

**LERNEN UND GEDÄCHTNIS EINEN UND SIEBEN TAGE
NACH ISOFLURANNARKOSE BEI DER MAUS**

MARIA KATHARINA OSL

Aus der Klinik für Anaesthesiologie der Technischen Universität München
(Direktor : Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. Phys. E. Kochs)
und aus dem Zentrum für Präklinische Forschung der Technischen Universität München
(Leitung: PD Dr. med. vet. J. Henke und Dr. med. vet. T. Brill)

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

Vorgelegt über den
Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung
des Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. med. vet. M. Erhard)

LERNEN UND GEDÄCHTNIS EINEN UND SIEBEN TAGE NACH ISOFLURANNARKOSE BEI DER MAUS

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

von
Maria Katharina Osl
aus
Altötting

München 2008

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Erhard

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. Köstlin

Tag der Promotion: 18. Juli 2008

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	2
2.1	Postoperative kognitive Defizite	2
2.1.1	Definition und Abgrenzung von Delir.....	2
2.1.2	Inzidenzen und Auswirkungen von postoperativen kognitiven Defiziten	4
2.1.3	Risikofaktoren	5
2.1.4	Testauswahl und Testkriterien.....	7
2.2	Postoperative kognitive Defizite und Tiermodelle.....	8
2.3	Inhalationsanästhetikum Isofluran	15
2.3.1	Klinische Anwendung	15
2.3.2	Chemische und physikalische Eigenschaften.....	16
2.3.3	Anästhetische Potenz.....	16
2.3.4	Pharmakokinetik.....	17
2.3.4.1	An- und Abflutung	17
2.3.4.2	Metabolisierung.....	17
2.3.5	Pharmakodynamik.....	18
2.3.5.1	Wirkungen auf das Respirationssystem	18
2.3.5.2	Wirkungen auf das Herz-Kreislauf System.....	18
2.3.5.3	Wirkungen auf das Nervensystem.....	18
2.3.5.4	Neuroprotektion und Wirkung auf die Gedächtnisleistung.....	19
3	Eigene Untersuchungen	21
3.1	Zielvorstellung.....	21
3.2	Material und Methodik.....	21
3.2.1	Versuchstiere	21
3.2.2	Versuchsplan	22
3.2.3	Narkose.....	23
3.2.4	Das modifizierte Hole-Board	24
3.2.4.1	Der Aufbau des Hole-Boards	25
3.2.4.2	Die Futterbelohnung.....	26
3.2.4.3	Das Hole- Board- Protokoll.....	27
3.2.4.4	Zeitlicher Versuchsablauf.....	27
3.2.4.5	Untersuchte Parameter	29
3.2.5	Statistik.....	32
3.3	Ergebnisse	32
3.3.1	Parameter des modifizierten Hole-Board-Test.....	32
3.3.1.1	Kognitive Parameter.....	32
3.3.1.2	Verhaltensparameter.....	41
4	Diskussion	59
4.1	Diskussion der Methoden.....	59
4.1.1	Postoperative kognitive Defizite im Mausmodell	59
4.1.2	Narkosemanagement	61
4.1.3	Der modifizierte Hole-Board-Test	63
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	65
4.2.1	Kognitive Leistungsfähigkeit und Verhalten 1d nach Narkose.....	65
4.2.2	Kognitive Leistungsfähigkeit und Verhalten 7d nach Narkose.....	70
4.2.3	Abschließende Betrachtung und Ausblick	72
5	Zusammenfassung	73
6	Summary	75
7	Literaturverzeichnis	77

8	Tabellenverzeichnis	88
9	Abbildungsverzeichnis	89
10	Abkürzungsverzeichnis.....	90
11	Danksagung.....	91

1 Einleitung

Postoperative kognitive Defizite (POCD) sind trotz intensiver Forschung vor allem bei älteren Patienten nach anästhesiepflichtigen Eingriffen sehr häufig. Eine Woche nach einer Operation entwickeln bis zu einem Viertel aller Patienten kognitive Leistungsbeeinträchtigungen. Die damit verbundenen Symptome erschweren das tägliche Leben besonders auch deshalb, weil sie bei jedem zehnten Patienten bis zu drei Monaten nach dem operativen Eingriff bestehen bleiben können (MOLLER et al., 1998). Diese Defizite äußern sich sowohl in feinmotorischen Schwierigkeiten als auch in einem Abfall der höheren kognitiven Leistungen. Sie erhöhen die Morbidität der Patienten und vermindern längerfristig deren Lebensqualität. Zusätzlich werden die Angehörigen durch erhöhten Pflegeaufwand belastet. Es wird angenommen, dass verschiedene Faktoren, wie der Bildungsstand der Patienten, aber auch die Art des operativen Eingriffs, intraoperative Komplikationen, postoperative Schmerzen oder sogar der Krankenhausaufenthalt an sich eine wichtige Rolle spielen. Die Narkose konnte als potentieller Risikofaktor nicht ausgeschlossen werden (ANCELIN et al., 2001), (SMITH et al., 1986). Als Resultat der multifaktorielle Ätiologie sind klinischen Studien über die Auswirkungen einer Narkose auf Gedächtnisleistungen limitiert. Sie können beispielsweise nicht zwischen einem Narkoseeffekt und Einflüsse des chirurgischen Eingriffes, der postoperativen Medikamente oder andere zusätzliche operative oder individuelle Einflüssen, die alle die postoperative kognitive Leistungsfähigkeit beeinträchtigen können, unterscheiden. Deshalb wird ein geeignetes Tiermodell benötigt, das eine alleinige Untersuchung der Auswirkungen der Narkose unabhängig von dem chirurgischen Eingriff erlaubt.

In der vorliegenden Studie soll deshalb die alleinige Wirkung des Inhalationsanästhetikums Isofluran auf Lernen und Gedächtnis im Mausmodell untersucht werden.

2 Schrifttum

2.1 Postoperative kognitive Defizite

Vor mehr als 50 Jahren wurde erstmals von Verwirrtheit bei älteren Patienten nach operativen Eingriffen berichtet. Man vermutete, dass diese durch intraoperative zerebrale Durchblutungsstörungen, zerebrale metabolische Mangelzustände oder durch die verabreichten Medikamente verursacht wurde (BEDFORD, 1955). Eine Suche nach physischen und mentalen Veränderungen nach operativen Eingriffen ergab sechs Jahre später, dass Narkose keine Effekte auf Persönlichkeit und geistige Fähigkeiten habe (SIMPSON et al., 1961). Andere Studien hingegen beschuldigten einige Jahre später Anästhetika-Effekte auf das Gehirn als ursprüngliche Verursacher von vorübergehenden kognitiven Einbußen von Patienten nach Operationen (BLUNDELL, 1967). Nach diesen frühen Studien und den kontroversen Ergebnissen war das weltweite Interesse an postoperativen kognitiven Defiziten geweckt. Mit zahlreichen Studien wurde nun versucht, mögliche Ursachen und pathologische Mechanismen zu erforschen.

2.1.1 Definition und Abgrenzung von Delir

Das nach internationalen Maßstäben (Internationale Klassifikation der Krankheiten ICD-10, World Health Organization) definierte postoperative Delir stellt eine vorübergehende, kurzfristige Beeinträchtigung des Bewusstseins, der Aufmerksamkeit, der Kognition, der Psychomotorik und des Wahrnehmungsvermögens dar (BRYSON und WYAND, 2006). Es beginnt häufig akut und ist charakterisiert durch eine wechselnde Intensität der Symptome. Die Patienten leiden unter optische Halluzinationen und Wahnvorstellungen. Zeitliche und örtliche Desorientiertheit finden sich häufig. Störungen des Schlaf-Wach-Zyklus äußern sich in fehlendem Nachtschlaf und Schläfrigkeit am Tage im Sinne einer Rhythmusumkehr. Verschiedene Risikofaktoren sind für das postoperative Delir identifiziert worden. Hierzu zählen hohes Alter, internistische Erkrankungen, medikamentöse Kombinationsbehandlung und bestimmte operative Eingriffe wie Herzchirurgie, Lungentransplantationen, orthopädische Eingriffe und Kataraktoperationen (GALLINAT et al., 1999).

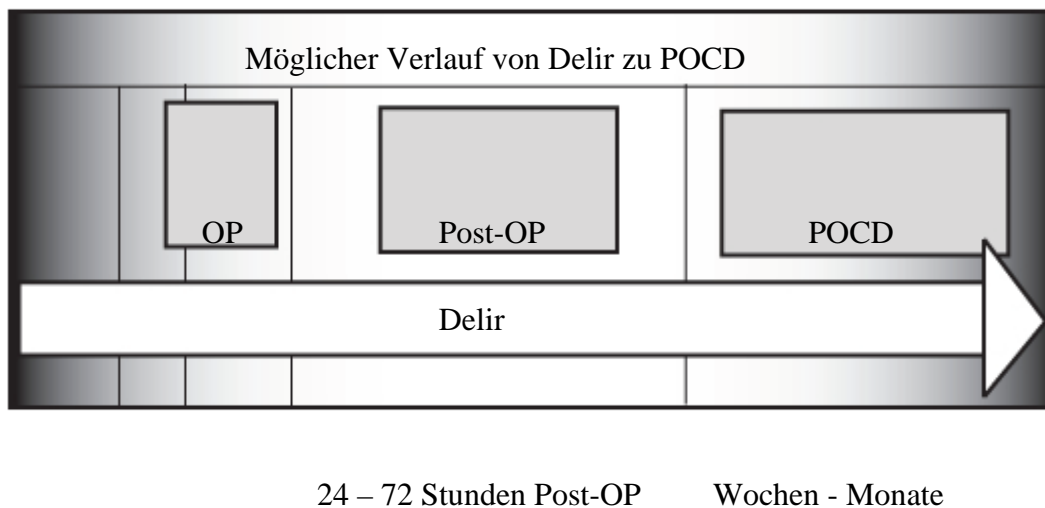


Abbildung 1: zeitliches Auftreten von Delir und POCD.

Die Definition des Komplexes „postoperative kognitive Defizite (POCD)“ wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Leider gibt es keinen „Goldstandard“ für eine Definition und doch ist es wichtig, Patienten nach bestimmten Kriterien einzuteilen, will man Inzidenzen und Risikofaktoren herausfinden (JOHNSON et al., 2002). Häufig werden POCD als subtile und längerfristige Funktionsstörungen von Denkprozessen beschrieben, die bestimmte Teile der Kognition beeinträchtigen, wie die Merkfähigkeit für Wörter und Bilder, das Sprachverständnis, das visuell-räumliche Abstraktionsvermögen und die Aufmerksamkeits- und Konzentrationsfähigkeit (BRYSON und WYAND, 2006).

Diskutiert wird auch, ob POCD einer subklinischen Form des postoperativen Delirs entspreche, oder eher einem Einzelphänomen mit eigener Ätiologie und Verlauf zuzuordnen sind. Klar ist, dass durch den latenten Verlauf der POCD deren Aufdeckung erschwert ist, wodurch sie oftmals während dem klinischen Aufenthalt unentdeckt bleiben. Deshalb sind neuropsychologische Tests notwendig, um kognitive Defizite frühzeitig zu erkennen und entsprechend behandeln zu können (WANG und SAND, 2007). Das Delir stellt eine ernste und potentiell tödliche Komplikation dar, die verlängerte Krankenhausaufenthalte (MCCUSKER et al., 2003), schwierige soziale Anpassung und eine erhöhte Sterblichkeit zur Folge haben kann (MCCUSKER et al., 2002). Unentdeckt und dadurch unbehandelt kann ein postoperatives Delir in langanhaltende POCD übergehen (ROGERS et al., 1989).

Tabelle 1: Differentialdiagnose Delir und POCD (GALLINAT et al., 1999)

Unterscheidungsmerkmale	Delir	POCD
Beginn	Akut	48 Stunden bis 1 Woche postoperativ
Dauer	Stunden bis Tage postoperativ	Wochen bis Monate postoperativ
Bewusstsein/ Wahrnehmung	Gestört	Ungestört
Kognition: Desorientiertheit zu Zeit und Ort Formelles Denken Wahn	 Immer unzusammenhängend, „Wortsalat“ Häufig	 Selten subtile Merkfähigkeitsstörungen Selten
Psychomotorik	gesteigert oder reduziert	meist nicht verändert
Schlaf-Wach-Zyklus	nächtliche Erregung, Schläfrigkeit am Tag	Ungestört
Körperliche Symptome	Tachykardie, Schwitzen, Tremor,	Selten

2.1.2 Inzidenzen und Auswirkungen von postoperativen kognitiven Defiziten

Die Inzidenz von POCD variiert erheblich in den einzelnen Studien abhängig von der Definition der POCD, der Beschaffenheit der Testbatterie und dem postoperativen Zeitpunkt der Beurteilung (RASMUSSEN, 2005). Neuere Untersuchungen ergaben bei

herzchirurgischen Eingriffen eine Inzidenz von 56% bei älteren Menschen (ANCELIN et al., 2001). Bei nicht herzchirurgischen Eingriffen liegt die Häufigkeit mit 6,8 % bis 19,2 % (CANET et al., 2003; JOHNSON et al., 2002) deutlich geringer. Nach allgemeinchirurgischen Operationen rechnet man mit einem Auftreten von POCD bei 5-15 % der Patienten. Bei orthopädischen Eingriffen kommt es häufiger zu POCD. Bis zur Hälfte der Patienten sind in diesem Fall betroffen (BITSCH et al., 2004). Wahrscheinlich liegt die wahre Inzidenz jedoch deutlich höher, da Personen, die POCD entwickeln aufgrund ihres angeschlagenen Gesundheitszustandes und ihres verschlechterten kognitiven Status vor allem aus Langzeitstudien häufiger herausfallen (SILVERSTEIN et al., 2007).

Die Auswirkungen der POCD sind vielfältig. Patienten mit eingeschränkter Kognition besitzen eine erhöhte Sterblichkeit und verbleiben länger im Krankenhaus. Nach dem Krankenhausaufenthalt beanspruchen sie langfristige und intensivere Pflegemaßnahmen (ROACH et al., 1996). Kognitive Defizite beeinträchtigen das tägliche Leben der Patienten und deren Familienangehörige noch Monate postoperativ. Die verzögerte körperliche und emotionale Rehabilitation mindert ihre Lebensqualität und schiebt die Rückkehr in den Arbeitsalltag hinaus. Besonders für Patienten mittleren Alters hat jegliche kognitive Einschränkung katastrophale Folgen, wie Arbeitsverlust oder Aufgabe sozialer Aktivitäten (JOHNSON et al., 2002). Neben den Folgen für den Einzelnen stehen für die Allgemeinheit sozioökonomische Konsequenzen im Vordergrund. Hierzu gehören beispielsweise Kosten durch verlängerte Liegedauer im Krankenhaus oder ein vermehrter Pflegeaufwand nach dem stationären Aufenthalt (BIEDLER et al., 1999). Man rechnet mit einer Mehrbelastung für das Gesundheitswesen von bis zu 400 Millionen Dollar jährlich, die aufgrund der steigenden Operationszahlen vermutlich noch ansteigen werden. Rechnet man die Mehrausgaben für Rehabilitation und Pflege noch hinzu, erhält man geschätzte jährliche Gesamtkosten von zwei bis vier Milliarden Dollar (ROACH et al., 1996).

2.1.3 Risikofaktoren

Mit großer Wahrscheinlichkeit haben POCD viele verschiedene Ursachen, die sich zudem noch gegenseitig beeinflussen und verstärken können.

Fortgeschrittenes Alter scheint in der Ätiologie eine wichtige Rolle zu spielen. Eine Mulicenter Studie zeigte, dass höheres Lebensalter den größten Risikofaktor für frühe und langandauernde POCD darstellt (MOLLER et al., 1998). Patienten mittleren Alters (40 – 60 Jahre) scheinen dagegen anfälliger für die frühe Form von POCD zu sein (JOHNSON et al., 2002).

Weitere mögliche Risikofaktoren, die diskutiert werden, sind Bildungsstand der Patienten, bereits bestehende kognitive Vorschädigungen, Medikamenteneinfluss, zusätzliche Krankheiten (z.B. Diabetes mellitus), Krankenhausaufenthalte und postoperative Komplikationen (MOLLER et al., 1998). Auch exzessiver Alkoholmissbrauch stellt einen signifikanten Prädiktor für POCD bei älteren Patienten dar. Besonders das visuell-räumlichen Abstraktionsvermögen und das Lernvermögen neuer Wörter scheinen bei längerfristigen Alkoholmissbrauch bereits vorgeschädigt (HUDETZ et al., 2007). Ebenso entscheidend für das Auftreten von POCD ist das postoperative Schmerzmanagement. So konnte gezeigt werden, dass bei Patienten ein signifikant geringeres Risiko für POCD bestand, wenn ihre postoperativen Schmerzen mit oralen Opioidanalgetika behandelt wurden statt mit Epidural – oder Spinalanalgesie (WANG und SAND, 2007).

Art und Invasivität des Eingriffes spielen bei der Entwicklung von POCD eine wichtige Rolle. Seit langem bekannt und durch viele Studien belegt ist das Auftreten von POCD nach herzchirurgischen Eingriffen (MCKHANN et al., 1997). Daneben gibt es aber viele weitere operative Eingriffe, wonach ein Abfall der kognitiven Leistung zu beobachten ist. Hierzu zählen vor allem die operative Versorgung von Hüftfrakturen oder auch der Einsatz von Hüft – und Knieprothesen (CASATI et al., 2003) sowie Kataraktoperationen (CAMPBELL et al., 1993). Ein komplizierter Operationsverlauf hat häufiger Gedächtnisdefizite zur Folge. Der Einfluss der Invasivität eines Eingriffes auf die Gedächtnisleistung wird durch die Tatsache untermauert, dass überdurchschnittlich viele Teilnehmer die Durchführung der Tests nach der Operation aufgrund von körperlichen Beschwerden ablehnen: Sie fühlen sich der Aufgabe nicht gewachsen und es ist anzunehmen, dass viele von ihnen POCD hätten (MULLER et al., 2004).

Ob Allgemeinnarkosen die Wahrscheinlichkeit POCD zu erleiden erhöht, bleibt unklar. Zahlreiche Untersuchungen und Studien zu diesem Thema sind zu keinem eindeutigen Ergebnis gekommen, da unter anderem noch signifikante methodisch- Probleme existieren, wie zum Beispiel geringe Patientenzahlen, Fehlen von Kontrollgruppen oder eine Begrenzung auf bestimmte Operationen (FONG et al., 2006). Eine Untersuchung an

älteren Menschen nach Hüftoperationen postuliert, dass Patienten nach einer Allgemeinnarkose häufiger kognitive Beeinträchtigungen haben als Patienten, die unter örtlicher Betäubung operiert werden. Diese Beobachtung wird dadurch erklärt, dass der Angriffspunkt der Allgemeinanästhesie vorrangig das Gehirn ist, während bei einer regionalen Betäubung der spinale Kortex oder periphere Nerven beeinflusst werden (WU et al., 2004).

2.1.4 Testauswahl und Testkriterien

Wie bereits oben angedeutet bedarf es zumeist aufwendiger neuropsychometrischer Tests, um vor allem subtile Schäden und Einschränkungen der kognitiven Leistungsfähigkeit zu detektieren und zu quantifizieren, wie sie im Rahmen von POCD häufig vorkommen. Zu diesen Tests zählen zum Beispiel der Verbal Learning Test. Bei diesem Test müssen die Probanden sich eine Liste von 15 Wörtern merken und nach einer gewissen Zeit wiedergeben. Er dient zur Erfassung von verbalen Lernstrategien- und -prozessen und zur Aufdeckung möglicher sprachlicher Gedächtnisstörungen (BRAND und JOLLES, 1985). Bei dem Trail-Making Test müssen die Patienten im Kreis angeordnete Zahlen, Buchstaben und deren Kombination in der richtigen Reihenfolge und schnellstmöglich verbinden (REITAN, 1958). Es ist ein Konzentration – und Aufmerksamkeitstest, der die Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit detektiert.

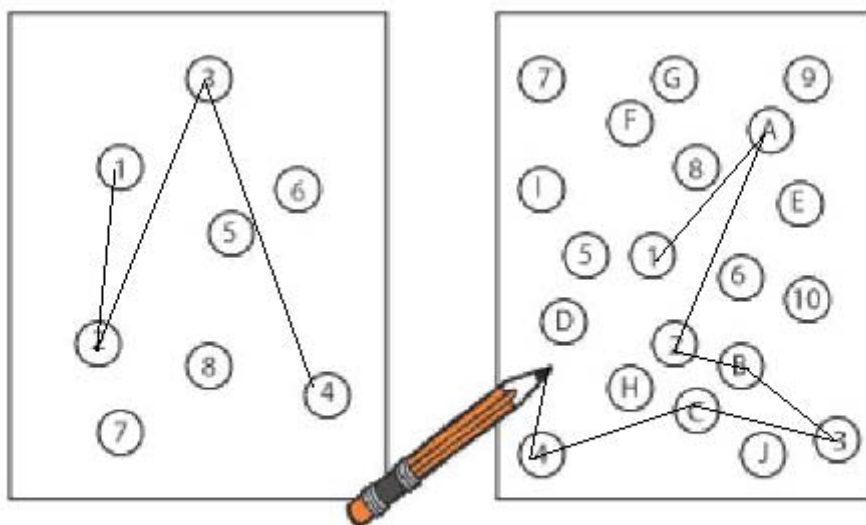


Abbildung 2: Beispiel eines Trail-Making Tests.

Beim Stroop-Colour and Word-Interference Test müssen in Reihe stehende Namen von Farben vorgelesen werden, wobei das Wort anders lautet als die Farbe, in der es geschrieben ist (zum Beispiel das Wort „grün“ ist in blauer Farbe geschrieben, zu nennen wäre „grün“) (STROOP, 1935). Die Stroop-Interferenz ist ein von J. Ridley Stroop beschriebenes Verfahren zur Messung der individuellen Interferenzneigung bei der Farb-Wort-Interferenz. Es besagt, dass trainierte Handlungen schwerer unterbrochen werden können und ihre Änderung eine stärkere kognitive Verarbeitung benötigt. Zur Dokumentation der Geschwindigkeit der allgemeinen Informationsverarbeitung dient der Letter-Digit-Coding Test. Der Versuchsperson wird eine Kodierung von neun Buchstaben mit neun Zahlen vorgegeben, mit der bei einer nachfolgenden Buchstabenreihe innerhalb einer Minute die entsprechend kodierten Zahlen zu ergänzen sind. In Praxi hat sich gezeigt, dass besonders diese vier Tests zur Bewertung von subtilen Beeinträchtigungen der kognitiven Funktion geeignet sind (BIEDLER et al., 1999).

Bei der Auswahl der Tests muss darauf geachtet werden, dass sie leicht verständlich und praxistauglich sind. Zudem sollen sie eine hohe Sensitivität besitzen, um auch subtile Störungen aufdecken zu können. Allein mit einer Kontrollgruppe lassen sich bei wiederholten Tests mit dem gleichem Testmaterial Lerneffekte nachweisen. Werden Lerneffekte nicht berücksichtigt, können Verschlechterungen der kognitiven Funktion leicht vollständig maskiert werden und dadurch unentdeckt bleiben. Die einzelnen Testparameter sollen die verschiedenen kognitiven Leistungen reflektieren, die für das alltägliche Leben relevant sind (RASMUSSEN et al., 2001).

Große Differenzen existieren hinsichtlich der Testauswahl aber auch der Intervalle zwischen den einzelnen Testzeitpunkten sowie der statistischen Auswertung und der Definition von neuropsychologischen Defiziten (ABILDSTROM et al., 2000). Um eine spätere Auswertung und Vergleichbarkeit der einzelnen Studien zu gewährleisten, sollte ein einvernehmlicher Entschluss über die Art und Anzahl der verwendeten Tests gefasst werden (NEWMAN et al., 2007).

2.2 Postoperative kognitive Defizite und Tiermodelle

Da in klinischen Studien die vielen verschiedenen Faktoren, die zu POCD beitragen können nicht eingehend untersucht werden können, wurden Tiermodelle entwickelt. Im Tierexperiment unter standardisierten Bedingungen können äußere Einflüsse besser

kontrolliert und die einzelnen Faktoren isoliert untersucht werden, was sie bei der Aufklärung der Ätiologie und der Pathophysiologie von POCD unvermeidbar macht.

Labyrinthmodelle

Zur Erforschung kognitiver Defizite bei Tieren wurden verschiedene Testmodelle mit unterschiedlicher Aufgabenstellung entwickelt. Sehr häufig finden Labyrinthmodelle Anwendung, um Lern- und Gedächtnisprozesse näher zu erforschen sowie Effekte von Gehirnläsionen und Medikamenten abzuklären. Das **Morris-Wasserlabyrinth** (Morris-Water-Maze) besteht aus einem mit Wasser gefüllten Becken, in dem sich eine für die Tiere unsichtbare Plattform aus Plexiglas befindet. Diese Plattform behält einen festen Standort im Becken, knapp unterhalb der Wasseroberfläche. Das Becken ist optisch in vier Quadrate und einen Ringbereich unterteilt. Außerhalb des Beckens dienen im Raum angebrachte bunte Markierungen als Orientierungshilfen. Die Aufgabe des Tieres ist es, möglichst schnell die verborgene Plattform aufzusuchen, wobei es sich im Raum orientieren und an vergangene Testdurchläufe erinnern soll. Beurteilt werden unter anderem die benötigte Schwimmstrecke und Zeit bis zum Auffinden der Plattform. Mit diesem Test wird das visuell-räumliche Gedächtnis, die Motorik und das Angstverhalten überprüft (MORRIS, 1984).

