigten Gehirnarealen festgestellt werden. Diese Methode ist nicht zuverlässig genug, um Embolien festzustellen in Fällen, in denen die Symptome nicht deutlich sind. Eine zusätzliche Möglichkeit Luftembolien festzustellen, ist die unspezifische aber häufig beschriebene Hämatokritkonzentration (HKT). Es wird vermutet, dass ein erhöhter HKT eine direkte Wirkung auf den Flüssigkeitsverschiebung zwischen den Gefäßen und dem entzündeten Gewebe haben könnte (SMITH et al., 1994).

Transkranielle Dopplerultrasonographie (TCD) ist eine Standardtechnik zur Entdeckung von Embolien in der zerebralen Zirkulation (PUGSLEY et al., 1994). Embolische Signale werden mit dieser Technik bei den meisten Patienten, die sich einen herzchirurgischen Eingriff unterziehen müssen, aufgezeichnet (BARBUT et al., 1994). Sowohl Gas- als auch korpuskuläre Embolien lassen sich mit der TCD feststellen. Mehrere In-vivo- und In-vitro-Studien können bestätigen, dass embolische „Zeichen“ aus zurück-gestreuten hoch Energieintensiven Signalen bestehen, die von reflektiertem Ultraschall aus den Embolien zurückzuführen sind. Dies kommt zustande, weil die Embolien eine höhere Dichte haben als das umgebende zirkulierende Blut. In einer Studie wurde die Zahl der embolischen Signale, die während der Kanülierung der Karotis beobachtet wurden, mit dem Auftreten von

intraoperativen zerebralen Infarkten korreliert. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass mehr als zehn embolische Signale mit einem signifikant erhöhten Risiko für perioperative Infarkte verbunden sind (ZIERLER, 2004).

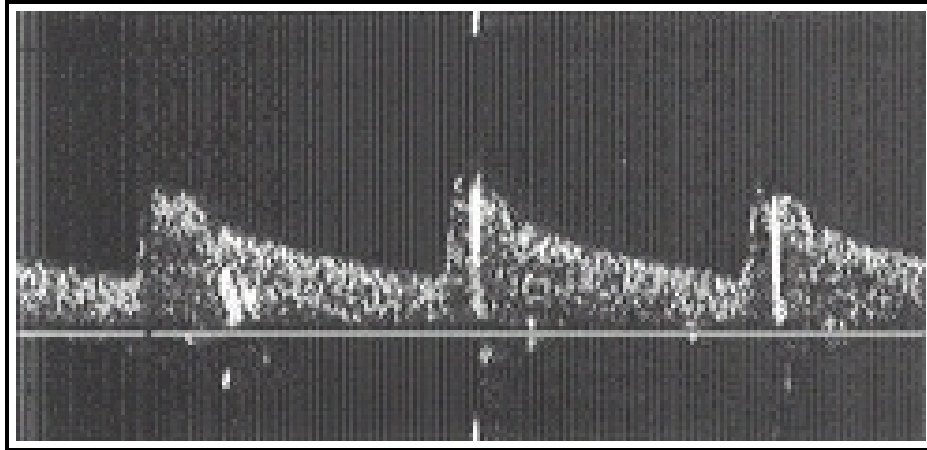


Abbildung 8: Mehrere embolische Signale, die mit transkranieller Doppler-ultrasonographie beobachtet werden können (ZIERLER 2004)

2.4.4 Behandlungsstrategien und mögliche Prophylaxe

Das primäre Ziel aller therapeutischen Strategien ist es, die Organe zu schützen und deren Funktionen zu erhalten. In kritischen Fällen, wie bei somnolenten und komatösen Patienten, sollte eine endotracheale Intubation durchgeführt werden, um eine adäquate Oxygenierung und Ventilation zu gewährleisten. Dabei ist auf eine adäquate O₂-Zufuhr zu achten, zum einen um Hypoxien zu vermeiden und zum anderen, um Elimination von Luft oder Gas aus den Bläschen zu fördern (VAN LIEW et al., 1993).

Hyperbare Sauerstofftherapie (HBO)

Die Therapie mit Sauerstoff in der hyperbaren Kammer stellt eine mögliche therapeutische Maßnahme dar (MUTH und SHANK, 2000). In einer Überdruckkammer wird bei einem Überdruck von 1,5 Atmosphären reiner Sauerstoff (100%) über eine Atemmaske eingeatmet. Dadurch wird die im Blut gelöste Sauerstoffmenge auf das ca. 15- bis 20-fache der Norm erhöht. Durch dieses Überangebot an Sauerstoff können Zellen, die durch Sauerstoffmangel geschädigt waren, häufig ihre normale Funktion zurückgewinnen. Bei dieser Therapieform kommt es sowohl zu einer druckbedingten Verkleinerung der Gasblase als auch, durch die

Schrifttum

Schaffung enormer Diffusionsgradienten für Sauerstoff und andere in die Blase enthaltene Gase letztlich zu einer Auflösung der Gasblase.

Ziel der hyperbaren Sauerstofftherapie ist es, eine möglichst hohe Konzentration für den im Blut gelösten Sauerstoff zu erreichen. Auf diese Weise wird ein hoher Konzentrationsgradient für Sauerstoff zwischen Blut und Gasblase erzeugt. Darüber hinaus wird vermutet, dass hyperbarer Sauerstoff einen positiven Einfluss auf die pathophysiologischen Mechanismen, wie z. B. eine antiödematöse Wirkung mit gleichzeitiger Reduktion der Gefäßpermeabilität hat (MINK und DUTKA, 1995).

Obwohl die unverzügliche Rekompensation die besten Ergebnisse zeigt, ist eine Behandlung in der Druckkammer auch nach längerem Krankheitsverlauf sehr zu empfehlen, um die Spätschäden so gering wie möglich zu halten (MYERS und BRAY, 1985).

Der international anerkannte hyperbare Sauerstoffdruck beträgt 280 kPa. Niedrigere Dosen können jedoch ebenso eingesetzt werden.



Abbildung 9: Drei Hyperbare Kammern, zwei Monoplace- und eine Multiplace Kammer (Hyperbarics Medicine Department at West Jefferson Medical Center in Marrero, Louisiana 2003)

Heparin

Über Vor- und Nachteile von Heparin in der Behandlung von Gasembolien gibt es unterschiedliche Studienergebnisse. RYU et al. (1996) kamen zu dem Ergebnis, dass

Kaninchen mit zerebralen arteriellen Luftembolien nach prophylaktischer Gabe von Heparin eine geringere neurologische Beeinträchtigung zeigten. HINDMAN et al. (1998) untersuchte die Normalisierung der somatosensorisch evozierten Potentiale nach Applikation von Heparin in Kaninchen mit zerebralen arteriellen Luftembolien in Zusammenhang mit EKZ und konnten keine Besserung nachweisen, sondern eher eine Verschlechterung.

Kortikosteroide

Auch die Gabe von Kortikosteroiden wird kontrovers diskutiert. Einige Autoren empfehlen die Gabe von Kortikosteroiden im Falle arterieller Gasembolien zur Bekämpfung des Hirnödems, das als Folge der Gasembolisation entsteht (KIZER, 1981). Zu erwähnen ist allerdings, dass es sich bei den zerebralen Gasembolien zunächst um eine rasche Ausbildung eines zytotoxischen Hirnödems mit verkleinertem Extrazellulärraum und vergrößerten Intrazellulärräumen handelt. Diese Form von Ödem reagiert in der Regel schlecht oder negativ auf Kortikosteroide. Dies wird auch durch Tierversuche belegt, in denen nach experimentellen arteriellen Gasembolien keine Vorteile von Steroiden nachgewiesen werden konnten (DUTKA et al., 1992).

Lidocain

Obwohl klinische Studien über den Nutzen von Lidocain bei arteriellen Luftembolien noch ausstehen, gibt es experimentelle Hinweise auf positive Effekte nach Lidocaingabe (EVANS et al., 1989) (DUTKA et al., 1992). In Tierversuchen, bei denen Lidocain prophylaktisch gegeben wurde, ist nachgewiesen worden, dass die somatosensorisch evozierten Potentiale und die Erhöhung des intrakraniellen Drucks nach Luftembolien reduziert wurde. Es ist auch über neuroprotektive Eigenschaften nach Verabreichung von Lidocain in Verbindung mit herzchirurgischen Eingriffen berichtet worden. Es wird eine Lidocaingabe in Form eines Bolus von ca. 1,5 mg per Kilogramm vor dem Eingriff und eine weitere intravenöse Applikation, um eine stabile Konzentration zu erhalten, angeraten. Diese Vorgehensweise wird sowohl als Prophylaxe für Patienten mit einem großen Risiko für zerebrale arterielle Luftembolien, als auch als Therapiemaßnahme bei Patienten mit starkem Hinweis auf bereits vorhandene zerebrale arterielle Luftembolien empfohlen. Allerdings muss beachtet werden, dass durch hohe Konzentrationen von Lidocain eine Depression des zentralen Nervensystems sowie auch Bradyarrhythmien verursacht werden können (MITCHELL et al., 1999).

Infusion

Es ist berichtet worden, dass Gasembolien Hämokonzentration verursachen können und dadurch eine erhöhte Blutviskosität entsteht, was wiederum zu einer Beeinträchtigung der schon reduzierten Mikrozirkulation führt (SMITH et al., 1994). Deshalb strebt man eine Normovolämie an, um die Mikrozirkulation aufrechtzuerhalten. Hypovolämie wird weniger toleriert als Anämie, deswegen akzeptiert man das bei der Infusionstherapie entstehende Absinken des Hämatokrit (HKT). Eine Hämodilution bis hin zu einem HKT von 30% verringert die neurologischen Schäden im Tierversuch (REASONER et al., 1996b). Kolloidale Lösungen werden gegenüber kristalloiden Lösungen bevorzugt, wenn eine Hämodilution erzielt werden soll. Der Grund dafür, dass kristalloide Lösungen nicht für diesen Zweck geeignet scheinen, ist die Gefahr von zerebralen Ödemen.

Das Ziel nach Infusionstherapie ist, Normovolämie zu erreichen und zu erhalten. Sehr empfohlen wird auch das Einlegen eines zentralvenösen Katheters um den zentralvenösen Druck auf ca. 12 mmHg zu stabilisieren (MUTH und SHANK, 2000).

Fluorokarbon

Die Applikation von Fluorokarbon scheint eine wirkungsvolle Therapiemöglichkeit zu sein, weil sie die Toleranz des Gehirns für ischämische Schäden, die als Folge von Luftembolien entstehen, deutlich erhöhen (MENASCHE et al., 1985).

Fluorokarbone sind hauptsächlich durch eine hohe Gasdiffusionskapazität gekennzeichnet; sie sind synthetische Verbindungen mit der Fähigkeit, große Mengen verschiedener Gase, insbesondere Sauerstoff, Kohlendioxid und Stickstoff aufzulösen. Die geringere Größe der Fluorokarbonpartikel sowie ihre niedrige Viskosität ermöglichen einen effektiven Gasaustausch auf mikrozirkulatorischem Niveau und besitzen dadurch den Vorteil, schnell das geschädigte Areal zu erreichen, um damit eine womöglich irreversible Ischämie zu verhindern oder schon aufgetretene Schäden zu vermindern (MENASCHE et al., 1985).

Der „Schutz“-Mechanismus, der durch Fluorokarbon ausgeübt wird, ist zum einen auf die Sauerstoffträger-Kapazität der Fluorokarbone zurückzuführen, die eine erhöhte Verwendbarkeit des Sauerstoffes für das Gewebe ermöglichen (RIESS, 1984). Zum anderen spielt ihre Stickstoffträger-Kapazität eine wichtige Rolle, weil Stickstoff aus den Bläschen herausgelöst

und von den Fluorokarbonen abgefangen werden kann. Die Fluorokarbonate helfen somit bei der Eliminierung von Stickstoff aus der Blutbahn. Dadurch erhöhen sie die Diffusionsgeschwindigkeit für Stickstoff und führen zu einer Beschleunigung der Entleerung der Luftbläschen (MENASCHE et al., 1985).

Fluorokarbonate könnten eine mögliche Therapiemaßnahme bei zerebralen Luftembolien sein, aber Ergebnisse von Langzeitstudien stehen immer noch aus. Dadurch bleibt ihre Bedeutung für eine wirkungsvolle akute Therapie des ischämischen Geschehens weiter fraglich (MENASCHE et al., 1992).

Doxyzyklin

Funktionsstudien legen nahe, dass Luftbläschen eine schädigende Wirkung auf Endothelzellen haben, wodurch es zu einer thrombotischen Inflammationsreaktion kommen kann, mit Freisetzung von Fibrin, Thrombozyten und Leukozyten (HALLER et al., 1987b), (RYU et al., 1996b).

In einem Kaninchenmodell von HELPS und GORMAN (1999) wurde festgestellt, dass Leukozyten sehr früh (eine Stunde) nach Auftreten von zerebralen Luftembolien eine wichtige Rolle im pathologischen Geschehen spielen.

Doxyzyklin, ein Mitglied der Tetracyklinfamilie, hemmt eine Reihe von Leukozytenaktivitäten, einschließlich der Chemotaxis (GABLER und CREAMER, 1991), deren Haftvermögen (CLARK et al., 1994), die Degranulation (GABLER et al., 1992) und die Metalloproteinaseaktivität (PETRINEC et al., 1996). CLARK et al. (1994) stellten fest, dass Kaninchen, die mit Doxyzyklinen vorbehandelt wurden, eine Reduzierung der Leukozytenkonzentration und eine signifikant erhöhte Toleranz gegen temporäre Rückenmarkischämie zeigten. REASONER et al. (1997) berichteten von einer Reduzierung elektrophysiologischer und neurologischer Defizite nach einer präventiven Verabreichung von Doxyzyklinen in einem Versuch mit Kaninchen, die 100µl/kg Luft in die A. carotis interna injiziert bekommen hatten.

2.5 Xenon

2.5.1 Allgemeines

Die griechische Bedeutung des Wortes „Xenon“ lautet „das Fremde“. Xenon wurde 12 Juli 1898 in London von Sir William RAMSAY und Morris William TRAVERS als Restsubstanz bei der Analyse von Luft entdeckt und gehört zu der chemischen Gruppe der Edelgase. Aufgrund seiner Edelgasstruktur und -eigenschaften zählt es zu den umweltfreundlichsten und verträglichsten Anästhetika. Die anästhetischen Vorteile dieses Gases wurden beim Menschen zum ersten mal 1951 von CULLEN und GROSS beschrieben. Die Idee hierzu lieferten jedoch Berichte von Tauchern während Tieftauchversuchen, die ab einer gewissen Tauchtiefe über das Auftreten von Müdigkeit und ähnlichen Effekten wie bei Xenon-versetzten Gasgemischen berichteten (BENHKE und YARBOROUGH, 1938). Einige Jahre später führten LAWRENCE et al. (1946) weiter Untersuchungen an Mäusen durch. Danach wurde über Jahrzehnte hinweg nicht mehr über Xenon berichtet, bis LACHMANN et al. (1990) eine Patientenstudie mit Xenon durchführten, um die anästhetische Eigenschaften von Xenon zu untersuchen.

2.5.2 Xenon als Anästhetikum

Ein wichtiger Vorteil von Xenon ist der außergewöhnlich niedrige Blut/Gas-Verteilungskoeffizient von 0,14 im Vergleich zu anderen Inhalationsanästhetika, (Lachgas 0,47 und Sevoflurane 0,65) (GOTO et al., 1998). Die geringe Löslichkeit im Blut bewirkt einen raschen Beginn und ein schnelles Abklingen der Anästhesie. Auch nach langer Xenonanästhesie kommt es zu keiner verlängerten Aufwachphase (GOTO et al., 1997).

Die Minimale Alveoläre Konzentration (MAC) liegt für Xenon ungefähr bei 63% (beim Menschen) (NAKATA et al., 2001). Dieser MAC-Wert wurde nicht während Xenon-Mononarkose, sondern während einer kombinierten Narkose mit Isofluran bestimmt, da die anästhetische Potenz von Xenon zu niedrig ist, um eine suffiziente Mononarkose durchführen zu können. Der genannte MAC-Wert wurde unter Berücksichtigung der verwendeten

Isoflurannarkose berechnet. Im Tiermodell beträgt der MAC-Wert bei Ratten 1,61 atm (KOBLEN et al., 1998), Hunden 1,19 atm (EGER et al., 1965) und Kaninchen 0,85 atm (FUKUDA et al., 2001).

Wirkung auf das Kardiovaskuläre System

Xenonanästhesie zeigt einen sehr stabilen Einfluss auf das kardiovaskuläre System. Studien berichten von wenig bis keinen Auswirkungen auf Herz-Index und Blutdruck (BOOMSMA et al., 1990). Sowohl Blutgasparameter wie paO_2 und paCO_2 als auch die ventilatorischen Spitzendrücke können mit Xenon stabil gehalten werden (ZHANG et al., 1995). LACHMANN et al. (1990) vermuten, dass die hämodynamische Stabilität vor allem dadurch erzeugt wird, dass geringere Mengen an sympathischen Stresshormonen (z. B. Epinephrin) ausgeschüttet werden. Diese Theorie wird von BOOMSMA et al. (1990) unterstützt, die von stabilen Epinephrin-Konzentrationen unter Xenon-Anästhesie berichten können. Auch die perioperative Kortisol-Konzentration im Plasma bleibt unter Xenon-Anästhesie im Vergleich zu Lachgas, bei dem eine Erhöhung festgestellt wurde, stabil (BOOMSMA et al., 1990). In einer Studie von DINGLEY et al. (2001) erhöhte sich bei Patienten die Herzfrequenz und der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) nach herzchirurgischen Eingriffen mit Propofol als Anästhetikum. Xenon dagegen verursachte keine erhöhten Werte.

Im Bezug auf das sympathische und parasympathische Nervensystem zeigt Xenon depressive Eigenschaften, indem es die synaptische Transfusion von Neurotransmittern unterdrückt. Dies wurde in einer Studie von ISHIGURO et al. (2000) bestätigt, aber der zugrunde liegende Mechanismus ist immer noch unklar.

Bislang liegen zwei Studien zum Einfluss auf die myokardiale Kontraktilität vor. HETTRICK et al. (1998) untersuchten die Wirkung bei Hunden mit induzierter Kardiomyopathie und LUTTROPP et al. (1993) zeigten mit transösophagealer Echokardiographie die Wirkung auf den linken Ventrikel im Menschen. Beide Untersuchungen wiesen darauf hin, dass es im Gegensatz zu den herkömmlichen Inhalationsanästhetika zu keiner Depression der myokardialen Kontraktilität kommt.

Zerebraler Blutfluss (CBF)

Xenon wird im Bereich der Radiologie zur Bestimmung des zerebralen Blutflusses (CBF) eingesetzt. Es wurden unterschiedliche Studien durchgeführt, die den Einfluss von Xenon auf den zerebralen Blutfluss untersuchten, wobei in diesen Zusammenhang ein Anstieg des CBF festgestellt werden konnte. HARTMANN et al. (1991) stellten diesen CBF-Anstieg bei einer Untersuchung an gesunden menschlichen Probanden fest. LUTTROPP et al. (1993) kamen mit transkranieller Dopplersonographie zum gleichen Ergebnis. FRIETSCH et al. (2001) stellten eine vorübergehende Erhöhung des CBF für die ersten fünf Minuten nach Beginn der Xenon-Inhalation fest, konnten aber danach keine weitere Erhöhungen des CBF feststellen. Trotz der vorübergehenden Erhöhung des CBF unter Xenon-Einfluss, war festzustellen, dass durch die Regulierung des CO₂-Spiegels durch Hyperventilation, eine Erhöhung des CBF verhindert werden könnte (FRIETSCH et al., 2001).

Der Einfluss von Xenon auf den zerebralen Metabolismus ist bisher wenig erforscht worden. FRIETSCH et al. (2001) konnten in einer Studie an Menschen keine signifikanten Änderungen des zerebralen Metabolismus feststellen, außer einer Verminderung der zerebralen Glukosekonzentration bei 18 von insgesamt 40 untersuchten Patienten.

Respirationstrakt

Das Edelgas Xenon hat eine dreimal höhere Dichte und eine Viskosität, die ca. doppelt so hoch ist wie diejenige von Lachgas. Deshalb muss ein Anstieg des Atemwegswiderstandes während Beatmung mit Xenon in höheren Konzentrationen in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus erwartet werden. Der Atemwegswiderstand wurde von ZHANG et al. (1995) an intubierten Hunden unter unterschiedlichen Konzentrationen eines Xenon- O₂ Gemisches im Vergleich zu Lachgas-O₂ untersucht. Zusätzlich wurde der Versuch auch unter Metacholin-induzierter Bronchokonstriktion durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten einen moderaten Anstieg des Atemwegswiderstands unter höheren Xenonkonzentrationen sowie eine nur wenig ausgeprägte Zunahme unter Bronchokonstriktion (ZHANG et al., 1995). In einer großen klinischen Studie von LACHMANN et al. (1990) wurde ebenfalls eine Erhöhung der Atemwegswiderstandes gezeigt.

Aufgrund der extrem geringen Löslichkeit von Xenon besteht die Gefahr einer Diffusionshypoxie, wenn am Ende der Anästhesie Xenon nicht durch reinen Sauerstoff ersetzt

wird. In einer Studie von CALZIA et al. (1999) wurden die Eliminationsphasen von Xenon bei Schweinen untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass das Auftreten einer Diffusionshypoxie unter Xenon möglich, aber weniger wahrscheinlich ist als unter Verwendung von Lachgas.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die unter Xenonanästhesie entstandenen Veränderungen der Atemmechanik in Verbindung mit dem Anstieg des Atemwegswiderstandes keinen Einfluss auf den Gasaustausch unter Xenon haben.

Analgetische Wirkung

Xenon verfügt über eine gute analgetische Wirkung. Dies wird vor allem den antagonistischen Eigenschaften von Xenon an N-methyl-D-aspartat (NMDA)-Rezeptoren zugeschrieben, während Xenon wenig Effekt auf die GABA_A-Rezeptoren und die Nicht-NMDA-glutamatergen Rezeptoren zeigt (DE SOUSA et al., 2000).

YAMAKURA und HARRIS (2000) fanden, dass Xenon und Lachgas einen antagonistischen Effekt auf nikotinerge Acetylcholin-Rezeptoren, auch in Bezug auf die $\alpha 4\beta 2$ -Einheit haben. Es ist jedoch nach MARUBIO et al. (1999) eher unwahrscheinlich, dass die antagonistischen Effekte die Verantwortung für die analgetische Wirkung dieser zwei Gase tragen, weil es nach Aktivieren dieser Rezeptoren zu einem Auslösen der Anti-Nociception kommt.

2.5.3 Xenon und dessen neuroprotektive Eigenschaften

Eine Vielzahl von Arbeiten wurde veröffentlicht über die antagonistische Wirkung von Xenon auf die N-methyl-D-aspartat (NMDA)-Rezeptoren. Die NMDA-Rezeptoren sind eine Untergruppe von Glutamat-Rezeptor-Kanälen, die in einer nicht konkurrierenden Weise von Xenon blockiert werden (FRANKS et al., 1998).

Obgleich Glutamat einen der wichtigsten Neurotransmitter im Säugetier-Gehirn darstellt und essentiell für die normale zerebrale Funktion ist, haben Studien gezeigt, dass eine erhöhte Konzentration von Glutamat auch neurotoxische Eigenschaften entwickeln kann. Übermäßiges Aktivieren der NMDA-Rezeptoren ruft eine Exzitotoxizität hervor, die auch bei akuten und chronischen neurologischen Entzündungen vorkommt. Es wurden psycho-

mimetische Störungen bei Menschen und lokomotorische Defizite bei Nagetieren nach erhöhten Konzentrationen von NMDA in der zerebralen Zirkulation nachgewiesen (LOSCHER und HONACK, 1992). Um den Umfang der zerebralen Schäden beurteilen zu können, wurde in einer Studie mit Ratten von MA et al. (2002) der neuroprotektive Effekt und mögliche neurotoxische Eigenschaften von Xenon durch das vorhandene c-Fos-Protein im Nukleus arcuatus untersucht. Das c-Fos-Protein ist ein sehr schnell reagierendes Protein, das nach einer Reihe von physiologischen und pathologischen Reaktionen in vermehrter Konzentration in der zerebralen Zirkulation nachgewiesen werden kann, z. B. bei Infarkten, schmerzhaften Vorgängen, systemischen Entzündungen und nach Applikation von Schmerzmitteln, sowie auch unter Einfluss von Glutamat-Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten. Xenon zeigte, trotz antagonistischer Eigenschaften an NMDA-Glutamat-Rezeptoren, neuroprotektive Eigenschaften ohne neurotoxische Begleiterscheinungen (MA et al., 2002).

Unterschiedliche Studien berichten von einer Eigenschaft des Xenons, den neurotoxischen Effekten von Ketamin gegensteuern zu können. Hierin sind womöglich NMDA-Rezeptoren involviert und dies könnte darauf hindeuten, dass Xenon neben Hemmung dieser Rezeptoren zusätzliche Angriffspunkte betätigt (ANIS et al., 1983), (OLNEY et al., 1989). Es wird vermutet, dass die psychomimetischen Symptome, beobachtet beim gesunden Menschen, die nach Applikation v. a. von Ketamin hervorgerufen werden, wegen der Verhaltensähnlichkeit einen möglichen Zusammenhang mit einer Dysfunktion des Dopaminsystems, welches hauptsächlich für die schizophrenen Verhaltensweisen verantwortlich gemacht wird, haben könnte (MALHOTRA et al., 1996). Ketamin beeinflusst die kortikale Ausschüttung von Dopamin und beeinträchtigt somit die Stoffwechselfunktion des präfrontalen Kortex bei Ratten (MOGHADDAM et al., 1997). Xenon dagegen zeigt keinen Einfluss auf das Dopamin Systems, mit anderen Worten, es wurde keine vermehrte Ausschüttung von Dopamin in PC12-Zellen festgestellt. Das lässt vermuten, dass Dopamin einen möglichen Einfluss auf die neurotoxische Wirkung von NMDA-Antagonisten haben könnte (PETZELT 2001).

WEIGT et al. (2004) zeigten in einem in vitro Versuch, dass Xenon einen antagonistischen Effekt auf zwei weitere Untergruppen von Glutamat-Rezeptoren ausübt, die AMPA- und Kainat-Rezeptoren. Dies könnte auch ein plausibler Grund dafür sein, dass für Xenon im Unterschied zu anderen NMDA-Antagonisten bis jetzt keine Neurotoxizität nachgewiesen werden konnte. MUBARIK et al. (2004) untersuchten in vitro kortikale neuronale Zellen, und

vermuten, dass der neuroprotektive Mechanismus von Xenon eher durch eine anti-apoptotische als durch eine anti-nekrotische Wirkung zustande kommt.

Weitere neuroprotektive Wirkungen von Xenon wurden durch In-vivo- und In-vitro-Untersuchungen von WILHELM et al. (2002) nachgewiesen. Es wurden in vitro mit einem neuronalen Gliazellen-Medium von Mäusen Schädigung durch NMDA, Glutamat oder Sauerstoffentzug hervorgerufen und anschließend unterschiedliche Konzentrationen von Xenon oder Lachgas zugegeben. Der Schädigungsumfang wurde über die Laktat-Dehydrogenase (LDH)-Konzentration im Medium festgestellt. Xenon konnte bei einer viel niedrigeren Dosis als Lachgas und auch ohne jegliche neurotoxische Effekte eine signifikante Reduktion der LDH-Ausschüttung bewirken. In vivo wurde Ratten NMDA verabreicht und mit unterschiedlichen Konzentrationen von Xenon anästhesiert. Die neuronale Degeneration wurde durch histologische Untersuchung des Nucleus arcuatus im Hypothalamus festgestellt. Es zeigte sich, dass Xenon über eine Dosis-Wirkungs-Beziehung Neuroprotektivität ausübt, und dies auch schon bei subanästhetischen Konzentrationen (WILHELM et al., 2002).

MA et al. (2003) untersuchten in einer Langzeitstudie an Ratten die neuroprotektiven Eigenschaften von Xenon auf zerebrale Schäden, die durch eine extrakorporale Zirkulation (EKZ) hervorgerufen werden. Die neurologische Funktion und die neurokognitiven Fähigkeiten wurden mit neurologischen Tests und mit dem Morris-Water-Maze getestet. In den Gruppen Sham/Xenon und EKZ/Xenon wurde ein signifikant besseres neurologisches Outcome am 12. postoperativen Tag im Vergleich zu der Gruppe EKZ ohne Xenon festgestellt. Dies lässt vermuten, dass Xenon eine Abschwächung der neurologischen und neurokognitiven Defizite, die nach einer EKZ auftreten, gewährleisten kann (MA et al., 2003).

Es liegen zurzeit wenige wissenschaftliche Veröffentlichungen über den Einfluss von Xenon auf zerebrale Luftembolien vor. Darüber wurden bis jetzt lediglich drei Studien durchgeführt, die von einer Tendenz berichten können, wobei eine nur geringe Vergrößerung der Luftbläschen unter Einfluss von Xenon festgestellt werden konnte:

REINELT et al. (2001) untersuchten isolierte Dünndarmsegmente bei Schweinen. Die Darmsegmente wurden mit Luft gefüllt und die Schweine wurden mit Xenon/Sauerstoff, Lachgas/Sauerstoff oder Luft/Sauerstoff (Kontrollgruppe) beatmet und der Gasdruck in den Darmsegmenten regelmäßig gemessen. Man konnte einen signifikanten Unterschied zwischen

den beiden Versuchsgruppen feststellen, da die Gasdiffusion unter Xenonanästhesie signifikant geringer war als unter Lachgas. Jedoch besaßen beide Gruppen eine größere Diffusionsrate als die Kontrollgruppe.

