

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
PD Dr. med. M. Blobner

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

Einflüsse einer inkompletten cerebralen Hemisphären-Ischämie und Reperfusion auf das Verhalten, die kognitiven Fähigkeiten und die Mikromorphologie des zentralen Nervensystems bei Sevofluran anästhesierten Ratten.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
von
Katja Anna Maria Müller
aus Augsburg
München 2004

Gedruckt mit 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. W. Schmahl

Tag der Promotion: 13. Februar 2004

Den besten und liebsten Menschen, die es gibt,
meinen Eltern

1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM.....	3
2.1 DAS GEHIRN.....	3
2.2 CEREBRALE ISCHÄMIE.....	3
2.2.1 DEFINITION	3
2.2.2 GEFÄßVERSORGUNG DES GEHIRNS	3
2.2.2.1 Regulation der Gehirndurchblutung.....	4
2.2.3 FORMEN DER CEREBRALEN ISCHÄMIE.....	4
2.2.4 MECHANISMEN UND FOLGEN DES ISCHÄMISCHEN ZELLSCHADENS.....	5
2.2.5 KERN UND RANDBEREICH DES INFARKTS.....	8
2.3 ISCHÄMIEMODELLE.....	9
2.4 KONZEPTE DER NEURONALEN PROTEKTION.....	11
2.4.1 ANTAGONISIERUNG DER EXZITOTOXINWIRKUNG	12
2.4.2 CA ²⁺ -ANTAGONISTEN.....	13
2.4.3 BEHANDLUNG DER GEWEBSACIDOSE.....	13
2.4.4 SCHUTZ VOR DER WIRKUNG BZW. HEMMUNG DER BILDUNG FREIER RADIKALE.....	14
2.4.5 KATECHOLAMINE.....	14
2.4.6 SUPPRESSION DES NEURONALEN STOFFWECHSELS.....	15
2.5 SEVOFLURAN.....	16
2.5.1 SYNONYME	16
2.5.2 STRUKTURFORMEL.....	16
2.5.3 ALLGEMEINES.....	16
2.5.4 PHARMAKOKINETIK	18
2.5.5 PHARMAKODYNAMIK	20
2.5.5.1 Anästhetische Wirksamkeit (MAC-Werte).....	20
2.5.5.2 Wirkung auf den Respirationstrakt.....	20
2.5.5.3 Neuromuskuläre Wirkung.....	20
2.5.5.4 Cardiovasculäre Wirkung.....	21
2.5.5.5 Wirkung auf das zentrale Nervensystem (ZNS).....	21
2.5.6 SEVOFLURAN UND HIRNPROTEKTION.....	23
2.5.7 UNERWÜNSCHTE WIRKUNGEN	25
2.6 LERN-UND GEDÄCHTNISPROZESSE	26
2.6.1 ALLGEMEIN.....	26
2.6.2 GEDÄCHTNIS	26
2.6.2.1 Gedächtnissysteme	27
2.6.2.1.1 Sensorisches Gedächtnis oder Immediatgedächtnis/Aufmerksamkeitsspanne	28
2.6.2.1.2 Kurzzeitgedächtnis oder primäres Gedächtnis	28
2.6.2.1.3 Arbeitsgedächtnis	28
2.6.2.1.4 Langzeitgedächtnis oder sekundäres Gedächtnis	29
2.6.2.1.5 Tertiäres Gedächtnis.....	29
2.6.2.2 Implizites und explizites Gedächtnis	29
2.6.2.2.1 Deklaratives Gedächtnis.....	29
2.6.2.2.2 Nicht deklaratives Gedächtnis.....	30
2.6.2.3 Neuronale Grundlagen von Lernprozessen	31
2.6.2.4 Präfrontaler Cortex.....	32
2.6.2.5 Lernen und limbisches System.....	33
2.7 UNTERSCHIEDE KOGNITIVER FÄHIGKEITEN VON NAGETIEREN UND MENSCHEN	35
2.8 VERHALTEN UND VERHALTENSSTÖRUNG.....	37
2.8.1 ALLGEMEINES ZUM VERSTÄNDNIS TIERISCHEN VERHALTENS.....	37

2.8.2	VEHALTENSSTÖRUNG	37
2.9	VERHALTENSTESTS	38
2.9.1	ÜBERBLICK ÜBER GEBÄUHLICHE VERHALTENSTESTS	39
2.9.2	BESCHREIBUNG DER TESTDURCHFÜHRUNG	39
2.9.2.1	Testmethoden zur Beurteilung der Muskelkraft am Rattenmodell	39
2.9.2.1.1	Der Chimney-Test (Röhren-Test).....	39
2.9.2.2	Testmethoden zur Beurteilung der motorischen Aktivität am Rattenmodell	39
2.9.2.2.1	Der „Open-Field-Test“	39
2.9.2.2.2	Die automatisierte Bewegungsmessung	40
2.9.2.2.3	Der „Eight-hole-box-Tests“	40
2.9.2.3	Testmethoden zur Beurteilung des Lernverhaltens am Rattenmodell	40
2.9.2.3.1	Der „Standard-Operant-Box-Test“ (Skinner-Box).....	40
2.9.2.4	Testmethoden zur Beurteilung der Emotionalität am Rattenmodell	40
2.9.2.4.1	Der „Home-cage-emergence-Test“ (Heim-Käfig-Öffnungs-Test).....	40
2.9.2.4.2	Der „Social-interaction-Test“	40
2.9.2.5	Testmethoden zur Beurteilung des klinisch neurologischen Verhaltens am Rattenmodell	41
2.9.2.5.1	Der „Beam Balance-Test“ (Gleichgewichts-Balken-Test).....	41
2.9.2.5.2	Der „Screen-Test“ (Drahtgittertest).....	41
2.9.2.5.3	Der „Prehensil-Traction-Test“ (Greif-Zug-Test).....	41
2.9.2.5.4	Der „Hochhalten-am-Schwanz-Test“	42
2.9.2.5.5	Der Stellreflex-Test	43
2.9.2.5.6	Der „Corner-Test“ (Orientierung in einer Ecke)	43
2.9.2.5.7	Der „Floor-Test“ (Absetzen auf den Boden).....	43
2.9.2.5.8	Der „Behavioural Trap-Test“ (Absetzen in einer Sackgasse)	43
2.9.2.5.9	Der „Beam Walking-Test“	44
2.9.2.5.10	Der „Schwimm-Test“	44
2.9.2.6	Testmethoden zur Beurteilung der Gedächtnisleistung am Rattenmodell	44
2.9.2.6.1	Der „Go/no go-Procedure-Test“	44
2.9.2.6.2	Der Morris-Water-Maze-Test.....	45
2.9.2.6.3	Der Radial-Arm-Maze-Test.....	45
2.9.2.6.4	Der 3-Door-Runway-Test.....	46
2.9.2.6.5	Der Elevated-Plus-Maze-Test	46
2.9.2.6.6	Der Hole-Board-Test modifiziert nach OHL	46
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	48
3.1	ZIELVORSTELLUNGEN	48
3.2	UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODEN	49
3.2.1	VERSUCHSTIERE	49
3.2.2	HALTUNGSBEDINGUNGEN	49
3.2.2.1	Rattenraum	49
3.2.2.2	Futter und Einstreu	49
3.2.2.3	Akklimatisationskäfig	49
3.2.2.4	Versuchskäfig	49
3.3	VERSUCHSPLAN	51
3.4	OPERATIONSÜBERSICHT	52
3.5	VERSUCHSABLAUF	55
3.5.1	VERSUCHSVORBEREITUNG	55
3.5.1.1	Der nach OHL modifizierte Hole-Board-Test	55
3.5.1.2	Futterbelohnung	57
3.5.1.3	Eingesetzte Geräte	57
3.5.2	EINGEWÖHNUNG DER TIERE	58
3.5.3	AUSWAHLVERFAHREN DER TIERE	58

3.5.4	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	59
3.5.4.1	TÄGLICHER ABLAUF NACH GEWÖHNUNGSPHASE UND AUSWAHLVERFAHREN	59
3.5.4.2	LERNPHASE	60
3.5.4.3	Lochkombinationen und Ende der Lernphase	62
3.5.4.4	VERSUCHSPHASE	63
3.5.4.5	UNTERSUCHTE PARAMETER	63
3.5.4.5.1	Allgemeinbefinden und physiologische Parameter	63
3.5.4.5.2	Neurologische Untersuchung zur Bestimmung klinischer Defizite	64
3.5.4.5.3	Hole-Board-Protokoll	67
3.5.4.6	BESTIMMUNGSMETHODEN	69
3.5.4.6.1	Gedächtnisparameter	69
3.5.4.6.2	Explorations-und Motivationsparameter	70
3.5.4.6.3	Angstbezogene Parameter	71
3.5.4.6.4	Parameter, die sich auf das Allgemeinbefinden beziehen	72
3.6	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	73
3.6.1	RESEKTION UND VERARBEITUNG DES GEHIRNGEWEBES	73
3.6.1.1	Dekapitierung, Entnahme und Einfrieren des Gehirns	73
3.6.1.2	Schneiden des Gehirns	73
3.6.2	UNTERSUCHUNG DES GEHIRNS	74
3.6.2.1	Hämatoxylin und Eosin (H.E.)-Färbung	74
3.6.2.2	Mikroskopische Untersuchung	74
3.6.2.3	Histologisches Auswertungsschema nach Punkten	75
3.7	STATISTISCHE BERECHUNGEN UND DOKUMENTATION	76
3.8	ERGEBNISSE	77
3.8.1	PHYSIOLOGISCHE PARAMETER	77
3.8.1.1	Physiologische Parameter während der Operation	77
3.8.1.2	Körpergewicht	79
3.8.1.3	Aufgenommene Futtermenge	80
3.8.1.4	Wasseraufnahme	81
3.8.1.5	Neurologischer Score	82
3.8.2	HOLE-BOARD-PARAMETER	86
3.8.2.1	Gedächtnisparameter	86
3.8.2.1.1	Wrong choices (WC)	86
3.8.2.1.2	Repeated choices (RC)	88
3.8.2.1.3	Omission error (OE)	90
3.8.2.2	Explorations-und Motivationsparameter	92
3.8.2.2.1	Time complete (TC)	92
3.8.2.2.2	Time on board (TOB)	94
3.8.2.2.3	Number of board entries (NBE)	96
3.8.2.2.4	Number of hole visits (NHV)	98
3.8.2.2.5	Time on board per number of hole visits (TOB/NHV)	100
3.8.2.3	Angstbezogene Parameter	102
3.8.2.3.1	Latency first correct hole visit (LFCHV)	102
3.8.2.3.2	Latency food intake (LFI)	104
3.8.2.3.3	Group contacts (GC)	106
3.8.2.3.4	Number of group contact (NGC)	108
3.8.2.3.5	Grooming number	110
3.8.2.3.6	Grooming time	112
3.8.2.3.7	Rearing	114
3.8.2.3.8	Bolus	115
3.8.2.3.9	Latency first entry on board (LFEB)	116
3.8.2.4	Hole-Board-Parameter, die das Allgemeinbefinden betreffen	118
3.8.2.4.1	Food intake (FI)	118
3.8.2.4.2	Time immobile (TI)	120
3.8.2.5	Histologischen Befunde	122

3.8.2.5.1	Punktebewertung des hippocampalen Zellschadens.....	122
3.8.2.5.2	Histologische Präparate	123
4.	<u>DISKUSSION</u>	<u>125</u>
4.1	DISKUSSION DER METHODEN	125
4.1.1	DER HOLE-BOARD-TEST.....	125
4.1.2	ISCHÄMIEMODELL.....	127
4.1.3	KLINISCH NEUROLOGISCHE UND MOTORISCHE TESTS.....	128
4.1.4	HISTOPATHOLOGISCHES BEWERTUNGSSYSTEM.....	130
4.1.4.1	Hämatoxylin&Eosin-Färbung.....	130
4.1.4.2	Punkteauswertungssystem.....	130
4.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	130
4.2.1	PHYSIOLOGISCHE PARAMETER WÄHREND DER OPERATIVEN PHASE	130
4.2.2	PHYSIOLOGISCHE PARAMETER WÄHREND DES HOLE-BOARD-TESTS	131
4.2.3	NEUROLOGISCHE PARAMETER.....	133
4.2.4	GEDÄCHTNISPARAMETER	134
4.2.5	EXPLORATIONS- UND MOTIVATIONSPARAMETER	136
4.2.6	ANGSTBEZOGENE PARAMETER	138
4.2.7	PARAMETER, DIE SICH AUF DAS ALLGEMEINBEFINDEN BEZIEHEN.....	139
4.2.8	HISTOLOGISCHE PARAMETER	139
4.2.9	SCHLUSSFOLGERUNG	140
5.	<u>ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	<u>142</u>
6.	<u>SUMMARY.....</u>	<u>143</u>
7.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>144</u>
8.	<u>TABELLENVERZEICHNIS</u>	<u>169</u>
9.	<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</u>	<u>170</u>
10.	<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</u>	<u>171</u>
11.	<u>DANKSAGUNG.....</u>	<u>174</u>
12.	<u>LEBENS LAUF</u>	<u>175</u>

1. EINLEITUNG

Cerebrale Ischämien entstehen häufig nach arterieller Minderdurchblutung des Gehirns. Sie sind zu beobachten bei Patienten nach cardiopulmonaler Reanimation und im Zusammenhang mit verschiedenen chirurgischen Eingriffen (z.B. bei Neuro-, Cardio- und Gefäßchirurgie). Eine der wichtigsten Formen stellt außerdem der Schlaganfall dar, der mit einer jährlichen Inzidenz von ca. 2 von 1000 Einwohnern in Europa an dritter Stelle hinter kardiovaskulären und malignen Erkrankungen steht und Ursache für 15% aller Todesfälle ist. Bei überlebenden Patienten lassen sich häufig schwerwiegende Defizite, wie Lern-, Merk- und Denkstörungen feststellen. Funktionelle Untersuchungen im Zusammenhang mit intraoperativen und intensivmedizinischen Möglichkeiten der Neuroprotektion sind deswegen bedeutend.

Als neurologische Folgeschäden der cerebralen Ischämie lassen sich insbesondere die Beeinträchtigungen in der Motorik und im Sensorium erkennen. Sensomotorische Hemiparesen, Hemiparalysen sowie Sprach- und Gleichgewichtsstörungen führen häufig zur Pflegebedürftigkeit der betroffenen Patienten. Die Möglichkeiten, solchen Auswirkungen aufgrund cerebraler Durchblutungsstörungen entgegenzuwirken, sind noch nicht ausreichend erforscht. In Abhängigkeit der Dauer der Minderdurchblutung, können folgenschwere neurokognitive Störungen, neurologische Schäden oder sogar der Hirntod oftmals nicht verhindert werden.

Aufgrund der schlechten Regenerationsfähigkeit geschädigter Hirnbezirke muss eine verbesserte Vorsorge, sowie eine sofortige zielgerichtete Behandlung angestrebt werden. Deshalb richtet die Forschung ihr Augenmerk auf therapeutische Möglichkeiten, um das Ausmaß ischämischer Gehirnschäden einzudämmen.

Es wurde bereits bei einigen tierexperimentellen Untersuchungen festgestellt, dass die Gabe einiger Anästhetika wie Desfluran, Isofluran, Sevofluran, Dexmetomidine, Propofol und S(+)-Ketamin, sowie Hypothermie neuroprotektive Eigenschaften im Rahmen einer cerebralen Ischämie besitzen (HOFFMANN et al. 1991, KOCHS et al. 1992, KEMPSKI 1994, WERNER et al. 1995, HOFFMANN 1996, REEKER et al. 1996). Die zugrundeliegenden Mechanismen sind jedoch noch nicht ausreichend geklärt.

Sevofluran ist eines der Anästhetika, die das neurologische Defizit nach regionaler cerebraler Ischämie reduzieren können. Unklar ist bislang, ob motorisches und kognitives Defizit in gleichem Maße durch eine cerebrale Ischämie beeinträchtigt sind bzw. durch Sevofluran reduziert werden kann.

EINLEITUNG

In folgender Arbeit soll deshalb an einem Modell der inkompletten cerebralen Ischämie bei der Ratte untersucht werden, wie Sevofluran im Vergleich zu einer mit Fentanyl/Lachgas anästhesierten Gruppe das postoperativ zu erwartende neurologische Defizit und die neurokognitiven Fähigkeiten beeinflusst.

Zur Beurteilung der kognitiven Fähigkeiten wird der Hole-Board-Test modifiziert nach Ohl, ein visuell-räumlicher Test, der die Untersuchung des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses von Ratten ermöglicht, verwendet. Außerdem ermöglicht dieser Test erstmals eine Unterscheidung zwischen motorischen und kognitiven Defiziten.

Zur Untersuchung des histologischen Schadens des Gehirns werden mit Hämatoxylin und Eosin gefärbte Schnitte ausgewertet.

Mit Hilfe dieser Studie erhofft man sich weitere Erkenntnisse, die zu möglichen klinischen neuroprotektiven Konzepten führen können.

2. SCHRIFTTUM

2.1 Das Gehirn

Das Gehirn ist der craniorostrale Teil des Zentralnervensystems. Beim Menschen wird das Gehirn anatomisch in verschiedene Abschnitte eingeteilt. Man unterscheidet das Endhirn (Telencephalon) mit den beiden Hemisphären, das Zwischenhirn (Diencephalon), zu dem der Hypothalamus gehört, das Mittelhirn (Mesencephalon) und das Rautenhirn (Rhombencephalon). Dieser Aufbau stimmt im Grundprinzip mit dem Gehirn der Ratte überein. Auch ist das menschliche Gehirn in seiner Funktion und Blutversorgung mit dem der Ratte vergleichbar. Deshalb geht man davon aus, dass die aus dem Tierversuch gewonnenen Erkenntnisse weitgehend auf die Humanmedizin übertragbar sein können (NICKEL et al. 1991, LIEBMANN 1993).