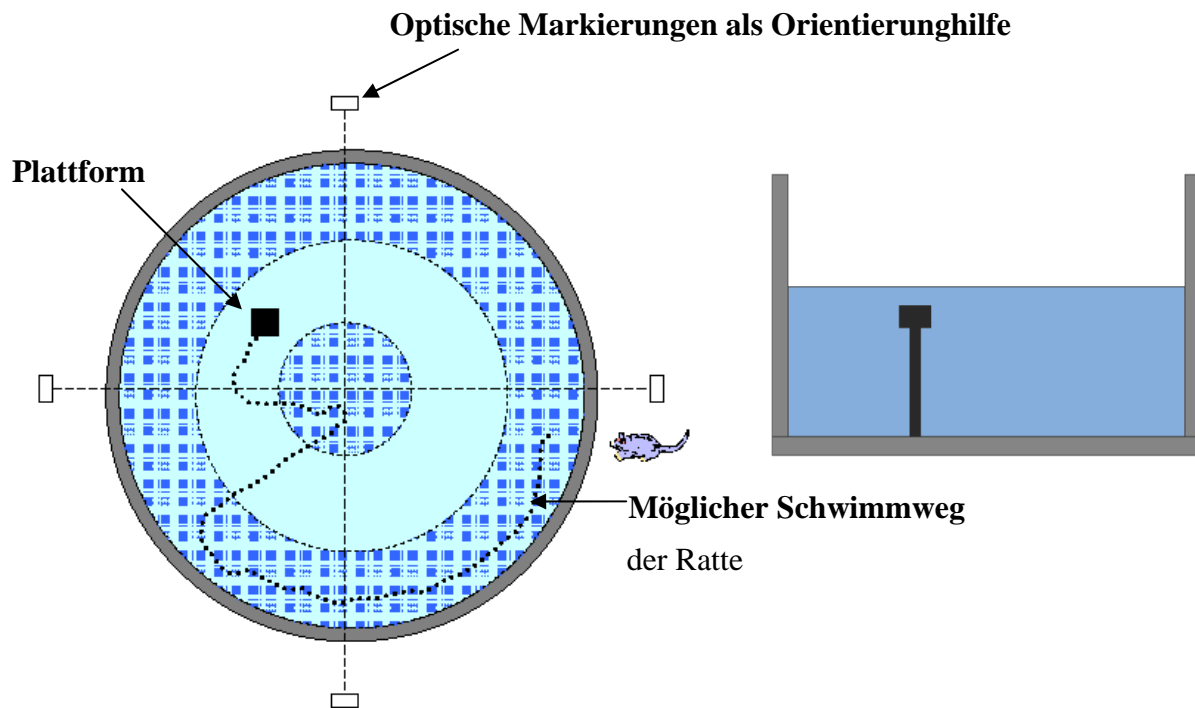


Abbildung 3: Schema des Morris-Water-Maze (modifiziert nach MORRIS et al., 1982).

Bei dem **Radial-Arm-Maze** handelt es sich um ein Testmodell, bei dem acht geschlossene Arme von einer zentralen, runden Fläche aus betreten werden können (OLTON und SAMUELSON, 1976). An dem Ende jedes Armes wird Futter platziert, das nach dem Fressen nicht ersetzt wird. Die Tiere müssen während eines Durchlaufes alle Arme besuchen und die Futterbelohnungen fressen. Als Fehler wird das wiederholte Aufsuchen eines Armes oder das nicht Fressen der Futterbelohnungen gewertet. Damit lassen sich etwa Läsionen im Hippokampusgebiet des Gehirns bestimmen.

Im „**Open-Field-Test**“ wird das unkonditionierte Angstverhalten der Ratte untersucht (HALL, 1934). Beurteilt werden das Explorations- und Motivationsverhalten, die Lokomotion und das Allgemeinbefinden der Versuchstiere. Die Testarena besteht aus einem offenen, runden, hell erleuchteten Zentrum, das allseits von einer Wand umgeben ist. Die Form des Raumes, die Beleuchtungsstärke, die Aufenthaltsdauer und der Startpunkt des Tests können variieren. Da Nagetiere sich bevorzugt in Wandnähe aufhalten (Thigmotaxis) wird die Dauer des Aufenthalts im Zentralbereich und wie

schnell sie diesen nach Testbeginn aufsuchen als Maßstab für die Größe der Angst in einer unbekanntem Umgebung genommen (PRUT und BELZUNG, 2003).

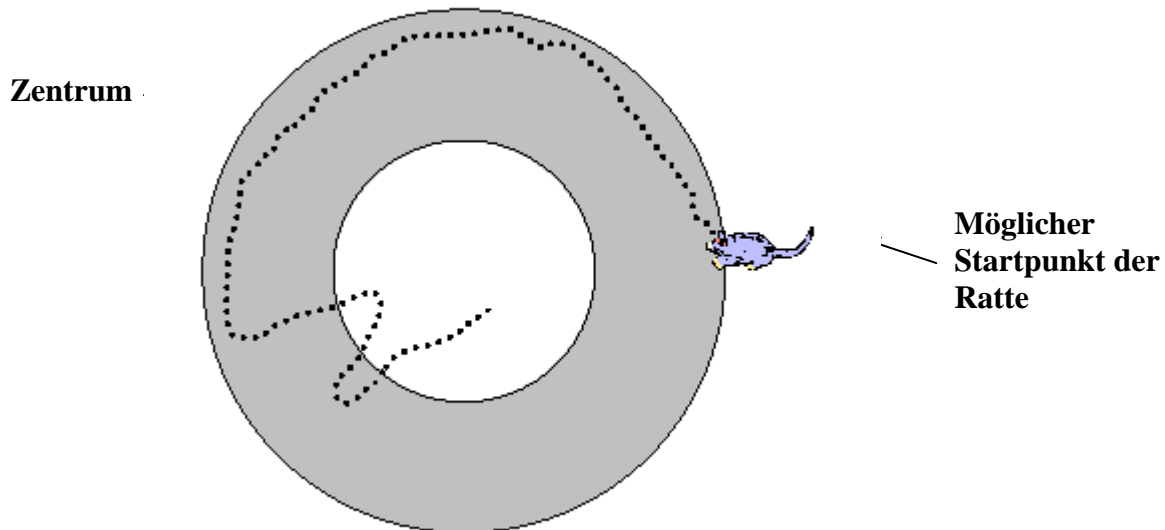


Abbildung 4: Schema des Open-Field-Tests: Aufteilung der Versuchsarena in peripheren und zentralen Bereich, sowie mögliche Startpunkte des Tests (modifiziert nach PRUT und BELZUNG, 2003).

Modifizierter Hole-Board-Test

Im Gegensatz zu den häufig verwendeten Testbatterien können bei dem modifizierten Hole-Board (mHB) –Paradigma eine Vielzahl von Verhaltensmustern in nur einem einzigen Test erfasst werden (OHL et al., 2001a). Das mHB stellt eine Kombination des Open-Field-Tests und der Hole-Board-Tests dar. Mit dem ursprünglichen Hole-Board konnte nur das Explorationsverhalten von Nagetieren analysiert werden, mit dem mHB lassen sich Explorationsstrategien, Lokomotion, Erregungs- und Angstverhalten und verschiedene kognitive Parameter erfassen (OHL et al., 2001b). Im Zentrum der Versuchsarena liegt ein mit Löchern versehenes Board. In den Löchern befinden sich Futterbelohnungen, die durch verschiebbare Deckeln oder aufgesteckte Zylinder vor dem direkten Zugriff geschützt sind. Die Tiere werden in den Randbereich gesetzt und sollen gezielt die Futterbelohnungen suchen (siehe 3.2.4). Durch das mHB-Paradigma können im Tiermodell neue Ansätze zur Untersuchung der kognitiven Funktionen erzielt werden.

Einerseits können die Tiere ihr komplettes Verhaltensrepertoire offen zeigen, andererseits ermöglichen sie dem trainierten Beobachter eine sorgfältige Analyse zum Beispiel von Effekten von Medikamenten oder neuen Behandlungsversuchen auf Lernen und Gedächtnis (OHL, 2003).

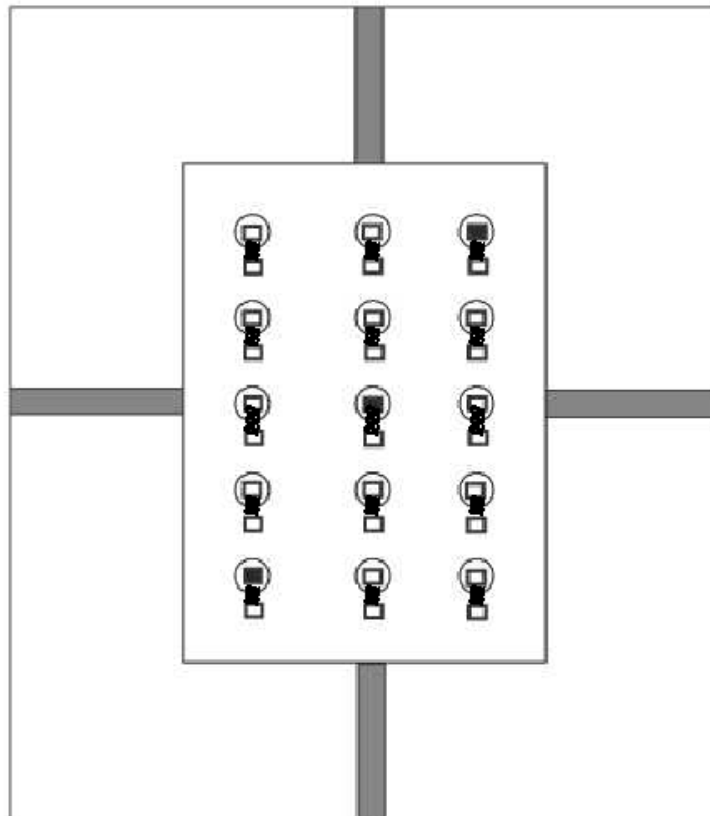


Abbildung 5: Schema des modifizierten Hole-Boards nach Ohl.

Bewertung der kognitiven Funktion im mHB-Test

Die kognitiven Parameter, die mit dem mHBT evaluiert werden können, sind hoch komplex (DECKER, 1995). Es können sowohl das deklarative Gedächtnis als auch das Arbeitsgedächtnis mit diesem Test untersucht werden (OHL et al., 2002).

Im Laufe des Tests sollen die Versuchstiere durch Assoziation lernen, visuell markierte Löcher mit Futterbelohnungen zu verbinden. Die kognitive Leistungsfähigkeit eines Tieres wird anhand der Besuche von markierten Löchern während eines Durchlaufes beurteilt.

Das deklarative Gedächtnis umfasst bewusstes Erinnern an bereits gelernte Informationen (SQUIRE, 1998). Besucht eine Maus ein nicht markiertes Loch ohne Futterbelohnung (Wrong Choice), wird dies als Fehler des deklarativen Gedächtnisses gewertet. Für das erfolgreiche Absolvieren des mHB-Tests müssen die Mäuse lernen, dass nur markierte Löcher mit Futterbelohnungen assoziiert sind und sich die Sequenz der markierten Löcher über vier Durchläufe hinweg merken können. Um zu verhindern, dass automatisierte, nicht deklarative Gedächtnisleistungen zum Auffinden der markierten Löcher verwendet werden, wechselt die Sequenz der markierten Löcher täglich (siehe Tabelle 3, Seite 31).

Werden nicht alle drei markierten Löcher innerhalb eines Durchlaufes aufgesucht gilt dies als Fehler des deklaratives Gedächtnis, da die Assoziationsleistung zwischen Markierung und Futter nicht erbracht wird. Die nicht besuchten, markierten Löcher (Omission Errors) werden zu der Anzahl der falsch besuchten Löcher (Wrong Choices) gerechnet (siehe Tabelle 3, Seite 31).

Der wiederholte Besuch eines bereits erfolgreich aufgesuchten markierten Loches (Repeated Choices) wird als Fehlleistung des Arbeitsgedächtnisses gewertet. Um Wiederholungen innerhalb eines Durchlaufes zu vermeiden, müssen sich die Tiere an bereits erfolgreiche aufgesuchte markierte Löcher erinnern. Diese kurzzeitige Informationsspeicherung wird als Arbeitsgedächtnisprozess betrachtet (OLTON, 1989; GOLDMAN-RAKIC, 1996) (siehe Tabelle 3, Seite 31).

Zu den kognitiven Parametern zählt auch die Gesamtzeit (Time Trial) eines Durchlaufes. Sie errechnet sich aus der Zeit, die ein Tier braucht um alle drei Futterbelohnungen zu finden. Je schneller ein Tier den Durchlauf beendet, desto besser wird die Motivation und die Lernleistung eingeschätzt (siehe Tabelle 3, Seite 29).

Bewertung des Verhaltens im mHB-Test

Nagetiere versuchen aus natürlichem, angstbedingtem Verhalten heraus zunächst ungeschützte Gebiete eines unbekanntes Territoriums zu umgehen (BELZUNG und LE PAPE, 1994). In der experimentellen Versuchsarena vermeiden sie deshalb erst einmal den offenen Mittelpunkt und laufen dicht an den geschützten Wänden entlang (Thigmotaxis) (PRUT und BELZUNG, 2003). Nach und nach werden auch die ungeschützten, zentralen Flächen erkundet. Im mHB-Test repräsentiert das in der Mitte der Versuchsarena gelegene und leicht erhöhte mHB den ungeschützten, zentralen Mittelpunkt. Daher gelten folgende Parameter als Indikatoren für das Angstverhalten: die auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board), die Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board) und die Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries) (siehe Tabelle 3, Seite 31).

Exploration bei Nagetieren wird weiter in eine gerichtete und ungerichtet Form unterteilt. Das Manipulieren spezifischer Objekte gehört zur gerichteten Form der Exploration. Im mHB wird dementsprechend das Aufsuchen von Löchern als gerichtete Exploration gewertet (Number of Holes Visited). Als ungerichtete, generelle Exploration einer unbekanntes Umgebung wird das Aufrichten auf die Hinterbeine gewertet (Rearing) (siehe Tabelle 3, Seite 31).

Die Bewegungsaktivität der Tiere wird durch die Anzahl der Linienübertritte (Line Crossings) pro Durchlauf gemessen. Die Zeit, die ein Tier während des Durchlaufs bewegungslos verbringt (Immobility), kann sowohl auf Angst als auch auf ein reduziertes Allgemeinbefinden hindeuten. Gemessen wird der Prozentsatz der Immobilität an der gesamten, für den Durchlauf benötigten Zeit (siehe Tabelle 3, Seite 31).

Die physiologische Erregung bei Nagetiere zeigt sich durch das Reinigen des Felles (TO und (TO und BAGDY, 1999). Je aufgeregter die Tiere während eines Durchlaufes sind um so mehr Zeit verbringen sie mit dem Fellputzen. Im mHB wird daher die Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) während eines Durchlaufes erfasst.

2.3 Inhalationsanästhetikum Isofluran

2.3.1 Klinische Anwendung

Eine Allgemeinnarkose wird in drei Phasen eingeteilt: Einleitung, Aufrechterhaltung und Aufwachphase. Isofluran wird zur Einleitung und Aufrechterhaltung der Narkose verwendet. Zur Einleitung einer Narkose wird es gerne bei Patienten verwendet, die Angst vor dem Platzieren eines venösen Zuganges haben oder zum Beispiel in der Kinderanästhesie bei der Maskeneinleitung (EGER, 1998). Isofluran reizt die Atemwege und kann Hustenreiz auslösen, sodass es sich weniger gut zur Einleitung eignet als Sevofluran.

Eine Multicenter Studie verglich Isofluran mit Sevofluran bei Patienten mit mindestens einstündigen chirurgischen Eingriffen. Die Investigatoren fanden keine großen Unterschiede hinsichtlich Nebenwirkungen oder Komplikationen, nur die Aufwachphase war bei der Sevoflurannarkose kürzer (CAMPBELL et al., 1996). Übelkeit und Erbrechen sind häufige Nebenwirkungen einer Narkose und spielen besonders bei ambulanten Patienten eine wichtige Rolle, da sie Grund zur stationären Aufnahme werden können. Im Vergleich zu Propofol treten bei Inhalationsnarkosen häufiger Erbrechen und Übelkeit innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Operation auf (47,6% mit Inhalationsnarkose im Gegensatz zu 28,8% mit Propofol). Während der ersten zwei Stunden postoperativ sind Inhalationsanästhetika die Hauptauslöser für Erbrechen und Übelkeit. Die Häufigkeit lag bei Isofluran mit 19,8% etwas höher als bei Sevofluran mit 14,5% (APFEL et al., 2002).

Arzneimittel, die für die Narkose während einer Operation eingesetzt werden, können bis zu 13% des Arzneimittelsbudget eines Krankenhauses ausmachen. Da Inhalationsanästhetika die meistverwendeten Narkosemittel zur Aufrechterhaltung der Narkose sind, machen sie einen großen Teil der Kosten aus. Da Isofluran im Vergleich zu anderen Inhalationsanästhetika ein preisgünstigstes Mittel ist, wird es in der klinischen Anwendung weiterhin häufig eingesetzt werden (STACHNIK, 2007).

Isofluran ist somit ein sicheres und effektives Inhalationsanästhetikum zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Narkose bei invasiven Eingriffen.

2.3.2 Chemische und physikalische Eigenschaften

Isofluran, das Isomer zu Enfluran (1-Chlor-2,2,2-trifluor-methylether), ist ein halogeniertes Methylester mit fünf Fluorionen und einem Chlorion (FREY et al.,1996).

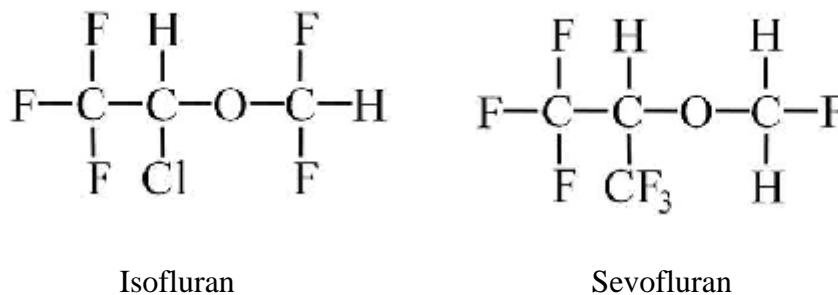


Abbildung 6: Strukturformel von Isofluran.

Bei Zimmertemperatur liegt Isofluran als flüssige, nicht entflammbare Substanz mit einem typischen etherartigen Geruch vor, der als stechend unangenehm empfunden wird. Das Molekulargewicht von Isofluran beträgt 184,5 Dalton und sein Siedepunkt liegt bei 48,5°C. Der Dampfdruck bei 20°C von Isofluran ist 238 mmHg (YOUNG und APFELBAUM, 1995).

2.3.3 Anästhetische Potenz

Anästhetische Potenz und Dosierung werden mithilfe der minimalen alveolären Konzentration, dem sogenannten MAC-Wert, bestimmt. So ist 1 MAC als die alveoläre Konzentration eines Anästhetikums definiert, bei der 50% der Patienten keine gezielten Abwehrbewegungen auf einem definierten Schmerzreiz zeigen. Die Messung der Konzentration des Narkosegases erfolgt am Ende der Expiration (LARSEN, 1990; MUIR, 1993; ALEF, 1999).

Mit den MAC-Werten können die verschiedenen Inhalationsanästhetika aufgrund ihrer anästhetischen Potenz verglichen werden. Je niedriger der MAC-Wert, desto größer ist

die anästhetische Potenz des Narkosegases (EGER, 2004). Mehrere Faktoren, wie Medikamente, Schwangerschaft, Säure-Base Haushalt, Hypo- oder Hyperthermie, können den MAC-Wert verändern (STACHNIK, 2006). Beachtet werden muss auch, dass verschiedene Faktoren den MAC-Wert beeinflussen, wie etwa die Tierspezies und innerhalb der Tierspezies die unterschiedlichen Stämme. Bei den verschiedenen Mäusestämmen unterscheiden sich die MAC-Wert für Isofluran um bis zu 39 % (SONNER et al., 1999).

2.3.4 Pharmakokinetik

2.3.4.1 An- und Abflutung

Eine Reihe von Faktoren beeinflusst die Pharmakokinetik eines Inhalationsanästhetikums. Die Blutlöslichkeit der Narkosegases, bezeichnet mit dem Blut/Gas-Verteilungskoeffizient, ist ein entscheidender Faktor für die Aufnahme des Narkosegases in den Organismus. Der Blut/Gas-Verteilungskoeffizient beschreibt in der Gleichgewichtsphase (steadystate) das Verhältnis der Konzentration des Narkosegases im Blut zur Konzentration in der Gasphase. Besitzt ein Gas eine hohe Affinität zum Blut, wird es einen hohen Blut/Gasverteilungskoeffizienten haben. Man benötigt eine größere Menge an Narkosegas bis eine gesättigte Blutkonzentration erreicht ist und es dauert länger bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat. Am Ende der Narkose muss dementsprechend mehr Gas ausgewaschen werden. Gase mit einem kleinem Blut/Gas-Verteilungskoeffizient fluten also rascher an und wieder ab.

Isofluran (EGER, 2004) besitzt einen Blut/Gasverteilungskoeffizienten von 0,69 (STRUM und EGER, 1987). Dieser Wert verändert sich mit zunehmenden Alter des Patienten (MALVIYA und LERMAN, 1990).

2.3.4.2 Metabolisierung

Da Isofluran sehr stabile physikalische und chemische Eigenschaften besitzt, wird es nur zu 0,17 % im Körper metabolisiert und deshalb fast vollständig wieder pulmonal abgeatmet (HOLADAY et al., 1975). Bei den Metaboliten handelt es sich um atoxische,

organische Trifluoressigsäure und anorganisches Fluor (YOUNG und APFELBAUM, 1995).

2.3.5 Pharmakodynamik

2.3.5.1 Wirkungen auf das Respirationssystem

Bei dem Inhalationsanästhetikum Isofluran tritt eine dosisabhängige Atemdepression auf (FEE und THOMPSON, 1997). Zudem kommt es zu einer Zunahme der Atemfrequenz bei vermindertem Atemvolumen, was einen Anstieg des $P_a\text{CO}_2$ zur Folge hat. Durch die Inhalationsnarkose bedingte Muskelrelaxierung verursacht eine Bronchodilatation (DIKMEN et al., 2003).

Isofluran reizt die Atemwege (HOLADAY und SMITH, 1981). Deshalb ist Isofluran im Gegensatz zu Sevofluran weniger gut zur raschen Einleitung der Narkose mittels Atemmaske geeignet (TERRIET et al., 2000).

2.3.5.2 Wirkungen auf das Herz-Kreislauf System

Isofluran wirkt vasodilatierend. Dadurch wird der periphere Gefäßwiderstand deutlich vermindert und ein Blutdruckabfall verursacht. Das Herzzeitvolumen bleibt allerdings in etwa gleich, weil trotz des leicht abnehmenden Schlagvolumens reflektiv die Herzfrequenz erhöht wird (ALEF und OECHTERING, 2003; ERHARDT et al., 2004). Isofluran wirkt zwar auf das Myokard negativ inotrop, allerdings ist die myokardiale Depression im Vergleich zu Halothan relativ gering (EGER, 1981; VIVIEN et al., 1997). Obwohl es den myokardialen Sauerstoffverbrauch und den koronaren Gefäßwiderstand senkt, bleibt die koronare Blutflussrate in etwa gleich (ERHARDT et al., 2004).

2.3.5.3 Wirkungen auf das Nervensystem

Isofluran hat grundsätzlich eine dosisabhängig depressive Wirkung auf das zentrale Nervensystem (ZNS) (EGER, 1981). Während der intrakraniellen Druck ansteigt, reduziert Isofluran den zerebralen Sauerstoffverbrauch sowie die elektrische Aktivität des

ZNS (NEWBERG et al., 1984); (SCHELLER et al., 1988); (SHICHINO et al., 1997). Sowohl die Einschlaf- als auch die Aufwachphase verlaufen bei den meisten Tierarten ohne Exzitationen (HENKE et al., 1996a).

Bei Untersuchungen der zerebralen Blutflussäquivalente (zerebraler Blutfluss/zerebrale metabolische Rate für Sauerstoff) während langandauernden Anästhesien mit Isofluran, Sevofluran und Halothan bei chirurgischen Patienten war unter allen drei volatilen Anästhetika die Blutflussäquivalente dosisabhängig erhöht. Sie konnte über Stunden konstant aufrechterhalten werden. Die Autoren folgerten daraus eine relativ verbesserte Sauerstoffversorgung des Gehirns während Anästhesie mit Isofluran, Sevofluran und Halothan (KURODA et al., 1996).

2.3.5.4 Neuroprotektion und Wirkung auf die Gedächtnisleistung

Mehrere Untersuchungen zeigen, dass Isofluran neuronale Schäden nach fokalen oder globalen cerebralen Ischämien reduzieren kann (WARNER et al., 1993; MIURA et al., 1998). Die Infarktgröße nach fokaler zerebralen Ischämie bei Isofluran anästhesierten Ratten war im Vergleich zu nicht anästhesierten Tieren signifikant kleiner (SOONTHONBRANT et al., 1999). Allerdings weisen neuere Daten darauf hin, dass der neuroprotektive Effekt möglicherweise nur von kurzer Dauer ist. So war der Einfluss von Isofluran auf eine fokale, cerebrale Ischämie, der 48 Stunden nach der Ischämie offensichtlich war, 2 Wochen nach der Ischämie völlig verschwunden (KAWAGUCHI et al., 2000; KAWAGUCHI et al., 2004).

Eine neuere Studie konnte bei Patienten zeigen, dass eine tiefe Isoflurannarkose mit besseren kognitiven Funktionen vier bis sechs Wochen postoperativ verknüpft war (FARAG et al., 2006). In dieser Studie wurde die Tiefe der Narkose mit Hilfe des Bispektral Index (BIS) überprüft. Der BIS ist eine verarbeitende Variable der Elektroenzephalographie (EEG), die dazu verwendet werden kann, um die Wirkung der Anästhetika zu überprüfen. Das EEG dient dabei als nichtinvasive kontinuierliche Methode zur Bestimmung der Hirnaktivität. Jedoch kann das Vorhandensein von Artefakten im EEG schwierig zu erkennen sein. Das BIS-Monitoring bedient sich deshalb einer fortgeschrittenen Signalerfassungs- und verarbeitungs-Technologie, die dabei hilft störende Artefakte herauszufiltern, die das EEG beeinflussen können. BIS Werte von 95 zeigen einen Wachzustand an, wobei Patienten in tiefer Narkose BIS Werte von 30 haben.

Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten der Studie wurden einer etwa zweistündigen abdominalen Operation (Hysterektomie, Laminektomie) unterzogen. Die Hälfte der Patienten erhielt eine flache Narkose (mittlerer BIS, 50.7), die andere Hälfte eine tiefe Narkose (mittlerer BIS, 38.7). In der prozentualen Verteilung bezüglich Alter, Geschlecht, Bildungsstand und Operationsdauer unterscheiden sich die beiden Gruppen nicht. Kognitive Tests (Processing-Speed-Index, Working-Memory-Index und Verbal-Memory-Index) werden sieben Tage vor der Operation, sieben Tage danach und vier bis sechs Wochen danach durchgeführt. Vier bis sechs Wochen postoperativ schnitten Patienten, die eine tiefe Narkose erhalten hatten, in Tests, die die Schnelligkeit der Informationsverarbeitung- und Verknüpfung prüfen, besser ab als Patienten mit einer flachen Narkose. In Bezug auf das Arbeitsgedächtnis, die Aufmerksamkeit oder Konzentrationsfähigkeit und das Erlernen sowie die Wiedergabe neuer Wörter konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden (FARAG et al., 2006). Eine Verbesserung der Gedächtnisleistung durch Isofluran konnte damit beim Menschen erstmals beschrieben werden. Nachteil dieser klinischen Studie sind jedoch die zusätzlichen Einflussfaktoren, wie die zu operierende Krankheit, das operative Trauma, postoperative Schmerzen oder der Krankenhausaufenthalt an sich. Diese können die Gedächtnisleistung beeinflussen (MOLLER et al., 1998). Deshalb soll in der vorliegenden Studie die Auswirkungen einer Isoflurannarkose ohne zusätzlichen operativen Eingriff auf Lernen und Gedächtnis bei Mäusen untersucht werden.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Zielvorstellung

In der vorliegenden Studie soll der alleinigen Effekt einer Inhalationsnarkose auf Lernen und Gedächtnis bei vier Monate alte Mäusen untersucht werden.

3.2 Material und Methodik

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß §8 des Deutschen Tierschutzgesetzes (TierschG i. d. F. vom 18.05.2006, BGB I S.1206, 1313, geändert durch Artikel 4 des Gesetzes vom 21.12.2006, BGB I S.3294) durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

3.2.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen werden an 48 männlichen C57 B16/J Mäusen (Charles River GmbH, Sulzberg) mit einem Alter von vier Monaten durchgeführt. Die Mäuse werden in einem vollklimatisierten Raum unter Standardbedingungen in Übereinstimmung mit den Richtlinien für Versuchstierhaltung (GV-SOLAS, 1988) gehalten. (Raumtemperatur $22 \pm 2^\circ \text{C}$; einer relativen Luftfeuchtigkeit von $60 \pm 5 \%$). Über eine Zeitautomatik wird ein 12–Stunden Rhythmus gewährleistet (01:00 – 13:00 Uhr Hellphase, 13 :00 – 01:00 Uhr Dunkelphase).

Die Tiere werden vor dem eigentlichen Versuchsbeginn in einem Zeitraum von drei Wochen zur Gewöhnung an die neue Umgebung einzeln in Standardkäfigen (Makrolon-Käfig, Typ II) gehalten. Ein Käfigwechsel findet zweimal die Woche, jeweils am selben Wochentag, statt. Als Einstreu dient entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin-Faser, Altromin GmbH, Lage-Lippe). Zur Beschäftigung und als Nestbaumaterial bekommen die Mäuse bei jedem Käfigwechsel eine Lage Zellstoff.

Die Mäuse erhalten Futterpellets (Altromin 1324, Altromin GmbH, Lage-Lippe) und täglich frisches Leitungswasser aus der Nippeltränke ad libitum.

3.2.2 Versuchsplan

In der Untersuchung soll das Verhalten von vier Monaten alten männlichen C57 BL6-Mäusen nach einer zweistündigen Narkose mit Isofluran mit einer Kontrollgruppe verglichen werden. Dabei werden zwei große Versuchsgruppen mit unterschiedlichem Testbeginn gebildet: 1d Gruppe (Testbeginn 1 Tag nach Narkose) und 7d Gruppe (Testbeginn 7 Tage nach der Narkose). Es ergibt sich folgende Gruppeneinteilung: 12 C57 BL6-Mäuse mit Isoflurannarkose und 12 C57 BL6-Mäuse ohne Narkose in der 1d Gruppe. 12 C57 BL6-Mäuse mit Isoflurannarkose und 12 C57 BL6-Mäuse ohne Narkose in der 7d Gruppe. Die Tiere werden auf 4 Testgruppen, jeweils 12 Tiere, randomisiert verteilt.

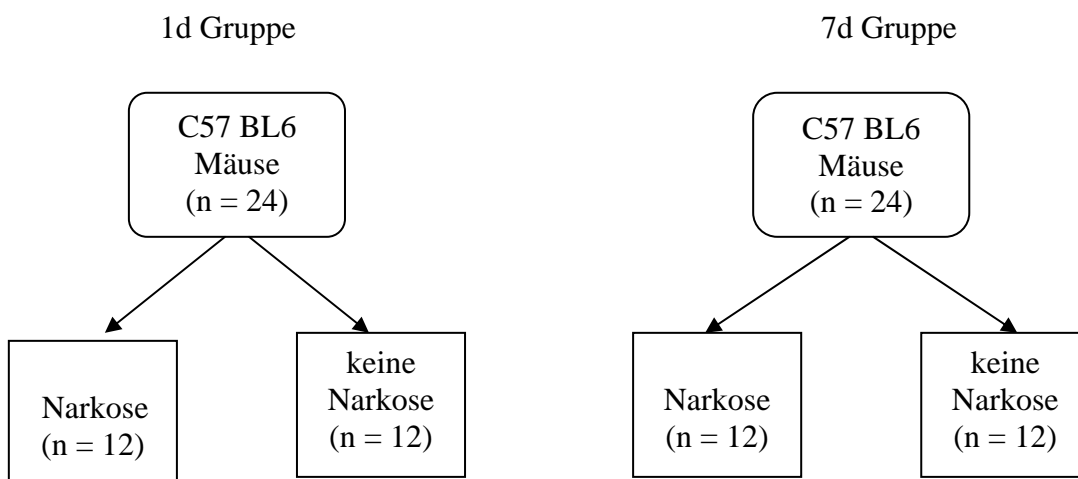


Abbildung 7: Gruppeneinteilung.

3.2.3 Narkose

Am Narkosetag werden alle Mäuse einer Versuchsgruppe aus dem Tierraum in das Narkoselabor gebracht. Jedes Tier wird in eine Narkosekammer ($FiO_2 = 0,4$; $T = 32^\circ C$) aus Plexiglas gesetzt (eigene Herstellung, siehe Abbildung 8;). In der Anästhesiegruppe ist die Kammer mit 2,5 Vol% Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden) vorgeflutet, um die Narkose einzuleiten.



Abbildung 8: Maus zur Einleitung der Narkose in der Narkosekammer.

Nach Verlust ihrer Stellreflexe werden die anästhesierten Mäuse aus der Kammer genommen. Die Sham-Narkosetiere werden nach drei Minuten zurück in ihren Käfig gesetzt. Die anästhesierten Tiere werden an eine Nasenkammer (eigene Herstellung, siehe Abbildung 9) angeschlossen. Dabei atmen die Mäuse spontan für zwei Stunden 1 MAC Isofluran (1,2-1,4 Vol %) in einem Luft-Sauerstoffgemisch ($FiO_2 = 0,5$). Die Nasenkammer ist über zwei gegenüberliegend Anschlüsse in ein Kreissystem integriert und wird so mit dem Isofluran-Luft-Sauerstoffgemisch (3 l/min) durchströmt. Zur Vorbeugung von pulmonalen Atelektasen wird ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 3 mm Hg eingestellt. Um die Augen vor Austrocknung zu schützen, bekommen alle Mäuse Augensalbe (Bepantene® Augen- und Nasensalbe, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen). Mit einer rektalen Temperatursonde wird die Körpertemperatur während der gesamten Narkosedauer permanent gemessen. Nach

dem Anlegen an die Kopfkammer wird hierzu die Sonde 1 cm tief in das Rektum eingeführt und mit einem Streifen Leukoplast (Leukoplast hospital, BSN medical GmbH & Co. Kg Hamburg, 1 cm breit) befestigt. Mit Hilfe einer Heizdecke wird die Körpertemperatur konstant zwischen 37,5 und 38°C gehalten. Zur Bestimmung der Atemfrequenz (Atemzüge pro Minute) werden die Thoraxbewegungen im Zeitraum einer Minute gezählt. Die permanente Messung der Herzfrequenz erfolgt mittels eines EKGs.

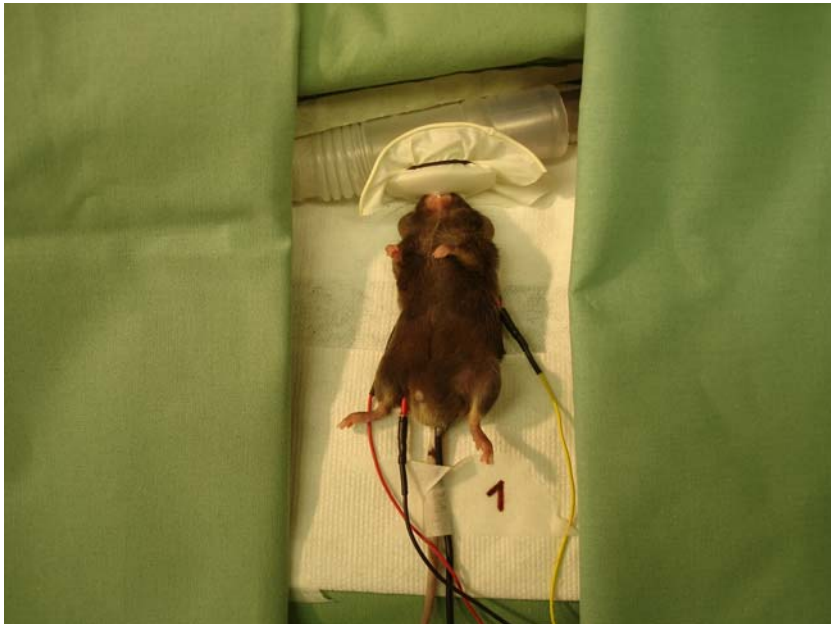


Abbildung 9: Maus während der Inhalationsnarkose an der Nasenkammer angeschlossen.

Zur Beendigung der Narkose kommen die Mäuse in eine Aufwachbox ($FiO_2 = 0,4$), in der sie 30 min nachbeobachtet werden. Mit heißen Wasser gefüllte Einmalhandschuhe schützen sie dabei vor Auskühlung. Sobald sie wieder laufen und sich orientieren können, werden sie in ihre Käfige zurückgesetzt und in den Tierraum zurückgebracht.

3.2.4 Das modifizierte Hole-Board

Die kognitive Funktion und das Verhalten der Mäuse wird in der vorliegenden Studie mit dem mHB-Test untersucht. Die Untersuchungen werden von einem gegenüber den unterschiedlichen Versuchsgruppen geblindeten Untersucher durchgeführt.

3.2.4.1 Der Aufbau des Hole-Boards

Das speziell für Mäuse entwickelte mHB besteht aus undurchsichtigem, grauen PVC (35 x 18 x 1 cm; eigene Herstellung, undurchsichtiges graues PVC, Weiss, München). Auf diesem Brett sind parallel in 2 Reihen jeweils fünf Löcher mit einer Tiefe von 0,3 cm eingelassen. Der äußerer Ring beträgt 3,2 cm Durchmesser und der Innere 2,1 cm. Der Außenring ist so angepasst, dass dort die Zylinder aufgesteckt werden können. Die Zylinder bestehen ebenfalls aus grauem PVC. Sie sind 3,4 cm hoch, ihr innerer Durchmesser beträgt 2,8 cm, der äußere Durchmesser 3,2 cm. Sie haben eine Wandstärke von 0,2 cm. Unter den Zylinder auf dem Boden der 10 Löcher wird jeweils ein Mandelstück (ca. 0,05g) gelegt. Über dem Mandelstück wird ein der Lochgröße entsprechendes feinmaschiges Gitter (Durchmesser: 3,0 cm; Maschengröße: 0,2 cm) gelegt, welches durch das Aufstecken der Zylinder am Platz gehalten wird. Dieses Gitter verhindert, dass die Mäuse die Mandelstücke erreichen können. Drei Zylinder werden außen mit einem weißen Leukoplast Klebestreifen (Leukoplast hospital, BSN medical GmbH & Co. Kg Hamburg, 1 cm breit) beklebt. Dieser dient als optische Markierung für die Mäuse. So gekennzeichnete Zylinder werden jeweils mit einem Mandelstück oberhalb des Gitters versehen. Die Mandelstücke dienen als Futterbelohnung, welche die Tiere ohne Probleme entnehmen können. Die Zylinder mit der Markierung werden täglich nach dem Zufallsprinzip umgesteckt, so dass sich unterschiedliche Lochsequenzen für die einzelnen Versuchstage ergeben. (siehe Tabelle 2). Das Hole- Board liegt am Boden einer aus grauem PVC bestehender Box, welche jeweils 52 cm lang, hoch und breit ist. Diese Box bildet die Versuchsarena für die Mäuse. Der Boden der Versuchsarena ist mit weißem Klebeband (Leukoplast hospital, BSN medical GmbH & Co. Kg Hamburg, 1 cm breit) in 9 gleichgroße Rechtecke (16 x 16 cm) unterteilt. Das mHB selbst wird genau in die Mitte der Versuchsarena gelegt und bildet somit den zentralen ungeschützten Bereich eines offenes Feldes (siehe Abbildung 9).

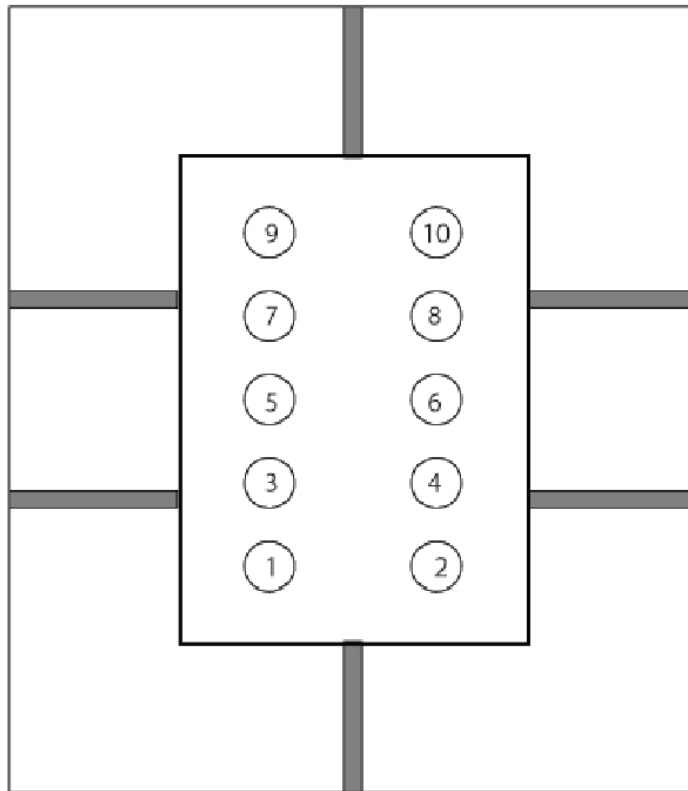


Abbildung 10: Aufbau des modifizierten Hole-Board für Mäuse.

3.2.4.2 Die Futterbelohnung

Als Ansporn und Motivation den Test zu absolvieren werden Futterbelohnungen verwendet. Bei den Mäusen handelt es sich um gehackte Mandeln. Um die Tiere mit dem Futter vertraut zu machen, werden ihnen an vier Tagen vor dem Narkosetag täglich etwa 3 Stück Mandeln angeboten. Am Narkosetag bekommen sie keine Mandeln. In jedem Loch des mHB befindet sich am Boden eine gehackte Mandel (0,05g), die durch das Gitter vor dem Zugriff der Mäuse geschützt ist. In den mit weißen Klebestreifen markierten Zylinder wird oberhalb des Gitters eine zusätzliche Mandel gelegt, die die Mäuse entnehmen können und als Belohnung für das Auffinden eines markierten Zylinder dient. Da sich die Mäuse im mHB rein visuell-räumlich orientieren sollen, werden alle Zylinder vor jedem neuen Durchlauf mit einer Vanillearomalösung (0,02 % in Wasser gelöst; Micro-Plus, Stadtoldendorf, Germany) ausgestrichen.

Tabelle 2: Lochkombinationen an den verschiedenen Testtagen

Versuchstag	Lochnummer
1. Tag	2 / 7 / 8
2. Tag	1 / 4 / 9
3. Tag	3 / 5 / 8
4. Tag	1 / 4 / 10
5. Tag	2 / 5 / 9
6. Tag	3 / 6 / 9
7. Tag	4 / 8 / 10
8. Tag	2 / 5 / 8

3.2.4.3 Das Hole- Board- Protokoll

Das Verhalten der Tiere im Test wird mit einem speziellen Observationsprogramm aufgezeichnet (The Observer ®, Version 5.0., Noldus Information Technology, Niederlande). Dies erstellt dann das Hole- Board- Protokoll.

Verschiedene Tastenbefehle codieren mehrere definierte Verhaltensparameter. Sobald die Maus in eine Ecke der Versuchsarena gesetzt wird, startet der Untersucher das Programm. Dann tippt er die verschiedenen Aktionen der Maus über eine spezielle geräuscharme Tastatur (Foldable Keyboard, Fold-2000, Taiwan) blind in den Computer ein. Das Computerprogramm unterscheidet zwischen „Aktionen“ (z.B. Absetzen von Urin), bei denen die Anzahl aufgezeichnet wird, und „Phasen“ (z.B. auf dem Hole- Board verbrachte Zeit), wobei der Zeitraum berechnet wird.

3.2.4.4 Zeitlicher Versuchsablauf

Akklimatisierungsphase

Nach der Ankunft der Tiere vom Züchter im Tierraum haben sie eine Gewöhnungsphase von 21 Tagen, um sich mit den neuen Haltungsbedingungen (Raumklima, Tag-

Nachrhythmus) vertraut zu machen. Der Verhaltenstest findet im selben Raum statt, indem die Tiere auch untergebracht sind.

Testphase

Die Dunkelphase beginnt um 13:00 Uhr. Da alle Tests in der frühen Aktivitätsphase der Mäuse stattfinden, startet der tägliche Versuchsablauf um 14:00 Uhr, also eine Stunde nach Beginn der Dunkelphase. Dies bedeutet, dass bei Rotlicht getestet wird, das von den Mäusen nicht wahrgenommen werden kann. Die tägliche Versuchsdurchführung folgt einem festen Schema. Zunächst wird das mHB für den Verhaltenstest vorbereitet, indem die markierten Zylinder mit Mandeln bestückt und nach der festgelegten Lochkombination aufgesteckt werden. Alle Zylinder werden mit der Vanillearomalösung ausgewischt und das mHB in die Mitte der Versuchsarena platziert. Dann wird eine Maus mit der linken Hand an der Schwanzbasis aus dem Käfig herausgeholt und in eine festgelegte Ecke der Versuchsarena gesetzt und mit der rechten Hand durch Drücken der Enter-Taste das Computerprogramm gestartet. Jeden Testtag beginnt eine andere Maus die Versuchsreihe, aber innerhalb eines Tages bleibt die Reihenfolge der Mäuse gleich. Jede Maus muss vier Durchläufe mit einer maximalen Dauer von 5 Minuten absolvieren. Findet die Maus alle drei Futterbelohnungen beendet dies den Test früher. Vor jeder neuen Maus wird die Versuchsarena mit mHB vor Verschmutzung mit Zellstoff oder nach Bedarf mit einem feuchten Tuch gereinigt und mit Mandeln neu belegt. Nach jedem Durchlauf werden die Zylinder erneut mit Vanillearomalösung ausgewischt.

Nach Beendigung aller Durchläufe wird das Hole Board aus der Versuchsarena herausgenommen, gereinigt, desinfiziert und für den nächsten Versuchstag vorbereitet.

Die Tiere werden an acht aufeinander folgenden Tagen mit jeweils 4 Durchläufen maximal 5 Minuten nach diesem Schema getestet.

Da die Tiere sehr empfindlich auf veränderte Umwelteinflüsse reagieren, ist es für den Erfolg des Verhaltenstest wichtig, dass die standardisierten Versuchsbedingungen eingehalten werden. So müssen die Tests immer zur gleichen Zeit und von derselben Person unter gleichen Umweltbedingungen durchgeführt werden.

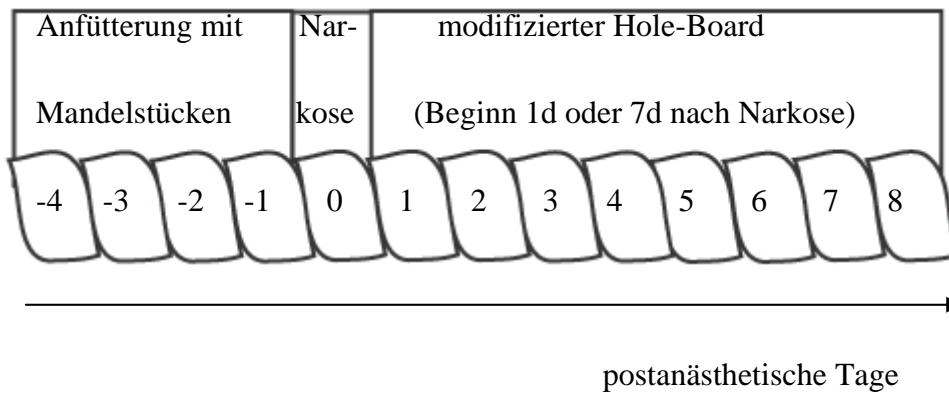


Abbildung 11: zeitlicher Versuchsplan.

3.2.4.5 Untersuchte Parameter

Im mHB können während eines Durchlaufes unterschiedliche Verhaltens- und Gedächtnisparameter erfasst werden.

Gedächtnisparameter

Lernleistung und Motivation werden anhand der *Gesamtzeit eines Durchlaufes* (Time Trial) gemessen. Ein Durchlauf ist beendet, wenn die Maus alle Futterbelohnungen gefressen hat oder die Maximalzeit von 300 Sekunden erreicht ist.

Die Anzahl der *falsch besuchten Löcher* (Wrong choices) und die der *nicht besuchten, aber markierten Löcher* (Omission Errors) werden zusammengezählt und ergeben die *Anzahl der Gesamtfehler* (Wrong choices Total). Sie werden dem deklarativen Gedächtnis zugeordnet.

Das wiederholte Aufsuchen eines markierten Loches wird als *Wiederholer* (Repeated choice) definiert und dem Arbeitsgedächtnis zugeteilt.

Verhaltensparameter

Neben Gedächtnisparametern können mit dem modifizierten Hole Board auch Verhaltensänderungen beobachtet werden, die geeignet sind, kognitive Parameter zu beeinflussen. Motorik, Lokomotion, Stress und Angst können an der Art und Weise, wie sie die Tiere sich im Untersuchungsfeld bewegen, beurteilt werden.

Angstverhalten wird im Hole- Board- Test durch *Anzahl der Board Besuche* (Number of Board Entries), *Latenz bis zum ersten Board Besuch* (Latency to First Entry on Board) und auf dem *Board verbrachten Gesamtzeit* (Time on Board) definiert. Ängstliche Mäuse verharren vermehrt am Rande des Feldes unbeweglich, sodass die Dauer der *Immobilität* (Immobility) ebenfalls die Angst eines Tieres widerspiegelt.

Beim Erkundungsverhalten unterscheidet man zwischen gerichteter und ungerichteter Exploration. Zur gerichteten Exploration zählen die *Latenz des zuerst besuchten Loches* (Latency First Hole Visit) und die *Anzahl aller besuchten Löcher* (Number of Hole Visit). Hierzu zählen die korrekt und falsch besuchten Löcher. Das *Aufrichten auf die Hinterbeine* wird als (Rearing) bezeichnet und zum ungerichteten Explorationsverhalten gezählt.

Gestresste Tiere setzen während eines Durchlaufes häufiger *Kot* (Boli) und *Urin* ab und verbringen mehr Zeit mit der *Fellpflege* (Grooming). Diese beiden Parameter geben die Erregung des Tieres wider.

Die lokomotorische Aktivität wird durch die *Anzahl der Linienüberschreitungen* (Line Crossings) definiert.

Tabelle 3: Im modifizierten Hole-Board-Test auswertbare Parameter

<i>Hole-Board Testparameter</i>		
<i>Kognitive Parameter</i>		
<i>Gedächtnissystem</i>	<i>Korrelierendes Gehirngebiet</i>	<i>Verhalten im Hole-Board-Test</i>
deklaratives Gedächtnis	Hippokampus	Besuch eines nicht markierten Loches (= Wrong Choice, inklusive Omission Error)
deklaratives Gedächtnis		markiertes Loch wird nicht besucht (= Omission Error)
Arbeitsgedächtnis	präfrontaler Kortex	wiederholter Besuch eines markierten Loches (= Repeated Choice)
Lernleistung (Motivation)		Zeit des gesamten Versuchsdurchlaufs (= Time Trial)
<i>Verhaltensparameter</i>		
<i>Verhaltenssystem</i>	<i>Verhalten im Hole-Board-Test</i>	
angstbezogenes Verhalten	% der Gesamtzeit, die auf dem Board verbracht wird (= Time on Board) Zeit, bis zum ersten Board Besuch (= Latency first entry on board) Anzahl, wie oft das Board betreten wurde (= Number of Board Entries)	
Angst und Allgemeinbefinden	% der Gesamtzeit, die das Tier unbeweglich auf einer Stelle verharrt (= Immobility)	
Exploration (gerichtet) (ungerichtet)	Anzahl der besuchten Löcher (= Number of Holes Visited) Anzahl der Männchen (= Rearings)	
Erregung	% der Gesamtzeit, die zum Putzen benutzt wird (= Grooming)	
Lokomotion	Linienüberschreitungen (= Line Crossings)	

3.2.5 Statistik

Die kognitiven und Verhaltensparameter werden mit einer Zweifach-ANOVA analysiert. Die Analyse wird mit den Zwischensubjektfaktoren Anästhesie und Gruppe und dem Innersubjektfaktor Zeit durchgeführt und deren Interaktionen untersucht (Zeit x Anästhesie, Zeit x Gruppe, Anästhesie x Gruppe, Zeit x Anästhesie x Gruppe). Dieses Verfahren ist gewählt worden, weil besonders die Veränderungen zwischen den Gruppen im Verlauf der Zeit interessieren. Darüber hinaus wurden die Ergebnisse der acht Beobachtungstage zusammengefasst und gemittelt, um die Ergebnisse darzustellen posthoc. Die Analyse wird mit den Zwischensubjektfaktoren Anästhesie und Gruppe durchgeführt. Signifikanzen werden auf $p < 0,05$ festgelegt.