LOCKWOOD (2002) konnte feststellen, dass die Vergrößerung von Luftbläschen in Wasser unter Xenon Einfluss geringer ausfällt als unter Lachgas.

STA MARIA und ECKMANN (2003) zeigten allerdings, dass es während einer Xenonanästhesie zu einem Gasaustausch kommt, der zur Vergrößerung der Bläschen beitragen könnte und somit die entstandenen neurologischen Schäden, die durch zerebrale Luftembolien hervorgerufen werden, noch umfangreicher machen könnte.

Zusammenfassend stellt sich Xenon als ein Anästhetikum ohne hämodynamische Nebenwirkungen, mit raschem An- und Abfluten dar. Als mögliche neuroprotektive Substanz könnte es für Patienten, die ein erhöhtes Risiko für postoperative zentralnervöse Schäden aufweisen, von Nutzen sein, allerdings bleibt der Einfluss von Xenon auf zerebrale Luftembolien zu klären.

2.5.4 Verfügbarkeit und Wiedergewinnung des Narkosegases Xenon

Die begrenzte Verfügbarkeit und der hohe Preis machen klare Indikationen zur Durchführung einer Xenonanästhesie notwendig. Der Verbrauch und damit die Kosten von Xenon auch unter Anwendung von Low-Flow und Minimal-Flow-Strategien waren lange Zeit aus ökonomischen Gründen nicht akzeptabel (BAUM, 1998).

Erst die Entwicklung eines vollständig geschlossenen Kreissystems hat dazu geführt, dass die Xenonanästhesie aus wirtschaftlicher Sicht zunehmend interessant erscheint (LYNCH et al., 2000). Innerhalb eines geschlossenen Anästhesiesystems werden alle Gaskonzentrationen inspiratorisch und expiratorisch gemessen und nur der wirkliche Gasverbrauch wird durch Frischgas ersetzt. Der Xenonverbrauch richtet sich im geschlossenen System in erster Linie nach dem Körpergewicht des Patienten, da die größte Menge zur Aufsättigung der Kompartimente und nicht zur Erhaltung der Anästhesie benötigt wird. Xenon kann aber in einem geschlossenen System großenteils wieder rückgewonnen und wieder verwendet werden.

Schrifttum

Auf dem Gebiet der Wiedergewinnung des Xenons nach Anästhesien wurde bislang nur der Verfahren mit der Gasverflüssigung durch Druck und Kälte vorgestellt. Derzeit befinden sich mehrere Rückgewinnungsverfahren in der Entwicklung.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Zielvorstellung

Die neuroprotektiven Eigenschaften von Xenon wurden in zahlreichen In-vivo- als auch In-vitro-Untersuchungen gezeigt. Diese Eigenschaften könnten helfen, v. a. bei Patienten, die ein erhöhtes Risiko für perioperative zerebrale Schädigung aufweisen (z. B. herzchirurgischen Patienten die an die Herz-Lungen-Maschine (HLM) angeschlossen werden), die postoperative neurologische Funktion zu verbessern.

Auf der anderen Seite könnte die Neigung von Xenon, Luftbläschen zu vergrößern, die während extrakorporaler Zirkulation (EKZ) als zerebrale Luftembolien auftreten sind, von Nachteil sein.

Um dies zu untersuchen, wird ein neues Modell mit zerebralen Luftembolien in Zusammenhang mit EKZ an der Ratte etabliert. In der vorliegenden Studie soll außerdem der Einfluss von Xenon auf die kognitiven Fähigkeiten, das Verhalten und die Mortalität untersucht werden.

Es handelt sich um ein Großprojekt, dessen erster Teil hauptsächlich als Dosis-Findungs-Studie dienen soll mit dem Ziel, in einer Langzeitstudie den Einfluss von Xenon auf die zentralnervöse Leistungen bei der Ratte zu untersuchen (BERKMANN in Vorbereitung). Zu diesem Zweck werden in der vorliegenden Studie unterschiedliche Luftboli appliziert, um eine geeignete Bolusgröße zu finden, die mit langfristigem Überleben gut vereinbar ist, aber trotzdem zu zentralnervösen Schädigungen führt. Es soll außerdem getestet werden, inwieweit der modifizierte Hole-Board (mHB) Test zur Untersuchung neurokognitiver Defizite in diesem Zusammenhang verwendet werden kann.

3.2 Tiere, Material und Methodik

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

3.2.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen werden an 60 männlichen Sprague-Dawley Ratten (Charles River Deutschland GmbH, Sulzfeld) mit Gewichten zwischen 320 und 390 g im Alter von 8 bis 9 Wochen durchgeführt. Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn werden die Ratten in Gruppen zu maximal fünf Tieren in Makrolon Typ 4 Käfigen zur Adaptation an die neue Umgebung für einen Zeitraum von mindestens zwei Wochen gehalten.

3.2.2 Allgemeine Haltungsbedingungen

Der Tierstall erfüllt gleichzeitig den Zweck eines Versuchsraums. Die Ratten werden gemäß den Bestimmungen zur Versuchstierhaltung bei einer Raumtemperatur von 20 bis 24 °C und einer Luftfeuchtigkeit von $60 \pm 15\%$ bei konstantem Luftwechsel (500 l/min) gehalten. 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. Die Lichtstärke im Versuchsraum wird bei 60 Lux gehalten. Parallel zu diesem Licht-Zeit-Rhythmus wird auch ein Radio mit einer festgelegten Sendefrequenz bei normaler Lautstärke synchron zur hellen Phase eingeschaltet, um die externen Geräusche abzuschwächen und gleichzeitig die Ratten an menschliche Stimmen zu gewöhnen.

Futter (ALTROMIN-Haltung 1324, Fa. Altromin, Lage) und Leitungswasser sind ad libitum zugänglich. Wasser wird täglich gewechselt.

In den ersten drei Wochen akklimatisieren sich die Ratten, d.h. sie gewöhnen sich an den neuen Tag-Nacht-Rhythmus. Dadurch wird eine stressarme Umgebung mit für die Ratten bekannten Gerüchen und Geräuschen in einem Raum geschaffen, in dem die Ratten sich wohl fühlen können. Die Tiere werden gruppenweise in Akklimatisationskäfigen (Standardkäfige, Typ 4 aus Makrolon) gehalten. Als Einstreu wird entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin GmbH, Lage) verwendet. Den Ratten steht auch grauer Zellstoff zur Verfügung, um das Nestbauverhalten zu unterstützen.

3.2.3 Versuchskäfig

Der Versuchsaufbau erfordert eine ruhige und zielgerichtete Behandlung der Tiere. Zu diesem Zweck wurde ein spezieller Käfig, der während der Testzeit bis zur Euthanasie gleichzeitig als Wohn- und Versuchskäfig diente, entwickelt.

Dieser Versuchskäfig entspricht einer Kiste aus 1 cm dicken, grauen PVC-Platten mit den Dimensionen 60x80x50 cm. Mit einer durchsichtigen, ebenfalls 1 cm starken PVC-Trennwand (59x50 cm) mit Löchern (Ø 2 cm) im Abstand von 5 cm, kann der Innenraum in zwei gleich große Abteile (Wohn- und Versuchsraum) getrennt werden. An einer Seite des Tierkäfigs befinden sich sowohl drei kleine und genau angepasste Löcher für die Tränkenippel als auch drei Futterraufen. Trinkflaschen (CLASSIC-Pet Products: DE-LUX HAMSTER-Drinking Bottle, Code: 0191, GB) und Futterspender befinden sich außen am Käfig.

Als Abdeckung wird ein rostfreier Lochmetalldeckel (Lochweite 10 mm, Metallsteg 2 mm) mit den Abmessungen 61x81 cm verwendet. Die Gitterstruktur sorgt für ausreichend Lichteinfall, genügend Luft und vor allem dient sie als Sicherheit für möglicherweise ausreißende Ratten.



Abbildung 10: Versuchskäfig mit Wohnabteil (rechts) und links mit dem modifiziertem Hole-Board in Versuchsarena (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.4 Versuchsplan

Männliche Sprague-Dawley Ratten werden randomisiert einer der vier Versuchsgruppen, (1) EKZ mit Xenon, (2) EKZ mit Luft, (3) Sham mit Xenon, (4) Sham mit Luft zugeteilt. Die Ratten der Gruppen EKZ werden für 90 Minuten an die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen. Die Sham operierten Tiere (Kontrollgruppe) unterliegen dem gleichen Präparationsprotokoll, erhalten die gleiche Menge an Anästhetika, werden aber nicht an die HLM angeschlossen. Während die Tiere der Xenon-Gruppe 20 Minuten vor EKZ bis 30 Minuten nach Beendigung der EKZ mit 54 bis 56% Xenon und 31 bis 33% O₂ beatmet werden, erhalten die Tiere der Gruppe Luft, N₂ (Stickstoff) anstatt Xenon. Allen Ratten, unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit, werden Luftboli unterschiedlicher Größe zwischen 0,2 µl und 10 µl, via der rechten A. carotis interna injiziert. Welchen Luftbolus das jeweilige Tier erhält, wird durch das Los entschieden. Über einen Zeitraum von 60 Minuten werden repetitiv zehn Luftboli der gleichen Größe gegeben (Siehe Tabelle 1). Dieses Zeitintervall der wiederholten Luftinjektionen beginnt 15 Minuten nach Einsatz der EKZ und endet 15 Minuten vor dem Beenden der EKZ.

Eigene Untersuchungen

Tabelle 1: Überblick über die Verteilung der Größe der Luftboli

Ratte Nr.	Präparation	Behandlung	Luftvolumen
1	EKZ	Luft	5,0
2	EKZ	Luft	2,5
3	EKZ	Luft	1,0
4	EKZ	Luft	2,5
5	EKZ	Luft	1,0
6	EKZ	Luft	1,0
7	EKZ	Luft	0,5
8	EKZ	Luft	0,5
9	EKZ	Luft	0,5
10	EKZ	Luft	2,5
11	EKZ	Luft	10,0
12	EKZ	Luft	1,6
13	EKZ	Luft	1,8
14	EKZ	Luft	0,2
15	EKZ	Luft	1,6
16	EKZ	Xenon	2,5
17	EKZ	Xenon	2,5
18	EKZ	Xenon	2,5
19	EKZ	Xenon	1,0
20	EKZ	Xenon	1,0
21	EKZ	Xenon	1,0
22	EKZ	Xenon	0,5
23	EKZ	Xenon	0,5
24	EKZ	Xenon	0,5
25	EKZ	Xenon	1,6
26	EKZ	Xenon	10,0
27	EKZ	Xenon	5,0
28	EKZ	Xenon	0,2
29	EKZ	Xenon	1,8
30	EKZ	Xenon	1,6
31	Sham	Luft	2,5
32	Sham	Luft	5,0
33	Sham	Luft	5,0
34	Sham	Luft	2,5
35	Sham	Luft	10,0
36	Sham	Luft	10,0
37	Sham	Luft	10,0
38	Sham	Luft	2,5
39	Sham	Luft	1,0
40	Sham	Luft	5,0
41	Sham	Luft	0,2
42	Sham	Luft	0,5
43	Sham	Luft	3,8
44	Sham	Luft	7,0
45	Sham	Luft	1,6
46	Sham	Xenon	2,5
47	Sham	Xenon	10,0
48	Sham	Xenon	2,5
49	Sham	Xenon	5,0
50	Sham	Xenon	2,5
51	Sham	Xenon	5,0
52	Sham	Xenon	1,0
53	Sham	Xenon	1,0
54	Sham	Xenon	5,0
55	Sham	Xenon	1,0
56	Sham	Xenon	1,6
57	Sham	Xenon	3,8
58	Sham	Xenon	0,5
59	Sham	Xenon	7,0
60	Sham	Xenon	0,2

Eigene Untersuchungen

Nach 90 Minuten EKZ bleiben die Tiere für eine weitere Stunde in Narkose. Danach wachen sie in einer mit Sauerstoff angereicherten Narkosebox auf, und werden darin für weitere 4 bis 6 Stunden kontinuierlich überwacht. Sie haben freien Zugang zu Wasser und Futter und werden erst am nächsten Morgen in den Versuchskäfig zurückgesetzt.

Die Tiere, die nicht innerhalb von drei Stunden aus der Narkose erwachen, werden einer Hirntoddiagnostik unterzogen und nach Feststellung des Hirntodes in tiefer Isoflurannarkose (5 Vol. %) entblutet. Tiere, die postoperativ eine klinisch ausgeprägte neurologische Schädigung zeigen, werden innerhalb der ersten postoperativen Stunden ebenfalls in tiefer Isoflurannarkose entblutet.

Bei den restlichen Tieren beginnen am ersten postoperativen Tag (Tag 1) die aufgezeichnete Testdurchführung und die Lernphase mit dem modifizierten Hole-Board Test an. Am gleichen Tag wird auch der neurologische Status der Ratten überprüft (das Bewusstsein, Pflegeverhalten und Körpergewicht) und getestet (Sensorisch-motorischer Test der neurologischen Funktion) (PHAUD in Vorbereitung).

Siehe Abbildung 11, die eine schematische Darstellung des gesamten Versuchablaufs zeigt.

Bereits am Tag vor der Operation (Tag -1) werden alle Tiere der ersten neurologischen Untersuchung unterzogen. Die Tiere sollen sich durch diese Voruntersuchung an aktive Tests gewöhnen (Sensorisch-motorischer Test) und sollen zum Zeitpunkt der Operation einen möglichst identischen und standardisierten neurologischen Status aufweisen. Neurologisch auffällige Tiere können erkannt und vorzeitig aus der Studie ausgeschlossen werden. Diese präoperative dokumentierte neurologische Untersuchung am Tag vor der Operation (Tag -1) stellt einen Ausgangswert zur Bewertung der erhobenen Daten nach der Operation dar. Da diese Untersuchungen in einer Parallelarbeit bei PHAUD (in Vorbereitung) sehr ausführlich erklärt und beschrieben werden, wird hier nur eine kurze Zusammenfassung dargestellt.

Die Tiere sollen in dieser Studie sieben Tage überleben. Logistische Regressions-Analysen werden am 7. postoperativen Tag für die Mortalität, die Kognition und das Verhalten in Abhängigkeit von dem applizierten Luftvolumen durchgeführt (siehe Kap. 3.2.9).

Eigene Untersuchungen

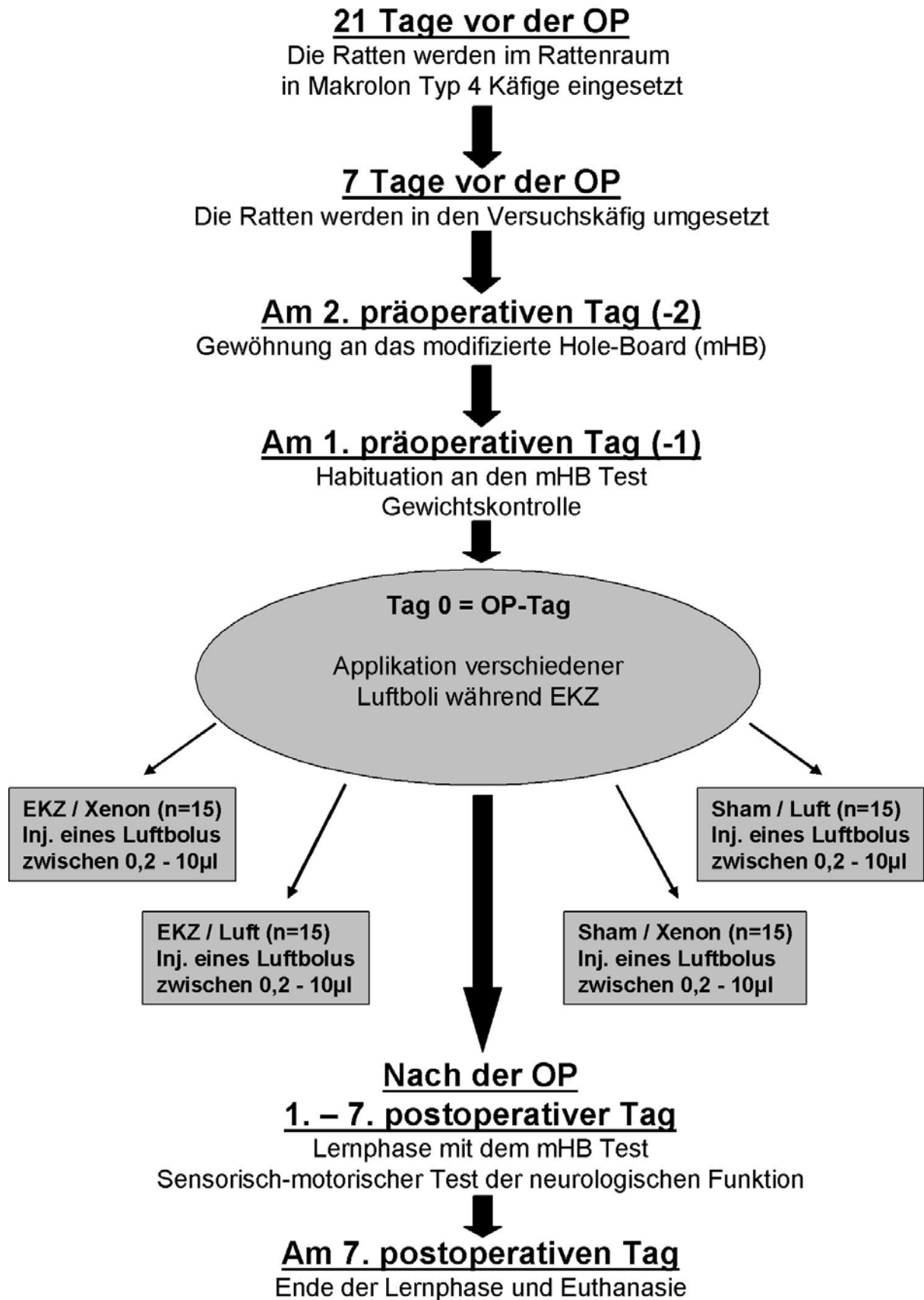


Abbildung 11: Schematische Darstellung des gesamten Versuchablaufs.

3.2.5 Operation mit extrakorporaler Zirkulation und Herz-Lungen-Maschine

Für den operativen Teil des Versuchs im Rahmen dieser Dosis-Findungs-Studie, während der unterschiedliche Luftbolus kontrolliert in die rechte A. carotis interna injiziert werden sollen, wird die Technik nach FURLOW (1982) als Richtlinie verwendet.

In der folgenden Abbildung 12 sind die verschiedenen operativen Phasen im zeitlichen Verlauf übersichtlich dargestellt.

Eigene Untersuchungen

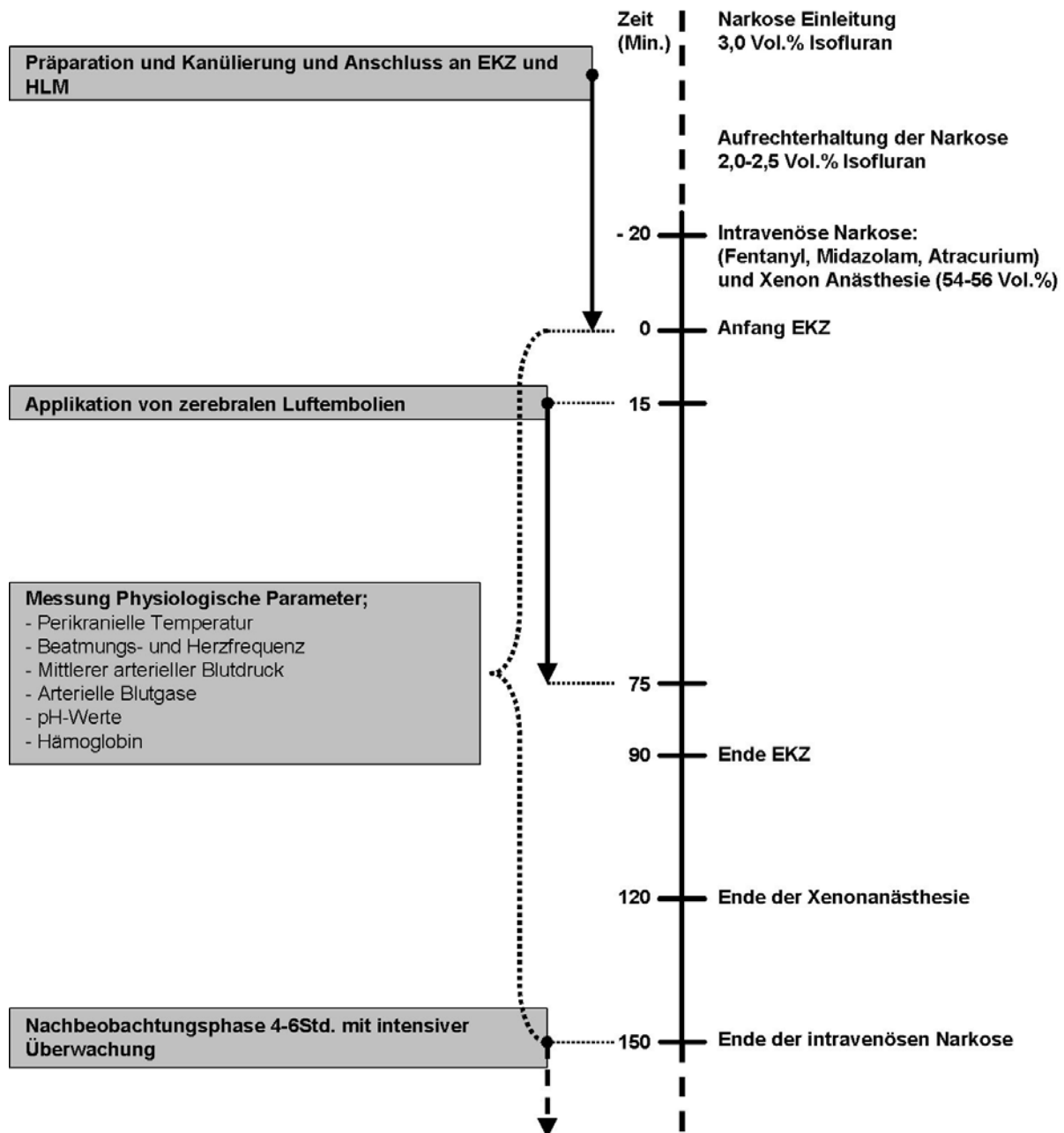


Abbildung 12: Schematische Darstellung des operativen Versuchsablaufs

3.2.5.1 Präparation

Die Präparation wird unter aseptischen Bedingungen durchgeführt. Die Zugangsstellen für die Katheterisierung und Anschlüsse an die Herz-Lungen-Maschine (HLM) werden sorgfältig rasiert und mit einem Hautdesinfektionsmittel desinfiziert (Cutasept® F, Fa. Bode, Hamburg). Anschließend werden die Operationsfelder mit 2% Lidocainhydrochlorid (Xylocain 2%, Astra Zeneca, Großbritannien) infiltriert. Zur Präparation der Gefäßzugänge eröffnet man die Haut, durchtrennt das subkutane Fettgewebe stumpf, trennt die zugehörige Arterie, respektive Vene,

Eigene Untersuchungen

Nerv und umgebendes Bindegewebe vorsichtig ab und stellt das zu kanülierende Gefäß isoliert dar. Das Gefäß wird distal ligiert (4-0 PH-Seide, Ethicon®, Ethicon GmbH, Norderstedt) und proximal von einer zweiten Ligatur nur lose umschlungen, damit der später eingeführte Katheter fest fixiert werden kann. Durch Auftropfen von Lidocainhydrochlorid dilatiert das Gefäß und wird so besser dargestellt. Mit einer mikrochirurgischen Augenschere inzidiert man nun die Gefäßwand, führt den mit heparinisierte Ringerlösung (Thomaejonin®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) gefüllten Katheter vorsichtig ein und verknötet anschließend die vorgelegte Ligatur um Katheter und Gefäßwand. Abschließend werden die Wundränder mit einer Ligatur (4-0 Prolene™, Ethicon®, Ethicon GmbH, Norderstedt) adaptiert und mit einem in physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Tupfer bedeckt, um Austrocknung des Wundgebietes zu vermeiden.

Zuerst wird die Schwanzarterie (A. caudalis), die in einem flachen Winkel aus der Aorta abgeht, mit einem 20 G Katheter (20 GA, Insyte-W™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) kanüliert. Sie dient als Blutentnahmestelle für Blutgasanalysen vor und nach EKZ sowie auch als Einflusskanüle während EKZ. Danach werden im Bereich der rechten Leiste die A. und V. epigastrica superficialis mit je einem PE 10 Katheter (PE 10, Intramedic™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) kanüliert. Über die V. epigastrica superficialis wird die Narkose intravenös fortgeführt. Die Arterie dient der kontinuierlichen Blutdruckmessung während EKZ. Die A. epigastrica superficialis, ein Ast der A. femoralis, wird absichtlich in diesem Versuch vorgezogen, um eine ischämische und konsekutiv-motorische Beeinträchtigung der rechten Hintergliedmaße zu vermeiden.

Für die venöse Drainage wird einen selbst angefertigter 4,5 Fr. Katheter in die rechte V. jugularis externa eingeführt. Die Länge des Katheters ist so gewählt, dass die Spitze im rechten Vorhof liegt und die Drainage der rechten und linken oberen Hohlvene sowie der unteren Hohlvene ermöglicht.

Nach Beendigung der Präparation werden die Ratten randomisiert den vier Gruppen zugeteilt (siehe Kap.3.2.4).

Die chirurgische Präparation und der Versuchsaufbau sind in Abbildung 13 dargestellt.

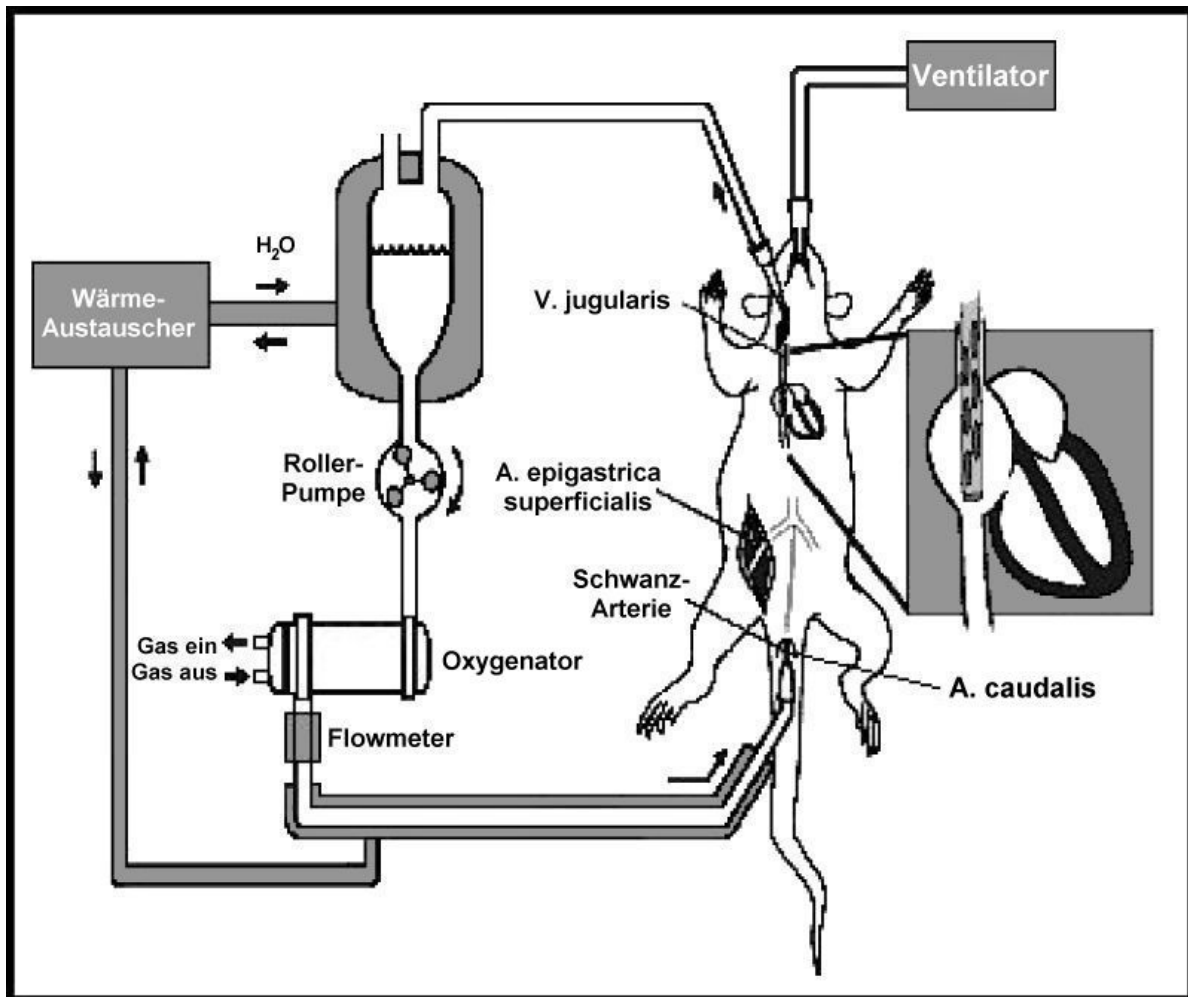


Abbildung 13: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur extrakorporalen Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine an der Ratte (modifiziert nach GROCOTT et al., 2001)

3.2.5.2 Die Herz-Lungen-Maschine

Das Kreislaufsystem der HLM besteht aus einem venösen Reservoir (Plexiglas®, Dipl. Ing. M. Humbs, Valley), einer Rollerpumpe (Masterflex®, Cole-Parmer Instrument Co., USA), einem speziell für Ratten entwickelten Membranoxygenator und einem im arteriellen Schenkel zwischengeschalteten Flowmeter (T206 small animal blood flow meter, Transonic Systems Inc., USA) zur kontinuierlichen Messung des erreichten Blutflusses, die alle mit Silikonschläuchen (Innendurchmesser = 1,6 mm, Tygon®, Cole-Parmer Instrument Co., USA) verbunden sind. Das venöse Reservoir wird 12 cm unterhalb der Herzenebene der Ratte befestigt. Somit wird die Schwerkraft ausgenutzt und damit eine optimale venöse Drainage erreicht. Das Blut aus dem rechten Vorhof wird somit in das venöse Reservoir geleitet und

Eigene Untersuchungen

mit Hilfe der Rollerpumpe zum Membranoxygenator gepumpt. Das oxygenierte Blut wird dann über die Schwanzarterie in die Ratte zurückgeführt.

