

**Auswirkungen der Narkose mit Isofluran auf
die kognitive Leistungsfähigkeit von 3 Monate
alten, transgenen Alzheimer-Mäusen und ihren
gesunden Wurfgeschwistern**

Sandra Martina Bothschafter

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

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

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

**Auswirkungen der Narkose mit Isofluran auf die kognitive
Leistungsfähigkeit von 3 Monate alten, transgenen Alzheimer-
Mäusen und ihren gesunden Wurfgeschwistern**

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

von
Sandra Martina Bothschafter
aus
München

München, 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent: Univ.-Prof. Dr. M. H. Erhard
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. E. Wolf

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

Meinen Eltern

1	Einleitung.....	1
2	Schrifttum.....	3
2.1	<i>Die Alzheimer Krankheit.....</i>	3
2.1.1	Allgemeines	3
2.1.2	Mausmodelle zur Alzheimer Krankheit	5
2.2	<i>Die Inhalationsnarkose mit Isofluran.....</i>	8
2.2.1	Chemisch–physikalische Eigenschaften von Isofluran	8
2.2.2	Pharmakokinetik	9
2.2.2.1	An-und Abflutung	9
2.2.2.2	Metabolisierung.....	9
2.2.3	Pharmakodynamik.....	9
2.2.3.1	Anästhetische Wirksamkeit.....	9
2.2.3.2	Wirkung auf das ZNS.....	10
2.2.3.3	Wirkung auf das Herz–Kreislauf–System.....	10
2.2.3.4	Wirkung auf die Atmung.....	11
2.2.3.5	Wirkung auf andere Organsysteme	11
2.2.3.6	Neuroprotektivität	12
2.2.3.7	Toxikologie	13
2.3	<i>Lern- und Gedächtnisprozesse</i>	14
2.3.1	Allgemeines	14
2.3.2	Das Langzeitgedächtnis.....	14
2.3.2.1	Das deklarative Gedächtnis.....	16
2.3.2.2	Nicht–deklaratives Gedächtnis.....	18
2.3.3	Das Arbeitsgedächtnis.....	19
2.4	<i>Verhalten und Verhaltenstests.....</i>	23
2.4.1	Verhaltenstests im Überblick	23
2.4.2	Das modifizierte Hole Board.....	26
3	Eigene Untersuchungen.....	27
3.1	<i>Zielvorstellungen.....</i>	27
3.2	<i>Material und Methoden.....</i>	27
3.2.1	Versuchstiere.....	27
3.2.2	Haltungsbedingungen.....	28
3.2.2.1	Mäuseraum.....	28
3.2.2.2	Käfige	28
3.2.2.3	Futter und Einstreu.....	28
3.2.3	Versuchsplan	28
3.2.4	Die Narkose.....	31
3.2.5	Der modifizierte Hole Board Test.....	34
3.2.5.1	Die Futterbelohnung.....	37
3.2.5.2	Hole Board Protokoll	38
3.2.5.3	Der Versuchsablauf.....	40
3.2.5.4	Täglicher Ablauf	40
3.2.6	Untersuchte Parameter	41
3.2.6.1	Gedächtnisparameter.....	42
3.2.6.2	Verhaltensparameter	43
3.2.7	Statistik.....	47
3.3	<i>Ergebnisse.....</i>	48
3.3.1	Klinische Unterschiede	48
3.3.2	Kognitive Parameter.....	48
3.3.3	Verhaltensparameter	56

4	Diskussion	76
4.1	<i>Diskussion der Methoden</i>	76
4.1.1	Das APP23 Maus-Modell der Alzheimer-Krankheit.....	76
4.1.2	Der modifizierte Hole-Board-Test	78
4.2	<i>Bewertung der Testparameter und Diskussion der Ergebnisse</i>	80
5	Zusammenfassung	90
6	Summary	91
7	Literaturverzeichnis	92
8	Tabellenverzeichnis	103
9	Abbildungsverzeichnis	104
10	Abkürzungsverzeichnis	106
11	Danksagung	107
12	Lebenslauf	108

1 EINLEITUNG

Es ist bekannt, dass ältere Patienten nach einer Operation häufig an kognitiven Defiziten leiden. 2001 berichteten ANCELIN und Kollegen, dass bei 65 % der Patienten postoperative Gedächtnisbeeinträchtigungen noch 3 Monaten nach der Operation vorkamen. Besonders gefährdet dafür schienen Patienten mit bereits bestehenden kognitiven Beeinträchtigungen zu sein.

Unter allen Demenzformen ist die Alzheimer-Krankheit eine der häufigsten Ursachen. Oftmals wird auch von Alzheimer-Patienten selbst oder von deren Angehörigen berichtet, dass sich das Leiden in Folge einer Operation verschlechtert habe. Ursachen für diese Kurz- und Langzeitgedächtnisbeeinträchtigungen könnten, neben zahlreichen anderen Faktoren wie Transport, Ortswechsel, Hypotension oder Sauerstoffmangel, sowohl in der Anästhesie als auch in dem operativen Eingriff selbst liegen.

Die ISPOCD 1 Studie, eine Langzeitstudie über postoperative kognitive Defizite bei älteren Patienten, legt nahe, dass vor allem die Dauer der Narkose einen Risikofaktor für frühe postoperative kognitive Defizite darstellt (zitiert bei BERG und MORRIS, 1994). Dies bedeutet aber nicht zwangsläufig, dass die Narkose selbst dafür verantwortlich sein muss. Klinische Studien mit Menschen machen nämlich eine Differenzierung zwischen den Einflüssen der Operation selbst, der dieser Operation zugrundeliegenden Erkrankung und der dafür nötigen Anästhesie schwierig. Darüber hinaus sind Auswirkungen der Anästhesie selbst auf Alzheimer-Patienten auch noch unklar.

Mittlerweile existieren mehrere verschiedene transgene Mauslinien der Alzheimer-Krankheit, die zur Untersuchung dieser Erkrankung entwickelt wurden (YAMADA und NABESHIMA, 2000; HIGGINS und JACOBSON, 2003). Darunter entwickelt die APP23-Mauslinie die typischen histologischen und kognitiven Eigenschaften der Alzheimer-Krankheit (STURCHLER-PIERRAT et al., 1997), die auf einer Überexpression des Amyloid-Vorläufer-Proteins (APP) basieren. Im Tiermodell sind Auswirkungen einer länger anhaltenden Narkose ohne Operationsindikation im Gegensatz zu Studien mit menschlichen Patienten gut zu untersuchen.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die Auswirkungen des prominentesten Vertreters der Inhalationsanästhetika, dem Isofluran, auf die kognitive Funktion an vorgeschädigten Gehirnen anhand eines transgenen Mausmodells der Alzheimer-Krankheit (schwedische APP Mutation) zu eva-

EINLEITUNG

luieren. Dafür werden Verhalten und Kognition von 3 Monate alten, transgenen APP23-Mäusen mit dem ihrer gesunden Wurfgeschwister jeweils mit oder ohne vorhergehender Isoflurannarkose verglichen. Kognition und Verhalten werden mit dem modifizierten Hole-Board-Test (OHL et al., 2001a) evaluiert, mit dem zusätzlich zu angstassoziiertem Verhalten auch Risikoabschätzung, Exploration, lokomotorische Aktivität, Erregung und soziale Affinität der Tiere untersucht werden können (OHL et al., 2001b).

2 SCHRIFTTUM

2.1 Die Alzheimer Krankheit

2.1.1 Allgemeines

Bei der Alzheimer Krankheit handelt es sich um eine progressive, neurodegenerative Erkrankung des ZNS, die nach dem deutschen Neuropathologen Alois Alzheimer benannt wurde, der sie 1907 erstmals als einen Krankheitszustand beschrieb, der durch einen irreversiblen, mentalen Verfall gekennzeichnet ist.

Die Alzheimer-Krankheit zählt zu den häufigsten Ursachen für altersbedingte (senile) Demenz mit einer weltweiten Verbreitung. Betroffen sind bis zum heutigen Zeitpunkt etwa 9 Millionen Menschen. Eine Zahl, die augenblicklich jährlich mit einer Rate von 2 bis 3 % ansteigt, sowohl aufgrund der alternden Population, als auch durch verbesserte Diagnosestellung für diese Krankheit (HIGGINS und JACOBSEN, 2003). Allein in den USA soll sich die Zahl der Erkrankten nach Hochrechnungen im Jahre 2050 auf 13,2 Millionen belaufen (HEBERT et al., 2003).

Klinisch manifestiert sich diese Krankheit im Frühstadium erst nur mit geringgradigen Störungen, so vor allem mit Defiziten beim Lernen und Behalten von neuen Informationen. Auch Funktionen, die zielgerichtetes, bewusstes Handeln oder Planen erfordern, scheinen schon relativ früh beeinträchtigt zu sein. Im nächsten Stadium kommen Sprachstörungen, wie Probleme bei der richtigen Wortwahl, und Störungen in der visuell-räumlichen Wahrnehmung dazu, wodurch die Patienten in ihrer Abneigung, vertraute Umgebung zu verlassen, bestärkt werden (HOPPER et al., 2001; FERNANDEZ et al., 2003). Daraufhin schwinden die kognitiven Fähigkeiten immer weiter, bis im Endstadium der Bezug zur Realität gänzlich verloren geht und der Erkrankte völlig auf die Hilfe anderer angewiesen ist. Verlust über fast alle körperlichen Funktionen und länger andauernde Bewusstseinsstörungen werden letztendlich gefolgt von Koma und Tod. Die meisten Alzheimer-Patienten sterben schließlich an Infektionen (CUMMINGS, 2004), wobei sich der Zeitraum von Beginn der Symptome bis zum Tod zwischen 8 und 10 Jahren bewegt (BERG und MORRIS, 1994).

Histopathologisch auffällig sind bei Alzheimer Patienten intrazelluläre Bildung von Neurofibrillen, extrazelluläre Ablagerungen sogenannter „seniler Plaques“ und Neuronenverlust. Die „senilen Plaques“ bestehen aus β -Amyloid Proteinen, die nach Spaltung aus dem Amyloid-Vorläufer-Protein (APP) gebildet werden. Immer mehr Wissenschaftler stimmen darin überein, dass die Akkumulation des β -Amyloid Peptids (A β) eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Alzheimer Krankheit spielt (HARDY und SELKOE, 2002). Die Proteinablagerungen scheinen infolge neurotoxischer Eigenschaften des β -Amyloids oder durch Beeinträchtigung der neuronalen Infrastruktur zu einem Neuronenverlust zu führen (SCHEUNER et al., 1996; CUMMINGS, 2004).

Aufgrund des unterschiedlichen Manifestationsalters kann man zwei Formen von Alzheimer: die präsenile, familiäre Form (early-onset) und die senile, sporadische Form (late-onset) unterscheiden.

Die präsenile, familiäre Form ist selten und betrifft etwa 5 bis 10 % der an Alzheimer Erkrankten. Sie ist dadurch charakterisiert, dass sich die ersten Symptome schon vor dem 60. Lebensjahr zeigen. Häufig scheinen autosomal-dominant vererbte Mutationen in bestimmten Genen, z. B. Chromosom 14 (Präsenilin-1), Chromosom 1 (Präsenilin-2) und Chromosom 21 (Amyloid-Vorläufer-Protein (APP)) für diese Form verantwortlich zu sein, wobei alle bekannten Mutationen mit einem Anstieg des β -Amyloids assoziiert sind (FERNANDEZ et al., 2003; CUMMINGS, 2004).

Die senile, sporadische Form ist die wesentlich häufigere Variante der Alzheimer Krankheit und entwickelt sich bei Patienten über 60 Jahren. Etwa 95 % aller Alzheimer Fälle gehören zu dieser Kategorie (HIGGINS und JACOBSON, 2003). Hierbei sind die Amyloid-Ablagerungen durch Faktoren bedingt, die den Abbau oder Abtransport des β -Amyloid Proteins behindern. Das Apolipoprotein E (ApoE) auf Chromosom 19 scheint einer der genetischen Angriffspunkte für diese Form zu sein (FERNANDEZ et al., 2003). Allerdings sind für einen Ausbruch dieser Krankheit wahrscheinlich viele verschiedene Risikofaktoren verantwortlich. Dazu gehören neben den diversen genetischen Faktoren auch das Alter (> 65 Jahre), zurückliegende Kopfverletzungen und ein niedriges Bildungsniveau. Genauso scheinen auch Menschen, die einen myokardialen Infarkt erlitten haben, an der Schilddrüse erkrankt sind, an Anfällen leiden oder in deren Familie Alzheimer bereits aufgetreten ist, für diese Krankheit prädisponiert zu sein. Auch sind Frauen häufiger betroffen als Männer (FERNANDEZ et al., 2003).

Bis zum jetzigen Zeitpunkt gibt es keine effektiven Behandlungsmöglichkeiten für die Krankheit selbst, allenfalls die Symptome können behandelt werden (FERNANDEZ et al., 2003).

2.1.2 Mausmodelle zur Alzheimer Krankheit

Für die Erforschung der Pathomechanismen der Alzheimer Krankheit und zur Entwicklung von neuen Behandlungsmethoden sind Tiermodelle extrem hilfreich. Es wurden zahlreiche verschiedene transgene Mausmodelle entwickelt, die, je nach Mauslinie, natürliches oder mutiertes APP alleine oder in Kombination mit den Präselinin-Genen überexprimieren (KELLY et al., 2003). Angestrebt wird bei einem solchen Modell, dass sich diese Erkrankung bei den Tieren sowohl in einem altersabhängigen, kognitiven Defizit, als auch in den für die Alzheimer Krankheit typischen, neuropathologischen Veränderungen zeigt (VAN DAM et al., 2003).

Eine der genetisch veränderten Mauslinien, die auch in dieser Studie eingesetzt wird, stellt die sogenannte „APP23-Mauslinie“ dar. Diese Tiere wurden erstmals von der Firma Novartis Pharma in Basel auf einer C57/6JXDBA2-hybrid-Grundlage gezüchtet und dann mindestens 9 Generationen auf die C57BL/6J Linie zurückgezüchtet.

Die transgenen Mäuse überexprimieren humane APP751 cDNA mit der schwedischen Doppelmutation K670N/M671L unter Kontrolle des Neuronen-spezifischen Maus Thy-1-Promotor Fragments (STURCHLER-PIERRAT et al., 1997). Verantwortlich für den Neuronenuntergang bei der Alzheimer Erkrankung und vermutlich auch für die klinischen Symptome scheint die vermehrte Bildung von zytotoxischen A β -Peptiden im Hirngewebe durch die Prozessierung des Amyloid-Vorläufer-Proteins (APP) zu sein. A β entsteht in pathologischen Konzentrationen bei einem Übergewicht des amyloiden Prozessierungswegs infolge der β - und γ -Sekretase (siehe Abbildung 1). Mutationen im APP Gen (hier die schwedische Doppelmutation von APP) verursachen eine Überproduktion von A β vermutlich infolge einer Aktivitätssteigerung der β -Sekretase. Bei den APP23-Mäusen wird diese Pathologie simuliert über eine erhöhte Freisetzung von A $\beta_{(40/42)}$ infolge der Doppelmutation und durch ein erhöhtes Substratangebot für die β -Sekretase, aufgrund einer etwa 7-fachen Überexpression des APP (APP751).

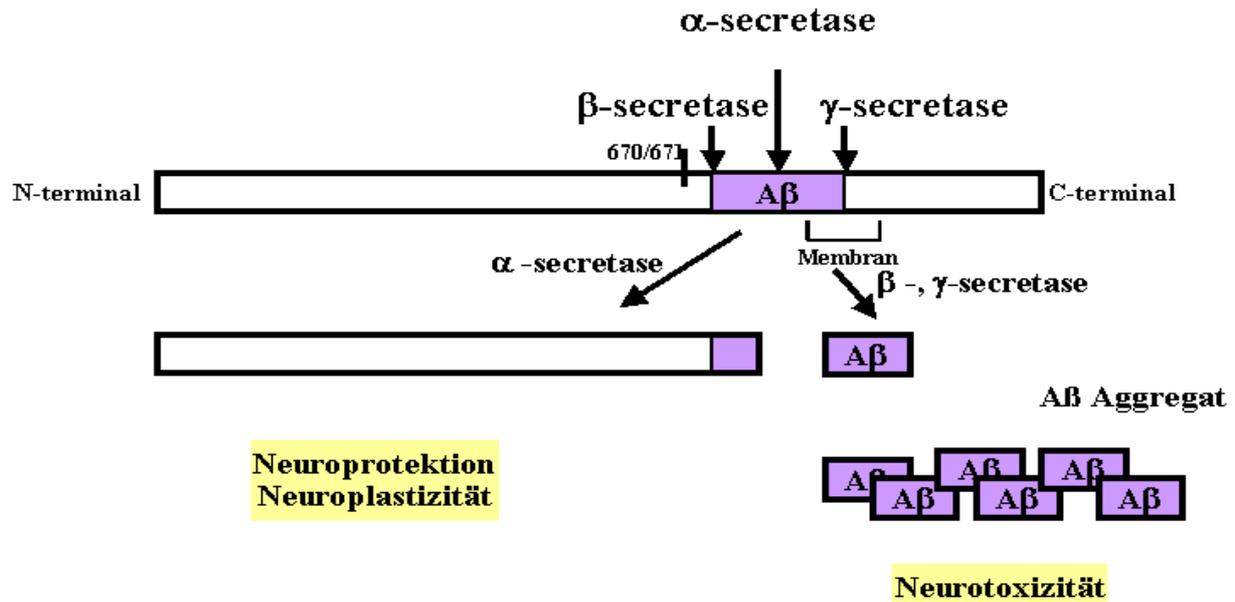


Abbildung 1: Prozessierungsweg des Amyloid-Vorläufer-Proteins (APP) zur Produktion von Aβ (nach SELKOE, 2001)

APP23-Mäuse zeigen eine progressive Ablagerung von Amyloid-Plaques, hyperphosphoryliertem tau Protein, aktivierter Mikroglia, die mit den Amyloid-Plaques assoziiert ist und einen Neuronenverlust in der Hippokampus Region (STURCHLER-PIERRAT et al., 1997; CALHOUN et al., 1998). Alle diese neuropathologischen Veränderungen sind auch bei Alzheimer Patienten zu finden.

Gleichzeitig konnten KELLY und Mitarbeiter (KELLY et al., 2003) und später VAN DAM et al. (2003) zeigen, dass bei dieser Mauslinie auch die für diese Krankheit typischen kognitiven Defizite ausgeprägt sind. Sie stellten ab einem Alter von 3 Monaten bei den APP23-Mäusen im Morris-Water-Maze große Lern- und Gedächtnisstörungen mit zusätzlichen Abweichungen im zirkadianen Rhythmus und der allgemeinen Aktivität fest, die stark an ebensolche Beobachtungen bei Alzheimer Patienten erinnern. Mit 6 Monaten verzeichneten sie in ihren Studien bei diesen Mäusen im Vergleich zu jüngeren transgenen Tieren histologisch einen 5-fachen Anstieg von Plaque-assoziierten, menschlichen Amyloid-β₁₄₂-Peptiden. Dieser Anstieg deckt sich mit dem ersten Erscheinen von Plaques in Hippokampus und Kortex. Räumliche Gedächtnisstörungen scheinen allerdings der Plaque-Bildung voranzugehen (VAN DAM et al., 2003).

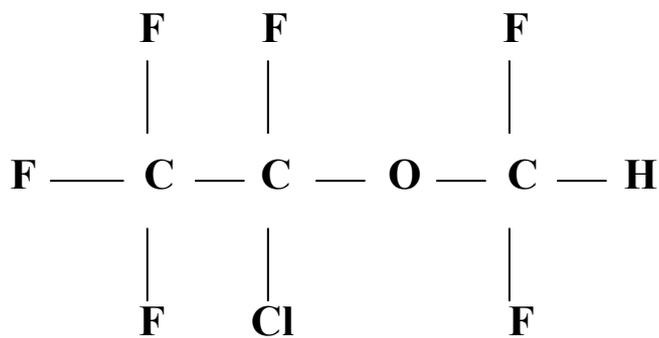
SCHRIFTTUM

Aufgrund dieser Eigenschaften kann das APP23 Mausmodell berechtigterweise als ein gut geeignetes Alzheimer Modell angesehen werden, um Pathomechanismen, die der Alzheimer Krankheit zugrunde liegen, zu erforschen oder neue Behandlungsstrategien zu entwickeln (VAN DAM et al., 2003; KELLY et al., 2003; STURCHLER-PIERRAT et al., 1997).

2.2 Die Inhalationsnarkose mit Isofluran

2.2.1 Chemisch–physikalische Eigenschaften von Isofluran

Chemisch gesehen handelt es sich bei Isofluran um einen halogenierten Methylether. Diese Verbindung mit der Bezeichnung 1-Chlor-2,2,2-trifluorethyl-difluor-methylether ist ein Strukturisomer von Enfluran (FREY et al., 1996).



Strukturformel von Isofluran

Isofluran liegt bei Raumtemperatur als farblose Flüssigkeit vor, zeichnet sich durch einen etherartig stechenden Geruch aus und ist sehr stabil, weshalb keine konservierenden oder stabilisierenden Zusätze benötigt werden. In klinisch verwendeten Dosierungen ist Isofluran nicht brennbar und nicht explosiv. Bei 20° C Raumtemperatur liegt der Dampfdruck bei 239,5 mmHg. Isofluran hat ein Molekulargewicht von 184,5 Dalton und einen Siedepunkt bei 48,5° C. Das spezifische Gewicht von Isofluran beträgt 1,496 g/ml (CONZEN und HOBBAHN, 1996; LARSEN, 1999; ERHARDT et al., 2004).

2.2.2 Pharmakokinetik

2.2.2.1 An-und Abflutung

Der Blut/Gas-Verteilungskoeffizient beschreibt in der Gleichgewichtsphase (steady state) das Verhältnis von Anästhetikumkonzentration im Blut zu der in der Gasphase. Das Inhalationsanästhetikum flutet um so schneller an und ab, je kleiner der Blut/Gas-Verteilungskoeffizient ist (ZBINDEN und THOMSON, 1995). Er liegt für Isofluran bei 1,4. Von den Alveolen wird es daher sehr schnell ins Blut und von da aus ins Gehirn aufgenommen. Isofluran erlaubt also eine gut steuerbare Narkose.

Ähnlich wie mit der Anflutung verhält es sich auch mit der Abflutung. Je länger die Anästhesie dauert und je höher der Verteilungskoeffizient des Anästhetikums ist, desto mehr verzögert sich dessen Ausscheidung über die Lunge (ERHARDT et al., 2004).

2.2.2.2 Metabolisierung

Da Isofluran sehr stabile physikalische und chemische Eigenschaften besitzt, wird es nur zu 0,17 % im Körper metabolisiert und so fast vollständig wieder pulmonal abgeatmet (HOLADAY et al., 1975). Bei den Metaboliten handelt es sich um atoxische, organische Trifluoressigsäure und anorganisches Fluor (MUIR, 1993; YOUNG und APFELBAUM, 1995).

2.2.3 Pharmakodynamik

2.2.3.1 Anästhetische Wirksamkeit

Die minimale alveoläre Konzentration (MAK) ist definiert als die alveoläre Konzentration eines Inhalationsanästhetikums, bei der 50 % der Patienten keine gezielten Abwehrbewegungen auf einen definierten Schmerzreiz mehr zeigen. Die Konzentration des Anästhetikums wird dabei am Ende der Expiration gemessen (LARSEN, 1990; MUIR, 1993; ALEF, 1999).

Mit den MAK-Werten kann man also die verschiedenen Inhalationsanästhetika aufgrund ihrer anästhetischen Potenz vergleichen. Beachtet werden muss allerdings, dass die MAK-Werte für die verschiedenen Tierspezies unterschiedlich sind. Je niedriger der Wert, desto größer ist die Wirksamkeit des Anästhetikums (ERHARDT et al., 2004).

Man hat festgestellt, dass zur Induktion der Narkose eine Gaskonzentration benötigt wird, die etwa 50 % höher als der MAK-Wert liegen muss (EGER, 1981). Außerdem können verschiedene Faktoren die minimale alveoläre Konzentration beeinflussen. So vermindert sich beispielsweise mit zunehmendem Alter der Patienten die MAK von Isofluran (KATOH et al., 1993). Da Isofluran lipophil ist, hat es eine höhere Affinität zum zerebralen Gewebe als z.B. Sevofluran und damit einen geringeren MAK-Wert als dieses (CONZEN und NUSCHELER, 1996).

2.2.3.2 Wirkung auf das ZNS

Isofluran hat eine gute hypnotische, aber auch muskelrelaxierende Wirkung (ALEF und OECHTERING, 2003) und steigert den Hirndruck nur gering. Allgemein wirkt Isofluran auf das ZNS dosisabhängig depressiv (EGER, 1981) und reduziert den zerebralen Sauerstoffverbrauch sowie die elektrische Aktivität des ZNS (NEWBERG et al., 1984; SCHELLER et al., 1988; SHICHINO et al., 1997). Verschiedene Mäusestämme entwickeln bei der Einleitung mit Isofluran einen Opisthotonus (KOMATSU und OGLI, 1987). Die Narkose mit Isofluran unterdrückt im Vergleich mit anderen gewöhnlich verwendeten anästhetischen Substanzen die elektrische Aktivität des ZNS stärker. Es blockiert Acetylcholinrezeptoren (SCHELLER et al., 1997) und NMDA-Rezeptoren (MING et al., 2002), aktiviert aber GABA-Rezeptoren (HASENEDER et al., 2002). Dies unterstützt wiederum die Hypothese, dass einer der Mechanismen der Anästhesie, zumindest teilweise, auf der Dämpfung von cholinergen Zellen beruht (SHICHINO et al., 1997).

2.2.3.3 Wirkung auf das Herz-Kreislauf-System

Isofluran wirkt vasodilatierend, wodurch der periphere Gefäßwiderstand deutlich vermindert und ein Blutdruckabfall verursacht wird. 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).

2.2.3.4 Wirkung auf die Atmung

Isofluran hat einen unangenehm stechenden Geruch, der die Atemwege reizt. Es kann daher einen Hustenreiz auslösen und zu Bronchosekretion und Atemanhalten kommen (WADE und STEVENS, 1981; DRUMMOND et al., 1983).

Es verursacht eine dosisabhängige Atemdepression, die zwischen der von Halothan und Enfluran liegt. Der Lungengefäßwiderstand ist unter Isofluran etwas erhöht, die Lungendehnbarekeit vorübergehend leicht verringert (ERHARDT et al., 2004).

Auch die Atemfrequenz sinkt dosisabhängig ab. Sie ist auf eine zentrale Depression respiratorischer Neurone der Medulla oblongata zurückzuführen, die wiederum eine verminderte Kontraktilität des Zwerchfells bewirkt (VEBER et al., 1989; STUTH et al., 1992; HIKASA et al., 1997).

Während der Narkose in Spontanatmung kommt es zu einem Anstieg des arteriellen PaCO₂. Dieser erhöhte CO₂-Partialdruck führt zu einer Erniedrigung des arteriellen pH-Wertes und damit unter Umständen zu einer respiratorischen Azidose (EGER, 1981; JONES und SEYMOUR, 1986).

2.2.3.5 Wirkung auf andere Organsysteme

Da Isofluran allgemein den Blutdruck senkt, wirkt sich das während der Narkose auch auf die Nierenfunktionen aus. In Folge erniedrigt sich die glomeruläre Filtrationsrate und der renale Blutfluss, wodurch auch eine herabgesetzte Urinproduktion resultiert. Allerdings handelt es sich hier um reversible Vorgänge und die Nieren funktionieren nach Ende der Narkose wieder in normalen Bereichen (WADE und STEVENS, 1981; FEE und THOMPSON, 1997; ERHARDT et al., 2004). Beim Menschen funktioniert die Autoregulation der Niere bis zu einem mittleren arteriellen Druck von 70 mmHg, so dass bis zu diesem Zeitpunkt die Diurese nicht

beeinflusst wird. Für Isofluran konnte keine nephrotoxische Wirkung nachgewiesen werden (ALEF und OECHTERING, 2003).

Auch auf die Leber hat Isofluran keine negativen Auswirkungen. Aufgrund seiner minimalen Metabolisierungsrate verursacht es keine oder nur ganz geringe Schädigungen der Leberzellen (WADE und STEVENS, 1981). Unter Isofluran kommt es zu einer Dilatation der arteriellen Blutgefäße der Leber, welches den arteriellen Blutfluss in diesem Organ steigert und wiederum dem verminderten Pfortaderfluss entgegenwirkt. Dieser Mechanismus gewährleistet eine ausreichende Oxygenierung der Leber während der Narkose (GELMAN et al., 1984). Der Serumspiegel leberspezifischer Enzyme verändert sich durch eine Isoflurannarkose nicht (WADE und STEVENS 1981).

2.2.3.6 Neuroprotektivität

Es konnte bereits in mehreren experimentellen Studien gezeigt werden, dass Inhalationsanästhetika neuronale Schäden nach fokalen oder globalen cerebralen Ischämien reduzieren können (BAUGHMAN et al., 1988; WARNER et al., 1995; SOONTHON-BRANT et al., 1999). Isofluran sollte also ebensolche Eigenschaften besitzen. In der Tat hat Isofluran bereits neuroprotektive Effekte nach fokaler oder globaler Ischämie bei Mäusen (HOMI et al., 2003), Ratten (BAUGHMAN et al., 1988, SOONTHON-BRANT et al., 1999) und beim Hund (BLANCK et al., 2000) gezeigt. Allerdings weisen neuere Daten darauf hin, dass der neuroprotektive Effekt möglicherweise nur ein vorübergehender ist. KAWAGUCHI et al. (2000, 2004) haben in zwei Studien gezeigt, dass dieser protektive Effekt von Isofluran auf eine fokale, cerebrale Ischämie, der 48 Stunden nach der Ischämie offensichtlich war, 2 Wochen nach der Ischämie völlig verschwunden war. Im Gegensatz dazu berichten SULLIVAN und Kollegen (2002) von einer länger andauernden Protektion (2 Wochen) von Isofluran gegenüber Oxygen-Glucose-Entzug in organotypischen Schnitten des Hippokampus, einem *In-vitro*-Modell, welches benutzt wird, um globale cerebrale Ischämien zu simulieren.