Alle Variablen werden als Mittelwerte (MW) \pm Standardfehler (SEM) präsentiert.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Parameter des modifizierten Hole-Board-Test

3.3.1.1 Kognitive Parameter

Gesamtzeit (Time Trial), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices), wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices) und nicht besuchte, markierte Löcher (Omission Errors) gelten im modifizierten mHB-Test als Parameter für kognitive Leistungen. In folgenden Tabellen sind die aus vier Testdurchläufen pro Untersuchungstag und Tiergruppe berechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) dargestellt.

Tabelle 4: Kognitive Parameter: Gesamtzeit (Time Trial), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices), wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices), Auslassfehler (Omission Errors)

	Tag	Isofluran _{1d}	Kontrolle _{1d}	Tag	Isofluran _{7d}	Kontrolle _{7d}
Gesamtzeit (Time Trial)	01 bis 02	265 ± 9	294 ± 3	07 bis 08	280 ± 9	283 ± 7
	03 bis 04	215 ± 18	252 ± 15	09 bis 10	247 ± 17	246 ± 14
	05 bis 06	130 ± 18	195 ± 25	11 bis 12	187 ± 22	178 ± 18
	07 bis 08	88 ± 13	150 ± 25	13 bis 14	137 ± 21	143 ± 21
	01 bis 08	175 ± 13	223 ± 16	07 bis 14	213 ± 14	212 ± 13
Falsch besuchte Löcher (Wrong choices)	01 bis 02	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,3	07 bis 08	2,9 ± 0,5	2,8 ± 0,4
	03 bis 04	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,4	09 bis 10	4,6 ± 0,5	4,4 ± 0,4
	05 bis 06	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,2	11 bis 12	3,9 ± 0,5	3,6 ± 0,3
	07 bis 08	0,8 ± 0,2	1,5 ± 0,3	13 bis 14	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,3
	01 bis 08	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,2	07 bis 14	3,6 ± 0,4	3,4 ± 0,3
Wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices)	01 bis 02	0,7 ± 0,2	0,5 ± 0,1	07 bis 08	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1
	03 bis 04	1,3 ± 0,2	0,9 ± 0,2	09 bis 10	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,0
	05 bis 06	1,2 ± 0,1	1,0 ± 0,2	11 bis 12	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,1
	07 bis 08	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	13 bis 14	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1
	01 bis 08	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,1	07 bis 14	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,0
Auslass- fehler (Omission Errors)	01 bis 02	1,6 ± 0,2	2,2 ± 0,2	07 bis 08	1,7 ± 0,2	1,6 ± 0,2
	03 bis 04	0,7 ± 0,2	1,5 ± 0,3	09 bis 10	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2
	05 bis 06	0,2 ± 0,1	0,8 ± 0,3	11 bis 12	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
	07 bis 08	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,2	13 bis 14	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
	01 bis 08	0,6 ± 0,1	1,2 ± 0,2	07 bis 14	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1

Mittelwerte (MW) und Standardfehler (±SEM) der kognitiven Parameter: Gesamtzeit (TimeTrial(s)), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)), wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices (Anzahl pro Durchlauf)) und Auslassfehler(Omission Errors (Anzahl pro Durchlauf)).

Kognitive Leistungsfähigkeit

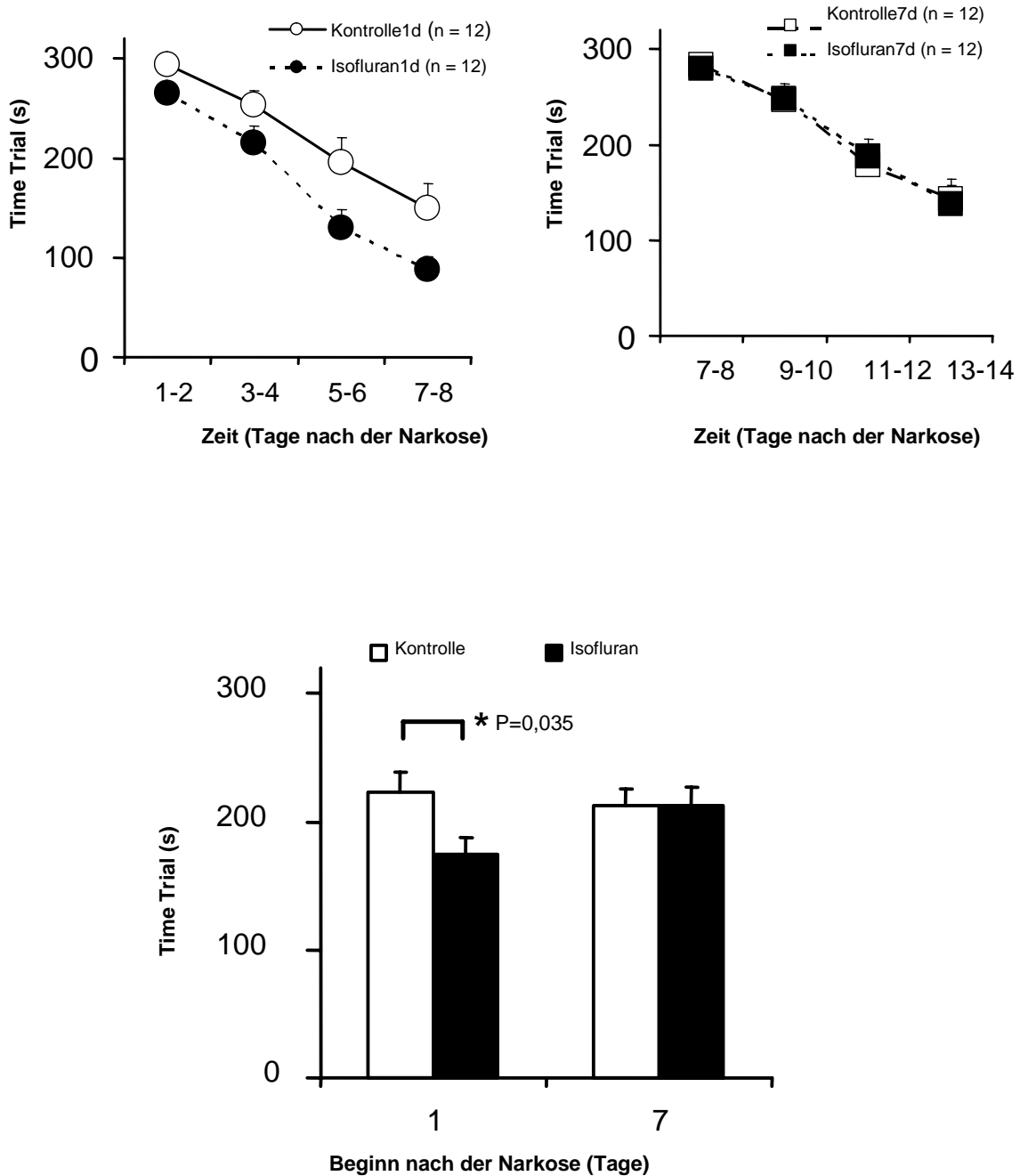


Abbildung 12: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Gesamtzeit eines Durchlaufes (Time Trial (s)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Gesamtzeit des Durchlaufes (Time Trial) verringert sich in allen vier Gruppen (Zeit: $p < 0.001$). Über den gesamten Zeitraum betrachtet benötigen die Isoflurantiere in der 1d Gruppe signifikant weniger Zeit zum Beenden des Durchlaufs als die Kontrolltiere (Anästhesie: $p = 0,035$) (siehe Abbildung 12).

Deklaratives Gedächtnis

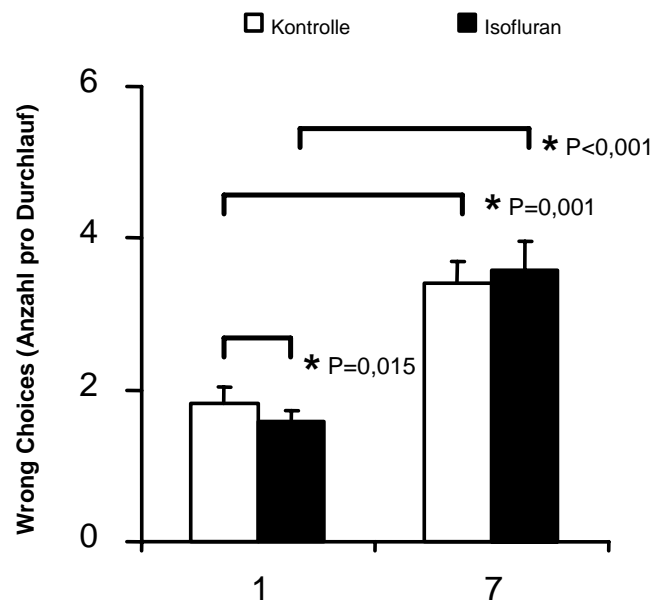
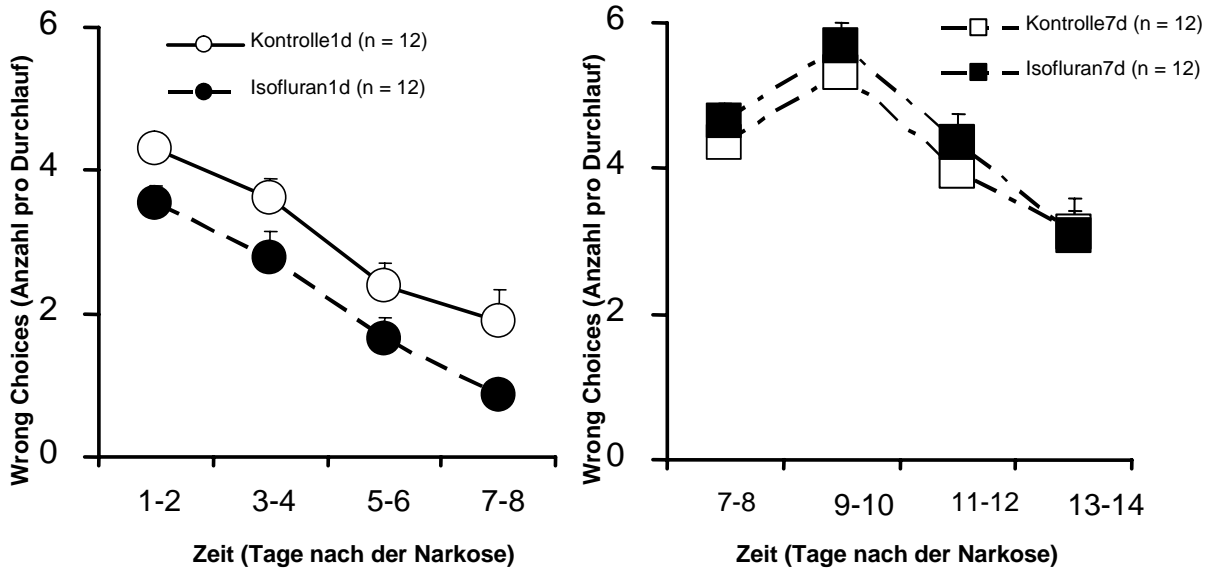


Abbildung 13: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl falsch besuchter Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Anzahl falsch besuchter und nicht besuchter Löcher (Wrong Choices) nimmt in der 1d-Gruppe vom Beginn bis zum Ende der mHB-Aufzeichnung hin ab (Zeit: $p < 0,001$). In der 7d-Gruppe, sowohl bei den anästhesierten Tieren als auch bei den Kontrolltieren, kommt es während den Tagen neun bis zehn zu einem Anstieg der Fehler, danach nehmen die Fehler kontinuierlich ab (Zeit: $p < 0,001$). Die Werte der Iso 1d-Gruppe liegen während des gesamten Zeitverlaufes signifikant unter den Werten der Kontrollgruppe (Anästhesie: $p = 0,015$). Bei der 7d-Gruppe ist kein Unterschied zwischen der Narkose- und Kontrollgruppe zu erkennen.

Über den gesamten Zeitraum gesehen machen die nicht-anästhesierten Tiere der 1d-Gruppe im Vergleich zu den nicht-anästhesierten Tieren der 7d-Gruppe signifikant weniger Fehler ($p = 0,001$). Auch die anästhesierten Mäuse der 1d-Gruppe machen signifikant weniger Fehler verglichen mit den anästhesierten Mäusen der 7d-Gruppe über den gesamten Zeitraum betrachtet ($p < 0,001$) (siehe Abbildung 13).

Arbeitsgedächtnis

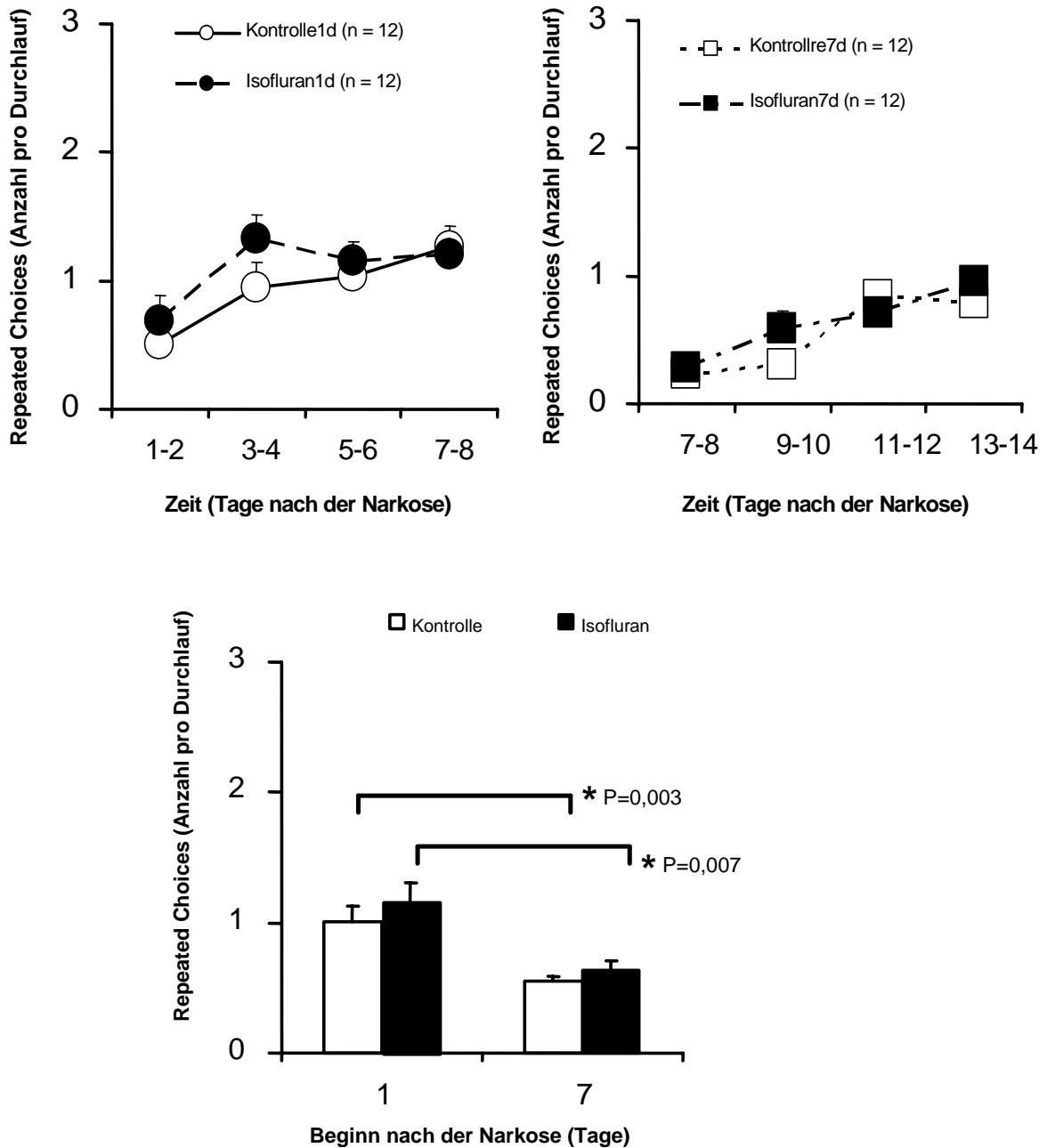


Abbildung 14: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices) erhöht sich in allen vier Gruppen (1d, Zeit: $p = 0,004$; 7d, Zeit: $p < 0,001$). Es ist kein signifikanter Unterschied zwischen den anästhesierten Tieren und der jeweiligen Kontrollgruppe feststellbar. Über den gesamten Zeitraum betrachtet besuchen die Tiere der 1d-Gruppe mehr Löcher wiederholt, wenn sie entweder nicht-anästhesiert oder anästhesiert wurden, verglichen zu den nicht-anästhesierten ($p = 0,003$) bzw. den anästhesierten Mäusen ($p = 0,007$) der 7d-Gruppe (siehe Abbildung 14).

Deklaratives Gedächtnis

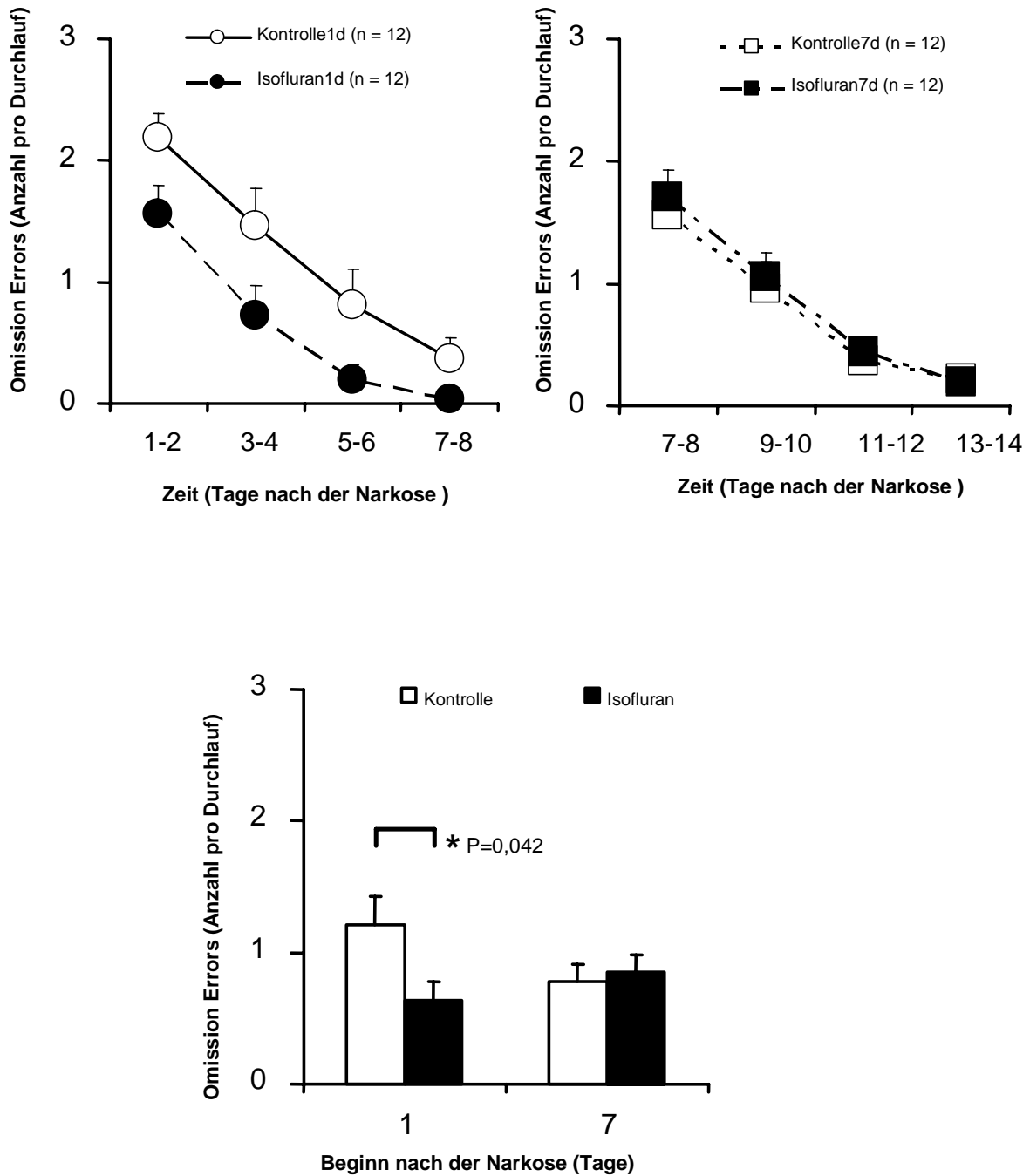


Abbildung 15: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl nicht besuchter Löcher (Omission Errors (Anzahl pro Durchlauf)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Zahl der nicht besuchten, obwohl markierten Löcher allein (Omission Errors) nimmt über den gesamten Zeitverlauf hinweg bei allen vier Gruppen kontinuierlich ab (Zeit: $p < 0,001$). Die anästhesierten Tiere der 1d-Gruppe machen während der gesamten Lernphase deutlich weniger Fehler als die Kontrolltiere (Anästhesie: $p = 0,042$). Bei der 7d-Gruppe ist kein Unterschied zwischen den Tieren erkennbar (siehe Abbildung 15).

3.3.1.2 Verhaltensparameter

Angstverhalten

Im mHB geben mehrere Parameter Auskunft über das Angstverhalten. Dazu gehören die auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board), die Latenz bis zum ersten mHB Besuch (Latency First Entry on Board) und die Anzahl, wie oft das mHB pro Durchlauf besucht wird (Number of Board Entries). Die für jeden Parameter errechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) sind in folgender Tabelle einzeln aufgeschlüsselt. Die Abbildungen zeigen grafische Darstellungen aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM).

Tabelle 5: Verhaltensparameter für Angstverhalten: auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board), Latenz bis zum ersten mHB (Latency First Entry on Board), Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries)

	Tag	Isofluran _{1d}	Kontrolle _{1d}	Tag	Isofluran _{7d}	Kontrolle _{7d}
Gesamtzeit auf dem mHB (Time on Board)	01 bis 02	23 ± 2	24 ± 2	07 bis 08	24 ± 3	22 ± 2
	03 bis 04	33 ± 4	26 ± 4	09 bis 10	29 ± 3	27 ± 3
	05 bis 06	42 ± 4	32 ± 5	11 bis 12	34 ± 2	32 ± 2
	07 bis 08	48 ± 5	38 ± 5	13 bis 14	35 ± 1	32 ± 2
	01 bis 08	36 ± 4	30 ± 4	07 bis 14	30 ± 2	28 ± 2
Erster mHB-Besuch (Latency First Entry on Board)	01 bis 02	40 ± 8	36 ± 9	07 bis 08	48 ± 11	52 ± 11
	03 bis 04	22 ± 6	37 ± 11	09 bis 10	37 ± 8	38 ± 6
	05 bis 06	15 ± 3	36 ± 12	11 bis 12	17 ± 4	21 ± 3
	07 bis 08	11 ± 3	27 ± 9	13 bis 14	10 ± 2	14 ± 2
	01 bis 08	22 ± 4	34 ± 9	07 bis 14	28 ± 6	31 ± 5
Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries)	01 bis 02	11 ± 1	13 ± 1	07 bis 08	12 ± 1	11 ± 1
	03 bis 04	9 ± 1	10 ± 1	09 bis 10	10 ± 1	9 ± 1
	05 bis 06	7 ± 1	7 ± 1	11 bis 12	9 ± 1	8 ± 1
	07 bis 08	5 ± 1	7 ± 1	13 bis 14	7 ± 1	8 ± 2
	01 bis 08	8 ± 0	9 ± 1	07 bis 14	9 ± 1	9 ± 1

Mittelwerte (MW) und Standardfehler (±SEM) des Verhaltensparameters für Angstverhalten: auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board (% TT)), Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board (s)), Anzahl der mHB-Besuche (Board Entries (Anzahl pro Durchlauf))

Angstverhalten

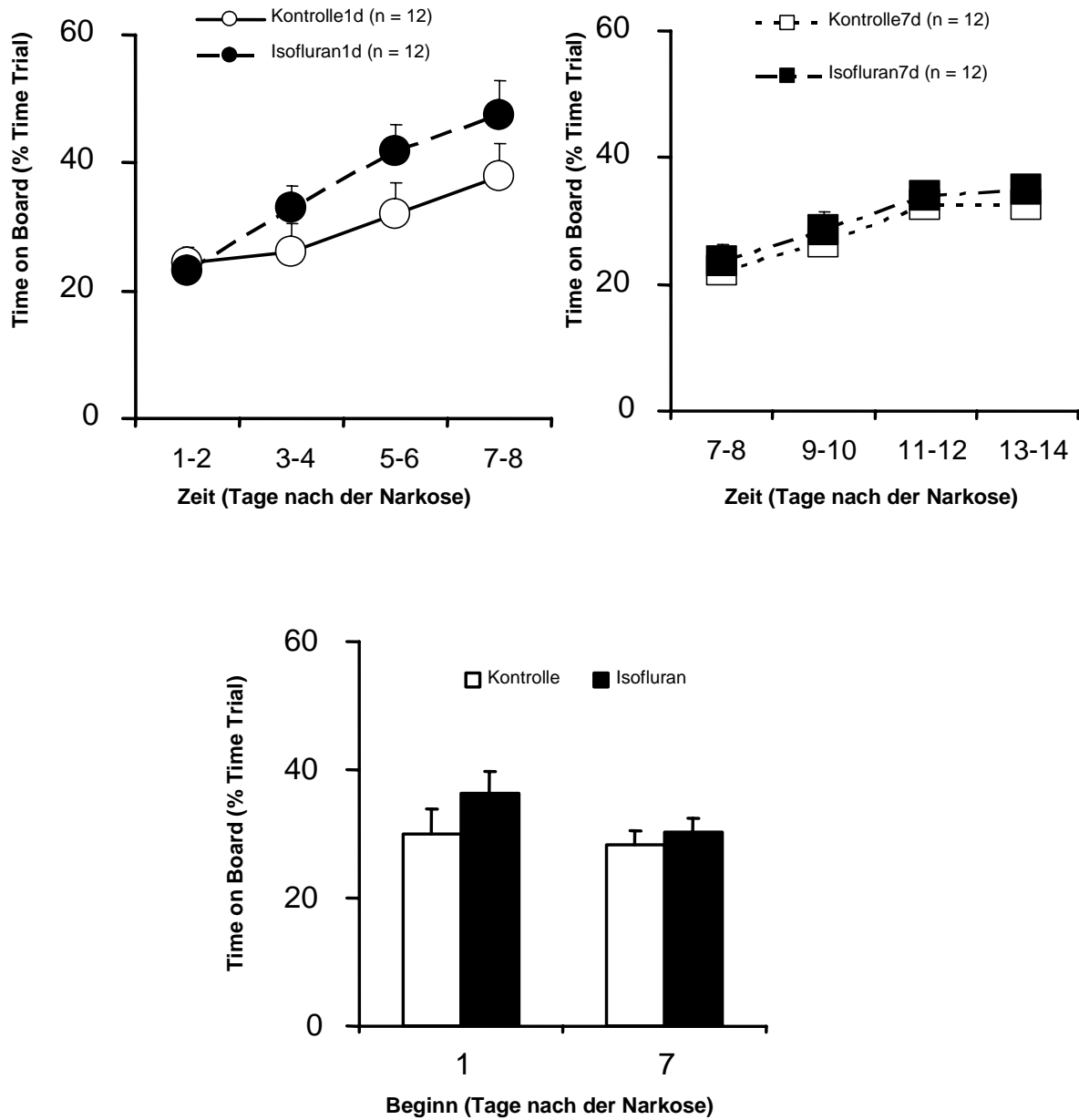


Abbildung 16: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der auf dem Board verbrachten Gesamtzeit (Time on Board (% Time Trial)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Im Laufe der Aufzeichnungsphase verbringen alle Tiere zunehmend mehr Zeit auf dem Board (Zeit: $p < 0,001$). Die Mittelwerte der narkotisierten Tiere liegen nicht signifikant über denen der nicht anästhesierten Mäuse. Über den gesamten Zeitraum betrachtet, halten sich die anästhesierten Tiere nicht signifikant länger auf dem mHB auf, als die Kontrolltiere (siehe Abbildung 16).