Der verwendete Membranoxygenator ist eine Eigenanfertigung für die eigene Arbeitsgruppe. Er besteht aus einer getrennten Blut-Gas-Phase, das bedeutet, dass Sauerstoff und Kohlendioxid von der Blutsäule des Reservoirs getrennt sind. Der Oxygenator besteht aus vier kreisförmigen 1 cm (Durchmesser) dicken Plexiglasscheiben. In zwei von den vier Plexiglasscheiben sind in der Mitte quadratische Fenster eingeschnitten, in die die Oxygenatormembran eingepasst werden kann. Diese Membran besteht aus mehreren kreuzweise angeordneten Hohlfasermembranen (Polymethylpentene) (Jostra AG, Hirrlingen). Durch die Hohlfasern fließt das Sauerstoff-Luft- bzw. Sauerstoff-Xenongemisch. Dieser Oxygenator besitzt ein Füllungsvolumen von 16 ml und eine Gasaustauschfläche von insgesamt $2 \times 628 \text{ cm}^2$. (siehe Abbildung 6).

Vom Oxygenator aus kann das Blut über zwei verschiedene Wege fließen: entweder über ein Flowmeter in die Einflusskanüle oder über einen kleinen Schlauch, der in einem Dreiwegehahn endet, um Proben des oxygenierten Blutes für die Blutgasanalyse zu gewinnen. Zusätzlich wird am Dreiwegehahn ein kleiner Katheter angeschlossen, um überschüssiges Blut aus der Blutgasanalyse wieder dem venösen Reservoir zurückzuleiten.

Vor Beginn der EKZ wird der Kreislauf mit Spenderblut gefüllt und dabei entlüftet. Zu diesem Zweck wird ein Umgehungsschenkel benötigt, so dass der Kreislauf ohne das Versuchstier betrieben werden kann.

Der Blutfluss in der HLM wird kontinuierlich mit Hilfe einer ultrasonographischen Fluss-Sonde gemessen, wobei Zielgrößen von 160 bis 180 ml/kg/min (entspricht dem normalen Ruhe-Herzvolumen der Ratte) eingehalten werden. Der extrakorporale Kreislauf wird mit ungefähr 12 ml heparinisiertem Vollblut (das von einem zusätzlichem Spendetier entnommen wird), 2 ml 6% Hydroxyethylstärke (HAES) (HAES 60 mg/ml, Voluven®, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg) und 100 IE Heparin (Liquemin® N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) gefüllt.

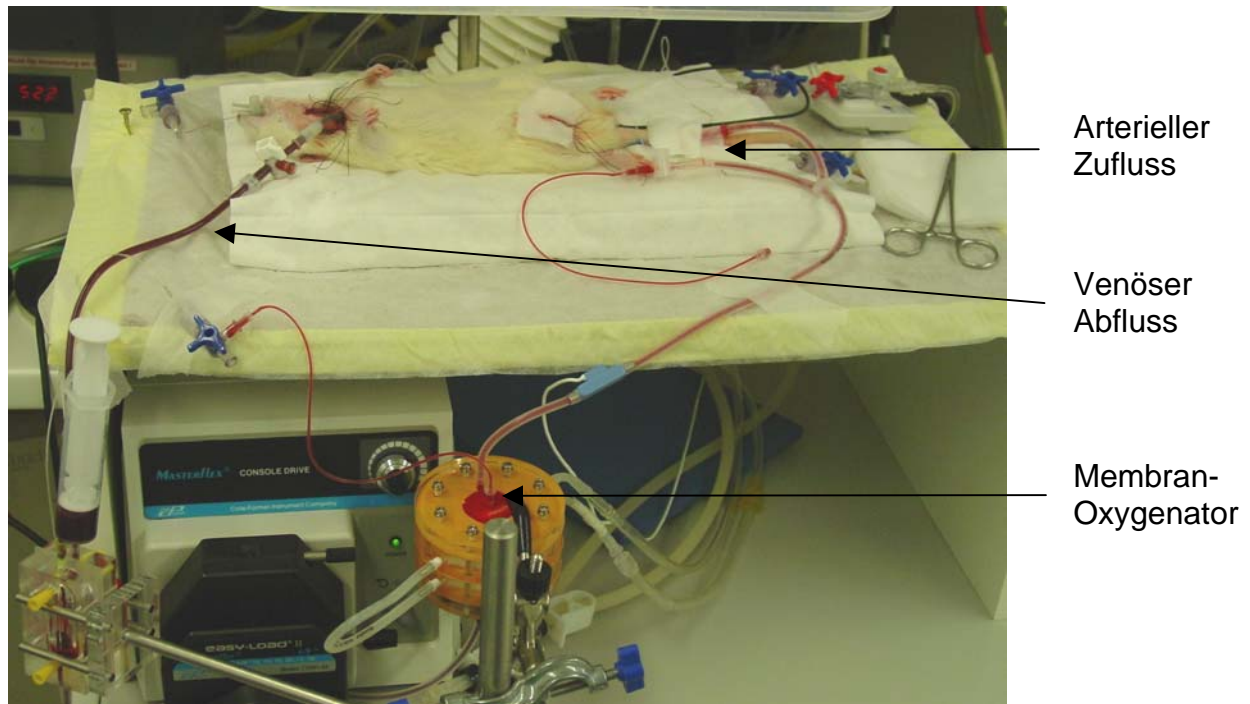


Abbildung 14: Extrakorporale Zirkulation bei der Ratte mit der Herz-Lungen-Maschine (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.5.3 Präparation des Blutspendetieres

Trotz des verringerten Volumens des Oxygenators ist es von Wichtigkeit, dass eine weitere Ratte als Blutspendetier geopfert wird, um genügend Blut zur Füllung des extrakorporalen Kreislaufes zu haben. Die Blutentnahme wird ebenfalls an einer anästhesierten und beatmeten Ratte vorgenommen. Wie auch bei dem Versuchstier, wird die Zugangsfläche für die Kanülierung sorgfältig rasiert, desinfiziert und mit 2% Lidocainhydrochlorid lokal infiltriert. Die Vena jugularis externa wird durch einen Horizontalschnitt lateral am Hals und oberhalb der Clavicula freigelegt und anschließend ligiert. Danach wird eine großlumige venöse Silikonkanüle, die mehrfach gelocht ist, in den rechten Vorhof vorgeschoben. Nach Gabe von 150 IE Heparin (Liquemin® N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) erfolgt die Blutentnahme mit einer 20 ml-Spritze. Um ein möglichst großes Volumen zu erzielen wird dieser Vorgang sehr langsam vorgenommen. Es werden 2 ml HAES dem Kreislauf des Blutspendetieres zugeführt. So kann man zwischen 17 und 20 ml Spenderblut entnehmen.

3.2.5.4 Applikation der Luftembolien

Nach der Präparation für die EKZ wird die rechte A. carotis interna kanüliert, um darüber die zerebralen Luftboli zu verabreichen: Die A. thyroidea superior und A. occipitalis ligiert man und setzt die A. carotis externa so weit wie möglich kranial ab. Um eine Injektion der Luftboli in den extrazerebralen Kreislauf zu vermeiden, wird die A. pterygopalatina ligiert.

Über den ligierten Stumpf der A. carotis externa wird ein PE 10 Katheter bis kurz vor den Abgang der A. pterygopalatina vorgeschoben und somit gelingt der Zugang zur rechten A. carotis interna, wodurch die Luftboli appliziert werden.

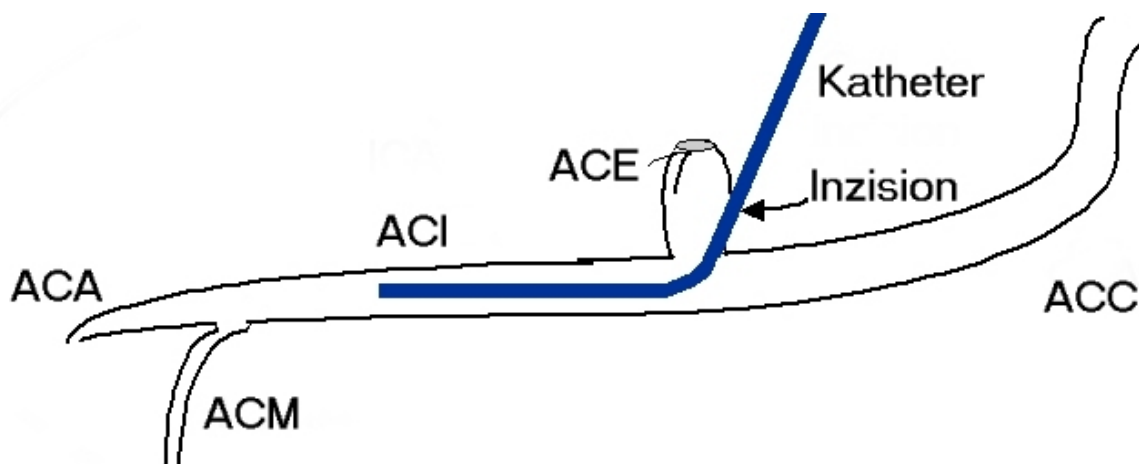


Abbildung 15: In dieser Studie benutzte Technik für die Applikation der zerebralen Luftboli (ACA = Arterie carotis anterior, ACM = Arterie carotis mittlere, ACI = Arterie carotis interna, ACE = Arterie carotis externa, ACC = Arterie carotis communis).

Für die Applikation der Luftboli wird Hamilton Gastight Microliterspritzen von 10 μ l und 50 μ l (10 μ l und 50 μ l 1701 N Hamilton Bonaduz AG, CH-7402 Bonaduz) an den Katheter angeschlossen. Die vorbereitete Spritze schließt man an eine Harvard-Pumpe (Harvard Apparatus, So. Watick, MA 01760) an, um mit einer konstanten Geschwindigkeit von 0,15 ml/h die Luftboli zu applizieren. An den PE 10 Katheter ist ein Silikonschlauch angeklebt, der dicht an die Spitze der Hamiltonspritze angesetzt und gleichzeitig abgeklemmt werden kann. Man achtet streng darauf, dass während einer erneuten Konnektion der Microliterspritze keine zusätzliche Luft in das System eingebracht wird.

Das 60 Minuten lange Zeitintervall der wiederholten Luftinjektion beginnt 15 Minuten nach Anfang der EKZ und endet 15 Minuten vor Beenden der EKZ. Dabei werden in Abstand von

Eigene Untersuchungen

6 Minuten 10 gleichgroße Luftboli verabreicht. Welche Luftbolusgröße (liegt zwischen 0,2 µl und 10,0 µl) das jeweilige Tier erhält, wird durch das Los entschieden (Siehe Tabelle 1).

3.2.5.5 Anästhesie

Der Ratte wird in einer speziell angefertigten Narkosebox (Plexiglas®) mit 3 Vol. % Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) und 100% Sauerstoff anästhesiert. Nach Eintritt der Bewusstlosigkeit erfolgt die endotracheale Intubation mit Hilfe eines modifizierten Nasenspekulums mit integrierter Fieberglassoptik, verbunden mit einer kleinen Taschenlampe. Als Tubus dient dabei ein Venenverweilkatheter (14 GA, Venflon™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg). Der Ratte wird mit Hilfe eines Kleintierbeatmungsgerätes (Small animal ventilator, Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten) mit einem Sauerstoff-Luft-Gemisch von 50% beatmet. Die Beatmungsfrequenz und das Zugvolumen werden so gewählt, dass das endtidale CO₂ (petCO₂) konstant bei 33 bis 38 mmHg gehalten werden kann.

Zur Aufrechterhaltung der Narkose während der Präparation wird die Isoflurankonzentration zwischen 2,0 bis 2,5 Vol. % gehalten. Zusätzlich verabreicht man der Ratte nach Kanülierung der Schwanzarterie 150 IE Heparin, repetitive 5µg Fentanylboli (Janssen-Cilag GmbH, 41457 Neuss) und 1,6 mg/h Cisatracurium (Nimbex®, GlaxoSmithKline GmbH & Co KG, München), um einen MAP zwischen 70 bis 90 mmHg zu gewährleisten. Zusätzlich bekommt das Tier als Schutz vor Austrocknung Augensalbe (Bepantene® Augen- und Nasensalbe, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) und einen mit physiologischer Kochsalzlösung getränkten Tupfer auf die Maulschleimhaut.

20 Minuten vor Beginn der EKZ wird die inspiratorische Sauerstoffkonzentration auf 31 bis 33% reduziert und danach auf intravenöse Narkose durch eine einmalige Gabe eines Bolus von 0,2 ml Fentanyl, (Fentanyl 0,1 mg Janssen-Cilag GmbH, 41457 Neuss) 0,03 ml Midazolam (Midazolam-Ratiopharm® 15mg/3ml, Ratiopharm GmbH, 89070 Ulm) und 0,02 ml Atracurium (Atracurium 50 mg Curamed, CuraMed Pharma GmbH, 76202 Karlsruhe) umgestellt. Gleichzeitig hängt man eine Infusion an, in einer Geschwindigkeit von 1,3 ml/h, 4,32 ml Fentanyl, 0,54 ml Midazolam und 0,72 ml Atracurium enthält und bis zum Ende der EKZ läuft. Nach der entsprechenden EKZ-Zeit wird diese Infusion noch eine Stunde mit einer Geschwindigkeit von 2,0 ml/h, die auch 4,32 ml Fentanyl, 0,54 ml Midazolam, 0,72 ml

Eigene Untersuchungen

Atracurium enthält, fortgeführt. Die Ratte bleibt in dieser Zeit weiter intubiert und beatmet, wird aber von der HLM diskonnektiert und anschließend dekanüliert.

Xenon wird additiv verabreicht mit 54 bis 56 Vol. % zuerst 20 Minuten vor EKZ über das Beatmungsgerät, dann zu Beginn der EKZ über den Oxygenator bis 30 Minuten nach Ende der EKZ wo es wieder über das Beatmungsgerät appliziert wird.

Das in der vorliegenden Studie verwendete halbgeschlossene Narkosesystem für Xenon (siehe Abbildung 16) besteht aus einer Pumpe, über welche zwei getrennte Schenkel, einer für Sauerstoff/Luft/CO₂ und Isofluran, der andere für Xenon, zu einem CO₂-Absorber führen. Um ein stabiles Gasgemisch beizubehalten, wird über diese zwei Flowmeterschenkel Frischgas zugeführt. Der CO₂-Absorber kann über einen Shunt (Shortcut) umgangen werden. Im nachfolgenden Reservoirbeutel erfolgt die Mischung der Gase. Diese können nun über zwei getrennte Ausgänge, entweder über das Beatmungsgerät (Ventilator), oder über den Oxygenator, dem Tier zugeführt werden. Alle Elemente sind durch Silikonschläuche mit einem Innendurchmesser von 1,6 mm miteinander verbunden.

Zur postoperativen Analgesie werden die Wundränder mit Lokalanästhetikum (Lidocainhydrochlorid) infiltriert. Nach Wiederkehr der Spontanatmung wird die Ratte extubiert und in eine mit Sauerstoff angereicherte Box mit Wasser ad libitum gesetzt.

Eigene Untersuchungen

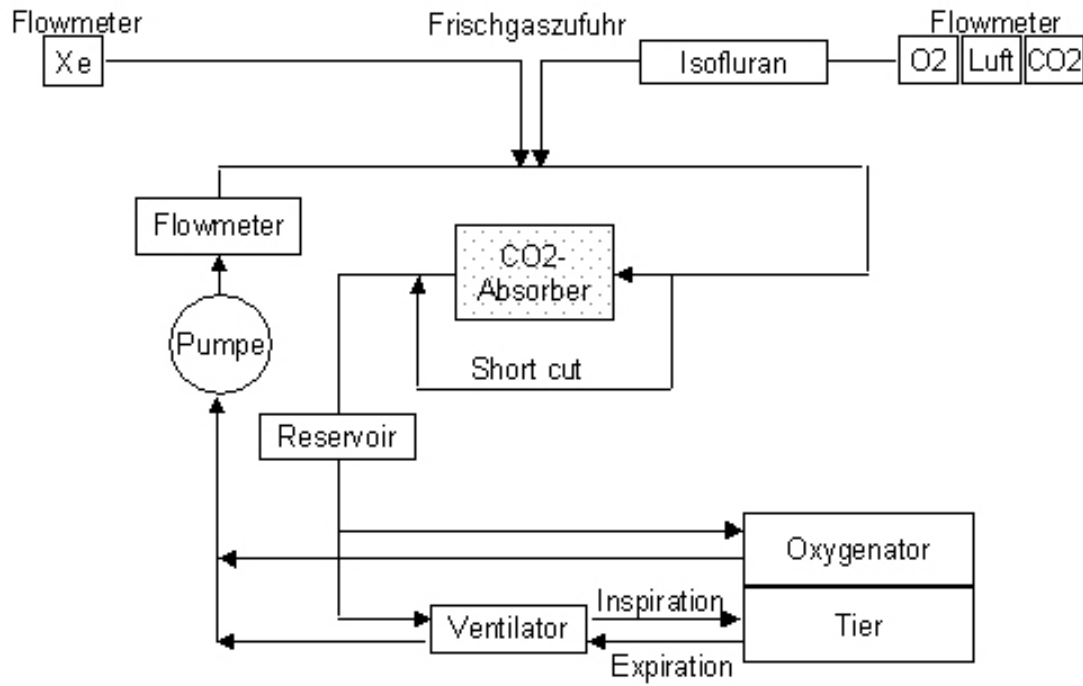


Abbildung 16: Schematische Darstellung des Narkosesystems für Xenon.

Eigene Untersuchungen

Anästhesie Protokollierung

Über die gesamte Dauer der Anästhesie findet ein sehr genaues Narkosemonitoring statt. Die dabei gemessenen Parameter (siehe Abbildung 12) dienen der bestmöglichen Kontrolle, Überwachung und Anpassung der Anästhesie und gewährleisten dadurch einen möglichst konstanten und sicheren Versuchsablauf.

Mit Hilfe eines Atemgasmonitors (CapnomacUltima, Datex-Ohmeda GmbH, Duisburg) wird die endtidale CO₂-Konzentration zwischen 33 bis 38 mmHg gehalten. Außerdem werden damit die inspiratorische Sauerstoff- (FiO₂) und Isofluran-Konzentrationen gemessen. Beatmungsfrequenz und Atemdruck überwacht man kontinuierlich direkt über ein Kleintierbeatmungsgerät (Small animal ventilator, Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten) zusammen mit den anderen Parametern. Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wird während der EKZ über die A. epigastrica superficialis dextra invasiv gemessen, gemäß der jeweiligen Versuchsphase in engen Grenzen gehalten und zusammen mit Elektrokardiographie (EKG), Herzfrequenz und rektaler Temperatur auf einen Monitor (Eagle® 4000 Monitor, Fa. Marquette Hellige, Freiburg) übertragen. Die perikranielle Temperatur misst man über eine schädelnah in den rechten M. temporalis eingeführte Temperatursonde (Newport® Hypodermic Temperatur Needle Probes, Hyp-1, Newport Electronics, USA) und hält sie bei 37,5 °C. Die Körpertemperatur der Ratte wird konstant bei 37,5 ± 0,1° C mit Hilfe einer servoregulierten wassergefüllten Wärmematte und eines Warmlüfters (Warmtouch) gehalten.

Wiederholte Blutgas- und Blutglucosemessungen finden zu genau definierten Zeitpunkten statt. Mit dem Blutgasanalysegerät (Rapidlab™ 860, Bayer Vital GmbH, Fernwald) werden folgende Parameter bestimmt: paO₂, paCO₂ (arteriellen Sauerstoff und Kohlendioxidpartialdruck), pH jeweils auch temperaturkontrolliert und Standardbicarbonat, BE (Basenabweichung), Elektrolyte (Na, K, Ca), Hämoglobin, Hämatokrit und Sauerstoffsättigung. Die Blutglukosekonzentration wird mit einem Schnelltestgerät (Glucometer® Elite™, Bayer HealthCare AG Diagnostics, USA) gemessen.

3.2.5.6 Nachbeobachtungsphase

Nachdem das Tier wieder spontan atmet wird es extubiert und nach dem Aufwachen in einer mit Sauerstoff angereicherten Narkosebox für 4 bis 6 Stunden intensiv überwacht. In dieser

Eigene Untersuchungen

Einrichtung verbleibt das Tier für weitere 12 Stunden und hat darin auch freien Zugang zu Wasser und Futter.

Alle Tiere, die innerhalb einer Stunde nicht aus der Narkose erwachen, werden einer Hirntoddiagnostik durchgeführt, in der die Pupillomotorik, Reaktion auf starke Schmerzreize oder Spontanatmung untersucht werden. Nach Bestätigung des Hirntodes wird das Tier in tiefer Isoflurannarkose entblutet. Tiere, die mit ausgeprägten neurologischen Schädigungen, z.B. Halbseitensymptomatik, Unfähigkeit zu ambulieren oder ohne selbständige Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme aus der Narkose erwachen, werden ebenfalls in tiefer Isoflurannarkose entblutet.

Die verbleibenden Tiere werden ab dem 1. postoperativen Tag täglich gewogen und untersucht. Sollte der Gewichtsverlust mehr als 20% betragen, so werden die Tiere euthanasiert. Ansonsten überleben die Tiere 7 Tage.

3.2.5.7 Euthanasie und anschließende Gehirnentnahme

Nach Abschluss der neurologischen und neurokognitiven Testreihe werden die Tiere am 7. Tag euthanasiert und die Gehirne zur histologischen Untersuchung entnommen:

Die Ratten werden mit 5% Isofluran anästhesiert und anschließend intubiert und beatmet.

Durch einen Abdomenquerschnitt und Inzision des Diaphragmas verschafft man sich Zugang zum schlagenden Herzen. Um einen Abfluss des Blutes zu gewährleisten wird die Leber eingeschnitten und danach 20 ml Natriumchlorid in den linken Ventrikel injiziert, um das Tier zu entbluten. Anschließend appliziert man 20 ml Formalin, um dadurch eine vollständige Fixierung des Gehirngewebes zu erreichen.

Nach 20-minütiger Wartezeit erfolgt die Gehirnentnahme, indem über einen Horizontalschnitt auf Ebene des ersten Zervikalwirbels das Rückenmark durchtrennt und somit das Aufbrechen der Kalotte ermöglicht wird. Daraufhin wird das Gehirn in einem formalinergefüllten Gefäß für weitere Untersuchungen aufbewahrt.

3.2.6 Tägliche Versuchsdurchführung nach der Operation

Um konstante und gleiche Bedingungen für die Versuchsdurchführung zu ermöglichen, ist es wichtig, die Anzahl der Kontaktpersonen gering zu halten. In diesem Sinne sind ausschließlich veterinärmedizinische Doktoranden für die Pflege der Tiere und die Testdurchführung zuständig.

Das Betreten des Rattenraumes ist nur in sauberer Operationskleidung, mit zugehöriger Atemschutzmaske, Haube, Überschuhen und Handschuhen gestattet.

Die täglichen Tests finden am Ende der Hellphase, zwischen 08:00 bis 12:00 Uhr statt, um so nah wie möglich an die physiologische Aktivitätsphase von Nagetieren heranzureichen.

3.2.6.1 Tägliche Untersuchung des Allgemeinzustandes der Ratten

Neurologische Defizite nach zerebralen Luftembolien können in verschiedenster Form und Ausprägung vorkommen. Sie möglichst vollständig zu erfassen, ist Ziel der neurologischen Untersuchung.

Die neurologische Untersuchung dieser Arbeit beinhaltet die Beurteilung des Bewusstseins, des Pflegeverhaltens und des Körpergewichts.

Das Bewusstsein

Verhaltensabweichungen zeigen sich in Ruhelosigkeit, Hyperaktivität, Stereotypien, Teilnahmslosigkeit, Futterverweigerung oder Unansprechbarkeit auf äußere Reize. Von Natur aus sind Ratten sehr neugierige Tiere, die ihr Umfeld schnell erkunden. 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 Beschnupern der Hände werden positiv bewertet. Kranke und ängstliche Tiere wenden sich dagegen ab, und geben dem Untersucher somit den ersten Eindruck über Bewusstsein und Wohlbefinden.



Abbildung 17: Ratten in ihrem Versuchskäfig bevor die Testarena abgetrennt wird. Das Bild zeigt bei eröffnetem Käfigdeckel gesunde und neugierige Ratten, die auch die Nähe zueinander suchen. Die eine Ratte in der oberen Ecke links, trinkt gerade von dem Tränkenippel (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Pflegeverhalten

Fell- und Körperpflege stellen einen großen Teil des Wohlfühlverhaltens von Ratten dar. Deutliche Zeichen von mangelnder Pflege werden am struppigem Fell und stumpfem Haarkleid erkannt. Bei Fehlen jeglicher Putzaktivität entstehen rotbraune Ringe um die Augen aus dem rotbraunen Sekret der Haderschen Drüsen, das mit den Pfoten nicht mehr verteilt wird. Zusätzlich bilden sich Krusten an den Nasenlöchern (WHISHAW et al., 1981).

Körpergewicht

Jeden Tag wird das Körpergewicht der Ratten nach dem Versuch protokolliert. Diese Art von Kontrolle des Allgemeinbefindens ist schon allein aus Tierschutzgründen angebracht. Sollte der Gewichtsverlust mehr als 20% betragen, so werden die Tiere euthanasiert.

3.2.7 Das modifizierte Hole Board

Das modifizierte Hole-Board (mHB) besteht aus einer undurchsichtigen grauen, 40x25x1 cm großen PVC Platte (eigene Herstellung, PVC, Weiss, München) mit 15 in drei Reihen gestaffelten Löchern ($\varnothing = 2$ cm). Dabei wird jedes Loch von einem Deckel ($\varnothing = 2,5$ cm) gleichen Materials, der über eine exzentrische Schraube beweglich am Board fixiert ist, abgedeckt. Damit der Deckel nach dem Öffnen wieder in die geschlossene Ausgangsposition zurückkehren kann, wird er über eine Feder, die zwischen zwei Klötzchen gespannt ist, automatisch wieder zurückgestellt.

Nach dem Prinzip des modifizierten Hole-Board (mHB) Tests werden die Löcher mit Nummern von eins bis fünfzehn in bestimmter Reihenfolge bezeichnet. Aber nur in jeweils drei der fünfzehn Löcher befindet sich während eines Testdurchlaufes eine Futterbelohnung in Form von Puffreis (Frigeo, Remshalden), die die Ratte innerhalb einer festgesetzten Zeitspanne eines Durchlaufs (max. 10 min) suchen, herausholen und anschließend fressen soll. Diese Löcher sind für das Tier visuell anhand einer Markierung erkennbar. Die randomisierte Verteilung dieser drei gefüllten und markierten Löcher wechselt mit jedem neuen Versuchstag, bleibt aber innerhalb der drei Durchläufe, die das Tier am Versuchstag absolvieren muss, konstant. Ratten verfügen im Allgemeinen über einen sehr guten Geruchssinn, und da sich das Tier im mHB Test rein visuell-räumlich orientieren soll, um die Futterbelohnung unter dem markierten Deckel zu finden, wird der Eigengeruch von Puffreis mit Johannisbeeraroma überdeckt. Aus einem ähnlichen Grund wird auch in der Nacht zwischen den Versuchstagen auf allen Deckeln eine Markierung angebracht, die zu Beginn der Vorbereitung am nächsten Versuchstag zu entfernen ist. Dadurch soll einer Geruchsverstärkung länger markierter Deckel vorgebeugt werden.

Um das mHB für einen Durchlauf vorzubereiten trägt man Handschuhe, um eventuelle Gerüche zu vermeiden.

Zuerst werden alle Markierungen entfernt und alle Löcher vorsichtig mit einem in Johannisbeerlösung getränkten Tupfer ausgewischt. Drei Markierungen, die je Versuchstag durch eine randomisierte Kombination festgelegt sind, werden auf dem jeweiligen Klotz angebracht. Anschließend befüllt man die so markierten Löcher mit Puffreis, der ebenfalls mit Johannisbeerlösung benetzt ist. Das für einen Versuchsdurchgang im mHB Test fertig vorbereitete mHB kann nun vorsichtig in die Mitte der Versucharena gelegt werden.