2.2 Cerebrale Ischämie

2.2.1 Definition

Eine Ischämie stellt eine Reduktion oder Unterbrechung der Durchblutung eines Organs, Organteils oder Gewebes infolge mangelnder arterieller Blutzufuhr dar. Die Ischämie kann demnach inkomplett bei erhaltener Residualdurchblutung oder komplett bei vollständig sistierender Durchblutung sein (WERNER 1993).

Diese allgemeinen Grundsätze der Pathologie treffen auch auf das Gehirn zu.

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

2.2.2 Gefäßversorgung des Gehirns

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

2.2.2.1 Regulation der Gehirndurchblutung

Das Gehirn besitzt zur Aufrechterhaltung eines relativ konstanten cerebralen Blutflusses muskuläre, neurale und chemische Regelmechanismen.

Dazu gehört die Autoregulation über den Blutdruck, d.h. eine Konstriktion der Gehirnarteriolen bei einem steigenden systemischen Blutdruck und eine Erweiterung im entgegengesetzten Fall (LIEBMANN 1993).

Die zweite Form der Autoregulation erfolgt über die Blut- und Gewebegase und den pH-Wert. Bei Hypokapnie (z.B. Abfall des arteriellen Kohlendioxid-Partialdruckes (PaCO_2) im Rahmen einer Hyperventilation) verengen sich die Gefäße und die cerebrale Durchblutung nimmt ab. Steigt der arterielle PaCO_2 , erweitern sich die Arteriolen und der cerebrale Blutfluss (CBF) steigt an (LIEBMANN 1993).

2.2.3 Formen der cerebralen Ischämie

Man unterscheidet bei der cerebralen Ischämie zwei Formen:

- Die globale, das gesamte Organ betreffende, Ischämie.
- Die fokale, begrenzte Form.

Ursachen der globalen cerebralen Ischämie können der Herz-Kreislauf-Stillstand, ein Schockereignis, Vergiftungen (z.B. mit Kohlenmonoxid) oder Erstickungsanfälle und ein diffuses Hirnödem sein (WERNER 1993). Bei dieser Form der cerebralen Ischämie unterscheidet man zwischen einer kompletten (vollständig sistierende Durchblutung) und einer inkompletten (mit erhaltener Residualdurchblutung) Form der Ischämie.

Der Herz-Kreislauf-Stillstand z.B. führt zu einer kompletten Form der globalen cerebralen Ischämie. Im Gegensatz dazu kommt es bei Perfusionsstörungen durch erhöhten Hirndruck zu einer inkompletten Form der globalen cerebralen Ischämie (WERNER 2000). Ein weiteres Beispiel für ein globales Ischämiemodell ist die „four-vessel-occlusion“ nach PULSINELLI et al. (1982). Hier werden die vier wichtigsten Gefäße der Gehirnversorgung (Aa. carotides und Aa. vertebrales) verschlossen. Eine nur wenige Minuten andauernde globale Ischämie kann zu einem selektiven Tod von neuronalen Zellen in der vulnerablen CA1-Region des Hippocampus führen, während andere Hirnregionen unbeschadet bleiben (ITO et al. 1975).

Die inkomplette cerebrale Ischämie wird experimentell durch Ligatur einzelner Gefäße wie z.B. der A. carotis communis erzeugt. Durch gleichzeitigen Blutentzug kann der Blutdruck je nach Stärke des angestrebten neuronalen Schadens gesenkt werden. Auch die Dauer der Ischämie beeinflusst das Ausmaß des neuronalen Defizits (WERNER 1993).

Eine fokale cerebrale Ischämie liegt vor, wenn es z.B. durch eine hochgradige Stenose oder einen Verschluss eines zuführenden Hirngefäßes zu einer entsprechenden Schädigung des nachfolgenden Hirnareals kommt (WERNER 1993).

Fokale Hirndurchblutungsstörungen haben ihre Ursache am häufigsten in arteriosklerotisch bedingten Gefäßstenosen bzw.-Verschlüssen, können aber auch durch Hirnembolien nach Einschwemmung von Thromben, Gefäßdissektion nach Trauma, progredienten Obstruktionen (z.B. bei Diabetes mellitus), Hirngefäßspasmen nach Subarachnoidalblutung (z.B. rupturierte Aneurysmen), raumfordernden Prozessen (Tumore, Hämatome), Gefäßmißbildungen oder Kontusionen (WERNER 2000) entstehen.

Weiterhin können in der Neurochirurgie notwendige Hirngefäßligaturen, sowie der durch den Einsatz von Retraktoren verursachte zu hohe Druck auf das Hirngewebe, eine fokale Ischämie bewirken (SIESJÖ 1992, WERNER 1993).

Im Experiment kann man durch den Verschluss der A. cerebri media eine fokale cerebrale Ischämie herbeiführen. Bei einem zeitlich begrenzten Verschluss des Gefäßes spricht man von einer temporären fokalen Ischämie, im Gegensatz zur permanenten fokalen Ischämie, bei der das Gefäß dauerhaft verschlossen bleibt (GINSBERG und BUSTO 1989).

Alle oben erwähnten Ursachen können wiederum zu einem sekundär auftretenden fokalen oder generalisierten (globalen) Hirnödem führen und damit zu einer weiteren Verschlechterung der Hirndurchblutung und der Sauerstoffversorgung des Gehirns beitragen.

2.2.4 Mechanismen und Folgen des ischämischen Zellschadens

Die Pathophysiologie ischämischer Insulte ist von den Eigenheiten des cerebralen Stoffwechsels abzuleiten. Die Ausprägung des ischämischen Gewebeschadens beruht auf einer komplexen Sequenz von Vorgängen, die sich in räumlicher und zeitlicher Abfolge entwickeln (WERNER 1993).

Das Gehirn besitzt eine nur sehr geringe Toleranz gegenüber Minderdurchblutung. Der Grund dafür ist die begrenzte Sauerstoff- und Glucose-Speicherkapazität. Ausgangspunkt der cerebralen Ischämie ist deshalb das gegenüber dem benötigten Bedarf erniedrigte Angebot an Sauerstoff und Glucose. Außerdem ist die Menge an cerebralem Adenosintriphosphat (ATP) gering. Bei Unterschreiten eines Schwellenwertes der cerebralen Durchblutung, versagen die Autoregelmehanismen und daraus resultieren komplexe pathophysiologische Veränderungen. Diese Vorgänge werden als sogenannte Ischämiekaskade bezeichnet (siehe Abb 1) (WERNER 1993).

Das cerebral gespeicherte ATP wird zu Beginn der Ischämie schnell verbraucht, so dass nach 5 min kein cerebrales ATP mehr nachgewiesen werden kann (KEMPSKI 1994).

ATP aus Glykolyse

Bei verminderter Bereitstellung von Sauerstoff und Glucose wird nach der Umstellung von aerober auf die anaerobe Glykolyse weniger ATP gebildet und als Folge davon steigt die Lactatkonzentration an, was zur Senkung des pH-Wertes führt (SIESJÖ 1981 und 1992).

Folgen des ATP-Mangels

Infolge des ATP-Mangels nimmt die Funktion der energieabhängigen Na^+/K^+ -Ionenpumpen ab. Dadurch strömen Natrium und Chlorid in die Zellen ein und ziehen Zellwasser mit sich (WERNER 1993).

Extrazelluläre Anreicherung exzitatorischer Aminosäuren

Als Folge des Energiemangels kommt es zu einem präsynaptischen Ca^{2+} -Influx. Dies ist ein entscheidender Schritt für die Einleitung zytotoxischer Mechanismen. Außerdem werden sogenannte exzitatorische Aminosäuren in den Extrazellularraum freigesetzt, wobei gleichzeitig die präsynaptische Wiederaufnahme erregender Aminosäuretransmitter gestört wird. Dadurch wird die extrazelluläre Anreicherung von Aminosäuren, als exzitatorische Neurotransmitter (v.a. Glutamat und Aspartat), weiter erhöht (MURDOCH et al. 1990, LANGE et al. 1993, MARCOUX et al. 1993).

Glutamat-/Aspartatwirkung und Ca^{2+}

Glutamat und Aspartat aktivieren spezifisch postsynaptische Rezeptoren. Mindestens fünf Rezeptoren werden derzeit unterschieden. Am besten untersucht sind die N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-und α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazopropionic-acid (AMPA)-Rezeptoren, die an Ionenkanäle gekoppelt sind. Diese Rezeptoren kontrollieren die Permeabilität von Ionenkanälen für Ca^{2+} , Na^+ und K^+ . Eine Stimulation des NMDA-Rezeptors führt direkt, eine Aktivierung des AMPA-Rezeptors indirekt über Na^+/K^+ -Einstrom zu einem Anstieg des intrazellulären Ca^{2+} , welcher zusätzlich durch eine Ca^{2+} -Mobilisation verstärkt wird (WERNER 2000).

Ca²⁺ und freie Sauerstoffradikale

Die erhöhte intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration setzt eine Reihe von katabolen, enzymatischen Prozessen in Gang: Die Ca²⁺ bedingte Aktivierung von Phospholipase A2 und C, Proteinkinase C und Cyclooxygenase, sowie von Proteasen (SIESJÖ 1992) führt zur Produktion freier Radikale (Superoxid-Radikale, Hydroxyl-Radikale und Wasserstoffperoxide) durch Reduktion molekularen Sauerstoffs. Freie Radikale sind Moleküle mit ungepaarten, freien Elektronen. Diese Radikale sind äußerst aggressiv und bewirken eine Lipidperoxidation, was zur Zerstörung der Zellmembran führt (KEMPSKI 1994).

Ödembildung

Im Mittelpunkt einer Hirnschädigung steht oft die Entwicklung eines lokalen bis generalisierten Hirnödems (AUER et al. 1986, BAETHMANN et al. 1986).

Dem deutlich überwiegenden Na⁺- und Cl⁻-Einstrom im Vergleich zum K⁺-Ausstrom folgen passiv Wasser-Moleküle (HOSSMANN 1985). Damit ist die Ausbildung eines zytotoxischen Hirnödems eingeleitet (MRSULJA et al. 1985). Ein ausgeprägtes Ödem kann den intracerebralen Druck erhöhen und damit den cerebralen Blutfluss verschlechtern. Folglich wird dadurch auch die progressive Ausbreitung des Ischämiegebietes ermöglicht (SIESJÖ 1981, KEMPSKI 1994, HENNERICI 1995).

Ausmaß der cerebralen Ischämie

Die Neuronen geraten durch die pathophysiologischen Vorgänge in einen Circulus vitiosus, da im weiteren Verlauf die membranständigen Ionenpumpen durch den akuten Energiemangel versagen, was die dauerhafte Depolarisation des Membranpotentials zur Folge hat (WERNER 1997).

Ausmaß und Qualität der Zellschädigung hängen dabei entscheidend von der Form und der Dauer der Ischämie der betroffenen Hirnregion, der Reperfusion und eventueller intra- oder postischämischer protektiver Maßnahmen ab (WERNER 1997).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die drei Hauptfaktoren der ischämischen Zellschädigung der intrazelluläre Ca²⁺-Anstieg, die Acidose und die Produktion freier Radikale sind (SIESJÖ 1992).

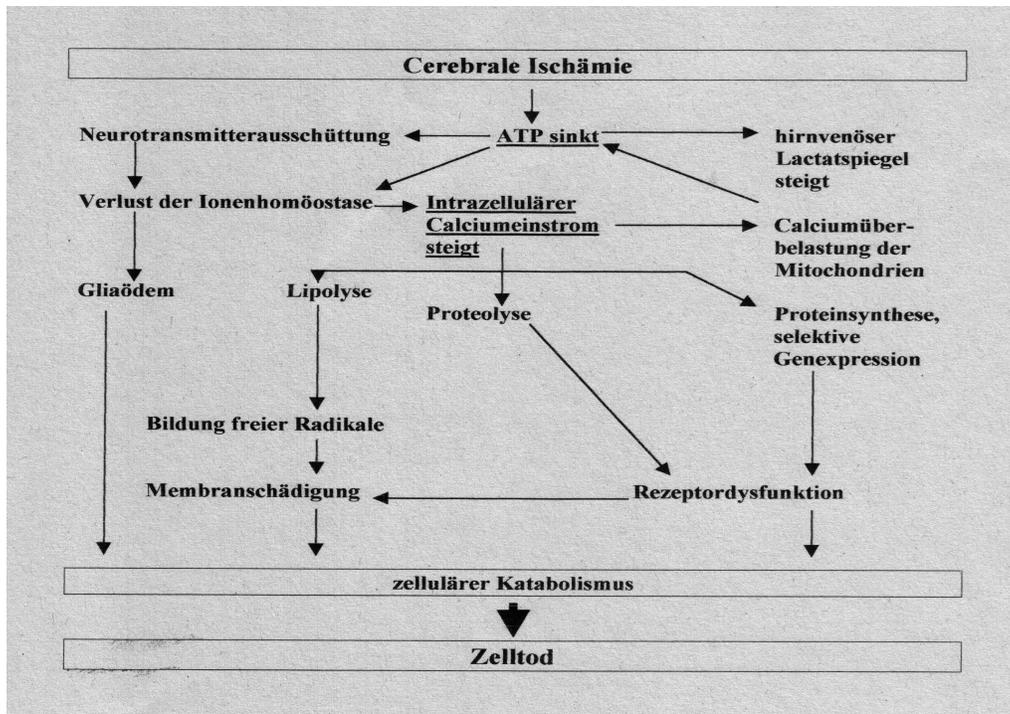


Abb 1: Ischämiekaskade im Verlauf des hypoxisch-ischämischen Nervenzellschadens (WERNER 1993).

2.2.5 Kern und Randbereich des Infarkts

Im ischämischen Gebiet sind die hämodynamischen und metabolischen Veränderungen, sowie die Konzentration der Elektrolyte unterschiedlich ausgeprägt. Es besteht eine schmale Übergangszone zwischen dem normal durchbluteten Hirngewebe und einem sich entwickelnden Infarktareal (ASTRUP et al. 1981, HAKIM 1987, SIESJÖ 1992).

Kern (Core): Im Zentrum des Perfusionsdefizits tritt wenige Minuten nach dem Beginn der Ischämie eine dauerhafte Depolarisation der Zellen ein. Der Mangel an energiereichen Substraten führt zum Zusammenbruch des Ionengleichgewichtes, zur Proteolyse und Lipolyse mit folgendem Neuronenuntergang (ASTRUP et al. 1981).

Randbereich (Penumbra): Hierunter versteht man das Hirnareal zwischen Infarktkern („Core“) und dem gesunden Hirngewebe. Dieses Gebiet kann den Infarktkern um einiges an Größe übertreffen. Die Penumbra („Schatten“) wird dadurch definiert, dass durch Energiemangel die synaptische Transmission unterbrochen ist (elektrophysiologisch ist keine Spontanaktivität der Neurone mehr nachweisbar), während die Zellmembran noch intakt ist. Damit kommt es zwar zu einem funktionellen Defizit der Neuronenverbände, jedoch noch nicht zu einem

strukturellen Defizit. Dieser Zustand ist noch reversibel und bietet einen Angriffspunkt für die optimierte Therapie (ASTRUP et al. 1981) (siehe unten).

Im physiologischen Zustand beträgt der cerebrale Blutfluss ca. 50 ml pro 100 g Hirnmasse pro Minute. Unter einem Durchblutungswert von 20 ml/100 g/min akkumulieren exzitatorische Aminosäuren, wie z. B. Glutamat und es kommt zum Funktionsverlust erkennbar an einer Verlangsamung des Elektroencephalogramms (EEG) (MURDOCH et al. 1990, SIESJÖ 1992). Bei Unterschreiten des Schwellenwertes von 18 ml/100 g/min sistiert der Funktionsstoffwechsel wobei der Strukturstoffwechsel erhalten bleibt. Bei einem CBF unter 12 ml/100 g/min wird zudem der Strukturstoffwechsel gestört, was zu irreversiblen Zellschädigungen führt. Im Bereich der Penumbra ist demzufolge ein CBF von 12 bis 18 ml/100 g/min anzunehmen (ASTRUP et al. 1981, SIESJÖ 1992).

Zwischen Infarktkern und Penumbra besteht ein fließender Übergang. Mit zunehmender Dauer der Ischämie ist eine Vergrößerung des Infarktkernes wahrscheinlich. Eine Penumbra zeichnet sich durch einen bei Wiederherstellung des Blutflusses voll oder partiell reversiblen temporären Funktionsverlust aus (SYMON 1993). In diesem Areal besteht in einem zeitlich begrenzten Rahmen die Möglichkeit der therapeutischen Intervention (HENNERICI 1995).

2.3 Ischämiemodelle

Die Möglichkeiten, die Konsequenzen eines Schlaganfalls klinisch zu erforschen, sind mit Hilfe von Computertomographie, Magnetresonanzspektroskopie etc. (WILLIAMS et al. 1989, KAUPPINEN et al. 1993, WYPER 1993) gestiegen.