Angstverhalten

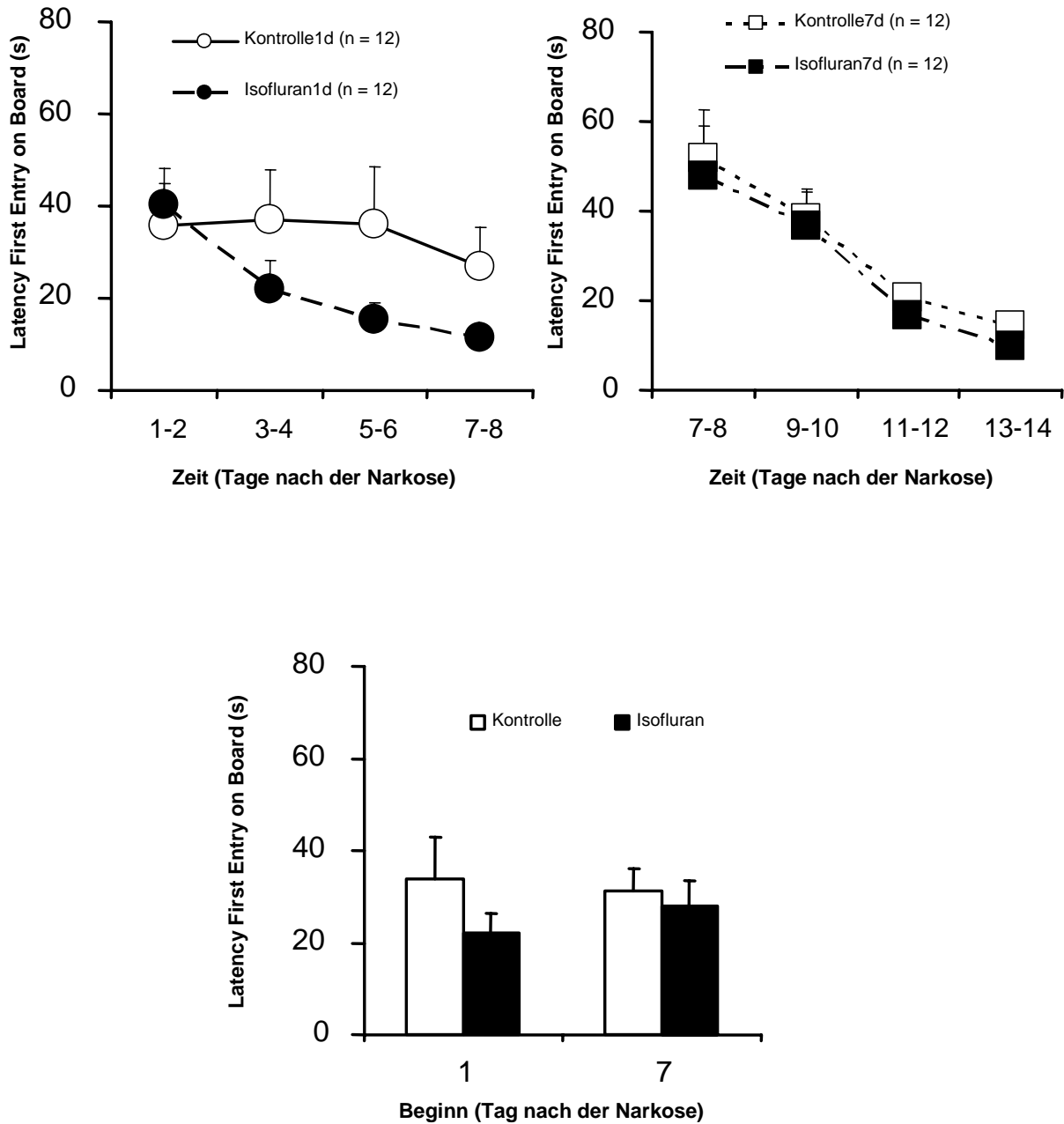


Abbildung 17: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board (s)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Betrachtet man die Mittelwerte der Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board) kann man erkennen, dass die Mäuse der 1d-Gruppe zu Beginn der Testphase das Board deutlich später zum ersten Mal betreten als zum Versuchsende (Zeit: $p = 0,014$). Die Tiere der 7d-Gruppe haben einen deutlichen höheren Ausgangswert, der aber zum Ende der Lernphase annähernd parallel zu den Werten der 1d-Gruppe verläuft (Zeit: $p < 0,001$). Über den gesamten Versuchszeitraum betrachtet, gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den anästhesierten Tieren und den Kontrolltieren im Hinblick auf die Latenz bis zum mHB-Besuch (siehe Abbildung 17).

Angstverhalten

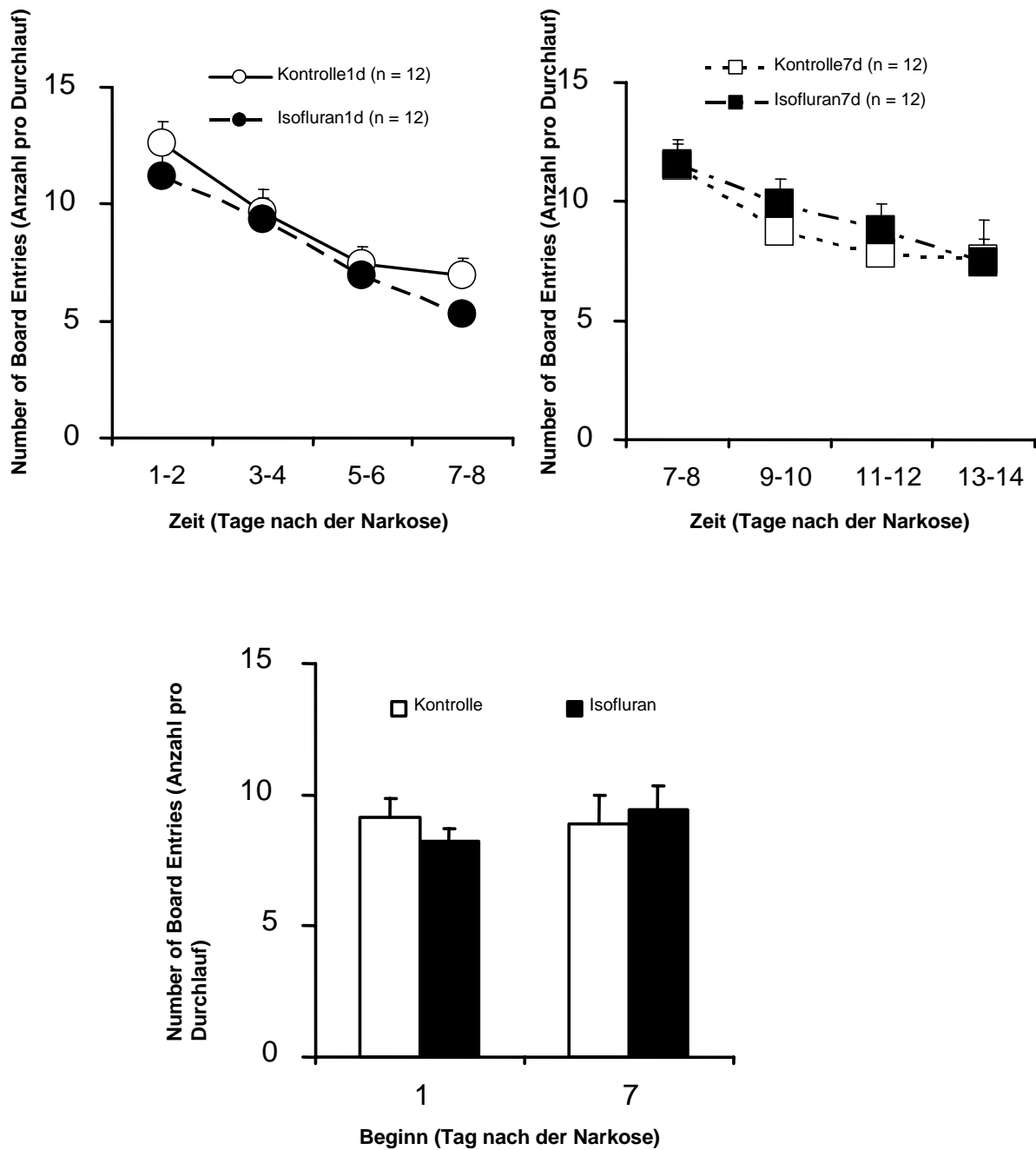


Abbildung 18: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries (Anzahl pro Durchlauf)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries) sinken in allen vier Gruppen kontinuierlich ab (Zeit: $p < 0,001$). Die Werte der 1d und 7d-Gruppe unterscheiden sich nicht signifikant. Über den gesamten Beobachtungszeitraum gesehen, liegen die Anzahl der besuchten Löcher (Number of Board Entries) der anästhesierten Tiere nicht signifikant über den Werten der Kontrolltiere. Insgesamt suchen die Tiere der 7d-Gruppen nicht signifikant mehr Löcher auf als die Tiere, die den Test schon einen Tag nach der Narkose beginnen (siehe Abbildung 18).

Angst und Allgemeinbefinden

Als Indikator für diese Verhaltensweisen gilt die Gesamtzeit der Immobilitätsphase (Immobility), die im mHB-Test während der Lernphase dokumentiert wird. Sie wird in Prozent der für den Durchlauf benötigten Gesamtzeit angegeben. Die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) sind in folgender Tabelle zu ersehen und die Abbildungen zeigen eine grafische Darstellung aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (\pm SEM).

Tabelle 6: Verhaltensparameter für Angst und Allgemeinbefinden: Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility)

	Tag	Isofluran _{1d}	Kontrolle _{1d}	Tag	Isofluran _{7d}	Kontrolle _{7d}
Immobilität (Immobility)	01 bis 02	0 \pm 0	0 \pm 0	07 bis 08	0 \pm 0	0 \pm 0
	03 bis 04	0 \pm 0	0 \pm 0	09 bis 10	0 \pm 0	0 \pm 0
	05 bis 06	0 \pm 0	0 \pm 0	11 bis 12	0 \pm 0	0 \pm 0
	07 bis 08	0 \pm 0	0 \pm 0	13 bis 14	0 \pm 0	0 \pm 0
	01 bis 08	0 \pm 0	0 \pm 0	07 bis 14	0 \pm 0	0 \pm 0

Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) des Verhaltensparameters für Angstverhalten und Wohlbefinden: Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% Time Trial))

Angst und Allgemeinverhalten

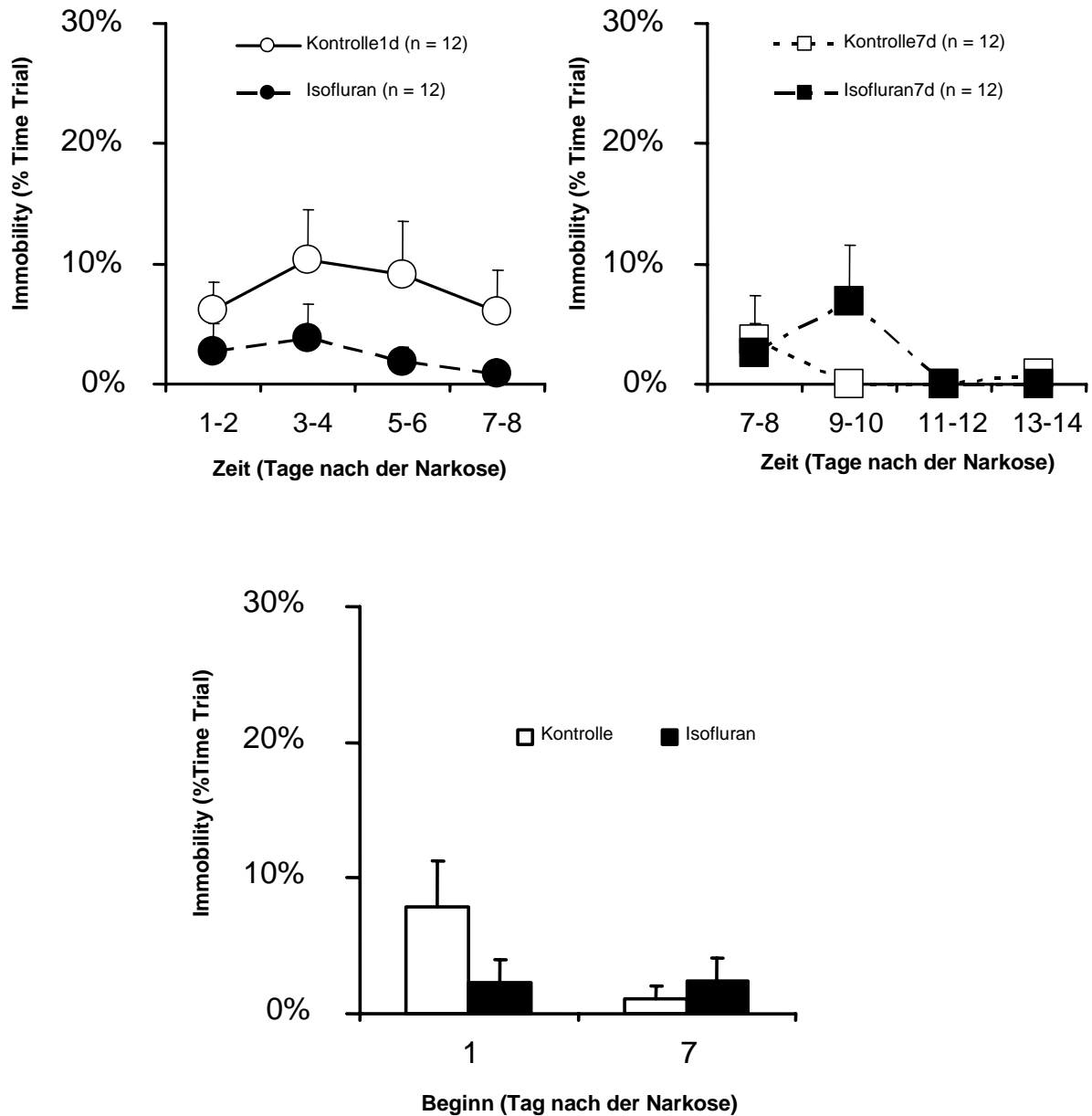


Abbildung 19: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (%Time Trial)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility) liegt in der 1d-Gruppe bei etwa zehn Prozent. Bei den restlichen Gruppen ist sie verschwindend gering (siehe Abbildung 19).

Exploration

Exploration wird in gerichtete Exploration und ungerichtete Exploration eingeteilt. Das zielgerichtete Aufsuchen der Löcher im Test gilt als gerichtete Form, wobei die Anzahl der besuchten Löcher (Number of Holes Visited) gewertet werden. Unter genereller ungerichteter Exploration der Umgebung wird das Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings) verstanden. In folgenden Tabellen sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) zu ersehen und die Abbildungen zeigen grafische Darstellungen aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (\pm SEM).

Tabelle 7: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited) und ungerichteter Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)

	Tag	Isofluran _{1d}	Kontrolle _{1d}	Tag	Isofluran _{7d}	Kontrolle _{7d}
Besuchte Löcher (Number of Holes Visited)	01 bis 02	5 \pm 1	4 \pm 1	07 bis 08	5 \pm 1	5 \pm 1
	03 bis 04	6 \pm 0	5 \pm 1	09 bis 10	7 \pm 1	7 \pm 1
	05 bis 06	6 \pm 0	5 \pm 1	11 bis 12	7 \pm 1	7 \pm 0
	07 bis 08	5 \pm 0	6 \pm 0	13 bis 14	7 \pm 0	7 \pm 0
	01 bis 08	5 \pm 0	5 \pm 0	07 bis 14	7 \pm 0	6 \pm 0
Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)	01 bis 02	18 \pm 2	16 \pm 1	07 bis 08	14 \pm 1	16 \pm 1
	03 bis 04	13 \pm 2	12 \pm 1	09 bis 10	11 \pm 1	10 \pm 1
	05 bis 06	7 \pm 1	10 \pm 2	11 bis 12	8 \pm 1	8 \pm 1
	07 bis 08	4 \pm 1	8 \pm 2	13 bis 14	6 \pm 1	5 \pm 1
	01 bis 08	11 \pm 1	11 \pm 1	07 bis 14	10 \pm 1	10 \pm 1

Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) des Verhaltensparameters für gerichtete Exploration: Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited, (Anzahl pro Durchlauf)) und ungerichtete Exploration: Anzahl Aufrichten auf Hinterbeine (Rearings (Anzahl pro Durchlauf))

gerichtete exploratorische Motivation

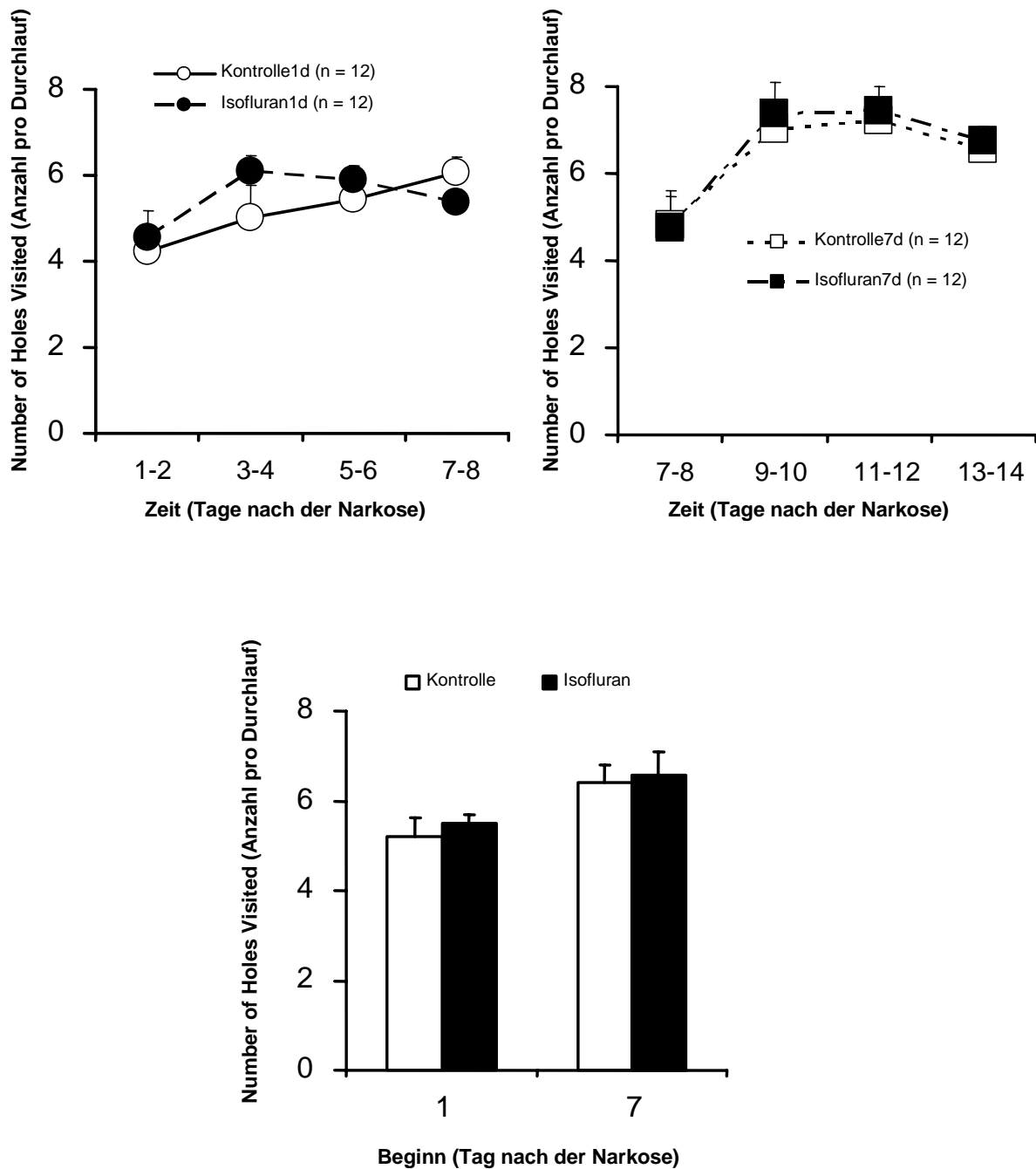


Abbildung 20: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited (Anzahl pro Durchlauf)) über den gesamten Beobachtungszeitraum.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die gerichtete Exploration umfasst die Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited). Die Mittelwerte steigen in der 1d-Gruppe nahezu kontinuierlich an (Zeit: $p = 0,027$), wobei sich zwischen den anästhesierten Tieren und den Kontrolltieren keine signifikanten Unterschiede erkennen lassen. Bei der 7d-Gruppe steigen die Werte am neunten und zehnten Tag steil an, um dann auf das in etwa gleiche Niveau der 1d-Gruppe abzufallen (Zeit: $p = 0,002$) (siehe Abbildung 20).

ungerichtete exploratorische Motivation

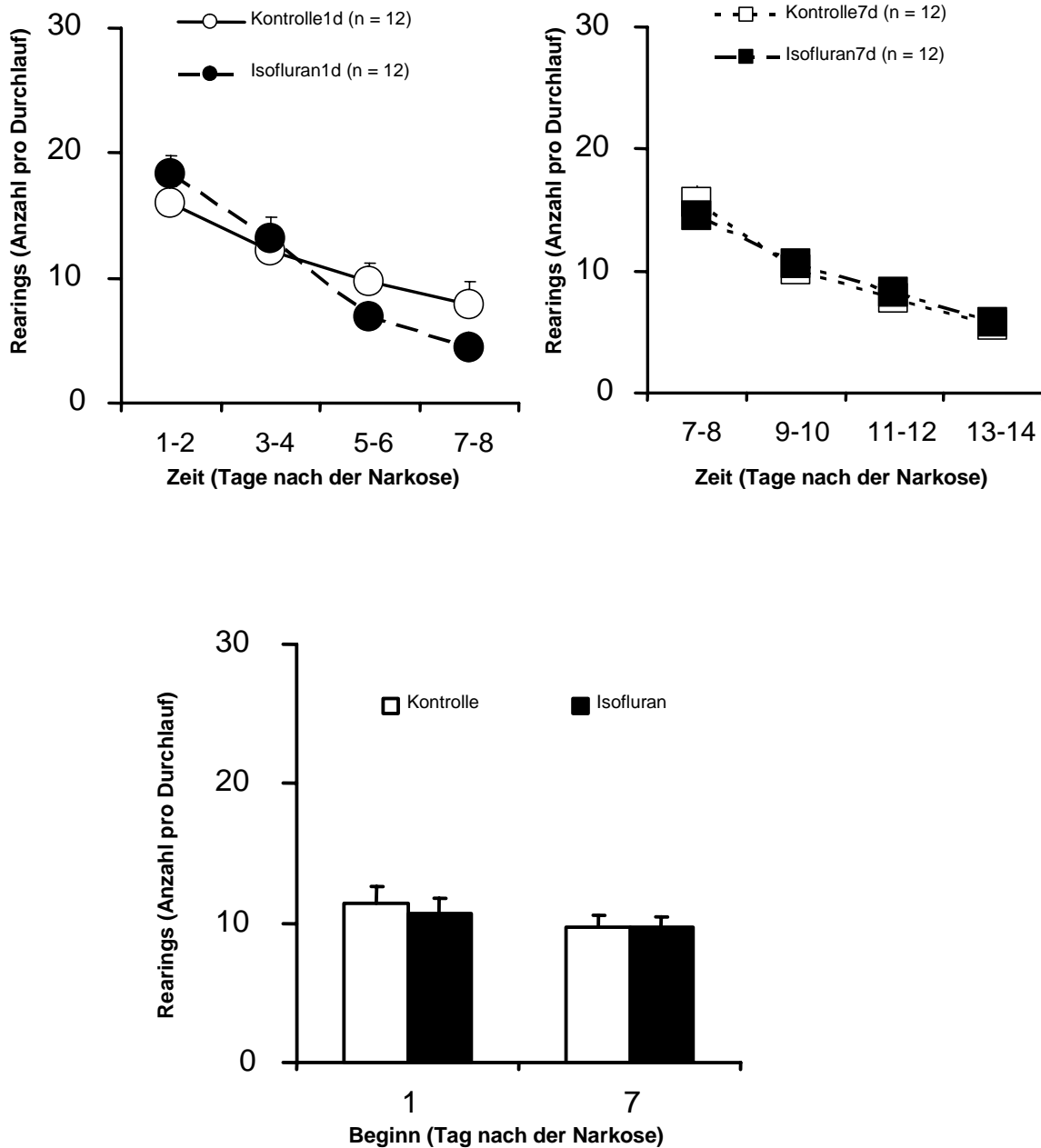


Abbildung 21: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings (Anzahl pro Durchlauf)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Anzahl, wie oft sich ein Tier pro Durchlauf auf die Hinterbeine erhebt (Rearings), gilt als Anzeichen für die ungerichtete Exploration. Die Mittelwerte sinken in allen Gruppen bis zum Ende der Testperiode hin ab (Zeit: $p < 0,001$). Ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den anästhesierten Tieren ist in der 1d-Gruppe zu erkennen (Zeit x Gruppe: $p = 0,017$). Während der gesamten Versuchsdauer unterscheiden sich die 1d und 7d-Gruppen hinsichtlich der Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings) nicht (siehe Abbildung 21).