2.2.3.7 Toxikologie

Obwohl Isofluran anfangs wegen angeblicher Hepatokanzerogenität nicht zur klinischen Anwendung zugelassen wurde, konnte ihm letztendlich kein kanzerogenes, mutagenes oder teratogenes Potential nachgewiesen werden (BADEN et al., 1977; EGER, 1981; FEE und THOMPSON, 1997).

2.3 Lern- und Gedächtnisprozesse

2.3.1 Allgemeines

Das Gedächtnis und die Fähigkeit, Dinge zu lernen hat die Wissenschaft seit jeher fasziniert. Sie befasst sich deshalb schon seit langer Zeit damit, die Vorgänge, die hierfür im Gehirn ablaufen, zu erklären. Mit der kognitiven Psychologie gibt es sogar eine eigene Fachrichtung dafür. Trotz aller Bemühungen sind allerdings noch sehr viele Aspekte ungeklärt. Wieviele Gedächtnissysteme existieren insgesamt? Wie werden die Informationen genau gespeichert und später wieder abgerufen? Welche Gehirnstrukturen sind dafür verantwortlich und wie sind diese organisiert? Diese und viele andere Fragen konnten bis jetzt nicht vollständig beantwortet werden. Ziemlich sicher scheinen sich die meisten Wissenschaftler zu sein, dass zumindest mehr als ein Gedächtnissystem existiert. Das Gedächtnis stellt also keine einzelne Einheit dar, die einer bestimmten Gehirnstruktur zugeordnet werden kann, sondern setzt sich aus mehreren verschiedenen Speichersystemen zusammen, die unterschiedlichen Gehirnstrukturen zugeordnet werden können (SQUIRE, 1992). Man muss allerdings bedenken, dass alle existierenden Theorien über das Gedächtnis nur Modelle sind, da sich eine wissenschaftliche Beweisführung auf diesem Gebiet als sehr schwierig darstellt.

Das Gedächtnis, welches im allgemeinen als die Fähigkeit bezeichnet wird, Erfahrungen zu speichern und sie später dann auch wiedergeben und wiedererkennen zu können, kann nach verschiedenen Gesichtspunkten gegliedert werden. Chronologisch nach der gängigen Einteilung in Kurz- und Langzeitgedächtnis oder in anterogrades („Neugedächtnis“) und retrogrades Gedächtnis („Altgedächtnis“). Je nachdem, ob neue Informationen erfolgreich gespeichert werden können (anterograd) oder schon gespeicherte Informationen abrufbar sind (retrograd). Ebenso lässt es sich prozessspezifisch unterteilen (Einspeicherung, Transfer, Konsolidierung, Abruf) oder nach inhaltlichen Aspekten unterscheiden (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

2.3.2 Das Langzeitgedächtnis

Unter Langzeitgedächtnis versteht man grundsätzlich die dauerhafte Speicherung von Informationen. Es enthält das Wissen über uns selbst und die Welt im Allgemeinen. Im Langzeitgedächtnis werden zum Beispiel Fertigkeiten, Informationen, allgemeingültige Regeln und

Erfahrungen gespeichert. Es lässt sich inhaltlich in fünf Grundsysteme aufteilen (siehe Abbildung 2) – episodisches Gedächtnis, Wissenssystem (semantisch), perzeptuelles (nicht assoziatives Lernen und operante Konditionierung), prozedurales Gedächtnis und die Priming-Form (Prägung) des Gedächtnisses (CALABRESE und MARKOWITSCH, 2003).

Eine gröbere Einteilung unterscheidet deklaratives und nicht-deklaratives Gedächtnis, wobei der wesentlichste Unterschied darin besteht, ob man sich an Dinge bewusst erinnert, z.B. an Fakten und Geschehnisse (deklarativ), oder ob man auf der anderen Seite auch ganz unbewusste Gedächtnisfähigkeiten besitzt, wie beispielsweise motorische Fertigkeiten (nicht-deklarativ) (SQUIRE, 1998).

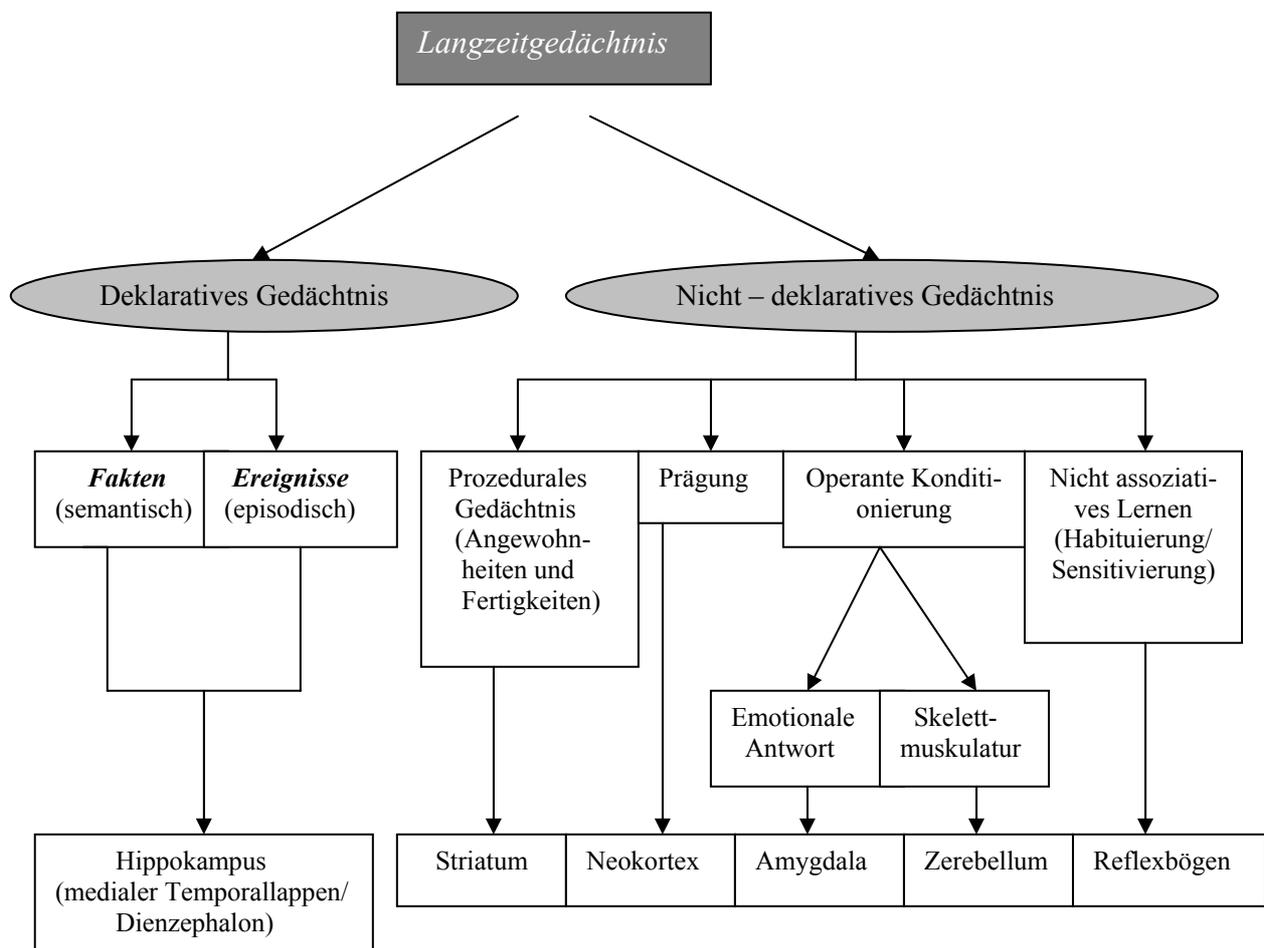


Abbildung 2: Taxonomie des Langzeitgedächtnis mit zugehörigen Gehirnstrukturen nach Squire (SQUIRE, 1998)

2.3.2.1 *Das deklarative Gedächtnis*

Zum deklarativen Gedächtnis gehören das Wissen über Fakten (semantisches Gedächtnis) und über Ereignisse (episodisches Gedächtnis). Die für das deklarative Gedächtnis relevanten Gehirnstrukturen sind der Hippokampus und ihm angrenzend und anatomisch verwandt die endorhinalen, perirhinalen und parahippokampalen Kortizes. Außerdem scheinen bestimmte Strukturen im Dienzephalon (Nucleus thalamicus mediodorsalis, Nucleus thalamicus anterior, medialer Thalamus und Lamina medullaris interna) wichtig zu sein (ZOLA-MORGAN und SQUIRE, 1993).

Dieses Gedächtnissystem ist nach ZOLA-MORGAN und SQUIRE (1993) schnell, von begrenzter Kapazität und hat eine wichtige Funktion in der Anfangsphase des Sicherns von Langzeiterinnerungen.

Es herrschen unterschiedliche Meinungen darüber, ob die beiden Untersysteme, episodisches und semantisches Gedächtnis, zwei parallele Subsysteme sind oder ob das episodische Gedächtnis eine einzigartige Erweiterung des semantischen Gedächtnisses darstellt. Erstere Theorie besagt, dass beide Systeme aufgrund der Informationen, für die sie zuständig sind, unterschieden werden können, d.h. generelle Fakten versus persönliche Ereignisse (SQUIRE und ZOLA, 1996). TULVING und MARKOWITSCH (1998) dagegen meinen, dass beide Systeme viele Merkmale teilen, aber das episodische Gedächtnis zusätzliche Fähigkeiten hat, die das semantische Gedächtnis nicht besitzt. Im sogenannten **Serial Parallel Independent-Modell** (SPI) wird die Beziehung zwischen den beiden Systemen veranschaulicht (siehe Abbildung 3). Danach können Informationen in das semantische Gedächtnis unabhängig vom episodischen Gedächtnis aufgenommen werden, aber die Speicherung von Informationen in das episodische Gedächtnis hängt entscheidend vom semantischen Gedächtnis ab. Auf der anderen Seite sind beide Systeme beim Abruf der gespeicherten Informationen vollkommen unabhängig voneinander (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

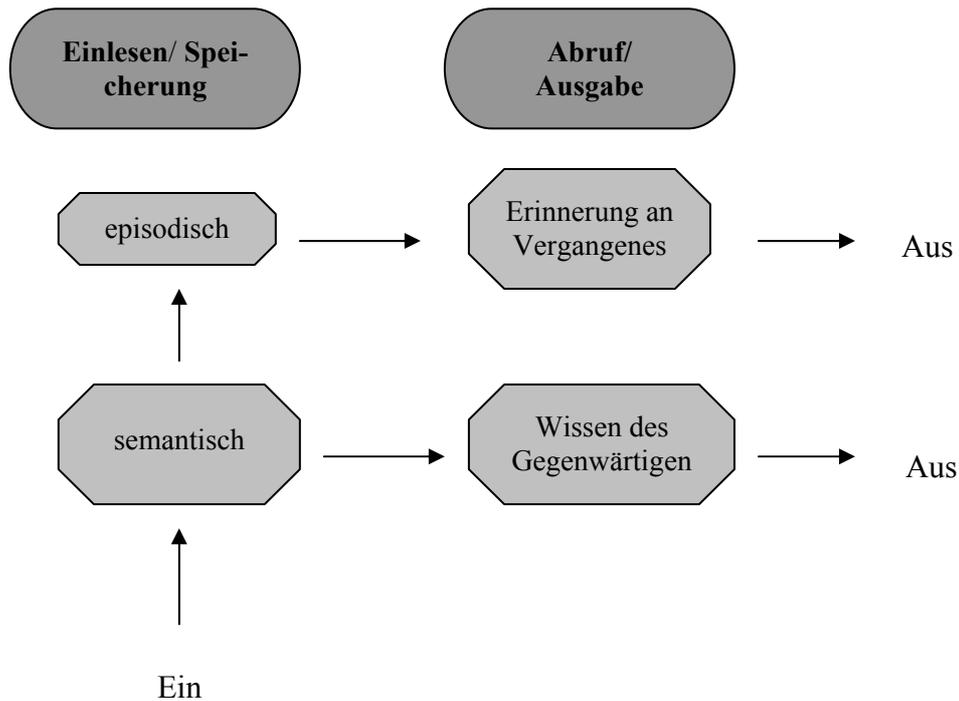


Abbildung 3: Serial Parallel Independent (SPI)-Modell zum deklarativen Gedächtnis (modifiziert nach TULVING und MARKOWITSCH, 1998)

Die beiden Autoren sind außerdem der Meinung, dass das deklarative Gedächtnis als eine Überlappung von episodischem und semantischem Gedächtnis zu sehen ist und deswegen durch deren gemeinsame Eigenschaften definiert werden kann. Damit ist es groß und komplex, multimodal und durch ähnliche, schnelle Einlesungsprozesse charakterisiert. Die Informationen im deklarativen Gedächtnis sind gegenständlich, verhältnismäßig beschreibbar, besitzen Wahrheitswert, sind zugänglich und flexibel ausdrückbar und können auch als Grundlage für Schlussfolgerungen dienen. Handlungen sind abhängig vom Kontext. Der Abruf von deklarativen Erinnerungen kann, muss aber nicht, in offenkundigem Verhalten ausgedrückt werden und das deklarative Gedächtnis kommuniziert eng mit anderen Gehirn /Verhaltenssystemen (SQUIRE und ZOLA, 1996; TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

Es ist besonders vorteilhaft, dass diese Definition des deklarativen Gedächtnisses genauso gut für Menschen wie auch für Tiere gilt. Mit Ausnahme einiger weniger Details und wenn man von den Referenzen zur Sprache einmal absieht, können die aufgelisteten Eigenschaften einigermaßen vernünftig auf das deklarative Gedächtnis aller Spezies, die in der Lage sind, sich Wissen über ihre Umwelt anzueignen, angewendet werden (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

2.3.2.2 *Nicht-deklaratives Gedächtnis*

Zum nicht-deklarativen Gedächtnis gehören mehrere verschiedene Arten von Gedächtnis, denen allen gemeinsam ist, dass man sich unbewusst daran erinnert. Dabei verändert sich also das Verhalten, ohne dass aber ein Zugriff auf die Erfahrung, die diese Veränderung hervorgerufen hat, erfolgt. Dazu gehören Fähigkeiten und Angewohnheiten, operante Konditionierung, Prägung und nicht assoziatives Lernen (SQUIRE, 1992, 1998).

➤ *Prozedurales Gedächtnis*

Dazu werden Angewohnheiten und Fertigkeiten gerechnet. Diese erwirbt man typischerweise allmählich und oft ohne bewusste Erinnerung daran, dass man sie sich angeeignet hat. Zum Beispiel können motorische Fähigkeiten (Radfahren, ein Instrument spielen) erlernt und behalten werden, ohne dass sich diejenige Person bewusst ist, dass sie das, was sie gerade tut, gelernt hat. Gleichzeitig fallen auch perzeptuelle und allgemeine kognitive Fähigkeiten (zum Beispiel Problemlösung) darunter (SQUIRE, 1992).

➤ *Priming*

Priming lässt sich mit "Prägen" übersetzen und bedeutet die verbesserte Zugänglichkeit oder Wiedergebbarkeit eines Wortes durch die vorherige Präsentation eines verbundenen Wortes. Wenn zum Beispiel ein Ereignis A die Wahrscheinlichkeit eines anderen Ereignisses vergrößert, welches mit A verbunden ist. Dies erleichtert ein Wiedererkennen einer bereits erlebten Situation. Priming kann aber auch die Aneignung von neuen Informationen einschließen, nicht nur die Aktivierung von bereits bestehendem Wissen (SQUIRE, 1992).

➤ *Operante Konditionierung*

Dabei handelt es sich um Lernen durch Verstärkung. Eine neue Verhaltensweise wird mit der Verminderung eines Bedürfnisses (zum Beispiel Stillen von Hunger) assoziiert. Das Verhalten wird also ohne offenkundiges Vorhandensein eines Reizes durchgeführt. Ein Großteil tierischen und menschlichen Verhaltens beruht nach Meinung der Verhaltenspsychologen auf diesen Konditionierungsphänomenen (ECKERT, 2000).

➤ *Nicht assoziatives Lernen*

Zum nicht assoziativen Lernen wird die Habituation und die Sensitivierung gerechnet. Bei der Habituation handelt es sich um ein Abnehmen der Reaktion auf wiederholtes Auslösen eines gleichen Reizes hin, wenn diese nicht belohnt wird. Die Abnahme der Reaktion ist in den meisten Fällen reizspezifisch, das heißt, ein abweichender Reiz würde eine Reaktion wieder in voller Stärke auslösen. Dieser Lernvorgang kann als einer der einfachsten bezeichnet werden, da nicht eine ganz neue Reaktion, sondern sogar eine Abnahme der bisherigen Reaktion durch die wiederholte Erfahrung mit dem Reiz provoziert wird. Sensitivierung dagegen wird die Zunahme einer Reaktion auf einen wiederholten Reiz genannt (FRANCK, 1997).

2.3.3 Das Arbeitsgedächtnis

Schon 1949 postulierte HEBB eine Unterscheidung in ein Langzeitgedächtnis (long-time memory), welches dauerhafte Änderungen im Nervensystem zur Folge hat, und ein Kurzzeitgedächtnis (short-time memory), welches er auf temporäre elektrische Aktivitäten zurückführte. Ende der 50er Jahre des 20. Jahrhunderts gelangten zwei andere Studien, die von BROWN (1958) in England bzw. PETERSEN und PETERSEN (1959) in Amerika durchgeführt wurden, zu dem Ergebnis, dass man ein Kurzzeitgedächtnis einem Langzeitgedächtnis gegenüberstellen kann.

In den nächsten zehn Jahren existierten viele kontrovers diskutierte Ideen zu diesem Thema. Die Daten schienen aber trotzdem immer darauf hinzudeuten, dass zwei separate Typen von Gedächtnis existieren. Das einflussreichste Modell kam von ATKINSON und SHIFFRIN (1968), welches auch manchmal als „Modales Modell“ bezeichnet wurde. Diesem zufolge werden Informationen zunächst in einer Art sensorischem Register verarbeitet. Von hier aus werden die Informationen in einen Kurzzeitspeicher ("*short-term store*") mit begrenzter Kapazität - ähnlich einem Flaschenhals - überführt. Der Kurzzeitspeicher steht in Verbindung mit einem permanenten Speicher, dem Langzeitspeicher ("*long-term store*"). Erstmals taucht hier der Begriff des Arbeitsgedächtnisses auf, der hier auf einen temporären Kurzzeitspeicher angewendet wird, der nicht nur für das Langzeit-Lernen, sondern auch für viele andere komplexe Aktivitäten wie Schlussfolgern und Verstehen wichtig ist (ATKINSON und SHIFFRIN, 1968).

1974 teilten BADDELEY und HITCH das einheitliche Kurzzeitgedächtnis in drei separate Komponenten auf, die als Teile eines einheitlichen Arbeitsgedächtnisses (working memory) zusammenarbeiten. Dieses System wurde bis heute noch um eine vierte Komponente erweitert und stellt sich im sogenannten „Multi-Komponenten“-Modell des Arbeitsgedächtnisses dar (BADDELEY, 2003b).

Arbeitsgedächtnis bedeutet die vorübergehende Speicherung und Manipulation von Informationen, von denen man annimmt, dass sie notwendig für eine Reihe von komplexen kognitiven Aktivitäten sind. Es kann in vier Untersysteme eingeteilt werden. Eine zentrale Steuerung (central executiv), ein verbales Speichersystem, die phonologische Schleife (phonological loop), ein visuelles Speichersystem, den visuell-räumlichen Skizzenblock (visuospatial sketchpad) und einen episodischen Speicher (episodic buffer). Das visuelle und verbale System sind Subsysteme, die von der zentralen Steuerung kontrolliert werden und der episodische Speicher wird für ein temporäres Speichersystem gehalten, das Informationen von den beiden Subsystemen mit denen des Langzeitgedächtnisses zu einheitlichen großen Erinnerungstücken kombiniert (BADDELEY, 2003b) (siehe Abbildung 4).

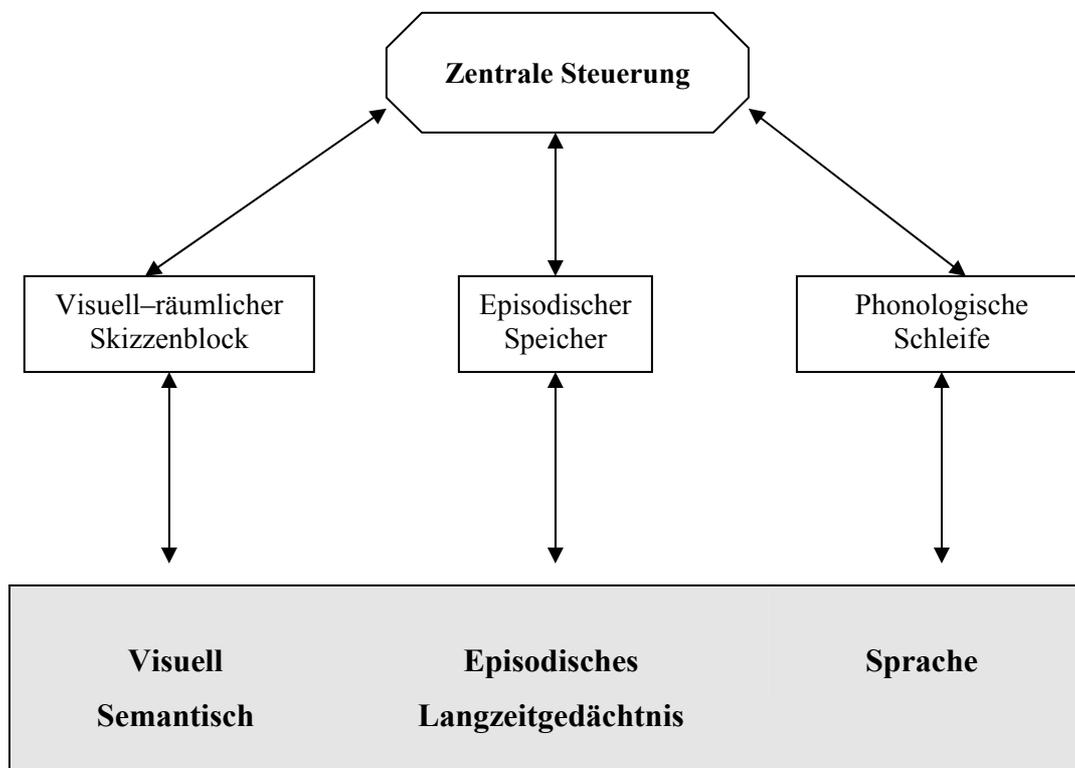


Abbildung 4: aktuelles Multikomponenten Modell des Arbeitsgedächtnisses (nach BADDELEY, 2003b)

➤ *Die phonologische Schleife*

Diese Komponente ist die einfachste und am besten verstandene Komponente dieses Modells. Ein verbales, temporäres Speichersystem, in welchem akustische oder auf der Sprache basierende Informationen in Form von Gedächtnisspuren gespeichert werden, die spontan innerhalb von 2 oder 3 Sekunden verloren gehen, wenn sie nicht durch Wiederholung erneuert werden. Eine geringe Menge an Informationen kann also bei ununterbrochener Wiederholung unendlich lange gespeichert bleiben (BADDELEY, 1996). Sie wird außerdem auch mitverantwortlich gemacht für das Erlernen von Sprachen und liegt anatomisch gesehen in der linken temporoparietalen Region des Kortex (BADDELEY, 2003a).

➤ *Der visuell-räumliche Skizzenblock*

Diese Komponente ist komplexer und deshalb auch noch weniger gut verstanden. Auch räumliches und visuelles Arbeitsgedächtnis haben eine begrenzte Kapazität und können getrennt voneinander gesehen werden. Vermutlich besteht dieses System aus zwei weiteren Komponenten: einem visuellen Speicher und einem sogenannten „inner scribe“, der bei Abruf- und Aufzählungsprozessen eine Rolle spielt. Analog zu der Lage der phonologischen Schleife in der linken temporoparietalen Kortexregion befindet sich der Sitz des Skizzenblocks eher in der rechten Hemisphäre (BADDELEY, 2003a).

➤ *Die zentrale Steuerung*

Dies ist die am wenigsten verstandene Komponente. Die Kontrolle scheint zwischen automatischen Abläufen oder Schemata und einem Aufmerksamkeitssystem, das auch überwachendes Aktivierungssystem genannt wird, aufgeteilt zu sein. Die zentrale Steuerung oder Exekutive hat ihren Sitz wahrscheinlich in den Vorderlappen des Gehirns (BADDELEY, 2003b).

➤ *Episodischer Speicher*

Man hält diese Komponente für ein System mit begrenzter Speicherkapazität, welches in der Lage ist, Informationen von einer großen Anzahl verschiedener Quellen zu größeren Stücken oder Episoden zu verbinden; deswegen auch die Bezeichnung „episodisch“. Es handelt sich um einen Puffer in dem Sinne, dass er die Möglichkeit schafft, Informationen von verschie-

denen Modalitäten zu einem einzigen, multifacettenartigen Kode zu kombinieren (BADDELEY, 2003a).

Man muss natürlich bedenken, dass dies ein Modell für das menschliche Gedächtnis ist. Eine Übertragung auf die Funktion des Gedächtnisses bei Tieren ist nur bedingt möglich. Vor allem die phonologische Schleife existiert wohl aufgrund der fehlenden Sprachfähigkeit beim Tier gar nicht oder zumindest in völlig anderer Weise. Die in Tiermodellen häufig verwendete Vorstellung des Arbeitsgedächtnisses muss außerdem häufig von der beim Menschen angewandten Vorstellung abgegrenzt werden (OLTON et al., 1980). Während der auf den Menschen bezogene Begriff des Arbeitsgedächtnisses dem Multikomponenten-Modell von BADDELEY (2003a) entspricht, wird beim Tier häufig nur zwischen Information, die spezifisch für einen bestimmten Durchlauf eines Tests ist (Arbeitsgedächtnis), und allgemeiner Information, die in allen Durchläufen gültig bleibt (deklaratives Langzeitgedächtnis), unterschieden. Nach dieser Definition dauert das Arbeitsgedächtnis genauso lange wie die Zeitdauer eines Durchlaufs, der je nach Versuchsdesign Minuten bis Stunden dauern kann, und deshalb bisweilen einer Form des Langzeitgedächtnisses entspricht. Diesen wichtigen Unterschied sollte man bei einer Gegenüberstellung von Mensch und Tier nicht übersehen (STECKLER und MUIR, 1996).

2.4 Verhalten und Verhaltenstests

2.4.1 Verhaltenstests im Überblick

Erkenntnis und Gedächtnis sind Kernstücke menschlichen Verhaltens. Nur durch unsere Fähigkeit, auf Stimuli der Umwelt zu reagieren und sie zu interpretieren, sie zu verstehen und sich daran zu erinnern, unser Verhalten darauf basierend zu verändern und sich diese Informationen für zielgerichtete Handlungen zu Nutzen zu machen, sind wir in der Lage, unsere täglichen Lebenssituationen zu meistern. Deshalb wirken sich auch Krankheiten, die unsere kognitiven Funktionen schädigen, wie zum Beispiel die Alzheimer Krankheit, so verheerend aus. Um die zugrundeliegenden Prozesse solcher Erkrankungen zu verstehen, sind Tiermodelle zur Untersuchung kognitiver Defizite sehr wichtig. Sie dienen einer Reihe von Zwecken. Zum Beispiel können mit solchen Modell-Systemen grundlegende elektrophysiologische und biochemische Mechanismen kognitiver Lern- und Gedächtnisprozesse erforscht werden (DECKER, 1995).

Allerdings ist es schwierig, Verhaltensweisen bei Tieren zu identifizieren, die man menschlichen Verhaltensweisen, die als „kognitiv“ bezeichnet werden, gleichsetzen kann. Erfolgreich kann man (zumindest zu einem hohen Prozentsatz) Lern- und Gedächtnisleistungen und Aufmerksamkeit in Tiermodellen testen, im Gegenteil zu höheren Gedächtnisprozessen, wie Sprache, Denken und Planen. Trotz dieser Schwierigkeiten ist eine Vielzahl von Tiermodellen zur Untersuchung von kognitiven Leistungen entwickelt worden (DECKER, 1995).

Dazu gehören verschiedene Labyrinth-Tests (JARRARD, 1984; MORRIS, 1984), der Open-Field-Test (HALL, 1936) und der modifizierte Hole-Board-Test nach OHL (OHL et al., 2001a).

Die Labyrinth-Tests

Labyrinth-Modelle gehören zu den sehr häufig verwendeten Systemen, um kognitive Defizite zu erforschen. Sie dienen dabei hauptsächlich zur Untersuchung von räumlichem Lernen und Gedächtnis. Diese räumlichen Gedächtnisleistungen sind anatomisch vor allem vom Hippokampus abhängig (OLTON et al., 1979) und verlangen deshalb eher eine höhere kognitive Leistung als zum Beispiel Systeme, wo die Tiere durch negative Reize nur lernen, bestimmte Gebiete im Versuchssystem zu meiden (DECKER, 1995).

Es gibt eine Vielzahl von Labyrinth-Tests. Zu unterscheiden sind sie entweder daran, wie sie aufgebaut sind, ob visuell-räumliche, assoziative oder sensorische Fähigkeiten untersucht werden, ob nur die spontane Erkundung der Tiere beobachtet wird, ob komplexe Abfolgen von Entscheidungen nötig sind, oder ob die Motivation der Tiere, die Aufgabe zu lösen auf Angst, Suche nach Zufluchtmöglichkeiten, Neugier oder Befriedigung des Fresstriebes beruht (HODGES, 1996).

➤ *Der Morris-Water-Maze*

In diesem Labyrinth-Test müssen die Versuchstiere schwimmend in einem großen wassergefüllten Becken eine knapp unter der Wasseroberfläche befindliche Plattform finden. Der Startpunkt des Tieres wird bei jedem Durchgang innerhalb des Beckens verändert und gemessen wird die Zeit, bis das Tier auf der Plattform sitzt und die Wegstrecke, die es dabei zurücklegt. Getestet werden damit vor allem räumliche Orientierung und motorische Aktivität (MORRIS, 1984). Dieser Test verursacht aber durch das erzwungene Schwimmen bei den Tieren ungewohnten Stress, wodurch die Ergebnisse stark beeinträchtigt werden können.