Dennoch führt die Erforschung von Ätiologie und Pathologie des menschlichen Schlaganfalls nicht zu den Erkenntnissen, die nötig wären, um die Ereignisse zu verstehen, welche nach einem cerebrovaskulären Insult letztendlich zu einem Schlaganfall führen können. Um die Beziehung zwischen Auslöser und Effekt in der Pathologie zu verstehen, benötigt man einen Einblick in die pathologischen Geschehnisse sofort nach dem Insult, noch bevor irreversible Hirnschäden auftreten (MC AULEY 1995).

Patienten werden meist erst Stunden nach einem Insult klinisch vorgestellt. Unter anderem aus diesem Grund sind tierexperimentelle Untersuchungen nötig. Vor allem Albinoratten werden für diese Studien genutzt, da sie gut verfügbar sind, Homogenität innerhalb ihres Geschlechts und ihrer Abstammung besitzen, für gewöhnlich ähnliche cerebrale Gefäßversorgung aufweisen und eine hohe Übereinstimmung mit der Genetik größerer Säugetiere besitzen (GINSBERG et al. 1989).

Da die cerebrale Ischämie bekanntermaßen zu 80% in einer Dysfunktion der cerebrovaskulären Perfusion begründet ist (BAMFORD et al. 1987, WARLOW 1993), werden Modelle genutzt, in denen der ischämische Schaden durch vaskuläre Occlusion verursacht wird.

Zusätzlich nutzt man Ischämie-Modelle, welche im Anschluss der induzierten cerebralen Ischämie eine Reperfusion erlauben, da diese der klinischen Situation ähnlicher sind (z.B. spontane Reperfusion, indem sich der Embolus löst oder nach Beendigung einer chirurgischen Intervention), als solche ohne Repermutationsphase (HALLENBECK et al. 1990, DEL ZOPPO 1994).

Es existieren verschiedene Modelle an der Ratte, um eine cerebrale Ischämie herbeizuführen. Beim Vier-Gefäß-Modell (four-vessel-occlusion) werden neben der dauerhaften Kauterisation der Aa. vertebrales einen Tag später auch die Aa. communes vorübergehend ligiert. Damit wird eine inkomplette globale cerebrale Ischämie erreicht (PULSINELLI und BRIERLEY 1979). Auch das Manschetten-Modell von SIENKOWICZ und HANSEN (1978) erzeugt eine globale Ischämie. Diese wird erreicht durch eine Druckmanschette, die der betäubten Ratte um den Hals gelegt wird. Dabei wird die Manschette innerhalb 1s auf einen Druck von 600-700 mmHg aufgeblasen. Die cerebrale Perfusion kann so auf unter 1% der normalen Durchblutung gesenkt werden.

Nach 10 minütlicher Ischämie wird der Druck reduziert. Man nennt dies auch die sogenannte „neck-tourniquet“-Methode. Sie besitzt aber nur eine geringe Akzeptanz und wird nur selten verwendet (GINSBERG und BUSTO 1989). Auch durch Kalium kann eine globale Ischämie induziert werden, indem ein Herzstillstand ausgelöst wird. Eine Reanimation wird durch Elektrostimulation erreicht (NAKASHIMA et al. 1995).

Ein Beispiel für eine inkomplette Form der cerebralen Ischämie ist das Drei-Gefäß-Modell (three-vessel-occlusion) von KAMEYAMA et al. (1985). Dabei erfolgt die Elektrokauterisierung der A. basilaris und die Ligierung der Aa. communes um einen ischämischen Insult herbeizuführen. Es resultiert ein Verschluss der Stammarterien zum Gehirn und der kollaterale Blutfluss der A. spinalis ant. wird verhindert. Das Ergebnis ist eine gleichmäßige Ischämie. Beim Zwei-Gefäß-Modell (two-vessel-occlusion) von SMITH et al. (1984) wird die inkomplette Ischämie durch eine Kombination von bilateralem vorübergehenden Karotidenverschluss und Reduktion des arteriellen Blutdruckes auf 45 bis 50 mmHg erreicht. Das Modell von SMITH et al. (1984) hat kürzere Erholungszeiten und schwerere Schäden der Gehirnzellen zur Folge, als das Modell von PULSINELLI und BRIERLEY (1979), was durch den unterschiedlichen Restfluss während der Ischämie erklärt werden kann (MARSHALL et al. 1975).

HOFFMAN und THOMAS (1996) verschließen die rechte A. carotis communis mit gleichzeitiger Hypotension auf einen mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) von 25 mmHg für 30 min. (Dieses Modell der inkompletten Ischämie wird in modifizierter Form in der vorliegenden Arbeit angewendet.)

Ein Beispiel für eine fokales Ischämiemodell ist das Embolie-Modell:

KUDO et al. (1982) verändert das Hundemodell von HILL et al. (1955) so, dass es bei der Ratte angewendet werden kann. Durch Cardialpunktion werden den Tieren 0,1 ml Blut entnommen und 48 h bei Raumtemperatur zum Gerinnen stehen lassen. Die Gerinnsel werden vom Serum getrennt und fragmentiert, so dass sie nicht größer als 100 μ sind. Dann wird dem anästhesierten Tier zunächst die A. carotis communis unterhalb der Bifurkation für die Dauer der Injektion der Fragmenten-Suspension abgebunden. Nach der Injektion wird der Blutfluss wiederhergestellt. Dieses Modell produziert Infarkte mit vorhersagbarer Größe und erfordert nur einen geringen Aufwand.

Durch die Ligatur der Arteria cerebri media lässt sich durch Occlusion einer einzigen Cerebralarterie eine fokale Ischämie herbeiführen:

ROBINSON et al. (1975) beschreiben erstmals die Ligierung des distalen Teiles der A. cerebri media über einen frontoparietalen Zugang (ROBINSON 1979 und ROBINSON et al. 1980).

TAMURA entwickelt 1981 ein Modell, bei dem er die A. cerebri media der Ratte ligiert und dabei den Zugang subtemporal legt. Dies bedeutet einen relativ großen chirurgischen Aufwand (TAMURA et al. 1981b).

Auch CHOPP et al. (1992) erreichen die cerebrale Ischämie durch alleinigen Verschluss der A. cerebri media (middle cerebral artery (MCA)-occlusion).

CHARRIAUT-MARLANGUE et al. (1998) induzieren eine cerebrale Ischämie durch Verschluss der linken A. cerebri media (MCA) und gleichzeitiger Occlusion beider Aa. carotides communes (common carotid artery (CCA)-occlusion).

Es gibt noch eine Vielzahl anderer Tiermodelle, um eine cerebrale Ischämie hervorzurufen. Die Auswirkungen auf das neuronale Gewebe sind von Modell zu Modell unterschiedlich, so kann der Untersucher je nach gewünschtem Effekt (Ausmaß, Lokalisation des Schadens) das geeignete Modell verwenden kann (GINSBERG und BUSTO 1989).

2.4 Konzepte der neuronalen Protektion

Unter dem Begriff Neuroprotektion wird eine Reihe von Maßnahmen zusammengefasst, die dazu dienen sollen, die Ischämietoleranz zu erhöhen, bzw. therapeutisch den ischämischen

Nervenzellschaden zu begrenzen und/oder bereits geschädigtes Nervengewebe evtl. wiederzubeleben (WERNER 1993, KEMPSKI 1994). Neuroprotektive Interventionen können sowohl präventiv (die Behandlung beginnt bereits vor Beginn einer drohenden Hypoxie/Ischämie) als auch therapeutisch (die Behandlung beginnt während oder nach abgelaufener Hypoxie/Ischämie) wirksam werden.

Um Neurone potentiell zu schützen und ihre Unversehrtheit sicherzustellen existieren medikamentöse (z.B. Anästhetika, Puffersubstanzen, Radikalfänger) und nicht medikamentöse (z. B. Hypothermie) Möglichkeiten um den neurologischen Schaden möglichst gering zu halten und einem klinischen neurologischen Defizit entgegenzuwirken (HOFF 1986, KEMPSKI 1994). Der therapeutische Ansatz hirnpotektiver Konzepte erklärt sich aus der Pathophysiologie der cerebralen Schädigung. Es soll der Versuch unternommen werden, möglichst zentrale Punkte der Pathophysiologie zu unterbrechen (KEMPSKI 1994).

Die Ischämieform sowie die messbaren physiologischen Variablen (arterieller Blutdruck, Plasmaglukosekonzentration, Körpertemperatur, usw.) sind wichtige Faktoren für die Auswahl eines geeigneten Präventions- oder Therapiekonzeptes im Tiermodell. So können Mechanismen, wie die Umverteilung der Hirndurchblutung oder die Reduktion des Hirnstoffwechsels nur bei fokalen und inkompletten Ischämieformen wirksam werden.

Es werden verschiedene Möglichkeiten hirnpotektiver Maßnahmen beschrieben: Die Antagonisierung der Exzitotoxinwirkung, die Ca^{2+} -Antagonisten, die Behandlung der Gewebsacidose, die Bekämpfung freier Radikale, die Katecholamine und die Suppression des neuronalen Stoffwechsels.

2.4.1 Antagonisierung der Exzitotoxinwirkung

Das Calciumion ist für neuronale Strukturen ein elementares Ion. So dient Ca^{2+} als second messenger mit der Aufgabe Information (z.B. Regulation des mitochondrialen Metabolismus) vom Extrazellularraum in den Intrazellularraum weiterzuleiten. In den Zellmembranen sitzen Rezeptoren, die nach Stimulation direkt oder indirekt den Ca^{2+} -Ionen-Einstrom beeinflussen. Die während einer Ischämie überschießende Stimulation durch neuroexzitatorische Transmitter v.a. Glutamat kann durch Antagonisten der postsynaptischen Glutamatrezeptoren gemindert werden. Besonderes Augenmerk richtet sich dabei auf nichtkompetitive NMDA-Rezeptor-Antagonisten wie Ketamin, die an der Phencyclidin Bindungsstelle im Ionenkanal binden (LYSKO und FEUERSTEIN 1993, MARCOUX et al. 1993).

2.4.2 Ca²⁺-Antagonisten

In verschiedenen tierexperimentellen Studien wurden Ca²⁺-Kanal-Blocker wie Nimodipin oder Nicardipin getestet und deren infarktreduzierende Wirkung konnte, v.a. bei fokaler oder inkompletter Ischämie nachgewiesen werden (WERNER 2000).

2.4.3 Behandlung der Gewebsacidose

Während der ischämischen Hypoxie kann die Glucose zur Energiegewinnung nur anaerob zu Lactat verstoffwechselt werden. Dadurch kommt es innerhalb eines ischämischen Arealis zur Lactatakkumulation und somit zu einer Gewebsacidose, die in Abhängigkeit von ihrem Ausmaß den ischämischen Zellschaden verstärkt (SIESJÖ 1992). Verschiedene tierexperimentelle Studien zeigen, dass während einer inkompletten cerebralen Ischämie, bei der eine Glucoseversorgung des minderdurchbluteten Gebietes noch möglich ist, überhöhte Plasmaglucose Spiegel in Form eines Substratüberangebotes die Lactatproduktion und damit auch die Zellschädigung verstärken (DE COURTEN-MYERS et al. 1988, PULSINELLI et al. 1982). Dagegen ist bei der kompletten Ischämie die Versorgung des Gehirns mit Glucose nicht mehr möglich. Damit ist die präischämische Ausgangskonzentration der Glucose ausschlaggebend für die intraischämische Lactatproduktion (PULSINELLI et al. 1982).

Die daraus resultierende interstitielle und neuronale Acidose begünstigt den Vorgang einer Lipidperoxidation und Radikalbildung. Diese Ansäuerung des Intra- und Extrazellularraumes während einer cerebralen Ischämie hat unter anderen auch die schwerwiegende Folge der Schwellung von Nerven- und Gliazellen, was wiederum zur Perfusionsminderung des Ischämieareals führt (SIESJÖ 1992). Es gibt jedoch Möglichkeiten dem entgegenzuwirken, wie z.B. durch die Infusion von Puffersubstanzen. Außerdem kann die ischämische Acidose respiratorisch durch Hyperventilation kompensiert werden. Dadurch wird der CO₂-Partialdruck im Blut verringert, eine respiratorische Alkalose entsteht, und es kommt zur Alkalisierung der Cerebrospinalflüssigkeit und des Hirngewebes. Weiterhin entsteht eine Vasokonstriktion, welche bewirken soll, dass das Blut zugunsten ischämischer Territorien umverteilt wird (MACMILLAN und SIESJÖ 1973, HOFF 1986). Außerdem besteht die Möglichkeit mit Hilfe der Blutglucosekonzentration Einfluss auf die Ausdehnung des ischämischen Hirnschadens zu nehmen.

In der Literatur herrscht jedoch geteilte Meinung über die Auswirkungen von Veränderungen der Blutglucose auf die Größe des ischämischen Insults, sowie auf das klinisch-/neurologische Endergebnis. Eine Hyperglykämie kann den ischämischen Schaden bei fokaler inkompletter

cerebraler Ischämie sowohl vergrößern (GINSBERG et al. 1980, PULSINELLI et al. 1982, DE COURTEN-MYERS et al. 1988) als auch verkleinern (GINSBERG et al. 1987, ZASSLOW et al. 1989). Die in diesem Zusammenhang wirksam werdenden schädlichen oder auch schützenden Mechanismen der Hyperglykämie sind noch nicht zweifelsfrei geklärt.

Insulin-Applikationen, die eine moderate Hypoglykämie verursachen, können möglicherweise sowohl in der präischämischen (LEMAY et al. 1988), als auch in der postischämischen Phase (VOLL und AUER 1988, VOLL et al. 1989) den Hirnschaden und das klinisch neurologische Endergebnis verbessern. Die Wirkung des Insulins könnte in der Senkung der Blut-Glucosekonzentration liegen, welche den verfügbaren cerebralen Glucosevorrat reduziert und zu einer geringeren Produktion von Lactat führt.

2.4.4 Schutz vor der Wirkung bzw. Hemmung der Bildung freier Radikale

Entstehende Folgeschäden durch freie Radikale können durch verschiedene Substanzen vermindert werden. Zelleigene Radikalfängersysteme, wie die Superoxiddismutase (SOD), die Katalase und die Peroxidase spielen dabei eine wichtige Rolle (SIESJÖ 1981).

Erwähnenswert sind außerdem die natürlichen Antioxidantien (Vitamin E als alpha-Tocopherol und Vitamin C als Ascorbinsäure), sowie Allopurinol (Hemmstoff der Xanthinoxidase) und Desferioxamin (Eisenchelatkombildner), die einer Radikalbildung entgegenwirken können (SIESJÖ 1981, MARTZ et al. 1989).

2.4.5 Katecholamine

Die Katecholamine (Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin) stammen alle von der Aminosäure Tyrosin ab und werden sowohl in der Nebenniere als systemisch wirkende Hormone, als auch in den sympathischen Ganglienzellen gebildet. Im ZNS fungieren die Katecholamine unter anderem als Neurotransmitter (SILBERNAGL und DESPOPOULOS 1991).

In der Literatur existieren widersprüchliche Ansichten darüber, ob Katecholamine einen positiven oder negativen Effekt auf die ischämische Schädigung im Gehirn haben (KOIDE et al. 1986, HOFFMAN et al. 1993, McINTOSH et al. 1994). Es existieren Untersuchungen an Ratten, bei denen signifikante, positive Korrelationen zwischen Plasmakatecholaminen während einer Ischämie und dem Ausmaß des neurologischen Defizits nachgewiesen wurden (HOFFMAN et al. 1993). Deshalb liegt die Vermutung nahe, dass eine erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems und die damit verbundenen hohen Konzentrationen der Plas-

makatecholamine Schädigungsmechanismen während einer inkompletten cerebralen Ischämie aktivieren.

Im Gegensatz dazu ergeben andere Studien, dass durch Infusion von Katecholaminen wie Adrenalin und Noradrenalin in geringer Dosierung bei cerebraler Ischämie der ischämische Gehirnschaden vermindert werden kann (KOIDE et al. 1986).

2.4.6 Suppression des neuronalen Stoffwechsels

Durch die Verminderung der sauerstoffverbrauchenden Stoffwechselfvorgänge im Gehirn, verbessert sich das Verhältnis von Sauerstoffbedarf zu Sauerstoffverbrauch. Die Folge davon ist eine Verzögerung bzw. Verhinderung des Zusammenbruchs des cerebralen Energiestoffwechsels mit seinen pathologischen Folgeerscheinungen (HOFF 1986).

A Hypothermie

Die induzierte Hypothermie ist eine der effektivsten Maßnahmen zur Protektion des Gehirns über eine Stoffwechselreduzierung (HOFF 1986, HARA et al.1993). Die Hypothermie induziert eine Suppression des cerebralen Sauerstoffverbrauchs, sowie eine Reduktion des funktionalen und strukturellen Stoffwechsels (ROSOMOF und HOLADAY 1954, REULER 1978). Dadurch wird zum einen eine Sauerstoffschuld vermieden (NEMOTO et al. 1996) und zum anderen die Energiegewinnung durch anaerobe Glycolyse mit Lactatentstehung stark vermindert. Das wiederum schränkt das Ausmaß des entstehenden postischämischen Hirnödems ein und verringert das Ausmaß des neurologischen Schadens (DIETRICH et al. 1993, POPOVIC et al. 2000), d.h. es vermindert die Infarktgröße (BUSTO et al. 1987, HUH et al. 2000, KAWAI et al. 2000) und verbessert das neurologische bzw. neurokognitive Endergebnis (GINSBERG und BOGOUSSLAWSKY 1998).