Erregung

Die physiologische Erregung wird im mHb durch die Gesamtzeit der Putzphasen in Prozent der für den Durchgang benötigten Gesamtzeit gemessen (Grooming). Ein weiterer Parameter ist die Anzahl der pro Durchlauf abgesetzten Kotballen (Boli). Errechnete Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) sind in folgender Tabelle zu ersehen.

Tabelle 8: Verhaltensparameter für Erregung: Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming)

	Tag	Isofluran _{1d}	Kontrolle _{1d}	Tag	Isofluran _{7d}	Kontrolle _{7d}
Putzphase (Grooming)	01 bis 02	1 \pm 0	1 \pm 0	07 bis 08	2 \pm 0	2 \pm 0
	03 bis 04	1 \pm 0	1 \pm 0	09 bis 10	1 \pm 0	2 \pm 0
	05 bis 06	1 \pm 0	0 \pm 0	11 bis 12	1 \pm 0	2 \pm 0
	07 bis 08	0 \pm 0	0 \pm 0	13 bis 14	1 \pm 0	2 \pm 0
	01 bis 08	1 \pm 0	1 \pm 0	07 bis 14	1 \pm 0	2 \pm 0

Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) des Verhaltensparameters für Erregung: Anzahl an abgesetzten Kotballen (Boli (Anzahl pro Durchlauf)) und Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming (% Time Trial)).

Die Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) ist in der 1d-Gruppe zu Beginn der Testphase deutlich höher als im späteren Testverlauf (Zeit: $p = 0,030$). Auch in der 7d-Gruppe putzen sich alle Versuchstiere zu Beginn signifikant länger (Zeit: $p = 0,019$). Über den gesamten Zeitraum gesehen putzen sich sowohl nicht-anästhesierte als auch anästhesierte Tiere der 1d-Gruppe weniger lang, im Vergleich zu den nicht-anästhesierten ($p < 0,001$) bzw. anästhesierten Tiere ($p = 0,036$) der 7d-Gruppe.

Lokomotion

Mit der Anzahl der Linienüberschreitungen (Line Crossings) wird im mHb-Test die Lokomotion gewertet, auf der letztendlich jedes sichtbare Verhalten basiert. In folgender Tabelle sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) zu ersehen und die Abbildung zeigt eine grafische Darstellung aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (\pm SEM).

Tabelle 9: Verhaltensparameter für Lokomotion: Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings)

	Tag	Isofluran _{1d}	Kontrolle _{1d}	Tag	Isofluran _{7d}	Kontrolle _{7d}
Linien- übertritte (Line Crossings)	01 bis 02	14 \pm 1	12 \pm 1	07 bis 08	13 \pm 1	12 \pm 1
	03 bis 04	12 \pm 1	10 \pm 2	09 bis 10	11 \pm 1	10 \pm 1
	05 bis 06	12 \pm 1	11 \pm 2	11 bis 12	11 \pm 1	11 \pm 1
	07 bis 08	11 \pm 1	11 \pm 1	13 bis 14	12 \pm 1	11 \pm 1
	01 bis 08	12 \pm 1	11 \pm 1	07 bis 14	12 \pm 1	11 \pm 1

Mittelwerte (MW) und Standardfehler (\pm SEM) der Verhaltensparameter für Lokomotion: Anzahl an Linienüberschreitungen (Line Crossings (Anzahl pro min))

Lokomotion

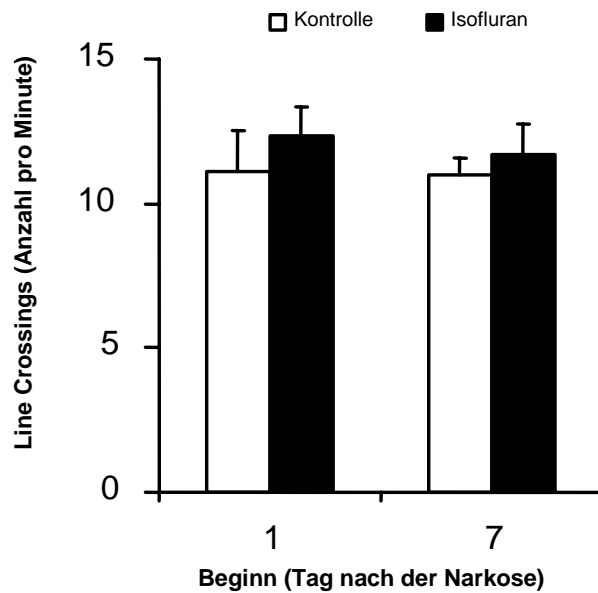
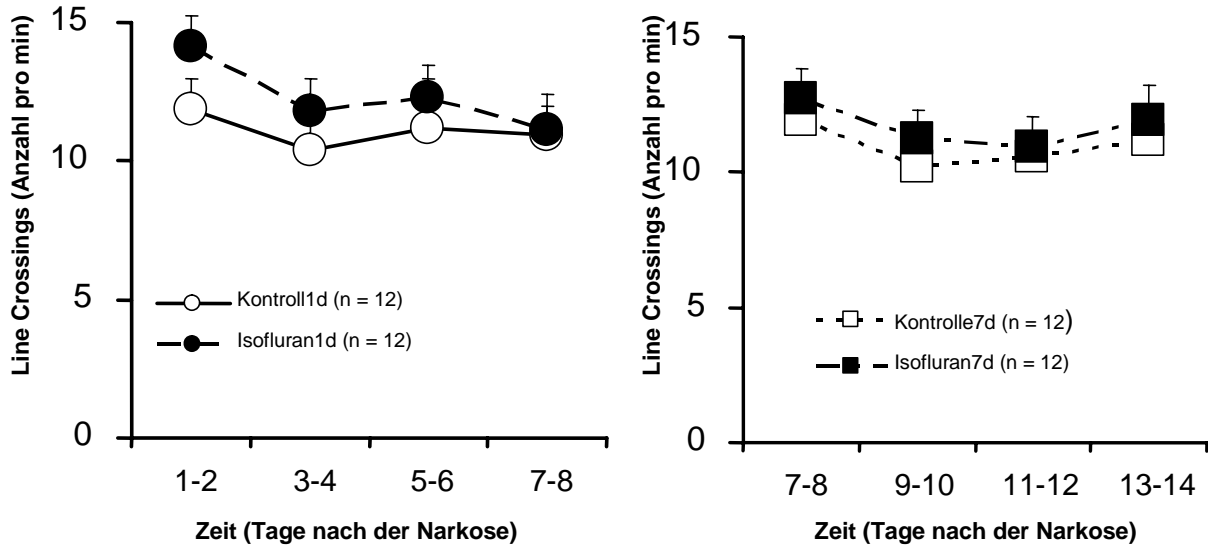


Abbildung 22: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl der Linienübertritte (Line Crosings (Anzahl pro Minute)).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Die Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings) fällt in der 1d-Gruppe zum Ende der Aufzeichnung hin signifikant ab (Zeit: $p = 0,014$) (siehe Abbildung 34). Über den gesamten Beobachtungszeitraum betrachtet, ist die Anzahl der Linienübertritte (Line Crossings) der anästhesierten Tiere in beiden Gruppen nicht signifikant höher als bei den Kontrollgruppen (siehe Abbildung 22).

4 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde erstmals der alleinige Effekt von Isofluran auf Lernen und Gedächtnis im Mausmodell untersucht. Mäuse lernen 24 Stunden nach einer zweistündigen Inhalationsnarkose mit Isofluran einen Verhaltenstest schneller als ihre nicht-anästhesierten Geschwistertiere. Beginnen die Tiere jedoch erst eine Woche nach der Narkose mit dem Test, lernen alle Tiere in etwa gleich schnell, was darauf hindeutet, dass der Narkoseeffekt auf Lernen auf Gedächtnis reversibel ist.

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Postoperative kognitive Defizite im Mausmodell

Kaninchen und Nagetiere besitzen in der medizinischen Forschung einen hohen Stellenwert, denn oftmals sind Tiermodelle unabdingbare Voraussetzungen, um Pathomechanismen zu erforschen oder ätiologische Ursachenforschung mit wissenschaftlichen Studien voranzutreiben. Mäuse und Ratten stellen mit einem Anteil von 80 % die größte Gruppe aller Versuchstiere dar. Besonders Mäuse werden immer häufiger eingesetzt, denn sie vereinen die Vorteile einer hohen Reproduktionsrate mit kurzer Aufzuchtphase und der Haltung bei geringem Platzbedarf (Tierschutzbericht, 2007). So zählen Nagetiere auch zu den bevorzugten Spezies, um Ursachen und Mechanismen menschlicher Gedächtnisstörungen zu evaluieren (SQUIRE, 1992). Inwiefern Leistungen von Nagetieren in komplexen kognitiven Aufgaben auf menschliche kognitive Funktionen übertragen werden können, wird kontrovers diskutiert (DECKER, 1995). Bei kognitive Funktionen, die dem Hippokampus zugeteilt werden, entwickelte sich eine evolutionäre Kontinuität, so dass grundlegende Lern- und Gedächtnisprozesse im Laufe der Evolution konserviert wurden (KESNER und HOPKINS, 2006). So können einfache menschliche Gedächtnis- und Lernleistungen durchaus mit Hilfe von Tiermodellen beschrieben werden. Deshalb wurde für die vorliegende Studie die Maus als das sinnesphysiologisch am niedrigsten entwickelte Tier gewählt, um die isolierten Faktoren zu untersuchen, die an der Entstehung von postoperativen kognitiven Defiziten (POCD) beteiligt sind.

Trotz neuer Fortschritte in der Pharmakologie und in der Entwicklung neuer intravenöser Narkosemittel, bleiben Inhalationsanästhetika vor allem in der klinischen Praxis die Eckpfeiler der Narkose. Besonders die neueren Inhalationsanästhetika, wie Isofluran, Sevofluran oder Desfluran haben viele Eigenschaften eines „idealen“ Narkosemittels. Durch ihren niedrigen Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten (1.4 bei Isofluran) fluten sie rasch an und ab, woraus eine sehr gute Steuerbarkeit resultiert (EGER, 2004). Mit der minimalen alveolären Konzentration (MAC) wird die Wirkungsstärke eines Anästhetikums bemessen. Je niedriger der MAC-Wert, desto größer ist seine Wirkstärke. Isofluran ist ein sehr potentes Narkosemittel mit einem MAC-Wert für den Menschen von 1.15 Vol % (Isofluran) (EGER, 2004). Isofluran wird im Körper nur zu 0,17 % verstoffwechselt (HOLADAY und SMITH, 1981). Isofluran ist relativ teuer und Narkosemittel machen einen großen Teil des Medikamentenbudget einer Klinik aus. Studien zufolge könnten aber durch die effizientere Nutzung der Operationsräume und der Verbesserung der postoperativen Versorgung deutlich effektiver Kosten eingespart werden, als durch den Einsatz billiger Narkosemittel (MACARIO et al., 1995). Isofluran ist ein sicheres und effektives Narkosegas zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Narkose. In Zukunft wird es aufgrund seiner raschen Anflutung und der kurzen Aufwachphase und der dadurch bedingten geringen Operationsdauer, besonders für ambulante und minimal invasive Eingriffe, vermehrt Verwendung finden (STACHNIK, 2006).

POCD sind bekannte Probleme nach herzchirurgischen (NEWMAN et al., 2001), aber auch nach größeren nicht-herzchirurgischen operativen Eingriffen (MOLLER et al., 1998). POCD können eine Verschlechterung der Lebensqualität von bis zu drei Monaten postoperativ bedingen und für Patienten jeglichen Lebensalters gravierende Auswirkungen haben, da alltägliche Dinge des Lebens nicht mehr selbstständig ausgeführt werden können (MOLLER et al., 1998; JOHNSON et al., 2002). In großangelegten, weltweiten Studien wurde versucht, die möglichen Ursachen aufzudecken. Da das Zielorgan der Narkosemittel das Gehirn ist, wurde immer wieder vermutet, dass die Narkose selbst ein Mitverursacher von POCD sei. Viele Jahre wurde angenommen, dass Narkosemittel nach Ausscheidung aus dem Organismus keine weiteren Effekte auf das Gehirn haben und es in seinen Ausgangszustand zurückkehren würde. Nun gibt es vermehrt Beweise für langandauernde oder sogar permanente neuronale und neurologische Veränderungen (HANNING, 2005). Ein großes Problem klinischer Studien ist, dass eine Narkose immer eine Operation nach sich zieht, sodass

die alleinigen Auswirkungen der Narkose nicht isoliert beurteilt werden können. Da beim Patienten durch die bereits bestehende Grunderkrankung, das operative Trauma oder intraoperative Komplikationen aber auch durch postoperative Schmerzen, Aufenthalt in fremder Umgebung im Krankenhaus oder durch die Medikamenteneinwirkungen die Folgeerscheinungen der Narkose verschleiert werden können. Ziel dieser Studien ist es daher, den alleinigen Effekt einer Narkose unter Ausschluss von Begleitfaktoren auf das Gehirn zu untersuchen.

4.1.2 Narkosemanagement

In der vorliegenden Studie wurden alle sich auf das Gedächtnis und auf die Lernleistung der Mäuse negativ auswirkenden Störfaktoren so gering wie möglich gehalten oder völlig ausgeschlossen. Nicht nur die Narkosetiere, sondern auch die nicht-anästhesierten Kontrolltiere wurden deshalb in der vorliegenden Studie dem Stress der veränderten Umgebung ausgesetzt. Für einen äquivalenten Zeitraum, die der Einleitungsdauer der Narkosetiere in der Kammer entsprach, wurden die nicht-anästhesierten Kontrolltiere ebenfalls in die Narkosekammer gesetzt. So wurden sie den gleichen veränderten Umweltreizen ausgesetzt, wie die Narkosetiere. Dadurch soll eine echte Kontrollgruppe geschaffen werden, damit die Testergebnisse maßgeblich auf den alleineigen Einfluss der Inhalationsnarkose zurückzuführen sind.

Für volatile Anästhetika gibt es grundsätzlich verschiedene Induktions- und Applikationswege. Bei der Kammerinhalation befindet sich das Tier während der Narkoseeinleitung in einem durchsichtigen Behälter (Glaszylinder oder auch Plexiglastasten), der mit einem Gemisch aus Luft/Sauerstoff und Anästhetikum gefüllt ist. Das Narkosegas kann dabei auf verschiedenen Wegen in den Behälter gelangen. Es kann zum einen einfach anhand eines mit flüssigem Narkosegas getränkten Wattebausches in den Behälter gelegt werden. Der Nachteil dieser Applikationsform ist die ungenaue Dosierungsmöglichkeit des Anästhetikums. Um diesen Nachteil zu überwinden, wird in der vorliegenden Studie das Narkosegas über einen dem Durchflusssystem vorgeschalteten Verdampfer der Kammer zugeführt. Dadurch ist die Konzentration des Narkosegases genauer zu regulieren und bei allen Narkosetieren gleich zu halten. Auf eine Narkoseeinleitung mittels Injektionsanästhetika wurde verzichtet, da sie die Wirkung der Inhalationsanästhetika zusätzlich beeinflusst hätten. Dadurch ist es nicht mehr

möglich, den alleinigen Effekt einer Inhalationsnarkose auf das Gedächtnis zu untersuchen.

Nach der Narkoseeinleitung kann das Tier für kurze Zeit aus der Kammer entnommen werden, um es ohne zwischenzeitliches Erwachen an die Nasenkammer anzuschließen. Für den geübten Anästhesisten ist dies kein Problem und als Vorteil kann im Vergleich zur Injektionsanästhesie zum Beispiel auf Zwangsmaßnahmen zur Fixation verzichtet werden (ERHARDT et al., 1998). Stress kann bei den Tieren auch für den weiteren Narkose weitreichende Folgen haben, wie zum Beispiel das Auftreten einer durch stressbedingten Hyperventilation induzierten respiratorische Azidose (ERHARDT et al., 1984). Die Tiere atmen in der verwendeten Nasenkammer spontan. Eine kontrollierte Beatmung wäre nur mit Hilfe der endotrachealen Intubation möglich. In der vorliegenden Studie wurde auf die endotracheale Intubation aus verschiedenen Gründen verzichtet. Mäuse sind aufgrund der kleinen Maulspalte und der sehr engen anatomischen Verhältnisse im Pharyngealbereich äußerst schwierig zu intubieren. Als Komplikationen können, Traumata der oropharyngealen Strukturen durch Benutzung des Laryngoskops oder gar Perforation der Trachea beim Einführen des Tubus auftreten. Da die Tiere für einen längeren Zeitraum nach der Narkose überleben sollen, müssen diese Komplikationen ausgeschlossen werden. Auch eine transtracheale Intubation muss vermieden werden, da die Tiere nicht operiert werden sollen, um den alleinigen Effekt einer Inhalationsanästhesie zu untersuchen. Studien haben gezeigt, dass der Reiz der endotrachealen Intubation vergleichbar, wenn sogar nicht noch stärker als ein Hautschnitt zu werten ist (ERHARDT et al., 1984). Deshalb wird ein Tubus häufig nur unter einer tieferen Anästhesie oder zum Beispiel unter zusätzlichem Einsatz von Muskelrelaxanzien und Opiaten toleriert. Isofluran bewirkt zwar eine gute Muskelrelaxation, besitzt aber nur äußerst geringe analgetische Eigenschaften, sodass bei einer endotrachealen Intubation weitere Analgetika eingesetzt werden müssen. Da in der vorliegenden Studie jedoch der alleinige Effekt von Isofluran auf Lernen und Gedächtnis untersucht werden soll, wurde die Nasenkammer als Methode der Wahl verwendet.

Während der gesamten Narkosedauer wird ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 3 mm Hg eingehalten. Dies bedeutet, dass am Ende der Ausatemungsphase ein positiver Druck in den Alveolen bestehen bleibt, sodass die Möglichkeit besteht Lungenareale offen zu halten und zu ventilieren, die dazu neigen atelektisch zu werden. So ist ein verbesserter Gasaustausch gewährleistet (KÖHLER, 1998).

Die Narkoseüberwachung bei Mäusen basiert häufig hauptsächlich auf der klinischen Beobachtung des Tieres (CANTWELL, 2001). Als Hauptproblem ist die geringe Körpergröße anzusehen, die ein Legen von arteriellen und venösen Zugängen und so die Blutabnahme verkompliziert (ERHARDT et al., 1998). Außerdem bedarf es, um Blutgasanalysen durchzuführen einer ausreichender Menge an Blut, je nach Blutgasanalysegerät etwa 100 µl- 300 µl. Es können aber maximal 10 % des Blutvolumens bedenkenlos entnommen werden. Das Gesamtblutvolumen beträgt bei der Maus 6,6 % des Körpergewichtes. Bei einer 30 g schweren Maus entspräche das genau einer Blutmenge von 300 µl (ERHARDT et al., 1998). Ziel dieser Studie war aber das langfristige Überleben der Tiere, um Verhaltenstests nach der Narkose ohne Operation durchzuführen. Auch sollte auf eine zusätzliche Operation, wie sie zur Kanülierung der Gefäße notwendig ist verzichtet werden, um den alleinigen Effekt von Isofluran auf Lernen und Gedächtnis zu untersuchen. Deshalb wurden auf invasive Methoden verzichtet. Dennoch wurden die wichtigsten Vitalfunktionen (Körpertemperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz) ständig kontrolliert. Die Atemfrequenz wurde durch Beobachtung der Thoraxbewegungen (Atemzüge in einer Minute) gezählt. Die Analyse der Herzfrequenz erfolgte mit Hilfe eines EKG-Gerätes. Inhalationsanästhetika beeinträchtigen die Körpertemperaturregelung. Die Messung der Körperinnentemperatur wurde mit Hilfe einer Rektalsonde durchgeführt. Bei kleinen Nagetieren ist die Gefahr der anästhesiebedingten Hypothermie aufgrund des ungünstigen Verhältnisses von kleinem Körpergewicht zu großer Körperoberfläche besonders ausgeprägt. Als Folge einer Hypothermie kommt es zu verminderter Organperfusion, Verschiebung des Säure-Basegleichgewichts und so zu einer verschlechterten Metabolisierung der Anästhetika (CANTWELL, 2001). Um einem Wärmeverlust während der Narkose vorzubeugen, wird mit einer Heizdecke die Körperinnentemperatur zwischen 37,5 und 38.0°C gehalten. In der Aufwachphase sorgen in der Aufwachbox mit warmen Wasser gefüllte Handschuhe für ausreichenden Schutz gegen Auskühlung.

4.1.3 Der modifizierte Hole-Board-Test

In der vorliegenden Studie wird zur Beurteilung der Lern - und Gedächtnisleistungen der Mäuse ein visuell-räumlicher Test, der modifizierte Hole-Board-Test (mHB) gewählt. Der mHB-Test, eine Kombination aus Open Field und klassischem Hole Board, wurde ursprünglich zur Untersuchung kognitiver und exploratorischer Verhaltensparameter bei

Tupaia konzipiert (OHL et al., 1998; OHL und FUCHS, 1999) und dann für Nagetiere weiterentwickelt (OHL et al., 2001b).

Mit dem mHB können erstmals komplexe Verhaltensmuster in einem einzigen Test beobachtet werden. Zu den erfassten Parameter gehören Exploration, Angstverhalten, Lokomotion, Erregung und kognitive Prozesse. Damit entsteht ein umfassendes Bild des Gesamtverhaltens eines Tieres. Da nur ein Test Verwendung findet, entstehen keine störenden Interferenzen zwischen verschiedenen Verhaltenstests, wodurch die Versuchstierzahl vermindert und der Personal- und Kostenaufwand immens reduziert wird (OHL et al., 2001a).

Diese Vorteile machen den mHB-Test anderen Tests für die vorliegende Studie überlegen. Im Radial-Arm-Maze, ein Labyrinthmodell, in dem die Versuchstiere mehrere mit Futterbelohnungen bestückten Arme aufsuchen müssen, wirken Zwangsmaßnahmen, wie Wasser- und Futterentzug, als starker Stressfaktor. Im mHB-Test wird das natürliche Futtersuchverhalten der Nagetiere ausgenutzt, um den Test ohne weitere Motivation zu absolvieren. Da die Tiere im gleichen Raum getestet werden, indem sie auch gehalten werden, finden alle Vorgänge in gewohnter Umgebung statt und zusätzlicher Transportstress entfällt. Chronischer Stress kann das deklarative Gedächtnis der Tiere noch Tage, nachdem der Stressfaktor entfernt wurde, negativ beeinflussen (OHL und FUCHS, 1999). Durch die Reduktion störender Stresseinflüsse gewinnen die Ergebnisse aus dem mHB an Qualität, da Stress sowohl beim Mensch als auch beim Tier die kognitiven Funktionen verändern kann (MCEWEN und SAPOLSKY, 1995).

Als weiterer Vorteil erlaubt der mHB-Test den Versuchstieren ihr natürliches Verhaltensrepertoire ohne Zwang offen zu zeigen und ermöglicht so dem trainierten Beobachter unerwartete und subtile Verhaltensweisen zu analysieren und geringste Verhaltensabweichungen aufzudecken (OHL et al., 2003). So bietet sich der mHB-Test als ideale Methode an, um die subtilen Einflüsse von Inhalationsanästhetika auf Lernen und Gedächtnis zu untersuchen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Kognitive Leistungsfähigkeit und Verhalten 1d nach Narkose

Verschiedene Gedächtnis- und Verhaltensparameter, die mit dem mHB dokumentiert werden, ermöglichen eine Beurteilung der Auswirkungen einer zweistündigen Isoflurannarkose auf die kognitive Leistungsfähigkeit und auf das Verhalten von Mäusen.

Die kognitiven Parameter der Lernleistung (Gesamtzeit, Time Trial) und des deklarativen Gedächtnisses (falsch besuchte Löcher, Wrong Choices und Auslassfehler, Omission Errors) sind durch die Narkose signifikant verbessert.

Im Detail erlernen anästhesierte Tiere den Test innerhalb der ersten acht Tage schneller als die Kontrolltiere und benötigen weniger Zeit alle drei Futterbelohnungen zu finden. Die Narkosetiere besuchen im Laufe der gesamten Testperiode immer weniger falsche Löcher (Wrong Choices) und machen weniger Auslassfehler (Omission Errors). Es besteht kein Unterschied zwischen den Gruppen in der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices).