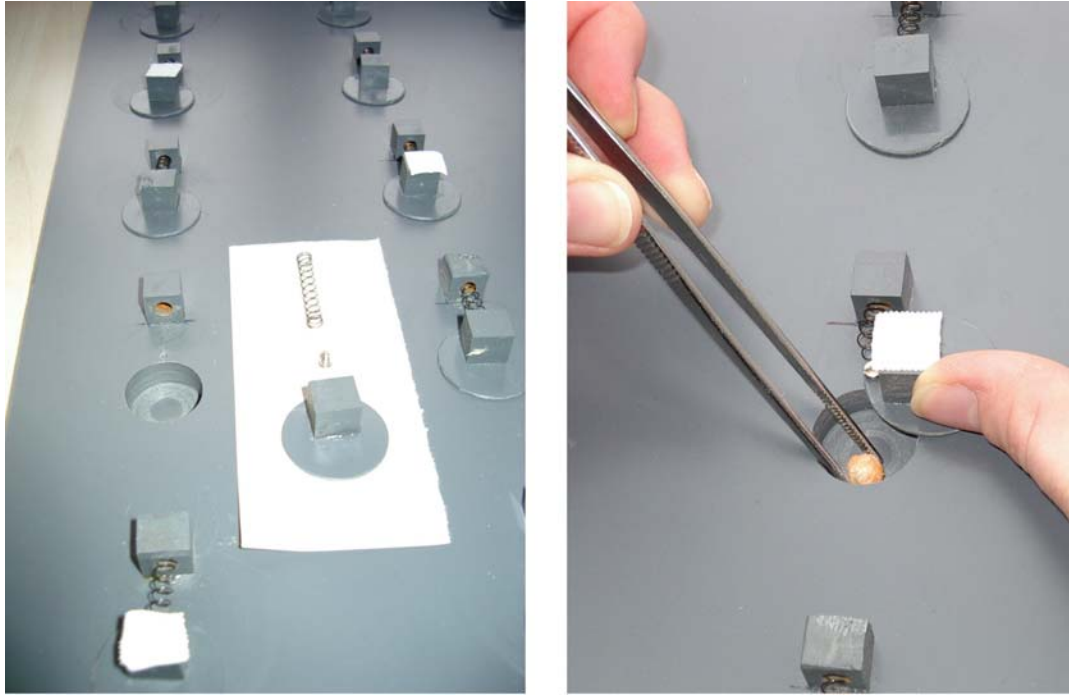


Abbildung 18: Modifiziertes Hole Board exemplarisch zerlegt in Feder, Schraube und Deckel und vorbereitet des modifizierten Hole-Boards mit Puffreis in markierte Löcher (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.7.1 Sonstige Utensilien zur Versuchsdurchführung

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

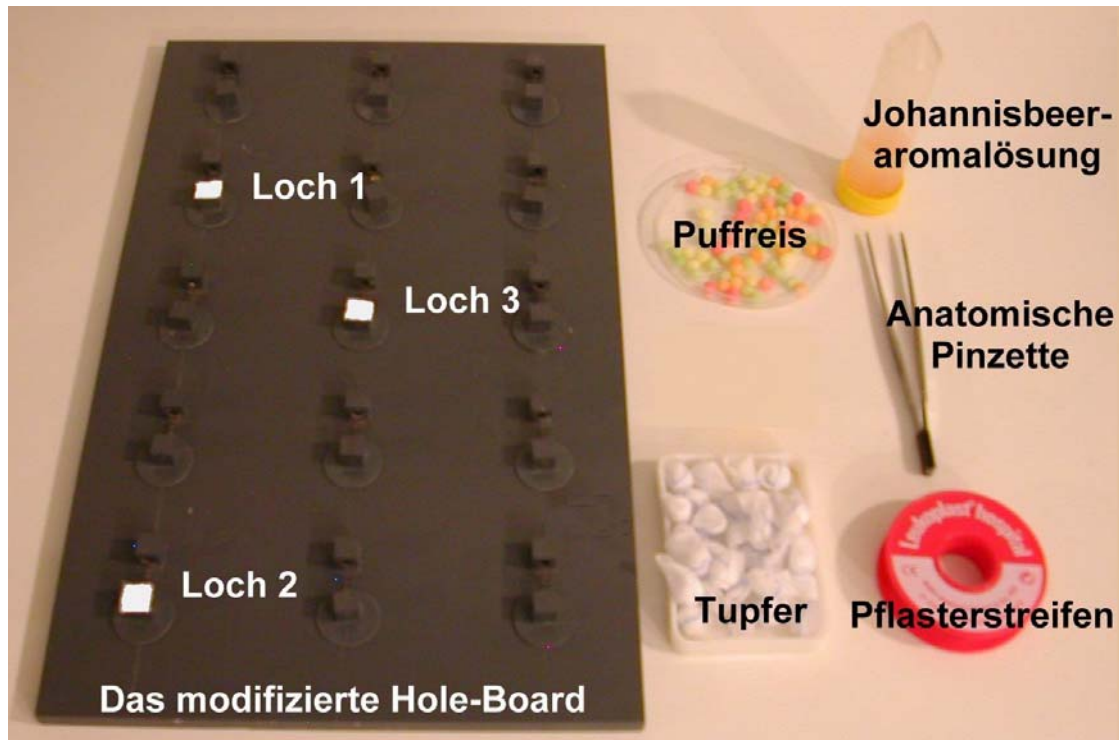


Abbildung 19: Das modifizierte Hole-Board nach OHL mit allen Utensilien, die zum Befüllen der drei korrekten Löcher mit Futterbelohnung nötig sind (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.7.2 Gewöhnung an das modifizierte Hole Board

Die Ratten werden langsam, in genau festgelegten und immer gleich bleibenden Schritten an die Versuchsbedingungen herangeführt. Dadurch werden die Veränderungen den Ratten sanft und stressfrei beigebracht, diese Voraussetzung ist von großer Wichtigkeit, da schon Angst und Unwohlbefinden bei den Ratten die Testdurchführung sehr negativ beeinflussen können.

Deswegen wird am Freitag vor der Operationswoche (erste Ratte wird immer am Montag operiert) das mHB komplett mit Puffreis befüllt und in den Versuchskäfig gelegt. Zu diesem Zeitpunkt ist der Versuchskäfig noch nicht durch eine Trennwand abgeteilt. Das Hole Board wird über Nacht dort belassen, die Ratten haben dadurch genug Zeit gemeinsam das Board zu explorieren, zu markieren und zum ersten Mal mit Futterbelohnungen zu assoziieren. Am nächsten Tag wird das Hole Board wieder entfernt und nur mit Leitungswasser gesäubert, um die Markierungen der Tiere nicht vollständig zu entfernen und damit den nächsten Kontakt mit dem mHB zu erleichtern.

3.2.7.3 Habituation an die Versuchsarena

Zwei Tage vor der Operation (Tag -2) werden jeweils zwei Ratten zusammen in die mit einer Trennwand, von Einstreu befreite und mit Markierungen in vier Quadranten unterteilte Versuchsarena, hineingesetzt. In der Mitte der Versuchsarena befindet sich das komplett mit Puffreis befüllte mHB. Auf diese Weise können die Ratten noch einmal zu zweit und möglichst stressfrei die neue Umgebung und das nun schon bekannte mHB erneut explorieren und markieren. Der Kontakt zu den im Tierabteil verbleibenden Artgenossen wird durch die durchsichtige und mit Löchern versehene Trennwand aufrechterhalten. Das Ziel dieser Habituation ist in erster Linie, dass die Ratten die Futterbelohnung mit dem mHB assoziieren und übermäßige Angst vor der späteren, nahezu identischen Versuchsdurchführung abbauen können.

3.2.7.4 Lernphase mit dem modifizierten Hole Board Test

Da mehrere Tiere im Vorversuch dieser Studie wiederholt eine ausgeprägt geringe zielgerichtete Exploration für das Hole-Board und für das Öffnen der Deckel zeigten, weil die Lernphase bereits am 1. postoperativen Tag angefangen hat, **wurde das Protokoll geändert**. Es wird angenommen, dass das Allgemeinbefinden und Bewusstsein der Ratten am Tag nach dem operativen Eingriff reduziert ist und sie somit die 4 Durchgänge (4D) nur bedingt mitmachen.

Die Ratten sollten in Vorversuch in vier Durchläufen (4D) schrittweise lernen, eine Futterbelohnung aus einer markierten Mulde herauszuholen. Dabei war das Brett im ersten Durchlauf komplett mit Futterbelohnungen befüllt, alle Löcher waren halb geöffnet und hatten weder Markierungen noch Federn. Im zweiten Durchlauf waren nur noch drei Löcher, 2/5/8 befüllt und halb geöffnet, Markierung und Federn fehlten immer noch. Die restlichen zwölf leeren Löcher waren verschlossen. Im Durchlauf drei waren wiederum die Löcher 2/5/8 befüllt, nun waren aber alle fünfzehn geschlossen. Der vierte Durchlauf unterscheidet sich vom dritten lediglich dadurch, dass die befüllten drei Löcher mit Leukoplast visuell markiert und die Federn eingesetzt wurde.

In dieser Studie wird erstmalig das **Lernverhalten** und nicht das Gedächtnis getestet, d. h. man weiß nicht, wie motiviert die Ratten nach einer zerebralen Schädigung sein würden. Vermutlich haben die Ratten die Assoziation mit »Futterbelohnung ist in dem Loch unter der

Eigene Untersuchungen

Farbmarkierung« verpasst und somit den Test nicht verstanden. Wegen der oben erwähnten Gründe wurde deshalb der 4D am 1. postoperativen Tag durch einen präoperativen 3D (Tag-1) ersetzt. Die Vorteile, die durch eine präoperative Gewöhnung an den Versuchsablauf entstehen, sind zum einen das Ausnutzen des hoch motivierten Explorationsverhaltens der Ratten, und zum anderen das Lernen ohne reduziertes Bewusstsein. Man erhofft sich mit diesem Protokoll, dass die Ratten, trotz des reduzierten Allgemeinbefindens nach der Operation, motivierter an die markierten Löcher herangehen werden. Zusätzlich ist auch erwünscht, dass das deklarative Gedächtnis (Arbeitsgedächtnis) der Ratte angeregt wird.

Der erste Durchlauf der 3D am präoperativen Tag entspricht dem ersten Durchlauf bei 4D am 1. postoperativen Tag im Vorversuch, bei dem das Brett komplett mit Futterbelohnungen befüllt ist und alle Löcher halbgeöffnet sind, Markierung und Federn fehlen. Im zweiten Durchlauf sind fünf Löcher offen und leer, fünf halboffen und befüllt und die letzten fünf Löcher sind befüllt und geschlossen. Alle sind ohne Markierung und ohne Federn. Beim dritten und letzten Durchlauf sind zehn Löcher befüllt und geschlossen, die übrigen fünf offen und leer. Auch hier sind noch keine Markierungen und Federn vorhanden.

Der weitere Versuchsablauf ist identisch und fängt an mit der Aufzeichnung am 1. und endet am 7. postoperativen Tag, wobei jeden Tag vier Durchläufe (die drei ersten sind visuell-räumlich und der vierte und letzte ist nur räumlich) zu absolvieren sind. Die randomisierte Lochkombination bleibt innerhalb der vier Durchläufe eines Tages für jede Ratte konstant und wechselt mit jedem neuen Tag (siehe Tabelle 2). Nach Beendigung der mHB Tests am Tag 7 wird die Ratte euthanasiert.

Tabelle 2: Versuchsablauf mit randomisierter Lochkombination in der Lernphase

	Phase	Tag	Durchläufe	Randomisierung	Markierung	Federn
Präoperativ	Einführung in das Prinzip mit dem mHBT (Übung)	-1	3	keine	keine	keine
Postoperativ	Lernphase mit Aufzeichnung	1	4	2 / 5 / 8	1.-3. Durchlauf mit Markierung, 4. Durchlauf ohne Markierung	mit
		2	4	4 / 12 / 13		mit
		3	4	3 / 10 / 12		mit
		4	4	1 / 2 / 15		mit
		5	4	4 / 6 / 9		mit
		6	4	9 / 12 / 13		mit
		7	4	2 / 11 / 14		mit



Abbildung 20: Eine Ratte während eines Durchlaufes im modifizierten Hole-Board Test. Die Ratte befindet sich auf dem Board kurz vor Öffnen eines Loches (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

3.2.7.5 Allgemeines zum Hole Board Protokoll

Das Hole Board Protokoll wird mit einem speziell für diesen Test entwickelten Computerprogramm aufgezeichnet. Die verschiedenen Aktivitäten der Tiere werden über eine geräuschlose Tastatur vom Untersucher blind eingegeben, damit er seine ganze Aufmerksamkeit auf das Tier in der Versuchsarena richten kann. Vor jedem Durchlauf ist es wichtig, die Versuchsarena von Einstreuresten zu befreien, um jede mögliche Ablenkung der Ratte zu verhindern. Jeder Versuchstag hat eine entsprechende randomisierte Lochkombination (siehe Tabelle 2). Das gefüllte und korrekt markierte Hole Board, wird in die Mitte der Versuchsarena gelegt. Während der Aufzeichnung befindet sich der Versuchskäfig direkt neben dem am Computertisch sitzenden Untersucher. Dabei ruht dessen eine Hand auf der Tastatur und die andere hebt die Ratte vorsichtig mit einem Griff unter Brust und Bauch

Eigene Untersuchungen

aus dem Tierabteil, über die Trennwand hinüber, um es sanft in der rechten Ecke der Versuchsarena abzusetzen. Gleichzeitig startet das Programm durch Druck des entsprechenden Tastenbefehls. Das Programm besitzt eine Stoppuhrfunktion, mit der jeder Aktivität die dazugehörige Zeit zugeordnet wird. Bestimmte Tasten kodieren verschiedene 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 (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Das modifizierte Hole-Board Test 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 1. Zahl der Tageslochkombination.
Loch 2 zu [K]	Aktives Öffnen des Lochs mit der 2. Zahl der Tageslochkombination.
Loch 3 zu [L]	Aktives Öffnen des Lochs mit der 3. 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.

Eigene Untersuchungen

<u>Aktion</u> [Tastaturbelegung]	<u>Definition</u>
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 groom [O]	Das Tier beginnt sich zu putzen.
Ende groom [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.

3.2.7.6 Im modifizierten Hole Board Test untersuchte Parameter

Der modifizierten Hole-Board (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, Verhalten und Allgemeinbefinden gemacht. Die während eines Durchlaufes erhobenen Parameter können abschließend den Verhaltensparametern und den kognitiven Parametern zugeteilt werden (OHL et al., 2001a),(OHL et al., 2001b).

Kognitive Parameter

In der kognitiven Variante des modifizierten Hole-Board Tests sollen die Tiere durch Assoziation lernen, visuell markierte Löcher mit Futterbelohnungen zu verbinden. Zusätzlich wird auch das Orientierungsvermögen der Tiere getestet durch einen räumlichen Durchlauf (ohne Markierung auf die belegten Löcher, aber mit der gleichen randomisierten Lochkombination). Dementsprechend wird die kognitive Leistungsfähigkeit eines Tieres

Eigene Untersuchungen

anhand der Besuche von markierten Löchern während eines Durchlaufs gemessen. Ein Loch wird als besucht gewertet, wenn das Tier den Deckel aktiv mit den Vorderpfoten oder der Schnauze bewegt.

Die Gesamtzeit (*Time Complete*) eines Durchlaufs errechnet sich aus der Zeit, die ein Tier benötigt, alle drei Futterbelohnungen zu finden. Deshalb dient die Gesamtzeit als Indikator für die Motivation, aber auch für die Lernleistung des Tieres.

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

Markierte Löcher, die während eines Durchlaufs nicht besucht werden, gelten als Auslassungsfehler (*Omission Errors*). Weil die vom mHB Test geforderte Assoziationsleistung dabei nicht erbracht wird, werden sie zur Anzahl der falschen besuchten Löcher (*Wrong Choices*) dazu gezählt.

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

Eigene Untersuchungen

Tabelle 4: Kognitive Parameter im modifizierten Hole Board (mHB) Test

Gedächtnissystem	Neuronale Korrelate	mHB Parameter [Einheit]	Abkürzung
Lernleistung		Gesamtzeit des Durchlaufes [s]	Time Complete
Deklaratives Gedächtnis	Hippokampus	Anzahl falscher, besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Wrong Choices
		Anzahl nicht besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Omission Errors
Arbeitsgedächtnis	Präfrontaler Kortex	Anzahl wiederholt besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Repeated Choices

Verhaltens-Parameter

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

Exploration wird weiter in gerichtete und ungerichtete Exploration unterteilt, wobei erstere die zielgerichtete Exploration definierter Objekte umfasst (FILE und WARDILL, 1975a). Im mHB Test wird dementsprechend das Besuchen von Löchern als gerichtete Exploration gewertet. Anzahl besuchter Löcher (*Number of Holes Visited*) und Latenz bis zum ersten Lochbesuch (*Latency first Hole Visit*). Als Indikator für generelle, ungerichtete Exploration

Eigene Untersuchungen

der Umgebung wird das Aufrichten des Oberkörpers und Erheben auf die Hinterbeine (*Rearings*) verstanden.

Jeder Parameter während eines Durchlaufs bezüglich Lokomotion, wird an den Linienübertritten (*Line Crossings*) bzw. der Immobilität (*Immobility*) gemessen. Die Immobilität kann sowohl ein Zeichen für Angst als auch eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens bedeuten.

Die soziale Affinität (*Group Contact*) zu den auf der anderen Seite der Trennwand verbleibenden Artgenossen wird durch die Zeitspanne für die das Tier während eines Durchlaufs durch die Trennwandlöcher schnuppert, vermittelt.

Die physiologische Erregung äußert sich beim Nagetier durch Absetzen von Kotbällchen (FLINT et al., 1995) und durch Fell- und Körperpflege (TO und BAGDY, 1999). Im mHB Test werden folgende Parameter für Erregung erfasst: Anzahl der Kotbällchen (*Boli*) und Gesamtzeit der Putzphasen (*Grooming*) während eines Durchlaufs (siehe Tabelle 5).

Eigene Untersuchungen

Tabelle 5: Verhaltensparameter im modifizierten Hole Board (mHB) Test

Verhaltensdimension	mHB Parameter	Abkürzung
Angstverhalten	Auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit [% TC]	Time on Board
	Latenz bis zum ersten mHB-Besuch [s]	Latency first Entry on Board
	Anzahl der mHB-Besuche [Anzahl pro Durchlauf]	Board Entries
Angst und Allgemeinbefinden	Gesamtzeit der Immobilitätsphasen [% TC]	Immobility
Soziale Affinität	Kontaktaufnahme mit der Gruppe [% TC]	Group Contact
Exploration	Latenz bis zum ersten Lochbesuch [s]	Latency first Hole Visit (LFHV)
(gerichtet)	Anzahl besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Number of Holes Visited (NHV)
(ungerichtet)	Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine [Anzahl pro Durchlauf]	Rearings
Erregung	Anzahl an Kotbällchen [Anzahl pro Durchlauf]	Boli
	Gesamtzeit der Putzphasen [% TC]	Grooming
Lokomotion	Anzahl an Linienübertritten [Anzahl pro min]	Line Crossings

3.2.8 Statistische Bewertung der Befunde

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine Dosis-Findungs-Studie für das zerebrale Outcome inkl. Mortalität in Abhängigkeit von der verwendeten Größe zerebralen Luftbolus. Es werden vier Gruppen untersucht: zwei EKZ-Gruppen, die einer 90 Minuten EKZ ausgesetzt werden und zwei Sham-Gruppen, die identisch kanüliert aber nicht an die EKZ angeschlossen werden. Diese Gruppen werden weiter unterteilt in eine Xenon- und eine Luftgruppe, je nachdem ob sie mit Xenon beatmet werden oder nicht. Alle Tiere erhalten zerebrale Luftboli. Zur Durchführung einer logistischen Regressionsanalyse, die üblicherweise für Dosis-Findungs-Studien verwendet wird, wird die abhängige Variable „Größe des Luftbolus“ nicht gruppenweise untersucht, sondern möglichst weit verstreut über einen bestimmten Bereich, in dieser Studie von 0,2 μ l bis 10,0 μ l. Ausgehend von 5,0 μ l Luft wie in der Literatur beschrieben FURLOW (1982) werden schrittweise kleinere bzw. größere Luftboli untersucht. Für logistische Regression müssen Defizite definiert werden. Dazu wird eine gesunde Kontrollpopulation untersucht (n = 50) und die Mittelwerte (MW) sowie die Standardabweichungen (SD) bestimmt. Sobald eine Ratte in mindestens einem Test um mehr als die 2-fache Standardabweichung von MW der Kontrollpopulation abweicht, wird ein Defizit definiert entsprechend dem Vorgehen in klinischen Studien. Tabelle 7 zeigt die Grenzwerte der Kontrollpopulation ab denen ein Defizit definiert wird. Insgesamt werden in dieser Studie drei Domänen untersucht: Mortalität, Kognition und Verhalten. Im Rahmen der logistischen Regressionsanalyse werden die Faktoren „Präparation“ (EKZ vs. Sham), „Behandlung“ (Xenon vs. Luft), sowie der Wechselwirkungsfaktor „Präparation x Behandlung“ in einem schrittweisen Einschlussverfahren untersucht. Zeigt dabei einer der Einzelfaktoren keinen signifikanten Effekt ($p > 0,05$), so wird der Wechselwirkungsfaktor (Präparation x Behandlung) nicht bestimmt. Die Graphen sind als Mittelwerte \pm 95% Konfidenzintervall dargestellt.

Eigene Untersuchungen

Tabelle 6: Pathologische Werte für kognitive und Verhaltensparameter

	mHB Parameter [Einheit]	Abkürzung	Normalwerte	Pathologische Werte
Kognitive Parameter:				
Lernleistung	Gesamtzeit des Durchlaufes [s]	Time Complete	0 - 135s	> 135s
Deklaratives Gedächtnis	Anzahl falscher, besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Wrong Choices	0 - 0,790	> 0,790
	Anzahl nicht besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Omission Errors	0,00	> 0,00
Arbeitsgedächtnis	Anzahl wiederholt besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Repeated Choices	0 - 0,523	> 0,523
Verhaltensparameter:				
Angst und Verhalten	Auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit [% TC]	Time on Board	0 - 10%	< 10%
	Latenz bis zum ersten mHB-Besuch [s]	Latency first Entry on Board	0 - 10s	> 10s
	Anzahl der mHB-Besuche [Anzahl pro Durchlauf]		> 0,00	0,00
	Gesamtzeit der Immobilitätsphasen [% TC]	Immobility	0 - 5%	> 5%
Motivation	Latenz bis zum ersten Lochbesuch [s]	Latency first Hole Visit (LFHV)	0 - 29s	> 29s
	Anzahl besuchter Löcher [Anzahl pro Durchlauf]	Number of Holes Visited (NHV)	2 - 3	0 - 2
Arousal	Anzahl an Kotbällchen [Anzahl pro Durchlauf]	Boli	0,00	> 0,00
	Gesamtzeit der Putzphasen [% TC]	Grooming	0 - 3%	> 3%

3.3 Ergebnisse

In diesem Versuch werden 60 Ratten eingesetzt. Insgesamt 29 Ratten zeigen massive neurologische Schäden, bedingt durch die großen Luftvolumina die eine Euthanasie der Tiere innerhalb der ersten 4 bis 6 Stunden erfordern. Weitere 5 Tiere müssen am 1. postoperativen Tag wegen Verschlechterung der Allgemeinzustand euthanasiert werden. Die Tiere zeigen Symptome wie generalisierte Krampfanfälle, erhebliche respiratorische Probleme, komplette Hemiparesen, keine Reaktion auf Schmerzreiz, opisthotone Körperhaltung mit Streckkrämpfen aller vier Gliedmaßen sowie Herzrhythmusstörungen bis hin zu Kammerflattern, Flimmern und letztlich Asystolie. 26 Tiere (14 Sham-Tiere und 12 EKZ-Tiere) überlebten bis zum 7. postoperativen Tag.

Das Ziel des vorliegenden Versuches ist es, einen bestimmten Luftbolus, der bei der Ratte zu einem definierten neuropsychologischen Schaden entsprechend eines Scores führen sollte und zugleich nahezu mit 100% Überlebenswahrscheinlichkeit vereinbar sein sollte, herauszufinden. Aufgrund dessen entschied man sich- im Hinblick auf frühere ähnliche wissenschaftliche Arbeiten- für die Applikation von Luftboli ab 0,2 μ l bis 10,0 μ l (siehe Kap. 3.2.4). Die daraus resultierenden Ergebnisse werden in diesem Kapitel tabellarisch und graphisch dargestellt.

Ein Luftbolus von 0,3 μ l ruft bei über 50% der Ratten ein moderates, aber deutlich feststellbares Defizit in der neuropsychologische Leistungsfähigkeit (bei der motorischen Funktion, PHAUD in Vorbereitung und im Verhalten) hervor und ist zugleich zu nahezu 100% mit dem Überleben vereinbar.

Nach Injektion eines Luftbolus von 0,3 μ l sterben 1,0% der Tiere in der EKZ-Gruppe. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese **Mortalitätsrate** zwischen 0,0 und 14,5% (95% Konfidenzintervall) (siehe Abbildung 21).

Nach Injektion eines Luftbolus von 0,3 μ l sterben 0,0% der Tiere in der Sham-Gruppe. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese **Mortalitätsrate** zwischen 0,0 und 2,9% (95% Konfidenzintervall) (siehe Abbildung 21).

Nach Applikation eines Luftbolus von 0,3 μ l zeigen 85,8% der Tiere in der EKZ-Gruppe **motorische Defizite**. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese Inzidenz für

Eigene Untersuchungen

motorische Defizite zwischen 40,7 und 98,2% (95% Konfidenzintervall) (PHAUD in Vorbereitung).

Nach Applikation eines Luftbolus von 0,3 µl zeigen 11,4% der Tiere in der Sham-Gruppe **motorische Defizite**. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese Inzidenz für motorische Defizite zwischen 1,1 und 59,2% (95% Konfidenzintervall) (PHAUD in Vorbereitung).

Nach Injektion eines Luftbolus von 0,3 µl zeigen 51,5% der Tiere in der EKZ-Gruppe **Verhaltensänderungen**. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese Inzidenz für Verhaltensänderungen zwischen 15,8 und 85,7% (95% Konfidenzintervall) (siehe Abbildung 23).

Nach Injektion eines Luftbolus von 0,3 µl zeigen 32,9% der Tiere in der Sham-Gruppe **Verhaltensänderungen**. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese Inzidenz für Verhaltensänderungen zwischen 6,0 und 79,0% (95% Konfidenzintervall) (siehe Abbildung 23).

3.3.1 Überleben bzw. Mortalität

Ab einem Luftbolus von 3,7 µl sterben nahezu 100% (99,0%) der Tiere in der EKZ-Gruppe vor dem 7. postoperativen Tag. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese Sterberate zwischen 88,9 und 99,9% (95% Konfidenzintervall).

Ab einem Luftbolus von 6,3 µl sterben nahezu 100% (99,0%) der Tiere in der Sham-Gruppe vor dem 7. postoperativen Tag. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt diese Sterberate zwischen 77,9 und 99,4% (95% Konfidenzintervall).

50% der Tiere in der EKZ-Gruppe überleben bis zum 7. postoperativen Tag nach Applikation eines Luftbolus von 1,0 µl. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt dieser Luftbolus zwischen 0,8 und 1,4 µl (95% Konfidenzintervall).

50% der Tiere in der Sham-Gruppe überleben bis zum 7. postoperativen Tag nach Applikation eines Luftbolus von 2,7 µl. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt dieser Luftbolus zwischen 1,9 und 3,8 µl (95% Konfidenzintervall).

Eigene Untersuchungen

Bei dem schrittweisen Einbeziehen verschiedener Faktoren- Präparation (EKZ vs. Sham), und Behandlung (Xenon vs. Luft),- stellt sich heraus, dass die Präparation einen signifikanten Einfluss auf **die Mortalität** zeigt, nicht aber die Behandlung. **Xenon zeigt weder einen positiven noch einen negativen Effekt auf die Mortalität.** Im weiteren Verlauf (in der Abbildung 21) werden die Untergruppen „Xenon“ und „Luft“ zusammengefasst und nur die Hauptgruppen; EKZ und Sham, verglichen und graphisch dargestellt.

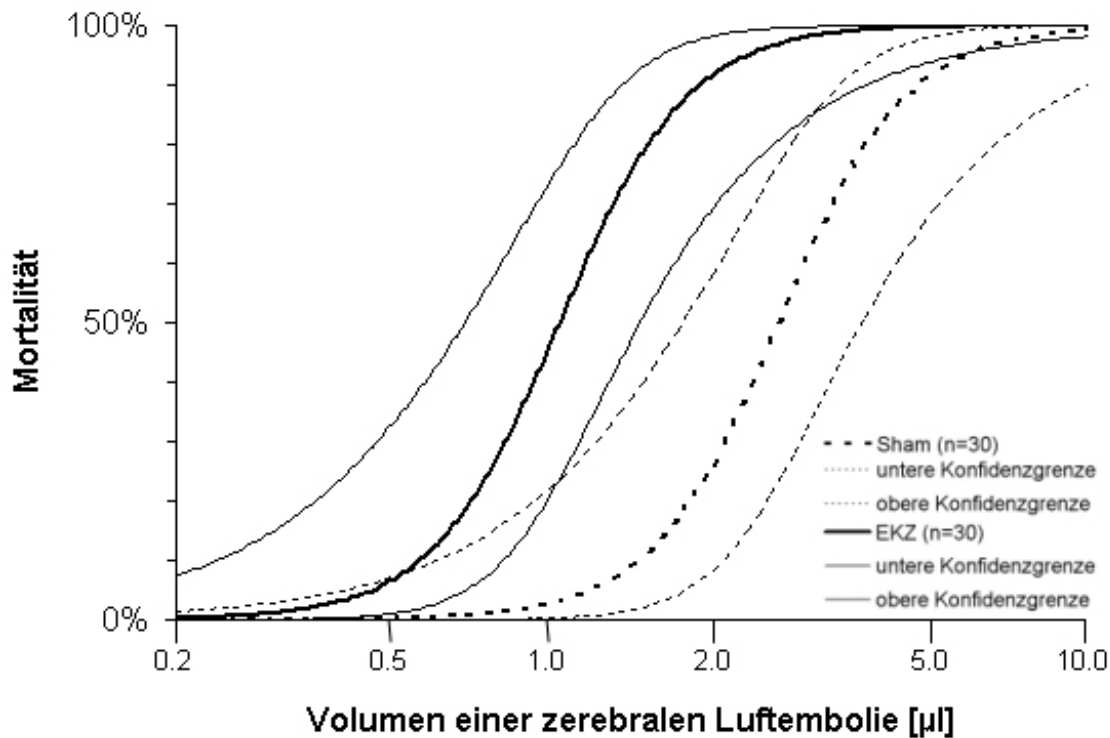


Abbildung 21: Zeigt die Dosis-Wirkungskurve (MW \pm 95% KI) für die Mortalität (%) in Abhängigkeit vom applizierten Luftvolumen (μ l).