B Intravenöse Anästhetika

Barbiturate, Etomidat, Propofol:

Sie senken den cerebralen Stoffwechsel und den Energiebedarf und reduzieren die neuronale Aktivität bis ein isoelektrisches EEG erreicht ist. Die Hirndurchblutung wird im Zusammenhang mit Umverteilung von Blut aus gesunden Hirnprovinzen zugunsten vasodilatierter ischämischer Areale gesenkt. Außerdem wird der intrakranielle Druck verringert (WERNER 2000).

C Inhalationsanästhetika

Isofluran, Sevofluran und Desfluran:

Sie bewirken eine metabolische Suppression und eine Ausbildung eines isoelektischen EEG. Diese Wirkung ist die Grundlage für die Verabreichung volatiler Anästhetika, weil so beispielsweise während einer fokalen cerebralen Ischämie die synaptische Aktivität zumindest teilweise erhalten bleibt (WERNER 2000).

Das umliegende neuronale Gewebe profitiert dann möglicherweise von der Suppression der neuronalen Aktivität durch Isofluran, Sevofluran oder Desfluran, weil dadurch das Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot günstig beeinflusst werden kann.

Die meisten volatilen und injizierbaren Anästhetika verringern dosisabhängig den cerebralen Stoffwechsel. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, senken dabei intravenöse Anästhetika den CBF und den intrakraniellen Druck, wogegen volatile Anästhetika den CBF und intrakraniellen Druck steigern (DRUMMOND und SHAPIRO 1993).

2.5 Sevofluran

2.5.1 Synonyme

1,1,1,3,3,3-Hexa-flouro-2-(flourmethoxy) propan; Fluormethyl 2, 2, 2-trifluor-1-(trifluoromethyl) ethylether.

2.5.2 Strukturformel

C₄H₃OF₇ (siehe Abb 2)

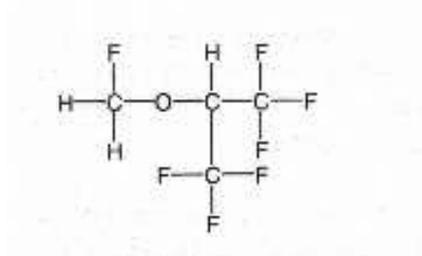


Abb 2: Chemische Strukturformel von Sevofluran (ADIS INTERNATIONAL 1996)

2.5.3 Allgemeines

In Japan ist Sevofluran schon seit längerem als Inhalationsanästhetikum in Gebrauch und viele japanische Fallbeispiele aus den 90er Jahren beschreiben einen ersten erfolgreichen Einsatz von Sevofluran-Narkosen bei verschiedenen operativen Eingriffen (OGASAWARA et al. 1990, KOHNO et al. 1994, MASUDA et al. 1994).

Sevofluran ist ein zur Inhalationsnarkose verwendetes volatiles, d.h. gasförmig angewendetes Anästhetikum.

Seit Mitte des Jahrhunderts werden viele Versuche unternommen, die vielversprechenden Erfahrungen der Inhalationsnarkose, die bereits mit Äther (1846) und Halothan gemacht worden sind, weiter zu verbessern, da diese Anästhetika einige störende Nebenwirkungen besitzen (JONES 1990).

Heutzutage sind die am häufigsten gebrauchten Anästhetika Isofluran und Sevofluran, die das seit den 50iger Jahren viel verwendete Halothan wegen günstigeren Eigenschaften weitgehend ersetzt haben.

Sevofluran ist mit dem Anästhetikum Isofluran verwandt und gehört zu den halogenierten Äthern, besitzt aber keinen Chloridsubstituenten und als einzige der für die Narkose in Frage kommenden halogenierten Äther kein Asymmetriezentrum.

Sevofluran wird innerhalb der europäischen Länder erstmals in Irland (April 1995) zugelassen.

In Deutschland ist es seit dem 20.09.1995 unter dem geschützten Handelsnamen SEVORANE[®] (Firma Abbot GmbH in Wiesbaden) im Handel. Pharmazeutischer Hersteller ist Abbott Laboratories in Queensborough.

Sevofluran ist klar und farblos, nicht explosiv oder brennbar, besitzt einen angenehmen Geruch (ätherisch/mild) und weist ein Molekulargewicht von 200,01 Da auf und liegt bei Raumtemperatur als Flüssigkeit vor. Der von den Flüssigkeiten entwickelte spezifische Dampfdruck erreicht innerhalb eines geschlossenen Behälters eine charakteristische Sättigungskonzentration, die weit über dem therapeutischen Bereich liegt. Deshalb müssen volatile Anästhetika über spezielle, kalibrierte Dosiereinrichtungen verabreicht werden, die als „Verdampfer“ bezeichnet werden. Der Siedepunkt von Sevofluran liegt bei 58,6 °C. und der Dampfdruck bei 20 °C bei 157 mmHg.

Sevofluran bildet, im Gegensatz zu den anderen halogenierten Äthern, bei Kontakt mit feuchtem Atemkalk geringe Mengen verschiedener zum Teil toxischer Zerfallsprodukte, darunter Compound A (FUNK et al. 1999). Diese Substanz hat einen Siedepunkt von 43° C und gelangt in Spuren in den Organismus.

Alle volatilen Anästhetika reagieren bei Kontakt mit getrocknetem Atemkalk unter Wärmebildung mit teilweiser Zersetzung.

Sevofluran ist UV-Licht beständig, ist frei von Konservierungsmitteln, nicht schleimhautreizend und im unversehrten Behältnis 2 Jahre haltbar.

SCHRIFTTUM

In Tab 1 sind die wichtigsten pharmakologischen Parameter von Sevofluran im Vergleich zu einigen anderen volatilen Anästhetika aufgeführt.

Tab 1: Wichtige pharmakologische Parameter der gebräuchlichsten volatilen Anästhetika (JONES 1990, EGER 1994).

	Sevofluran	Desfluran	Isofluran	Halothan	Enfluran	Lachgas
Molekulargewicht (Da)	200	168	184	197	184	44
Verdampfungs-Pkt. (°C)	58,5	23,5	48,5	50,2	56,5	-88,5
Dampfdruck bei 20°C (mmHg)	170	669	240	244	172	52
Verteilungskoeff. Öl(Fett)/Gas	53	19	91	224	96	1,6
Verteilungskoeff. Blut/Gas	0,65	0,42	1,4	2,4	1,8	0,47
Verteilungskoeff. Hirn/Blut	1,7	1,3	1,6	1,9	1,3	1,1
Stabilität in feucht. Atemkalk	Instabil	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
(%) metabolisiert im Körper	3,0	0,02	0,2	15-20	2,4	0,004
MAC bei 30-60J. alten Menschen (%)	2,0	6,0	1,15	0,75	2,0	105

Der MAC der Ratte beträgt 2,5 % (KAMMER et al. 2002).

2.5.4 Pharmakokinetik

Wegen des geringen Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten von 0,686 (EGER und JOHNSON 1987) ist eine sehr rasche An- und Abflutung des Sevofluran möglich (im Vergleich zu beispielsweise Halothan mit 2,5 und Isofluran mit 1,4) (EGER et al. 1987). Die Aufwachzeit nach einer Narkose mit Sevofluran ist daher kürzer als mit Isofluran. Die im Verhältnis zur 24

stündigen terminalen Halbwertszeit (HWZ) kurze Aufwachzeit ist bedingt durch die schnelle Elimination des Anästhetikums aus dem Gehirn. Die Aufwachzeiten beim Einsatz von Sevofluran oder Desfluran sind von der Gesamtdosis unabhängig, im Gegensatz zu Halothan, Enfluran und Isofluran (WIESNER et al. 1995). Dadurch wird eine rasche Erholung aus der Narkose gewährleistet, was z.B. auch für die Anästhesie bei ambulanter Chirurgie einen positiven Aspekt darstellt, sowohl für die Patientensicherheit, als auch in ökonomischer Hinsicht (EGER II und JOHNSON 1987, EGER II 1993). Ein weiterer Vorteil der niedrigen Verteilungskoeffizienten ist die Möglichkeit der schnelleren, genaueren und damit besseren Überwachung und Anpassung der Anästhesie (JONES 1990, EGER II 1992, EGER II 1994).

Die Metabolisierungsrate ist mit drei bis fünf Prozent vergleichsweise hoch. Sie liegt dabei niedriger als die des Halothan und höher als die des Enfluran (1,3%) und des Isofluran (0,6%) (SHIRAISHI et al. 1990).

Unter anderem wird bei der Metabolisierung Fluorid (F^-) freigesetzt. Die F^- -Konzentration im Serum kann nach einer Sevofluran-Narkose bis auf 20 $\mu\text{mol/l}$ ansteigen (WIESNER et al. 1996) (ab $>40 \mu\text{mol/l}$ im Serum ist F^- nephrotoxisch). Auch das chemische Abbauprodukt Compound A (Vinyläther) hat sich im Tierversuch als potenziell nephrotoxisch erwiesen (MORIO et al. 1992, GONOWSKI et al. 1994). Nierenschäden nach einer Narkose mit Sevofluran sind aber bislang nicht beobachtet worden. Beim Menschen konnten diese Ergebnisse nur insoweit reproduziert werden, als es bei anhaltender Compound A Exposition zu einem Anstieg biochemischer, nicht aber klinischer Marker für eine Nierenschädigung kam (GOLDBERG et al. 1999). Die nephrotoxische Potenz von Sevofluran kann deshalb als gering eingestuft werden (MALAN 1995, NUSCHELER et al. 1996).

Aus Sevofluran werden keine Alkylhalide gebildet, welche lebertoxisch sein können. Immunologisch bedingte Leberschäden durch trifluoracetylierte Intermediärprodukte, wie sie für die anderen volatilen Anästhetika beschrieben sind (MARTIN et al. 1995, SINHA et al. 1996) gelten daher bei Sevofluran als unwahrscheinlich.

Aufgrund seines angenehmen Geruchs (FREDMAN et al. 1995, HALL et al. 1997, THWAITES et al. 1997, BLAKE et al. 1998), seiner raschen Anflutung und seiner, im Vergleich zu anderen volatilen Anästhetika, stärkeren Wirksamkeit (höhere Lipidlöslichkeit), seiner guten Steuerbarkeit und fehlender Atemwegsreizung ist Sevofluran das bevorzugte Inhalationsnarkotikum für Kinder und eignet sich in der Humanmedizin auch zur Einleitung einer Narkose über eine Maske (DALE et al. 1987).

2.5.5 Pharmakodynamik

2.5.5.1 Anästhetische Wirksamkeit (MAC-Werte)

1 MAC (= minimale alveoläre Konzentration) eines Inhalationsanästhetikums ist die alveoläre Konzentration, bei der 50 % aller Patienten auf die Hautinzision nicht mehr mit Abwehrbewegungen reagieren (LARSEN 1990). MAC-Werte stellen somit in ihrer anästhetischen Wirksamkeit vergleichbare Narkosegaskonzentrationen dar.

Der MAC-Wert eines Narkosegases verhält sich umgekehrt proportional zu dessen Lipidlöslichkeit. Das Produkt aus Lipidlöslichkeit und MAC ist relativ konstant. Diese Zusammenhänge lassen vermuten, dass die hydrophobe Phase der Zellmembran ein entscheidender Wirkort der volatilen Anästhetika ist (WATSON und JONES 1993).

Die anästhetische Wirkung ist durch Veränderungen in der Zellmembran der Nervenzellen im zentralen Nervensystem anzunehmen (URBAN 1992).

Sevofluran ist das einzige verfügbare volatile Anästhetikum, das nicht zu Trifluor-Essigsäure (wie Halothan und Desfluran) oder Di-Fluor-methoxy-Difluoro-Essigsäure (wie Enfluran) abgebaut wird, sondern durch Glukuronidierung des Metaboliten Hexafluoroisopropanol (HFIP) entgiftet und im Urin als Hexafluoroisopropanolglukuronid ausgeschieden wird. Immunologisch bedingte Leberschäden sind daher unwahrscheinlich (ADIS INTERNATIONAL 1996).

2.5.5.2 Wirkung auf den Respirationstrakt

Sevofluran führt wie alle volatilen Anästhetika zu einer dosisabhängigen Atemdepression (WATSON und JONES 1993).

Diese resultiert einerseits aus der zentralen Dämpfung des Atemzentrums mit verminderter Antwort auf einen Anstieg des arteriellen CO₂-Partialdruckes, sowie andererseits aus der peripheren Lähmung der Atemmuskulatur, wobei Sevofluran und Desfluran vor allem die peripher vermittelte Atemstimulation beeinträchtigt und auf die zentral vermittelte kaum Einfluss nimmt (DAHAN et al. 1996, VAN DEN ELSEN 1998, PANDIT et al. 1999). Ab Konzentrationen von ca. 1,5-2 MAC kommt es zur Apnoe (LOCKHART et al. 1991, WATSON und JONES 1993).

2.5.5.3 Neuromuskuläre Wirkung

Sevofluran hemmt, wie die meisten anderen volatilen Anästhetika, die Depolarisation der neuromuskulären Endplatte. Hierdurch wird eine Muskelrelaxation erzeugt, die theoretisch ausreichend sein würde, um z.B. eine Intubation vorzunehmen (CALDWELL et al. 1991, EGER

II 1993). Dieser relaxierende Effekt kann durch Muskelrelaxantien, wie z.B. Pancuronium potenziert werden.

Volatile Anästhetika reduzieren bei einem MAC von etwa 1 den Bedarf an nicht-depolarisierenden Relaxantien um 30 bis 60%.

2.5.5.4 Cardiovasculäre Wirkung

Die cardiovasculären Wirkungen werden durch eine Kombination von zentralen und peripheren Effekten hervorgerufen. Jede direkte, durch das Anästhetikum bedingte, Veränderung der Herzkontraktilität und Auswurfleistung führt zu einer Gegenreaktion durch das sympathische Nervensystem, wodurch einzelne Effekte kompensiert werden sollen (DRUMMOND und SHAPIRO 1993).

Sevofluran verursacht weniger cardiodepressive Effekte, als beispielsweise Enfluran (KIKURA und IKEDA 1993) und die anderen volatilen Anästhetika, was auf die Blockade des transmembranären Ca^{2+} -Einstromes zurückgeführt wird. Im Kontrast zu Isofluran und Desfluran tendiert Sevofluran zudem nicht dazu die Herzfrequenz zu erhöhen (IMAMURA und IKEDA 1987, KITAHATA et al. 1993) und adrenalininduzierte Herzrhythmusstörungen werden nicht potenziert. Allerdings wird durch Sevofluran die myocardiale Kontraktilität reduziert (EBERT et al. 1995).

2.5.5.5 Wirkung auf das zentrale Nervensystem (ZNS)

Bei Patienten mit intracraniellen Raumforderungen, Blutungen, Vasospasmus oder Trauma können die cerebrale Autoregulation, die CO_2 -Reaktivität der Hirngefäße, sowie das intracraniale Druck-Volumenverhältnis pathologisch verändert sein. Ein undifferenzierter Umgang mit Anästhetika kann bei diesen Patienten zu einer Zunahme des intracraniellen Druckes (ICP) und damit cerebraler Ischämie führen, was mit einer Verschlechterung der Prognose einhergeht.

Die Kenntnisse der peripheren und zentralen Effekte von Anästhetika und deren Einfluss auf Hirndurchblutung, Hirnstoffwechsel und intracraniellen Druck sind daher unter physiologischen wie unter pathologischen Bedingungen von klinischer Bedeutung (ADIS INTERNATIONAL 1996).

Die Wirkungen des Sevofluran auf das Gehirn sind mit denen des Isofluran vergleichbar. Beide bewirken eine Reduktion des Gehirnstoffwechsels und der Gehirndurchblutung und nur einen geringen Anstieg des intracraniellen Druckes oder einen nicht veränderten Druck (SCHELLER et al. 1988). Dies wird ebenfalls in einigen Studien bei der Ratte nachgewiesen

(MIURA et al. 1998). Mit steigender Konzentration im Atem-Gasgemisch führt Sevofluran zu einer zunehmenden Frequenzminderung und Amplitudenerhöhung im Elektroencephalogramm (EEG) bis sog. „burst-suppression“-Muster (Perioden elektrischer EEG Nulllinien, unterbrochen von kurzer Aktivität in Form von steilen Entladungen) auftreten. Dies ist bei Sevofluran bei endtidalen Konzentration von ca. 2 MAC der Fall (SCHELLER et al. 1990). In klinisch üblicher Dosierung bestehen keine relevanten Unterschiede zwischen den einzelnen Substanzen (SCHWENDER et al. 1998).

Obgleich Desfluran, Isofluran und Sevofluran die Krampfschwelle z. B. für Lidocain-induzierte Krampfanfälle senken, werden nur für Sevofluran epileptiforme Potenziale im EEG beschrieben.

Hyperventilation und die gleichzeitig Supplementierung mit 50% Lachgas können bei gefährdeten Patienten die Krampfpotentiale („spikes“) unterdrücken. Sevofluran erniedrigt den arteriellen Blutdruck und senkt dadurch auch den cerebralen Blutdruck. Deshalb ist das Anästhetikum gut in der Neuroanästhesie zu gebrauchen (TAKAHASHI et al. 1993). In Patienten mit ischämischen cerebrovaskulären Krankheiten kann die cerebrale Autoregulation des Blutdruckes während der Sevoflurananästhesie (0,88 MAC) aufrecht erhalten werden (KITAGUCHI et al. 1993, SUMMORS et al. 1999). Auch bleibt während der Anästhesie in einem Bereich von < 1,5 MAC die cerebrale Fähigkeit, auf Veränderungen der arteriellen Kohlendioxidkonzentration zu antworten, erhalten (KITAGUCHI et al. 1993). Höhere Konzentrationen volatiler Anästhetika bewirken hingegen eine ausgeprägte cerebrale Vasodilatation mit der Konsequenz, dass eine autoregulative Gefäßerweiterung unter sinkenden cerebralen Perfusionsdrücken ausbleibt-die Hirndurchblutung erfolgt druckpassiv. Zu diesem Ergebnis gelangen auch LU et al. (1998). Diese Studie beschäftigt sich mit den Effekten von Sevofluran auf den cerebralen Blutfluss und die Autoregulation des Gehirns bei Ratten. Die Autoren beschreiben eine intakte Autoregulation des Gehirns bei 1 MAC. Bei 2 MAC ist diese jedoch geschwächt. Auch LU et al. (1998) begründen dies in einer von der steigenden Sevoflurankonzentration abhängigen Vasodilatation mit sinkenden cerebralen Perfusionsdrücken.