➤ *Das Radial-Arm-Maze*

Bei diesem Test handelt es sich um eine strahlenförmige Anordnung von acht Armen, die sich in Muster oder Textur unterscheiden und um ein rundes Zentrum angeordnet sind. Die Tiere werden ins Zentrum gesetzt und lernen, Futter am Ende der Arme aufzusuchen. Da eine einmal gefressene Futterbelohnung nicht ersetzt wird, müssen sie sich merken, welche Arme sie schon besucht haben, um alle Futterbelohnungen zu finden. Dies erfordert Fähigkeiten aus dem Bereich des Arbeitsgedächtnisses (DECKER, 1995).

➤ *Das Elevated-Plus-Maze*

In diesem Test sind zwei Gänge plusförmig angeordnet, wobei einer der Gänge bedeckt, der andere nach oben hin offen ist. Gemessen wird jeweils die Zeitdauer, die sich das Tier in dem offenen bzw. in dem geschlossenen Kompartiment befindet. Je länger das Tier sich in dem geschützten (geschlossenen) Areal aufhält, desto höher wird seine Angst bewertet. Dieser Test wurde ursprünglich zur Untersuchung des Angstverhaltens bei der Ratte entwickelt (HODGES, 1996).

Der Open-Field-Test

Das Open Field wurde erstmals 1936 von HALL als Test für das Angstverhalten bei Ratten beschrieben. Dieses Modell bestand aus einer hell erleuchteten, runden und auf allen Seiten von einer Wand umgebenen Arena. Eine Ratte wurde im Randbereich der Arena platziert und deren Verhalten für 2 Minuten beobachtet. Der Open-Field-Test ist heutzutage einer der meist genutzten Tests zur Untersuchung von Angstverhalten und existiert in verschiedenen Versionen. Unterschiede bestehen in der Form (rechteckig, rund, quadratisch), in der Beleuchtung (von oben oder unten, schwach oder hell erleuchtet, manchmal auch mit Rotlicht), in der Ausstattung der Arena (mit Plattformen, Säulen, Tunneln) und in der Platzierung der Tiere (am Rand oder in der Mitte). Außerdem variiert die Zeitperiode, für die die Tiere getestet werden zwischen 2 und 20 Minuten (im Allgemeinen 5 Minuten) (PRUT und BELZUNG, 2003).

Die Verhaltensweisen, die damit untersucht werden können, sind die horizontale Lokomotion je nach Anzahl der Überschreitungen der am Boden markierten Linien, die Häufigkeit des Männchen-Machens (Aufrichten auf die Hinterbeine), welches auch manchmal als vertikale Aktivität bezeichnet wird, und das Pflegeverhalten, das dem Putzen des Fells entspricht (PRUT und BELZUNG, 2003).

Diese Situation bringt das Tier stets in Konfrontation mit dem offenen, dem Tier unbekanntem Feld. Nager ziehen dabei spontan die Peripherie der Arena dem offenen Zentrum vor und bewegen sich nahe an der Wand. Eine Verhaltensweise, die als Thigmotaxis bezeichnet wird. Als Angstverhalten wird ein verminderter Aufenthalt in der Mitte der Arena gewertet. Diese Verhaltensweise steht entgegengesetzt zum Explorationsverhalten, bei dem sich die Tiere länger im offenen Feld aufhalten und damit Neues erkunden (PRUT und BELZUNG, 2003).

2.4.2 Das modifizierte Hole Board

Das klassische „Hole-Board“ wurde ursprünglich zur Untersuchung des Explorationsverhaltens bei Nagetieren etabliert (FILE und WARDILL, 1975). Später modifizierten OHL und Mitarbeiter das Hole-Board, um kognitive Eigenschaften von Tupaia zu untersuchen zu können (OHL et al., 1998; OHL und FUCHS, 1999). Diese Version erfuhr dann eine weitere Modifikation hin zu einem komplexen, ethologischen Test für Nagetiere, der es erlaubt, eine Vielzahl von Verhaltensmustern in einem einzigen Test zu untersuchen (OHL et al., 2001b). Der modifizierte Hole-Board-Test (mHB-Test) entspricht im Wesentlichen einer Kombination aus dem klassischen Hole-Board und dem Open Field. Letzteres gilt als hochstandardisiertes Verfahren zur Untersuchung der Lokomotion bei Nagetieren (KELLEY, 1993).

Das modifizierte Hole-Board (mHB) besteht aus einer rechteckigen Platte aus grauem PVC, die in die Mitte einer ebenfalls grauen PVC Box gelegt wird und damit den zentralen Bereich dieser Box (Versuchsarena) repräsentiert, ähnlich dem Open Field. Das Board enthält in zwei Reihen parallel angeordnet 10 Löcher. Im Test für Ratten und Tupaia sind alle Löcher mit einem Deckel versehen, der durch eine Rückholfeder nach jedem Öffnen wieder in seine Ausgangsposition gebracht wird. Da Mäuse aber nicht genügend Haltekraft besitzen, um diesen Mechanismus zu bewältigen, wurde das Hole Board weiter modifiziert. Anstatt der Deckel mit Feder werden in dieser modifizierten Version die Löcher mit jeweils oben hin offenen Zylindern bestückt (RÖDEL, 2002). Für die kognitiven Untersuchungen müssen sich die Versuchstiere die drei markierten Zylinder merken, die eine Futterbelohnung enthalten.

Zusätzlich zu angstassoziiertem Verhalten, Risikoabschätzung, Exploration, lokomotorischer Aktivität, Erregung und sozialer Affinität können damit auch verschiedene kognitive Prozesse untersucht werden (OHL et al., 2001b). Ein weiterer wesentlicher Vorteil dieses Tests besteht darin, dass einige sonst mit der Untersuchung interferierende Stressoren wegfallen, wie Nahrungskarenz zur Motivation (OHL et al., 2000). Tests bei Ratten und Mäusen haben gezeigt, dass das Hole-Board-Paradigma als eine echte Alternative zu einer Reihe von mehreren herkömmlichen Testreihen angesehen werden kann. Dadurch kann sowohl die Zahl der Tests reduziert und damit Zeit und Geld gespart werden, als auch die Zahl der Versuchstiere und das für die Tests notwendige Personal verringert werden, wodurch der mHB-Test in verschiedener Hinsicht eine lohnende Alternative zur Untersuchung kognitiver Funktionen im Tiermodell darstellt (OHL et al., 2001a).

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielvorstellungen

Die vorliegende Studie soll Aufschluss darüber geben, welchen alleinigen Effekt eine Inhalationsnarkose mit Isofluran auf verschiedene Qualitäten der Hirnleistung, wie Kognition und Verhalten von 3 Monate alten, transgenen Alzheimer-Mäusen (APP23) und ihren gesunden Wurfgeschwistern hat. Die Tiere werden dazu dem modifizierten Hole-Board-Test unterzogen, der zuerst über die ersten 8 Tage nach der Narkose (Lernphase) durchgeführt und dann in drei Retests am Tag 14, 20 und 26 (Wiederholungsphase) wiederholt wird. Damit soll auch festgestellt werden, ob diese Ergebnisse von den Ergebnissen aus einer anderen Studie des selben Arbeitsteams, die bei 16 Monate alten Alzheimer-Tieren und ihren gesunden Wurfgeschwistern im selben Versuchsaufbau ermittelt wurden, abweichen.

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

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen werden an 24 männlichen, transgenen APP23-Mäusen und 24 ihrer gesunden, männlichen Wurfgeschwister im Alter von 3 Monaten durchgeführt. Nach einer Schwanzbiopsie wird mit einer PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) der Genotyp der in dieser Studie verwendeten Mäuse bestätigt.

3.2.2 **Haltungsbedingungen**

3.2.2.1 *Mäuseraum*

Die Mäuse werden in einem vollklimatisierten Stall unter Standardbedingungen mit einer Raumtemperatur von 22° C ($\pm 2^\circ$ C) und einer Luftfeuchte von 60 % (± 5 %) gehalten. Über eine Zeitautomatik wird ein 12–Stunden Rhythmus gewährleistet (02:00 – 14:00 Uhr Hellphase, 14 :00 – 02:00 Uhr Dunkelphase). Während der Hellphase beträgt die Lichtintensität einen Meter über dem Boden 60 Lux.

3.2.2.2 *Käfige*

Die Tiere werden ab dem Einsetzen bis zu ihrer Tötung einzeln in Standardkäfigen (Makrolon-Käfig, Typ II) gehalten und befinden sich nur für die Dauer der Verhaltenstests in der speziell entwickelten Testarena des modifizierte Hole-Board-Tests. Ein Käfigwechsel findet zweimal in der Woche, jeweils am selben Wochentag, statt.

3.2.2.3 *Futter und Einstreu*

Die Mäuse erhalten Futterpellets (Altromin 1324, Altromin GmbH, Lage-Lippe) und Leitungswasser aus der Nippeltränke, welches täglich gewechselt wird, ad libitum. Als Einstreudient entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin-Faser, Altromin GmbH, Lage-Lippe), das bei jedem Käfigwechsel zweimal in der Woche komplett ausgetauscht wird.

3.2.3 **Versuchsplan**

In der vorliegenden Studie sollen Kognition und Verhalten von drei Monate alten, heterozygoten, männlichen APP23-Mäusen mit dem ihrer nicht transgenen Wurfgeschwister nach einer zweistündigen Narkose mit Isofluran bzw. ohne Anästhesie verglichen werden. Insgesamt ergeben sich vier Gruppen: 12 Wild-type-Geschwister mit Isofluran Narkose (WT/Isofluran), 12 Wild-type-Geschwister ohne Isofluran Narkose (WT/none), 12 APP23-Tiere mit Isofluran Narkose (APP23/Isofluran) und 12 APP23-Mäuse ohne Isofluran Narkose (APP23/none). Die vom Labor gelieferten 48 Tiere werden auf vier Testgruppen aus jeweils 12 Mäusen randomisiert verteilt (mit je 6 transgenen und 6 Wild-type-Mäusen) (siehe Abbildung 5).

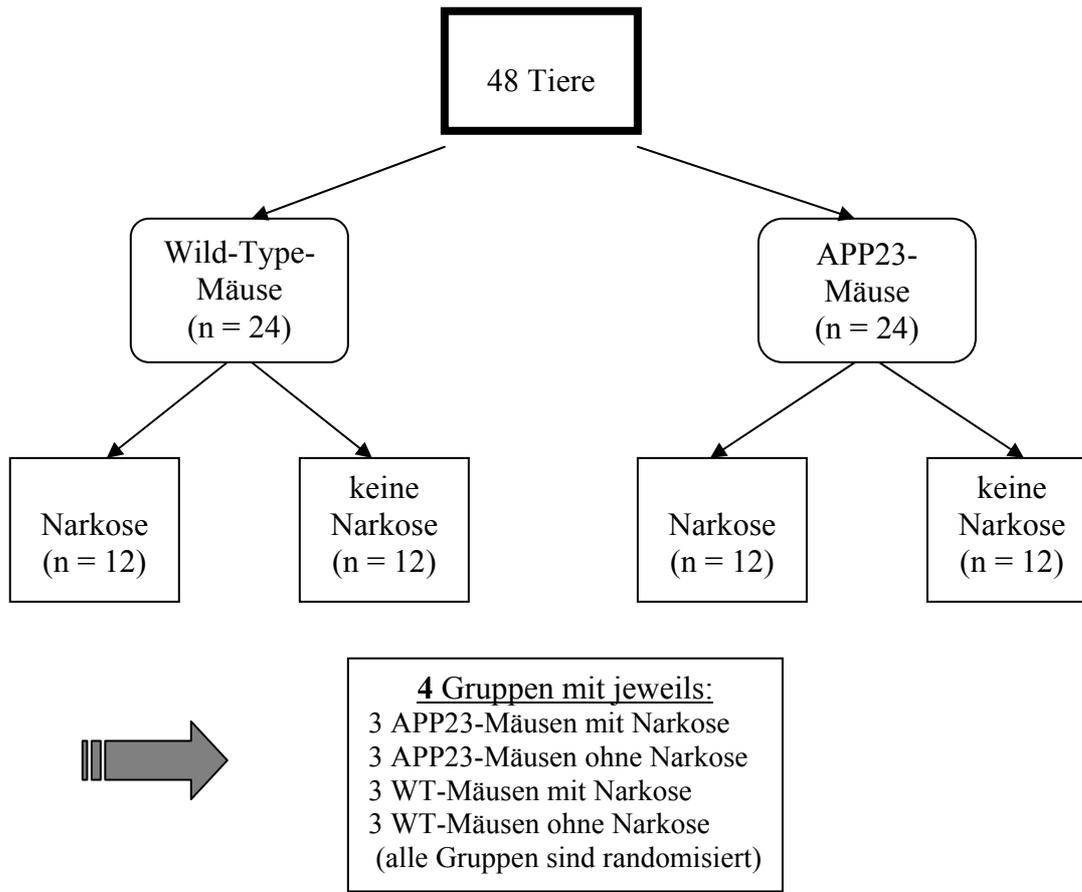


Abbildung 5: Gruppeneinteilung der 48 Testtiere (WT = Wild-type)

Der gesamte Versuch besteht aus zwei Phasen: Der Narkose (siehe 3.2.4) und der kognitiven Testperiode im modifizierten Hole-Board-Test (mHB-Test). Schon an den beiden Tagen vor dem Narkosetag (Tage -2 und -1) werden die Tiere an die im Verhaltenstest angebotene Futterbelohnung gewöhnt. Am Tag der Anästhesie (= Tag 0) werden alle Tiere einer Gruppe aus ihrer gewohnten Umgebung in ein separates Labor gebracht. Dort wird jeweils die Hälfte der transgenen und der gesunden Wurfgeschwister, ausgewählt nach dem Zufallsprinzip, einer zweistündigen Isofluran-Narkose unterzogen, während die übrigen Tiere im selben Raum bleiben. Damit wird für jede einzelne Maus der Transport und der Aufenthalt im Labor möglichst gleich gestaltet. In der zweiten Phase finden die Verhaltenstests statt, die sich direkt an den Narkosetag anschließen. Die Tiere werden an 8 aufeinander folgenden Tagen, beginnend am Tag 1 nach der Narkose, im mHB-Test beobachtet. Jede Maus muss pro Tag 4 Durchläufe mit einer Dauer von jeweils maximal 5 min absolvieren. Nach dieser Lernphase wird in 3 Wiederholungstests (Retests) an Tag 14, 20 und 26 (1. RT, 2. RT, 3. RT) nach der Anästhesie

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

das Erinnerungsvermögen überprüft. Am Tag 28 nach der Narkose werden die Tiere getötet, um die Gehirne, Blut und Schwanzspitze (zur Genotypisierung) untersuchen zu können.

Tabelle 1: Versuchsplan

Tag -2	Gewöhnung an Futterbelohnung durch Anfüttern mit Mandelstückchen
Tag -1	
Tag 0	2-stündige Narkose mit Isofluran und Anfüttern mit Mandelstückchen
Tag 1	modifizierter Hole Board Test (Aufzeichnung der Lernphase)
Tag 2	
Tag 3	
Tag 4	
Tag 5	
Tag 6	
Tag 7	
Tag 8	
Tage 9 - 13	
Tag 14	mHBT: 1. Retest (Aufzeichnung der Wiederholungsphase)
Tage 15 - 19	
Tag 20	mHBT: 2. Retest (Aufzeichnung der Wiederholungsphase)
Tage 21 - 25	
Tag 26	mHBT: 3. Retest (Aufzeichnung der Wiederholungsphase)
Tag 27	
Tag 28	Tötung

Retest = Wiederholungstest; mHBT = modifizierter Hole-Board-Test

3.2.4 Die Narkose

Am Tag 0 (Narkosetag) werden die dafür vorgesehenen Mäuse in einer Narkosekammer (siehe Abbildung 6) aus Plexiglas (eigene Herstellung) mit 3,0 Vol % Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) in 100 Vol. % Sauerstoff anästhesiert bis die Bewusstlosigkeit eintritt. Dann werden die Tiere an eine Nasenkammer (eigene Herstellung, siehe Abbildung 7) angeschlossen und atmen daraufhin spontan für zwei Stunden ein Luft-Sauerstoffgemisch ($\text{FiO}_2 = 0,4 \text{ mmHg}$), dem 1 MAK Isofluran (= je nach Tier 1,5 – 1,7 Vol % Isofluran endtidal) in 40 % Sauerstoff zugemischt wird.



Abbildung 6: Narkosekammer aus Plexiglas zur Einleitung der Narkose (Eigenbau)

Die Nasenkammer verfügt über zwei gegenüberliegende Anschlüsse, über die sie in das Kreislaufsystem integriert und mit Narkosegas (3 l/min) durchströmt wird. Es wird ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 3 mmHg eingestellt, der pulmonalen Atelektasen vorbeugen soll.

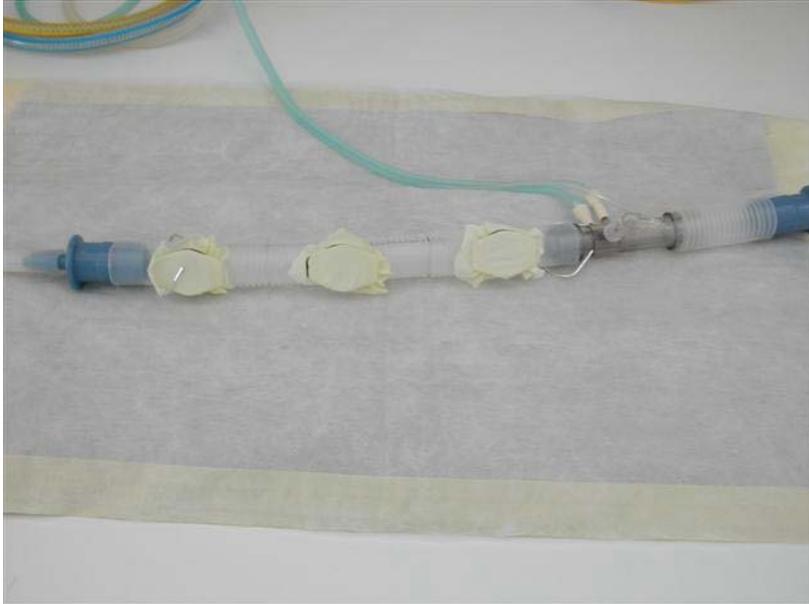


Abbildung 7: Nasenkammer für Inhalationsnarkose für 3 Mäuse (eigene Herstellung)

Zum Schutz vor Austrocknung bekommen die Mäuse Augensalbe (Bepantene® Augen- und Nasensalbe, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen). Während der Narkosedauer werden in regelmäßigen Abständen Vitalparameter wie Temperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Anästhetietiefe kontrolliert, um stabile hämodynamische, respiratorische und anästhetische Konditionen zu schaffen. Eine Wärmendecke hält dabei die rektale Temperatur zwischen 37,5 und 38 °C.

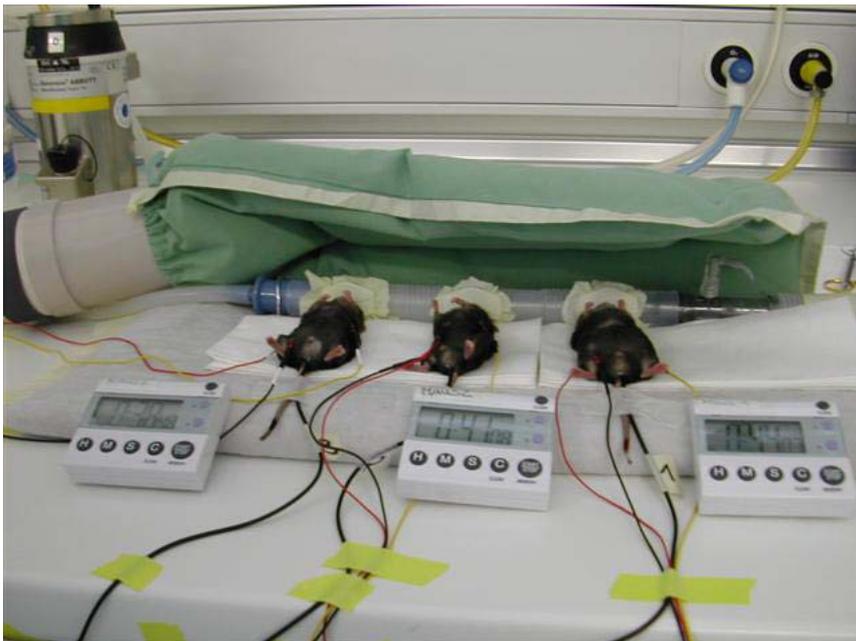


Abbildung 8: Mäuse während der zweistündigen Isoflurannarkose

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Nach Beendigung der Narkose kommen die Mäuse zur Aufwachphase für etwa 30 Minuten wieder in die Narkosekammer mit 100 % Sauerstoff. Sobald die Tiere wieder laufen und sich orientieren können, werden sie in ihre Käfige zurückgesetzt und in ihren Versuchsraum zurückgebracht. Eine Nachbeobachtung von 2 Stunden stellt sicher, dass sie die Narkose ohne Probleme überstanden haben.

3.2.5 Der modifizierte Hole Board Test

Im Rahmen der kognitiven Verhaltensuntersuchung werden alle Tiere gemäß des Versuchsplans (siehe Tabelle 1) von einem gegenüber den unterschiedlichen Versuchsgruppen geblinden Untersucher dem modifizierten Hole-Board-Test unterzogen.

Das modifizierte Hole Board

Das Hole-Board, das speziell für Mäuse entwickelt wurde, besteht aus undurchsichtigem, grauen PVC (eigene Herstellung, undurchsichtiges graues PVC, Weiss, München) mit den Maßen: 35 x 18 x 1 cm. Auf diesem Brett sind parallel in 2 Reihen jeweils fünf Löcher mit einer Tiefe von 0,3 cm eingelassen, deren äußerer Ring 3,2 cm Durchmesser und deren innerer Ring 2,1 cm beträgt (siehe Abbildung 9).

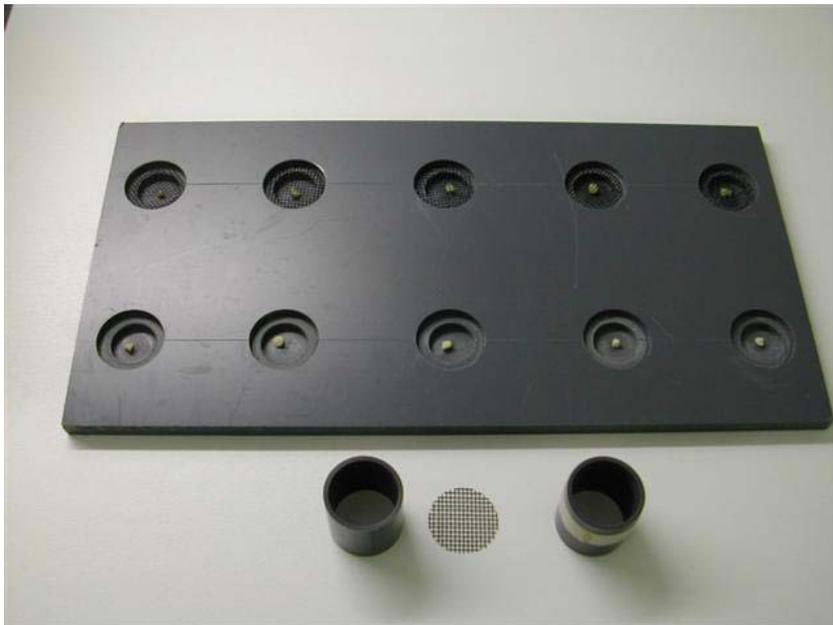


Abbildung 9: mHB mit 10 Löchern, die mit Mandelstücken ausgelegt sind. Daneben als Beispiel ein markierter und ein nicht markierter Zylinder zum aufstecken und das Gitter, welches die Tiere vom Fressen der Mandelstücke abhält.

Der Außenring ist so angepasst, dass dort die Zylinder aufgesteckt werden können. Diese bestehen ebenfalls aus grauem PVC, sind 3,4 cm hoch, mit einem inneren Durchmesser von 2,8 cm, einem äußeren Durchmesser von 3,2 cm und einer Wandstärke von 0,2 cm. Bevor die

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Zylinder aufgesteckt werden, müssen alle 10 Löcher mit einem Mandelstück (etwa 0,05 g) belegt werden. Darauf wird ein der Lochgröße entsprechendes Gitter gelegt (Durchmesser: 3,0 cm; Maschengröße: 0,2 cm), welches durch das Aufstecken der Zylinder am Platz gehalten wird und es den Tieren unmöglich macht, das Mandelstück herauszuholen. Drei der Zylinder werden von außen jeweils mit einem weißen Leukoplast Klebestreifen (Leukoplast hospital, BSN medical GmbH & Co. Kg Hamburg, 1 cm breit) beklebt, der als Markierung dient und diese werden jeweils mit einem Mandelstück oberhalb des Gitters ausgestattet. Die Mandelstücke dienen als Futterbelohnung, welche die Tiere ohne Probleme entnehmen können (siehe Abbildung 10). Die Zylinder mit der Markierung werden täglich nach dem Zufallsprinzip umgesteckt, so dass sich die Lochsequenz täglich ändert (siehe Tabelle 2).

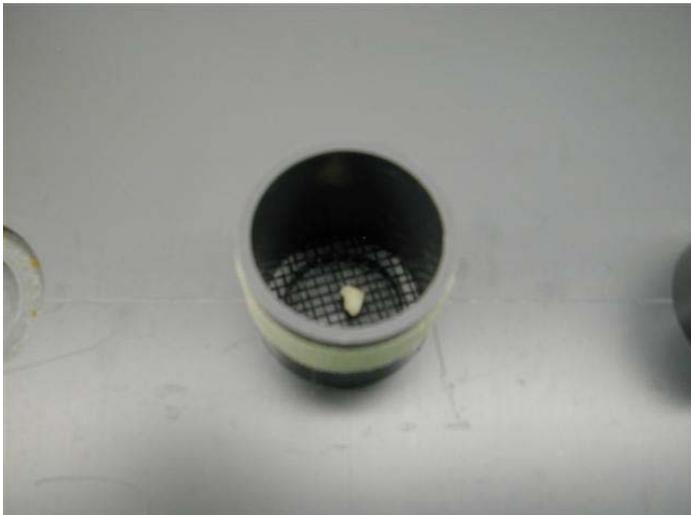


Abbildung 10: markiertes „Loch“ mit Mandelstück als Futterbelohnung

Tabelle 2: Lochkombinationen

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
1. Retest	1 / 5 / 6
2. Retest	2 / 6 / 8
3. Retest	3 / 4 / 9

Das Hole Board liegt am Boden einer wiederum aus grauem PVC bestehender Box (Versuchsarena), welche jeweils 52 cm lang, hoch und breit ist. Deren Boden ist mit weißem Klebeband (0.5 cm Breite) in 9 gleichgroße Rechtecke (16 x 16 cm) unterteilt. Das Hole Board selbst wird genau in die Mitte der Versuchsarena gelegt und bildet somit den zentralen Mittelpunkt und damit die ungeschützte Region eines offenen Feldes (siehe Abbildung 11).

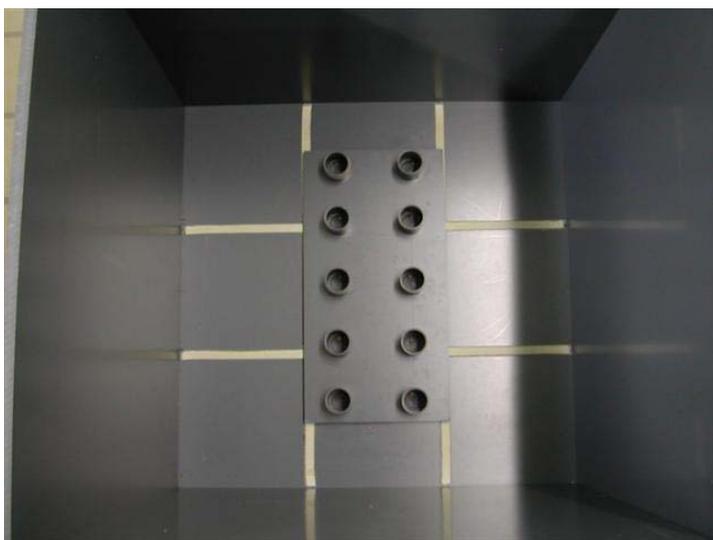


Abbildung 11: Versuchsarena mit mHB in der Mitte als zentraler Bereich

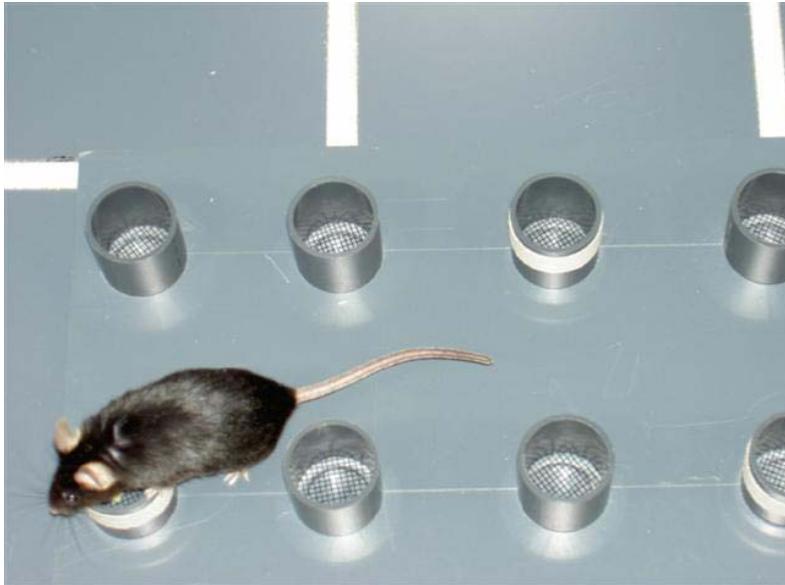


Abbildung 12: Maus während des Verhaltenstests auf dem mHB, wie sie gerade über ein Loch drüberläuft

3.2.5.1 Die Futterbelohnung

Jedes Loch enthält am Boden ein kleines Stück Mandel (0,05 g), das durch das Gitter darüber vom Zugriff der Mäuse geschützt ist. Die mit dem Klebestreifen markierten Zylinder enthalten darüber hinaus eine zusätzliche Mandel oberhalb des Gitters, das die Tiere als Futterbelohnung erhalten, die einfach zu entnehmen ist. Zusätzlich, um zu verhindern, dass die Mäuse die Belohnung allein durch den Geruchssinn finden können, wird jeder einzelne Zylinder vor jedem neuen Durchlauf mit einer Vanillearomalösung (0,02 % in Wasser gelöst; Micro-Plus, Stadtoldendorf, Germany) ausgestrichen. Dies soll außerdem einer erhöhten Appetenz dienen. Die Zylinder werden im folgenden Text als Löcher bezeichnet.