MW = Mittelwert, KI = Konfidenzintervall

Die Kurve der EKZ-Gruppe ist signifikant nach links verschoben im Vergleich zur Sham-Gruppe ($p = 0,006$). Das bedeutet, dass Tiere, die einer EKZ unterzogen werden, kleinere Luftvolumina tolerieren als Tiere, die nicht an die EKZ angeschlossen werden.

3.3.2 Parameter des modifizierten Hole Board Test

Mit dem modifizierten Hole-Board (mHB) Test werden folgenden kognitive- und Verhaltensparameter analysiert:

Eigene Untersuchungen

Kognitive Parameter: Gesamtzeit (*Time Complete*), falsche besuchte Löcher (*Wrong Choices*), wiederholt besuchte Löcher (*Repeated Choices*) und Markierte Löcher, die nicht besucht werden (*Omission errors*), die während der Lernphase im mHB Test aufgezeichnet werden.

Verhaltensparameter (Angst und Allgemeinbefinden): umfassen im modifizierten Hole-Board (mHB) Test die Anzahl der mHB Besuche (*Number of Board Entries*), Latenz bis zum ersten mHB Besuch (*Latency first entry on Board*), die auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (*Time on Board*) und die Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (*Immobility*).

Motivationsparameter, gerichtete Exploration: als solche gilt im mHB Test das zielgerichtete Besuchen von Löchern, wobei die Anzahl besuchter Löcher (*Number of Holes Visited*) und die Latenz bis zum ersten Lochbesuch (*Latency first Hole Visit*) unterschieden werden. **Ungerichtete Exploration:** wird das Aufrichten auf die Hinterbeine (*Rearings*) verstanden.

Physiologische Erregung (Arousal Parameters); wird im mHB Test mit der Anzahl der Kotbällchen (*Boli*) und Gesamtzeit der Putzphasen (*Grooming*) während eines Durchlaufs erfasst.

Darüber hinaus werden Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen steigenden Luftboli und kognitiven und Verhaltensparametern mit 95% Konfidenzintervall erstellt (siehe Abbildung 21 und 22).

3.3.2.1 Kognitive Fähigkeiten

50% der Tiere in der EKZ-Gruppe zeigen kognitive Defizite nach Applikation eines Luftbolus von 1,5 µl. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt dieser Luftbolus zwischen 1,1 und 2,0 µl (95% Konfidenzintervall).

50% der Tiere in der Sham-Gruppe zeigen kognitive Defizite nach Applikation eines Luftbolus von 1,5 µl. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt dieser Luftbolus zwischen 0,9 und 2,2 µl (95% Konfidenzintervall).

Bei dem schrittweisen Einbeziehen verschiedener Faktoren- Präparation (EKZ vs. Sham) und Behandlung (Xenon vs. Luft)- stellt sich heraus, dass weder die Präparation noch die Behandlung einen signifikanten Einfluss auf **die kognitiven Fähigkeiten am 7.**

postoperativen Tag zeigt. Xenon zeigt weder einen positiven noch einen negativen Effekt auf die kognitiven Fähigkeiten am 7. postoperativen Tag. Im weiteren Verlauf (in der Abbildung 22) werden die Untergruppen „Xenon“ und „Luft“ zusammengefasst und nur die Hauptgruppen; EKZ und Sham, verglichen und graphisch dargestellt.

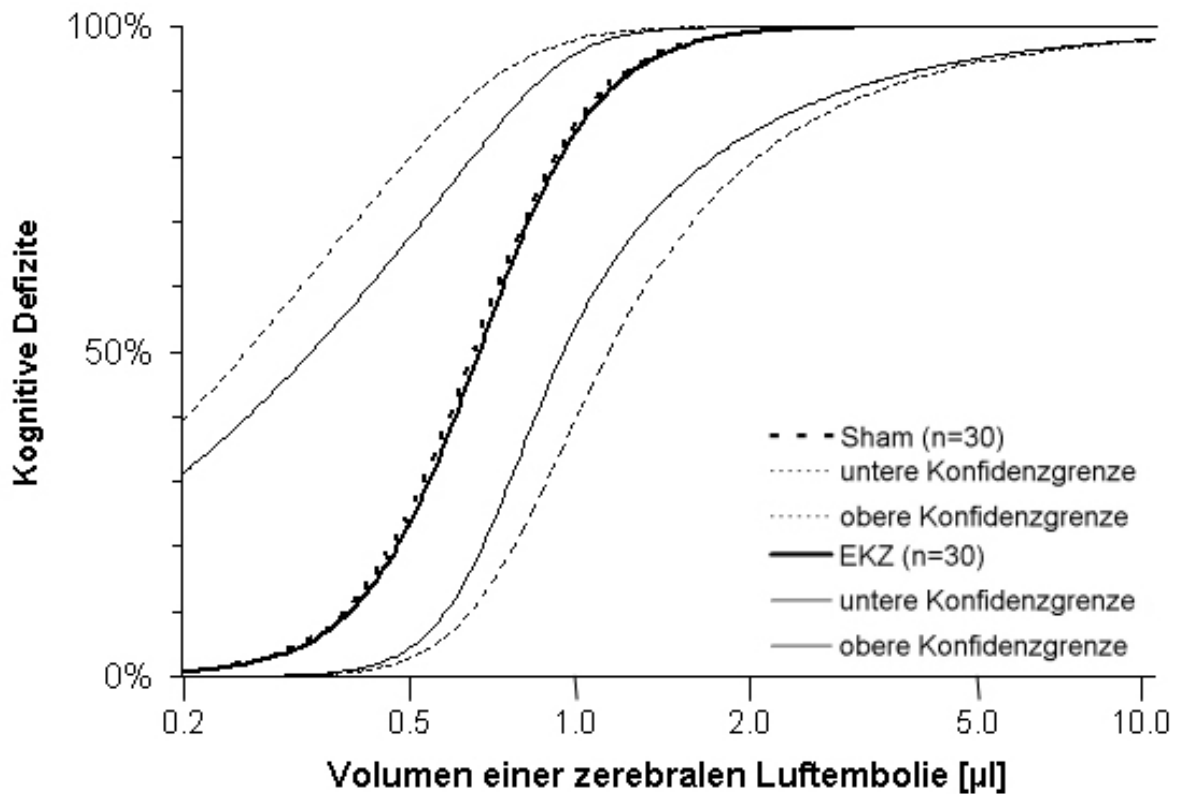


Abbildung 22: Zeigt die Dosis-Wirkungskurve ($MW \pm 95\% KI$) für kognitive Fähigkeiten (%) in Abhängigkeit vom applizierten Luftvolumen (μl).

MW = Mittelwert, KI = Konfidenzintervall

Es ergibt keine feststellbaren Unterschiede zwischen der EKZ-Gruppe und der Sham-Gruppe bezüglich kognitiver Fähigkeiten.

3.3.2.2 Verhalten

50% der Tiere in der EKZ-Gruppe zeigen Verhaltensänderungen nach Applikation eines Luftbolus von 0,2 μl . Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt dieser Luftbolus zwischen 0,0 und 2,2 μl (95% Konfidenzintervall).

Eigene Untersuchungen

50% der Tiere in der Sham-Gruppe zeigen Verhaltensänderungen nach Applikation eines Luftbolus von 1,1 μl . Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% liegt dieser Luftbolus zwischen 0,0 und 2,9 μl (95% Konfidenzintervall).

Bei dem schrittweisen Einbeziehen verschiedener Faktoren- Präparation (EKZ vs. Sham) und Behandlung (Xenon vs. Luft)- stellt sich heraus, dass weder die Präparation noch die Behandlung einen signifikanten Einfluss auf **das Verhalten am 7. postoperativen Tag** zeigt. *Xenon zeigt weder einen positiven noch einen negativen Effekt auf das Verhalten am 7. postoperativen Tag.* Im weiteren Verlauf (in der Abbildung 23) werden die Untergruppen „Xenon“ und „Luft“ zusammengefasst und nur die Hauptgruppen; EKZ und Sham, verglichen und graphisch dargestellt.

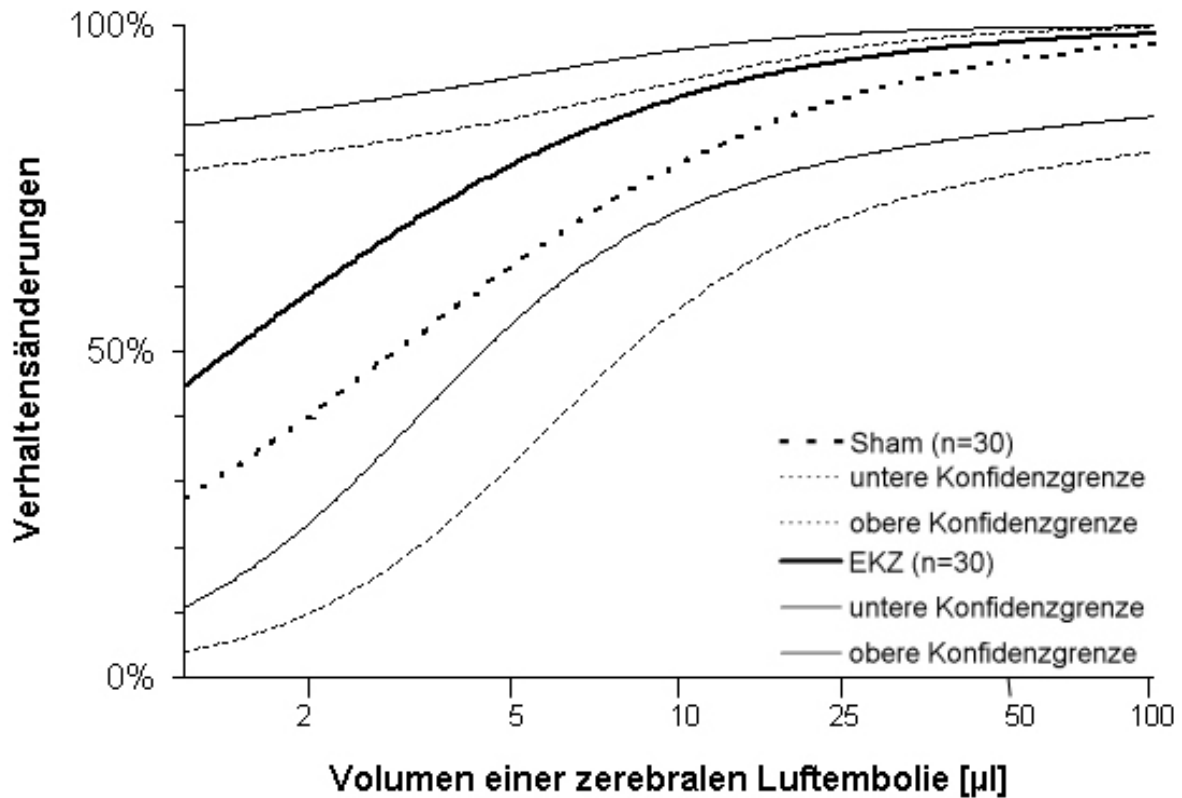


Abbildung 23: Zeigt die Dosis-Wirkungskurve ($MW \pm 95\% KI$) für Verhaltensänderungen (%) in Abhängigkeit vom applizierten Luftvolumen (μl).

MW = Mittelwert, KI = Konfidenzintervall

Es ergibt keine feststellbaren Unterschiede zwischen der EKZ-Gruppe und der Sham-Gruppe in Bezug auf Verhaltensänderungen.

4 Diskussion

In dieser Studie gelang es erstmalig, ein Modell zu entwickeln, in der zerebrale Luftembolien in ein bereits existierendes Modell der extrakorporalen Zirkulation (JUNGWIRTH et al., 2003) bei der Ratte integriert wurden, um den Einfluss von Xenon auf die Mortalität, die Kognition und das Verhalten zu bestimmen. Außerdem gelang es, ein geeignetes Luftbolus, das mit langfristigem Überleben gut vereinbar ist, aber trotzdem zu zentralnervösen Schädigungen führte, zu definieren.

Darüber hinaus konnten in der vorliegenden Studie Dosis-Wirkungs-Beziehungen zwischen unterschiedlichen Luftvolumina, Überleben, Kognition und Verhalten erstellt werden.

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Verhaltenstests

Herzchirurgische Eingriffe mit extrakorporaler Zirkulation sind für die Patienten mit großen Belastungen verbunden. Nach solchen Operationen treten relativ häufig neurokognitive Defizite sowie Änderungen des Verhaltens unterschiedlicher Art auf, die auf zerebrale Schädigungen zurückzuführen sind. Um pathologische Veränderungen festzustellen und deren Hintergrund zu verstehen, werden unterschiedliche Verhaltenstests eingesetzt.

Unter Verhalten versteht man das Erlernen neuer Fähigkeiten, die Erinnerung an bereits gespeicherte Erfahrungen und das Vermögen dieses Wissen wiederzugeben. Bei Menschen spricht man von Bewusstsein, Denken, Emotion und Willkürmotorik, auch kognitive Leistungen genannt. Naturwissenschaftlich sind diese nicht direkt erfassbar, prägen jedoch ein Individuum in maßgeblicher Weise und heben sich weit von der Lebenserhaltung des Organismus ab (KLINKE und SILBERNAGL, 2000).

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. 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. Grundsätzlich kann aber von dem annähernd gleichen strukturellen Bauplan des Gehirns auf ähnliche neurophysiologische und pathologische Mechanismen geschlossen werden. Für einige Funktionen und Strukturen kognitiver Prozesse stimmen größtenteils Untersuchungsergebnisse an Mensch, Affen und Nagetiere (Ratten) überein (SQUIRE, 1992). Nagetiere zählen zu den bevorzugten Untersuchungsobjekten und werden am häufigsten eingesetzt, um Gedächtnisstörungen und auch meist, um Änderungen in physiologischen Prozessen und Verhalten aufzudecken. Da diese Gedächtnisprozesse von unterschiedlichen intakten neuronalen Strukturen abhängen, können fehlerhafte Gedächtnisleistungen einen wichtigen Hinweis auf zerebrale Schädigungen geben.

Diskussion

Ein Verhaltenstest sollte gewisse Kriterien erfüllen, die für Mensch und Tier gleichermaßen akzeptabel sind.

- Effiziente Planung, standardisierte Methoden und Versuchsprotokolle
- Separate Räumlichkeiten, um möglichst störungsfrei testen zu können
- Fachkundiges Personal zum Testen und für die Betreuung der Tiere
- Sicherstellung des Wohlbefindens der Tiere
- Garantierte Schmerzlosigkeit und möglichst geringe Stressbelastung
- Einfache Durchführbarkeit und möglichst geringer Kostenaufwand
- Leichte Auswertbarkeit der Ergebnisse

Herkömmliche Verhaltenstests bilden für gewöhnlich nur einen geringen Umfang des gesamten Verhaltensrepertoires eines Tieres ab. Um die gewünschte Information über Veränderungen in kognitiven Prozessen und/oder im Verhalten zu erlangen, benötigt man zumeist mehrere unterschiedliche Tests. Die Gefahr dabei besteht in der Interferenz zwischen den verschiedenen Tests. In der hier gewählten Versuchs-durchführung wurde dieses Problem praktisch behoben, indem wir einen separaten neurologisch-motorischen Test (PHAUD in Vorbereitung) in Kombination mit dem modifizierten Hole Board (mHB) Test nach OHL durchgeführt haben. Der mHB Test ist ein visuell-räumlicher Verhaltenstest, der sehr vielseitige Einblicke in das Verhalten sowie in kognitive Funktionen bei Nagetieren verschaffen kann.

4.1.2 Modifizierter Hole-Board Test

Der modifizierte Hole-Board (mHB) Test wurde ursprünglich für die Untersuchung kognitiver und exploratorischer Parameter bei Spitzmäusen eingesetzt (OHL et al., 1998) und später von OHL et al. (2001b) an Nagetiere angepasst. Der mHB Test ist ein visuell-räumlicher Verhaltenstest und vereint die wesentlichen Eigenschaften eines offenes Feldes (Fortbewegungsaktivität und Angst) und eines klassischen Hole Boards (rein exploratorische Parameter).

Diskussion

Mit dem modifizierten Hole Board (mHB) Paradigma können komplexe Verhaltensmuster und kognitive Leistungen in einem einzigen Test erfasst werden, wodurch eine echte Alternative zu den häufig verwendeten Testbatterien geschaffen wurde. Neben dem Vorteil einer aussagekräftigen Überprüfung kognitiver Prozesse ermöglicht der mHB Test mit seinen Anforderungen an die lokomotorischen und feinmotorischen Fähigkeiten ein natürliches Futtersuchverhalten der Ratten, da sie ihr Futter in der Regel mit Hilfe von Pfoten und Schnauze am Boden suchen, was mit dem Bewegen und Öffnen eines Deckels im mHB Test vergleichbar ist.

Zusätzliche Stressfaktoren werden relativ gering gehalten, da die Tiere schon vor der Versuchsbeginn an das Hole-Board gewöhnt und habituiert werden, so dass es für sie kein Fremdobjekt mehr darstellt.

Mit dem mHB Test kann auch Transportstress durch die besondere Ausstattung des Versuchskäfigs verhindert werden, wobei der Versuchskäfig sowohl aus Wohnabteil als auch aus Versuchsarena besteht, die durch eine durchsichtige und durchlöchernde Wand voneinander getrennt sind. Isolationsstress wird ebenfalls weitgehend vermieden, insbesondere durch die Trennwandlöcher, die es während eines Durchlaufs ermöglichen, dass die Tiere mit ihren im Tierabteil verbleibenden Artgenossen in Kontakt treten können.

In Hinblick auf eine zuverlässige Bewertung von Verhaltens- und kognitiven Parametern scheint eine Reduktion aller möglichen irritierenden Stresseinflüsse von Bedeutung zu sein, da kognitive Leistungen sowohl bei Mensch als auch Tier extrem durch Stress beeinflusst werden können (MCEWEN und SAPOLSKY, 1995).

Bei Untersuchungen der kognitiven Funktion von Nagetieren werden sehr häufig physiologische Einschränkungen wie Nahrungskarenz eingeführt, auch werden dem Versuchstier physische Belastungen abverlangt, z. B. das Schwimmen in einem Wasserlabyrinth (Morris-Water-Maze). Obwohl das Morris-Water-Maze (MORRIS, 1984) als etabliertes Testparadigma in zerebralen Ischämie-Modellen bei Nagetieren häufig verwendet wird, bleibt es aus tierschutzbedingten Überlegungen umstritten, da die Tiere sich dieser Belastung nicht entziehen können. Dies kann aber auch als möglicher Störfaktor interpretiert werden, da gewisse Stresszustände unterschiedliche Auswirkungen auf Versuchsgruppen haben können (HODGES, 1996). Auch könnte der Einfluss weiterer nicht-kognitiver Faktoren auf die Leistung im Morris-Water Maze allgemein unterschätzt worden sein. Denn auch alte, blinde Ratten schnitten in diesem Test überraschend gut ab (LINDNER et al., 1997).

Diskussion

Futterentzug wird in vielen Testprozeduren verwendet, z. B. beim Radial-Arm-Maze (JARRARD 1986), um die Motivation, mit der die Tiere den Test absolvieren, noch zu erhöhen. Durch diese Faktoren wird das erkennbare Wohlbefinden der Tiere eingeschränkt und die Aussagekraft der Parameter gerade in Bezug auf Motivation und Emotion können beeinflusst werden. Dies ist auch mit ein Grund, weshalb die meisten Verhaltenstests von Nagetieren eher deren Reaktion auf ein stressintensives Ereignis bewerten, als die Einflüsse auf verschiedene Verhaltens- und/oder kognitiver Parameter, wie manchmal behauptet wird (PRUT und BELZUNG, 2003).

Zusätzliche Vorteile, die mit dem mHB Test erzielt werden können, sind vor allem die geringeren benötigten Gesamttierzahlen, sowie auch immense Zeit-, Personal- und Kostenersparnisse. Darüber hinaus können mit dem mHB Test auch wesentliche Nachteile herkömmlicher experimenteller Verhaltenstests überwunden werden, die ansonsten mit der gemessenen Leistung der Tiere im Test interferieren könnten.

Unbedingt zu beachten ist, dass der mHB Test sehr störanfällig ist, und deshalb während der Testdurchführung besonders auf eine störungsfreie Umgebung geachtet werden muss. Auftretende Geräusche außerhalb des Versuchsraumes wurden durch ein Radio gedämpft und eine Weichtastatur am Computer verhindert zusätzliche Störungen, wie sie durch das Klicken einer normalen Tastatur hervorgerufen werden könnten.

Es ist auch nicht endgültig auszuschließen, dass trotz des Auswischens der Löcher mit der geruchneutralisierenden Johannisbeeraromalösung eine gewisse Geruchsorientierung beim Absolvieren des Tests eine Rolle spielt.

Für die Pflege, Untersuchung und das Testen der Tiere war tierärztliches Personal, das mit dem Verhalten der Ratten genauestens vertraut und in das Testverfahren gut eingeübt wurde, zuständig.

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

4.1.3 Zerebrale Luftembolien

Luftembolien sind im Allgemeinen ein relativ häufiges Ereignis, verursachen wenn sie auftreten, nicht selten erhebliche und ernsthafte Schäden. Zerebrale Luftembolien treten im Zusammenhang mit Traumata, während herzchirurgischen Eingriffen mit der Herz-Lungen-Maschine (HLM) oder bei neurochirurgischen Eingriffen in sitzender Position auf, und sie sind bedauerlicherweise in den meisten Fällen auf iatrogene Ursachen zurückzuführen (INAMASU et al., 2001). Mit den heutzutage verbesserten diagnostischen Maßnahmen, z. B. mit der transkraniellen Dopplermethode (TCD), können Luftembolien unterschiedlicher Größe perioperativ sehr gut festgestellt werden. Studien haben gezeigt, dass bei diesen Patienten im Laufe eines herzchirurgischen Eingriffs hunderte bis tausende Mikroembolien aufgetreten waren (BAKER et al., 1995), (BARBUT et al., 1996).

Das Injizieren von Luft in zuführende zerebrale Gefäße verursacht Ischämien verschiedenen Schweregrads: von fokalen und potentiell reversiblen bis hin zu großflächigen irreversiblen Formen. Eine Ischämie stellt eine Reduktion oder Unterbrechung der Durchblutung eines Organs, Organteils oder Gewebes infolge mangelnder arterieller Blutzufuhr dar. Ischämien können demnach inkomplett bei erhaltener Residualdurchblutung oder komplett bei vollständig sistierender Durchblutung sein (WERNER, 1993).

Um die Pathogenese der zerebralen Schäden, die in Verbindung mit zerebralen Luftembolien hervorgerufen werden, näher untersuchen zu können, werden Tiermodelle eingesetzt. In dieser Studie wurde einem Modell mit Ratten der Vorzug gegeben, weil zum einen der Aufbau des menschlichen Gehirns im Grundprinzip mit dem Aufbau des Rattengehirns übereinstimmt. Zum andern ist das menschliche Gehirn in seiner Funktion und Blutversorgung mit dem der Ratte vergleichbar. Deshalb geht man davon aus, dass die aus dem Tierversuch gewonnenen Erkenntnisse weitgehend mit der Humanmedizin vergleichbar sein können (LIEBMANN, 1993). Ferner ist aus technischen Gründen dieses Kleintiermodell hervorragend geeignet, vor allem im Hinblick auf den relativ kleinen personellen und finanziellen Aufwand. Was die Anwendung der Herz-Lungen-Maschine betrifft, sind Ratten ebenfalls das kleinste vorstellbare und gleichzeitig passende Modell. Schließlich ist die Technik von FURLOW (1982), bei der man erfolgreich kontrollierbare Luftboli in zerebrale arterielle Gefäße der Ratte, via die rechte A. carotis interna injizieren kann, bereits entwickelt worden. Diese Technik macht es möglich, zerebrale Luftboli und dadurch im Gehirn auftretende pathologische Veränderungen genau festzustellen.

Diskussion

Zerebrale Luftembolien beim Menschen können direkt über die Herz-Lungen-Maschine (HLM) in den Kreislauf gelangen während der EKZ. Nach Anreicherung des Blutes mit Sauerstoff und Entfernung von Kohlendioxid in der HLM wird das Blut in den arteriellen Kreislauf des Patienten direkt über die Aorta zurückgeleitet. Somit gelangen die verabreichten zerebralen Luftboli direkt in die zerebrale Zirkulation des Gehirns. In dem hier angewandten Rattenmodell, bei dem Blut erst via Schwanzarterie in die Aorta zurückgeleitet wird, würde die Gefahr bestehen, dass es nach Injizieren von zerebralen Luftboli in die HLM zu einer Embolisierung der Hintergliedmaßen bis hin zur Bauchregion kommen würde. Zusätzlich wäre es schwierig zu entscheiden wieviel Luft tatsächlich in die zerebrale Zirkulation erlangen.

Verschiedene Techniken wurden entwickelt, um kontrollierbare Luftboli in die zerebralen arteriellen Gefäße injizieren zu können. Die Ergebnisse waren jedoch oft mit Schwierigkeiten verbunden. Es stellte sich heraus, dass der Ort der arteriellen Injektion von großer Bedeutung ist. Bei Ligatur der A. carotis communis oder der A. carotis interna kommt es zu einer unkontrollierbaren Verteilung der Luft in eine oder mehrere benachbarte Arterien und/oder sogar in Arterien, die nicht das zerebrale Gewebe versorgen (FRITZ und HOSSMANN, 1979). Dies hat zur Folge, dass die kompletten Luftvolumina das Gehirn überhaupt nicht erreichen können. Andererseits werden hämodynamische Verhältnisse zwischen den angrenzenden Arterien durch das Injizieren von Luft unnötig gestört und es resultieren Blutungen bis hin zur Ruptur der zu injizierenden Arterie. Solche Ligaturen können auch zu Veränderungen des Blutflusses durch kollaterale Kanäle, was wiederum zu einer abrupten Verlangsamung des Perfusionsdruckes im Gewebe, das von der ligierten Arterie versorgt wurde, führen. Zusätzlich kommt es auch zu einer Diffusion von Blut in alle angrenzenden Areale dieser Gewebe. Ferner ergibt sich das Problem, dass durch die Menge an injizierter Luft die intravaskuläre Kapazität der zu embolisierenden Arterie überschritten wird. Dies resultiert wiederum in einem „spill-over-Effekt“ von Luft in der kontralateralen Hemisphäre den vertebrobasilaren Teil des Gehirns. Dadurch ergibt sich ein falsches Versuchsergebnis, vor allem aber auch eine un stabile Präparation, die durch eine großflächige Ischämie des betroffenen Gehirnareals und/oder zu einer weit ausgebreiteten und nicht kontrollierbaren Embolisierung führen, die auch tödlich enden können (SIMMS et al., 1971). Zudem muss, um eine Injektion von kontrollierbaren Luftvolumina zu erzeugen, das Durchsickern von Luft durch den intraarteriellen Katheter oder durch die zur Luftapplikation benutzte Kanüle verhindert werden. Ein wichtiger Durchbruch wurde mit der Technik von FURLOW im Jahre 1982 erzielt. Diese Technik unterscheidet sich von anderen eingesetzten Methoden durch das

Ligieren der A. pterygopalatina und das fehlende Ligieren der A. carotis externa bzw. interna. Die Luft wird über einen kleinen Seitenast der A. carotis externa nämlich der A. occipitalis verabreicht.

Die Applikation der Luftboli wurde im vorliegenden wie folgt durchgeführt:

Zuerst wurde ein PE-10-Katheter über einen Stumpf der rechten A. carotis externa in die rechte A. carotis interna vorgeschoben. Anschließend wurden die A. thyroidea superior und A. occipitalis ligiert und die A. carotis externa so weit wie möglich kranial abgesetzt. Um ein Durchsickern von Luft in den extrazerebralen Kreislauf zu vermeiden, wurde nun die A. pterygopalatina ligiert. Über den ligierten Stumpf der A. carotis externa wurde schließlich ein PE-10-Katheter bis kurz vor den Abgang der A. pterygopalatina vorgeschoben und hierüber die Luftboli appliziert. Hier unterscheidet sich die hier verwendete Technik mit der von FURLOW (1982), der den Stumpf von der A. occipitalis als Zugang verwendete. Die in der vorliegenden Studie verwendete Technik ermöglicht eine optimale und zielgerichtete Injektion von bestimmten Volumina Luft in die Arterien der zerebralen Zirkulation, indem die Injektionsstelle luftdicht mit einer festen Ligatur unter Kontrolle gehalten werden kann. Zusätzlich wird es möglich, einen stabilen und gleichmäßigen Injektionsdruck zu erhalten. Luft in kontrollierten und unterschiedlichen Volumina verabreichen zu können, ermöglicht es, eine fokale und reversible zerebrale Ischämie hervorzurufen. Durch die Ligatur der A. pterygopalatina erreicht man, dass das entsprechende Volumen Luft ausschließlich in die arterielle Zufuhr einer zerebralen Hemisphäre gelangt und verhindert auch die Verteilung von Luft in den extrazerebralen Gefäßen.