Volatile Anästhetika führen durch Reduktion der neuronalen Funktion zu einem dosisabhängigen Rückgang des cerebralen Metabolismus. Im Gegensatz zu intravenösen (i.v.) Anästhetika sind volatile Anästhetika jedoch potente cerebrale Vasodilatoren, die den cerebralen Gefäßwiderstand reduzieren und somit den cerebralen Blutfluss (CBF) dosisabhängig erhöhen. Dabei ist Sevofluran schwächer cerebral vasodilatierend als Isofluran und Desfluran (MATTA et al. 1999, BEDFORTH et al. 2000). Die Steigerung der Hirndurchblutung ist je-

doch nicht durch eine Stimulation der neuronalen Aktivität hervorgerufen, da Inhalationsanästhetika den Hirnstoffwechsel reduzieren. Bei Patienten mit eingeschränkter intracranieller Compliance kann es daher durch Zunahme von CBF zur kritischen Erhöhung des ICP kommen.

2.5.6 Sevofluran und Hirnprotektion

Bei inkompletter cerebraler Ischämie (WERNER et al. 1995, ENGELHARD et al. 1999) werden bereits auch hirnpotektive Effekte der volatilen Anästhetika postuliert. Die Substanzen sind deshalb möglicherweise bei Operationen im Bereich der A. carotis, der Hirnarterien oder am Gehirn selbst vorteilhaft.

Der Einsatz von Anästhetika als hirnproduktive Maßnahme zur Einschränkung von cerebraler Ischämie und damit auch das postoperativ zu erwartende neurologische bzw. neurokognitive Defizit kann aufgrund mehrerer möglicher Wirkmechanismen befürwortet werden. Allgemein ergeben sich die Ansätze für den therapeutischen Einsatz aus den bekannten Pathomechanismen der cerebralen Ischämie.

Folgende hirnpotektive Mechanismen kommen allgemein für Anästhetika in Betracht (WERNER 1993):

- Verbesserung der Durchblutung ischämischer Bereiche durch Vasodilatation und Umverteilung der Hirndurchblutung von nicht ischämischen Arealen, mit der darauf folgenden Senkung des intracraniellen Druckes;
- Reduktion des Hirnstoffwechsels zur Senkung des Sauerstoffbedarfs;
- Reduktion von Krampfpotentialen;
- Reduktion des Hirnödems;
- Rezeptorinteraktionen (z.B. Senkung der Sympathikusaktivität und/oder exzitatorischer Neurotransmitter) (ENGELHARD et al. 1999);
- Reduktion freier Fettsäuren und Neutralisierung freier Radikale;

Als wichtige Faktoren, die die Wirksamkeit der einzelnen Therapiemechanismen beeinflussen, muss die Form der cerebralen Ischämie, sowie weitere wichtige Parameter wie Blutdruck, Plasmaglukosekonzentration, Körpertemperatur usw. beachtet werden (WERNER 1993).

WERNER et al. (1995) haben mit ihrem Rattenmodell einer inkompletten cerebralen Ischämie (mittels unilateraler Occlusion der A. carotis communis und Blutdrucksenkung auf 35 mmHg für 30 min) festgestellt, dass die neurologischen Ergebnissen der mit Sevofluran anästhesierten Tiere besser waren, als die der Kontrollgruppe (Lachgas/Fentanyl) und zwar ungeachtet der Plasmaglukosekonzentration. Dies weist darauf hin, dass Unterschiede in der Plasmaglukosekonzentration nicht die cerebrale Protektion erklären, die im Zusammenhang mit Sevofluran beobachtet wird.

Bei oben genannten Modell überleben alle mit Sevofluran anästhesierten Ratten den ischämischen Schaden mit nur moderatem oder geringem neurologischen Defizit. Die Tiere der Kontrollgruppe dagegen zeigen ein mäßiges bis schweres neurologisches Defizit. Die dabei zugrundeliegenden Mechanismen, mit denen volatile Anästhetika das Gehirn schützen, sind noch unklar (WERNER et al. 1995).

Sevofluran ist ein cerebraler und systemischer Vasodilatator mit der Fähigkeit, den cerebralen Blutdruck durch Senkung des arteriellen Blutdruckes und Anstieg des intracraniellen Druckes zu verringern. Deshalb ist Sevofluran kontraindiziert bei Patienten mit intracraniellen Läsionen und reduzierter Hirnfunktion (WERNER et al. 1995).

Sevofluran bewirkt wie auch Barbiturate oder Isofluran eine dosisabhängige Senkung des cerebralen Metabolismus bis hin zu einem burst suppression-Muster im EEG (SCHELLER et al. 1988, SCHELLER et al. 1990). Die cerebrale Protektion durch diese Anästhetika wird erklärt durch Reduktion des cerebralen Metabolismus. ZAPP et al. 1992 haben in ihren vergleichenden Studien mit verschiedenen volatilen Anästhetika ebenfalls festgestellt, dass Sevofluran den Metabolismus des Gehirns reduziert und somit eine neuroprotektive Wirkung aufweist. Ebenfalls beschrieben diese Autoren eine linear zur eingesetzten Anästhetikakonzentration von Sevofluran steigende Plasmaglukosekonzentration, welche in einem nicht zu hohem Rahmen ebenfalls neuroprotektiv wirkt.

Einige Studien, die auch oben genanntes Rattenmodell der inkompletten Hemisphärenischämie enthalten, können eine neuronale Aktivität während des ischämischen Insultes nachweisen (BAUGHMAN et al. 1990).

Demnach ist anzunehmen, dass im Vergleich zu schwerwiegenderen ischämischen Insulten diese milden Ischämie Modelle einen cerebral funktionellen Zustand liefern, welcher empfänglich ist für eine anästhetische Protektion (BAUGHMAN et al. 1990).

Offenbar handelt es sich bei cerebraler funktioneller und metabolischer Suppression um einen Hauptmechanismus cerebraler Protektion. Jedoch führt Halothan oder Isofluran zu einer nur

mäßigen bis gar keiner cerebralen Protektion, obwohl diese Anästhetika auch in der Lage sind den cerebralen Metabolismus zu senken (WARNER et al. 1991).

Eine weitere Möglichkeit des neuroprotektiven Mechanismus kann eine Senkung des Katecholaminsatzes durch Sevofluran sein (WERNER et al. 1995).

2.5.7 Unerwünschte Wirkungen

In Zusammenhang mit der Sevofluran-Narkose wird häufig über cardiogene Wirkungen wie Bradykardie und Tachykardie berichtet. Auch kommt es des öfteren zu Übelkeit und Erbrechen. Jedoch scheint unter den volatilen Anästhetika das Sevofluran am wenigsten postoperative Übelkeit und Erbrechen hervorzurufen (CONZEN und HOBBAHN 1996). Atemwegstörungen zeigen sich in Form von Husten, respiratorischen Beschwerden und verstärktem Speichelfluss. Während der Narkose führt Sevofluran annähernd konzentrationsabhängig zur Atemdepression. Fieber, Frösteln, Hypotonie, Hypertonie, Schwindel und Somnolenz treten außerdem häufig postoperativ auf. In den ersten Tagen nach der Anwendung können geringe Änderungen der Gemütslage beim Patienten auftreten.

Auch das Auftreten toxischer Zerfallsprodukte, wie das Compound A muss als Nachteil betrachtet werden.

2.6 Lern-und Gedächtnisprozesse

2.6.1 Allgemein

Das ZNS verfügt über die Fähigkeit zur plastischen Veränderung, d.h. die Fähigkeit zur Anpassung an veränderte Umweltbedingungen. Plastizität ist die Grundlage von Lernprozessen (WOODY 1982, MARLER und TERRACE 1984, KANDEL und SCHWARTZ 1985, GOULD 1986, WOODY 1986).

Lernen kann als grundlegender Prozess der Aneignung neuer Erfahrungen, Kenntnissen und Fertigkeiten definiert werden. Der Prozess führt zu relativ stabilen Veränderungen des Verhaltens. Unter dem Begriff Gedächtnis wird allgemein die Fähigkeit verstanden, die erlernten Erfahrungen, Kenntnisse und Fertigkeiten zu bewahren. Dabei können die Prozesse der Speicherung, der Pflege des Gespeicherten (Konsolidierung) und des Abrufs unterschieden werden. Die von der Information auf ihrem Speicherweg geformte unbekannte Gedächtnisspur wird Engramm bezeichnet. Die Fähigkeit zu lernen und zu erinnern repräsentiert eine zentrale Voraussetzung für die Überlebensfähigkeit (MILTNER und WEISS 1999).

Dabei sind die grundlegenden Fähigkeiten und Verhaltensweisen genetisch determiniert.

2.6.2 Gedächtnis

Die Definition und Abgrenzung der einzelnen Erinnerungssysteme ist nicht einheitlich und wird teilweise kontrovers diskutiert. Da verschiedene, in der Humanpsychologie für den Menschen definierte Erinnerungssysteme bei Tieren nicht nachweisbar sind (z.B. Erinnerung an biographische Ereignisse) (TULVING und MARKOWITSCH 1998) gilt im Folgenden die Definition aus der Arbeitsgruppe von SQUIRE (SQUIRE 1992, SQUIRE und ZOLA 1996). Ursprünglich geht man davon aus, dass die aufgenommene Information zunächst ins Kurzzeitgedächtnis gelangt und von dort aus in das Langzeitgedächtnis übergeht, wo sie jahrelang gespeichert wird. Nach dieser Auffassung muss eine Information vom Langzeitgedächtnis wieder ins Kurzzeitgedächtnis gelangen, um wiedergegeben werden zu können (ATKINSON und SHIFFRIN 1998). Untersuchungen an einem Patienten mit linksparietalen Verletzungen haben jedoch gezeigt, dass paraassoziiertes Lernen von Wörtern und Wortlisten nicht in das Kurzzeitgedächtnis gelangen muss, bevor es das Langzeitgedächtnis erreicht und dass die Information Kurz- und Langzeitgedächtnis parallel erreicht (SHALLICE und WARRINGTON 1970, WEISKRANTZ 1990). Studien von CAVE und SQUIRE (1992) zeigen, dass das Kurzzeitgedächtnis unabhängig vom Langzeitgedächtnis ist und ebenfalls unabhängig von den Strukturen und Verbindungen ist, die bei Patienten mit Amnesie zerstört sind. Ein Defizit der

phonologischen Erinnerung des Kurzzeitgedächtnisses führt jedoch zu Defiziten des Langzeitgedächtnisses, wenn das Erlernen der Langzeiterinnerung ebenfalls von phonologischen Informationen abhängig ist. Diese Tatsache gibt Hinweise darauf, dass das Kurzzeitgedächtnis in die Langzeiterinnerungen eingreift und für die Bildung des Langzeitgedächtnisses essentiell ist (SQUIRE et al.1993).

Die nachfolgende Beschreibung der Gedächtnisprozesse berücksichtigt das Konzept des Kurz- und Langzeitgedächtnisses und ergänzt es entsprechend dem heutigen Stand der Erkenntnisse für den Menschen (SQUIRE 1992, SQUIRE und ZOLA 1996, MILTNER und WEISS 1999)

Die Abb 3 zeigt im Überblick die grobe Einteilung des Gedächtnisses.

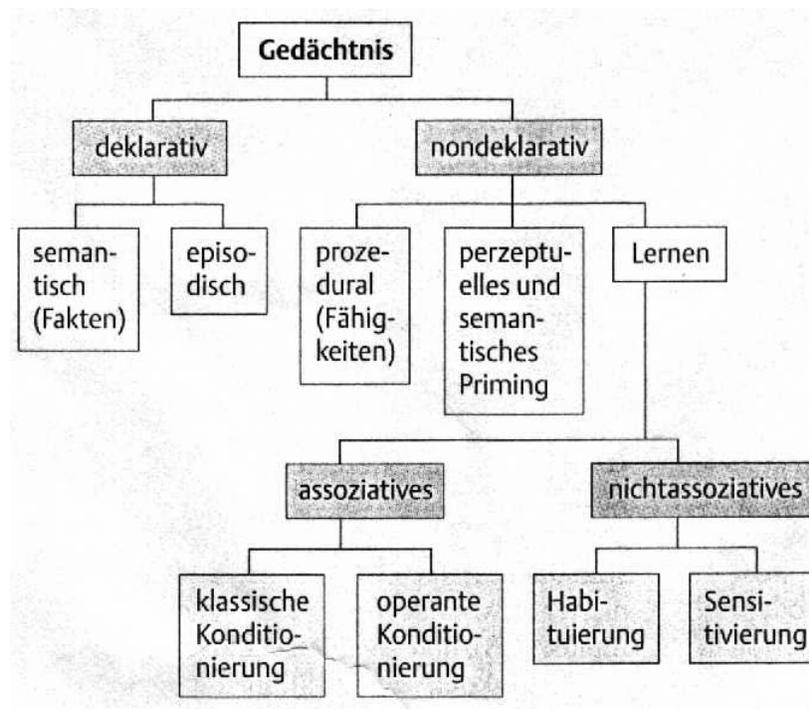


Abb 3: Unterteilung des Gedächtnisse nach MILTNER und WEISS (1999)

2.6.2.1 Gedächtnissysteme

Aus der Vielzahl der einströmenden Informationen wird nur ein Bruchteil ausgewertet, gelernt, oder gespeichert. Hinsichtlich der Menge an Informationen sowie der Zeitdauer ihrer Speicherung, lassen sich das sensorische, das Kurzzeit - mit dem Arbeitsgedächtnis - und das Langzeitgedächtnis voneinander abgrenzen (BIRBAUMER und SCHMIDT 1996).

2.6.2.1.1 Sensorisches Gedächtnis oder Immediatgedächtnis/Aufmerksamkeitsspanne

Das sensorische Gedächtnis besitzt eine hohe Speicherkapazität und eine Zeitspanne der Speicherung von 0,5-1 Sekunde. Für die wichtigsten Modalitäten (visuell, auditiv, somatosensorisch) existieren eigene unabhängige Speicher (WAUGH und NORMAN 1965, ERVIN und ANDERS 1970).

2.6.2.1.2 Kurzzeitgedächtnis oder primäres Gedächtnis

In ihm werden Informationen bis zu einer Zeitdauer von Minuten gespeichert, bei einer deutlich geringeren Speicherkapazität als beim sensorischen Gedächtnis.

Auch das Kurzzeitgedächtnis stellt keine Einheit dar, sondern lässt sich in einen visuell-räumlichen, einen phonologischen und einen zentralen exekutiven Speicher einteilen.

Das Kurzzeitgedächtnis gilt als Leistung des präfrontalen Cortex. Die Konsolidierung der Gedächtnisinhalte beansprucht Tage bis Monate in Strukturen des limbischen Systems, erlaubt jedoch einen schnellen Zugriff des Gespeicherten (KLINKE und SILBERNAGL 2000).

2.6.2.1.3 Arbeitsgedächtnis

Es ist nur undeutlich vom Kurzzeitgedächtnis abzugrenzen und besitzt ebenfalls eine begrenzte Speicherkapazität, sowie eine Zeitspanne im Minutenbereich und ist höchst empfänglich für Störungen (OLTON et al. 1979). Jedoch hat das Arbeitsgedächtnis eine Sonderstellung im Hinblick auf seine Kommunikation mit dem Langzeitgedächtnis. In einem vereinfachten Modell veranschaulicht BADDELEY (1998) das Arbeitsgedächtnis, indem er von einer zentralen Verwaltung ausgeht, an deren einer Seite sich der phonologische Teil befindet und an deren anderen Seite der visio-spatiale Teil zu finden ist. Der phonologische Teil ist für das Lautverständnis und für die Lautäußerung verantwortlich. Er umfasst zwei Komponenten, nämlich die vorübergehende Speicherung und die Wiedergabe von gehörten Äußerungen. Der visio-spatiale Teil enthält und manipuliert visuell-räumliche Informationen. Im Gegensatz zu dem phonologischen Teil, der in der Humanmedizin bevorzugt untersucht wird, können bei Tierstudien nur die visuell-räumlichen Aspekte des Arbeitsgedächtnisses untersucht werden (GOLDMAN-RAKIC 1988). Auch hier sind präfrontale Hirnrindennarien unerlässlich für die Speicherfunktion.

Das Arbeitsgedächtnis wird nicht der Hippocampusformation, sondern dem präfrontalen Cortex zugeordnet und umfasst alle zeitlich begrenzt gespeicherten Informationen (GOLDMAN-RAKIC 1994, BADDELEY 1998).

2.6.2.1.4 Langzeitgedächtnis oder sekundäres Gedächtnis

Mit einer nahezu unbegrenzten Speicherkapazität lässt es eine teilweise permanente Speicherung zu, erlaubt aber nur einen langsamen Zugriff. Die Bildung des Langzeitgedächtnisses erfolgt in der Hirnrinde. Die Differenzierung des Langzeitgedächtnisses beruht auf ihrer unterschiedlichen anatomischen Basis. Dieses Gedächtnis ist sehr resistent gegen alle Störungen (KLINKE und SILBERNAGL 2000).