3.2.5.2 Hole Board Protokoll

Zur Auswertung des Verhaltens der Tiere im Test benötigt man ein spezielles Computerprogramm (Jens Frühauf, Zeiterfassung für Ratten- und Mäuseversuche Version V 1.4 2000 – 2004). Dieses erstellt dann das Hole-Board-Protokoll.

Sobald eine Maus in die Versuchsarena gesetzt worden ist, tippt der Untersucher mit der rechten Hand die verschiedenen Aktionen des Tieres über eine Tastatur (Foldable Keyboard, Fold-2000, Taiwan) in den Computer ein. Durch eine Taste auf dem Keyboard, die in der folgenden Tabelle in der mittleren Spalte aufgeführt werden, kodiert man jeweils die bestimmten Aktionen der Maus (erste und letzte Spalte). Das Programm, mit welchem man bei Beginn eine Zeitmessung aktiviert, errechnet automatisch, welche Aktion zu welchem Zeitpunkt ausgeführt worden ist. Anschließend erfolgt eine Übertragung aller Daten in eine Excel Tabelle.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Table 3: Hole Board Protokoll

Start des Testes (Programms)	<i>1. Drücken der Leertaste</i>	Sobald die Maus in die Arena gesetzt worden ist
Betritt Board	<i>Leertaste</i>	Die Maus setzt eine Pfote auf das Hole Board und befindet sich mit ihrer Nase darauf oder daran, womit sie Interesse für das Board signalisiert
Verlässt Board	<i>Leertaste</i>	Beide Vorderpfoten und Nase befinden sich nicht mehr auf dem Board
Erstmals am Loch	<i>Ö</i>	Das Tier befindet sich erstmals mit der Nase unterhalb der Oberfläche einer Lochöffnung
Loch 1 zu	<i>J</i>	Das Loch mit der niedrigsten Nummer der Tageslochkombination wird als Loch 1 bezeichnet und gilt als geöffnet, sobald die Maus die Futterbelohnung daraus hervorgeholt hat
Loch 2 zu	<i>K</i>	Das Loch mit der mittleren Nummer der Tageslochkombination wird geöffnet
Loch 3 zu	<i>L</i>	Das Loch mit der höchsten Nummer der Tageslochkombination wird geöffnet
Wiederholung Loch 1, 2, 3	<i>Weiteres Drücken von J, K oder L</i>	Das Tier schaut erneut in ein bereits von Futter geleertes markiertes Loch, wobei die Schnauze deutlich unterhalb der Lochoberfläche sein muss
Fressen beendet	<i>H</i>	Das Tier ist mit Kauen der Futterbelohnung fertig
Falsches Loch	<i>Ä</i>	Die Maus öffnet ein nicht markiertes Loch, indem sie die Nase deutlich unterhalb der Lochoberfläche hält
Männchen machen	<i>U</i>	Beide Vorderpfoten werden erhoben und das Tier steht auf den Hinterbeinen, die durchgestreckt sein müssen. Kann sowohl frei als auch an der Wand der Versuchsarena stattfinden
Beginn Putzen	<i>O</i>	Maus beginnt, sich zu putzen
Ende Putzen	<i>O</i>	Maus hört auf, sich zu putzen
Bolus	<i>P</i>	Ein Kotballen wird abgesetzt
Beginn Immobilität	<i>Return Taste</i>	Das Tier zeigt länger als ca. 5 sec. keine Aktivität mehr. Verharren in einer Position
Ende Immobilität	<i>Return Taste</i>	Maus bewegt sich wieder
Linienüberschreitung	<i>I</i>	Maus übertritt mit ganzem Körper eine der weißen Linien in der Versuchsarena
Versuchende	<i>Esc Taste</i>	Fünf Minuten sind vorbei oder nach dem Beenden des Fressens aller drei Futterbelohnungen

Zusätzlich werden per Hand nach jedem Durchlauf notiert:

Urinabsatz: Anzahl, wie oft ein Tier im Durchlauf Urin absetzt

Omission errors: Anzahl der markierten Löcher, die nicht besucht wurden

Hole visits: Anzahl, wie oft ein richtiges Loch besucht wurde, ohne die Futterbelohnung zu fressen plus „erstes Mal am Loch“

Latency first hole visit: Zeit, wann das erste Mal ein Loch besucht wurde (richtiges oder falsches)

3.2.5.3 *Der Versuchsablauf*

Akklimatisierung der Tiere

Die Tiere erhalten nach der Anlieferung eine Akklimatisationszeit von 21 Tagen, um sich an die neue Umgebung zu gewöhnen. Die Mäuse werden nur zum eigentlichen Test aus ihren Käfigen einzeln herausgenommen. Der Test findet im selben Raum, in dem die Tiere gehalten werden, statt.

Verhaltenstest

Am Tag nach der Narkose mit Isofluran findet der erste Hole-Board-Test für alle Tiere einer Gruppe statt. Alle Versuche finden zwischen 15:00 Uhr und 22:00 Uhr statt, immer eine Stunde nach Beginn der Dunkelphase startend, also in der frühen Aktivitätsphase der Tiere. Ein trainierter Beobachter hat die Aufgabe, die Tiere bei Rotlicht direkt während des Versuches zu observieren und gleichzeitig die ermittelten Parameter über eine Tastatur in einen PC einzugeben. Der Test wird in 8 aufeinanderfolgende „Lerntage“ und drei Wiederholungsversuche (Retests) eingeteilt.

3.2.5.4 *Täglicher Ablauf*

Der Versuch beginnt jeden Tag um 15:00 Uhr, d.h. in der frühen Dunkelphase. Die Lochkombination, die bei der ersten Gruppe für jeden Tag nach dem Zufallsprinzip gewählt wird und dann für alle weiteren Gruppen gleich bleibt, wird vor jedem Testtag neu eingestellt und die markierten Löcher mit Mandeln (mit einer Pinzette) bestückt. Anschließend werden alle Zylinder mit einem in die Vanillearomalösung getauchten Mulltupfer (1x1 cm, Karl Beese GmbH und Co., Barsbüttel) ausgewischt.

Dann wird die erste Maus an der Schwanzbasis aus dem Käfig genommen und in eine Ecke der Versuchsarena gesetzt, die für jede Maus gleich bleibt. Sobald das Versuchstier losgelassen wird, müssen gleichzeitig der Wecker für die Zeitmessung und das Programm gestartet werden. Der Untersucher sitzt rechts der Versuchsarena und betätigt mit der rechten Hand die Computertastatur für die Protokollierung, während die linke Hand den Wecker hält. Findet die Maus alle Futterbelohnungen, ist der Durchlauf nach dem Fressen der dritten Mandel beendet, anderenfalls nach maximal 5 Minuten, was durch den Piepton des Weckers angezeigt wird. Mit den übrigen Mäusen der Gruppe verfährt der Untersucher genauso. Jedes Tier muss pro Tag vier Durchläufe absolvieren. Dabei wählt man die Reihenfolge immer so, dass niemals die selben beiden Tiere hintereinander eingesetzt werden. Vor jeder neuen Maus wird das Hole Board von grober Verschmutzung mit Zellstoff gereinigt oder bei stärkerer Verschmutzung z.B. durch Urin mit einem feuchten Lappen ausgewischt, bevor die Löcher neu mit Mandeln bestückt und mit Vanillearoma ausgestrichen werden.

Nach Versuche, wenn alle Mäuse vier Durchläufe hinter sich haben, wird das Hole Board und die Versuchsarena gereinigt, desinfiziert und gleich mit der neuen Lochkombination für den nächsten Tag ausgestattet.

Lerntage und Retests

Getestet werden alle Tiere an 8 aufeinander folgenden Tagen mit jeweils 4 Durchläufen von jeweils maximal 5 Minuten (Tag 1 – 8 des Tests = Lernphase). Am Tag 14, 20 und 26 werden 3 Retests durchgeführt (= Wiederholungsphase), die wiederum aus vier Durchläufen pro Maus von jeweils maximal 5 Minuten bestehen. Am Tag 28 werden die Testtiere zur Blut- und Gehirnentnahme getötet.

3.2.6 Untersuchte Parameter

Die Parameter, die man während eines Durchlaufes beim Hole Board Test erfasst, können dann den entsprechenden Verhaltensdimensionen (Verhaltensparameter) bzw. Gedächtnissystemen (kognitive Parameter) zugeteilt werden (OHL et al., 2001a, OHL et al., 2001b) (siehe Tabelle 4).

3.2.6.1 *Gedächtnisparameter*

Die kognitiven Parameter, die mit dem mHB-Test erfasst werden, können Aufschluss über die Funktion des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses geben. Dabei geht es bei ersterem vor allem um Prozesse, die dem Hippokampus, bei letzterem um solche, die dem präfrontalen Kortex zugeordnet werden können. Außerdem kann die Lernleistung und Motivation beurteilt werden.

Falsch besuchte Löcher (Wrong Choices):

Als falsch besuchte Löcher wird der Besuch aller nicht markierten Löcher bewertet.

Nicht besuchte, markierte Löcher (Omission Errors):

Omission Error beschreibt die Anzahl der nicht besuchten, obwohl markierten Löcher in einem Durchlauf, und wird separat nach jedem Durchlauf aufgeschrieben.

Fehler:

Der Totalwert der Fehler besteht aus den Wrong Choices und den Omission Errors.

Wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices):

Wird ein im selben Durchlauf bereits besuchtes markiertes Loch noch einmal besucht, rechnet man dies als Wiederholung. Nur mehrmalige Besuche markierter Löcher werden als Wiederholung gerechnet, da die Mäuse keine Tendenz dazu zeigen, die Sequenz der nicht mit Futter bestückten Löcher zu lernen.

Gesamtzeit des Durchlaufs (Time Complete):

Die Zeitspanne vom Einsetzen der Maus in die Versuchsarena bis zum „Fressen beendet“ der dritten Futterbelohnung bestimmt die Gesamtzeit eines Durchlaufs (Time Complete). Besucht das Tier während des Durchlaufs nicht alle oder gar keines der markierten Löcher, wird der Versuch nach dem Zeitlimit der Time Complete, nach fünf Minuten, abgebrochen. Sie wird in Sekunden gemessen.

3.2.6.2 *Verhaltensparameter*

Parallel zu den kognitiven Parametern erlaubt der mHB-Test auch die Untersuchung von verschiedenen Verhaltensdimensionen. Dabei wird zwischen Angstverhalten, Angstverhalten und Allgemeinbefinden, gerichteter und ungerichteter Exploration, Erregung und Lokomotion unterschieden (siehe Tabelle 4).

Repräsentiert wird das Angstverhalten durch die Zeitspanne, bis die Maus erstmals das Board betritt (Latency First Entry on Board), die Anzahl, wie oft sie das Board betritt (Number of Board Entries) und die Gesamtzeit, die sie auf dem Board verbringt (Time on Board). Ein Parameter sowohl für angstbezogenes Verhalten als auch für das Wohlbefinden des Tieres ist die Immobilität (Immobility).

Wie oft die Maus während des Durchlaufs die Linien auf dem Boden der Arena überschreitet, ist ein Indikator für lokomotorische Aktivität (Line Crossing).

Gerichtete und ungerichtete Exploration wird durch die Zeit bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit), die Gesamtanzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited) und das Männchen-Machen (Rearings) ausgedrückt. Schließlich wird, als Zeichen für Erregung, die gesamte Dauer des Putzens (Grooming), die Anzahl der abgesetzten Kotballen (Boli) und das Absetzen von Urin gewertet.

Gesamtzeit auf dem mHB (Time on Board):

Die Time on Board berechnet sich aus der gesamten Zeit, die sich die Maus auf dem Board befindet. Sie besteht aus der Summe der Intervalle „betritt board“ bis „verlässt board“. Abgezogen wird die Zeit, die sie für das Öffnen eines Loches und das Fressen der Futterbelohnung benötigt (Intervall „Loch zu“ bis „fressen beendet“). Time on Board wird in Prozent an der Gesamtzeit gemessen.

Erster mHB-Besuch (Latency First Entry on Board):

Die Latency First Entry on Board ist die Zeitspanne von Beginn des Durchlaufs bis zum ersten Betreten des modifizierten Hole-Boards und wird in Sekunden berechnet.

Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries):

Die Anzahl der mHB-Besuche wird bestimmt durch die Anzahl der „betritt board“ eines Durchlaufs.

Immobilität (Immobility):

Die Immobilität ist die gesamte Zeitspanne, die das Tier unbeweglich an einer Stelle zugebracht hat und wird in Prozent an der gesamten für einen Durchlauf benötigten Zeit gemessen. Sie besteht aus der Summe der Intervalle zwischen „Beginn Inaktivität“ und „Ende Inaktivität“.

Erster Lochbesuch (Latency to First Hole Visit):

Dabei handelt es sich um die Zeitspanne zwischen dem Start des Durchlaufs und des ersten Besuchs eines Loches. Er wird repräsentiert durch die Taste „erstmal am Loch“ und in Sekunden gemessen.

Anzahl der besuchten Löcher (Number of Holes Visited):

Die Anzahl der besuchten Löcher repräsentiert die Gesamtsumme aller besuchten Löcher inklusive aller Fehler und Wiederholungen („Loch 1, 2, und 3 zu“ plus Fehler und Wiederholungen).

Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings):

Jedes Erheben auf die Hinterbeine mit oder ohne Abstützen an der Wand zusammengezählt ergibt die „Männchen-Machen“ (Rearings).

Kotballen (Boli):

Der Parameter Boli errechnet sich aus der Summe aller innerhalb eines Durchlaufs abgesetzter Kotballen.

Putzphasen (Grooming):

Die Zeitdauer der Putzvorgänge während eines Durchlaufs wird aus der Zeitspanne zwischen „Anfang Putzen“ und „Ende Putzen“ errechnet. Der wichtige Parameter ist aber der Anteil an der Gesamtzeit, die mit Putzen zugebracht wird und wird in Prozent angegeben.

Linienüberschreitungen (Line Crossings):

Line Crossings ist die Anzahl aller Übertretungen der am Boden der Arena angebrachten weißen Linien.

Tabelle 4: mit dem modifizierten Hole-Board-Test auswertbare Parameter

Hole Board Testparameter			
Kognitive Parameter	Gedächtnissystem	Korrelierendes Gehirngebiet	Verhalten im Hole-Board-Test
	deklaratives Gedächtnis	Hippokampus	Besuch eines nicht markierten Loches (= wrong choice, inklusive omission error)
	deklaratives Gedächtnis/ Motivation		markiertes Loch wird nicht besucht (= omission error)
	Arbeitsgedächtnis	präfrontaler Kortex	wiederholter Besuch eines markierten Loches (= repeated choice)
	Lernleistung (Motivation)		Zeit des gesamten Versuchsdurchlaufs (= time complete)
Verhaltensparameter	Verhaltenssystem		Verhalten im Hole-Board-Test
	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 (= board entries)
	angstbezogenes Verhalten/ Allgemeinbefinden		% der Gesamtzeit, die das Tier unbeweglich auf einer Stelle verharrt (= immobility)
	Exploration (gerichtet) (ungerichtet)		Zeit bis zum ersten Lochbesuch (= latency first hole visit) Anzahl der besuchten Löcher (= holes visited) Anzahl der Männchen (= rearings)
	Erregung		Defäkation (= boli) % der Gesamtzeit, die zum Putzen benutzt wird (= grooming)
lokomotorische Aktivität		Linienüberschreitungen (= line crossings)	

3.2.7 Statistik

Die kognitiven und Verhaltensparameter werden mit einer Zweifache repeated measurement ANOVA analysiert. Dabei werden zwei Phasen, die Lernphase und die Wiederholungsphase, unterschieden. Diese Varianzanalyse mit Messwiederholungen ist gewählt worden, weil besonders die Veränderungen im Verlauf der Zeit interessieren. 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), um besonders den dynamischen Verlauf darzustellen. Signifikanzen werden auf $p < 0,05$ festgelegt.

Alle Variablen werden als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichungen (SD) in den Tabellen und MW \pm Standardfehler (SEM) in den Grafiken präsentiert.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Klinische Unterschiede

Klinisch gesehen kann man beobachten, dass die APP23-Tiere unruhiger und insgesamt leichter sind als ihre gesunden Wurfgeschwister (durchschnittliches Gewicht der APP23-Mäuse: 27,2 g, Wilde-type-Mäuse: 32,3 g)

3.3.2 Kognitive Parameter

Gesamtzeit (Time Complete), falsch besuchte Löcher (Wrong Choices), wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices) und nicht besuchte, markierte Löcher (Omission Errors) gelten im modifizierten Hole-Board-Test (mHB-Test) als Verhaltensparameter für kognitive Leistungen. In folgenden Tabellen sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) zu ersehen und die Abbildungen zeigen grafische Darstellungen aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM).

Tabelle 5: kognitiver Parameter: falsch besuchte Löcher (Wrong Choices)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Falsch besuchte Löcher (wrong choices)	1	2,9 \pm 1,3	3,1 \pm 0,9	3,4 \pm 1,1	4,0 \pm 1,0
	2	1,3 \pm 1,0	2,8 \pm 1,0	3,1 \pm 1,4	4,1 \pm 1,3
	3	1,5 \pm 0,7	2,5 \pm 0,8	2,2 \pm 1,3	2,9 \pm 1,1
	4	1,3 \pm 1,0	2,3 \pm 1,1	2,3 \pm 1,7	3,1 \pm 1,1
	5	1,3 \pm 1,2	2,5 \pm 1,3	1,8 \pm 1,4	2,6 \pm 1,2
	6	0,9 \pm 0,6	1,9 \pm 1,2	1,4 \pm 1,2	2,3 \pm 1,2
	7	1,3 \pm 0,6	1,8 \pm 0,9	1,0 \pm 1,1	2,0 \pm 1,2
	8	0,9 \pm 0,7	1,6 \pm 1,4	0,8 \pm 1,1	2,4 \pm 2,1
	14 (1.RT)	1,0 \pm 0,8	1,6 \pm 1,1	1,0 \pm 1,0	2,3 \pm 1,3
	20 (2.RT)	0,7 \pm 0,7	1,0 \pm 0,8	0,5 \pm 0,4	1,5 \pm 1,5
26 (3.RT)	0,5 \pm 0,4	0,4 \pm 0,4	0,3 \pm 0,3	1,1 \pm 1,5	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des kognitiven Parameters: falsch besuchte Löcher (Anzahl pro Durchlauf) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: $n = 12$, APP/none: $n = 12$, WT/Isofluran: $n = 12$, WT/none: $n = 12$)

Die Zweifache repeated measurement ANOVA-Analyse lässt erkennen, dass die Anzahl der falsch besuchten und nicht besuchten, markierten Löcher (Wrong Choices) in allen Gruppen über den gesamten Testverlauf hin abnimmt (Zeit: $p < 0,001$). Alle anästhesierten Tiere machen in der gesamten Lernphase weniger Fehler als die Vergleichsgruppen ohne Narkose (Anästhesie: $p = 0,002$). Gleichzeitig lernen die anästhesierten Tiere schneller, weniger Fehler zu machen als die nicht narkotisierten Mäuse (Anästhesie x Gruppe x Zeit: $p = 0,035$). Auch über die Wiederholungsphase hinweg (RT 1, 2 und 3) reduzieren sich die Fehler, wobei die Werte der anästhesierten Tiere immer unter den Mäusen ohne Narkose liegen (Anästhesie x Zeit: $p = 0,042$) (siehe Abbildung 13).

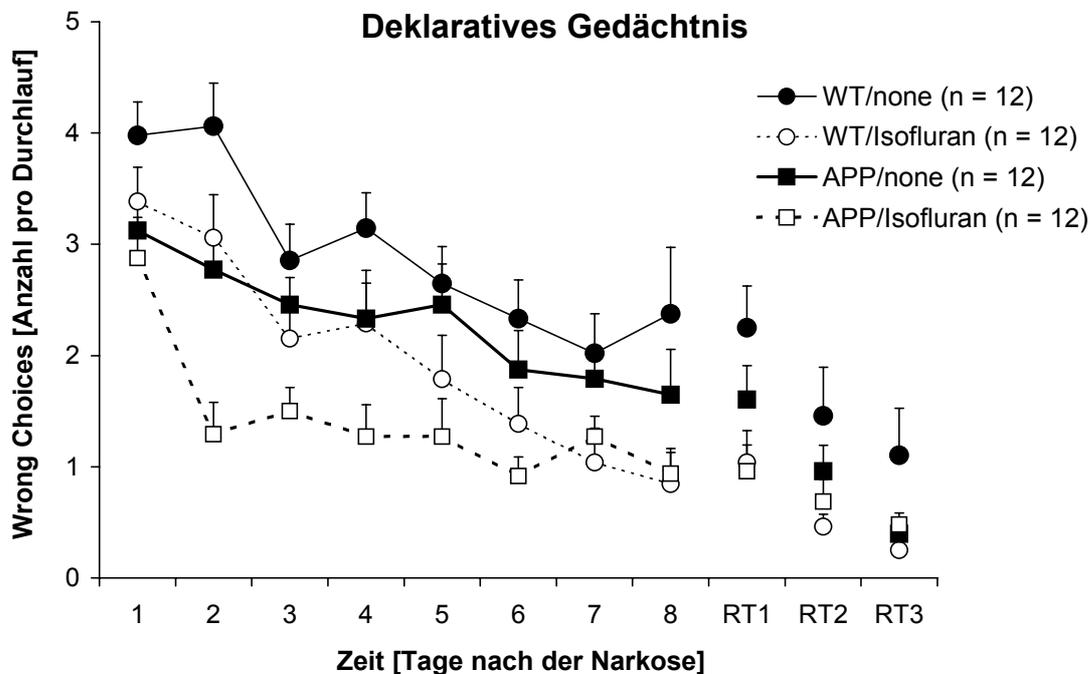


Abbildung 13: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl falsch besuchter Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen (RT1 = Tag 14, RT2 = Tag 20, RT3 = Tag 26).

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 6: kognitiver Parameter: nicht besuchte, markierte Löcher (Omission Errors)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Nicht besuchte markierte Löcher (Omission Errors)	1	0,7 ± 0,8	2,2 ± 0,7	1,9 ± 0,9	2,3 ± 0,8
	2	0,5 ± 0,6	2,0 ± 1,0	1,4 ± 1,1	2,4 ± 0,7
	3	0,6 ± 0,6	2,0 ± 1,2	1,0 ± 1,0	1,9 ± 1,0
	4	0,7 ± 0,6	1,9 ± 1,2	0,8 ± 1,0	1,9 ± 0,9
	5	0,5 ± 0,7	1,6 ± 1,3	0,8 ± 1,0	1,6 ± 1,0
	6	0,3 ± 0,4	1,4 ± 1,1	0,6 ± 0,8	1,1 ± 1,0
	7	0,4 ± 0,3	1,2 ± 0,9	0,4 ± 0,8	1,0 ± 0,9
	8	0,3 ± 0,3	0,9 ± 0,9	0,2 ± 0,6	0,6 ± 0,9
	14 (1.RT)	0,0 ± 0,1	0,6 ± 0,9	0,1 ± 0,2	0,4 ± 0,8
	20 (2.RT)	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,4	0,0 ± 0,1	0,4 ± 0,8
	26 (3.RT)	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,3 ± 0,8

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des kognitiven Parameters: nicht besuchte, markierte Löcher (Omission Errors (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: $n = 12$, APP/none: $n = 12$, WT/Isofluran: $n = 12$, WT/none: $n = 12$)

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 machen in der gesamten Lernphase deutlich weniger Omission Errors als die Gruppen ohne Narkose (Zeit x Anästhesie: $p < 0,001$).

Auch in den Wiederholungstests liegen die Mittelwerte der Gruppen mit Narkose unter denen der nicht anästhesierten Tiere (Zeit x Anästhesie: $p = 0,047$) (siehe Abbildung 14).

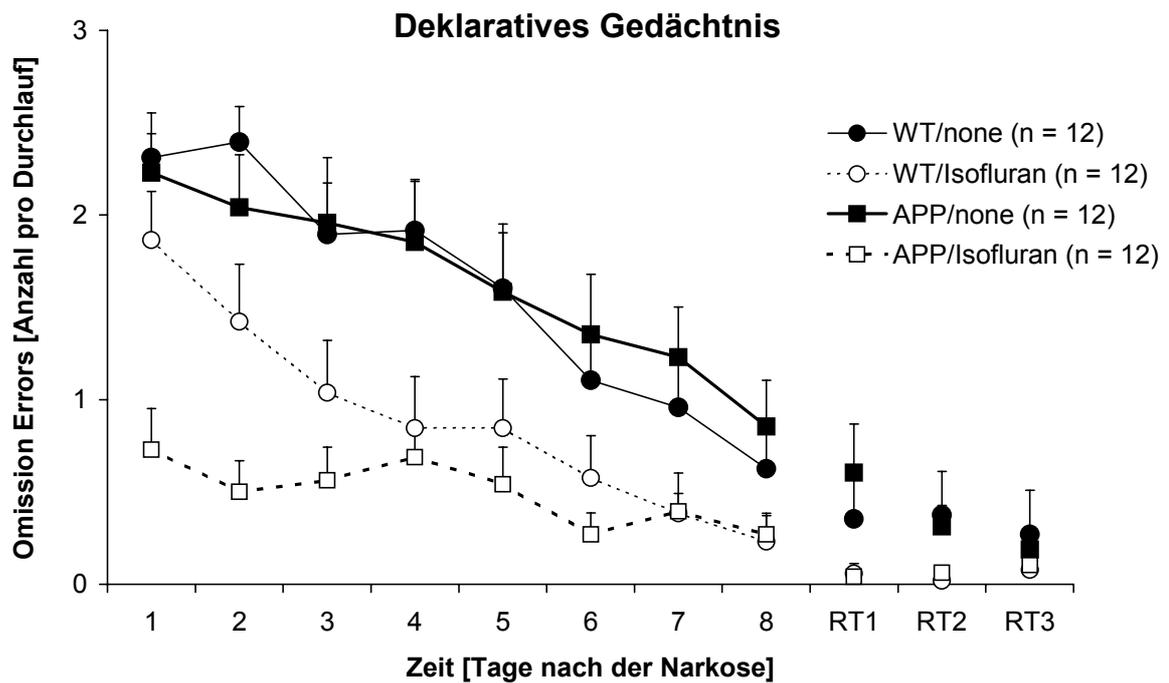


Abbildung 14: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl nicht besuchter, markierter Löcher (Omission Errors (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 7: kognitiver Parameter: wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices)	1	2,0 ± 0,8	2,0 ± 0,2	1,6 ± 0,8	1,2 ± 0,4
	2	1,4 ± 1,0	1,9 ± 0,6	2,3 ± 1,3	0,5 ± 0,3
	3	1,1 ± 0,9	1,2 ± 0,9	0,8 ± 0,6	0,9 ± 0,4
	4	1,0 ± 0,7	1,9 ± 0,5	1,3 ± 0,8	1,3 ± 1,0
	5	1,3 ± 0,3	1,9 ± 1,9	1,2 ± 0,9	0,9 ± 0,4
	6	1,5 ± 1,0	1,8 ± 0,6	1,4 ± 0,6	1,0 ± 0,5
	7	1,1 ± 0,6	1,2 ± 0,7	1,2 ± 0,7	1,4 ± 0,8
	8	1,1 ± 0,6	1,5 ± 0,9	1,4 ± 0,8	1,1 ± 0,6
	14 (1.RT)	1,4 ± 0,7	1,5 ± 0,9	1,5 ± 1,0	1,7 ± 0,9
	20 (2.RT)	1,3 ± 0,9	1,8 ± 1,3	1,7 ± 1,3	2,0 ± 1,4
	26 (3.RT)	1,1 ± 0,5	1,3 ± 0,7	1,3 ± 0,8	1,4 ± 0,7

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des kognitiven Parameters: wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: $n = 12$, APP/none: $n = 12$, WT/Isofluran: $n = 12$, WT/none: $n = 12$)

Bei der Anzahl der Wiederholungen (Repeated Choices) lässt sich in ihrem insgesamt undeutlichen Verlauf auch kein Unterschied zwischen den 4 Gruppen feststellen (siehe Abbildung 15).