4.1.4 Zerebrale Luftembolien während extrakorporaler Zirkulation

Luftembolien können abhängig, von den beteiligten Organen, unterschiedliche Schäden hervorrufen. Die Pathophysiologie von Luftembolien ist weitgehend abhängig von der Größe und Menge der Luftbläschen (HOSSMANN, 1998). Mikroskopische Luftembolien verursachen nur eine kurzzeitige „Irritation“ der Gefäßwand mit einer vorübergehenden Obstruktion des Blutflusses und eine kurze Interferenz mit der Blut-Hirn-Schranke (NILSSON et al., 1999). Makroskopische Luftembolien dagegen brauchen viel länger, um resorbiert zu werden und verursachen deshalb als Folge umfangreichere Schäden, wie Ischämie und diffuse Ödeme bis hin zu systemischer Inflammation. Vor allem die zerebrale und koronare Zirkulation sind sehr empfindlich gegenüber Änderungen in der Blutzufuhr und

Diskussion

Sauerstoffkonzentration. In den vergangenen zwanzig Jahren ist mehrmals bestätigt worden, dass die Dauer des operativen Eingriffs als größter Risikofaktor für das Auftreten von zentralnervösen Schäden und auch von Luftembolien verantwortlich gemacht werden kann (STUMP et al., 1996).

In der vorliegenden Dosis-Findungsstudie wurde festgestellt, dass je größer die Luftvolumina sind, desto schwerer auch der resultierende Schaden ist. Die Wahrscheinlichkeit, dass Defizite auftraten oder die Tiere sogar euthanasiert werden musste war signifikant höher für die EKZ-Gruppe im Vergleich zur Sham-Gruppe. Das bedeutet, dass zerebrale Luftbläschen in Zusammenhang mit EKZ eine deutliche Verschlechterung des neuropsychologischen Outcomes und zusätzlich auch eine höhere Mortalität hervorrufen.

Ein ähnliches Ergebnis erzielten auch HINDMANN et al. (1998) die zwei Kaninchengruppen, eine mit EKZ und eine ohne, 50 µl/kg KGW Luft via A. carotis interna verabreichten. Darüber hinaus wurde der Effekt von Heparin auf das neurologische Outcome untersucht und die neurologische Funktion mit Hilfe somatosensorisch evozierter Potentiale (SSEP) festgestellt. Die Tiere in der EKZ-Gruppe zeigten eine deutlich schlechtere Erholung der SSEP als die Tiere in der Kontroll-Gruppe. Heparin zeigte keinen positiven Effekt auf das neurologische Outcome in der EKZ-Gruppe (HINDMANN et al., 1998).

HINDMANN et al. (1999) führten eine weitere Studie durch, in der Kaninchen Luftvolumina von 50 µl/kg bis 300 µl/kg KGW via A. carotis interna verabreicht wurden. Die neurologische Funktion wurde auch hier durch SSEP festgestellt. Die Ergebnisse zeigten eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen verabreichter Menge zerebraler Luftboli und dem Schweregrad der neurologischen Schäden. Das bedeutet, dass je größer die Luftvolumina sind, desto schlechter ist die SSEP Erholung, die neurologischen Schäden und desto höher ist auch die Mortalitätsrate (HINDMANN et al., 1999).

Weshalb ein signifikant größeres Volumen von Luftbläschen in der **Abwesenheit** von EKZ toleriert wird, hat vermutlich mehrere Gründe. Die Wissenschaftler gehen davon aus, dass zum größten Teil die EKZ selbst dafür verantwortlich gemacht werden kann. Mögliche Probleme die bei extrakorporaler Zirkulation (EKZ) auftreten können, sind z.B.:

(1) Eine **Hyperglykämie**, die häufig während EKZ hervorgerufen wird, durch eine vermehrte Produktion von „Stress“-Hormonen (Glukokortikoide, Katecholamine, Glukagon und Wachstumshormone) (LEHOT et al., 1992). Tierversuche deuten darauf-hin, dass Hyper-

Diskussion

glykämie nach einer fokalen zerebralen Ischämie vermehrte neurologische Defizite hervorrufen kann (HINDMAN, 1995).

(2) Eine **Anämie**, die hervorgerufen wird während EKZ. Studien haben gezeigt, dass eine moderate Hämodilution (Hämoglobin ~ 10 g/dl) sogar eine Reduzierung der zerebralen Schäden bewirken kann (OHTAKI und TRANMER, 1993). Jedoch kommt es bei deutlich reduzierter Hämoglobin-Konzentration (< 10 g/dl) zu einer Verstärkung der zerebralen Schäden (REASONER et al., 1996c). In einem Versuch mit Kaninchen stellten HINDMAN et al. (1998) fest, dass die Tiere in der EKZ-Gruppe signifikant anämischer waren als die Tiere der Kontroll-Gruppe ohne EKZ.

(3) Es entsteht ein **erhöhtes Entzündungsrisiko** während EKZ (DUTKA et al., 1989), (BOYLE et al., 1997). Eine wichtige Rolle spielen dabei vor allem systemische Entzündungsreaktionen (SIRS). Klinisch gesehen könnte die mit EKZ assoziierte SIRS sogar zum Erscheinungsbild des transienten zerebralen Ödems beitragen (HARRIS et al., 1993). Der ausgedehnte Kontakt des Patientenblutes mit dem synthetischen Material der EKZ löst eine Reihe komplexer Blutaktivierungsprozesse aus. Dazu gehören die Aktivierung der Gerinnungskaskade, des Kallikreinsystems, des fibrinolytischen Systems und des Komplementsystems. Diese Aktivierungsprozesse werden zusammen mit Reperfusionsvorgängen (z.B. Freisetzung von O₂-Radikalen) für viele der nach herzchirurgischen Eingriffen beobachtenden Organfunktionsstörungen verantwortlich gemacht (KIRKLIN et al., 1983). Im Vordergrund steht die Komplement-(C3a-, C5a-) Aktivierung, die zu Leukozytenaggregation und Sequestration mit Freisetzung von Zytokinen und vasoaktiven Substanzen führt, welche den systemischen und regionalen Gefäßtonus beeinflussen und durch direkte Membranschädigung die Kapillarpermeabilität erhöhen (DOWNING und EDMUNDS, 1992).

(4) Erzeugung eines **nicht pulsatilen Blutflusses**. Bei Verabreichung von großen Luftblasen kommt es bei intakter Zirkulation anschließend zur Auflösung der Luftblasen in viele kleinere Luftbläschen (ANNANE et al., 1995). Kleinere Luftbläschen verursachen nur eine vorübergehende Obstruktion der Gefäße und somit eine nur kurze Beeinträchtigung des zerebralen Blutflusses. Ohne eine sofortige Absorption und/oder eine Vernichtung dieser großen Luftblasen würde es zu erheblichen Ischämien kommen.

Dieser Prozess wird Fraktionierung genannt. Der Hauptfaktor für die Fraktionierung der Luftblasen sind unverzüglich auftretende Scherkräfte, die ihre Wirkung an der Oberfläche der Luftblasen ausüben und somit deren Auflösung bewirken (RALLISON 1984). Durch einen

nicht pulsatilen Blutfluss, der bei EKZ häufig auftritt, kommt es zu einer Reduzierung dieser Scherkräfte und somit zu nur geringfügiger bis keiner Auflösung der Luftblasen, was wiederum zu größeren zerebralen Schäden führen kann. Im Gegensatz dazu werden bei normaler Zirkulation (ohne EKZ), in der ein konstantes Pulsieren des Blutflusses herrscht, die Luftblasen sofort verkleinert und schnell wieder absorbiert und verursachen somit nur geringe zerebrale Schäden.

(5) **Hyperoxämie.** Es wird kontrovers diskutiert, in welchem Umfang eine Hyperoxämie auf das neurologische Outcome wirken könnte. In einer Studie von HINDMAN et al. (1998) wurde eine tendenzielle Hyperoxämie in der EKZ-Gruppe festgestellt, was nicht der Fall war in der Gruppe ohne EKZ. Es wird über die mögliche Gefahr einer vermehrten Produktion freier Radikale in Zusammenhang mit einer Hyperoxämie berichtet (DIRNAGL et al., 1995), sie wurde aber noch nicht konkret festgestellt (OILLET et al., 1996). Ob eine postischämische Hyperoxämie eine Verschlechterung des neurologischen Outcome verursachen kann, wurde bislang nicht bestätigt (AGARDH et al., 1991).

(6) **Zerebrale Hypoperfusion.** Während der EKZ mit ausgeschalteter Herzfunktion wird die zerebrale Sauerstoffversorgung ausschließlich durch die EKZ, genauer über die eingestellte Flussrate, bestimmt. Bei gesunden Patienten dagegen wird der zerebrale Blutfluss (CBF) mit Hilfe der körpereigenen Autoregulation in sehr engen Grenzen unabhängig vom bestehenden mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) gehalten. Die Einflüsse des arteriellen Blutdrucks werden als Ursache für zerebrale Hypoperfusion kontrovers diskutiert. Verschiedene Studien unterstützen die Meinung, dass vor allem bei Hochrisikopatienten eine bessere neurologische Leistungsfähigkeit nach EKZ mit Aufrechterhaltung eines hohen mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP = 80 bis 100 mmHg) während der EKZ assoziiert ist (GOLD et al., 1995). Dagegen konnte eine andere Studie keine Reduktion postoperativer Schlaganfälle bei Hochrisikopatienten durch einen höheren MAP erzielen (VAN WERMESKERKEN et al., 2000).

(7) **Hypothermie.** Herzchirurgische Eingriffe mit einer EKZ-Dauer von mehr als 20 bis 30 Minuten werden vorwiegend in mäßiger Hypothermie (systemischer Hypothermie) von 33 bis 35 °C durchgeführt. Dies erlaubt einerseits ein Herabsetzen der Durchflussrate durch das HLM-System (geringere Bluttraumatisierung) und dient andererseits dazu die Organfunktionen bei hypoxischen oder ischämischen Insulten aufrechtzuerhalten (GALETTI et al., 1962). Das sogenannte α -stat-Management (Aufrechterhaltung nicht Temperatur-korrigierter pH- und pCO₂ -Normalwerte bei 37 °C) des Säure-Basen-Gleichgewichts in Hypothermie hat

Diskussion

sich gegenüber dem pH-stat-Management (Aufrechterhaltung Temperatur-korrigierter pH- und pCO₂ -Normalwerte) durchgesetzt. Experimentelle Untersuchungen weisen darauf hin, dass bei α -stat-Management die zerebrale Autoregulation intakt und die globale Hirndurchblutung den metabolischen Bedürfnissen angepasst ist (STEPHAN et al., 1992).

Obwohl Verbesserungsmaßnahmen, wie das Benutzen von Membranoxygenatoren und v. a. arteriellen Filtern, zu einer deutlichen Reduzierung von Luftembolien und auch von neurologischen Defiziten geführt haben (PUGSLEY et al., 1994), kommt es weiterhin zu erheblichen neurologischen Beeinträchtigungen der Patienten nach solchen Eingriffen. Die Wissenschaftler sind sich darüber einig, dass Änderungen der zerebralen Durchblutung und/oder Oxygenierung primär nicht auf die EKZ-Einrichtung zurückgeführt werden können. Auf dem heutigen Stand der Technik und der hochentwickelten, standardisierten operativen Maßnahmen sind die meisten Schwachstellen der EKZ weitgehend behoben worden (HINDMAN und TODD, 1999).

Die chirurgische Präparation, die im vorliegenden Versuch für die EKZ verwendet wurde, v. a. der Zugang zu der Schwanzarterie (A. caudalis), die in einem flachen Winkel aus der Aorta abgeht, macht dieses Modell einzigartig. Die Schwanzarterie dient als Entnahmestelle für Blutgasanalysen vor und nach EKZ sowie auch als Einflusskanüle während EKZ. Die meisten bisherigen Modelle für EKZ und HLM an der Ratte erforderten eine Eröffnung des Thorax, um Zugang zum Herzen zu erlangen. Ein solches Vorgehen limitiert oder verhindert die Möglichkeit zu Erholung und Überleben der Versuchstiere wegen der essentiellen Bedeutung der Brustmuskulatur für Fortbewegung und Ernährung.

In eine Studie von JUNGWIRTH et al. (2003) wurde ein technisch verbessertes komplettes EKZ-Modell verwendet und führte weder bei den kognitiven noch bei den neurologischen Untersuchungen zu feststellbaren bleibenden Veränderungen. Die Autoren entwickelten auch einen speziell für Ratten angepassten Membranoxygenator, der im Vergleich zu einem Neugeborenen-Oxygenator ein totales Zirkulationsvolumen von nur 10 ml statt 38 ml benötigt (JUNGWIRTH et al., 2003).

Eine EKZ-Einrichtung, die optimal an das Versuchstier angepasst ist, ist unbedingt notwendig, weil nur dadurch der Humanmedizin vergleichbare Bedingungen geschaffen werden können.

Diskussion

Auch die Vorgeschichte des Patienten ist von großer Bedeutung und bei jedem Individuum unterschiedlich. Das Alter, frühere neurologische Erkrankungen und besondere genetische Einflüsse scheinen ätiologisch eine wichtige Rolle zu spielen. Der Apolipoprotein-ε4 (APOE 4)-Genotyp scheint mit dem Auftreten von zentralnervösen Schäden nach EKZ assoziiert zu sein (TARDIFF et al., 1997). Vermutlich beeinflusst APOE 4 neuronale Schädigungs- und Reparaturmechanismen oder moduliert die Gliazellantwort auf Entzündungsprozesse im Gehirn (NEWMAN et al., 1999).

Studien über grundlegende Physiologie haben mehr zum Einblick in das Phänomen, das durch Luftembolien hervorgerufen wird, beigetragen. Intravaskuläre Luftbläschen verursachen Schäden durch Obstruktion der Gefäße, beeinträchtigen die Gewebsdurchblutung und rufen thrombotische und entzündliche Prozesse hervor (MUTH und SHANK, 2000), (HINDMAN, 2002). Hierbei kann man lokale, regionale und systemische entzündliche Prozesse unterscheiden. SUZUKI und ECKMANN (2003) vermuten, dass Wechselwirkungen zwischen im Blut zirkulierenden Makromolekülen bestehen, wodurch sie gleichzeitig an der Oberfläche von Luftbläschen und von Endothel haften. Proteine, v .a. Albumin, besitzen eine hohe Anziehungskraft und binden sich leicht durch einfache hydrophobische Wechselwirkungen an Gas-Flüssig-Verbindungen (MILLER et al., 1993). In einer Studie von VAN HULST et al. (2003) wurden Veränderungen in der metabolischen Funktion nach Auftreten von Luftembolien untersucht. Es wurde (1), eine deutliche Erhöhung des intrakraniellen Druckes, hauptsächlich durch zerebrales Ödem, (2) Verminderung des Glukose- und Sauerstofftransports, (3) signifikant erhöhte Laktatkonzentrationen, (4) ein allgemein negativer Einfluss auf den zerebralen Metabolismus nachgewiesen. Ein relativ häufig auftretendes Ereignis nach einer Reperfusion, verursacht durch länger- oder kurzfristige Blockade des Blutflusses, ist die Schädigung des Gefäßendothels, die letztlich zu einer Aktivierung des lokalen Immunsystems führt (MUTH und SHANK, 2000).

In welcher Form und Ausmaß die EKZ die zerebrale Physiologie und Pathologie beeinflusst, und wie das Auftreten von Luftbläschen und deren Folgeschäden verhindert werden kann, sind wichtige Fragen, auf die es jedoch noch keine klinisch zufriedenstellenden Antworten gibt.

4.1.5 Xenon

Xenon gehört zur Gruppe der Edelgase. Es besitzt einen Blut-Gas-Verteilungskoeffizient von 0,12 bis 0,14 (GOTO et al., 1998) und löst sich nur schwer in Blut, was zu einer schnellen Erhöhung und raschem erneuten Absinken der Plasma-Konzentration führt. Vorteile dieser Eigenschaft ergeben sich aus einer raschen Wirkung durch Anfluten des Anästhetikums im ZNS und einem schnellen Abfluten der Anästhesie. Xenon zeigt ein bemerkenswert sicheres Profil, indem es kaum Einfluss auf kardiorespiratorische und renale Funktionen ausübt (LUTTROP et al., 1993, HETTRICK et al., 1998).

Xenon ist bereits seit Jahrzehnten als Anästhetikum eingesetzt worden, hauptsächlich jedoch in experimentellen Einrichtungen. Seit Entdeckung von anästhetischen Eigenschaften dieses Edelgases sind eine Reihe wissenschaftlicher Berichte über die Wirksamkeit veröffentlicht worden. In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen haben jeweils gezeigt, dass der Hauptvorteil von Xenon in der Neuroprotektion durch die antagonistische Wirkung am N-methyl-D-aspartat (NMDA)-Rezeptor liegt (FRANKS et al., 1998), (YAMAKURA und HARRIS, 2000). Diese Wirkung ist konzentrationsabhängig (WILHELM et al., 2002).

Es ist mehrmals nachgewiesen worden, dass NMDA-Rezeptor-Antagonisten, wenn sie innerhalb des ischämischen Geschehens appliziert werden, eine Reduzierung der fokalen Ischämie bewirken können (MEMEZAWA et al., 1995). Im Versuch von HOMI et al. (2003) wurde die neuroprotektive Wirkung hauptsächlich im zerebralen Kortex festgestellt, mit einem relativ schwachen Effekt im Subkortex. Eine Erklärung dafür könnte die regionale Verteilung und Dichte der NMDA-Rezeptoren sein, die absolut gesehen im Kortex in größerer Zahl vorhanden sind als im Subkortex (MATSUNAGA et al., 1996). Doch dies wäre nur eine plausible Erklärung, wenn sich die Neuroprotektion von Xenon einzig auf die antagonistische Wirkung an NMDA-Rezeptoren beschränken würde. Eine zusätzliche und durchaus berechtigte Vermutung ist der Unterschied in der vaskulären Distribution beider Gehirnregionen. Der Subkortex wird durch eine Endarterie, der A. lenticulostriata, versorgt. Bei einer Obstruktion dieser Arterie kommt es einerseits zu einer Ischämie des gesamten Subkortex und andererseits gibt es überhaupt keinen Zugang mehr für eine mögliche Zufuhr von neuroprotektiven Wirkstoffen über die Blutbahn. Der Kortex dagegen wird reichlich von Kollateral-Arterien versorgt und besteht aus einer wohldefinierten Penumbra.

Ein zusätzlicher bemerkenswerter Vorteil von Xenon ist die leichte und rapide Diffusion durch die Blut-Hirn-Schranke, was sich in einem raschen Erreichen und Einsetzen der

Diskussion

protektiven Wirkung zeigt, wodurch ein schnellstmöglicher und zielgerichteter Effekt am Ort des Schadens geschaffen wird (MUIR und LEES, 1995).

Nach dem heutigen Stand der Forschung gibt es keine neurotoxischen Eigenschaften in Verbindung mit der Applikation von Xenon, wie das für andere NMDA-Rezeptoren bekannt ist (z. B. Ketamin mit psychomimetischer Wirkung) (siehe Kap. 2.5.3).

Es wurde viel über die Eigenschaften von Xenon geforscht, aber bis heute ist nur sehr wenig über mögliche Einwirkungen dieses Anästhetikum auf Gasbläschen im Blut berichtet worden.

Xenon, wie auch Lachgas, ist ein relativ schwerlösliches Gas. REINELT et al. (2001) untersuchten die Diffusionseigenschaften von Xenon und Lachgas an blockierten Darmsegmenten von Schweinen. Die Darmsegmente wurden mit Luft gefüllt und die Schweine erhielten entweder Xenon/Sauerstoff, Lachgas/Sauerstoff oder Luft/Sauerstoff (Kontrollgruppe). Der Gasdruck in den Darmsegmenten wurde regelmäßig gemessen. Es wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen festgestellt, insoweit als die Gasdiffusion unter Xenon-Anästhesie signifikant geringer war als unter Lachgas. Doch beide Gruppen besaßen eine größere Diffusionsrate als die Kontrollgruppe. LOCKWOOD (2002) führte eine In-vitro-Studie durch, indem er Luftbläschen im destillierten Wasser in Zusammenhang mit einer Xenon- und Lachgaslösung untersuchte. In beiden Lösungen wurde eine Vergrößerung der Luftbläschen festgestellt, aber die Vergrößerung war in der Lösung mit Xenon geringer als in der mit Lachgas. Die Vergrößerung von Luftbläschen in Wasser wäre eigentlich nicht von Bedeutung, aber man kann davon ausgehen, dass die Diffusionsrate beider Gase im Blut nahezu identisch der in Wasser ist und sich gleich verhalten würde. Die höhere Viskosität von Blut im Vergleich zu Wasser würde eher den Unterschied zwischen beiden Gasen noch deutlicher betonen. Sowohl die Vergrößerung als auch die Endgröße der Luftbläschen waren signifikant kleiner bei Xenon im Vergleich zu Lachgas. Die Experimente wurden unter unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt, wodurch festgestellt wurde, dass, je höher die Temperatur stieg, die Vergrößerung der Luftbläschen umso kleiner war. Dies deutet darauf hin, dass die Löslichkeit des Gases der kritische und entscheidende Punkt in der Vergrößerung von Luftbläschen sein könnte. Die Schlussfolgerung dieser Untersuchung ist, dass Xenon vermutlich ein sichereres klinisches Profil bei Eingriffen mit einer erhöhten Gefahr auftretende Luftbläschen geben würde als Lachgas.

In einer In-vitro-Studie von STA MARIA und ECKMANN (2003) wurde die Vergrößerung und die Reabsorption zerebraler Gasbläschen während EKZ mit 70% Xenonanästhesie und

Diskussion

30% Sauerstoffzugabe mathematisch belegt. Die Gasbläschengröße wurden unter unterschiedlichen Temperaturen (18 bis 39 °C) gemessen. Die Ergebnisse zeigten, dass die Vergrößerung der Bläschen größtenteils von der Diffusionsrate und der Löslichkeit, aber auch vom partialen Druck des Gases, der Größenordnung des Konzentrationsgradienten sowie vom Gefäßdiameter und der Temperatur nicht linear abhängig waren.

Eine Xenonanästhesie könnte zu einer Vergrößerung der Bläschen beitragen und somit die entstandenen neurologischen Schäden, die durch zerebrale Luftembolien hervorgerufen werden, noch umfangreicher machen (STA MARIA und ECKMANN, 2003).

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig der Effekt der Inkorporation zerebraler Luftembolien in einem Extrakorporalen Zirkulationsmodell bei der Ratte untersucht, wobei auch die Wirkung von Xenon auf Mortalität und neuropsychologische Leistungsfähigkeit untersucht wurde.

Es gab zwei Versuchsgruppen mit Xenon: *EKZ/Xenon* und *Sham/Xenon*. Die Tiere in den Xenongruppen bekamen additiv 54 bis 56 Vol. % Xenon, zuerst 10 Minuten vor EKZ über das Beatmungsgerät, dann zu Beginn der EKZ über den Oxygenator bis anschließend 30 Minuten nach Ende der EKZ wieder über das Beatmungsgerät, verabreicht. Alle Tiere erhielten zusätzlich 31 bis 33% Sauerstoff. Jede Ratte bekam unabhängig der Gruppenzugehörigkeit, einen Luftbolus der zwischen 0,2 µl und 10 µl lag, der repetitiv zehn Mal gegeben wurde, verabreicht.

Es konnte nach siebentägigem Überleben kein Einfluss von Xenon weder auf kognitive Fähigkeiten und Verhalten noch auf Mortalität in einer der beiden Gruppen (EKZ und Sham) festgestellt werden (siehe Kap. 3.3).

Bei einem Luftbolus von 0,3 µl stellte sich heraus, dass moderater neuropsychologische Defizit auftrat und gleichzeitig eine akzeptable Überlebensrate bestand (Siehe Kap. 3.3).

Das Luftvolumen von 0,3 µl soll nun in den zweiten Teil dieser Gesamtprojektes, einer Langzeitüberlebensstudie (14 Tage) eingesetzt werden, um damit zielgerichtet den Einfluss von Xenon auf das neurokognitive Outcome in Verbindung mit Luftembolien und EKZ zu untersuchen (BERKMANN in Vorbereitung).

Der Einsatz von Xenon als Anästhetikum in der Humanmedizin kommt immer noch relativ selten vor, wofür es gute Gründe gibt, z. B.:

Diskussion

(1) Xenon kommt in äußerst niedrigen Mengen in der Atmosphäre vor (nicht mehr als 0,00000875%), wodurch die Gewinnung mit sehr hohen Kosten verbunden ist.

(2) Über Xenon liegen immer noch, im Vergleich zu anderen wohlbekanntem Anästhetika, nicht genug Forschungsergebnisse mit potenziell klinischer Relevanz vor. Bei herzchirurgischen Eingriffen wurde es beispielsweise noch nicht verwendet. Deswegen sind mehrere unterschiedliche Tiermodelle, vor allem Langzeitstudien notwendig, um sichere und zuverlässige Hintergrundmaterialien und eindeutige Ergebnisse zu liefern, bevor Xenon mit gutem Gewissen bei herzchirurgischen Eingriffen eingesetzt werden kann.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Überlebensrate

Ein Tiermodell zu entwickeln, in dem zerebrale Luftembolien in eine extrakorporale Zirkulation integriert werden, um nach unterschiedlichen Luftembolus eine entsprechende Morbidität und Mortalität feststellen zu können, erfordert (1) gute Planung, (2) eine standardisierte operative Einrichtung, die dem Versuchstier optimal angepasst ist, (3) ein standardisiertes Anästhesieprotokoll und (4) eine zuverlässige und durchführbare Technik, die eine kontrollierte und zielgerichtete Verabreichung der Luftbläschen erlaubt.

Bis heute liegen nur wenige wissenschaftliche Berichte über Tiermodelle mit Luftembolien vor. MENZEL et al. (1999) berichteten über Auswirkungen von zerebralen Luftembolien bei Hunden und stellten bei einem Luftembolus von 1 bis 1,25 ml/kg KGW 50% Mortalität fest. Zusätzlich wurde beobachtet, dass ein Luftembolus von 0,5 ml/kg KGW ausreichend war, um eine permanente zerebrale Schädigung zu erzeugen (MENZEL et al., 1999). Im Vergleich dazu stellten GOODMAN et al. (1999) in einer ähnlichen Studie bei Hunden, eine letale Luftdosis von 2,0 ml/kg KGW fest. Der Unterschied zwischen diesen beiden Studien ist vermutlich auf die benutzte Technik der Luftembolie-Applikation zurückzuführen. MENZEL et al. (1999) applizierten die Luft via A. carotis interna und erreichten somit höchstwahrscheinlich, dass die gesamte Menge Luft direkt in die zerebrale Zirkulation gelang. GOODMAN et al. (1999) dagegen, applizierten die Luft via A. carotis communis, wodurch wahrscheinlich ein „spill-over-Effekt“ mit einer Verteilung von Luft in den extrazerebralen Gefäßen entstand, der geeignet ist, das Versuchsergebnis zu verfälschen.

Von VAN HULST et al. (2003) wurde ein Luftvolumen von 0,5 ml/kg KGW bei Schweinen eingesetzt, um Änderungen des intrakraniellen Druckes sowie der zerebralen Glukose- und Sauerstoffkonzentration zu untersuchen. Dabei wurde eine erhebliche zerebrale Schädigung festgestellt (VAN HULST et al., 2003).

Von HELPS et al. (1990) wurde die neuronale Funktion und der zerebrale Blutfluss nach Verabreichung von 25 µl/kg KGW und 400 µl/kg KGW Luftvolumina getestet. Luftvolumen von 25 µl/kg KGW zeigten eine rapide Reabsorption, eine schnelle Wiederkehr des Blutflusses, aber führten letztlich zu einer progressiven Verschlechterung der neuronalen Funktion. Bei einem Luftvolumen von 400 µl/kg KGW dagegen wurde eine temporäre

Diskussion

Obstruktion des Blutflusses und eine irreversible Verschlechterung der neuronalen Funktion festgestellt. In einer ähnlichen Studie von GORMAN und BROWNING (1986) wurde festgestellt, dass nach kontinuierlicher Applikation von Luft bis hin zu permanenter Blockade der Arterie, die Kaninchen nach etwa 20 Minuten starben. Diese beiden Ergebnisse stimmen gut überein mit Berichten über Taucher mit zerebralen Luftembolien (GORMAN 1984).

Sowohl HINDMAN et al. (1999) die eine Untersuchung über zerebrale Schäden nach Injektion unterschiedlicher Luftvolumina bei Kaninchen durchführten, als auch MENZEL et al. (1999) stellten eine Dosis-Wirkungs-Beziehung in Bezug auf Luftvolumina, zerebrale Schädigung und Mortalität fest.

In der Humanmedizin liegt bis heute keine genau festgelegte letale Dosis für Luftvolumina bei Erwachsenen vor, aber bei Extrapolation nach einem Versuch mit Affen von CHANG et al. (1988) wurde die kritische Dosis Luftvolumen für einen 70 kg schweren Erwachsenen nach arterieller Applikation auf etwa 2 ml geschätzt.

In der vorliegenden Studie konnte auch eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Luftvolumina, zerebraler Schädigung und Mortalität erstellt werden.

In unserem Versuch überlebten 29 Tiere bis zum 1. postoperativen (p. op.) Tag. Insgesamt überlebten 26 (14 Sham-Tiere und 12 EKZ-Tiere) Tiere bis zum 7. p. op. Tag. Die hohe Mortalität in dieser Studie ist hauptsächlich durch große Luftvolumen bedingt, aber auch durch die extrakorporale Zirkulation (EKZ) mit der Herz-Lungen-Maschine (HLM). Xenon zeigte in dieser Studie weder einen positiven noch einen negativen Effekt auf die Mortalität.

50% der Tiere überlebten sieben postoperative Tage nach extrakorporaler Zirkulation (EKZ) mit einem Luftembolus von 1,0 μ l. Ohne EKZ wurde ein signifikant höheres Luftvolumen von 2,7 μ l toleriert. Die letale Dosis lag mit EKZ bei 3,7 μ l, in Abwesenheit von EKZ bei 9,5 μ l (siehe Kap. 3.3.1).