2.6.2.1.5 Tertiäres Gedächtnis

Es enthält schnell zugreifbar lange Geübtes. Dieser Speicher wird nie vergessen. Er enthält vor allem Programme täglicher Handlungen (Lesen, Schreiben) die einer andauernden Übung unterliegen (ERVIN und ANDERS 1970).

2.6.2.2 Implizites und explizites Gedächtnis

Früher nahm man, dass ein einheitliches Langzeitgedächtnis existiert, in dem die verschiedenen Informationen gespeichert werden. Anfang der 50er Jahre wird jedoch nachgewiesen, dass verschiedene Lern- und Gedächtnisformen existieren, wengleich die Einteilungen von verschiedenen Autoren durchaus unterschiedlich vorgenommen werden.

Prinzipiell gibt es zwei unterschiedliche Formen:

- Wissen, wie etwas zu tun ist
- Wissen über die Dinge, Orte, Welt usw.

Dabei stellt das Lernen und der Abruf, wie etwas zu tun ist, meist unbewusste Vorgänge dar, die sog. impliziten (nicht deklarativen) Gedächtnisformen.

Das Wissen über Dinge, Orte, Welt ist bewusst verfügbar und wird als explizites (deklaratives) Gedächtnis bezeichnet (SCHACTER 1987, SQUIRE et al. 1993)

Deklaratives und nicht deklaratives Gedächtnis lassen sich weiter unterteilen.

2.6.2.2.1 Deklaratives Gedächtnis

Ein Teil des deklarativen Gedächtnisses wird als semantisches Gedächtnis bezeichnet. Es enthält Kenntnisse über Ereignisse und Fakten, die nicht mit spezifischen persönlichen Ereignissen zusammenhängen (z.B. wissenschaftliche Fakten, historische Daten, Politik, Wissen über die Umwelt).

Der andere Teil des deklarativen Gedächtnisses enthält personengebundene Informationen, wie Ereignisse, die Auskunft darüber geben, was sich im persönlichen Leben wo, wann und wie ereignet hat. TULVING (1995) nannte diesen Teil deshalb episodisches Gedächtnis.

Episodische und sematische Teile des deklarativen Gedächtnisses überlappen teilweise erheblich.

Das deklarative Gedächtnis ist hippocampusabhängig.

2.6.2.2.2 Nicht deklaratives Gedächtnis

Das nicht deklarative Gedächtnis umfasst ebenfalls einige Unterformen (GAZZANIGA 1995) und ist eine heterogene Zusammenstellung von separaten Fähigkeiten, die voneinander unterschieden werden können (HEINDEL et al. 1989, 1991). Man ordnet dem nicht deklarativen Gedächtnis folgende Funktionen zu (SQUIRE et al. 1993):

- **Prozedurales Gedächtnis**

Das prozedurale Gedächtnis umfasst erworbene motorische Fähigkeiten und allgemein kognitive Fähigkeiten (z.B. Problemlösungsstrategien).

- **Priming**

Priming ist, wenn die Darbietung bestimmter Informationen Erwartungen generiert, die sich für das nachfolgende Verhalten förderlich oder hinderlich auswirken. Priming scheint klinisch an Bedeutung zu gewinnen, da z.B. in frühen Stadien der Alzheimer-Erkrankung Priming-Prozesse erhalten bleiben und therapeutisch nutzbar gemacht werden können (WEISKRANTZ 1997).

- **Habituation und Sensitivierung**

Habituation und Sensitivierung finden statt, wenn ein Individuum mehrfach mit einem einzelnen Reiztypus, z.B. Tönen oder Lichtblitzen konfrontiert wird. Dieser Prozess des Aufbaus dieser Art des nicht deklarativen Gedächtnisses wird dem nicht assoziativen Lernen zugeordnet. Dabei findet die Habituation in einer Verhaltensabschwächung auf wiederholte Reize Ausdruck, wohingegen die Sensitivierung die gegenteilige Reaktion darstellt (bei wiederholtem Auftreten eines Reizes tritt eine Empfindlichkeitssteigerung auf) (KLINKE und SILBERNAGL 2000).

- **Konditionierung**

Unsere Erkenntnisse zur klassischen Konditionierung verdanken wir in erster Linie dem russischen Physiologen Pawlow (1849-1936). Er beschreibt als erster, dass zunächst unbedeutende Reize (1. Reiz = Schlagen einer Tür eines Hundezwingers) bei wiederholter Koppelung mit einem zweiten Reiz (Gabe von Futter) die gleichen physiologischen Reaktionen (Speichelfluss beim Hund) hervorrufen. Da hierbei eine Assoziation zwischen dem ersten und dem zweiten Reiz hergestellt wird, kann die Bildung einer Beziehung zwischen den Reizen als assoziatives Lernen bezeichnet werden. Dabei wird der erste Reiz als konditionierter bzw. bedingter Reiz (conditioned stimulus CS) und der zweite Reiz als unkonditionierter bzw. unbedingter Reiz (unconditioned stimulus UCS) und der Speichelfluss als unkonditionierte Reaktion (unconditioned reflex UCR) bezeichnet. Es handelt sich um einen konditionierten Reflex. Der entsprechende Lernprozess hierbei wird als klassische Konditionierung bezeichnet. Aus der Sequenz CS-UCS-UCR wird durch Üben CS-UCR.

Bei der operanten Konditionierung wird davon ausgegangen, dass komplexe Verhaltensweisen nicht einfach als Folge von Reiz-Reaktions-Mustern erklärbar sind. Vielmehr wird durch die Konsequenz eines Verhaltens das zukünftige Verhalten beeinflusst. Beim operanten Konditionieren erfolgt unmittelbar auf die zu lernende Reaktion ein belohnender oder bestrafender Reiz. Dies führt zu positiver oder negativer Verstärkung des Verhaltens. Das Verhalten selbst wirkt also „operativ“ auf einen fördernden oder hemmenden Reiz, daher die Bezeichnung operantes oder instrumentelles Lernen. Die operante Konditionierung erfolgt im Tierversuch durch Geräte (sog. Skinner-Boxen). Das Versuchstier kann hierbei auf einen angebotenen Reiz (Licht) einen Hebel drücken und wird dann automatisch durch Futter belohnt. Diese Prozesse des nicht deklarativen Gedächtnisses werden dem assoziativen Lernen zugeordnet. Für das implizite Gedächtnis spielen der parietale und prämotorische Cortex in Interaktion mit Basalganglien und Cerebellum eine wesentliche Rolle (THOMPSON 1988). Die limbischen Strukturen sind hierbei unbeteiligt, d.h. das Gedächtnis ist hippocampusunabhängig (GOLDMAN-RAKIC 1994, BADDELEY 1998).

2.6.2.3 Neuronale Grundlagen von Lernprozessen

Lernen und Gedächtnis beruhen auf strukturellen Veränderungen in den synaptischen Verschaltungen und der Effizienz synaptischer Übertragung. Die Langzeitpotenzierung stellt ein anerkanntes und verbreitetes Modell für die an den Synapsen ablaufenden Prozesse dar. Durch eine starke Depolarisation werden die zukünftigen Übertragungseigenschaften der Synapse geändert. Dabei spielen NMDA-Rezeptoren eine besondere Rolle, deren Aktivierung

Veränderungen an der Prä- und v. a. an der Postsynapse nach sich zieht (ZHUO et al. 1993, SCHMIDT und THEWS 1997, MILTNER und WEISS 1999).

Neuronale Netze repräsentieren die Gedächtnisinhalte (MESULAM 1998), da Lernen und Gedächtnis nicht auf einer einzelnen Struktur des ZNS beruhen. Gedächtnisengramme basieren auf der gleichzeitigen Veränderung der Wirksamkeit von Verbindungen zwischen sehr vielen und weit verstreut liegenden Nervenzellen. Speicherfunktionen sind deshalb nur selten an umschriebenen Orten lokalisierbar (WOODY 1986).

Bei der Bildung des deklarativen Gedächtnisses wird davon ausgegangen, dass bestens vorverarbeitete Informationen im medialen Temporallappen weiterverarbeitet werden, bevor sie im Neocortex dauerhaft zur Speicherung gelangen. Genauere Angaben zu den Speicherorten findet man in den Studien von FRACKOWIAK et al. (1997) und ZIGMOND et al. (1999).

2.6.2.4 Präfrontaler Cortex

Der präfrontale Cortex hat neben der Hippocampusformation eine zentrale Bedeutung für kognitive Funktionen, d.h. für Lern- und Erinnerungsprozesse (O'KEEFE und CONWAY 1978, KOLB 1984, EICHENBAUM et al. 1992, SQUIRE 1998, TULVING und MARKOWITSCH 1998). Er hat besonders dichte Verbindungen zum limbischen System. Ihm werden letztlich die abstraktesten Aspekte der menschlichen Hirnfunktion zugesprochen. Dazu gehört die Organisation des Kurzzeitgedächtnisses, der Vorbereitung von Handlungen und der dazu notwendigen Unterdrückung äußerer und innerer Reize. Er hat in letzter Instanz die Zuständigkeit für die zeitliche Organisation des Verhaltens einschließlich Planung und Setzen von Prioritäten, sowie ethischer und sozialer Maximen ebenso wie Verarbeitung und Speicherung räumlicher Informationen durch den medialen präfrontalen Cortex (mPFC) (DIVAC 1971, SUTHERLAND et al. 1988, HARRISON und MAIR 1996). Dabei ist zu bedenken, dass der mPFC keine einheitliche Struktur darstellt, sondern in eine Anzahl von Regionen entlang der dorso-ventralen Achse eingeteilt werden kann. Welche Region tatsächlich für welchen Erinnerungs- oder Lernprozess verantwortlich ist, wird kontrovers diskutiert und ist noch nicht ausreichend geklärt. DUNETT (1990) zeigt, dass eine mPFC-Schädigung eine Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses nach sich zieht, eine Schädigung des rostralen Anteils der mPFC eine Beeinträchtigung des räumlichen Arbeitsgedächtnis bewirkt (DUNETT 1990). Da meist die ähnlichen Auswirkungen einer Schädigung der mPFC auch bei einer Schädigung der Hippocampusformation gesehen werden, wird von einigen Autoren vorgeschlagen, diese beiden anatomischen Strukturen als ein gemeinsames „spatial mapping system“ zu betrachten (NONNEMAN et al. 1974, BECKER et al. 1980, KOLB et al. 1982).

Aufgrund des funktionellen Zusammenhanges zwischen Speicherung und Verarbeitung räumlicher Informationen und den genannten Gehirnstrukturen sind Versuchsanordnungen, die es ermöglichen, das räumliche Orientierungsverhalten zu beurteilen, gut geeignet, hippocampusabhängige und cortexassoziierte Verhaltensänderungen bei Labortieren zu erfassen (MORRIS et al. 1982, SUTHERLAND et al. 1983, SANCHES-SANTED et al. 1997).

Eine Schädigung des medialen Anteiles des präfrontalen Cortex führt zu einer Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses (DUNNETT 1990, POU CET 1990).

2.6.2.5 Lernen und limbisches System

Die Engrammbildung im ausgereiften Gehirn wird von global organisierten Kontrollsystemen überwacht. Diese beziehen ihre Informationen aus Strukturen des limbischen Systems. Die meisten Gedächtnisstörungen sind Folge von Läsionen in diesen limbischen Steuerzentren.

Nicht jede Aktivierung neuronaler Verbindungen führt zu bleibenden Veränderungen der synaptischen Übertragungseigenschaften. Es bedarf zusätzlicher, vom Hirn selbst erzeugter Steuersignale. Aus Läsionsstudien kann geschlossen werden, dass Zentren des limbischen Systems bei der Erzeugung dieser Steuersignale von Bedeutung sind (KLINKE und SILBERNAGL 2000).

Der Hippocampus und der Mandelkern (Amygdala) spielen hierbei eine Schlüsselrolle. Diese Strukturen sind aufgrund ihrer vielfältigen Verbindungen mit anderen Hirnregionen in der Lage, die Bedeutung der jeweils verarbeiteten Signale zu bewerten. Amygdala und Hippocampus projizieren ihrerseits über weit verzweigte Bahnsysteme auf die Großhirnrinde zurück. Die genannten limbischen Strukturen spielen v.a. bei den deklarativen Gedächtnisfunktionen eine tragende Rolle (O'KEEFE und CONWAY 1978, JARRARD et al. 1986, SQUIRE 1987, SQUIRE et al. 1993). Nicht deklarative Erinnerungen jedoch können durch hippocampale Schädigung dagegen unbeeinträchtigt bleiben (SQUIRE 1994).

Dem Mandelkern obliegt die Funktion, die Engramme mit emotionalen Beiwerten zu versehen (SQUIRE et al. 1993, JACKSON et al. 1998).

Eine weitere wichtige Funktion des Hippocampus ist die Verarbeitung und Speicherung von räumlichen Informationen (O'KEEFE und CONWAY 1978). Außerdem ist er dafür verantwortlich, dass bis zur endgültigen Speicherung des Erlernten im Langzeitgedächtnis die entgegengesetzten Seiten im Neocortex, die gemeinsam die ganze Erinnerung enthalten, miteinander verbunden werden (SQUIRE 1992). Er ermöglicht somit für eine gewisse Zeit den Abruf der gesamten Information. Nach einiger Zeit übernimmt der Neocortex die gesamte Verantwortung für die Speicherung der Information im Langzeitgedächtnis. Die Zeitspanne, bis

SCHRIFTTUM

der Neocortex die Information übernimmt, hängt sowohl von der Spezies als auch von der anfänglichen Lernintensität und der Vergesslichkeitsrate ab (ZOLA-MORGAN und SQUIRE 1990, SQUIRE et al. 1993).

2.7 Unterschiede kognitiver Fähigkeiten von Nagetieren und Menschen

Nagetiere werden am häufigsten genutzt, um kognitive Dysfunktionen des Menschen zu erforschen. Das Problem dabei ist jedoch, dass jede Spezies Verhaltensweise zeigt, der es ihr erlaubt in seinem bestimmten Lebensraum zu existieren. Folglich ergibt sich die Gefahr, dass jede Spezies auch eine einzigartig geformte Nervenstruktur besitzt, welche durch eine einzigartige Verhaltensanpassung reflektiert wird (WHISHAW et al. 1992b). Deshalb vertreten einige Autoren die Meinung, dass es keine grundlegende Basis gibt, auf der man speziesübergreifend allgemeingültige Aussagen über Nervenstrukturen, welche verantwortlich sind für eine erbrachte Leistung, machen kann. Diese Aussagen sind nötig, um Rückschlüsse auf das Gedächtnis zu ziehen (HOWE et al. 1993) und die Beziehung zwischen Gehirn und Verhalten beim Menschen zu verstehen (WISHAW et al. 1992b). Viele Verhaltensmuster, die für die Erforschung der kognitiven Fähigkeiten von Nagetieren verwendet werden, untersuchen andere Funktionen als die, die im Allgemeinen beim Menschen bestimmt werden. Dennoch wird davon ausgegangen, dass sich trotz kleiner Unterschiede allgemein Säugetiere viele Charakterzüge und Fähigkeiten teilen. Alle Säugetiere können beispielsweise sensorische Reize empfangen, interpretieren und in Bezug setzen zu vorangegangenen Erfahrungen, um darauf entsprechend zu reagieren. Auch scheinen alle Säugetiere fähig zu sein, komplexe Aufgaben zu erlernen und verschiedene Mechanismen zu entwickeln, um sich räumlich zurechtzufinden (WISHAW et al. 1992b). Eine vergleichende Betrachtungsweise für die Erforschung der kognitiven Leistungen von Mensch und Tier ist deshalb nötig (KESNER 1994, MACPHAIL 1996, OLTON et al. 1992, ROBERTS 1996, WHITE et al. 1996). Das Sensorium von Mensch und Ratte ist unterschiedlich stark ausgeprägt. So ist die Sehschärfe der Ratten weit aus schlechter als die des Menschen, der Geruchssinn der Tiere jedoch wesentlich besser ausgeprägt als der menschliche. So kann etwa für Verhaltenstests mit Ratten der Geruchssinn besser geeignet sein als andere Sinne, die weniger stark ausgeprägt sind. Außerdem muss beachtet werden, dass der Mensch im Gegensatz zur Ratte die Fähigkeit besitzt, sich verbal deutlich auszudrücken.