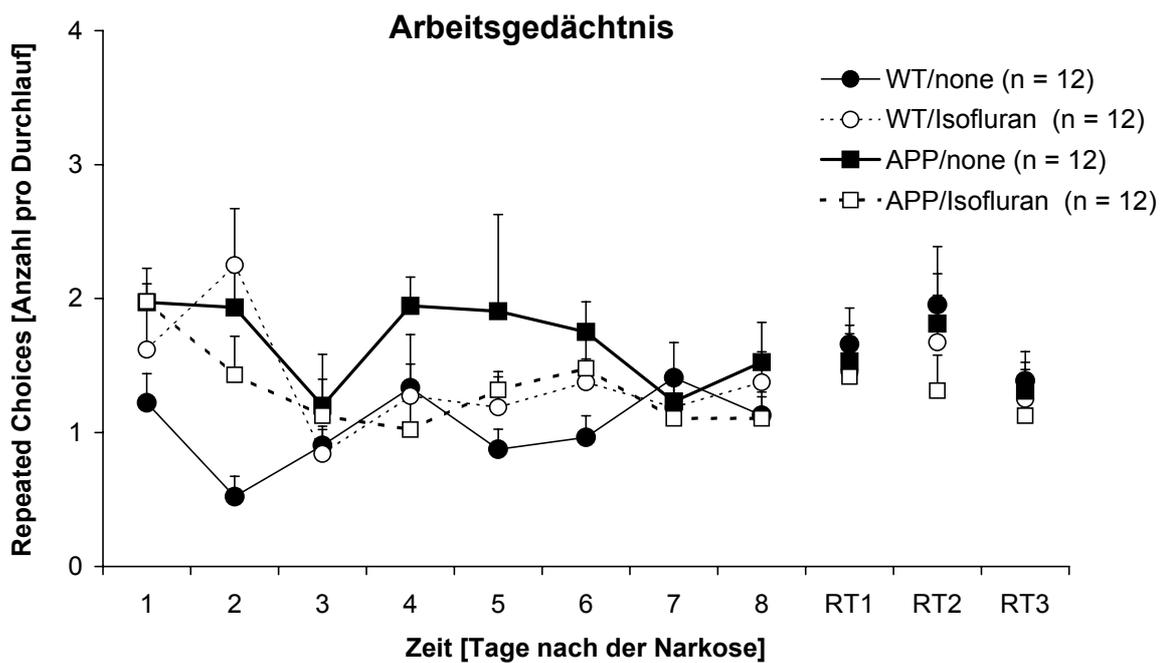


Abbildung 15: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 8: kognitiver Parameter: Gesamtzeit des Durchlaufs (Time Complete)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Gesamtzeit des Durchlaufes (Time Complete)	1	248,4 ± 55,7	290,7 ± 21,9	282,2 ± 31,8	297,7 ± 8,2
	2	226,3 ± 67,5	291,1 ± 16,2	264,3 ± 43,8	298,1 ± 7,0
	3	231,9 ± 51,9	273,0 ± 42,6	238,0 ± 56,6	284,1 ± 25,0
	4	218,8 ± 61,4	274,9 ± 32,1	236,8 ± 57,9	289,0 ± 17,7
	5	200,3 ± 74,3	260,0 ± 44,9	211,3 ± 70,3	265,4 ± 59,4
	6	191,7 ± 61,2	260,4 ± 44,9	177,4 ± 64,9	241,6 ± 61,6
	7	187,7 ± 60,5	257,5 ± 38,7	169,2 ± 57,7	240,2 ± 59,0
	8	150,7 ± 56,2	229,6 ± 56,7	144,0 ± 54,7	209,0 ± 62,2
	14 (1.RT)	114,7 ± 38,0	200,2 ± 74,3	113,1 ± 52,4	184,5 ± 58,9
	20 (2.RT)	141,0 ± 42,7	166,0 ± 59,5	94,2 ± 42,5	157,2 ± 69,3
26 (3.RT)	127,1 ± 45,1	138,1 ± 64,0	102,6 ± 48,6	118,0 ± 67,9	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des kognitiven Parameters: Gesamtzeit (Time Complete, TC (s)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

Die Zeit, welche die Tiere für einen gesamten Durchlauf brauchen (Time Complete), verringert sich während der Lernphase in allen vier Gruppen und weiterhin auch in der Wiederholungsphase (Zeit: $p < 0,001$). Beide anästhesierten Gruppen benötigen in der Lernphase weniger Zeit zum Beenden des Durchlaufs als die nicht narkotisierten Tiere (Anästhesie x Zeit: $p = 0,005$) (siehe Abbildung 16).

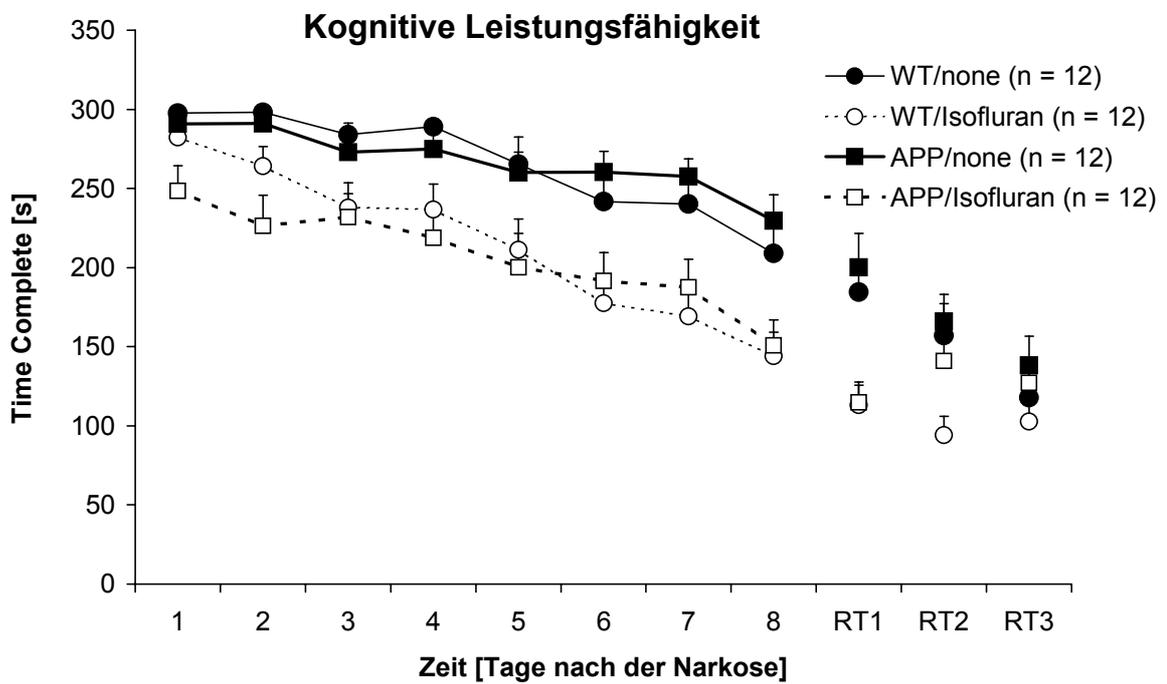


Abbildung 16: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Gesamtzeit eines Durchlaufes (Time Complete, TC (s)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

3.3.3 Verhaltensparameter

Angstverhalten

Im modifizierten Hole-Board-Test können mehrere Parameter Auskunft über das Angstverhalten geben: dazu gehören die auf dem mHB verbrachte Gesamtzeit in einem Durchlauf (Time on Board), die Latenz bis zum ersten Hole Board Besuch (Latency First Entry on Board) und die Anzahl, wie oft das Board pro Durchlauf besucht wird (Number of Board Entries). In folgenden Tabellen sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) zu ersehen und die Abbildungen zeigen grafische Darstellungen aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM).

Tabelle 9: Verhaltensparameter für Angstverhalten: Gesamtzeit auf dem mHB (Time on Board)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Gesamtzeit auf dem mHB (Time on Board)	1	30 \pm 6	18 \pm 6	23 \pm 9	25 \pm 9
	2	23 \pm 7	12 \pm 8	17 \pm 8	15 \pm 8
	3	23 \pm 8	10 \pm 8	18 \pm 8	14 \pm 9
	4	22 \pm 7	12 \pm 9	18 \pm 7	16 \pm 11
	5	24 \pm 8	13 \pm 10	18 \pm 6	16 \pm 11
	6	23 \pm 8	14 \pm 9	19 \pm 6	19 \pm 11
	7	24 \pm 6	15 \pm 8	21 \pm 9	20 \pm 10
	8	24 \pm 7	17 \pm 10	22 \pm 8	20 \pm 9
	14 (1.RT)	27 \pm 7	20 \pm 8	23 \pm 4	26 \pm 10
	20 (2.RT)	25 \pm 9	21 \pm 7	24 \pm 5	24 \pm 9
26 (3.RT)	23 \pm 9	21 \pm 7	19 \pm 8	25 \pm 10	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für Angstverhalten: auf dem Board verbrachte Gesamtzeit (Time on Board (% TC)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

Die auf dem Board verbrachte Gesamtzeit (Time on Board) verhält sich im Verlauf bei allen vier Gruppen während der Lernphase (die ersten 8 Tage nach der Narkose) in etwa gleich. Die Mittelwerte der narkotisierten APP23-Tiere liegen in der gesamten Lernphase deutlich über denen der nicht anästhesierten APP23-Mäuse (Anästhesie: $p = 0,008$). Ein Unterschied zwischen den Gruppen ist in der Wiederholungsphase nicht zu erkennen (siehe Abbildung 17).

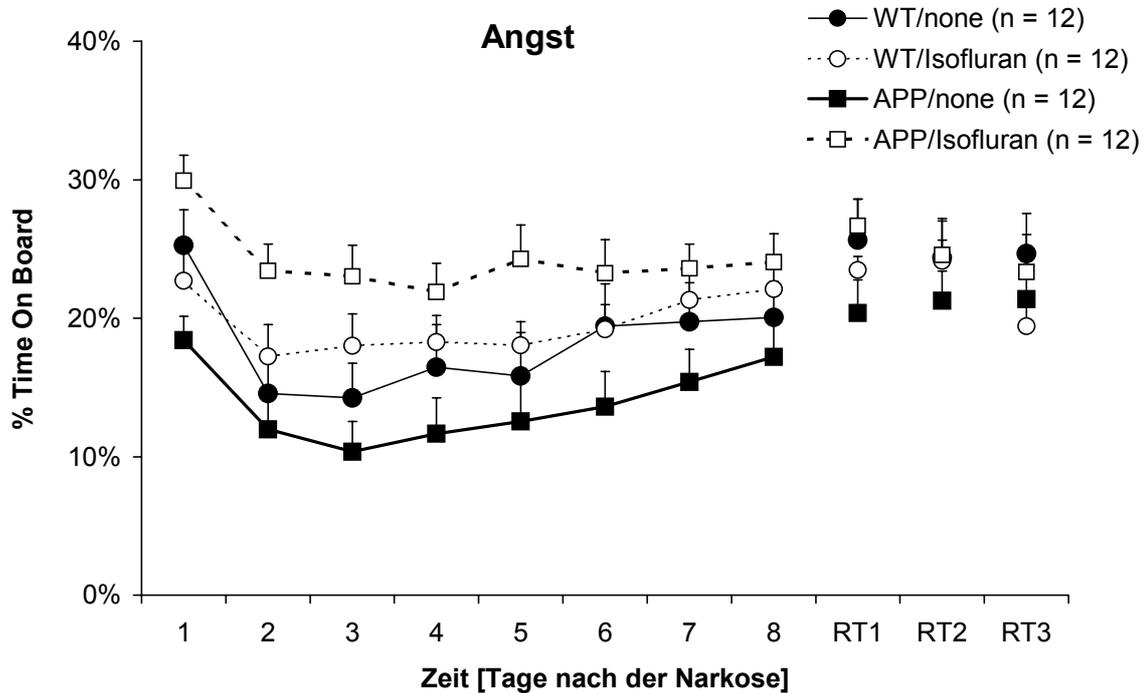


Abbildung 17: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der auf dem Board verbrachten Gesamtzeit (Time on Board (% TC)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 10: Verhaltensparameter für Angstverhalten: Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Erster mHB-Besuch (Latency First Entry on Board)	1	29,4 ± 13,9	66,2 ± 34,8	36,1 ± 24,6	28,2 ± 21,2
	2	38,4 ± 36,7	102,3 ± 75,6	49,7 ± 36,7	67,5 ± 66,1
	3	36,2 ± 23,2	125,6 ± 85,9	48,1 ± 39,2	70,1 ± 51,7
	4	37,3 ± 37,9	107,2 ± 67,6	50,2 ± 50,4	62,1 ± 55,0
	5	35,0 ± 36,5	103,7 ± 73,2	47,0 ± 50,7	71,1 ± 73,1
	6	30,1 ± 19,5	84,7 ± 68,9	42,9 ± 40,3	64,3 ± 50,1
	7	25,8 ± 17,4	66,5 ± 35,8	35,3 ± 33,4	42,1 ± 33,0
	8	22,0 ± 15,4	62,0 ± 41,4	34,6 ± 39,9	58,9 ± 53,3
	14 (1.RT)	16,8 ± 13,4	33,0 ± 23,5	18,6 ± 14,3	32,8 ± 25,7
	20 (2.RT)	18,2 ± 12,4	27,8 ± 18,6	15,9 ± 17,4	23,5 ± 12,5
26 (3.RT)	13,9 ± 9,9	25,6 ± 21,1	17,9 ± 13,9	17,1 ± 9,3	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für Angstverhalten: Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board (s)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

Betrachtet man die Mittelwerte der Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board), kann man erkennen, dass die anästhesierten Mäuse das Board deutlich früher zum ersten Mal betreten als ihre jeweiligen Vergleichsgruppen ohne Narkose (Anästhesie: $p = 0,004$). Keine Unterschiede zeigen sich in der Wiederholungsphase (siehe Abbildung 18).

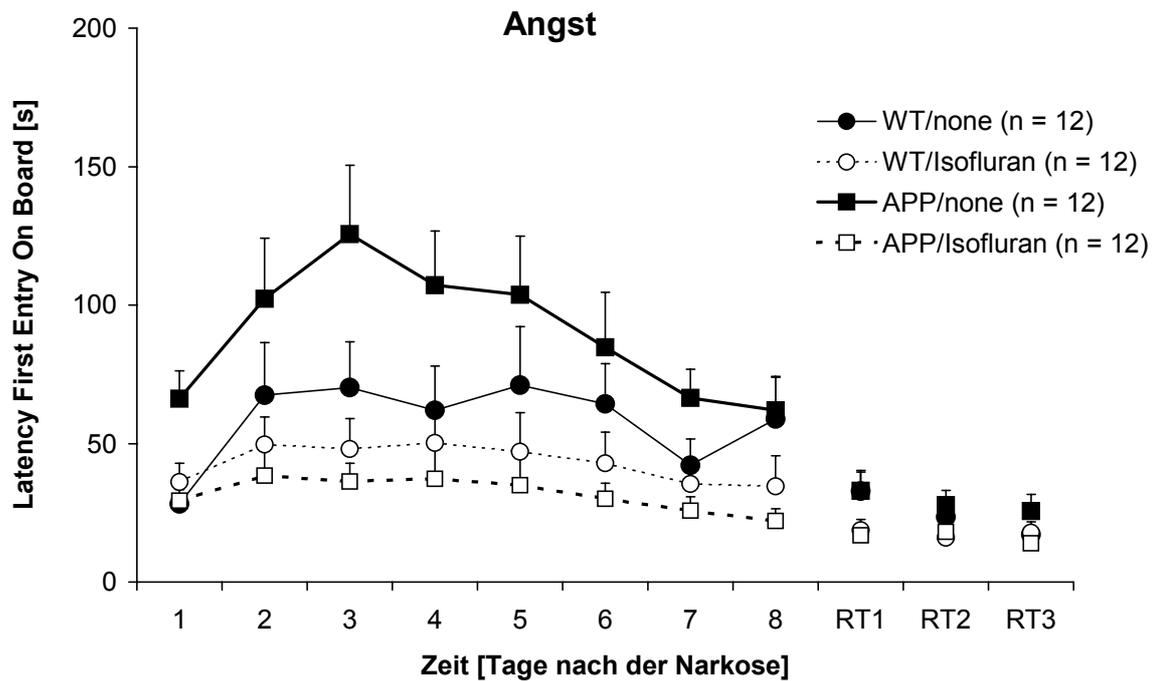


Abbildung 18: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board (s)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 11: Verhaltensparameter für Angstverhalten: Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Anzahl mHB- Besuche (Number of Board Entries)	1	15,8 ± 3,1	13,9 ± 4,0	13,5 ± 3,1	15,1 ± 3,4
	2	10,0 ± 2,5	7,7 ± 3,8	9,1 ± 3,2	9,1 ± 3,3
	3	9,3 ± 1,6	6,1 ± 3,5	7,8 ± 3,4	7,8 ± 2,9
	4	9,8 ± 3,6	6,9 ± 3,7	8,7 ± 3,5	8,6 ± 3,9
	5	9,4 ± 3,0	7,2 ± 4,2	8,3 ± 3,3	7,2 ± 3,8
	6	9,0 ± 2,7	8,2 ± 4,1	7,0 ± 2,9	7,6 ± 3,4
	7	9,9 ± 3,6	8,7 ± 3,5	7,1 ± 2,8	8,5 ± 4,0
	8	7,4 ± 1,6	8,7 ± 3,0	6,1 ± 2,1	7,7 ± 3,1
	14 (1.RT)	7,7 ± 1,9	10,2 ± 2,3	6,3 ± 2,6	10,2 ± 3,3
	20 (2.RT)	9,1 ± 2,8	9,1 ± 2,2	5,5 ± 1,8	8,4 ± 3,6
	26 (3.RT)	8,6 ± 3,1	7,8 ± 2,8	5,3 ± 2,6	6,3 ± 2,8

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für Angstverhalten: Anzahl der mHB-Besuche (Board Entries (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: $n = 12$, APP/none: $n = 12$, WT/Isofluran: $n = 12$, WT/none: $n = 12$)

Die Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries) verläuft für alle Gruppen annähernd gleich, d.h. nach hohen Ausgangswerten kommt es zu einem raschen Abfall bis zum 3. Tag (Zeit: $p < 0.001$) und bleibt dann bis zum Ende der Lernphase auf einem etwa gleichbleibenden Niveau (siehe Abbildung 19).

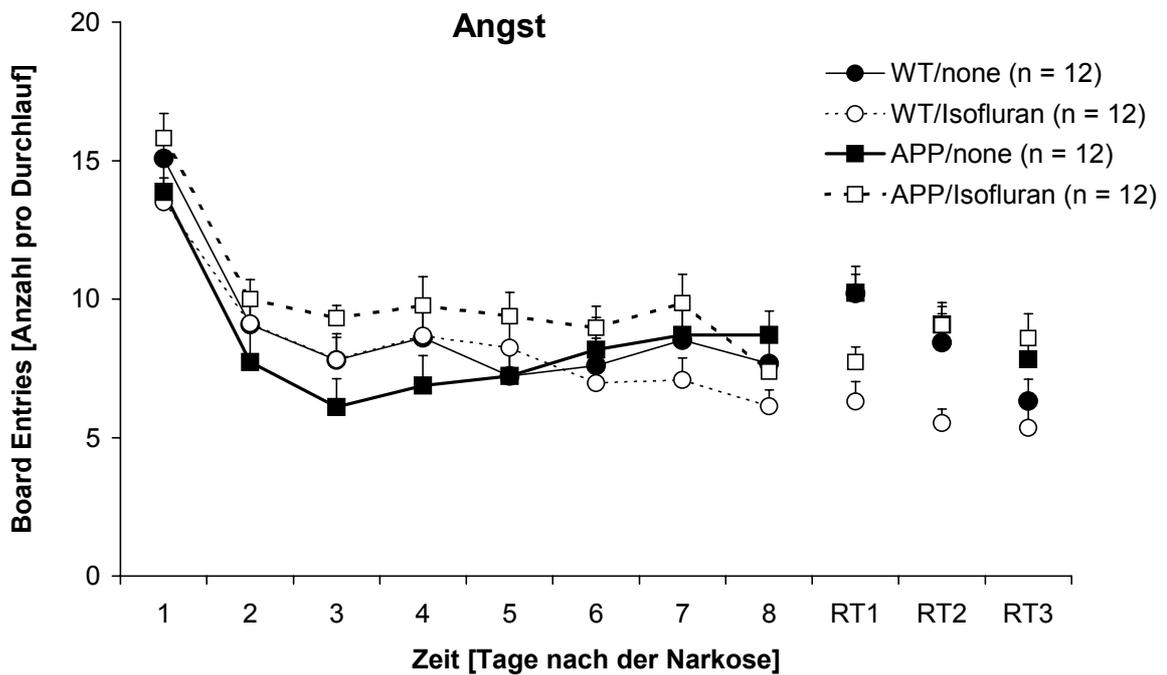


Abbildung 19: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl der mHB-Besuche (Board Entries (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Angst und Allgemeinbefinden

Als Indikator für diese Verhaltensweisen wird die Gesamtzeit, die die Tiere pro Durchlauf immobil verbringen (Immobility), gewertet und in Prozent der für den Durchlauf benötigten Gesamtzeit angegeben. In folgender Tabelle sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) zu ersehen und die Abbildung zeigt eine grafische Darstellung aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM).

Tabelle 12: Verhaltensparameter für Angst und Wohlbefinden: Gesamtzeit der Immobilität (Immobility)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Immobilität (Immobility)	1	1 \pm 1	5 \pm 8	4 \pm 7	5 \pm 5
	2	6 \pm 5	24 \pm 20	15 \pm 15	21 \pm 14
	3	6 \pm 8	32 \pm 22	14 \pm 17	21 \pm 16
	4	7 \pm 11	30 \pm 19	11 \pm 15	20 \pm 19
	5	5 \pm 8	25 \pm 23	12 \pm 18	21 \pm 21
	6	3 \pm 8	18 \pm 18	8 \pm 13	15 \pm 17
	7	2 \pm 3	14 \pm 14	7 \pm 11	13 \pm 17
	8	2 \pm 2	12 \pm 14	7 \pm 12	14 \pm 16
	14 (1.RT)	1 \pm 2	4 \pm 5	2 \pm 5	6 \pm 9
	20 (2.RT)	3 \pm 7	4 \pm 5	9 \pm 11	6 \pm 9
	26 (3.RT)	3 \pm 6	3 \pm 6	5 \pm 6	5 \pm 7

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für Angstverhalten und Wohlbefinden: Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% TC)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

Die Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility) liegt bei den anästhesierten Gruppen in der gesamten Lernphase unter denen der Gruppen ohne Narkose (Anästhesie: $p < 0,001$). Bei den drei Wiederholungstests bestehen keine Unterschiede zwischen den vier Gruppen (siehe Abbildung 20).

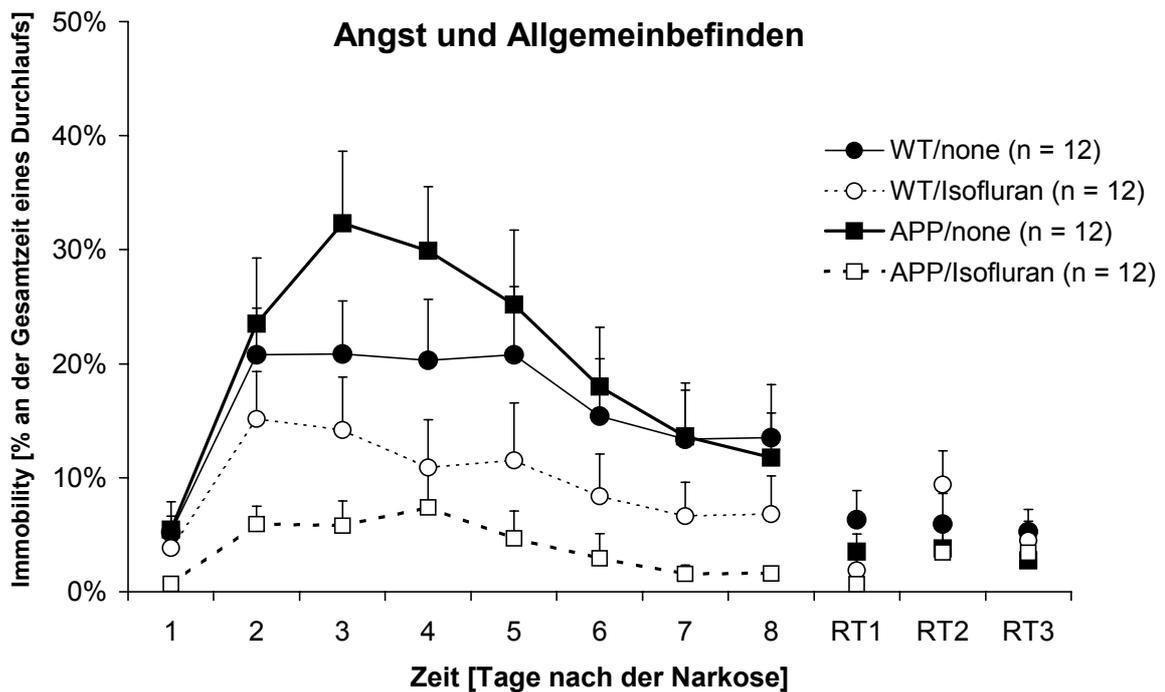


Abbildung 20: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% TC)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Exploration

Die Verhaltensparameter für Exploration kann man in solche für gerichtete Exploration und ungerichtete Exploration einteilen. Das gezielte Besuchen der Löcher im Test, welches durch die Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit) und die Anzahl der besuchten Löcher (Number of Holes Visited) ausgedrückt wird, ist ein Indikator für gerichtete Exploration. Ungerichtete Exploration zeigen die Tiere durch das Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings). In folgenden Tabellen sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) zu ersehen und die Abbildungen zeigen grafische Darstellungen aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM).

Table 13: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Erster Lochbesuch (Latency First Hole Visit)	1	108,7 \pm 32,6	177,1 \pm 38,2	154,3 \pm 69,8	187,9 \pm 35,9
	2	93,4 \pm 45,2	211,0 \pm 76,5	127,2 \pm 78,9	196,8 \pm 64,6
	3	100,6 \pm 69,7	109,9 \pm 83,1	100,1 \pm 62,8	175,6 \pm 65,8
	4	74,2 \pm 42,6	185,6 \pm 85,0	94,2 \pm 68,4	177,9 \pm 77,1
	5	73,5 \pm 53,1	167,3 \pm 76,1	89,7 \pm 63,7	138,4 \pm 88,4
	6	62,0 \pm 32,0	149,7 \pm 78,9	60,1 \pm 40,1	117,2 \pm 71,8
	7	54,2 \pm 32,1	116,5 \pm 46,9	57,9 \pm 40,7	91,3 \pm 49,8
	8	47,2 \pm 28,4	95,6 \pm 56,6	54,8 \pm 51,0	87,1 \pm 69,5
	14 (1.RT)	32,2 \pm 19,1	64,6 \pm 33,7	29,4 \pm 23,5	50,0 \pm 28,8
	20 (2.RT)	38,9 \pm 27,1	51,8 \pm 29,5	24,6 \pm 23,2	46,6 \pm 38,9
26 (3.RT)	42,1 \pm 34,1	41,5 \pm 20,6	24,6 \pm 18,3	30,8 \pm 17,0	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für gerichtete Exploration: Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit, LFHV (s)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die Zweifache repeated measurement ANOVA lässt in allen vier Gruppen bei den Werten für die Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit) einen Abfall bis zum Ende der Lernphase hin erkennen (Zeit: $p < 0,001$). Die Werte der narkotisierten Tiere liegen in der gesamten Lernphase deutlich unter denen der nicht anästhesierten Mäuse (Anästhesie x Zeit: $p < 0,001$). Die Wiederholungstests zeigen keinen Unterschied zwischen den 4 Gruppen (siehe Abbildung 21).

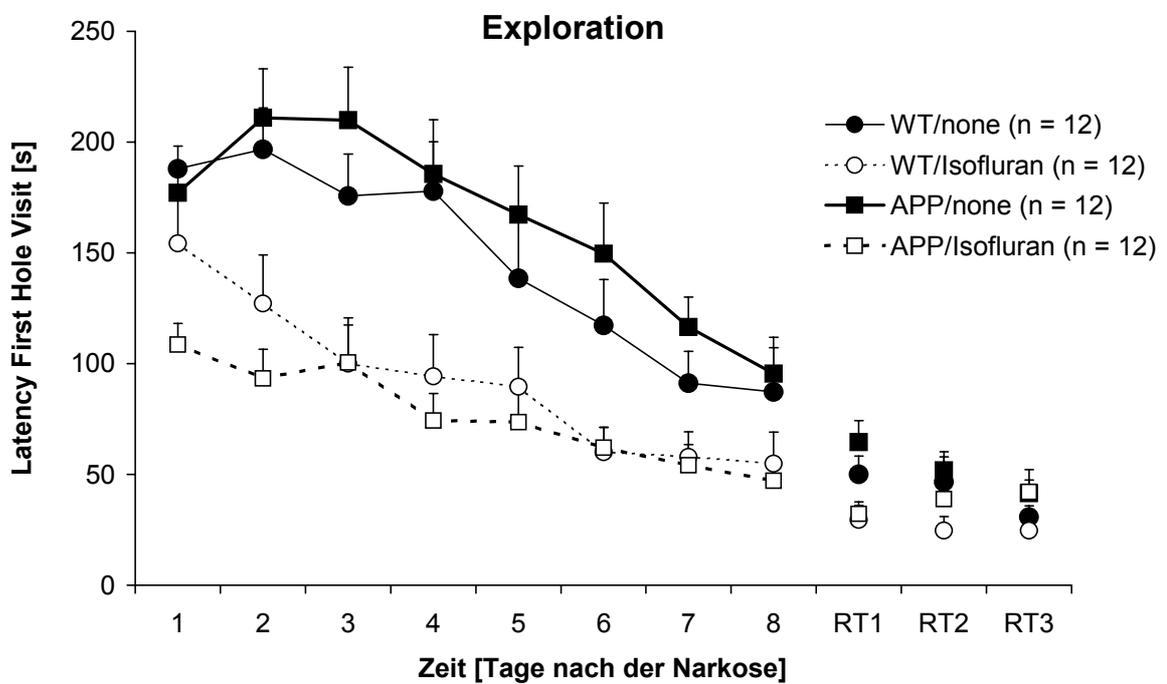


Abbildung 21: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit, LFHV (s)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 14: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Besuchte Löcher (Number of Holes Visited)	1	10,2 ± 2,1	5,8 ± 2,5	5,6 ± 2,6	5,4 ± 3,0
	2	6,5 ± 1,9	4,1 ± 2,9	6,2 ± 2,9	4,1 ± 2,2
	3	6,1 ± 1,9	3,1 ± 2,9	5,2 ± 1,6	3,9 ± 1,9
	4	5,7 ± 1,4	3,9 ± 3,0	6,1 ± 1,9	4,5 ± 2,9
	5	5,8 ± 2,0	4,8 ± 4,1	5,6 ± 2,1	4,4 ± 2,2
	6	6,2 ± 1,6	5,0 ± 3,0	6,0 ± 0,8	5,2 ± 1,7
	7	5,9 ± 1,2	5,5 ± 2,2	5,4 ± 1,5	5,8 ± 1,7
	8	5,6 ± 1,1	5,9 ± 1,8	5,8 ± 0,8	6,6 ± 2,2
	14 (1.RT)	6,3 ± 1,0	6,5 ± 1,9	6,6 ± 1,9	7,7 ± 2,0
	20 (2.RT)	6,4 ± 1,3	7,0 ± 2,3	6,2 ± 1,5	7,4 ± 1,9
	26 (3.RT)	5,9 ± 0,9	5,6 ± 1,2	5,5 ± 1,0	6,1 ± 1,2

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für gerichtete Exploration: Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited, NHV (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

Die Mittelwerte für die Anzahl der besuchten Löcher (Number of Holes Visited) schwanken in der Gruppe der Wild-type-Mäuse und der APP23-Tiere mit Narkose über die gesamte Lernphase um ein annähernd gleichbleibendes Niveau. Sehr ähnlich verhalten sich auch die Werte im Verlauf der Lernphase bei den Gruppen ohne Narkose, die nach einem Tiefpunkt am 3. Tag stetig bis zum Ende der Lernphase ansteigen. Während der Wiederholungsphase sinkt die Anzahl der Lochbesuche (Zeit: $p < 0,001$). Unterschiede zwischen den Gruppen lassen sich dort nicht erkennen (siehe Abbildung 22).