Abschließend muss erwähnt werden, dass die vorliegende Studie von relativ kurzer Dauer ist (Überleben bis zum 7. postoperativen Tag), und somit das Auftreten zerebraler Spätschäden, die sich in Form von systemischen und/oder zerebralen Entzündungsprozessen, sowie apoptotischen Prozessen mit anschließender zerebraler Nekrose äußern, nicht untersucht werden konnten. Um den weiteren Verlauf im Hinblick auf das Überleben und die neuropsychologische Leistungsfähigkeit beurteilen zu können, sind Langzeitstudien (z. B. 14 oder 21 Tage) unbedingt notwendig. Nur auf diese Weise erhält man besseres

Hintergrundmaterial und man kann damit gewonnene Ergebnisse weitaus besser mit jenen beim Menschen vergleichen.

4.2.2 Parameter in Verbindung mit dem modifizierten Hole-Board Test

Der modifizierte Hole-Board (mHB) Test wurde in dieser Studie als Testparadigma zusammen mit den sensorisch-motorischen Tests (PHAUD in Vorbereitung) eingesetzt, um damit eine optimale Aussagekraft über Änderungen der neuropsychologischen Leistungsfähigkeit nach experimenteller Injektion verschiedener Luftboli zu erzielen. Man wollte mit dieser Studie ein neues Modell entwickeln und damit eine möglichst detaillierte Beurteilung des neuropsychologischen Outcomes nach unterschiedlichen Luftboli definieren.

Da mehrere Tiere im Vorversuch dieser Studie wiederholt eine ausgeprägt geringe Motivation für das Hole-Board und für das Öffnen der Deckel zeigten, wurde das Protokoll für die vorliegende Studie ein wenig geändert. Nachdem die Tiere am 3. und 2. präoperativen Tag an das mHB gewöhnt bzw. habituiert wurden (siehe Kap. 3.2.7.2 und 3.2.7.3), begann bereits am 1. postoperativen Tag die aufgezeichnete siebentägige Lernphase mit dem mHB Test (siehe Kap. 3.2.7.4). Die Tiere mussten täglich vier Durchläufe absolvieren, davon drei visuell-räumliche und zuletzt ein räumlicher Durchlauf. Der räumliche Durchlauf entspricht einem Durchlauf ohne Markierungen, wodurch die visuelle Komponente ausgeschlossen werden soll. Dieser Durchlauf beruht nur auf räumlicher Orientierung und es soll kontrolliert werden, ob die Tiere die korrekte Lochkombination aus den ersten drei Durchläufen noch wissen. Die räumliche Orientierung wird durch ein Wechselspiel zwischen Hippokampus und präfrontalem Kortex verarbeitet.

Mögliche Gründe für die geringe Motivation die Tiere waren vermutlich, dass die Tiere am 1. postoperativen Tag noch nicht ganz fit waren und somit der 4D (die am 1. postoperativen Tag durchgeführt wurde) nur bedingt mitgemacht haben und somit diese schrittweise Einführung in das Prinzip des mHB Tests vermutlich verpasst haben. Es ist davon auszugehen, dass das Allgemeinbefinden und Bewusstsein der Ratten am Tag nach dem operativen Eingriff reduziert ist. Außerdem wurde in dieser Studie erstmalig das Lernverhalten und nicht das Gedächtnis getestet, d. h. wir wussten überhaupt nicht, wie motiviert die Ratten nach einer zerebralen Schädigung sein würden.

Diskussion

Die *Änderung* bestand darin, dass der 4D, durch einen *3D am 1. präoperativen Tag* ersetzt wurde. Die drei visuell-räumlichen Durchläufe am 1. präoperativen Tag wurden nicht aufgezeichnet, denn sie waren als Übung und Einführung vorgesehen. Der weitere Versuchsablauf fängt an mit der Aufzeichnung am 1. und endet am 7. postoperativen Tag, wobei jeden Tag vier Durchläufe (die drei ersten sind visuell-räumlich und der vierte und letzte ist nur räumlich) zu absolvieren sind.

Dadurch, dass die Tiere in diesem Versuchsmodell nur sieben Tage überleben sollten, konnte keine „baseline“ der erlernten Fähigkeiten erstellt werden, weshalb nur eine beschränkte Überprüfung einzelner Gedächtnisprozesse erlaubt wird. Um Fehler des Arbeitsgedächtnisses aussagekräftig bewerten zu können, bedarf es zuerst einer längeren Lernphase, an deren Ende die Tiere stabile Ausgangswerte erreichen (STECKLER und MUIR, 1996). Diese können dann nach einer Schädigung mit der Ausgangsleistung verglichen werden.

Das Arbeitsgedächtnis kann nicht nur zeitlich begrenzt Informationen speichern und sie bearbeiten, sondern es unterliegt und unterstützt zudem körpereigene Denkprozesse und basiert auf einem intakten präfrontalen Kortex (BADDELEY, 2000). Im mHB Test wird die Arbeitsgedächtnisleistung danach bewertet, ob sich ein Tier während eines Versuchsdurchlaufs erinnert, welches markierte Loch von ihm bereits erfolgreich besucht wurde. Wiederholte Besuche eines bereits erfolgreich besuchten markierten Lochs, das heißt die Futterbelohnung wurde vom Tier entnommen und gefressen, gelten als Fehler des Arbeitsgedächtnisses (OHL et al., 1998).

Frühere Studien haben gezeigt, dass die Ratten eine längere Gewöhnungsphase brauchen, um den mHB Test zu erlernen. Es ist auch bekannt, dass Nagetiere in der Regel längere Übungszeiten benötigen als Menschen, um eine stabile Ausgangslinie zu erreichen. Aus diesen Gründen muss in der Praxis die Möglichkeit in Erwägung gezogen werden, dass bei Menschen und Nagetieren verschiedene Erinnerungsprozesse verwendet werden.

In dieser Studie wurde stattdessen das Lernverhalten der Tiere untersucht. Das Lernverhalten wurde vor allem hier gewählt, weil dadurch subtilere Veränderungen nachgewiesen werden können. Erlernen die Tiere den mHB Test bereits präoperativ und erreichen eine stabile „baseline“, dann bedarf es größerer zerebraler Schädigungen, um eine Veränderung der kognitiven Leistungsfähigkeit feststellen zu können.

Diskussion

Man kann mit den hier gewählten Verfahren hingegen das Lernverhalten genau beobachten und zusätzlich eine sichere Aussage über Verhaltensauffälligkeiten gewährleisten, da die Tiere sich dem mHB Test gegenüber noch völlig naiv verhalten.

Es wurde eine kontinuierliche Vergrößerung der Defizite bezüglich der kognitiven Leistungsfähigkeit sowie für das Verhalten, gleichermaßen für beide Gruppen (EKZ vs. Sham), mit steigenden Luftvolumina festgestellt. Die Ergebnisse konnten darauf hin in einer Dosis-Wirkungs-Beziehung dargestellt werden.

4.3 Abschließender Überblick

In der vorliegenden Studie gelang erstmalig die Integration der Untersuchung über die Inkorporation zerebraler Luftembolien in ein Modell der extrakorporalen Zirkulation bei der Ratte. Mit diesem Modell wurde auch der Einfluss von Xenon auf neuropsychologische Leistungsfähigkeit und Mortalität untersucht. Mit dem modifizierten Hole Board (mHB) Test kann die kognitive Leistungsfähigkeit sowie Verhaltensänderungen bewertet und ermittelt werden. Die Auswertung von Mortalität, Kognition und Verhalten ergibt Dosis-Wirkungs-Beziehungen zwischen unterschiedlichen Luftvolumina und nachweisbaren Defiziten.

Diese Studie diente auch als Dosis-Findungs-Studie in Vorbereitung auf eine Langzeitüberlebensstudie (14 Tage), in der der Einfluss von Xenon auf zentralnervöse Leistungen der Ratte untersucht werden soll. Zu diesem Zweck sollte ein geeigneter Luftbolus gefunden werden, der vereinbar mit langfristigem Überleben ist und zugleich eine deutliche zentralnervöse Schädigung hervorruft.

Folglich scheint dieser experimentelle Aufbau ein geeignetes Modell darzustellen, um die mit extrakorporaler Zirkulation und zerebralen Luftembolien assoziierte Pathophysiologie genauer zu untersuchen und potentielle präventive und neuroprotektive Therapiemaßnahmen zu entwickeln.

5 Zusammenfassung

„Etablierung eines neuen Modells an der Ratte mit extrakorporaler Zirkulation und zerebralen Luftembolien wobei der Einfluss von Xenon auf neuropsychologische Leistungsfähigkeit und Mortalität mit untersucht werden soll“

Ziel der vorliegenden Studie war es, ein neues Modell zu etablieren in dem zerebrale Luftembolien in ein bereits existierendes Modell der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) an der Ratte integriert werden sollte. Außerdem wurde der Einfluss von Xenon auf die neuropsychologische Leistungsfähigkeit und die Mortalität nach Applikation verschiedener zerebraler Luftboli bestimmt.

60 männliche Sprague-Dawley Ratten wurden randomisiert einer der vier Versuchsgruppen zugeteilt: (1) *EKZ mit Xenon*, (2) *EKZ mit Luft*, (3) *Sham mit Xenon* und (4) *Sham mit Luft*. Die Ratten in der EKZ-Gruppe wurden für 90 Minuten an die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen. Die Sham-operierten Tiere (Kontrollgruppe) unterlagen dem gleichen Präparationsprotokoll, erhielten die gleiche Menge an Anästhetika, wurden allerdings nicht an die HLM angeschlossen. Während die Tiere der Xenon-Gruppe 20 Minuten vor EKZ bis 30 Minuten nach Beendigung der EKZ mit 54 bis 56% Xenon, 31 bis 34% O₂ und Luft beatmet wurden, erhielten die Sham-Gruppe Stickstoff statt Xenon. Jede Ratte, unabhängig der Gruppenzugehörigkeit, bekam einen Luftbolus, der zwischen 0,2 µl und 10,0 µl lag und repetitiv zehn Mal über einen Zeitraum von 60 Minuten gegeben wurde, injiziert. Zur Applikation der zerebralen Luftboli wurde ein PE-10-Katheter über einen Stumpf der A. carotis externa in die rechte A. carotis interna vorgeschoben. Die Applikation der wiederholten Luftinjektionen begann 15 Minuten nach Initiierung der EKZ und endete 15 Minuten vor dem Beenden der EKZ.

Ab dem ersten postoperativen Tag wurde täglich der neurologische Status überprüft und die kognitive Funktion sowie auch das Verhalten (der modifizierte Hole-Board Test) untersucht. Die Tiere wurden abschließend am postoperativen Tag 7 euthanasiert.

Es wurden Dosis-Wirkungsbeziehungen erstellt und Wahrscheinlichkeiten für das Auftreten kognitiver Defizite und Verhaltensänderungen als auch für die Mortalitätsrate berechnet. Bei der Mortalität ist für die EKZ-Gruppe im Vergleich zur Sham-Gruppe die Kurve signifikant nach links verschoben. Das bedeutet, dass Tiere, die einer EKZ unterzogen werden, bereits bei kleinere Luftvolumina eine erhöhte Mortalitätsrate aufweisen als Tiere die nicht an die

Zusammenfassung

EKZ angeschlossen werden. Für die kognitive Leistungsfähigkeit und beim Verhalten ist in beiden Gruppen (EKZ vs. Sham) kein Unterschied festzustellen.

Xenon zeigte keinen Einfluss auf die neuropsychologische Leistungsfähigkeit am 7. postoperativen Tag und auch nicht auf die Mortalitätsrate, weder in der EKZ- noch in der Sham-Gruppe.

6 Summary

“Establishing a new model with cardiopulmonary bypass and cerebral air embolism in rats under influence of xenon on neuropsychological efficiency and mortality”

The intention of the following study was to integrate cerebral air embolism into an already existing cardiopulmonary bypass (CPB) model, and to determine the influence of xenon on the mortality and the neuropsychological efficiency after application of cerebral air embolism (CAE) in a dose escalating fashion. This study served as well as a dose identification study in the preparation for a long-term survival study, in which the influence of xenon on the neurocognitive outcomes of the rat should be examined. For this purpose a suitable cerebral air embolus (CAE) should be found, that is compatible with long-term survival, and at the same time it should cause a perspicuous centralnervous damage.

60 male Sprague Dawley anesthetized rats were cannulated for CPB and CAE and subsequently randomized into four experimental groups: (1) **CPB with xenon** (n = 15), (2) **CPB with air** (n = 15), (3) **sham with xenon** (n = 15) and (4) **sham with air** (n = 15). The rats in the CPB-groups were subjected to 90 min of normothermic CPB. The sham-groups (control-groups) were exposed to the same surgery, anesthetic regime, but not to CPB. Groups were further subdivided into xenon (56% xenon, 5% N₂, 34% O₂, 5% CO₂) and air (61% N₂, 34% O₂, 5% CO₂) groups with the accordant mixture inhaled 20 min prior to, during, and 30 min following CPB.

All rats, independent of the group affiliation, were injected repetitively via the right internal carotid artery 10 equally sized CAE which was defined between 0,2 µl and 10,0 µl.

The CAE's were injected with a PE 10-catheter that was put forward over an obtuse of the externa carotid artery and from there into the right internal carotid artery. The time interval of the repeated CAE injections began 15 min after initiation of CPB and ended 15 min before terminating the CPB.

All remaining rats were tested neurologically and the cognitive function and behavior were examined (with the modified Hole board test) from the 1st until the 7th postoperative day. The animals were finally euthanised on the postoperative day 7.

This study demonstrates a dose-dependent relationship for the volume of CAE on both neuropsychological outcome as well as lethality. For the lethality, the dose-effect curve were

Summary

significantly shifted leftwards for CPB groups compared to sham groups. For cognitive functions and behavior there was no difference between the groups. Xenon had no impact on neuropsychological outcome or lethality on postoperative day seven neither in the CPB nor in the sham groups.

The current study presented the primary description of combined CPB and CAE in rats. The injection of CAE exhibits a differential effect on outcome in rats undergoing CPB versus those not exposed to CPB. Potentially, significantly larger volumes of CAE are tolerated in the absence of CPB.

7 Literaturverzeichnis

AGARDH CD, ZHANG H, SMITH ML, SIESJO BK

Free radical production and ischemic brain damage: influence of postischemic oxygen tension

Int J Dev Neurosci 1991; 9:127-38

ANIS NA, BERRY SC, BURTON NR, LODGE D

The dissociative anaesthetics, ketamine and phencyclidine, selectively reduce excitation of central mammalian neurones by N-methyl-aspartate

Br J Pharmacol 1983; 79:565-75

ANNANE D, TROCHE G, DELISLE F, DEVAUCHELLE P, HASSINE D, PARAIRE F, RAPHAEL JC, GAJDOS P

Kinetics of elimination and acute consequences of cerebral air embolism

J Neuroimaging 1995; 5:183-9

ARENS JF

Extracorporeal circulation: Practical considerations in the use of the heart pump

ASA Anesth 4 (1976): 13-24

ARROWSMITH JE, HARRISON MJ, NEWMAN SP, STYGALL J, TIMBERLAKE N, PUGSLEY WB

Neuroprotection of the brain during cardiopulmonary bypass: a randomized trial of remacemide during coronary artery bypass in 171 patients

Stroke 1998; 29:2357-62

BADDELEY A

Working memory

C R Acad Sci III 1998; 321:167-73

BADDELEY A

The episodic buffer: a new component of working memory?

Trends Cogn Sci 2000; 4:417-23

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

The brain decade in debate: I. Neurobiology of learning and memory

Braz J Med Biol Res 2000; 33:993-1002

BAKER AJ, NASER B, BENAROIA M, MAZER CD

Cerebral microemboli during coronary artery bypass using different cardioplegia techniques

Ann Thorac Surg 1995; 59:1187-91

BARBUT D, HINTON R, SZATROWSKI T, HARTMAN G, BRUEFACH M, WILLIAMSRUSSO P, CHARLSON M, GOLD J

Cerebral emboli detected during bypass surgery are associated with clamp removal

Stroke 1994; 25:2398-402

BARBUT D, YAO FS, HAGER DN, KAVANAUGH P, TRIFILETTI RR, GOLD JP
Comparison of transcranial Doppler ultrasonography and transesophageal echocardiography to monitor emboli during coronary artery bypass surgery
Stroke 1996; 27:87-90

BAUM J
[Low flow anesthesia with the anesthesia respirator Ventilog 2]
Anaesthesist 1998; 47:361-4

BENHKE AR, YARBOROUGH OD
Physiologic studies of helium
U.S Nav Med Bull, 1938, 36: 542-8

BERKMANN J
Einfluss von Xenon auf zentralnervöse Leistungen nach extrakorporaler Zirkulation mit zerebralen Luftembolien bei der Ratte
Med vet Diss, München, 2005

BLAUTH C, COSGROVE D, WEBB B, RATLIFF N, BOYLAN M, PIEDMONTE M, LYTLE B, LOOP F
Atheroembolism from the ascending aorta: an emerging problem in cardiac surgery
J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 103:1104-12

BOOMSMA F, RUPREHT J, MAN IN 'T VELD AJ, DE JONG FH, DZOLJIC M, LACHMANN B
Haemodynamic and neurohumoral effects of xenon anaesthesia. A comparison with nitrous oxide
Anaesthesia 1990; 45:273-8

BORGER MA, FEINDEL CM
Cerebral emboli during cardiopulmonary bypass: effect of perfusionist interventions and aortic cannulas
J Extra Corpor Technol 2002; 34:29-33

BOYLE EM, JR., POHLMAN TH, JOHNSON MC, VERRIER ED
Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response
Ann Thorac Surg 1997; 63:277-84

BRAEKKEN S, RUSSELL D, BRUCHER R, ABDELNOOR M, SVENNEVIG J
Cerebral microembolic signals during cardiopulmonary bypass surgery: frequency, time of occurrence, and association with patient and surgical characteristics
Stroke 1997; 28:1988-92

BRANSTON N, SYMON L, CROCKARD H, PASZTOR E
Relationship between the cortical evoked potential and local cortical blood flow following acute middle cerebral artery occlusion in the baboon
Exper Neurol 1974; 45:195-208

BROOKER RF, BROWN WR, MOODY DM, HAMMON JW, JR., REBOUSSIN DM, DEAL DD, GHAZI-BIRRY HS, STUMP DA
Cardiotomy suction: a major source of brain lipid emboli during cardiopulmonary bypass
Ann Thorac Surg 1998; 65:1651-5

BROWN WR, MOODY DM, CHALLA VR, STUMP DA, HAMMON JW
Longer duration of cardiopulmonary bypass is associated with greater numbers of cerebral microemboli
Stroke 2000; 31:707-13

BUNSEY M, EICHENBAUM H
Conservation of hippocampal memory function in rats and humans
Nature 1996; 379:255-7

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

CALZIA E, STAHL W, HANDSCHUH T, MARX T, FROBA G, GEORGIEFF M, RADEMACHER P
Continuous arterial P(O₂) and P(CO₂) measurements in swine during nitrous oxide and xenon elimination: prevention of diffusion hypoxia
Anesthesiology 1999; 90:829-34

CHANG C, DUGHI J, SHITABATA P, JOHNSON G, COEL M, MC NAMARA J
Air embolism and the radial arterial line
Crit Care Med 1988; 16: 141-43

CLARK WM, CALCAGNO FA, GABLER WL, SMITH JR, COULL BM
Reduction of central nervous system reperfusion injury in rabbits using doxycycline treatment
Stroke 1994; 25:1411-5; discussion 6

CRAWLEY JN

Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines

Pharmacol Biochem Behav 1981; 15:695-9

CULLEN SC, GROSS EG

The anesthetic properties of xenon in animals and human beings, with additional observations on krypton

Science 1951; 113:580-2

DE SOUSA SL, DICKINSON R, LIEB WR, FRANKS NP

Contrasting synaptic actions of the inhalational general anesthetics isoflurane and xenon

Anesthesiology 2000; 92:1055-66

DECKER MW

Animal models of cognitive function

Crit Rev Neurobiol 1995; 9:321-43

DENNIS C, SPRENG DJ, NELSON G

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

Ann Thorac Surg 1951; 134:709-21

DEXTER F, HINDMAN BJ

Recommendations for hyperbaric oxygen therapy of cerebral air embolism based on a mathematical model of bubble absorption

Anesth Analg 1997; 84:1203-7

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

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

Circulation 2000; 102:III95-100

DINGLEY J, KING R, HUGHES L, TERBLANCHE C, MAHON S, HEPP M, YOUHANA A, WATKINS A

Exploration of xenon as a potential cardiostable sedative: a comparison with propofol after cardiac surgery

Anaesthesia 2001; 56:829-35

DIRNAGL U, LINDAUER U, THEM A, SCHREIBER S, PFISTER HW, KOEDEL U, RESZKA R, FREYER D, VILLRINGER A

Global cerebral ischemia in the rat: online monitoring of oxygen free radical production using chemiluminescence in vivo

J Cereb Blood Flow Metab 1995; 15:929-40

DONNER C

Third MRI, Merck Manual at Albany Medical Center/Multiple Sclerosis Clinic, 2003

www.albany.net/~tjc/limbic2.html

DOWNING SW, EDMUNDS LH, JR.

Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass
Ann Thorac Surg 1992; 54:1236-43

DRUMMOND JL, ROBLEDO J, GARCIA L, TOEPKE TR

Thermal conductivity of cement base materials
Dent Mater 1993; 9:68-71

DUTKA A, MINK R, MCDERMOTT J, CLARK J, HALLENBECK J

Effect of lidocaine on somatosensory evoked response and cerebral blood flow after canine cerebral air embolism
Stroke 1992; 23:1515-9

DUTKA AJ, KOCHANNEK PM, HALLENBECK JM

Influence of granulocytopenia on canine cerebral ischemia induced by air embolism
Stroke 1989; 20:390-5

DYER CB, ASHTON CM, TEASDALE TA

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

EGER EI, BRANDSTATER B, SAIDMAN LJ, REGAN MJ, SEVERINGHAUS JW,
MUNSON ES

Equipotent alveolar concentrations of methoxyflurane, halothane, diethyl ether, fluroxene, cyclopropane, xenon and nitrous oxide in the dog
Anesthesiology 1965; 26:771-7

ERVIN FR, ANDERS TR

Normal and pathological memory, data and a conceptual scheme.
In: SCHMITT FO (Hrsg.) The neurosciences, second study program, New York,
Rockefeller University Press, 1970: 163

EVANS D, CATRON P, MCDERMOTT J, THOMAS L, KOBRINE A, FLYNN E

Effect of lidocaine after experimental cerebral ischemia induced by air embolism
J neurosurg 1989; 70:97-102

FABRE O, ZEGDI R, VINCENNELLI A, CABBILLAUD M, PRAT A, CARPENTIER A,
FABIANI JN

A recovery model of partial cardiopulmonary bypass in the rat
Perfusion 2001; 16:215-20

FILE SE, WARDILL AG

The reliability of the hole-board apparatus
Psychopharmacologia 1975a; 44:47-51

FILE SE, WARDILL AG

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

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

FRANKS NP, DICKINSON R, DE SOUSA SL, HALL AC, LIEB WR
How does xenon produce anaesthesia?
Nature 1998; 396:324

FRIETSCH T, BOGDANSKI R, BLOBNER M, WERNER C, KUSCHINSKY W,
WASCHKE KF
Effects of xenon on cerebral blood flow and cerebral glucose utilization in rats
Anesthesiology 2001; 94:290-7

FRITZ H, HOSSMANN KA
Arterial air embolism in the cat brain
Stroke 1979; 10:581-9

FUKUDA T, NAKAYAMA H, YANAGI K, MIZUTANI T, MIYABE M, OHSHIMA N,
TOYOOKA H
The effects of 30% and 60% xenon inhalation on pial vessel diameter and intracranial pressure in rabbits
Anesth Analg 2001; 92:1245-50

FURLOW TW, JR.
Experimental air embolism of the brain: an analysis of the technique in the rat
Stroke 1982; 13:847-52

GABLER WL, CREAMER HR
Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines
J Periodontal Res 1991; 26:52-8

GABLER WL, SMITH J, TSUKUDA N
Comparison of doxycycline and a chemically modified tetracycline inhibition of leukocyte functions
Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1992; 78:151-60

GALETTI PM, BRECHER GA
Heart-lung bypass
New York, Grune & Stratton (1962): 287

GIBBON JH
Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of pulmonary artery
Artif Organs 1937; 34 1105-31

GIBBON JH
Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery
Minn Med 37 1954: 171-85

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

GOLD J, CHARLSON M, WILLIAMS-RUSSO P, SZATROWSKI T, PETERSON J, PIRRAGLIA P, HARTMANN G, YAO F, HOLLENBERG J, BARBUT D, HAYES J, THOMAS S, PURCELL M, MATTIS S, GORKIN L, POST M, KRIEGER K, ISOM O
Improvement of outcomes after coronary artery bypass. A randomized trial comparing intra-operative high versus low mean arterial pressure
J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 110:1302-14

GOLD P, MCINTYRE C, MCNAY E, STEFANI M, KOROL D
Neurochemical referees of dueling memory systems
Memory consolidations: Essays in honor of James L. McGaugh- A time to remember 2001:
219-48

GOLDBERGER E.
Clinical cardiology
Philadelphia. PA: JB Lippincott 1990: 20

GOLDENBERG I, SHUPAK A, SHOSHANI O, BOULOS M
Left ventriculography complicated by cerebral air embolism
Cathet Cardiovasc Diagn 1995; 35:331-4

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

GOODMAN JC, VALADKA AB, GOPINATH SP, UZURA M, ROBERTSON CS
Extracellular lactate and glucose alterations in the brain after head injury measured by microdialysis.
Crit Care Med 1999; 27: 1965-73

GORMAN DF, BROWNING DM
Cerebral vasoreactivity and arterial gas embolism
Undersea Biomed Res 1986; 13:317-35

GORMAN DF
Arterial gas embolism as a consequence of pulmonary barotrauma. In Desola A (ed): Diving and Hyperbaric Medicine.
Barcelona, European Underwater Biological Society, 1984, pp 348-68

GOTO T, SAITO H, SHINKAI M, NAKATA Y, ICHINOSE F, MORITA S
Xenon provides faster emergence from anesthesia than does nitrous oxide-sevoflurane or nitrous oxide-isoflurane
Anesthesiology 1997; 86:1273-8

GOTO T, SUWA K, UEZONO S, ICHINOSE F, UCHIYAMA M, MORITA S
The blood-gas partition coefficient of xenon may be lower than generally accepted
Br J Anaesth 1998; 80:255-6

GRAUVOGEL A
Zum Begriff „artgerecht“ und „verhaltensgerecht“ in Bezug auf die Nutztierhaltung.
Prakt Tierarzt 65 1983: 232-43

GROCOTT HP, MACKENSEN GB, NEWMAN MF, WARNER DS
Neurological injury during cardiopulmonary bypass in the rat
Perfusion 2001; 16:75-81

GROCOTT HP, MACKENSEN GB, GRIGORE AM, MATHEW J, REVES JG,
PHILLIPS-BUTE B, SMITH PK, NEWMAN MF
Postoperative hyperthermia is associated with cognitive dysfunction after coronary artery
bypass graft surgery
Stroke 2002; 33:537-41.