Daraus kann geschlossen werden, dass in der vorliegenden Studie eine vorhergehende zweistündige Narkose mit Isofluran das Lernen beschleunigt und die Gedächtnisleistung verbessert. Es scheint besonders das deklarative Gedächtnis betroffen zu sein. Dieses ist verantwortlich für bewusstes Erinnern an Fakten und Ereignisse und wird dem Hippokampus zugeteilt (SQUIRE, 1998). Der Hippokampus unterstützt die Verarbeitung räumlicher und relationaler Informationen und stellt Verknüpfungen zwischen verschiedenen Anreizen her (EICHENBAUM, 1999). Deshalb sollen auch deklarative Gedächtnisprozesse im mHB beteiligt sein, wenn Tiere lernen optisch, markierte Löcher mit Futterbelohnungen zu verbinden. Daher gelten falsch besuchte Löcher (Wrong Choices) und markierte Löcher, die nicht besucht werden (Omission Errors) als Fehler des deklarativen Gedächtnisses (OHL et al., 1998). Diese beiden Parametern sind bei den Narkosetieren verbessert, während das Arbeitsgedächtnis von Einflüssen der Narkose unberührt bleibt. Das Arbeitsgedächtnis ist für eine zeitlich begrenzte

Informationsspeicherung zuständig und wird dem präfrontalen Kortex zugeteilt. Das Tier muss sich innerhalb eines Durchlaufes merken, welches markierte Loch bereits besucht wurde. Wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices) gelten daher als Fehler des Arbeitsgedächtnisses. Die Leistung des Arbeitsgedächtnisses kann erst beurteilt werden, wenn die Mäuse gelernt haben, markierte Löcher aufzusuchen und die Futterbelohnung zu entnehmen. Dies dauert meist zwei Tage, sodass die Funktion des Arbeitsgedächtnisse erst ab dem 3. Testtag bemessen werden kann. In dieser Studie unterscheiden sich die verschiedenen Gruppen in diesem Gedächtnisparameter nicht. Entweder wird das Arbeitsgedächtnis durch volatile Anästhetika nicht beeinflusst oder das Versuchsprotokoll ist zu wenig sensitiv, um Veränderungen des Arbeitgedächtnisses aufzudecken, denn dazu bedarf es längere Lernphasen, um stabile Ausgangswerte zu erreichen (STECKLER und MUIR, 1996). Diese Werte können dann mit den Werten postanästhetisch verglichen werden. Außerdem muss bedacht werden, dass Tiere, die den Test bis zum Versuchende nicht erlernen, keine Wiederholungsfehler machen können, sodass eine Verbesserung der Gedächtnisleistung nur vorgetäuscht wird. In dieser Studie soll primär die Lernleistung und das Lernverhalten der Versuchstiere hinsichtlich Einspeichern und Abrufen neu erlernter Fähigkeiten untersucht werden. Haben die Tiere den mHB-Test bereits präanästhetisch gelernt und erreichen ein stabiles Ausgangsniveau, bedarf es größerer neuronalen Störungen, um kognitive Leistungsunterschiede feststellen zu können, was einem Testen des „Vergessens“ entspricht. Die komplexen Vorgänge, die für das Lernen neuer Informationen zuständig sind, reagieren wesentlich sensibler auf negative Effekte und werden daher auch leichter geschädigt. Deshalb wird in der vorliegenden Studie die Lernleistung nach einer Narkose untersucht und nicht die Fähigkeit Erlerntes zu vergessen.

Kognitive Prozesse können durch Verhaltensänderungen beeinflusst werden, so dass die Lernleistung durch Angst oder Stress eventuell negativ beeinflusst wird (MCEWEN und SAPOLSKY, 1995). Deshalb ist die Auswertung der Verhaltensparameter wichtig, um mögliche negative Beeinflussungen erkennen zu können.

Die auf den mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board) gilt als Angstparameter, da ängstliche Tiere länger am Rand der Testarena verharren und das Zentrum meiden (OHL et al., 2003). Im mHB entspricht das Zentrum der Versucharena einem ungeschützten und unbekanntem Territorium. Nagetiere meiden zunächst offene Flächen und ziehen es vor sich nahe der Wände fortzubewegen (PRUT und BELZUNG, 2003). In der

vorliegenden Studie verbringen die Tiere aller vier Gruppen etwa gleich viel Zeit auf dem mHB, wobei sich die Zeit im Laufe des Tests verlängert. So scheinen alle Tiere gleich lang das mHB zu inspizieren und dadurch die gleiche Möglichkeit zu haben den Zusammenhang zwischen markierten Löchern und Futterbelohnungen zu erlernen. Auch die Anzahl der Boardbesuche (Number of Board Entries) unterscheidet sich in den vier Gruppen nicht. Wodurch ausgeschlossen werden kann, dass die unterschiedlichen Lernleistungen der Tiere durch Angstverhalten oder geringe Motivation bedingt werden. Alle Tiere vermindern die Zeitspanne vom Beginn des Tests bis zum ersten Aufsuchen des mHB (Latency First Entry on Board). Das bedeutet, dass sie, die zu Beginn des Tests höhere Angst, während des Versuchs vermindern, parallel zu dem verbesserten Lernen. Da kein Unterschied zwischen den Gruppen besteht, ist es nicht wahrscheinlich, dass das Verhalten die Lernleistung in der vorliegenden Studie beeinflusst (OHL et al., 2003).

Beginnen die Tiere am ersten Tag nach der Narkose zu lernen, nimmt die Anzahl der besuchten Löcher (Number of Holes Visited) im Laufe der Testphase nur geringgradig zu, während die Tiere immer weniger falsche Löcher aufsuchen. Das zeigt, dass vermehrt zielgerichtetes Aufsuchen der markierten Löcher zur Lösung der Lernaufgabe führt und nicht gesteigertes exploratives Verhalten. Die Tiere suchen nicht zufällig alle Löcher ab, sondern steuern zielgerichtet nur die markierten Löcher an. Alle vier Gruppen explorieren ihre Umgebung im gleichen Ausmaß, erkennbar durch etwa gleich häufiges Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings) und der etwa gleichen Anzahl an Linienübertretungen (Line Crossings) in allen vier Gruppen. Eine Einschränkung des Verhaltens und dadurch auch der Lernleistung durch eine Immobilität von über 30 % liegt in allen Gruppen nicht vor.

Insgesamt lässt die Betrachtung von Verhaltensparametern und Kognition den Schluss zu, dass die kognitive Leistung der Mäuse nicht durch Verhaltensveränderungen oder Motivationsverlust beeinträchtigt ist, sondern dass sie die wirkliche kognitive Leistungsfähigkeit der Mäuse widerspiegeln. Volatile Anästhetika scheinen demnach in der vorliegenden Studie die hippocampale Gedächtnisleistung bei Mäusen zu verbessern.

Gegenüber der bislang vorherrschenden Meinung, der Einfluss der Narkose sei ein wichtiger Faktor für die Entstehung von POCD gibt es immer mehr Hinweise experimenteller und seit neuestem sogar zum ersten Mal in klinischer Art, dass eine Narkose die Lern- und Gedächtnisleistung nicht verschlechtert sondern sogar verbessern kann.

In einer Studie an transgenen Alzheimer-Mäusen konnten ähnliche Ergebnisse beobachtet werden. Transgene Alzheimermäuse profitierten von einer zweistündiger Isoflurannarkose zugunsten ihrer kognitiven Leistungen im mHB-Test. Die Lernleistung, das deklarative Gedächtnis und das Vermeidungsverhalten der Mäuse wurde durch die Narkose beeinflusst. Die anästhesierten Mäusen zeigten verbesserte kognitive Fähigkeiten im mHB und eine höhere Motivation zur Exploration bei reduzierter Ängstlichkeit (BOTHSCHAFTER, 2005).

Einige früheren Studien untersuchten mögliche Zusammenhänge zwischen Narkose und Gedächtnisleistung. In einer Studie wurde eine Allgemeinnarkose mit Halothan und Thiopental an jungen und alten Ratten durchgeführt. Die Ratten zeigen keine Verschlechterung der Lernleistung (van der STAAY et al., 1988). Auch bei einer Narkose direkt im Anschluss nachdem ein Test erlernt wurde verbesserten volatile Anästhetika die Einprägung und Speicherung des Neuerlernten, so dass die Tests 24 Stunden nach der Narkose besser von den anästhesierten Tieren durchgeführt wurden als von den Kontrolltieren (KOMATSU et al., 1993). Es handelte sich allerdings um einen Test, bei dem die Mäuse trainiert wurden, einer unangenehmen Erfahrung (Stromschlag) zu entkommen. Welche Mechanismen einem solchen Vermeidungsverhalten zugrunde liegen sind jedoch wenig verstanden. Deshalb wurde fünf Jahre später von der derselben Arbeitsgruppe der Versuch unternommen, die Auswirkungen von wiederholten Narkosen auf das räumliche Gedächtnis zu untersuchen. An vier aufeinanderfolgenden Tagen wurden Mäuse nach dem Training im Radial-Arm-Maze mit Enfluran narkotisiert. Die anästhesierten Mäuse zeigten eine verbesserte Gedächtniskonsolidierung und schnitten so im Test besser ab (KOMATSU et al., 1998). Eine ähnliche Studie mit Isofluran zeigte übereinstimmende Resultate. Die Mäuse lernten aus einer hell erleuchteten Kammer durch ein Loch in einen abgedunkelten Raum zu fliehen, dabei standen 40 Löcher zur Auswahl, aber nur eines besaß einen Ausgang zu einem abgedunkelten Raum. Die Zeit, wie lange die Mäuse benötigten das Ausgangsloch zu finden, wurde gemessen. Der Vorteil dieses Barnes-Maze ist, dass keine Futterrestriktion als Ansporn nötig ist, wie beim Radial-Arm-Maze. Zudem ist helles Licht als Stimulus weniger stressvoll als das forcierte Schwimmen beim Morris-Water-Maze. Leider kann mit dem Barnes-Maze nur das räumliche Gedächtnis beurteilt werden, im Gegensatz zum mHB-Test, bei dem verschiedene Gedächtnisleistungen bewertet werden können. Auch in diesem Test kam es zu keiner Verschlechterung erlernter Fähigkeiten nach einer einmaligen Isoflurannarkose weder bei jungen noch bei alten Mäusen (BUTTERFIELD et al., 2004). Bei einem

nachfolgenden Experiment wurden die Mäuse 12 Tage in dem Barnes-Maze trainiert, nach jedem Training wurden die Mäuse 30 Minuten lang mit Isofluran anästhesiert. Diese wiederholten Narkosen zeigten keine negative Auswirkungen auf das räumliche Gedächtnis. BUTTERFIELD et al (2004) nahmen an, dass die Fähigkeit räumliche Tests zu absolvieren, unabhängig vom Alter, durch wiederholte Isoflurannarkosen sogar gefördert wird. Übereinstimmend mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie zeigte die Forschergruppe um Butterfield, dass eine Allgemeinnarkose keine kognitiven Defizite weder bei alten noch bei jungen Mäusen verursacht.

Als ätiologische Ursache für die Verbesserung der Gedächtnisleistung nach Narkose kommen verschiedene Gründe in Frage. Da der mHB-Test erst 24 Stunden nach Beendigung der Narkose beginnt, ist es eher unwahrscheinlich, dass die Verbesserung der Gedächtnisleistung auf verbliebenes Restnarkosemittel im Körper zurückzuführen ist. Die alveoläre Anästhesiekonzentrationen von Isofluran, Sevofluran und Desfluran sinken 24 Stunden nach Beendigung der Narkose deutlich ab, was bei Versuchen an Schweinen gezeigt werden konnte (YASUDA et al., 1990). Die Spontanatmung der Mäuse während der Narkose könnte aufgrund der durch Isofluran bedingten Atemdepression zu einem erhöhten CO₂-Gehalt im Blut führen. Eine respiratorische Azidose wäre die Folge, die möglicherweise die vorliegenden Ergebnisse im Verhaltenstest beeinflussen könnte. Da alle Tiere während der Narkose stabile physiologische Vitalparameter zeigten und die Schleimhäute stets rosig waren, wird ein erhöhter CO₂-Gehalt für unwahrscheinlich gehalten. Studien an Mäusen mit künstlicher Beatmung zeigten bei vergleichbarer Atemfrequenz normale Blutgasanalysen (GUO et al., 1998; LIU et al., 2002). Die Mäuse für zwei Stunden bei 1 MAC in Narkose zu halten, macht ein bestimmtes Narkosesystem erforderlich. Die Intubation mit kontrollierter Beatmung wurde aus verschiedenen, in vorangegangenen Kapiteln bereits ausführlich diskutierten Gründen, abgelehnt. Auch auf eine für die Blutgasanalyse erforderliche Kanülierung wurde verzichtet. Da die Mäuse außerdem keine Analgesie während der Isoflurannarkose erhielten, um das Ergebnis nicht zu beeinflussen, wurde aus Tierschutzgründen auf eine Präparation verzichtet und stattdessen durch klinische Beobachtung die Vitalparameter überprüft. In einer Studie an Mäusen kann zudem ein möglicher protektiver Effekt von Isofluran auf kognitive Defizite nach milder Hypoxie gezeigt werden. Die Mäuse atmen eine Stunde lang in einem Stickstoff-Sauerstoffgemisch aus 8 % Sauerstoff, versetzt mit 1.2 % Isofluran. Mäuse, die kein Isofluran erhielten, schnitten in einem Labyrinthtest, 24 Stunden nach der Anästhesie, besser ab (BEKKER et al., 2006).

Dennoch könnte die gezeigte Verbesserung der Lern- und Gedächtnisleistung ein Resultat der neuroprotektiven Eigenschaften des Isoflurans sein. Isofluran verringert die zerebrale Stoffwechselrate und schützt so das Gehirn vor schädlichen Einflüssen wie z.B. einer Hypoxie (BEKKER et al., 2006).

Welche zellulären Mechanismen durch volatile Anästhetika ausgelöst werden, sind noch unbekannt. Lang anhaltende Veränderungen der synaptischen Signalübertragung im zentralen Nervensystem sind vermutlich bei der Speicherung und dem Abruf von Informationen aus dem Gedächtnis involviert. Nach Reizung von Nervenzellen im Hippokampus mit hochfrequenten Stimuli kann eine Verstärkung der Amplitude des exzitatorischen, postsynaptischen Potentials erzeugt werden, die noch Stunden danach messbar ist. Dies wird als Langzeitpotenzierung (LTP) bezeichnet. Mit Hilfe von elektrophysiologischen Messungen im Gehirn kann auf zellulärer Ebene diese Veränderungen der synaptischen Transmission gemessen werden. Diese Technik gilt als zelluläres Korrelat für Lernen und Gedächtnis. Isofluran verändert die synaptische neuronale Transmission von ligandengebundenen Ionenkanälen der Glutamat- und GABA-Rezeptoren. In vitro Studien an Ratten haben gezeigt, dass eine GABA-Rezeptor vermittelte neuronale Inhibition ein wichtiger Wirkmechanismus für volatile Anästhetika ist. Isofluran erhöht die Wirksamkeit von GABA am GABA_A-Rezeptor durch Verminderung der GABA-Dissoziation. Gleichzeitig blockiert Isofluran den offenen GABA_A-Kanal, vor allem bei höheren Konzentrationen. Die verzögerte GABA-Dissoziation verlängert den Zeitverlauf der GABA_A-Rezeptor vermittelten postsynaptischen Ströme (DETSCH, 2002). Aber auch andere Rezeptoren können an den Wirkmechanismen volatiler Anästhetika beteiligt sein. TANG et al (1999) konnte zeigen, dass eine genetisch bedingte erhöhte Expression der NR2B-Untereinheit am NMDA-Rezeptor im Hippokampus von Mäusen zu einer signifikant verbesserten Lern- und Gedächtnisleistung führt. Es sind daher weitere Studien notwendig, um die genaue Wirkung von Isofluran auf molekularbiologischer Ebene zu erfassen.

4.2.2 Kognitive Leistungsfähigkeit und Verhalten 7d nach Narkose

Die Verbesserungen der Lern- und Gedächtnisleistung bei Mäusen, die 24 Stunden nach der Narkose beginnen den Test zu erlernen ist bereits nach einer Woche wieder völlig reversibel, was bedeutet, dass Mäuse, die den Test erst eine Woche nach der Narkose beginnen, nicht mehr von einer Isoflurannarkose für ihre Lernleistung profitieren.

Die Tiere der Iso7d-Gruppe benötigen durchschnittlich etwa gleich lang, um einen Testlauf zu beenden und lernen den Test auch während des Versuchszeitraum, unterscheiden sich aber nicht hinsichtlich Anästhesie und Kontrolle. Am dritten und vierten Tag der Lernphase besuchen die Mäuse der 7d-Gruppe sprunghaft mehr Löcher und machen zu diesem Zeitpunkt auch mehr Fehler. Dies bedeutet, dass gesteigertes exploratives Verhalten und nicht zielgerichtetes Aufsuchen der markierten Löcher wie bei den Tieren der 1d-Gruppe zur Lösung der Lernaufgabe führt. Dies bedeutet, dass sieben Tage nach der Isoflurannarkose kein Unterschied mehr zwischen anästhesierten und nichtanästhesierten Tieren vorliegt und alle Tiere den Test durch eine Steigerung ihrer Exploration lernen.

Demgegenüber stellen Culley et al. (2003) fest, dass junge Ratten (6 Monate) weniger Fehler im Radial-Arm-Maze nach einer Isofluran/Lachgas Anästhesie machten und dieser Effekt auch noch zwei Monate nach der Narkose festgestellt werden konnte. Bei alten Ratten (18 Monate) kam es zu einer Verschlechterung der Leistung. Sie benötigen länger, um den Test zu absolvieren, im Vergleich zur Kontrollgruppe (CULLEY et al., 2003). Ob Isofluran oder Lachgas diesen Effekt hervorruft, konnte nicht geklärt werden, da es sich um eine Mischnarkose handelte. Zudem wurde die Narkose erst durchgeführt, nachdem bestimmte Lernziele gefestigt wurden, so dass die Wirkung der Narkose auf gefestigte Gedächtnisinhalte und nicht auf der Erlernung neuer Fähigkeiten getestet wurde. In einer anschließenden Studie fand dieselbe Arbeitsgruppe bei sechs Monate alten Ratten keine Auswirkungen auf die räumliche Lernleistung 14 Tagen nach einer Isoflurannarkose. Lediglich bei der Gruppe Ratten, die eine kombinierte Narkose Isofluran/Lachgas erhielten, war eine Verbesserung der Lernverhalten noch nach zwei Wochen erkennbar (CROSBY et al., 2005).

Auch bei Patienten gibt es Hinweise in der Literatur, dass sich eine Narkose förderlich auf das Gehirn auswirken kann. So wurde bei 20 melancholisch, depressiven Frauen (Alter: 20-64 Jahre) die Auswirkungen von einer tiefen Isoflurannarkose mit denen der Elektrokrampftherapie (EKT) verglichen (LANGER et al., 1995). Die Patientinnen waren bereits vorher erfolglos über drei Monaten hinweg mit konventionellen antidepressiven Medikamenten vorbehandelt worden. In der Studie wurden nun jeweils sechs Sitzungen (zwei pro Woche) durchgeführt. Eine einzelne tiefe Isoflurannarkose induzierte einen sofortigen antidepressiven Effekt, der sich kurzzeitig auch nach Aufwachen des Patienten aus der Narkose manifestierte. Nach einigen Tagen verschwand der Effekt, konnte aber

durch mehreren Sitzungen verstärkt werden. Abschließend konnte eine vergleichbare Effizienz der Isoflurannarkose und der EKT gezeigt werden, bei deutlich geringeren Nebenwirkungen nach den Narkosen. Zudem verbesserte die Isoflurannarkose im Gegensatz zur EKT interessanterweise Feinmotorik, Orientierung, Konzentration, Aufmerksamkeit und Gedächtnisleistung der Patientinnen. Diese Studie ist eine der wenigen Studien bei Patienten, die ähnlich zur vorliegenden Studien bei Mäusen zeigt, dass eine alleinige Isoflurannarkose die kognitive Funktionen verbessern kann.

Eine Verbesserung der Lern- und Gedächtnisleistung durch volatile Anästhetika analog zur vorliegenden Studie wurde beim Menschen erstmals 2006 beschrieben. Die Studie zeigte bessere kognitive Funktionen bei einer tiefen Isoflurannarkose vier bis sechs Wochen postoperativ (FARAG et al., 2006). Im Gegensatz zu unserer Studie konnte eine kognitive Leistungssteigerung erst vier bis sechs Wochen postoperativ aufgezeigt werden. Bei den Patienten könnten subtile Verbesserungen der kognitiven Funktionen durch Belastungen des chirurgischen Eingriffes direkt postoperativ überdeckt worden sein, so dass sie erst einige Woche postoperativ sichtbar werden. Da die Mäuse keinerlei chirurgischen Eingriffen unterzogen werden und dadurch auch an keinerlei postoperativen Schmerzen leiden oder durch verschiedene Medikamente oder einem Krankenhausaufenthalt belastet werden, kann der positive Effekt der volatile Anästhetika früh festgestellt werden. Deshalb sind Studien wichtig, die den alleinigen Einfluss einer Inhalationsanästhesie untersuchen.

4.2.3 Abschließende Betrachtung und Ausblick

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Studie den alleinigen Effekt einer Isoflurannarkose auf Lernen und Gedächtnis bei der Maus. Um die Wirkmechanismen von volatilen Anästhetika auf zellulärer Ebenen weiter zu erforschen, kann mit dem hier vorgestellten Mausmodell zum Beispiel die synaptische Plastizität oder die Proteinexpression nach Narkose weiter untersucht werden.

5 Zusammenfassung

„Lernen und Gedächtnis einen und sieben Tage nach Isoflurannarkose bei der Maus“

Postoperative kognitive Defizite (POCD) sind besonders bei älteren humanen Patienten weit verbreitet. Eine Woche nach einer Operation zeigen etwa 25 % der Patienten eine Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten, die bei 10 % der Patienten drei Monaten postoperativ noch deutlich war. Als beteiligte Faktoren werden dabei der Bildungsstand, die Operation, chirurgische Komplikationen, postoperative Schmerzen oder der Krankenhausaufenthalt angeschuldigt. Der Einfluss der Anästhesie ist weitestgehend ungeklärt. Deshalb soll in der vorliegenden Studie der alleinige Effekt einer Isoflurannarkose auf Lernen und Gedächtnis im Mausmodell untersucht werden.

48 männliche C57BL6 Mäuse (Alter: 4 Monate) werden einer zweistündigen Allgemeinnarkose unterzogen oder schein-anästhesiert. Alle Mäuse werden in eine Narkosekammer aus Plexiglas mit 40 Vol % Sauerstoff gesetzt. In der Anästhesiegruppe ist die Kammer mit 2,5 Vol % Isofluran vorgeflutet, um die Narkose einzuleiten. Nach Verlust ihrer Stellreflexe werden die anästhesierten Mäuse aus der Kammer genommen. Während die schein-anästhesierten Kontrolltiere nach vier Minuten wieder zurück in ihren Käfig gesetzt werden, schließt man die Narkosetiere an eine Nasenkammer an. Um die Narkose aufrecht zu erhalten, atmen sie spontan für zwei Stunden 1 MAC Isofluran (1,2-1,4 Vol %) in einem Luft-Sauerstoffgemisch ($FiO_2 = 0,5$). Die rektale Temperatur wird kontinuierlich gemessen und mit Hilfe eines Wärmekissen konstant zwischen 37.5 und 38°C gehalten. 24 Stunden (Iso1d) oder sieben Tage (Iso7d) nach der Narkose werden die Mäuse im modifizierten Hole-Board-Test (mHB-Test) über acht konsequente Tage kognitiv getestet (OHL et al., 2001; OHL et al., 2001b).

Die Ergebnisse zeigen, dass Mäuse von einer Isoflurannarkose für ihre kognitive Leistungsfähigkeit profitieren, wenn sie einen Tag nach der Narkose beginnen den mHB-Test zu erlernen. Tiere dieser Gruppe machen weniger Fehler und benötigen weniger Zeit einen Versuchsdurchlauf zu absolvieren als die nicht-anästhesierten Kontrolltiere. Beginnen die Tiere den Test erst sieben Tage nach der Narkose zu lernen, besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Dies lässt vermuten, dass der Isofluraneffekt völlig reversibel ist.

Daher zeigt die vorliegende Studie erstmals, dass eine alleinige Isoflurannarkose Lernen und Gedächtnis bei Mäusen verbessert.

6 Summary

Learning and memory one day and seven days following isoflurane anesthesia in mice

Postoperative cognitive dysfunction (POCD) especially in elderly human patients are very common. Approximately 25 % of patients exhibit cognitive dysfunction within the first week after surgery. These symptoms persist for as long as three months in 10 % of patients. From a clinical point of view, however, the underlying cause for the cognitive impairments remain unclear. It is assumed the different factors such as the patients education, the type of surgery, surgical complications, postoperative pain or even hospitalization might play an important role. As a result of this, clinical studies on the effect of anesthesia on cognition have inherent limitations, e.g. they do not enable the investigator to discern between possible surgical or social factors which both can have an impact on postoperative cognitive function. Consequently there is a need for studies in a reliable animal model.

48 male BL6 mice (age: 4 months) were exposed to general anesthesia with a duration of 2h or sham-anesthetized. All mice were placed in a perspex chamber, where they were exposed to 100 % oxygen. In the anesthesia group 2.5 Vol% isoflurane was added after 3 min for 1 min. After 4 min all mice were removed from the chamber. The non-anesthetized animals were put back into their home-cages, the induced mice were kept under anesthesia via a nosecone. The mice breathed isoflurane in oxygen/air spontaneously for 2h. Both heart rate and respiratory frequency were monitored. The rectal temperature was measured and maintained between 37.5 and 38°C by applying a warming blanket. After 2h of anesthesia, all animals were placed into the induction chamber again which was then flushed with oxygen to terminate anesthesia. The mice were allowed to recover for 30 min in the chamber before being transferred back into their home-cages. The cognitive testing was carried out 24h or 7d later with the modified hole-board (mHB) test on 8 consecutive days. The mHB consists of an opaque grey board on which 10 cylinders are placed in 2 lines. The board is placed in the middle of a box, thus representing the unprotected central area of an open field. Each cylinder contains a small piece of almond, which is placed underneath a grid and therefore cannot be removed by the animals. 3 out of 10 cylinders are marked with white tape and in these another piece of almond is placed on top of the grid as a food reward which can be reached by the

animals. The positions of these marked and baited cylinders on the board are changed randomly. During the 8 days mice learn to visit only marked and baited cylinders.

Results revealed faster learning in anesthetized mice when compared with non-anesthetized controls when the test was carried out on day 1 after anesthesia. They made less errors and needed less time to perform a trial. There was no significant difference between groups when the test was carried out on day 7 after anesthesia which means that the effect was completely reversible.

Therefore the present data suggest that isoflurane anesthesia ameliorates hippocampal dependent learning and memory.