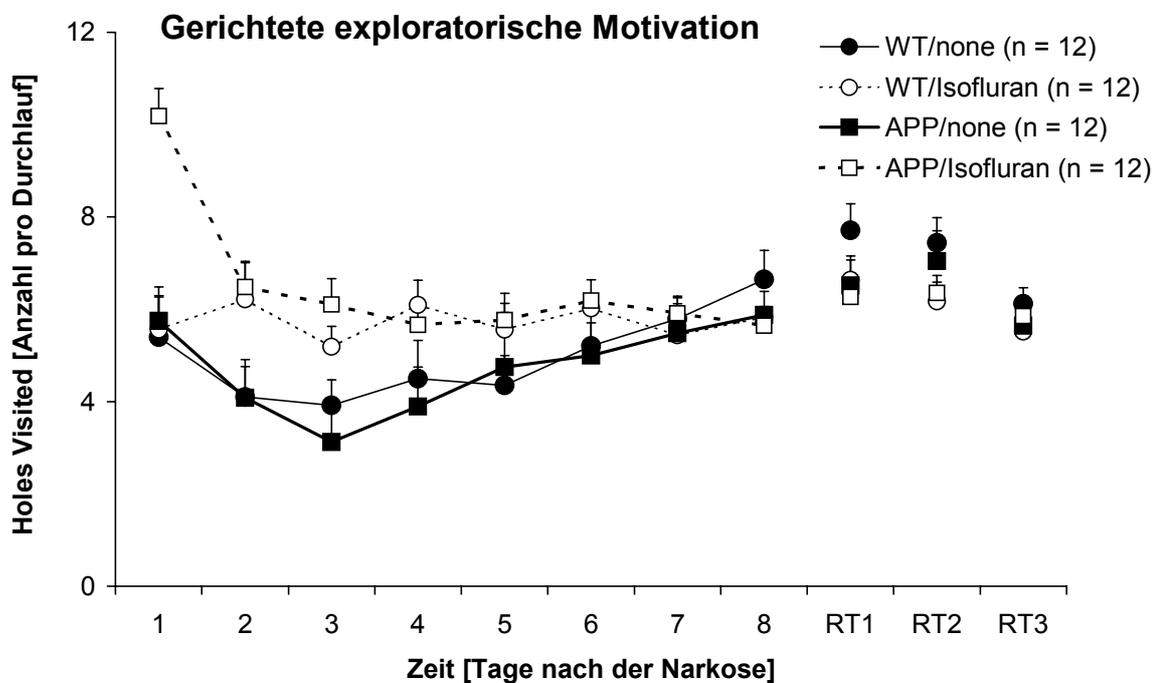


Abbildung 22: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited, NHV (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 15: Verhaltensparameter für ungerichtete Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)	1	15,6 ± 7,7	16,8 ± 4,8	21,5 ± 9,0	18,3 ± 6,3
	2	11,2 ± 8,1	11,9 ± 6,2	13,1 ± 4,9	13,4 ± 6,3
	3	13,8 ± 9,4	9,7 ± 4,7	12,8 ± 8,9	13,2 ± 4,9
	4	14,9 ± 8,7	9,8 ± 4,6	12,3 ± 6,7	12,9 ± 5,2
	5	12,9 ± 6,9	10,8 ± 6,4	11,9 ± 8,5	12,8 ± 5,2
	6	13,4 ± 8,1	11,7 ± 5,2	7,9 ± 4,9	10,6 ± 5,5
	7	12,2 ± 8,9	11,1 ± 5,1	7,0 ± 4,5	11,8 ± 6,0
	8	8,6 ± 7,1	9,8 ± 4,2	5,2 ± 2,5	9,0 ± 5,9
	14 (1.RT)	4,9 ± 3,0	10,1 ± 6,6	4,9 ± 4,3	9,9 ± 5,9
	20 (2.RT)	5,6 ± 3,6	6,6 ± 4,0	3,2 ± 2,3	7,7 ± 7,2
26 (3.RT)	6,4 ± 5,2	5,3 ± 2,6	4,0 ± 4,3	5,3 ± 5,5	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (±SD) des Verhaltensparameters für ungerichtete Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

Die Anzahl, wie oft sich ein Tier pro Durchlauf auf die Hinterbeine erhebt (Rearings), sinkt in allen Gruppen bis zum Ende der gesamten Testperiode hin ab (Zeit < 0,001). Ein Unterschied zwischen den Gruppen ist in keiner Phase erkennbar (siehe Abbildung 23).

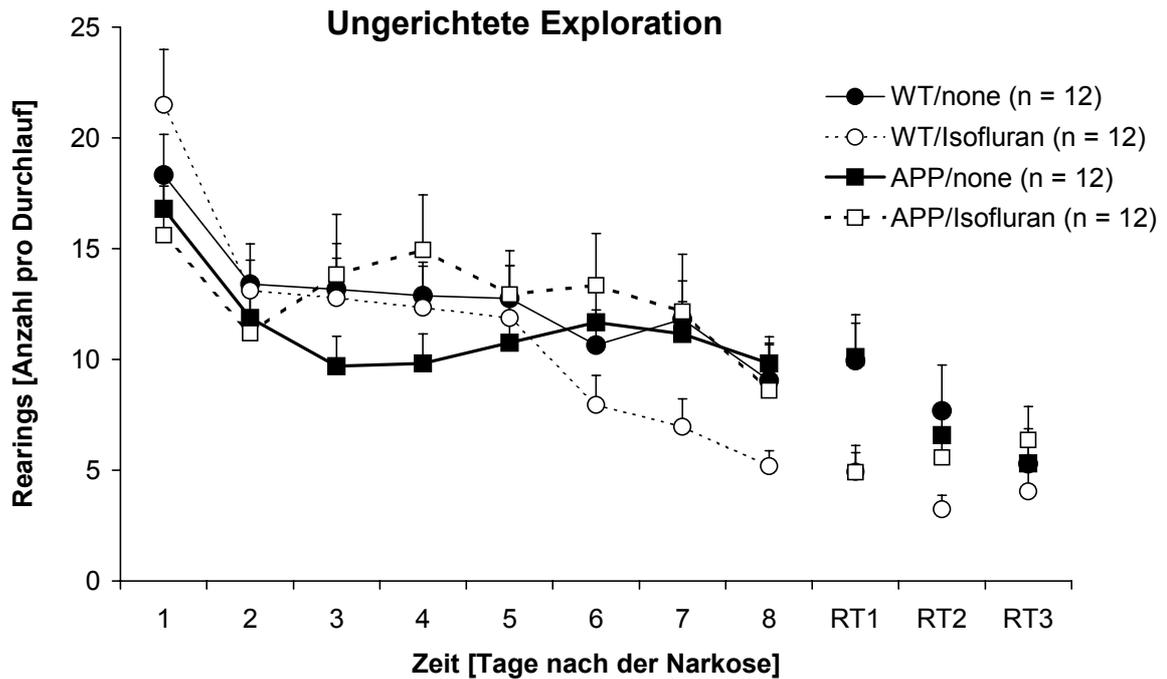


Abbildung 23: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Erregung

Erregung kommt in zwei verschiedenen Verhaltensparametern zum Ausdruck. Einerseits wird dafür die Gesamtzeit der Putzphasen in Prozent der für den Durchgang benötigten Gesamtzeit gemessen (Grooming), andererseits ist die Anzahl der pro Durchlauf abgesetzten Kotballen (Boli) ein Parameter für Erregung. In folgenden Tabellen sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) zu ersehen und die Abbildungen zeigen grafische Darstellungen aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM).

Tabelle 16: Verhaltensparameter für Erregung: Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Putzphasen (Grooming)	1	1,3 \pm 1,5	2,5 \pm 1,1	1,8 \pm 1,0	1,7 \pm 0,6
	2	2,7 \pm 1,8	4,5 \pm 1,8	3,0 \pm 0,9	2,8 \pm 1,3
	3	3,6 \pm 2,7	4,5 \pm 1,6	3,5 \pm 1,3	3,8 \pm 1,4
	4	3,5 \pm 2,7	5,4 \pm 3,2	4,8 \pm 4,4	4,5 \pm 1,4
	5	4,6 \pm 6,3	7,0 \pm 6,8	4,0 \pm 2,1	4,3 \pm 1,4
	6	2,9 \pm 1,8	4,8 \pm 2,4	4,1 \pm 3,0	4,0 \pm 1,2
	7	2,9 \pm 2,0	5,3 \pm 2,1	3,7 \pm 1,3	3,4 \pm 1,2
	8	2,8 \pm 2,8	3,8 \pm 1,7	5,2 \pm 4,9	3,5 \pm 2,2
	14 (1.RT)	2,0 \pm 1,8	2,7 \pm 1,8	4,3 \pm 2,5	3,6 \pm 1,8
	20 (2.RT)	3,6 \pm 3,0	4,9 \pm 5,6	3,8 \pm 2,9	4,2 \pm 2,4
26 (3.RT)	4,3 \pm 5,4	4,7 \pm 3,3	3,5 \pm 3,5	3,6 \pm 1,8	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für Erregung: Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming (% TC)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: n = 12, APP/none: n = 12, WT/Isofluran: n = 12, WT/none: n = 12)

Die Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) verläuft in allen Gruppen sehr ähnlich. Sie steigt bis zur Mitte der Lernphase hin an und fällt dann wieder etwas ab (Zeit: $p = 0,002$) (siehe Abbildung 24).

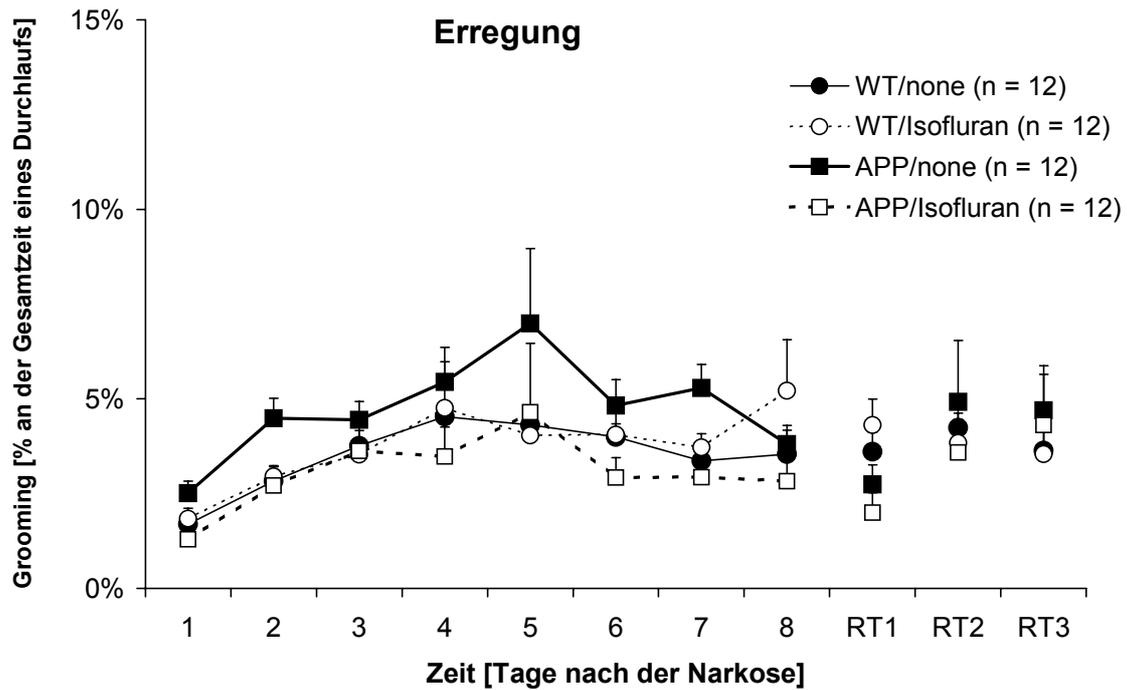


Abbildung 24: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming (% TC)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 17: Verhaltensparameter für Erregung: Anzahl an abgesetzten Kotballen (Boli)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Abgesetzte Kotballen (Boli)	1	0,6 ± 0,8	0,9 ± 1,2	0,4 ± 0,8	0,3 ± 0,3
	2	0,4 ± 0,5	1,0 ± 1,2	0,3 ± 0,3	0,7 ± 0,6
	3	0,6 ± 0,9	1,4 ± 1,3	0,3 ± 0,5	0,4 ± 0,5
	4	0,5 ± 1,2	1,1 ± 1,2	0,2 ± 0,5	0,4 ± 0,5
	5	0,3 ± 1,0	0,9 ± 1,3	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,4
	6	0,5 ± 1,1	0,6 ± 0,9	0,2 ± 0,4	0,1 ± 0,2
	7	0,1 ± 0,2	0,4 ± 0,4	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,2
	8	0,0 ± 0,1	0,3 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2
	14 (1.RT)	0,3 ± 0,8	0,5 ± 1,3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2
	20 (2.RT)	0,4 ± 0,8	0,8 ± 1,4	0,0 ± 0,1	0,2 ± 0,6
26 (3.RT)	0,1 ± 0,3	0,9 ± 1,3	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für Erregung: Anzahl an abgesetzten Kotballen (Boli (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: $n = 12$, APP/none: $n = 12$, WT/Isofluran: $n = 12$, WT/none: $n = 12$)

Bei der Anzahl der abgesetzten Kotballen (Boli) sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen (siehe Abbildung 25).

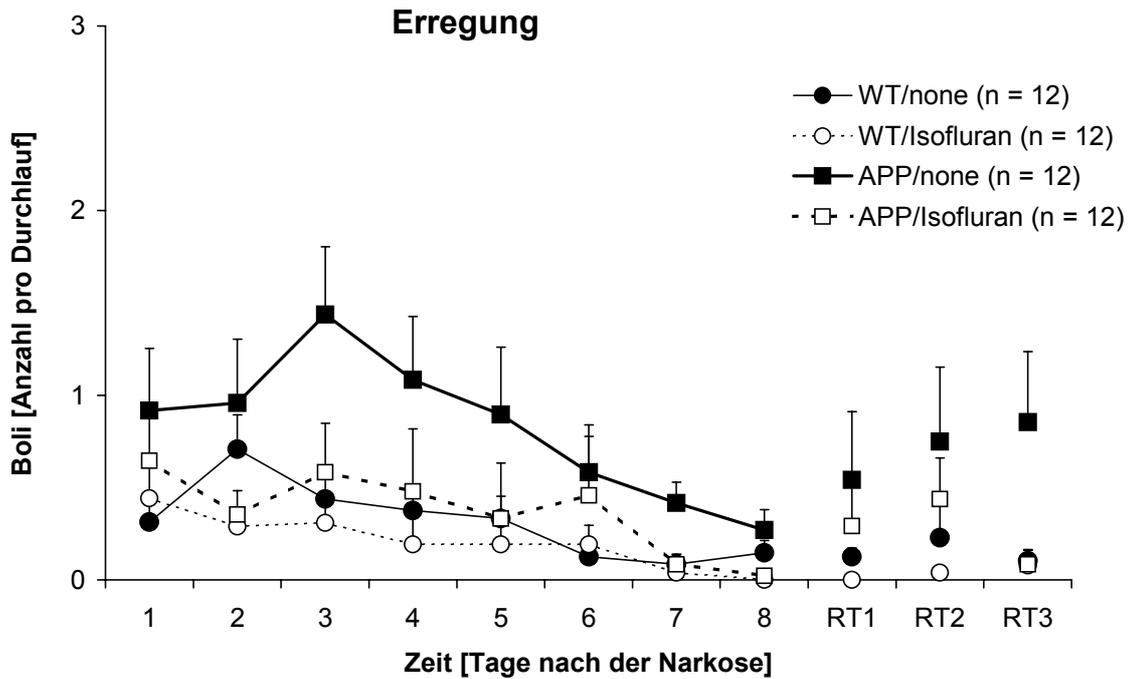


Abbildung 25: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl an abgesetzten Kotballen (Boli (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

Lokomotorische Aktivität

Der Verhaltensparameter für die lokomotorische Aktivität im modifizierten Hole Board ist die Anzahl der Linienüberschreitungen (Line Crossings). In folgender Tabelle sind die daraus errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (\pm SD) zu ersehen und die Abbildung zeigt eine grafische Darstellung aus Mittelwerten (MW) und Standardfehlern (SEM).

Tabelle 18: Verhaltensparameter für lokomotorische Aktivität: Anzahl an Linienüberschreitungen (Line Crossings)

	Tag	APP/Isofluran	APP/none	WT/Isofluran	WT/none
Linien- überschrei- tungen (Line Crossings)	1	14,9 \pm 2,4	14,3 \pm 3,0	12,7 \pm 2,3	11,4 \pm 2,2
	2	10,0 \pm 3,5	8,1 \pm 2,7	9,9 \pm 3,2	8,3 \pm 1,7
	3	10,6 \pm 4,3	7,7 \pm 3,5	9,6 \pm 2,7	8,6 \pm 1,6
	4	12,4 \pm 5,5	7,5 \pm 3,0	10,2 \pm 2,8	8,3 \pm 1,3
	5	13,8 \pm 6,8	8,8 \pm 4,2	11,0 \pm 3,6	8,5 \pm 1,8
	6	13,8 \pm 5,7	9,7 \pm 3,6	11,4 \pm 2,9	9,3 \pm 1,6
	7	13,6 \pm 5,7	9,7 \pm 3,1	11,0 \pm 2,9	9,6 \pm 2,5
	8	14,0 \pm 5,9	11,0 \pm 3,2	11,6 \pm 3,5	9,7 \pm 1,9
	14 (1.RT)	18,2 \pm 5,8	15,9 \pm 4,2	14,6 \pm 5,4	13,0 \pm 2,5
	20 (2.RT)	18,4 \pm 6,6	18,0 \pm 5,8	14,5 \pm 5,6	12,1 \pm 1,9
26 (3.RT)	18,9 \pm 6,5	17,7 \pm 4,3	14,0 \pm 5,5	12,8 \pm 3,1	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (\pm SD) des Verhaltensparameters für lokomotorische Aktivität: Anzahl an Linienüberschreitungen (Line Crossings (Anzahl pro min)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. (APP/Isofluran: $n = 12$, APP/none: $n = 12$, WT/Isofluran: $n = 12$, WT/none: $n = 12$)

Die Mittelwerte für die Anzahl der Linienüberschreitungen (Line Crossings) fallen für alle Gruppen vom 1. auf den 2. Tag nach der Narkose rasch ab und steigen bis zum Ende der Lernphase langsam wieder an. Beide anästhesierten Gruppen überschreiten die Linien deutlich öfter als die Mäuse, die keiner Narkose unterzogen wurden (Anästhesie: $p = 0,001$). In den Wiederholungstests liegen die Werte der APP23-Gruppen über denen ihrer gesunden Wurfgeschwister (Gruppe: $p = 0,03$) und die Narkose erhöht bei den Wild-type-Mäusen und APP23-Tieren die Anzahl der Line Crossings (Anästhesie: $p = 0,043$) (siehe Abbildung 26).

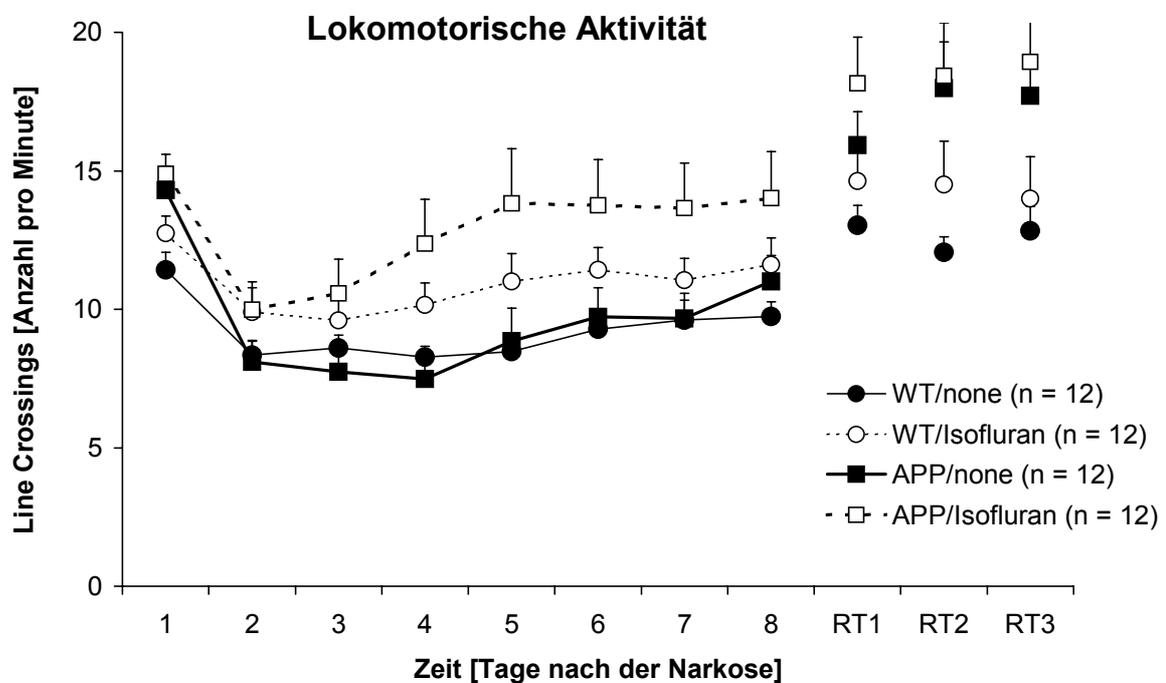


Abbildung 26: Vergleichende grafische Darstellung ($MW \pm SEM$) der Anzahl an Linienüberschreitungen (Line Crossings (Anzahl pro min)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.

MW = Mittelwert, SEM = Standardfehler

4 DISKUSSION

In dieser Studie wurde die Auswirkung einer Isoflurannarkose auf die kognitive Leistung anhand eines Mausmodells für die Alzheimer-Krankheit untersucht. Die grundlegende Erkenntnis, die man aus dieser Studie ziehen kann, ist, dass eine Anästhesie mit 1 MAK Isofluran die kognitiven Fähigkeiten sowohl der 3 Monate alten APP23-Mäuse als auch die ihrer gesunden Wurfgeschwister verbessert. Zusätzlich zu den verbesserten kognitiven Fähigkeiten auf die Narkose hin zeigten vor allem die Alzheimer-Tiere nach einer Narkose auch weniger Ängstlichkeit und eine erhöhte Motivation zur Exploration.

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Das APP23 Maus-Modell der Alzheimer-Krankheit

Tiermodelle werden häufig zur Untersuchung kognitiver Prozesse eingesetzt und dienen einer Reihe von Zielen. Modellsysteme können zum Beispiel entwickelt werden, um grundlegende elektrophysiologische und biochemische Mechanismen bei kognitiven Prozessen zu erforschen, wie Lernen und Gedächtnis. Sie können aber auch Auskunft über den Einfluss einer neurodegenerativen Krankheit auf das Gedächtnis geben oder zur Evaluierung potentieller therapeutischer Behandlungsmaßnahmen beitragen. Obwohl kognitive Prozesse beim Menschen, wie Lernen und Gedächtnis, zumindest zu einem großen Teil erfolgreich im Tiermodell untersucht werden können, stellen höhere kognitive Leistungen wie Denken, Schlussfolgern und Sprachentwicklung die Wissenschaftler immer noch vor große Probleme. Trotz dieser Probleme wurden verschiedene Tiermodelle entwickelt, um kognitive Defizite erforschen zu können (DECKER, 1995), unter anderem auch für die Alzheimer Erkrankung.

Zur Untersuchung dieser Krankheit stehen verschiedene transgene Mausmodelle zur Verfügung, die entweder natürliches oder mutiertes APP alleine oder zusammen mit Präselininen überexprimieren. Für die vorliegende Studie wurde das Modell der APP23-Maus ausgewählt, denn dieses hat sich als zuverlässiges und hochwertiges Tiermodell für die Alzheimer-Krankheit erwiesen (STURCHLER-PIERRAT, 1997).

Diese Mäuse zeigen eine große Zahl von histologischen Eigenschaften, wie sie für die Alzheimer-Krankheit beim Menschen typisch sind. Dazu gehören neuritische Plaques, die von lokaler Astro- und Mikrogliose (STURCHLER-PIERRAT, 1997) begleitet werden, Degenera-

tion von Neuronen (STURCHLER-PIERRAT et al., 1997; CALHOUN et al., 1998) und eine zerebrale Amyloid-Angiopathie (WINKLER et al., 2001), die bei anderen transgenen Alzheimer-Mauslinien nicht auftritt. Auch hyperphosphoryliertes Tau, welches bei Alzheimer Patienten als frühes Zeichen für neurofibrilläre Veränderungen beschrieben wird, konnte bei den APP23-Mäusen gefunden werden (STURCHLER-PIERRAT et al., 1997). Zusätzlich wurde in verschiedenen Studien, die alle den Morris-Water-Maze als Verhaltenstest für Neurokognition einsetzten, nachgewiesen, dass APP23-Mäuse auch kognitive Defizite entwickeln (LALONDE et al., 2002; KELLY et al., 2003; VAN DAM et al., 2003). Es bestehen zwar ein paar Unterschiede in Bezug auf das Alter, in dem erstmals kognitive Defizite auftreten und auf den Schweregrad der Gedächtnisausfälle, aber die kognitiven Defizite scheinen bei den APP23-Mäusen sowohl mit steigendem Alter als auch mit komplizierteren Aufgabestellungen größer zu werden. Kognitive Defizite bei diesen Tieren bestätigen auch die Ergebnisse einer in der eigenen Arbeitsgruppe mit 16 Monate alten APP23-Tieren und ihren gesunden Wurfgeschwistern durchgeführten Untersuchung. Auch hier wurde der Einfluss der Narkose auf Kognition und Verhalten mit dem mHB-Test evaluiert (ECKEL et al., in Vorb.). In der Studie von KELLY et al. konnte auch eine Neophobie dieser Alzheimer-Tiere nachgewiesen werden (KELLY et al., 2003), eine weitere Verhaltensweise, die auch bei Alzheimer Patienten auftritt.

Das APP23-Mausmodell ist also ein bereits gut dokumentiertes Tiermodell, für das sowohl histologische und chemische Aspekte als auch neurologische Defizite, die beim Menschen für die Alzheimer Krankheit typisch sind, beschrieben wurden. Es eignet sich daher sehr gut, um auch den Einfluss einer Anästhesie auf die kognitiven Fähigkeiten von 3 Monate alten Alzheimer-Mäusen zu untersuchen. Mit diesem Alter traten in der Studie von VAN DAM und Kollegen erstmals kognitive Defizite im Morris-Water-Maze auf (VAN DAM et al., 2003) und die Untersuchung jüngerer Tiere sollte einen interessanten Vergleich mit den 16 Monate alten Tieren der Studie von Eckel et al. (ECKEL et al., in Vorb.) ergeben.

4.1.2 Der modifizierte Hole-Board-Test

Neben der Auswahl eines geeigneten Tiermodells spielt vor allem auch das eingesetzte Testsystem eine wichtige Rolle für die gewonnenen Ergebnisse einer Untersuchung kognitiver Prozesse.

Das Hole Board, eine Kombination aus Open Field und klassischem Hole Board, wurde in der Arbeitsgruppe von OHL zur Untersuchung kognitiver und exploratorischer Parameter bei Tupaia modifiziert (OHL und FUCHS, 1998; OHL und FUCHS, 1999) und dann für Nagetiere allgemein angepasst (OHL et al., 2001b).

In den meisten Fällen kann in herkömmlichen Tests zur Untersuchung kognitiver Fähigkeiten nur ein spezifischer Aspekt des Verhaltens evaluiert werden, wodurch mehrere verschiedene Tests für ein aussagekräftiges Ergebnis über Verhaltensveränderungen nötig werden (ESCORIHUELA et al., 1999; HENNIGER et al., 2000). Außerdem sollten für jeden dieser Tests testnaive Versuchstiere verwendet werden, um Interferenzen zwischen den einzelnen Tests zu vermeiden (BELZUNG und LE PAPE, 1994).

Die kognitiven Funktionen, die mit dem mHB-Test evaluiert werden können, sind hochkomplex und die zum Lernen des Tests nötigen Fähigkeiten entsprechen soweit möglich denen, die zur Untersuchung kognitiver Funktionen beim Menschen angewandt werden (DECKER, 1995). Ebenso erlaubt dieser Test dem Untersuchenden erstmals, in nur einem einzigen Test mehrere verschiedene Dimensionen im Verhalten von Nagetieren zu untersuchen. Zu den erfassbaren Parametern gehören angstbedingtes Verhalten, Risikoeinschätzung, Exploration, lokomotorische Aktivität, Erregung und kognitive Prozesse. Dadurch entstehen erhebliche Vorteile. Da die Interferenzen zwischen den sonst nötigen verschiedenen Tests dadurch wegfallen, wird die Gesamtanzahl und auch der Zeit- und Kostenaufwand deutlich reduziert (OHL et al., 2001a). Auch ist damit die Bedingung erfüllt, die CUMMINGS (2004) bei einem Tiermodell der Alzheimer Erkrankung für nötig erachtet, um die Resultate besser mit Untersuchungen bei menschlichen Patienten vergleichen zu können. Dies ist seiner Meinung nach eine parallele Untersuchung von Kognition und Verhalten, die mit dem mHB-Test erstmals möglich ist.