HALL C
Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory ac-
tivity
J Comp Physiol Psychol 1936; 22:345-52

HALL R, STAFFORD SMITH M, ROCKER G
The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, thera-
peutic, and pharmacological conderations
Anesth Analg 1997; 85:766-82

HALLER C, SERCOMBE F, VERRECCHIA C, FRITSCH H, SEYLAZ J, KUSCHISKY
W
Effect of the muscarinic agonist carbachol on pial arteries in vivo after endothelial damage
by air embolism.
Cereb Blood Flow Metabol 1987a; 7:605-11

HARRIS DNF, BAILEY S, SMITH P
Brain swelling in first hour after coronary artery bypass surgery
Lancet 1993; 342:586-7

HARTMANN A, DETTMERS C, SCHUIER FJ, WASSMANN HD, SCHUMACHER HW
Effect of stable xenon on regional cerebral blood flow and the electroencephalogram in nor-
mal volunteers
Stroke 1991; 22:182-9

HEBEL R, STROMBERG MW
Anatomy and embryology of the laboratory rat
Worthsee: BioMed Verlag 1986: 97-9

HELPS SC, GORMAN DF
Air embolism of the brain in rabbits pretreated with mechlorethamine
Stroke 1991; 22:351-4

HELPS SC, MEYER-WITTING M, REILLY PL, GORMAN DF
Increasing doses of intracarotid air and cerebral blood flow in rabbits
Stroke 1990; 21:1340-5

HETRICK DA, PAGEL PS, KERSTEN JR, TESSMER JP, BOSNJAK ZJ, GEORGIEFF M, WARLTIER DC

Cardiovascular effects of xenon in isoflurane-anesthetized dogs with dilated cardiomyopathy

Anesthesiology 1998; 89:1166-73

HINDMAN B

Con: glucose priming solutions should not be used for cardiopulmonary bypass

J Cardiothorac Vasc Anesth 1995; 9:605-7

HINDMAN BJ

Emboli, inflammation, and CNS impairment: an overview

Heart Surg Forum 2002; 5:249-53

HINDMAN BJ, DEXTER F, ENOMOTO S, SUBIETA A, SMITH T, CUTKOMP J

Recovery of evoked potential amplitude after cerebral arterial air embolism in the rabbit: a comparison of the effect of cardiopulmonary bypass with normal circulation [see comments]

Anesthesiology 1998; 88:696-707

HINDMAN BJ, DEXTER F, SUBIETA A, SMITH T, CUTKOMP J

Brain injury after cerebral arterial air embolism in the rabbit as determined by triphenyltetrazolium staining

Anesthesiology 1999; 90:1462-73

HINDMAN BJ, TODD MM

Improving neurologic outcome after cardiac surgery [editorial; comment]

Anesthesiology 1999; 90:1243-7

HODGES H

Maze procedures: the radial-arm and water maze compared

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

HOMI HM, YOKOO N, MA D, WARNER DS, FRANKS NP, MAZE M, GROCOTT HP

The neuroprotective effect of xenon administration during transient middle cerebral artery occlusion in mice

Anesthesiology 2003; 99:876-81

HOSSMANN KA

Experimental models for the investigation of brain ischemia

Cardiovasc Res 1998; 39:106-20

Hyperbaric oxygen therapy: where medicine meets the deep blue sea

Hyperbarics Medicine Department at West Jefferson Medical Center in Marrero, Louisiana

By Cheryl Moder, Nurse Zone contributor, 2003, NurseZone.com

INAMASU J, NAKAMURA Y, SAITO R, ICHIKIZAKI K, SHIEI K

Cerebral air embolism after central venous catheterization

Am J Emerg Med 2001; 19:520-1

ISHIGURO Y, GOTO T, NAKATA Y, TERUI K, NIIMI Y, MORITA S
Effect of xenon on autonomic cardiovascular control--comparison with isoflurane and nitrous oxide
J Clin Anesth 2000; 12:196-201

JARRARD LE, FELDON J, RAWLINS JN, SINDEN JD, GRAY JA
The effects of intrahippocampal ibotenate on resistance to extinction after continuous or partial reinforcement.
Exp Brain Res 1986; 61, 519-530

JUNGWIRTH B, KOCHS E, MACKENSEN G
Development of a small volume oxygenator: an essential improvement to a model of cardiopulmonary bypass in the rat (2003)
Klinik für Anästhesiologie, Technische Universität München, Munich, Germany

KAPLAN J.
Cardiac Anesthesia
New York, Grune & Stratton 1979: 393-5; 401-10

KIRKLIN JK, WESTABY S, BLACKSTONE EH, KIRKLIN JW, CHENOWETH DE, PACIFICO AD
Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass
J Thorac Cardiovasc Surg 1983; 86:845-57

KIZER KW
Corticosteroids in treatment of serious decompression sickness
Ann Emerg Med 1981; 10:485-8

KLINKE R und SILBERNAGL S (ed)
Lehrbuch der Physiologie
3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2000; 728-56

KOBLIN DD, FANG Z, EGER EI, 2ND, LASTER MJ, GONG D, IONESCU P, HALSEY MJ, TRUDELL JR
Minimum alveolar concentrations of noble gases, nitrogen, and sulfur hexafluoride in rats: helium and neon as nonimmobilizers (nonanesthetics)
Anesth Analg 1998; 87:419-24

LACHMANN B, ARMBRUSTER S, SCHAIRER W, LANDSTRA M, TROUWBORST A, VAN DAAL GJ, KUSUMA A, ERDMANN W
Safety and efficacy of xenon in routine use as an inhalational anaesthetic
Lancet 1990; 335:1413-5

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

LAWRENCE JH, LOOMIS WF, TOBIAS CA, TURPIN FH
Preliminary observations on the narcotic effects of xenon with a review of values for solubilities of gases in water and oil
J Physio 1946, 105: 197-204

LEHOT JJ, PIRIZ H, VILLARD J, COHEN R, GUIDOLLET J

Glucose homeostasis. Comparison between hypothermic and normothermic cardiopulmonary bypass

Chest 1992; 102:106-11

LIEBMAN, M

Blutversorgung des Gehirns.

In: SCHÜNKE M. UND SCHÜNKE G.(Hrsg.), Basiswissen Neuroanatomie. George Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1993; 113-17

LINDNER MD, PLONE MA, SCHALLERT T, EMERICH DF

Blind rats are not profoundly impaired in the reference memory Morris water maze and cannot be clearly discriminated from rats with cognitive deficits in the cued platform task

Brain Res Cogn Brain Res 1997; 5:329-33

LISTER RG

The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse

Psychopharmacology (Berl) 1987; 92:180-5

LOCKWOOD G

Expansion of air bubbles in aqueous solutions of nitrous oxide or xenon

Br J Anaesth 2002; 89:282-6

LOSCHER W, HONACK D

The behavioural effects of MK-801 in rats: involvement of dopaminergic, serotonergic and noradrenergic systems

Eur J Pharmacol 1992; 215:199-208

LUTTROPF HH, ROMNER B, PERHAG L, ESKILSSON J, FREDRIKSEN S, WERNER O

Left ventricular performance and cerebral haemodynamics during xenon anaesthesia. A transoesophageal echocardiography and transcranial Doppler sonography study

Anaesthesia 1993; 48:1045-9

LYNCH C, BAUM J, TENBRINCK R

Xenon anesthesia

Anesthesiology 2000; 92:865-8

MA D, WILHELM S, MAZE M, FRANKS NP

Neuroprotective and neurotoxic properties of the 'inert' gas, xenon

Br J Anaesth 2002; 89:739-46

MA D, YANG H, LYNCH J, FRANKS NP, MAZE M, GROCOTT HP

Xenon attenuates cardiopulmonary bypass-induced neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat

Anesthesiology 2003; 98:690-8

MACKENSEN GB, GELB AW

Postoperative cognitive deficits: more questions than answers

Eur J Anaesthesiol 2004; 21:85-8

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

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

MALHOTRA AK, PINALS DA, WEINGARTNER H, SIROCCO K, MISSAR CD, PICKAR D, BREIER A

NMDA receptor function and human cognition: the effects of ketamine in healthy volunteers
Neuropsychopharmacology 1996; 14:301-7

MANNS M.

Verursacht die Induktion zerebraler Stickoxidsynthesen kognitive Leistungsstörungen während einer systemischen Infektion

Vet med Diss, München, 2001

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

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

MARCANTONIO ER, FLACKER JM, WRIGHT RJ, RESNICK NM

Reducing delirium after hip fracture: a randomized trial

J Am Geriatr Soc 2001; 49:516-22

MARKUS H, LOH A, ISRAEL D, BUCKENHAM T, CLIFTON A, BROWN M

Microscopic air embolism during cerebral angiography and strategies for its avoidance
Lancet 1993; 341:784-7

MARUBIO LM, DEL MAR ARROYO-JIMENEZ M, CORDERO-ERAUSQUIN M, LENA C, LE NOVERE N, DE KERCHOVE D'EXAERDE A, HUCHET M, DAMAJ MI, CHANGEUX JP

Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits

Nature 1999; 398:805-10

MATSUNAGA T, MUKHIN AG, LONDON ED

Regionally distinct stoichiometry for N-methyl-D-aspartate receptor domains in brain

Neuroreport 1996; 7:833-7

MCEWEN BS, SAPOLSKY RM

Stress and cognitive function

Curr Opin Neurobiol 1995; 5:205-16

MEMEZAWA H, ZHAO Q, SMITH ML, SIESJO BK

Hyperthermia nullifies the ameliorating effect of dizocilpine maleate (MK-801) in focal cerebral ischemia

Brain Res 1995; 670:48-52

MENASCHE P, FLEURY JP, PIWNICA A

1985: Fluorocarbons: a potential treatment of cerebral air embolism in open-heart surgery

Ann Thorac Surg 1992; 54:392-3

MENASCHE P, PINARD E, DESROCHES AM, SEYLAZ J, LAGET P, GEYER RP, PIWNICA A

Fluorocarbons: a potential treatment of cerebral air embolism in open-heart surgery
Ann Thorac Surg 1985; 40:494-7

MENZEL M, DOPPENBERG EM, ZAUNER A, SOUKUP J, REINERT MM, BULLOCK R

Increased inspired oxygen concentration as a factor in improved brain tissue oxygenation and tissue lactate levels after severe human head injury
J Neurosurg 1999; 91:1-10

MICHAELIS C.E.

Vergleichende Untersuchungen der kognitiven Fähigkeiten von Ratten nach Infektion mit E. coli Bakterien bzw. Injektion von devitalisierten Corynebakterium parvum
Vet med Diss, München, 2002

MILLER R, POLICOVA Z, SEDEV R, NEUMANN AW.

Relaxation behaviour of human albumin adsorbed at the solution/air interface.
Colloids Surfaces 1993; 76: 179-85

MILTNER WHR, WEISS T

Psychologische und psychobiologische Grundlagen der Verhaltensmedizin.
In: Hrsg Enzyklopädie der psychologie. Bd.3, Göttingen Hogrefe, 1999; 29-173

MINK R, DUTKA A

Hyperbaric oxygen after global cerebral ischemia in rabbits reduces brain vascular permeability and blood flow
Stroke 1995; 26:2307-11

MITCHELL S, PELLET O, GORMAN D

Cerebral protection by lidocaine during cardiac operations
Ann Thorac Surg 1999; 67:1117-24

MOGHADDAM B, ADAMS B, VERMA A, DALY D

Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex
J Neurosci 1997; 17:2921-7

MOMMA K., ITO T., ANDO M.

In situ morphology of the ductus venosus and related vessels in the fetal and neonatal rat
Pediatr Res 1992; 32: 386-9

MORRIS R

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

MUBARIK A, ARSHAD BS, MA D, HOSSAIN M, FRANKS NP, MAZE M

Xenon exhibits its neuroprotection through an anti-apoptotic mechanism
Departments of Anaesthetics and Biological Sciences, Imperial College London, London,
United Kingdom.
Anaesthesiology 2004; 101: A865

MUIR KW, LEES KR

Clinical experience with excitatory amino acid antagonist drugs
Stroke 1995; 26:503-13

MUTH C, SHANK E

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

MYERS RA, BRAY P

Delayed treatment of serious decompression sickness
Ann Emerg Med 1985; 14:254-7

NAKATA Y, GOTO T, ISHIGURO Y, TERUI K, KAWAKAMI H, SANTO M, NIIMI Y,
MORITA S

Minimum alveolar concentration (MAC) of xenon with sevoflurane in humans
Anesthesiology 2001; 94:611-4

NEWMAN MF, GROCOTT HP, MATHEW JP, WHITE WD, LANDOLFO K, REVES JG,
LASKOWITZ DT, MARK DB, BLUMENTHAL JA

Report of the substudy assessing the impact of neurocognitive function on quality of life 5
years after cardiac surgery
Stroke 2001a; 32:2874-81.

NEWMAN MF, KIRCHNER JL, PHILLIPS-BUTE B, GAVER, GROCOTT H, JONES
RH, MARK DB, REVES JG, BLUMENTHAL JA

Longitudinal assessment of neurocognitive function after coronary- artery bypass surgery
N Engl J Med 2001b; 344:395-402.

NEWMAN MF, LASKOWITZ DT, SAUNDERS AF, GRIGORE AM, GROCOTT HP

Genetic predictors of perioperative neurologic and neuropsychological injury and recovery
Sem Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 3:34-46

NILSSON OG, BRANDT L, UNGERSTEDT U, SAVELAND H

Bedside detection of brain ischemia using intracerebral microdialysis: subarachnoid hemorrhage and delayed ischemic deterioration

Neurosurgery 1999; 45:1176-84; discussion 84-5

O'KEEFE S, NI CHONCHUBHAIR A

Postoperative delirium in the elderly

Br J Anaesth 1994; 73:673-87

O'BRIEN J, BUTTERWORTH J, HAMMON J, MORRIS K, PHIPPS J, STUMP D

Cerebral emboli during cardiac surgery in children

Anesthesiology 1997; 87:1063-9

OHL F

Testing for anxiety

In: Hrsq Handbook of Psychological Pharmacology

Clin Neurosci Res 2003; 3: 233-8

OHL F, FUCHS E

Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew

Brain Cogn Res 1999; 7:379-87

OHL F, HOLSBOER F, LANDGRAF R

The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents

Behav Res Methods Instrum Comput 2001a; 33:392-7

OHL F, OITZL MS, FUCHS E

Assessing cognitive functions in tree shrews: visuo-spatial and spatial learning in the home cage

J Neurosci Methods 1998; 81:35-40

OHL F, TOSCHI N, WIGGER A, HENNIGER MS, LANDGRAF R

Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety

Behav Neurosci 2001b; 115:429-36

OHTAKI M, TRANMER BI

Role of hypervolemic hemodilution in focal cerebral ischemia of rats

Surg Neurol 1993; 40:196-206

OILLET J, KOZIEL V, VERT P, DAVAL JL

Influence of post-hypoxia reoxygenation conditions on energy metabolism and superoxide production in cultured neurons from the rat forebrain

Pediatr Res 1996; 39:598-603

OLNEY JW, LABRUYERE J, PRICE MT

Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs
Science 1989; 244:1360-2

OLTON D, BECKER J, HANDELMANN G

Hippocampus, space, and memory
Behav Brain Sci 1979; 2:313-65

OLTON DS

Frontal cortex, timing and memory
Neuropsychologia 1989; 27:121-30

OTTER MH, MATTO V, SOUKAND R, SKREBUHHOVA T, ALLIKMETS L, HARRO J

Characterization of rat exploratory behavior using the exploration box test
Meth Find Exp Clin Pharmacol 1997; 19:683-91

PAPARELLA D, YAU T, YOUNG E

cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update
Eur Cardio-thorac Surg 2002; 21:232-44

PEARSON DT, HOLDEN MP, POSLAD SJ, MURRAY A, WATERHOUSE PS

A clinical evaluation of the performance characteristics of one membrane and five bubble oxygenators: gas transfer and gaseous microemboli production
Perfusion 1986; 1:15-26

PETRINEC D, LIAO S, HOLMES DR, REILLY JM, PARKS WC, THOMPSON RW

Doxycycline inhibition of aneurysmal degeneration in an elastase-induced rat model of abdominal aortic aneurysm: preservation of aortic elastin associated with suppressed production of 92 kD gelatinase
J Vasc Surg 1996; 23:336-46

PETZELT CH

New concepts in neuroprotection.
J Anästh Intensivbeh 2001, 3: 38

PHAUD S

Einfluss von Luftembolien auf das neurologische Outcome nach extrakorporaler Zirkulation mit der Herz-Lungen-Maschine an der Ratte
Med Diss, München, 2005

POWEL T

Medical; Acquired brain injury in children and young people,
Based on diagrams from head injury, 2004
Child Brain Injury Trust, Oxford, cbituk.org

PRUT L, BELZUNG C

The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review

Eur J Pharmacol 2003; 463:3-33

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

Microemboli and cerebral impairment during cardiac surgery

Vasc Surg 1990; 24:34-43

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

The impact of microemboli during cardiopulmonary bypass on neuropsychological functioning

Stroke 1994; 25:1393-9

RALLISON JM.

The deformation of small viscous drops and bubbles in shear flows

Ann Rev Fluid Mech 1984; 16: 45-66

RAMSAY W, TRAVERS MW

Die Entdeckung des Edelgases Xenon. 1898

www.chemie-master.de

REASONER D, DEXTER F, HINDMAN B, SUBIETA A, TODD M

Somatosensory evoked potentials correlate with neurological outcome in rabbits undergoing cerebral air embolism

Stroke 1996a; 27:1859-64

REASONER D, RYU K, HINDMAN B, CUTKOMP J, SMITH T

Marked hemodilution increases neurologic injury after focal cerebral ischemia in rabbits

Anesth Analg 1996b; 82:61-7

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

Doxycycline reduces early neurologic impairment after cerebral arterial air embolism in the rabbit

Anesthesiology 1997; 87:569-76

REINELT H, SCHIRMER U, MARX T, TOPALIDIS P, SCHMIDT M

Diffusion of xenon and nitrous oxide into the bowel

Anesthesiology 2001; 94:475-7; discussion 6A

RICHTER-LEVIN G, AKIRAV I

Emotional tagging of memory formation-in the search for neural mechanisms

Brain Res Rev 2003; 43:247-56

RIESS JG

Reassessment of criteria for the selection of perfluorochemicals for second-generation blood substitutes: analysis of structure/property relationships

Artif Organs 1984; 8:44-56

ROACH G, KANCHUGER M, MORA MANGANO C, NEWMAN M
Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery
N Engl J Med 1996; 335:1857-63

ROBERTS AC
Comparison of cognitive function in human and non-human primates.
Cogn Brain Res 1996; 3: 279-90

ROBERTS MW, MATHIESEN KA, HO HS, WOLFE BM
Cardiopulmonary responses to intravenous infusion of soluble and relatively insoluble gases
Surg Endosc 1997; 11:341-6

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

RYU K, HINDMAN B, REASONER D, DEXTER F
Heparin reduces neurological impairment after cerebral arterial air embolism in the rabbit
Stroke 1996; 27:303-10

SANCHEZ-SANTED F, DE BRUIN JP, HEINSBROEK RP, VERWER RW
Spatial delayed alternation of rats in a T-maze: effects of neurotoxic lesions of the medial prefrontal cortex and of T-maze rotations
Behav Brain Res 1997; 84:73-9

SASAKI S, TAKIGAMI K, SHIYA N, YASUDA K
Partial cardiopulmonary bypass in rats for evaluating ischemia-reperfusion injury
ASAIO J 1996; 42 1027-30

SELNES OA, GOLDSBOROUGH MA, BOROWICZ LM, MCKHANN GM
Neurobehavioural sequelae of cardiopulmonary bypass
Lancet 1999; 353:1601-6

SIMMS NM, KUSH GS, LONG DM, LOKEN MK, FRENCH LA
Increase in regional cerebral blood flow following experimental arterial air embolism
J Neurosurg 1971; 34:665-71

SMITH RM, VAN HOESEN KB, NEUMAN TS
Arterial gas embolism and hemoconcentration
J Emerg Med 1994; 12:147-53

SPINELLI JS, MARKOWITZ H
Clinical recognition and anticipation of situations likely to induce suffering in animals
J Am Vet Med Assoc 1987; 191:1216-8

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

SQUIRE LR

The hippocampus and spatial memory
Trends Neurosci 1993; 16:56-7

SQUIRE LR

Memory and forgetting: long-term and gradual changes in memory storage
Int Rev Neurobiol 1994; 37:243-69; discussion 85-8

SQUIRE LR

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

SQUIRE LR, KNOWLTON B, MUSEN G

The structure and organization of memory
Annu Rev Psychol 1993; 44:453-95

STA MARIA N, ECKMANN DM

Model predictions of gas embolism growth and reabsorption during xenon anesthesia
Anesthesiology 2003; 99:638-45

STECKLER T, MUIR JL

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

STEPHAN H, WEYLAND A, KAZMAIER S, HENZE T, MENCK S, SONNTAG H

Acid-base management during hypothermic cardiopulmonary bypass does not affect cerebral metabolism but does affect blood flow and neurological outcome
Br J Anaesth 1992; 69:51-7

STUMP DA, ROGERS AT, HAMMON JW, NEWMAN SP

Cerebral emboli and cognitive outcome after cardiac surgery
J Cardiothorac Vasc Anesth 1996; 10:113-8; quiz 8-9

SUZUKI A, ECKMANN DM

Embolism bubble adhesion force in excised perfused microvessels
Anesthesiology 2003; 99:400-8

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

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

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

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

TAYLOR KM

Brain damage during cardiopulmonary bypass
Ann Thorac Surg 1998; 65: 20-6; discussion 7-8

TI L, MACKENSEN G, GROCCOTT H, PHILLIPS-BUTE B, MATHEW J
Apolipoprotein E4 Increases Atheroma Burden in Cardiac Surgical Patients
Anesthesiology, 2000, A-401

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

TOVAR EA, DEL CAMPO C, BORSARI A, WEBB RP, DELL JR, WEINSTEIN PB
Postoperative management of cerebral air embolism: gas physiology for surgeons
Ann Thorac Surg 1995; 60:1138-42

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

VAN HULST RA, LAMERIS TW, HASAN D, KLEIN J, LACHMANN B
Effects of cerebral air embolism on brain metabolism in pigs
Acta Neurol Scand 2003; 108:118-24

VAN LIEW HD, CONKIN J, BURKARD ME
The oxygen window and decompression bubbles: estimates and significance
Aviat Space Environ Med 1993; 64:859-65

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

VOORHIES RM, FRASER RA
Cerebral air embolism occurring at angiography and diagnosed by computerized tomogra-
phy. Case report
J Neurosurg 1984; 60:177-8

WARREN BA, PHILP RB, INWOOD MJ
The ultrastructural morphology of air embolism: platelet adhesion to the interface and
endothelial damage
Br J Exp Pathol 1973; 54:163-72

WEHBERG KE, FOSTER AH, WISE RM, MCLAUGHLIN JS, BRUNNER MJ
Nitric oxide mediates fluid accumulation during cardiopulmonary bypass
J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 112:168-74

WEIGT HU, DINSE A, GEORGIEFF M, BEYER C, FOEHR KJ.
Neurons
University Clinic for Anaesthesiology, University of Ulm, Germany
Anaesthesiology 2004; 101: A870

WERNER C

Wirken Anästhetika hirnpotektiv?

Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 1993; 28: 92-7

WERNER C

Neruroprotektion.

In: JANTZEN J-P, LÖFFLER W.(Hrsg.): Neuroanaesthesie.

Thieme Verlag, Stuttgart, 2000; 121-142

WHISHAW IQ, NONNEMAN AJ, KOLB B

Environmental constraints on motor abilities used in grooming, swimming, and eating by decorticate rats

J Comp Physiol Psychol 1981; 95:792-804

WILHELM S, MA D, MAZE M, FRANKS NP

Effects of xenon on in vitro and in vivo models of neuronal injury

Anesthesiology 2002; 96:1485-91

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

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

Stroke 1999; 30:514-22

YAMAKURA T, HARRIS RA

Effects of gaseous anesthetics nitrous oxide and xenon on ligand-gated ion channels.

Comparison with isoflurane and ethanol

Anesthesiology 2000; 93:1095-101

ZHANG P, OHARA A, MASHIMO T, IMANAKA H, UCHIYAMA A, YOSHIYA I

Pulmonary resistance in dogs: a comparison of xenon with nitrous oxide

Can J Anaesth 1995; 42:547-53

ZIERLER RE

Transcranial doppler monitoring during carotid endarterectomy

Vascular diagnostic service, 2004

University of Washington medical center, Seattle, Vascularweb.org

ZISER A, ADIR Y, LAVON H, SHUPAK A

Hyperbaric oxygen therapy for massive arterial air embolism during cardiac operations

J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 117:818-21

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Überblick über die Verteilung der Größe der Luftboli

Tabelle 2: Versuchsablauf mit randomisierter Lochkombination in der Lernphase

Tabelle 3: Das modifizierte Hole-Board Test Protokoll

Tabelle 4: Kognitive Parameter im modifizierten Hole Board (mHB) Test

Tabelle 5: Verhaltensparameter im modifizierten Hole Board (mHB) Test

Tabelle 6: Pathologische Werte für kognitive und Verhaltensparameter

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Überblick über die Einteilung von Gedächtnisprozessen, sensorische- und motorische Funktionen im Gehirn, modifiziert nach Trevor Powel (Child Brain Injury Trust, Oxford 2004)

Abbildung 2: Einteilung der Gedächtnissysteme und deren neurokognitive Funktionen, modifiziert nach (SQUIRE, 1993) und (SQUIRE, 1998).

Abbildung 3: Kontaktaufnahme (schnuppern der Trendwand) zwischen eine Ratte innerhalb eines Durchlaufes mit deren im Tierabteil zurückgebliebenen Artgenossen (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 4: Überblick über die verschiedenen Gehirnstrukturen und deren Blutversorgung (Donner 1992).

Abbildung 5: Ischämiekaskade im Verlauf des hypoxisch-ischämischen Nervenzellschadens. (WERNER 1993).

Abbildung 6: Herz-Lungen-Maschine mit venösem Reservoir, Rollerpumpe, Membran-oxygenator, Flowmeter und verbindenden Silikonschläuchen (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 7: Obstruktion des end-arteriellen Blutflusses eines zerebralen Blutgefäßes wegen eines Bläschens mit Entwicklung eine Ischämie distal der Obstruktion. Die Obstruktion verursacht eine neuronale Schädigung und gleichzeitig ruft die Bläschenoberfläche eine Fremdkörperreaktion mit dem angrenzenden Gefäßendothel hervor. Es kommt zu zellulären und zytotoxischen Prozessen, die zu einem vaskulären Ödem und letztlich zu Zelluntergang und Nekrose führen (modifiziert nach MUTH und SHANK, 2000).

Abbildung 8: Mehrere embolische Signale, die mit transkranieller Dopplerultrasonographie beobachtet werden können (ZIERLER 2004)

Abbildung 9: Drei Hyperbare Kammern, zwei Monoplace- und eine Multiplace Kammer (Hyperbarics Medicine Department at West Jefferson Medical Center in Marrero, Louisiana 2003)

Abbildung 10: Versuchskäfig mit Wohnabteil (rechts) und links mit dem modifizierten Hole Board in Versuchsarena (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 11: Schematische Darstellung des gesamten Versuchablaufs.

Abbildung 12: Schematische Darstellung des operativen Versuchablaufs

Abbildung 13: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur extrakorporalen Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine an der Ratte (modifiziert nach GROCOTT et al., 2001)

Abbildung 14: Extrakorporale Zirkulation bei der Ratte mit der Herz-Lungen-Maschine (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 15: In dieser Studie benutzte Technik für die Verabreichung der zerebralen Luftembolien (ACA =Arterie carotis Anterior, ACM =Arterie carotis mittlere, ACI =Arterie carotis interna, ACE =Arterie carotis externa, ACC =Arterie carotis communis)

Abbildung 16: Schematische Darstellung des Narkosesystems für Xenon.

Abbildung 17: Ratten in ihrem Versuchskäfig, bevor die Testarena abgetrennt wird. Das Bild zeigt bei eröffnetem Käfigdeckel gesunde und neugierige Ratten, die auch die Nähe zueinander suchen. Die eine Ratte in der oberen Ecke links, trinkt gerade von dem Tränkenippel (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 18: Modifiziertes Hole Board exemplarisch zerlegt in Feder, Schraube und Deckel und vorbereiten des modifizierten Hole Boards mit Puffreis in markierte Löcher (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 19: Das modifizierte Hole-Board nach OHL mit allen Utensilien, die zum Befüllen der drei korrekten Löcher mit Futterbelohnung nötig sind (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 20: Eine Ratte während eines Durchlaufes im modifizierten Hole-Board Test. Die Ratte befindet sich auf dem Board kurz vor Öffnen eines Loches (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anästhesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)

Abbildung 21: Zeigt die Dosis-Wirkungskurve (MW \pm 95% KI) für die Mortalität (%) in Abhängigkeit vom applizierten Luftvolumen (μ l).

Abbildung 22: Zeigt die Dosis-Wirkungskurve (MW \pm 95% KI) für kognitive Fähigkeiten (%) in Abhängigkeit vom applizierten Luftvolumen (μ l).

Abbildung 23: Zeigt die Dosis-Wirkungskurve (MW \pm 95% KI) für Verhaltensänderungen (%) in Abhängigkeit vom applizierten Luftvolumen (μ l).

10 Abkürzungsverzeichnis

P _{et}	endtidaler Druck
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
µl	Mikroliter
Vol%	Volumen Prozent
O ₂	Sauerstoff
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
ml	Milliliter
µg	Mikrogramm
A.	Arteria
V.	Vena
cm	Zentimeter
mm	Millimeter
Fa.	Firma
g	Gramm
kg	Kilogramm
mg	Milligramm
i.v.	intravenös
°C	Grad Celsius
SAP	systolischer arterieller Blutdruck
DAP	diastolischer arterieller Blutdruck
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
PE	Polyethylen
bzw.	beziehungsweise
vs.	versus
d.h.	das heißt
s	Sekunde
min	Minute
h	Stunde
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoff Konzentration
PaO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PaCO ₂	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pH-Wert	Wasserstoffionen-Wert
mHBT	modifizierter Hole-Board-Test
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
HLM	Herz-Lungen-Maschine
KGW	Körpergewicht
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
v.a.	vor allem
mHB	modifiziertes Hole Board
TC	Time Complete
NMDA	N-methyl-D-aspartat
ZNS	Zentrale Nervensystem
MAC	Minimale Alveoläre Konzentration
SIRS	Systemische Entzündungsreaktionen

Abkürzungsverzeichnis

TEE	Transösophageale Echokardiographie
CT	Computer tomographie
TCD	Transkranielle Dopplerultrasonographie
CBF	Zerebrale Blutzirkulation
SSEP	Somatosensorisch evozierte Potentiale
HITS	Hochintensive transkranielle Signale
POCD	Postoperativen kognitiven Dysfunktionen
Sham	Kontrollgruppe
KGW	Körpergewicht

11 Danksagung

Am Ende meiner Doktorarbeit möchte ich mich herzlich bei den Menschen 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 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.

Herrn Prof. Dr. med. M. Blobner für die Überlassung des Themas, die Betreuung meiner Arbeit und die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse.

Frau Dr. med. B. Jungwirth 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 Komma.

Nicht zu vergessen bei meinen Ratten, die den Hauptbeitrag geleistet haben.

Meiner Mitstreiterinnen Frau L. Starker und A. Berkmann und auch an Frau Dr. med. Lucia Gordan für ihre absolut zuverlässige Mitarbeit und ihre ständige Unterstützung bei allen Fragen und bei der grammatischen Vorkorrektur.

Ein herzliches Dankeschön an M. A Herrn Wolfgang Linke für die schnelle, zuverlässige und hervorragende grammatische Hauptkorrektur meiner Arbeit.

Bei meinem Freund Erik möchte ich mich hier besonders von ganzem Herzen bedanken. Vielen, lieben Dank für die finanzielle Unterstützung, aber mehr noch für deinen Beistand und Bestärkung, in dem was ich tue, ohne dich wäre diese Arbeit nur schwer zustande gekommen.

Und zuletzt an meine Eltern, die meine große Tierliebe und das Bedürfnis Tiere zu helfen immer unterstützt und befördert haben. Sie haben beide mich Mut und Inspiration gegeben, Tiermedizin zu studieren und noch dazu diese Arbeit zu verwirklichen. VIELEN DANK ihr Lieben!