Eine Möglichkeit diesem Problem entgegenzuwirken, besteht darin Tests zu verwenden, die abstrakte Stimuli enthalten und schwer zu verbalisieren sind (MORRIS et al. 1987). Beim Vergleich zwischen Ratten und Menschen stellen die bei Tieren nötigen Zwangsmaßnahmen wie Futterentzug oder Bewegungseinschränkung unumgängliche Unterschiede dar. Auch erfolgen die Tests bei Nagern meist unter körperlichem Stress, beim Menschen jedoch v.a. unter psychischem Stress (OHL et al. 1998). Wichtig ist es jedoch bei Mensch und Versuchstier, möglichst ähnliche kognitive Muster zu verwenden (STECKLER und MUIR 1996). Auf je-

den Fall muss die Aufgabenkomplexität berücksichtigt werden, da gleiche Aufgaben bei Ratten und Menschen unterschiedliche Prozesskapazitäten erfordern (MACPHAIL 1982). Nagetiere benötigen zum Beispiel regelmäßig längere Übungszeiten als Menschen, um eine stabile Ausgangslinie („baseline“) zu erreichen. Aus diesem Grund muss in der Praxis die Möglichkeit in Erwägung gezogen werden, dass beide Spezies verschiedene Erinnerungsprozesse verwenden. Der Aufbau der deklarativen Erinnerung ist aufwendig und bezieht sich auf Informationsverarbeitung von Tatsachen oder Ort-Zeit-Geschehnissen. Prozedurale Erinnerungen hingegen laufen automatisch ab und beziehen sich auf Informationen von Verhalten und Fähigkeiten (STECKLER und MUIR 1996). PANG et al. (1992) haben durch einen 2-choices-Reaktionszeit-Test herausgefunden, dass die Reaktionszeit von Ratten auf akustische Reize kürzer ist als auf visuelle Reize. Möglicherweise werden bei verschiedenen Spezies vergleichbare Abläufe von unterschiedlichen psychologischen Prozessen gesteuert. Kognitive Abläufe hängen wahrscheinlich von zwei Faktoren ab:

- von der neuralen Leistung, welche die Exaktheit von Abläufen festlegt,
- von der Motivation oder dem Erregungszustand, die entscheidend sind, um ein bestimmtes Verhalten auszulösen.

So kann man aus Veränderungen der neuralen Leistungen nur dann eine Schlussfolgerung ableiten und auf eine andere Spezies übertragen, wenn sich der Motivations- und Erregungszustand nicht verändert hat (STECKLER und MUIR 1996).

2.8 Verhalten und Verhaltensstörung

2.8.1 Allgemeines zum Verständnis tierischen Verhaltens

Als Verhalten wird die Gesamtheit der endogen verursachten (Spontan)-Aktivitäten und die Reaktionen auf Umweltreize bezeichnet.

Es basiert auf ererbten Handlungsweisen und erworbenen Erfahrungen. Die ererbten Verhaltensweisen sind konstant, man spricht auch von Erbkoordination, und treten immer in bestimmten Situationen als Instinkthandlung auf (LAININGER 1989).

Alle Intentionsbewegungen (Vorbote einer Verhaltensweise, die eine bestimmte Stimmungslage ausdrückt) einer Tierart, die eine Instinkthandlung zur Folge haben, nennt man Ethogramm (d.h. die Gesamtheit aller Verhaltensweisen über die eine Tierart verfügt). Auslöser einer Intentionsbewegung ist der sog. Schlüsselreiz, d.h. die hervorstechendste Eigenschaft eines Objektes, die allein bereits in der Lage ist, eine Handlung bei Artgenossen auszulösen. Bei Ausbleiben eines Schlüsselreizes kommt es zum Triebstau und somit zu Leerlaufhandlungen (objektlos ablaufendes Verhalten bei zu niedriger Reizschwelle). Werden Tiere daran gehindert ihren Bedürfnissen nachzukommen, kommt es zu Ersatz- oder Übersprunghandlungen und damit zu Stereotypien (gleichförmig andauernd wiederholende Bewegung, die der aktuellen Situation nicht angepasst ist, welche aber eine Opioidausschüttung im Körper bewirkt und somit ein subjektives Wohlbefinden hervorruft) (LAININGER 1989).

2.8.2 Verhaltensstörung

Treten kurzzeitige oder andauernde deutliche Abweichungen vom normalen, artspezifischen Verhalten auf, spricht man von einer Verhaltensstörung. Man kann zwischen psychisch bedingten und nicht psychisch bedingten Verhaltensstörungen unterscheiden (GÜTTNER 1993). Nicht psychisch bedingte Verhaltensstörungen sind chemisch-physikalischer Art, beispielsweise von Operationsfolgen oder Mangelernährung (ASKEW 1997). Psychisch bedingte Störungen sind oftmals früh erworben durch Fehlprägung, reizarme Umwelt oder versäumte Sozialisierung. Krankheit und Leiden drücken sich immer durch Verhaltensänderungen aus, z.B. durch Lethargie, Anorexie, Übererregbarkeit, Automutilation u.a (REISNER 1991).

Verhaltensstörung verschiedener Tierarten:

- Hund: Leckdermatitis, zwanghaftes Schwanzjagen, Fliegenschnappen
- Katze: Aggressivität, fehlerhaftes Ausscheidungsverhalten (Urinspritzen)
- Pferd: Weben, Koppen

- Schwein: Leerkauen, Kannibalismus

Labortiere:

- Mäuse: Benagen der Gitterstäbe („wire-gnawing“), Anspringen der Wände („jumping“)
- Kaninchen: Automutilation, wire-gnawing
- Ratten: Wire-gnawing, Automutilation, selbstzerstörerisches Verhalten

Automutilation geht dabei größtenteils auf neurologische Eingriffe zurück, z.B. Selbstverstümmelung an denervierten Gliedmaßen. Dies ist stets ein Hinweis auf chronische Schmerzen und Dysästhesie (LAININGER 1989).

2.9 Verhaltenstests

Ein Verhaltenstest ist ein ethologischer Funktionstest, bei dem das Verhalten als Hinweis für funktionelle Störungen genutzt wird, z.B. in der Verhaltenstoxikologie, der Verhaltensteratologie und auch für die Beurteilung von Umweltbedingungen (GÜTTNER 1993). Da sich eine Krankheit oder ein Leiden in einer Änderung des Verhaltens ausdrücken kann, sind Verhaltenstests auch geeignet, eine subjektiv nicht feststellbare Reduzierung der Lebensqualität zu diagnostizieren (GRAUVOGL 1983). Das Verhalten von Laborratten im Vergleich zu dem der Wildform zu bewerten, ist problematisch. Zum einen ist über die natürliche Lebensform der Wanderratte immer noch sehr wenig bekannt. Zum anderen ist der Lebensraum der Laborratten stark eingeschränkt. Die Bewertung der möglichen Verhaltensänderungen erfordert daher viel Erfahrung und wird häufig durch den subjektiven Eindruck des Beobachters beeinflusst (MARTIN und BATESON 1993). Trotzdem sind durch reine Beobachtung viele Äußerungen des Wohlbefindens feststellbar (SANFORD et al. 1986). Wichtiger Hinweis ist die Freude der Tiere am gemeinsamen Spiel. Methoden, bei denen die Versuchstiere aktiv zu beobachtende Testaufgaben zu bewältigen haben, bieten den Vorteil einer objektiven, evtl. sogar messbaren Bewertung auftretender motorischer oder physischer Defizite (SPINELLI und MARKOWITZ 1987). Für die Beurteilung des Verhaltens von Labornagern in Verhaltenstests, mit dem Ziel, eine Aussage über den Grad der Störung des Wohlbefindens des einzelnen Tieres machen zu können, muss eine Vergleichsgruppe gebildet werden. Die Vergleichsgruppe wird unter den gleichen Verhältnissen wie die Versuchsgruppe gehalten und unterscheidet sich auch hinsichtlich des Alters, Geschlechts und anderer wichtiger Einflussgrößen nicht von

der Versuchsgruppe. Im Gegensatz zur Versuchsgruppe ist sie keinen Eingriffen oder sonstigen Manipulationen ausgesetzt (ARCHER 1973).

2.9.1 Überblick über gebräuchliche Verhaltenstests

Für effektive Versuchsauswertung sollten die Tests:

1. eine möglichst geringe Beeinträchtigung für das Wohlbefinden des Tieres darstellen,
2. Schmerzlosigkeit garantieren,
3. einfach durchführbar sein (mit möglichst geringem instrumentellem Aufwand),
4. und eine leichte Auswertung ermöglichen (BOISSIER et al. 1960).

2.9.2 Beschreibung der Testdurchführung

2.9.2.1 Testmethoden zur Beurteilung der Muskelkraft am Rattenmodell

2.9.2.1.1 Der Chimney-Test (Röhren-Test)

Der Chimney-Test wird von BOISSIER et al. (1960) als einfach durchzuführender Test zur Auswirkung von Psychopharmaka auf das Verhalten von Versuchstieren ausgearbeitet. Beim Chimney-Test läuft das jeweilige Tier in eine Plexiglas-Röhre, die im Innendurchmesser der Größe des Tieres so angepasst ist, dass es ihm möglich ist, eine definierte Strecke rückwärts, entgegen der Schwerkraft, zu klettern, sich jedoch nicht umdrehen kann. Mit diesem Test kann man auf der neuromuskulären Ebene die negative Geotaxis, das Koordinationsvermögen und im Vordergrund die Muskelleistung untersuchen sowie auf der psychischen Ebene das Erkundungsverhalten, die Schreckhaftigkeit und die Fluchtbereitschaft beurteilen (PALISSA und BECKER 1986).

2.9.2.2 Testmethoden zur Beurteilung der motorischen Aktivität am Rattenmodell

2.9.2.2.1 Der „Open-field-Test“

Der 1934 erstmals von HALL vorgestellte Test wurde vielfach modifiziert, die von ihm gefundenen Ergebnisse vertieft und nicht widerlegt (BROADHURST 1957 und 1958, LAININGER 1989). Beim Open-Field-Test ist der Grundgedanke, dass das Versuchstier mit einer großen, hell erleuchteten Fläche ohne Ecken, in die es sich zurückziehen kann, konfrontiert wird. Dabei wird die Emotionalität beurteilt (DOYLE und YULE 1959).

2.9.2.2.2 Die automatisierte Bewegungsmessung

Dieser Test basiert auf den Prinzipien des Open-Field-Tests, wobei die Aktivitätsbeurteilung des motorischen Verhaltens der Tiere im Vordergrund steht und mit Hilfe eines Netzes von Infrarotlichtschranken gemessen wird. Mit diesem Test wird die motorische Aktivität der Tiere bestimmt. Gegenüber dem Open-Field-Test hat dieser Test den Vorteil, dass er aufgrund der Automatisierung mittels Computertechnik objektivierbar ist (BENINGER et al. 1985).

2.9.2.2.3 Der „Eight-hole-box-Tests“

Entlang der Wand einer runden Versuchsarena (Durchmesser 54 cm) sind gleichmäßig 2,5 cm oberhalb des Bodens acht Löcher (Durchmesser 3 cm) angebracht. Infrarotphotozellen in den Löchern registrieren, wann ein Tier seine Nase in eines der Löcher steckt. Mit Hilfe einer Videokamera, die die Bewegungen, das Aufrichten und die Fellpflege erfasst, wird neben dem Erkundungsverhalten zusätzlich die motorische Aktivität untersucht (KELLEY et al. 1985).

2.9.2.3 Testmethoden zur Beurteilung des Lernverhaltens am Rattenmodell

2.9.2.3.1 Der „Standard-operant-box-Test“ (Skinner-Box)

Hierbei lernt die Ratte, auf eine bestimmte Kombination eines akustischen und/oder optischen Signals einen Hebel zu betätigen, worauf sie automatisch eine Futterbelohnung erhält. Mit diesem Test wird die Fähigkeit der Ratten bestimmt, die Länge des erlernten Futtersignals einzuschätzen (OLTON 1989).

2.9.2.4 Testmethoden zur Beurteilung der Emotionalität am Rattenmodell

2.9.2.4.1 Der „Home-cage-emergence-Test“ (Heim-Käfig-Öffnungs-Test)

Bei diesem Test wird die Reaktion der Tiere auf das Öffnen des Käfigs bewertet. Der Test findet im Tierstall, in der gewohnten Umgebung, statt. Die Beobachtungszeit ist auf 3 min limitiert. Dabei wird die Zeit gemessen, die vergeht, bis das Tier mit Pfote und Nase an die Käfigkante kommt (WILLIAMS und WELLS 1970).

2.9.2.4.2 Der „Social-interaction-Test“

Beim Social-interaction-Test wird das Testtier einerseits mit einer hell erleuchteten, fremden, angsteinflößenden Umgebung, andererseits mit einem unbekanntem, ihm in Geschlecht und Größe entsprechenden Tier konfrontiert. Anhand der nunmehr eintretenden Reaktionen kann indirekt auf den Grad der Ängstlichkeit der Ratte geschlossen werden. Deshalb wird dieser

Test auch häufig in der psychopharmakologischen Forschung beim Screening potentiell angstlösender Medikamente verwendet (LAININGER 1989).

2.9.2.5 Testmethoden zur Beurteilung des klinisch neurologischen Verhaltens am Rattenmodell

2.9.2.5.1 Der „Beam-balance-Test“ (Gleichgewichts-Balken-Test)

Bei diesem Test wird ein 2,5 cm breiter Holzbalken horizontal 40 cm über einer weichen Unterlage auf dem Boden befestigt und die Ratte auf die Mitte des Balkens gesetzt. Man misst, wie lange die Ratte die Balance halten kann und wie lange sie sich nach Balanceverlust am Balken festhält. Um weitere Aussagen machen zu können, kann die Breite des Balkens zwischen 1,5 und 8,5 cm variiert werden (SHAPIRA et al. 1995). Mit diesem Test werden der Gleichgewichtssinn und die Körperkraft beurteilt (COMBS und D’ALECY 1987).

2.9.2.5.2 Der „Screen-Test“ (Drahtgittertest)

Bei diesem Test setzt man die Ratte auf ein horizontales Drahtgitter (0°), welches dann langsam um 90° in die Vertikale und schließlich um 180° in die umgekehrt horizontale Position gedreht wird, wo das Tier mindestens 5 sek hängenbleiben muss (siehe Abb 4). Es wird gemessen, wie lange sich das Tier in den verschiedenen Neigungswinkeln festhalten kann. Dieser Test dient als Indikator für die Muskelkraft, den Gleichgewichtssinn und nach dem Fallenlassen aus der umgekehrten Horizontalen für das Gleichgewichtsverhalten und die Stellreflexe (COMBS und D’ALECY 1987).

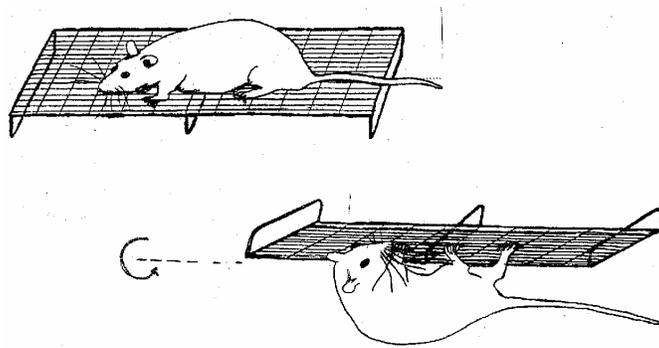


Abb 4: Testaufbau Drahtgittertest (SOMMER 1996)

2.9.2.5.3 Der „Prehensil-traction-Test“ (Greif-Zug-Test)

Eine rechtwinklige Sperrholzplatte wird mit Teppich überzogen, so dass die Tiere ausreichend Halt zum Klettern finden. Die Ratten werden mit den Vorderpfoten an die Kante der Plattform

gesetzt und losgelassen (siehe Abb 5). Sie müssen sich jetzt auf die Horizontale hochziehen, um nicht abzustürzen (COMBS und D'ALECY 1987). Etwas verändert kann bei diesem Test die Ratte auch mit ihren Vorderpfoten an ein 0,5 cm dickes, horizontal gespanntes Seil gesetzt werden. Dabei kommt es auf die Zeitdauer an, bis die Ratte herunterfällt, und darauf, ob das Tier mit einem Hinterbein an das Seil greift. Bei beiden Testvarianten können Rückschlüsse auf Greifvermögen, Muskelkraft und Gleichgewichtsgefühl gezogen werden.

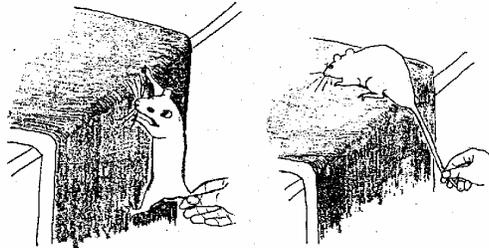


Abb 5: Versuchsaufbau des Prehensil-traction-Tests (SOMMER, 1996)

2.9.2.5.4 Der „Hochhalten-am-Schwanz-Test“

Wenn gesunde Ratten am Schwanz angehoben und in dieser hängenden Position gehalten werden, strecken sie infolge eines Extensionsreflexes die Vordergliedmaßen nach außen und unten sowie die Hintergliedmaßen senkrecht vom Körper weg. Die distalen Gliedmaßenabschnitte erscheinen dabei leicht gebeugt und entspannt. Der Rücken wird in Lordose gebogen, so dass der Kopf fast wieder in horizontaler Lage, wie in normaler Körperposition, gehalten wird. Meist beginnen die Ratten nach einigen sek in dieser hängenden Position zu pendeln und sich über eine Seite aufwärts einzurollen. Hierbei versuchen sie sich am Fell oder auch am Schwanzansatz festzuhalten, um damit wieder eine annähernd natürliche Körperlage zu erreichen (siehe Abb 6 rechts).

Ratten mit neurologischen Defiziten, z.B. hemidecortizierte Ratten (KOLB und WHISHAW 1985) oder auch Ratten mit unilateralem Hirninfarkt (BEDERSON et al. 1986) zeigen dagegen die Tendenz, die Gliedmaßen kontralateral zur geschädigten Hemisphäre zum Körper hin anzuwinkeln und sich immer wieder über die kontralaterale Seite einzurollen (siehe Abb 6 links).