Beim Morris-Water-Maze, der häufig zur Untersuchung kognitiver Funktionen bei Mäusen und Ratten eingesetzt wird, wirkt die Zwangsmaßnahme zur Motivation, die Versuchstiere schwimmen zu lassen, als starker Stressfaktor. Genauso wie Futter- und Wasserentzug bei anderen Verhaltenstests, wie zum Beispiel dem Radial-Arm-Maze, zur Motivation dienen,

DISKUSSION

den Tieren aber Stress bereiten. Der Aufbau des mHB erlaubt es den Tieren dagegen, den Test zu absolvieren, indem sie ihrem natürlichen Futtersuchverhalten ohne vorherigem Futterentzug nachgehen. Sie werden auch keinen weiteren Zwangsmaßnahmen ausgesetzt und der Test ist garantiert schmerzfrei. Auch werden die Tiere im selben Raum, in dem sie auch gehalten werden, getestet, so dass der Transportstress ebenfalls wegfällt und alle Vorgänge in gewohnter Umgebung stattfinden. Die Reduktion solcher irritierender Stresseinflüsse ist wichtig, da Stress sowohl beim Mensch als auch beim Tier die kognitiven Funktionen verändern kann (BELZUNG und LE PAPE, 1994). OHL und FUCHS (1999) konnten zeigen, dass chronischer Stress das deklarative Gedächtnis der Tiere selbst Tage, nachdem der Stressfaktor entfernt wurde, noch negativ beeinflusst. Diese Vorteile des mHB-Tests gegenüber anderen Verhaltenstests tragen zu einer aussagekräftigeren Bewertung der Ergebnisse bei.

Das modifizierte Hole-Board-Paradigma repräsentiert also eine sinnvolle Alternative zu der Praxis-üblichen Vorgehensweise, eine Serie spezifischerer Tests zu verwenden und wurde deshalb für diese Studie ausgewählt, um die Auswirkung einer Isoflurannarkose auf die kognitive Leistungsfähigkeit und das Verhalten von Alzheimer-Mäusen zu untersuchen.

4.2 Bewertung der Testparameter und Diskussion der Ergebnisse

Die verschiedenen Gedächtnis- und Verhaltensparameter, die im modifizierten Hole-Board-Test ermittelt werden, ermöglichen eine Aussage über den Effekt, den eine zweistündige Isoflurannarkose auf die kognitive Gedächtnisleistung von transgenen APP23-Mäusen und ihren gesunden Wurfgeschwistern hat. Gleichzeitig können neben Gedächtnisdefiziten mit dem mHB-Test aber auch verschiedene Verhaltensänderungen bewertet werden, die kognitive Parameter beeinflussen könnten (BEUZEN und BELZUNG, 1995).

Die kognitiven Funktionen, die mit dem mHBT evaluiert werden können, sind hoch komplex (DECKER, 1995). So können sowohl das deklarative Gedächtnis, also die bewusste Erinnerung an bereits gelernte Informationen (SQUIRE, 1998), als auch das Arbeitsgedächtnis, eine zeitlich begrenzte Informationsspeicherung (OLTON, 1989; GOLDMAN-RAKIC, 1996), mit diesem Test untersucht werden (OHL et al., 2002).

Das deklarative Gedächtnis wird mit den Parametern „Wrong Choices“ und „Omission Errors“ erfasst. Für das erfolgreiche Absolvieren des mHB-Test müssen die Mäuse lernen, dass die Futterbelohnungen mit markierten Löchern assoziiert sind und sich dann deren Sequenz über mehrere Durchläufe hinweg merken. Dies erfordert ein bewusstes Erinnern an Fakten und Ereignisse, was für das deklarative Gedächtnis bezeichnend ist (SQUIRE, 1998). Wird also ein nicht markiertes Loch ohne Futterbelohnung besucht (Wrong Choice), wertet man dies als Fehler des deklarativen Gedächtnisses. Um auszuschließen, dass im Versuchstier zum Auffinden der markierten Löcher automatisierte und damit nicht-deklarative Gedächtnisprozesse stattfinden, wird die Sequenz der markierten Löcher täglich geändert (siehe Tabelle 2). Auch wenn die Mäuse markierte Löcher nicht besuchen (Omission Error), ist das ein Hinweis auf ein fehlerhaftes deklaratives Gedächtnis, da die Assoziationsleistung zwischen Markierung und Futter, die der mHB-Test erfordert, nicht erbracht wird. Deswegen werden die nicht besuchten, markierten Löcher zu der Anzahl der falsch besuchten Löcher (Wrong Choices) gerechnet (siehe Tabelle 4).

Besucht ein Tier ein Loch wiederholt (Repeated Choice), bemisst das die Fähigkeit der Maus, sich innerhalb eines Durchlaufs kurzfristig merken zu können, welche mit einer Futterbelohnung bestückte Löcher bereits besucht wurden. Dies ist ein Indikator für die Funktion des Arbeitsgedächtnisses. Diese kurzzeitig gespeicherte Information muss das Tier abrufen können, um Wiederholungen zu vermeiden (siehe Tabelle 4).

DISKUSSION

Zu den kognitiven Parametern kann außerdem auch noch die Gesamtzeit (Time Complete) eines Durchlaufs gezählt werden. Die Zeit, die ein Tier braucht, um alle drei markierten Löcher zu finden und die Futterbelohnung zu fressen, ist gleichzeitig ein Parameter für Motivation und Lernleistung. Je schneller ein Tier den Durchlauf beendet, desto besser wird die Lernleistung eingeschätzt (siehe Tabelle 4).

Alzheimer-Tiere und ihre gesunden Wurfgeschwister erlernen den Test innerhalb der ersten 8 Tage und vergessen auch in der Wiederholungsphase das Gelernte nicht, da alle Mäuse im Laufe der gesamten Testperiode immer weniger falsche Löcher besuchen und mehr Futterbelohnungen finden. Eine vorhergehende Anästhesie mit Isofluran beschleunigt das Lernen sowohl der APP23-Tiere als auch ihrer Wilde-type-Geschwister. Der Narkoseeffekt ist bei den APP23-Mäusen deutlicher als bei den nicht transgenen Geschwistertieren. Vom ersten Testtag an finden die anästhesierten APP23-Tiere schon zwei von drei Futterbelohnungen, wogegen die übrigen Tiere erst mit der Zeit weniger Omission Errors machen. Die Lernbeschleunigung durch die Narkose spiegelt sich auch in der Gesamtzeit, die ein Tier für einen Durchlauf benötigt, wieder. Beide Narkose-Gruppen benötigen weniger Zeit, alle drei Futterbelohnungen zu finden, als die nicht anästhesierten Mäuse. Kein Unterschied zwischen den Gruppen und auch kein deutlicher Verlauf zeigt sich im Arbeitsgedächtnis (siehe 3.3.1).

Sowohl Feld-Studien als auch Untersuchungen unter Laborbedingungen haben gezeigt, dass Nagetiere aus natürlichem, angstbedingtem Verhalten heraus dazu neigen, ungeschützte Gebiete eines unbekanntes Territoriums erst einmal zu vermeiden (BELZUNG und LEPAPE, 1994). In experimentellen Versuchssystemen dazu, die üblicherweise durch eine abgegrenzte Versuchsarena repräsentiert werden, ziehen Mäuse und Ratten spontan erst einmal die Peripherie dem ungeschützten Mittelpunkt der Arena vor, was man als Thigmotaxis bezeichnet (PRUT und BELZUNG, 2003). Erst nach einem gewissen Zeitraum trauen sie sich, die offene Fläche zu erforschen. Den ungeschützten, zentralen Mittelpunkt repräsentiert beim mHB-Test das in der Mitte der Versuchsarena gelegene und leicht erhöhte Hole-Board. Dementsprechend gelten 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) als Messparameter für angstbedingtes Verhalten (siehe Tabelle 4).

DISKUSSION

Die APP23-Tiere verbringen während der Lernphase etwas weniger Zeit auf dem Board und betreten dieses deutlich später zum ersten Mal als ihre gesunden Geschwister. Während dies darauf hinweist, dass die Alzheimer-Tiere eventuell ängstlicher sind als die nicht transgenen Mäuse, wird diese Tendenz in den anderen Angstparametern, Anzahl der mHB-Besuche und Immobilität, nicht bestätigt. Die Angst wird hingegen durch die Narkose bei den APP23-Tieren deutlich reduziert, bei den Wilde-type-Geschwistern jedoch nur für den Parameter Immobilität und eventuell auch für die Latenz bis zum ersten mHB-Besuch. Diese Beobachtungen beschränken sich jedoch immer nur auf die Lernphase, da sich die Gruppen während der Wiederholungsphase kaum unterscheiden. Lediglich die Anzahl der mHB-Besuche zeigt keinen Unterschied in allen Gruppen während der Lernphase. Im ersten und zweiten Wiederholungstest jedoch scheint die Narkose einen Angst-reduzierenden Effekt auf die Wilde-type-Mäuse zu haben (siehe 3.3.2).

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 4).

Eine Reduktion der Immobilität scheint die Narkose sowohl bei den transgenen als auch bei den gesunden Tieren zu bewirken, wobei das Isofluran die Immobilität bei den Alzheimer-Tieren deutlich stärker verringert als bei den Wilde-type-Geschwistern (siehe 3.3.2). Da die Gesamtzeit der Immobilitätsphasen sowohl ein Indikator für angstbedingtes Verhalten, als auch für das Allgemeinbefinden ist, verbessert die Narkose offensichtlich das Wohlbefinden und reduziert auch die Angst der Tiere. In keiner Gruppe beträgt die Immobilität mehr als 40 %, was bedeutet, dass keine Gruppe durch zu langes, bewegungsloses Verharren vom Lernen des Tests abgehalten wird.

Explorationsverhalten bei Nagetieren wird durch mehrere, verschiedene Verhaltensmuster definiert, wozu neben dem Erheben auf die Hinterbeine auch das Manipulieren spezifischer Objekte gehört. Im mHB-Test kann zwischen gerichteter und ungerichteter Exploration unterschieden werden. Die Anzahl der besuchten Löcher (Number of Holes Visited) und die Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit) wird dementsprechend als gericht-

tete Exploration gewertet, während das Aufrichten auf beide Hinterbeine (Rearings) ein Indikator für ungerichtet Exploration ist (siehe Tabelle 4).

Während der eine Parameter für gerichtete Exploration (Latenz bis zum ersten Lochbesuch) einen deutlichen positiven Narkoseeffekt sowohl auf transgene als auch auf nicht transgene Tiere zeigt, scheint die Narkose die Motivation zur gerichteten Exploration der Löcher (Holes Visited) nur in der ersten Hälfte der Lernphase zu verbessern. Dabei fällt auf, dass die anästhesierten Alzheimer-Tiere am ersten Testtag wesentlich mehr Löcher besuchen als alle anderen Tiere (siehe 3.3.2).

Alle Tiere besuchen im Laufe der Beobachtungszeit immer weniger falsche Löcher, die Anzahl besuchter Löcher bleibt aber zumindest für die anästhesierten Tiere nahezu gleich. Bei den Gruppen, die keiner Narkose unterzogen wurden, sinkt die Zahl der Lochbesuche über die ersten 3 Lerntage etwas ab, um sich bis zum Ende der Lernphase wieder auf die Ausgangswerte einzupendeln. Daraus lässt sich schließen, dass vermehrt zielgerichtetes Besuchen der Löcher zur Lösung der Lernaufgabe führt, und nicht gesteigertes exploratives Verhalten. Die Tiere besuchen nicht alle Löcher gleichermaßen, sondern sie suchen gezielt markierte Löcher (siehe 3.3.2). Bei der ungerichteten Exploration unterscheiden sich die vier Gruppen nicht.

Sind Nagetiere erregt, zeigen sie dies physiologischerweise durch Absetzen von Kotballen (FLINT et al., 1995) und durch Putzen ihres Fells (TO und BAGDY, 1999). Die Anzahl der abgesetzten Kotballen (Boli) und die Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming) stellen also im mHB-Test die Indikatoren für Erregung dar (siehe Tabell 4). Um eine Aussage über die lokomotorische Aktivität der Versuchstiere machen zu können, hat man die Versuchsarena mit am Boden angebrachten Begrenzungslinien in 9 Quadrate eingeteilt. Misst man dann die Zahl der Linienüberschreitungen (Line Crossings), die eine Maus pro Durchlauf macht, kann man sich ein gutes Bild über die Bewegungsaktivität dieses Tieres machen (siehe Tabelle 4).

Die Alzheimer-Tiere ohne Narkose sind während des Tests leichter erregbar, da sie mehr Kotballen absetzen und sich auch etwas häufiger putzen als die anderen Tiere. Auch hier hat die Narkose auf die APP23-Tiere den Effekt, dass sie die Erregung vermindert (siehe 3.3.2). Während der Lernphase bewirkt die Narkose auch eine gesteigerte lokomotorische Aktivität bei Alzheimer- und gesunden Mäusen, wogegen in der Wiederholungsphase die transgenen Tiere aktiver sind als ihre gesunden Wurfgeschwister (siehe 3.3.2).

DISKUSSION

Interessant ist bei diesen Ergebnissen, dass die Narkose einen Effekt auf Ängstlichkeit, Lernleistung und deklaratives Gedächtnis hat. Auch die allgemeine Exploration wird positiv beeinflusst.

Lernleistung und deklaratives Gedächtnis kann sowohl bei den Alzheimer-Tieren als auch bei den gesunden Geschwistern durch die Narkose verbessert werden. Bei den transgenen Tieren insbesondere fällt auf, dass sie schon zu Beginn der Lernphase deutlich schneller und besser lernen, die richtigen Löcher zu besuchen. Dies fällt zusammen mit verminderter Ängstlichkeit schon zu Beginn des Tests und auch die allgemeine Explorationsbereitschaft liegt bei diesen Tieren durch die Narkose deutlich über allen anderen Gruppen. Die verbesserte Leistung des deklarativen Gedächtnisses mag also mit der reduzierten Ängstlichkeit durch die Anästhesie zusammenhängen.

Das Arbeitsgedächtnis kann natürlich erst dann beurteilt werden, wenn die Maus schon einmal ein markiertes Loch besucht und die Futterbelohnung gefressen hat, damit sie überhaupt Wiederholungen machen kann. Dies bedeutet, dass die Tiere zuerst den Test gelernt haben müssen bevor dieser Parameter verwendet werden kann. Da nicht alle markierten Löcher von allen Tieren in den ersten Tagen geleert werden (siehe Omission Errors, Abbildung 14), kann die Funktion des Arbeitsgedächtnisses erst etwa nach dem 3. Lerntag beurteilt werden. Da aber bei der Anzahl der wiederholt besuchten Löcher weder ein Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen noch ein deutlicher Verlauf über die gesamte Testperiode hinweg festgestellt werden kann, ist es schwierig, die Auswirkung auf das Arbeitsgedächtnis überhaupt zu beurteilen. Die Narkose scheint jedoch den Kurzzeitspeicher des Gedächtnisses weder zu verschlechtern noch zu verbessern und es bestehen auch keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

Insgesamt ist noch recht wenig über das Verhalten von APP23-Mäusen bekannt. In anderen Studien wurde beschrieben, dass APP23-Tiere unter Testkonditionen reduzierte exploratorische Motivation und reduzierte generelle Aktivität zeigen (LALONDE et al., 2002, VAN DAM et al., 2003). Dies konnte in der eigenen Studie nicht bestätigt werden, da kein Unterschied zwischen transgenen und gesunden Mäusen in der Immobilität und der lokomotorischen Aktivität beobachtet werden kann. Die lokomotorische Aktivität steigert sich zum Ende der Lernphase und liegt in der Wiederholungsphase sogar noch höher. Das liegt zumindest teilweise an der kürzeren Zeitspanne, die in dieser Phase für einen Durchlauf benötigt wird,

weil die Zahl der Linienüberschreitungen mit der Gesamtzeit in Beziehung steht. Dies bedeutet, dass sich die Mäuse, vor allem die Alzheimer-Tiere während der Wiederholungsphase schneller bewegen. Eine Tatsache, die mit einer generellen Hyperaktivität der Alzheimer-Tiere in ihren Käfigen übereinstimmt, die sowohl bei unseren eigenen Mäusen als auch von VAN DAM und Kollegen (2003) beobachtet werden konnte. Diese Hyperaktivität könnte auch die Tatsache erklären, dass die APP23-Tiere ein geringeres Gewicht haben, als ihre gesunden Wurfgeschwister, da sie dadurch mehr Energie verbrauchen. Das Gewicht wurde allerdings nur am Tag der Narkose bestimmt, um eine Störung der Tiere während der Testphase zu verhindern.

Ein höheres Niveau an Ängstlichkeit bei den Alzheimer-Mäusen im Gegensatz zu ihren gesunden Wurfgeschwistern stimmt generell mit einer Studie von KELLY und Kollegen (2003) überein, die eine Neophobie für APP23-Mäuse ab einem Alter von 25 Monaten nachweisen konnten. Dieses Ergebnis bestärkt die Verwendbarkeit dieses Mausmodells zur Alzheimer-Forschung, da Ängstlichkeit auch ein oft gesehenes Symptom bei Patienten mit dieser Erkrankung ist, die meistens einem Defizit kognitiver Fähigkeiten vorangeht (CUMMINGS, 2000).

In den letzten Jahren konnte eine fundamentale Beziehung zwischen Ängstlichkeit und kognitiven Prozessen gezeigt werden (BELZUNG und BEUZEN, 1995, MCNAUGHTON, 1997) und man diskutiert darüber, ob kognitive Defizite nicht auch ein grundlegendes pathologisches Merkmal von Angst sind (HINDMARCH, 1998). Nach GRAY (1993) entsteht Angst dann, wenn Informationen, die von einem Individuum neu wahrgenommen werden, mit Informationen, die bereits im Gedächtnis gespeichert sind, nicht zusammenpassen. Dies mag zumindest teilweise ein Grund für die verstärkte Ängstlichkeit bei Alzheimer-Patienten sein. Die Studie der eigenen Arbeitsgruppe von ECKEL et al. (in Vorb.), die sich von der hier vorliegenden Studie dadurch unterscheidet, dass die Versuchstiere älter waren (16 Monate) als die hier eingesetzten (3 Monate), bestätigt, dass die Alzheimer-Tiere ängstlicher sind als ihre gesunden Wurfgeschwister, wobei der Unterschied bei den älteren Tieren wesentlich deutlicher ausfällt. Bei den 3 Monate alten Tieren sind also vermutlich die pathologischen Merkmale der Alzheimer-Krankheit noch nicht so weit fortgeschritten wie 13 Monate später.

Wenn also größere Angst die kognitive Leistung beeinträchtigt, ist eine umgekehrte Schlussfolgerung ebenso naheliegend. Weniger Angst könnte demnach kognitive Leistungen verbessern. Vom ersten Lerntag an sind die Alzheimer-Tiere weniger ängstlich, wenn sie anästhesiert worden sind, und die reduzierte Angst ist so eventuell für die verbesserte Gedächtnisleis-

tung der Tiere verantwortlich. Die Narkose könnte also durch die Reduktion der Angst vor Neuem die Tiere befähigen, schneller zu lernen und sich besser zu erinnern. Dazu passt auch die höhere Motivation, die Umgebung zu explorieren. Dadurch, dass die Tiere weniger Angst haben, explorieren sie schon am ersten Tag in verstärktem Maße, was wiederum ein schnelleres Lernen erlaubt. Dass die Anästhesie auch die Immobilität deutlich reduziert und die lokomotorische Aktivität erhöht, könnte ebenso daran liegen, dass die Tiere nach der Anästhesie insgesamt weniger Angst zeigen. Immobilität ist auch ein Indikator für das Allgemeinbefinden der Tiere. Mäuse, die weniger Angst empfinden, fühlen sich allgemein auch sicherer, was sich darin widerspiegelt, dass sie sich mehr bewegen, weniger verstecken wollen und dadurch seltener unbeweglich in der Ecke verharren.

Es gibt zwar keine wissenschaftlichen Untersuchungen, die bestätigen, dass eine Narkose Ängstlichkeit reduziert, allerdings konnten LANGER und Kollegen (1995) zeigen, dass eine tiefe Narkose mit Isofluran eine antidepressive Wirkung hat. Bei depressiven Frauen, die nicht auf konventionelle Antidepressiva reagierten, war mit der Anästhesie eine vergleichbare antidepressive Wirkung festzustellen wie mit Elektrokrampftherapie (EKT). Die mit Isofluran bis zum burst suppression Muster anästhesierten Patienten zeigten auch in den Nachfolgeuntersuchungen eine Verbesserung in fast allen psychometrischen Parametern, wogegen sich die Patienten mit EKT in ihren Werten verschlechterten (LANGER et al., 1995). Ob dies allerdings auch eine positive Auswirkung auf Ängstlichkeit bewirkt, darüber lässt sich nur spekulieren. Die antidepressive Eigenschaft des Isofluran spricht aber eher für diese Theorie.

Die Studie von ECKEL et al. (in Vorb.) dagegen stimmt insofern mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie überein, dass eine Narkose bei den Alzheimer-Tieren die kognitive Leistung verbessert und die Ängstlichkeit verringert. Im Gegensatz zu den jüngeren Tieren zeigten die 16 Monate alten Wilde-type-Mäuse aber durch die Anästhesie eine Verschlechterung der kognitiven Leistungsfähigkeit und die Alzheimer-Tiere waren nicht in der Lage, den Test überhaupt erfolgreich zu erlernen (ECKEL et al., in Vorb.). Möglicherweise liegt das daran, dass die pathologischen Mechanismen der Alzheimer-Krankheit bei den älteren Mäusen bereits soweit fortgeschritten sind, dass sie, wie auch Menschen, die von dieser Erkrankung betroffen sind, so große Probleme mit dem Erinnern und Lernen haben, dass die Bewältigung des Tests dann nicht mehr möglich ist. Das Alter könnte auch ein Grund für die Verschlechterung der Lernleistung der gesunden Tiere durch eine Narkose sein, weil alte Tiere vielleicht empfindlicher auf das Narkosegas reagieren. Dies war ein Grund, die vorliegende Untersuchung mit den jüngeren 3 Monate alten Tieren durchzuführen.

DISKUSSION

Die überraschende Verbesserung des deklarativen Gedächtnisses und die Reduktion der Ängstlichkeit durch die Anästhesie, wie sie in den beiden Studien mit 3 Monate alten und 16 Monate alten Mäusen deutlich zu sehen ist, konnte nie zuvor gezeigt werden und bedarf weiterer Untersuchungen. Es ist jedenfalls eine neue Erkenntnis, dass ein Arzneimittel kognitive Leistungen bei Alzheimer-Mäusen verbessern kann, denn Gedächtnisleistungen können bisher bei Alzheimer-Patienten mit Medikamenten allerhöchstens erhalten, nicht aber verbessert werden.

Die Spontanatmung während der Narkose, wie sie hier bei den Mäusen erfolgt ist, kann aufgrund der durch Isofluran bedingten Atemdepression zu erniedrigtem O₂-Gehalt und erhöhtem CO₂-Gehalt im Blut führen. Die daraus folgende respiratorische Azidose wäre ein Faktor, der die vorliegenden Ergebnisse im Verhaltenstest beeinflussen könnte. Man glaubt aber, dass diese Ergebnisse durch eine Azidose nicht erklärt werden, da alle Tiere während der Narkose stabile physiologische Mittelwerte (Körpertemperatur: 38,0 °C, Atemfrequenz: 97/min, Herzfrequenz: 520/min) zeigten und die Schleimhäute rosig waren. Ein zu stark erniedrigter Sauerstoffgehalt ist durch die stabile Atemfrequenz bei 97/min auszuschließen. In Vorversuchen zeigten einzelne Tiere, die einer Blutgasanalyse unterzogen wurden, nur Werte, die der Norm entsprechen (ECKEL, persönliche Mitteilung). Weiterhin würde ein zu niedriger O₂-Gehalt eher zu einer Verschlechterung der Kognition führen. Die Blutgasanalyse ergab ebenfalls nur physiologische Werte für CO₂-Gehalt und pH-Wert. Es wurde außerdem ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 3 mmHg eingestellt, um pulmonalen Atelektasen vorzubeugen. Die gesamte Narkose wurde mit nur 1 MAK Isofluran durchgeführt, der die Atmung nur in geringem Maße beeinflusst. So konnten negative Faktoren wie Hypoxie, eine deutliche Hyperkapnie oder Azidose, die die kognitiven und Verhaltensparameter beeinflussen könnten, ausgeschlossen werden.

Eine andere mögliche Ursache für die unerwartete, starke Verbesserung der kognitiven Leistungen, die eine Narkose mit Isofluran vor allem bei den APP23-Tieren zu bewerkstelligen scheint, mag auch in den pathologischen Mechanismen der Alzheimer-Krankheit selbst liegen. Man geht zur Zeit davon aus, dass eine Proteolyse von Amyloid-Precursor-Protein (APP) zur Freisetzung von A β -Peptiden führt und diese die Ursache für die Neurodegeneration sind. In mehreren verschiedenen Schritten oligomerisieren hydrophobe A β -Peptide und vereinen sich letztendlich zu Amyloid-Plaques, welche für das Auftreten klinischer Symptome verantwortlich gemacht werden (WALSH et al., 2002; GONG et al., 2003). VAN DAM und Kolle-

gen (2003) berichten, dass sich die klinischen Symptome noch vor der Plaque-Bildung zeigen und dass der Schweregrad der kognitiven Defizite abhängig von der Konzentration der löslichen Form des A β ist.

Erst kürzlich haben ECKENHOFF et al. (2004) in einer In-vitro-Studie gezeigt, dass Inhalationsanästhetika die Oligomerisation und Zytotoxizität der mit der Alzheimer assoziierten Peptide fördert, indem sich die lösliche Form des A β zu unlöslichen Amyloid-Plaques transformiert. Die Autoren ziehen deshalb in Erwägung, dass eine Narkose ein früheres Auftreten der dieser Krankheit zugrundeliegenden Pathologie und Symptome begünstigt. Dies steht zwar in starkem Kontrast zu der Verbesserung der kognitiven Leistungsfähigkeiten, die bei den eigenen anästhesierten APP23-Mäuse beobachtet werden konnte. Allerdings könnte eine Reduktion des löslichen A β , welche durch die Umformung zu Plaques zustande kommt, die kognitiven Funktionen zumindest kurzzeitig verbessern.

Ein anderer Mechanismus, der für die Verbesserung von Lernen und Gedächtnis vor allem bei den APP23-Tieren verantwortlich gemacht werden könnte, resultiert möglicherweise aus der Interaktion von Isofluran mit zentralen Rezeptoren, wie den NMDA- und Acetylcholinrezeptoren. Im Jahre 1999 haben PARSONS und Kollegen nachweisen können, dass Memantine durch das Blockieren von NMDA-Rezeptoren exzitatorische und entzündliche Effekte des A β hemmen. Da auch Isofluran NMDA-Rezeptoren blockiert (MING et al., 2002), könnte dies einen ähnlichen Effekt auf A β haben. Gegen diese Theorie spricht wiederum, dass die einzige zur Zeit gültige Behandlung von Alzheimer-Patienten auf der Hypothese beruht, dass bei dieser Krankheit die Rezeptordichte für Acetylcholin reduziert ist und deswegen zentral wirkende Acetylcholin-Esterase-Hemmer gegeben werden, um die AcetylcholinKonzentration an den Synapsen zu erhöhen (SUMMERS et al., 1986). Da Isofluran Acetylcholinrezeptoren blockiert (SCHELLER et al., 1997), sollte es die kognitive Leistungsfähigkeit eher beeinträchtigen als verbessern.

In einer anderen Studie konnten FÜTTERER et al. (2004) langfristige biochemische Veränderungen nach einer Narkose mit Desfluran im Rattengehirn feststellen. Es kam zu einer reduzierten Expression des Proteins Dynamin-1, welches an der Regulation der Endozytose von Membranproteinen, wie zum Beispiel ionotropen Membrankanälen, Glutamatrezeptoren und GABA-Rezeptor-Proteinen, beteiligt ist. Ob sich diese geringere Proteinexpression positiv oder negativ auswirkt, ist auch unter der Voraussetzung, dass Isofluran in dieser Wirkung dem Desfluran entspricht, schwer zu sagen.

Abschließende Betrachtung und Ausblick

Über die molekularen Mechanismen, die für die Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten nach einer Isoflurannarkose bei allen Tieren, vor allem aber bei den APP23-Mäusen, verantwortlich sind, kann wohl auch weiterhin nur spekuliert werden. Trotzdem konnte in dieser Studie der Effekt des Anästhetikums Isofluran auf ein Mausmodell der Alzheimer-Krankheit deutlich durch die Beobachtung des Verhaltens im modifizierten Hole-Board-Test gezeigt werden. Zusätzlich zu der Verbesserung der Gedächtnisleistung scheint die Anästhesie mit Isofluran auch noch eine Reduktion des Angstverhaltens, eine gesteigerte gerichtete explorative Motivation und zumindest für die Alzheimer-Tiere eine Reduktion der Erregung zu bewirken. Die reduzierte Ängstlichkeit mag auch der Grund für die verbesserte Lernfähigkeit und die gesteigerte explorative Motivation sein. Weiterhin war die Narkose in der Lage, bei allen Tieren die Immobilitätsphasen zu reduzieren, so dass ein schnelleres Lernen möglich war.

Klinische Studien zu kognitiven Fähigkeiten nach einer Narkose von Patienten, die an der Alzheimer-Krankheit leiden, zeigen widersprüchliche Ergebnisse. Einige epidemiologische Daten von solchen Patienten, die einer Operation und damit einer Anästhesie unterzogen wurden, weisen sogar eher darauf hin, dass keine Verbesserung auftritt (BOHNEN et al., 1994a, 1994b). Klinische Studien können jedoch Faktoren, die das Ergebnis stark beeinflussen können, wie die Art der Operation, die durchgeführt wird, die unterschiedliche Bildung der Patienten, postoperative Schmerzen oder auftretende Komplikationen nicht ausschließen.

Obwohl man zur Zeit Isofluran noch nicht aufgrund der Ergebnisse dieser Untersuchung als Behandlungsmaßnahme für die Alzheimer-Krankheit ansehen kann, so lohnt es sich doch, weitere Forschungen in dieser Richtung anzustellen. Gleichzeitig sollte dies die Befürchtungen mindern, dass eine Anästhesie Patienten mit seniler Demenz schadet beziehungsweise eine Demenz postoperative, kognitive Defizite verursacht.