7 Literaturverzeichnis

ABILDSTROM H, RASMUSSEN LS, RENTOWL P, HANNING CD, RASMUSSEN H, KRISTENSEN PA, MOLLER JT

Cognitive dysfunction 1-2 years after non-cardiac surgery in the elderly. ISPOCD group. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction
Acta Anaesthesiol Scand 2000; 44:1246-51

ALEF M

Eigenschaften gängiger Inhalationsanästhetika
Kleint. konkr 1999; 1:10-6

ALEF M, OECHTERING G

Inhalationsanästhetika und Trägergas

In: Alef M, Oechtering G (Hrsg.)

Praxis der Inhalationsanästhesie, Enke Verlag, Stuttgart, 2003; 1-13

ANCELIN ML, DE ROQUEFEUIL G, LEDESERT B, BONNEL F, CHEMINAL JC, RITCHIE K

Exposure to anaesthetic agents, cognitive functioning and depressive symptomatology in the elderly

Br J Psychiatry 2001; 178:360-6

APFEL CC, KRANKE P, KATZ MH, GOEPFERT C, PAPENFUSS T, RAUCH S, HEINECK R, GREIM CA, ROEWER N

Volatile anaesthetics may be the main cause of early but not delayed postoperative vomiting: a randomized controlled trial of factorial design

Br J Anaesth 2002; 88:659-68

BEDFORD PD

Adverse cerebral effects of anaesthesia on old people

Lancet 1955; 269:259-63

BEKKER A, SHAH R, QUARTERMAIN D, LI YS, BLANCK T

Isoflurane preserves spatial working memory in adult mice after moderate hypoxia

Anesth Analg 2006; 102:1134-8

BELZUNG C, LE PAPE G

Comparison of different behavioral test situations used in psychopharmacology for measurement of anxiety

Physiol Behav 1994; 56:623-8

BIEDLER A, JUCKENHOFEL S, LARSEN R, RADTKE F, STOTZ A, WARMANN J, BRAUNE E, DYTCKOWITZ A, HENNING F, STRICKMANN B, LAUVEN PM

[Postoperative cognition disorders in elderly patients. The results of the "International Study of Postoperative Cognitive Dysfunction" ISPOCD 1)]

Anaesthesist 1999; 48:884-95

BITSCH M, FOSS N, KRISTENSEN B, KEHLET H
Pathogenesis of and management strategies for postoperative delirium after hip fracture: a review
Acta Orthop Scand 2004; 75:378-89

BLUNDELL E
A psychological study of the effects of surgery on eighty-six elderly patients
Br J Soc Clin Psychol 1967; 6:297-303

BOTHSCHAFTER S
Auswirkungen der Narkose mit Isofluran auf die kognitive Leistungsfähigkeit von 3 Monaten alten, transgenen Alzheimer-Mäusen und ihren gesunden Wurfgeschwistern
Vet Med Diss, München 2005

BRAND N, JOLLES J
Learning and retrieval rate of words presented auditorily and visually
J Gen Psychol 1985; 112:201-10

BRYSON GL, WYAND A
Evidence-based clinical update: general anesthesia and the risk of delirium and postoperative cognitive dysfunction
Can J Anaesth 2006; 53:669-77

BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTERN (BMELF 2007)
Tierschutzbericht

BUTTERFIELD NN, GRAF P, RIES CR, MACLEOD BA
The effect of repeated isoflurane anesthesia on spatial and psychomotor performance in young and aged mice
Anesth Analg 2004; 98:1305-11, table of contents

CAMPBELL C, ANDREEN M, BATTITO MF, CAMPORESI EM, GOLDBERG ME, GROUNDS RM, HOBBAHN J, LUMB P, MURRAY JM, SOLANKI DR, HEARD SO, CORIAT P
A phase III, multicenter, open-label, randomized, comparative study evaluating the effect of sevoflurane versus isoflurane on the maintenance of anesthesia in adult ASA class I, II, and III inpatients
J Clin Anesth 1996; 8:557-63

CAMPBELL DN, LIM M, MUIR MK, O'SULLIVAN G, FALCON M, FISON P, WOODS R
A prospective randomised study of local versus general anaesthesia for cataract surgery
Anaesthesia 1993; 48:422-8

CANET J, RAEDER J, RASMUSSEN LS, ENLUND M, KUIPERS HM, HANNING CD, JOLLES J, KORTTILA K, SIERSMA VD, DODDS C, ABILDSTROM H, SNEYD JR, VILA P, JOHNSON T, MUNOZ CORSINI L, SILVERSTEIN JH, NIELSEN IK, MOLLER JT
Cognitive dysfunction after minor surgery in the elderly
Acta Anaesthesiol Scand 2003; 47:1204-10

CANTWELL SL

Ferret, rabbit, and rodent anesthesia

Vet Clin North Am Exot Anim Pract 2001; 4:169-91

CASATI A, ALDEGHERI G, VINCIGUERRA E, MARSAN A, FRASCHINI G, TORRI G

Randomized comparison between sevoflurane anaesthesia and unilateral spinal anaesthesia in elderly patients undergoing orthopaedic surgery

Eur J Anaesthesiol 2003; 20:640-6

CROSBY C, CULLEY DJ, BAXTER MG, YUKHANANOV R, CROSBY G

Spatial memory performance 2 weeks after general anesthesia in adult rats

Anesth Analg 2005; 101:1389-92

CULLEY DJ, BAXTER M, YUKHANANOV R, CROSBY G

The memory effects of general anesthesia persist for weeks in young and aged rats

Anesth Analg 2003; 96:1004-9, table of contents

DECKER MW

Animal models of cognitive function

Crit Rev Neurobiol 1995; 9:321-43

DIKMEN Y, EMINOGLU E, SALIHOGLU Z, DEMIROLUK S

Pulmonary mechanics during isoflurane, sevoflurane and desflurane anaesthesia

Anaesthesia 2003; 58:745-8

EGER EI, 2ND

Isoflurane: a review

Anesthesiology 1981; 55:559-76

EGER EI, 2ND

Current and future perspectives on inhaled anesthetics

Pharmacotherapy 1998; 18:895-910

EGER EI, 2ND

Characteristics of anesthetic agents used for induction and maintenance of general anesthesia

Am J Health Syst Pharm 2004; 61 Suppl 4:S3-10

EICHENBAUM H

The hippocampus and mechanisms of declarative memory

Behav Brain Res 1999; 103:123-33

ERHARDT W, HEBESTEDT A, ASCHENBRENNER G, PICHOTKA B, BLUMEL G

A comparative study with various anesthetics in mice (pentobarbitone, ketamine-xylazine, carfentanyl-etomidate)

Res Exp Med (Berl) 1984; 184:159-69

ERHARDT W, HENKE J, BRILL T, LENDL C, SCHWARZ G, MATBURGER C, ASTNER S, VÖLKER D, BÖTTCHER P

Anästhesie

Skriptenverein der tierärztlichen Fakultät der LMU München 1998; 10-40

ERHARDT W, HENKE J, KROKER R

Inhalationsanästhetika, In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J (Hrsg.)

Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, Schattauer Verlag, Stuttgart, 2004; 67-84

FARAG E, CHELUNE GJ, SCHUBERT A, MASCHA EJ

Is depth of anesthesia, as assessed by the Bispectral Index, related to postoperative cognitive dysfunction and recovery?

Anesth Analg 2006; 103:633-40

FEE JP, THOMPSON GH

Comparative tolerability profiles of the inhaled anaesthetics

Drug Saf 1997; 16:157-70

FONG HK, SANDS LP, LEUNG JM

The role of postoperative analgesia in delirium and cognitive decline in elderly patients: a systematic review

Anesth Analg 2006; 102:1255-66

FREY HH, SCHULZ R, WERNER E

Narkotika und Anästhetika, In: Frey HH, Löscher W (Hrsg.)

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, Enke Verlag, Stuttgart, 1996; 145-63

GALLINAT J, MOLLER H, MOSER RL, HEGERL U

Postoperative delirium: risk factors, prophylaxis and treatment

Anaesthesist 1999; 48:507-18

GOLDMAN-RAKIC PS

Regional and cellular fractionation of working memory

Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13473-80

GUO Y, WU WJ, QIU Y, TANG XL, YANG Z, BOLLI R

Demonstration of an early and a late phase of ischemic preconditioning in mice

Am J Physiol 1998;275:1375-87

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

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

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

HALL C

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

J Comp Physiol Psychol 1936;22:345-52

HANNING CD

Postoperative cognitive dysfunction
Br J Anaesth 2005; 95:82-7

HENKE J, KOCH M, BRILL T, BOLKART B, JANCZEWSKI M, ERHARDT W
Zur Isoflurannarkose beim Kaninchen im geschlossenen Narkosesystem
Tierärztl Prax 1996; 24:604-9

HOLADAY DA, FISEROVA-BERGEROVA V, LATTO IP, ZUMBIEL MA
Resistance of isoflurane to biotransformation in man
Anesthesiology 1975; 43:325-32

HOLADAY DA, SMITH FR
Clinical characteristics and biotransformation of sevoflurane in healthy human volunteers
Anesthesiology 1981; 54:100-6

HUDETZ JA, IQBAL Z, GANDHI SD, PATTERSON KM, HYDE TF, REDDY DM,
HUDETZ AG, WARLTIER DC
Postoperative cognitive dysfunction in older patients with a history of alcohol abuse
Anesthesiology 2007; 106:423-30

JOHNSON T, MONK T, RASMUSSEN LS, ABILDSTROM H, HOUX P, KORTTILA
K, KUIPERS HM, HANNING CD, SIERSMA VD, KRISTENSEN D, CANET J,
IBANAZ MT, MOLLER JT
Postoperative cognitive dysfunction in middle-aged patients
Anesthesiology 2002; 96:1351-7

KAWAGUCHI M, DRUMMOND JC, COLE DJ, KELLY PJ, SPURLOCK MP, PATEL
PM
Effect of isoflurane on neuronal apoptosis in rats subjected to focal cerebral ischemia
Anesth Analg 2004; 98:798-805, table of contents

KAWAGUCHI M, KIMBRO JR, DRUMMOND JC, COLE DJ, KELLY PJ, PATEL PM
Isoflurane delays but does not prevent cerebral infarction in rats subjected to focal
ischemia
Anesthesiology 2000; 92:1335-42

KESNER RP, HOPKINS RO
Mnemonic functions of the hippocampus: a comparison between animals and humans
Biol Psychol 2006; 73:3-18

KOHLER P
Working place anesthesia and intensive care medicine--today and tomorrow
Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 1998; 33 Suppl 1:S3-21

KOMATSU H, NOGAYA J, ANABUKI D, YOKONO S, KINOSHITA H,
SHIRAKAWA Y, OGLI K
Memory facilitation by posttraining exposure to halothane, enflurane, and isoflurane in
ddN mice
Anesth Analg 1993; 76:609-12

KOMATSU H, NOGAYA J, KURATANI N, UEKI M, YOKONO S, OGLI K

Repetitive post-training exposure to enflurane modifies spatial memory in mice
Anesthesiology 1998; 89:1184-90

KURODA Y, MURAKAMI M, TSURUTA J, MURAKAWA T, SAKABE T
Preservation of the ration of cerebral blood flow/metabolic rate for oxygen during
prolonged anesthesia with isoflurane, sevoflurane, and halothane in humans
Anesthesiology 1996; 84:555-61

LARSEN R

Inhalationsanästhesie, In: Larsen R (Hrsg.)
Anästhesie, Urban und Schwarzenberg Verlag, München, Wien, Baltimore; 3.Aufl.;189-
219

LANGER G, KARAZMAN R, NEUMARK J, SALETU B, SCHONBECK G,
GRUNBERGER J, DITTRICH R, PETRICEK W, HOFFMAN P, LINZMAYER L,
ANDERER P, STEINBERGER K
Isoflurane narcotherapy in depressive patients refractory to conventional antidepressant
drug treatment. A double-blind comparison with electroconvulsive treatment
Neuropsychobiology 1995; 31:182-94

LIU H, GOODMAN IL, ROBERTSON CS

The effects of L-arginine on cerebral hemodynamics after controlled cortical impact
injury in the mouse
J Neurotrauma 2002; 19:327-34

MACARIO A, VITEZ TS, DUNN B, MCDONALD T

Where are the costs in perioperative care? Analysis of hospital costs and charges for
inpatient surgical care
Anesthesiology 1995; 83:1138-44

MALVIYA S, LERMAN J

The blood/gas solubilities of sevoflurane, isoflurane, halothane, and serum constituent
concentrations in neonates and adults
Anesthesiology 1990; 72:793-6

MCCUSKER J, COLE M, ABRAHAMOWICZ M, PRIMEAU F, BELZILE E

Delirium predicts 12-month mortality
Arch Intern Med 2002; 162:457-63

MCCUSKER J, COLE MG, DENDUKURI N, BELZILE E

Does delirium increase hospital stay?
J Am Geriatr Soc 2003; 51:1539-46

MCEWEN BS, SAPOLSKY RM

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

MCKHANN GM, GOLDSBOROUGH MA, BOROWICZ LM, JR., SELNES OA,
MELLITS ED, ENGER C, QUASKEY SA, BAUMGARTNER WA, CAMERON DE,
STUART RS, GARDNER TJ

Cognitive outcome after coronary artery bypass: a one-year prospective study

Ann Thorac Surg 1997; 63:510-5

MIURA Y, GROCOTT HP, BART RD, PEARLSTEIN RD, DEXTER F, WARNER DS
Differential effects of anesthetic agents on outcome from near-complete but not
incomplete global ischemia in the rat
Anesthesiology 1998; 89:391-400

MOLLER JT, CLUITMANS P, RASMUSSEN LS, HOUX P, RASMUSSEN H, CANET
J, RABBITT P, JOLLES J, LARSEN K, HANNING CD, LANGERON O, JOHNSON T,
LAUVEN PM, KRISTENSEN PA, BIEDLER A, VAN BEEM H, FRAIDAKIS O,
SILVERSTEIN JH, BENEKEN JE, GRAVENSTEIN JS
Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly ISPOCD1 study. ISPOCD
investigators. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction
Lancet 1998; 351:857-61

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

MUIR WW
Inhalationanästhetika, In: Muir WW, Hubbel JAE, Skarda RT (Hrsg.)
Veterinärnästhesie, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 71-6

MULLER SV, KRAUSE N, SCHMIDT M, MUNTE TF, MUNTE S
[Cognitive dysfunction after abdominal surgery in elderly patients]
Z Gerontol Geriatr 2004; 37:475-85

NEWBERG LA, MILDE JH, MICHENFELDER JD
Systemic and cerebral effects of isoflurane-induced hypotension in dogs
Anesthesiology 1984; 60:541-6

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

NEWMAN S, STYGALL J, HIRANI S, SHAEFI S, MAZE M
Postoperative cognitive dysfunction after noncardiac surgery: a systematic review
Anesthesiology 2007; 106:572-90

OHL F
Testing for anxiety
Clin Neurosci Res 2003; 3:233-8

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

OHL F, HOLSBOER F, LANDGRAF R
The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents
Behav Res 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, ROEDEL A, BINDER E, HOLSBOER F

Impact of high and low anxiety on cognitive performance in a modified hole board test in C57BL/6 and DBA/2 mice

Eur J Neurosci 2003; 17:128-36

OHL F, ROEDEL A, STORCH C, HOLSBOER F, LANDGRAF R

Cognitive performance in rats differing in their inborn anxiety

Behav Neurosci 2002; 116:464-71

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

O'KEEFFE NJ, HEALY TE

The role of new anesthetic agents

Pharmacol Ther 1999; 84:233-48

OLTON DS

Frontal cortex, timing and memory

Neuropsychologia 1989; 27:121-30

OLTON DS, SAMUELSON R

Remembrance of places passed spatial memory in rats

J Exp Psychol 1976; 2:97-116

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

RASMUSSEN LS

Post-operative cognitive dysfunction in the elderly

Acta Anaesthesiol Scand 2005; 49:1573

RASMUSSEN LS, LARSEN K, HOUX P, SKOVGAARD LT, HANNING CD,

MOLLER JT

The assessment of postoperative cognitive function

Acta Anaesthesiol Scand 2001; 45:275-89

REITAN R

Validity of the trail making test as an indicator of organic brain damage

Percept Mot Skills 1958; 8:271-6

ROACH GW, KANCHUGER M, MANGANO CM, NEWMAN M, NUSSMEIER N,

WOLMAN R, AGGARWAL A, MARSCHALL K, GRAHAM SH, LEY C

Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and Education Foundation Investigators
N Engl J Med 1996; 335:1857-63

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

SCHELLER MS, TATEISHI A, DRUMMOND JC, ZORNOW MH
The effects of sevoflurane on cerebral blood flow, cerebral metabolic rate for oxygen, intracranial pressure, and the electroencephalogram are similar to those of isoflurane in the rabbit
Anesthesiology 1988; 68:548-51

SHICHINO T, MURAKAWA M, ADACHI T, NAKAO S, SHINOMURA T, KURATA J, MORI K
Effects of isoflurane on in vivo release of acetylcholine in the rat cerebral cortex and striatum
Acta Anaesthesiol Scand 1997; 41:1335-40

SILVERSTEIN JH, TIMBERGER M, REICH DL, UYSAL S
Central nervous system dysfunction after noncardiac surgery and anesthesia in the elderly
Anesthesiology 2007; 106:622-8

SIMPSON BR, WILLIAMS M, SCOTT JF, SMITH AC
The effects of anesthesia and elective surgery on old people
Lancet 1961; 2:887-93

SMITH RJ, ROBERTS NM, RODGERS RJ, BENNETT S
Adverse cognitive effects of general anaesthesia in young and elderly patients
Int Clin Psychopharmacol 1986; 1:253-9

SONNER JM, GONG D, LI J, EGER EI, 2ND, LASTER MJ
Mouse strain modestly influences minimum alveolar anesthetic concentration and convulsivity of inhaled compounds
Anesth Analg 1999; 89:1030-4

SOONTHON-BRANT V, PATEL PM, DRUMMOND JC, COLE DJ, KELLY PJ, WATSON M
Fentanyl does not increase brain injury after focal cerebral ischemia in rats
Anesth Analg 1999; 88:49-55

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

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

STACHNIK J

Inhaled anesthetic agents

Am J Health Syst Pharm 2006; 63:623-34

STECKLER T, MUIR JL

Measurement of cognitive function: relating rodent performance with human minds

Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:299-308

STROOP JR

Studies of interference in-serial verbal reactions

J Exp Psychol 1935; 18:643-62

STRUM DP, EGER EI, 2ND

Partition coefficients for sevoflurane in human blood, saline, and olive oil

Anesth Analg 1987; 66:654-6

TANG YP, SHIMIZU E, DUBE GR, RAMPON C, KERCHER GA, ZHUO M, LIU G, TSIEN JZ

Genetic enhancement of learning and memory in mice

Nature 1999; 401:63-69

TERRIET MF, DESOUZA GJ, JACOBS JS, YOUNG D, LEWIS MC, HERRINGTON C, GOLD MI

Which is most pungent: isoflurane, sevoflurane or desflurane?

Br J Anaesth 2000; 85:305-7

TO CT, BAGDY G

Anxiogenic effect of central CCK administration is attenuated by chronic fluoxetine or ipsapirone treatment

Neuropharmacology 1999; 38:279-82

VIVIEN B, HANOZ JL, GUEUGNIAUD PY, LECARPENTIER Y, CORIAT P, RIOU B

Myocardial effects of halothane and isoflurane in hamsters with hypertrophic cardiomyopathy

Anesthesiology 1997; 87:1406-16

WANG Y, SAND P

The effects of postoperative pain and its management on postoperative cognitive dysfunction

Am J Geriatric Psychiatry 2007; 50:50-3

WARNER DS, MCFARLANE C, TODD MM, LUDWIG P, MCALLISTER AM
Sevoflurane and halothane reduce focal ischemic brain damage in the rat. Possible influence on thermoregulation

Anesthesiology 1993; 79:985-92

WERNER C, MOLLENBERG O, KOCHS E, SCHULTE JAE

Sevoflurane improves neurological outcome after incomplete cerebral ischaemia in rats

Br J Anaesth 1995; 75:756-60

WU CL, HSU W, RICHMAN JM, RAJA SN

Postoperative cognitive function as an outcome of regional anesthesia and analgesia
Reg Anesth Pain Med 2004; 29:257-68

YASUDA N, TARG AG, EGER EI, 2ND, JOHNSON BH, WEISKOPF RB

Pharmacokinetics of desflurane, sevoflurane, isoflurane, and halothane in pigs
Anesth Analg 1990; 71:340-8

YOUNG CJ, APFELBAUM JL

Inhalational anesthetics: desflurane and sevoflurane
J Clin Anesth 1995; 7:564-77

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Differentialdiagnose Delir und POCD (GALLINAT et al., 1999)	4
Tabelle 2: Lochkombinationen an den verschiedenen Testtagen.....	27
Tabelle 3: Im modifizierten Hole-Board-Test auswertbare Parameter	31
Tabelle 4: Kognitive Parameter: Gesamtzeit (Time Trial), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices), wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices), Auslassfehler (Omission Errors)	33
Tabelle 5: Verhaltensparameter für Angstverhalten: auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit (Time on Board), Latenz bis zum ersten mHB (Latency First Entry on Board), Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries)	42
Tabelle 6: Verhaltensparameter für Angst und Allgemeinbefinden: Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility)	48
Tabelle 7: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited) und ungerichteter Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)	50
Tabelle 8: Verhaltensparameter für Erregung: Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming)	55
Tabelle 9: Verhaltensparameter für Lokomotion: Anzahl an Linienübertritten (Line Crossings)	56

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: zeitliches Auftreten von Delir und POCD.	3
Abbildung 2: Beispiel eines Trail-Making Tests.	7
Abbildung 3: Schema des Morris-Water-Maze (modifiziert nach MORRIS et al., 1982).	10
Abbildung 4: Schema des Open-Field-Tests: Aufteilung der Versuchsarena in peripheren und zentralen Bereich, sowie mögliche Startpunkte des Tests (modifiziert nach PRUT und BELZUNG, 2003).	11
Abbildung 5: Schema des modifizierten Hole-Boards nach Ohl.	12
Abbildung 6: Strukturformel von Isofluran.	16
Abbildung 7: Gruppeneinteilung.	22
Abbildung 8: Maus zur Einleitung der Narkose in der Narkosekammer.	23
Abbildung 9: Maus während der Inhalationsnarkose an der Nasenkammer angeschlossen.	24
Abbildung 10: Aufbau des modifizierten Hole-Board für Mäuse.	26
Abbildung 11: zeitlicher Versuchsplan.	29
Abbildung 12: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Gesamtzeit eines Durchlaufes (Time Trial (s)).	34
Abbildung 13: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl falsch besuchter Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)).	36
Abbildung 14: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices).	38
Abbildung 15: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl nicht besuchter Löcher (Omission Errors (Anzahl pro Durchlauf)).	40
Abbildung 16: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der auf dem Board verbrachten Gesamtzeit (Time on Board (% Time Trial)).	43
Abbildung 17: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board (s)).	45
Abbildung 18: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries (Anzahl pro Durchlauf)).	47
Abbildung 19: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% Time Trial)).	49
Abbildung 20: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited (Anzahl pro Durchlauf)) über den gesamten Beobachtungszeitraum.	51
Abbildung 21: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings (Anzahl pro Durchlauf)).	53
Abbildung 22: Vergleichende Grafik (MW (\pm SEM)) der Anzahl der Linienübertritte (Line Crossings (Anzahl pro Minute)).	57

10 Abkürzungsverzeichnis

bzw.	beziehungsweise
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
°C	Grad Celsius
D	Tag
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
Fa	Firma
ggf.	gegebenfalls
g	Gramm
mm	Millimeter
Fa.	Firma
g	Gramm
h	Stunde
KGW	Körpergewicht
LTP	Langzeitpotenzierung
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
µl	Mikroliter
µg	Mikrogramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
min	Minute
MAC	minimal alveoläre Konzentration
mHBT	modifizierter Hole-Board-Test
MW	Mittelwert
O ₂	Sauerstoff
OP	Operation
PaCO ₂	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PaO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
Post-Op	postoperativ
POCD	postoperative kognitive Defizite
pH-Wert	Wasserstoffionen-Wert
s	Sekunde
SEM	Standardfehler
Vs.	versus
Vol %	Volumen Prozent
v.a.	vor allem
ZNS	zentrales Nervensystem

11 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. vet. M. Erhard möchte ich besonders herzlich für die Übernahme der Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität München danken.

Für die Möglichkeit, die tierexperimentellen Arbeiten am Zentrum für Präklinische Forschung der Technischen Universität München durchführen zu können, bedanke ich mich bei Herrn Dr. med. vet. T. Brill.

Ebenso gilt mein Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dipl. Phys. E. Kochs, Direktor der Klinik für Anaesthesiologie der TU München für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und Herrn Prof. Dr. med. M. Blobner, Oberarzt der Klinik für Anaesthesiologie der Technischen Universität München für die Überlassung des Themas.

Ein besonderes Dankeschön gilt Frau PD Dr. med. vet. J. Henke für die detaillierte Korrektur der Arbeit und Ihrer unermüdlichen Unterstützung.

Meinen Betreuerinnen Frau Dr. med. vet. Anja Berkmann und Frau Dr. med. vet. Laura Starker möchte ganz herzlich für die ausdauernde Motivation, professionelle Beratung und unermüdliches Korrekturlesen der Doktorarbeit danken.

Meinen Mitstreiterinnen Alexandra Plack und Manuela Käser danke ich für Ihre zuverlässige und nette Zusammenarbeit im Ratten- und Mäusestall.

Dankbar bin ich auch Frau Dr. med. vet. Kristine Kellermann, Frau D. Droese, Frau A. Frye für die freundliche Unterstützung im Labor.

Bei den Tierpflegerinnen und Tierpflegern des ZPF möchte ich mich herzlich für die problemlose Zusammenarbeit bei der Pflege der Tiere bedanken.

Ganz herzlich möchte ich mich bei meiner Familie und bei meinen Freunden für die liebevolle Unterstützung und großartige Motivation bei der Erstellung der Doktorarbeit bedanken.

Mein letzter Dank gilt allen Mäusen dieses Versuchs, die mir mit Ihrem unkomplizierten Charakter und freundlichen Wesen viel Freude bei der Durchführung der Verhaltenstest bereitet haben.