5 ZUSAMMENFASSUNG

„Auswirkungen der Narkose mit Isofluran auf die kognitive Leistungsfähigkeit von 3 Monate alten, transgenen Alzheimer-Mäusen und ihren gesunden Wurfgeschwistern.“

Für Patienten mit bereits bestehenden kognitiven Beeinträchtigungen, wie zum Beispiel mit Morbus Alzheimer, könnte eine Anästhesie ein besonderes Risiko für eine Verstärkung der kognitiven Defizite sein. Ziel dieser Studie ist es, die Auswirkungen des prominentesten Vertreters der Inhalationsanästhetika, Isofluran, auf die kognitiven Funktionen transgener Mäuse in einem Mausmodell der Alzheimer-Krankheit zu evaluieren.

Es wurden 24 transgene APP23-Mäuse, welche die schwedische Doppelmutation enthalten und humanes Amyloid-Precursor-Protein (APP) überexprimieren und 24 ihrer gesunden Wurfgeschwister im Alter von 3 Monaten untersucht. Jeweils die Hälfte der transgenen und gesunden Tiere wurde einer zweistündigen Narkose mit 1 MAK Isofluran in einem Sauerstoff-/Luftgemisch ($FiO = 0,4$) unterzogen. Am darauffolgenden Tag begannen die Tiere, den modifizierten Hole-Board-Test zu lernen, der eine Untersuchung von kognitiven, exploratorischen und Motivations-Parametern, Angst und lokomotorischer Aktivität gleichzeitig erlaubt. Der Test wurde über die ersten 8 Tage nach der Narkose (Lernphase) durchgeführt und dann in drei Retests am Tag 14, 20 und 26 (Wiederholungsphase) wiederholt.

Prinzipiell zeigt diese Studie, dass eine zweistündige Anästhesie mit 1 MAK Isofluran kognitive Fähigkeiten bei den Mäusen, vor allem aber bei den Alzheimer-Tieren deutlich verbessert, ihre Angst reduziert und die Motivation zur Exploration verbessert. Bei den Alzheimer-Tieren scheint die Narkose auch für einen geringeren Erregungszustand zu sorgen. Ein Unterschied zwischen transgenen und gesunden Tieren ist lediglich bei einzelnen Angstparametern und bei einem Erregungsparameter zu finden, welche eventuell auf eine höhere Ängstlichkeit und stärkere Erregung bei den APP23-Mäusen hinweisen.

Als Ursache für die gefundenen Veränderungen kommen zum Beispiel Auswirkungen des Isofluran auf den Metabolismus, wie Proteinveränderungen oder Interaktion mit Membranrezeptoren, als auch pharmakokinetische und pharmakodynamische Veränderungen in Frage. Weitere Untersuchungen sind nötig, um solche Theorien zu bestätigen.

6 SUMMARY

“Effects of anesthesia with isoflurane on cognitive functions of three month old, transgenic Alzheimer’s mice and their non-transgenic littermates”

Patients with pre-existing cognitive dysfunctions, like people suffering from Alzheimer’s disease, seem to be at a higher risk of developing postoperative cognitive deficits. This study aims to investigate possible effects of anesthesia with one of its most prominent representatives, isoflurane, on cognitive performance using a transgenic mousemodel for Alzheimer’s disease.

24 three month old transgenic mice which over-express human APP (amyloid precursor protein) with the Swedish double mutation and their 24 non-transgenic C57BL/6 littermates were tested. Half the mice of each group were anesthetized with 1 MAC isoflurane in air/oxygen ($FiO_2 = 0,4$) for two hours. The following day the mice started to learn a visual-spatial modified hole board test, allowing the investigation of cognition, anxiety, motivation and locomotor activity at the same time. The test was performed daily during the first 8 days after anesthesia followed by retests on day 14, 20 and 26.

The principal finding was that 2 hours of anesthesia with 1 MAC isoflurane improved cognitive functions in all mice but more clearly in APP23 mice. Additionally, the improvement in cognitive performance was accompanied by a reduction of anxiety and improvement of their motivation to explore. The Alzheimer’s mice also seem to be more aroused when not having been anesthetized. Differences between APP23 mice and wild type mice only occurred in several anxiety parameters, which could point to a higher anxiety level in transgenic mice compared to their non-transgenic littermates.

These findings might be caused by effects of isoflurane on the metabolism, such as protein changes or its interaction with membrane receptors, as well as pharmacodynamic and pharmacokinetic changes. Further investigations are necessary to confirm these theories.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ALEF M,

Eigenschaften gängiger Inhalationsanästhetika

Kleint konkr 1999, 1: 10-16

ALEF M, OECHTERING G

Inhalationsanästhetika und Trägergase

In: Alef M, Oechtering G: Praxis der Inhalationsanästhesie

Stuttgart, Enke Verlag, 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

ATKINSON R, SHIFFRIN R

Human memory: A proposed system and its control processes

The psychology of learning and motivation: Advances in research and theory

New York: Academic Press, 1968, 89-195

BADEN JM, KELLEY M, WHARTON RS, HITT BA, SIMMON VF, MAZZE RI

Mutagenicity of halogenated ether anesthetics

Anesthesiology 1977, 46: 346-50

BADDELEY A

The fractionation of working memory

Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13468-72

BADDELEY A

Working memory and language: an overview

J Commun Disord 2003a; 36:189-208

BADDELEY A

Working memory: looking back and looking forward

Nat Rev Neurosci 2003b; 4:829-39

BADDELEY A, HITCH G

Working memory

In: Recent advances in learning and motivation

New York: Academic Press, 1974; 8:47-90

BAUGHMAN VL, HOFFMAN WE, MILETICH DJ, ALBRECHT RF, THOMAS C

Neurologic outcome in rats following incomplete cerebral ischemia during halothane, isoflurane, or N₂O

Anesthesiology 1988; 69:192-8

LITERATURVERZEICHNIS

BELZUNG C, LE PAPE G

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

Physiol Behav 1994; 56:623-8

BERG L, MORRIS JC

Diagnosis

In: Terry RD, Katzman R, Bick K, (Ed): Alzheimer Disease

New York: Raven Press, 1994:9-25.

BEUZEN A, BELZUNG C

Link between emotional memory and anxiety states: a study by principal component analysis

Physiol Behav 1995; 58:111-8

BLANCK TJ, HAILE M, XU F, ZHANG J, HEERDT P, VESELIS RA, BECKMAN J, KANG R, ADAMO A, HEMMINGS H

Isoflurane pretreatment ameliorates postischemic neurologic dysfunction and preserves hippocampal Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase in a canine cardiac arrest model

Anesthesiology 2000; 93:1285-93

BOHNEN N, WARNER MA, KOKMEN E, KURLAND LT

Early and midlife exposure to anesthesia and age of onset of Alzheimer's disease

Int J Neurosci 1994a; 77:181-5

BOHNEN NI, WARNER MA, KOKMEN E, BEARD CM, KURLAND LT

Alzheimer's disease and cumulative exposure to anesthesia: a case-control study

J Am Geriatr Soc 1994b; 42:198-201

BROWN J

Some tests of the decay theory of immediate memory

Quart J Exp Psychol 1958; 10:12-21

CALABRESE P, MARKOWITSCH HJ

Memory and brain--neurobiological correlates of memory disturbances

Fortschr Neurol Psychiatr 2003; 71:211-9

CALHOUN ME, WIEDERHOLD KH, ABRAMOWSKI D, PHINNEY AL, PROBST A, STURCHLER-PIERRAT C, STAUFENBIEL M, SOMMER B, JUCKER M

Neuron loss in APP transgenic mice

Nature 1998; 395:755-6

CONZEN P, HOBBAHN J,

Inhalationsanästhetikum

In: Conzen P und Hobbahn J, (Hrsg.): Sevofluran Kompendium

Wiesbaden, Wiss Verl-Abt, 1996 Abbott GmbH, 2: 18-26

CONZEN P, NUSCHELER M

Neue Inhalationsanästhetika

Anaesthesist 1996; 45:674-93

CUMMINGS JL

Cognitive and behavioral heterogeneity in Alzheimer's disease: seeking the neurobiological basis

Neurobiol Aging 2000; 21:845-61

CUMMINGS JL

Alzheimer's disease

N Engl J Med 2004; 351:56-67

DECKER MW

Animal models of cognitive function

Crit Rev Neurobiol 1995; 9:321-43

DRUMMOND JC, TODD MM, SHAPIRO HM

Minimal alveolar concentrations for halothane, enflurane, and isoflurane in the cat

J Am Vet Med Assoc 1983; 182:1099-101

ECKEL B, OHL F, RIEMENSCHNEIDER M, STAUFENBIEL M, FÖRSTL H, KOCHS E, BLOBNER M

Effects of anesthesia on cognitive performance in Alzheimer mice using the modified hole board test

Anesthesiology, eingereicht

ECKENHOFF RG, JOHANSSON JS, WEI H, CARNINI A, KANG B, WEI W, PIDIKITI R, KELLER JM, ECKENHOFF MF

Inhaled anesthetic enhancement of amyloid-beta oligomerization and cytotoxicity

Anesthesiology 2004; 101:535-9

ECKERT R

Verhaltensmodifikationen

In: Eckert R: Tierphysiologie.

Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 2000; 503-05

EGER EI, 2ND

Isoflurane: a review

Anesthesiology 1981; 55:559-76

ERHARDT W, HENKE J, KROKER R

Inhalationsanästhetika

In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J (Hrsg.): Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier.

Stuttgart, Schattauer Verlag, 2004; 67-86

ESCORIHUELA RM, FERNANDEZ-TERUEL A, GIL L, AGUILAR R, TOBENA A, DRISCOLL P

Inbred Roman high- and low-avoidance rats: differences in anxiety, novelty-seeking, and shuttlebox behaviors

Physiol Behav 1999; 67:19-26

FEE JP, THOMPSON GH

Comparative tolerability profiles of the inhaled anaesthetics
Drug Saf 1997; 16:157-70

FERNANDEZ CR, FIELDS A, RICHARDS T, KAYE AD

Anesthetic considerations in patients with Alzheimer's disease
J Clin Anesth 2003; 15:52-8

FILE SE, WARDILL AG

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

FLINT J, CORLEY R, DEFRIES JC, FULKER DW, GRAY JA, MILLER S, COLLINS AC

A simple genetic basis for a complex psychological trait in laboratory mice
Science 1995; 269:1432-5

FRANCK D

Habituation

In: Franck D: Verhaltensbiologie

Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 1997; 76-77

FREY HH, SCHULZ R, WERNER E

Narkotika und Anästhetika

In: Frey H-H, Löscher W (Hrsg.): Lehrbuch der Pharmakologie und Toxokologie für die Veterinärmedizin

Stuttgart, Ferdinand Enke Verlag, 1996; 145-63

FÜTTERER CD, MAURER MH, SCHMITT A, FELDMANN RE, JR., KUSCHINSKY W, WASCHKE KF

Alterations in rat brain proteins after desflurane anesthesia
Anesthesiology 2004; 100:302-8

GELMAN S, FOWLER KC, SMITH LR

Regional blood flow during isoflurane and halothane anesthesia
Anesth Analg 1984; 63:557-65

GOLDMAN-RAKIC PS

Regional and cellular fractionation of working memory

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

GONG Y, CHANG L, VIOLA KL, LACOR PN, LAMBERT MP, FINCH CE, KRAFFT GA, KLEIN WL

Alzheimer's disease-affected brain: presence of oligomeric A beta ligands (ADDLs) suggests a molecular basis for reversible memory loss

Proc Natl Acad Sci U S A 2003; 100:10417-22

GRAY TS

Amygdaloid CRF pathways. Role in autonomic, neuroendocrine, and behavioral responses to stress

Ann N Y Acad Sci 1993; 697:53-60

HALL C

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

J Comp Physiol Psychol 1936; 22:345-52

HARDY J, SELKOE DJ

The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics

Science 2002; 297:353-6

HASENEDER R, RAMMES G, ZIEGLGANSBERGER W, KOCHS E, HAPFELMEIER G
GABA(A) receptor activation and open-channel block by volatile anaesthetics: a new principle of receptor modulation?

Eur J Pharmacol 2002; 451:43-50

HEBB D

The organization of behavior

New York: Wiley, 1949

HEBERT LE, SCHERR PA, BIENIAS JL, BENNETT DA, EVANS DA

Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 census

Arch Neurol 2003; 60:1119-22

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

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

Behav Brain Res 2000; 111:153-63

HIGGINS GA, JACOBSEN H

Transgenic mouse models of Alzheimer's disease: phenotype and application

Behav Pharmacol 2003; 14:419-38

HIKASA Y, OHE N, TAKASE K, OGASAWARA S

Cardiopulmonary effects of sevoflurane in cats: comparison with isoflurane, halothane, and enflurane

Res Vet Sci 1997; 63:205-10

HINDMARCH I

Cognition and anxiety: the cognitive effects of anti-anxiety medication

Acta Psychiatr Scand Suppl 1998; 393:89-94

HODGES H

Maze procedures: the radial-arm and water maze compared

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

HOLADAY DA, FISEROVA-BERGEROVA V, LATTO IP, ZUMBIEL MA

Resistance of isoflurane to biotransformation in man

Anesthesiology 1975; 43:325-32

LITERATURVERZEICHNIS

HOMI HM, MIXCO JM, SHENG H, GROCOTT HP, PEARLSTEIN RD, WARNER DS
Severe hypotension is not essential for isoflurane neuroprotection against forebrain ischemia in mice

Anesthesiology 2003; 99:1145-51

HOPPER T, BAYLES KA, KIM E

Retained neuropsychological abilities of individuals with Alzheimer's disease

Semin Speech Lang 2001; 22:261-73

JARRARD L

Selective hippocampal lesions and behavior: implications for current research and theorizing

In: The Hippocampus

New York: Plenum Press, 1984; 4:93-126

JONES RS, SEYMOUR CJ

Clinical experiences with isoflurane in dogs and horses

Vet Rec 1986; 119:8-10

KATOH T, SUGURO Y, IKEDA T, KAZAMA T, IKEDA K

Influence of age on awakening concentrations of sevoflurane and isoflurane

Anesth Analg 1993; 76:348-52

KAWAGUCHI M, DRUMMOND JC, COLE DJ, KELLY PJ, SPURLOCK MP, PATEL PM

The effect of isoflurane on neuronal apoptosis in rats subjected to focal cerebral ischemia

Anesth Analg 2004; 98:798-805

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

KELLEY A

Locomotor activity and exploration

In: Behavioural Neuroscience: A practical approach

Oxford: Oxford University Press, 1993:1-21

KELLY PH, BONDOLFI L, HUNZIKER D, SCHLECHT HP, CARVER K, MAGUIRE E,

ABRAMOWSKI D, WIEDERHOLD KH, STURCHLER-PIERRAT C, JUCKER M,

BERGMANN R, STAUFENBIEL M, SOMMER B

Progressive age-related impairment of cognitive behavior in APP23 transgenic mice

Neurobiol Aging 2003; 24:365-78

KOMATSU H, OGLI K

Opisthotonus during exposure to isoflurane, enflurane, and halothane in mice

Anesthesiology 1987; 67:771-4

LALONDE R, DUMONT M, STAUFENBIEL M, STURCHLER-PIERRAT C, STRAZIELLE C

Spatial learning, exploration, anxiety, and motor coordination in female APP23 transgenic mice with the Swedish mutation

Brain Res 2002; 956:36-44

LITERATURVERZEICHNIS

LANGER G, KARAZMAN R, NEUMARK J, SALETU B, SCHONBECK G, GRUNBERGER J, DITTRICH R, PETRICEK W, HOFFMANN 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

LARSEN R

Inhalationsanästhesie

In: Larson R, (Hrsg.): Anästhesie

Urban & Schwarzenberg Verlag, 1999, München, Wien, Baltimore, 6. Auflage, 20-60

LARSEN R

Inhalationsanästhesie

In: Larson R, (Hrsg.): Anästhesie

Urban & Schwarzenberg Verlag, 1990, München, Wien, Baltimore, 3. Auflage, 189-219

MCNAUGHTON N

Cognitive dysfunction resulting from hippocampal hyperactivity--a possible cause of anxiety disorder?

Pharmacol Biochem Behav 1997; 56:603-11

MING Z, GRIFFITH BL, BREESE GR, MUELLER RA, CRISWELL HE

Changes in the effect of isoflurane on N-methyl-D-aspartic acid-gated currents in cultured cerebral cortical neurons with time in culture: evidence for subunit specificity

Anesthesiology 2002; 97:856-67

MORRIS R

Developments of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat

J Neuroscience Meth 1984; 11:47-60

MUIR WW

Inhalationsanästhetika

In: Muir WW, Hubbell JAE, Skarda RT, (Hrsg.): Veterinäranaesthesie

Schattauer Verlag, 1993, Stuttgart, New York, 71-76

NEWBERG LA, MILDE JH, MICHENFELDER JD

Systemic and cerebral effects of isoflurane-induced hypotension in dogs

Anesthesiology 1984; 60:541-6

OHL F, FUCHS E

Memory performance in tree shrews: effects of stressful experiences

Neurosci Biobehav Rev 1998; 23:319-23

OHL F, FUCHS E

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

Brain Res Cogn Brain Res 1999; 7:379-87

OHL F, HOLSBOER F, LANDGRAF R

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

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

LITERATURVERZEICHNIS

OHL F, MICHAELIS T, VOLLMANN-HONSDORF GK, KIRSCHBAUM C, FUCHS E
Effect of chronic psychosocial stress and long-term cortisol treatment on hippocampus-mediated memory and hippocampal volume: a pilot-study in tree shrews
Psychoneuroendocrinology 2000; 25:357-63

OHL F, OITZL MS, FUCHS E
Assessing cognitive functions in tree shrews: visuo-spatial and spatial learning in the home cage
J Neurosci Meth 1998; 81:35-40

OHL F, 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

OLTON D, BECKER J, HANDELMAN G
Hippocampal function: working memory or cognitive mapping
Physiol Psychol 1980; 8:239-46

OLTON D, BECKER J, HANDELMANN G
Hippocampus, space, and memory
Behav Brain Sci 1979; 2:313-65

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

PARSONS CG, DANYSZ W, QUACK G
Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist--a review of preclinical data
Neuropharmacology 1999; 38:735-67

PETERSON LR, PETERSON MJ
Short-term retention of individual verbal items
J Exp Psychol 1959; 58:193-8

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

RÖDEL A
Das modifizierte Hole Board
In: Verhaltensbiologische Korrelate kognitiver Leistungen bei ängstlichen und nicht-ängstlichen Mäusen
Diplomarbeit der Fakultät für Biologie der LMU-München, 2002

LITERATURVERZEICHNIS

SCHELLER M, BUFLER J, SCHNECK H, KOCHS E, FRANKE C

Isoflurane and sevoflurane interact with the nicotinic acetylcholine receptor channels in micromolar concentrations

Anesthesiology 1997; 86:118-27

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

SCHEUNER D, ECKMAN C, JENSEN M, SONG X, CITRON M, SUZUKI N, BIRD TD, HARDY J, HUTTON M, KUKULL W, LARSON E, LEVY-LAHAD E, VIITANEN M, PESKIND E, POORKAJ P, SCHELLENBERG G, TANZI R, WASCO W, LANNFELT L, SELKOE D, YOUNKIN S

Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease

Nat Med 1996; 2:864-70

SELKOE DJ

Alzheimer's disease: Genes, proteins, and therapy

Physiol Rev 2001; 81: 741-66

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

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

SQUIRE LR, ZOLA SM

Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems

Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13515-22

STECKLER T, MUIR JL

Measurement of cognitive function: relating rodent performance with human minds

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

LITERATURVERZEICHNIS

STURCHLER-PIERRAT C, ABRAMOWSKI D, DUKE M, WIEDERHOLD KH, MISTL C, ROTHACHER S, LEDERMANN B, BURKI K, FREY P, PAGANETTI PA, WARIDEL C, CALHOUN ME, JUCKER M, PROBST A, STAUFENBIEL M, SOMMER B
Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology

Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94:13287-92

STUTH EA, TONKOVIC-CAPIN M, KAMPINE JP, ZUPERKU EJ

Dose-dependent effects of isoflurane on the CO₂ responses of expiratory medullary neurons and the phrenic nerve activities in dogs

Anesthesiology 1992; 76:763-74

SULLIVAN BL, LEU D, TAYLOR DM, FAHLMAN CS, BICKLER PE

Isoflurane prevents delayed cell death in an organotypic slice culture model of cerebral ischemia

Anesthesiology 2002; 96:189-95

SUMMERS WK, MAJOVSKI LV, MARSH GM, TACHIKI K, KLING A

Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type

N Engl J Med 1986; 315:1241-5

TO CT, BAGDY G

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

Neuropharmacology 1999; 38:279-82

TULVING E, MARKOWITSCH HJ

Episodic and declarative memory: role of the hippocampus

Hippocampus 1998; 8:198-204

VAN DAM D, D'HOOGHE R, STAUFENBIEL M, VAN GINNEKEN C, VAN MEIR F, DE DEYN PP

Age-dependent cognitive decline in the APP23 model precedes amyloid deposition

Eur J Neurosci 2003; 17:388-96

VEBER B, DUREUIL B, VIRES N, AUBIER M, PARIENTE R, DESMONTS JM

Effects of isoflurane on contractile properties of diaphragm

Anesthesiology 1989; 70:684-8

VIVIEN B, HANOUS 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

WADE JG, STEVENS WC

Isoflurane: an anesthetic for the eighties?

Anesth Analg 1981; 60:666-82

LITERATURVERZEICHNIS

WALSH DM, KLYUBIN I, FADEEVA JV, CULLEN WK, ANWYL R, WOLFE MS,
ROWAN MJ, SELKOE DJ
Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term
potentiation in vivo
Nature 2002; 416:535-9

WARNER DS, LUDWIG PS, PEARLSTEIN R, BRINKHOUS AD
Halothane reduces focal ischemic injury in the rat when brain temperature is controlled
Anesthesiology 1995; 82:1237-45; discussion 27A

WINKLER DT, BONDOLFI L, HERZIG MC, JANN L, CALHOUN ME, WIEDERHOLD
KH, TOLNAY M, STAUFENBIEL M, JUCKER M
Spontaneous hemorrhagic stroke in a mouse model of cerebral amyloid angiopathy
J Neurosci 2001; 21:1619-27

YAMADA K, NABESHIMA T
Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs
Pharmacol Ther 2000; 88:93-113

YOUNG CJ, APFELBAUM JL
Inhalational anesthetics: desflurane and sevoflurane
J Clin Anesth 1995; 7:564-77

ZBINDEN A, THOMPSON D
Pharmakokinetik der Inhalationsanästhesie
In: Doenicke A, Kettler D, List WF, Radke J, Tarnow J, (Hrsg.): Anästhesiologie
Springer Verlag, 1995, Berlin, 125-7

ZOLA-MORGAN S, SQUIRE LR
Neuroanatomy of memory
Annu Rev Neurosci 1993; 16:547-63

8 TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Versuchsplan</i>	30
<i>Tabelle 2: Lochkombinationen</i>	36
<i>Tabelle 3: Hole Board Protokoll</i>	39
<i>Tabelle 4: mit dem modifizierten Hole-Board-Test auswertbare Parameter</i>	46
<i>Tabelle 5: kognitiver Parameter: falsch besuchte Löcher (Wrong Choices)</i>	48
<i>Tabelle 6: kognitiver Parameter: nicht besuchte, markierte Löcher (Omission Errors)</i>	50
<i>Tabelle 7: kognitiver Parameter: wiederholt besuchte Löcher (Repeated Choices)</i>	52
<i>Tabelle 8: kognitiver Parameter: Gesamtzeit des Durchlaufs (Time Complete)</i>	54
<i>Tabelle 9: Verhaltensparameter für Angstverhalten: Gesamtzeit auf dem mHB (Time on Board)</i>	56
<i>Tabelle 10: Verhaltensparameter für Angstverhalten: Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board)</i>	58
<i>Tabelle 11: Verhaltensparameter für Angstverhalten: Anzahl der mHB-Besuche (Number of Board Entries)</i>	60
<i>Tabelle 12: Verhaltensparameter für Angst und Wohlbefinden: Gesamtzeit der Immobilität (Immobility)</i>	62
<i>Tabelle 13: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit)</i>	64
<i>Tabelle 14: Verhaltensparameter für gerichtete Exploration: Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited)</i>	66
<i>Tabelle 15: Verhaltensparameter für ungerichtete Exploration: Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings)</i>	68
<i>Tabelle 16: Verhaltensparameter für Erregung: Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming)</i>	70
<i>Tabelle 17: Verhaltensparameter für Erregung: Anzahl an abgesetzten Kotballen (Boli)</i>	72
<i>Tabelle 18: Verhaltensparameter für lokomotorische Aktivität: Anzahl an Linienüberschreitungen (Line Crossings)</i>	74

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Prozessierungsweg des Amyloid-Vorläufer-Proteins (APP) zur Produktion von A β (nach SELKOE, 2001)..... 6

Abbildung 2: Taxonomie des Langzeitgedächtnis mit zugehörigen Gehirnstrukturen 15

Abbildung 3: Serial Parallel Independent (SPI)-Modell zum deklarativen Gedächtnis (modifiziert nach TULVING und MARKOWITSCH, 1998)..... 17

Abbildung 4: aktuelles Multikomponenten Modell des Arbeitsgedächtnisses (nach BADDELEY, 2003b) 20

Abbildung 5: Gruppeneinteilung der 48 Testtiere (WT = Wild-type) 29

Abbildung 6: Narkosekammer aus Plexiglas zur Einleitung der Narkose (Eigenbau) 31

Abbildung 7: Nasenkammer für Inhalationsnarkose für 3 Mäuse (eigene Herstellung) 32

Abbildung 8: Mäuse während der zweistündigen Isoflurannarkose 32

Abbildung 9: mHB mit 10 Löchern, die mit Mandelstücken ausgelegt sind. Daneben als Beispiel ein markierter und ein nicht markierter Zylinder zum aufstecken und das Gitter, welches die Tiere vom Fressen der Mandelstücke abhält. 34

Abbildung 10: markiertes „Loch“ mit Mandelstück als Futterbelohnung 35

Abbildung 11: Versuchsarena mit mHB in der Mitte als zentraler Bereich 36

Abbildung 12: Maus während des Verhaltenstests auf dem mHB, wie sie gerade über ein Loch drüberläuft 37

Abbildung 13: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Anzahl falsch besuchter Löcher (Wrong Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen (RT1 = Tag 14, RT2 = Tag 20, RT3 = Tag 26). 49

Abbildung 14: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Anzahl nicht besuchter, markierter Löcher (Omission Errors (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach dem Narkosetag aller vier Gruppen. 51

Abbildung 15: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Anzahl wiederholt besuchter Löcher (Repeated Choices (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen. 53

Abbildung 16: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Gesamtzeit eines Durchlaufes (Time Complete, TC (s)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen. 55

Abbildung 17: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der auf dem Board verbrachten Gesamtzeit (Time on Board (% TC)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen. 57

Abbildung 18: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Latenz bis zum ersten mHB-Besuch (Latency First Entry on Board (s)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen. 59

Abbildung 19: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Anzahl der mHB-Besuche (Board Entries (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen. 61

Abbildung 20: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Gesamtzeit der Immobilitätsphasen (Immobility (% TC)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen. 63

Abbildung 21: Vergleichende grafische Darstellung (MW \pm SEM) der Latenz bis zum ersten Lochbesuch (Latency First Hole Visit, LFHV (s)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen. 65

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 22: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl besuchter Löcher (Number of Holes Visited, NHV (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.</i>	<i>67</i>
<i>Abbildung 23: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl Aufrichten auf die Hinterbeine (Rearings (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.</i>	<i>69</i>
<i>Abbildung 24: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Gesamtzeit der Putzphasen (Grooming (% TC)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.</i>	<i>71</i>
<i>Abbildung 25: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl an abgesetzten Kotballen (Boli (Anzahl pro Durchlauf)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.</i>	<i>73</i>
<i>Abbildung 26: Vergleichende grafische Darstellung (MW±SEM) der Anzahl an Linienüberschreitungen (Line Crossings (Anzahl pro min)) zu definierten Tagen nach der Narkose aller vier Gruppen.</i>	<i>75</i>

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

APP	Amyloid-Vorläufer-Protein
bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CO ₂	Kohlendioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoff Konzentration
g	Gramm
GABA	Gammaaminobuttersäure
l	Liter
MAK	minimale alveoläre Konzentration
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
MW	Mittelwert
min	Minute
mHB	modifiziertes Hole-Board
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
O ₂	Sauerstoff
PaCO ₂	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PEEP	post endexpiratorischer Druck
pH-Wert	Wasserstoffionen-Wert
RT	Retest
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
VOL %	Volumenprozent
ZNS	zentrales Nervensystem

11 DANKSAGUNG

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

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

Danke auch Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dipl. Phys. E. Kochs, Direktor der Klinik für Anaesthesiologie der TU München, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

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

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. vet. W. Erhardt für die Durchsicht des Manuskripts und die jederzeit freundliche und geduldige Beratung.

Bedanken möchte ich mich auch sehr bei Frau Dr. med. Barbara Eckel, Ärztin in der Klinik für Anaesthesiologie der TU-München, für die freundliche Unterstützung und Durchsicht der Arbeit.

Den Kolleginnen der Forschungsgruppe „Kognition und Verhalten“ in der Klinik für Anaesthesiologie der TU München Frau Elke Werner, Frau Jeanette Carlson, Frau Marion Summerer, Frau Heike Hufen und Frau Sabine Sassenrath, besonders aber Frau Laura Starker und Frau Anja Berkmann, danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und dass sie mir immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

Vielen Dank an Frau Doris Droese, die immer alle wichtigen Dinge besorgte.

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

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden für ihre großartige Unterstützung und Geduld, auch wenn einmal etwas nicht so lief, wie es sollte.

12 LEBENS LAUF

Name: Sandra Martina Bothschafter

Geburtsdatum und –ort: 03.04.1977 in München

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Peter Bothschafter
Heidemarie Bothschafter, geb. Thurner

Geschwister: Daniela Bothschafter

Schulbildung:

1984 – 1988 Besuch der Peslmüller Grundschule (München-Pasing)

1988 – 1997 Besuch des Karlsgymnasiums (München-Pasing)

Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium: 1997 – 2003 Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig – Maximilians – Universität in München

01.04. – 01.07. 2002 Auslandspraktikum am Bonnie Brae Veterinary Hospital NC, USA und am Fox Run Equine Center PA, USA

16. 09. 2003 Approbation als Tierärztin

seit November 2003 Promotionsstudium an der Ludwig - Maximilians – Universität in München