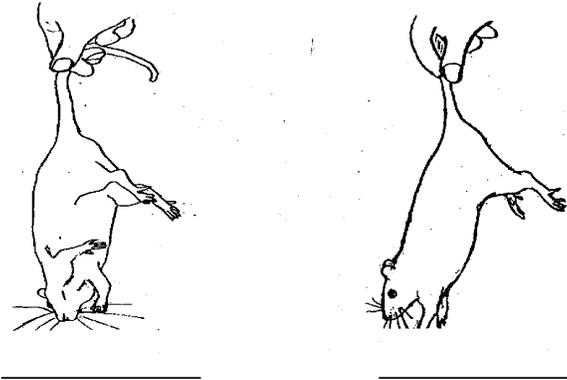


Abb 6: Reaktion einer unilateral infarzierten (links) und einer gesunden Ratte (rechts) (SOMMER 1996)

2.9.2.5.5 Der Stellreflex-Test

Gesunde Ratten haben die Fähigkeit, im Fallen aus der Rückenlage ihre Position umgehend zu korrigieren und sicher auf allen vier Pfoten zu landen. Die gebeugten und angespannten Gliedmaßen ermöglichen eine gute Aufprallabsorption und damit eine weiche Landung (WALLACE et al. 1980, KOLB und WHISHAW 1985).

2.9.2.5.6 Der „Corner-Test“ (Orientierung in einer Ecke)

Wenn man gesunde Ratten in eine Ecke hineinlaufen lässt, führen sie mit ihrem Kopf Orientierungsbewegungen in alle Richtungen des Raumes aus und richten sich auf. Nachdem sie sich für eine Seite entschieden haben, drehen sie sich und laufen in engen Kontakt zur Wand weiter (KOLB und WHISHAW 1985).

2.9.2.5.7 Der „Floor-Test“ (Absetzen auf den Boden)

Gesunde Ratten führen, nachdem man sie auf dem Boden absetzt, zunächst vorsichtige und dann immer stärker werdende Orientierungsbewegungen mit ihrem Kopf aus. Nach wenigen sek beginnen sie vorwärts zu laufen, ohne dabei ihr sicherndes Erkundungsverhalten aufzugeben. Ziel der Suche sind Gegenstände oder dunkle Plätze im Raum, die Unterschlupf bieten können (KOLB und WHISHAW 1985).

2.9.2.5.8 Der „Behavioural-trap-Test“ (Absetzen in einer Sackgasse)

Für diese Testmethode wird mit parallel zueinanderstehenden Wänden aus Plexiglas ein Gang aufgebaut. Die Distanz zwischen den beiden Wänden wird so auf die Größe des Tieres abge-

stimmt, dass auf jeder Seite des Tieres ein 1-5 cm breiter Freiraum bestehen bleibt. Die Ratte wird in den Gang gesetzt, wobei der Kopf zum verschlossenen Ende zeigt. Gesunde Ratten drehen sich um, sobald sie das Ende des Ganges erreicht haben. Die Richtung, in welche das Tier sich dreht, ist scheinbar zufällig.

2.9.2.5.9 Der „Beam-walking-Test“

Die Tiere werden trainiert über einen engen Balken zu laufen, um am anderen Ende eine Futterbelohnung zu erhalten. Der zu überwindende Weg beträgt 200 cm, der Balken ist 5 cm breit. Die Tiere erlernen diese Aufgabe in ungefähr 5 Tagen (KOLB und WHISHAW 1985). Gesunde Tiere besitzen die Fähigkeit, sehr schnell über die Oberfläche des Balkens zu rennen.

2.9.2.5.10 Der „Schwimm-Test“

Es gibt verschiedene Arten von Schwimmtests, auch bei vorliegendem Test ist eine mit Wasser überschwemmte Plattform, wie bei dem Water-Maze-Test (siehe Kapitel 2.8.2.10.1) vorhanden, hier wird jedoch nicht das Gedächtnis beurteilt, sondern die Art der Körperhaltung und Schwimmbewegung, bis die Tiere die Plattform erreicht haben. Der Gebrauch der Pfoten wird mit Hilfe einer 5-Punkte-Skala bewertet.

Gesunde Tiere führen die Vorderpfoten unter das Kinn, wobei die palmare Pfotenfläche zur Steuerung genutzt wird. Außerdem schwimmen sie auf direktem Wege schnell zu der Plattform (SALIS 1972, FISH 1996).

2.9.2.6 Testmethoden zur Beurteilung der Gedächtnisleistung am Rattenmodell

2.9.2.6.1 Der „Go/no go-procedure-Test“

Hierbei handelt es sich um einen dreidimensionalen Objekt-Stimulationstest. Den Tieren werden Objekte gezeigt, die in Abhängigkeit von der Zeit, während der sie gezeigt werden, dazu führen, dass die Tiere eine Futterbelohnung erhalten. Die Tiere erhalten eine Belohnung, wenn ihnen ein Ball für zwei sek gezeigt wird; wenn aber eine Flasche für zwei sek gezeigt wird, erhalten sie nichts. Sehen die Ratten den Ball hingegen für acht sek, so erhalten sie nichts; sehen sie die Flasche für acht sek, dann erhalten sie eine Belohnung. Gemessen wird die Zeitdauer, die die Tiere benötigen, um den Gegenstand zu erreichen, zu bewegen und die Gesamtdauer des Tests. Mit diesem Test wird das Arbeitsgedächtnis beurteilt (JACKSON et al. 1998).

Maze-Tests

Bei den Maze-Tests (maze = engl. Labyrinth) werden umweltbedingte, optisch-räumliche Aufgaben gestellt. So sind zum Beispiel offene Maze-Tests gut geeignet, um Lokalisationslernen und Erinnerung zu beurteilen. Es gibt eine Vielzahl von Mazes, die man nach den verschiedenen Kriterien unterscheidet (HODGES 1996):

1. Einrichtungstypen:
Es gibt einfache Arenen wie beim Water-Maze oder hochstrukturierte Gebilde wie beim Radial-Arm-Maze.
2. Fragestellungen:
Es werden viso-spatiale, assoziative oder sensorische Fähigkeiten untersucht.
3. Aufgabestellungen:
Die Aufgaben reichen von spontaner Erkundung bis hin zu komplexen Sequenzen von Entscheidungen.
4. Motivation:
Beweggründe der Tiere, die gestellten Aufgaben zu lösen, können z.B. Flucht aus Angst, Suche nach Zufluchtsmöglichkeiten, Neugier oder neue Objekte zu erkunden sein, aber auch Fressen an bestimmten Lokalisationen zu finden.

2.9.2.6.2 Der Morris-Water-Maze-Test

Der Test ist sehr beliebt geworden, hauptsächlich weil man den Tiere vorher keinen Futter- und Wasserentzug zumuten muss, um sie zu motivieren (MORRIS 1984, SUTHERLAND und DYCK 1984, WHISHAW 1985, McNAMARA und SKELTON 1993). Die Tiere lernen mit Hilfe von an der Wand sichtbar angebrachten Symbolen, schwimmend eine im Zentrum eines Beckens (Durchmesser 1,5 m) gelegene, ca. 1 cm überschwemmte Plattform (Durchmesser ca. 10 cm) zu erreichen. Der Water-Maze ist für die Untersuchungen der räumlichen Orientierung und der motorischen Aktivität gut geeignet. Durch Lokalisationsänderungen der Plattform nach der Lernphase oder bei jedem Durchlauf gibt es viele Testvarianten (MORRIS 1984).

2.9.2.6.3 Der Radial-Arm-Maze-Test

Es handelt sich um eine strahlenförmige Anordnung von mehreren in Muster oder Textur unterschiedlichen Armen um ein rundes Zentrum, deren Komplexität durch Seitenarme an den Armen noch gesteigert werden kann (OLTON et al. 1979, JARRARD 1986). Die ins Zentrum gesetzte, restriktiv gefütterte Ratte lernt Futterplätze an den Enden der Arme aufzusuchen.

Mit dieser Testanordnung werden die räumliche und die visuell-räumliche Orientierung, die motorische Aktivität sowie das Arbeits- und das Langzeitgedächtnis untersucht (HODGES 1996).

2.9.2.6.4 Der 3-Door-Runway-Test

In einem langen Gang befinden sich vier Barrieren. Jede der Barrieren enthält drei Türen, von denen sich nur eine öffnet. Am Gangende befindet sich Futter. Die Kombination der Türen, die sich auf dem Weg zum Futter öffnen lassen, wechselt täglich. Dieser Test lässt Aussagen über das Arbeitsgedächtnis und das schnelle Lokalisationslernen zu (HODGES 1996).

2.9.2.6.5 Der Elevated-Plus-Maze-Test

Zwei Gänge sind plusförmig angeordnet. Einer der Gänge ist bedeckt, der andere nach oben hin offen. Es wird die Zeitdauer, die das Tier in dem geschlossenen Teil verbringt, der Dauer, die es sich im offenen Teil aufhält, gegenübergestellt. Der Elevated-Plus-Maze ist entwickelt worden, um das Angstverhalten von Ratten zu untersuchen (HODGES 1996).

2.9.2.6.6 Der Hole-Board-Test modifiziert nach OHL

Der Terminus „Hole-Board“ ist der Begriff für ein ursprünglich zur Untersuchung des Explorationsverhaltens bei Nagetieren etablierten Testparadigmas (FILE und WARDILL 1975). Das Testparadigma eignet sich neben der Untersuchung explorativer Parameter auch zur Untersuchung motivationaler, angstbezogener und kognitiver Parameter. Der Begriff „Hole-Board“ wird im Folgenden ohne Übersetzung verwendet. Das modifizierte Hole-Board nach OHL und Mitarbeitern wurde ursprünglich für Tupaia entwickelt (OHL et al. 1998) und für Ratten weiter modifiziert (OHL et al. 2000).

Das modifizierte Hole-Board ist ein Brett, mit 15 Löchern, auf denen sich Deckel befinden, die von den Tieren geöffnet werden können. Täglich werden drei verschiedene Löcher mit einem hellen Klebestreifen markiert. Lediglich in den markierten Löchern befindet sich eine Futterbelohnung. Es wird die Zeit gemessen, bis alle Futterbelohnungen gefunden und gefressen werden, außerdem werden Fehler, das Öffnen eines nicht markierten Lochs und Wiederholungen, das wiederholte Öffnen eines markierten Lochs, bestimmt. Ebenso wird die Zeit bestimmt, die die Ratten unbeweglich in einer Position verharren, die Zeit die sie mit Kontaktaufnahme zu anderen Tieren verbringen und die Zeitdauer bis sie das erste Loch geöffnet haben. Mit diesem Test können Explorations- und Motivationsparameter sowie Gedächtnispa-

parameter des deklarativen Gedächtnisses und des Arbeitsgedächtnisses bestimmt werden (OHL et al. 1998).

Dieser Test wurde bereits erfolgreich angewandt, um vergleichende kognitiven Fähigkeiten von Ratten nach Infektion mit E.coli-Bakterien bzw. Infektion von devitalisierten Corynebacterium parvum zu untersuchen (MICHAELIS 2002). Auch MANNIS (2001) nutzte diesen Test um zu erforschen, ob die Induktion cerebraler Stickoxidsynthesen kognitive Leistungsstörungen während einer systemischen Infektion an der Ratte verursacht.

Die genaue Beschreibung und Testvorgehensweise ist im späteren Kapitel 3.5 nachzulesen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielvorstellungen

Der Anästhesie ist es möglich sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch, im Rahmen von intensivmedizinischen und chirurgischen Maßnahmen, die mit cerebralen Durchblutungsstörungen in Verbindung stehen einzugreifen (WERNER 1993).

In der vorliegenden Arbeit werden mit Hilfe des modifizierten Hole-Board-Tests nach OHL (OHL et al. 1998) der Einfluss des volatilen Anästhetikums Sevofluran nach einer einseitigen Hemisphärenischämie mit Reperfusion bei der Ratte die neurokognitiven Fähigkeiten und den neuronalen Zelluntergang untersucht.

Zum Vergleich dient eine Kontrollgruppe mit Fentanyl/Lachgas anästhesierten Tieren.

Bereits andere Studien mit Anästhetika wie z.B. Isofluran, Desfluran, Propofol (HOFFMANN et al. 1991, KOCHS et al. 1992) weisen auf eine Verringerung des neurologischen Defizits gegenüber Kontrollgruppen hin.

Nun soll geprüft werden, ob auch Sevofluran einen schützenden Einfluss auf das Gehirngewebe während einer cerebralen Ischämie im Hinblick auf das neurokognitive Defizit ausübt. Die mögliche neuroprotektive Wirkung soll dabei im Sinne einer Eindämmung der Ischämie bedingten Beeinträchtigungen in vivo und in vitro (Histologie) ermittelt werden.

Mit diesen Untersuchungen sollen bereits bestehende Studien über die protektive Wirkung von Anästhetika ergänzt werden.

Neben den neurokognitiven Defiziten sind auch neurologische Ausfälle mögliche Folgen einer cerebralen Ischämie. Aus diesem Grund wird in dieser Arbeit neben der Kognition auch das Ausmaß des neurologischen Defizits untersucht. Hierzu werden motorische Tests durchgeführt, bei denen v.a. auf Veränderungen im Verhalten, die motorische Aktivität, den Muskeltonus und das Gleichgewichtssinn geachtet wird. Zur Standardisierung der Ergebnisse wird ein neurologisches Punktebewertungssystem verwendet.

Das übergeordnete Ziel der vorliegenden Arbeit ist es dazu beizutragen, die pathophysiologischen Grundlagen im Zusammenhang mit neurokognitiven Defiziten zu verstehen und so mögliche Therapieansätze zu finden.

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

3.2 Untersuchungsgut und Methoden

3.2.1 Versuchstiere

Es werden 34 männliche Sprague Dawley Ratten (Stamm: CD, Charles River, Sulzfeld) mit einem Ausgangsgewicht von ca. 50 g (Absetzer, 21 Tage alt) beim Einsetzen in den Tierstall verwendet. Die Tiere werden 46 Tage vor Versuchsbeginn zum Eingewöhnen in unten beschriebenen Raum verbracht.

3.2.2 Haltungsbedingungen

3.2.2.1 Rattenraum

Die Tiere werden in einem klimatisierten Raum gehalten, dessen Temperatur 19 bis 24°C bei konstantem Luftwechsel (Abluft: 227 m³/h, Zuluft: 262 m³/h) beträgt. Die Luftfeuchtigkeit liegt bei 50 bis 60%. Das Licht wird über eine 12 Stunden-Hell-Dunkel-Zeitautomatik gesteuert. Von 00:00 Uhr bis 12:00 Uhr beträgt die Lichtintensität durchschnittlich in Abhängigkeit von der Position des Käfigs 50 bis 100 Lux.

Zeitgleich mit dem Hell-Dunkel-Rhythmus werden die Tiere mit Radiomusik (Panasonic, GX 500) in der hellen Phase beschallt, um sie gegenüber externen Störungen etwas unempfindlicher zu machen.

3.2.2.2 Futter und Einstreu

Die Tiere bekommen Futter (ALTROMIN-Haltung 1324, Altromin GmbH, Lage) und Leitungswasser aus einer Nippeltränke ad libitum.

Als Einstreu für den Käfig wird entstaubtes und entkeimtes Weichholzgranulat (Altromin GmbH, Lage) verwendet.

3.2.2.3 Akklimatisationskäfig

Die ersten 46 Tage verbringen die Tiere in Achtergruppen in einem Standardkäfig vom Typ III aus Makrolon (1800 cm²) in der sogenannten Akklimatisationsphase.

3.2.2.4 Versuchskäfig

Nach der Akklimatisation werden die Ratten in den eigens für den Verhaltenstest konstruierten Versuchskäfig gesetzt, in dem sie auch bis zum Versuchsende verbleiben (siehe Abb 7). Der Versuchskäfig hat die Maße von 80 cm Länge, 60 cm Breite und 50 cm Höhe und besteht aus 1 cm dicken, grauen PVC-Platten (Firma Josef Weiss Plastik GmbH, München). Mit Hil-

fe von durchsichtigen 1 cm dicken PVC-Trennwänden kann der Käfig in vier Räume unterteilt werden. Alle Trennwände sind mit Löchern versehen (2 cm Durchmesser, Löcherabstand 5 cm), wodurch der Geruchskontakt, bzw. soziale Kontakt zu den Artgenossen ermöglicht wird und somit eine möglichst stressfreie und tiergerechte Umgebung schafft. Eine Hälfte des Käfigs ist die Versuchsarena (Grundfläche 40 cm x 60 cm) in der der Verhaltenstest stattfindet. Die andere Käfighälfte wird durch zwei fest installierte Trennwände in drei gleich große (je 19 x 39 cm² Grundfläche) Tierabteile eingeteilt. Die drei Trennwände zur Versuchsarena sind herausnehmbar mit Hilfe von PVC-U-Profilschienen (13 mm x 15 mm x 1,5 mm; Länge je 50 cm; Firma Karmann und Droll, Karlsfeld). An der Querseite jedes Tierabteils befindet sich ein Loch für den Metallnippel der Trinkflasche und eine Futterraufe. Die Trinkflaschen (CLASSIC-Pet Products: DELUX HAMSTER-Drinking Bottle, Code: 0191, GB) und Futterraufen werden von außen am Käfig befestigt und das Wasser wird jeden Tag gewechselt. Die Käfige werden außerhalb der Versuchszeit mit einem rostfreien Metalldeckel abgedeckt. Das Abdeckgitter (61 cm x 81 cm) besitzt eine Quadratlochung mit einer Lochweite von 10 mm und einem dazwischenliegenden Steg von 2 mm (Moradelli, Fabrik für Lochbleche, Kirchheim). Dadurch ist auch bei abgedecktem Käfig eine ausreichende Lichtintensität gegeben.

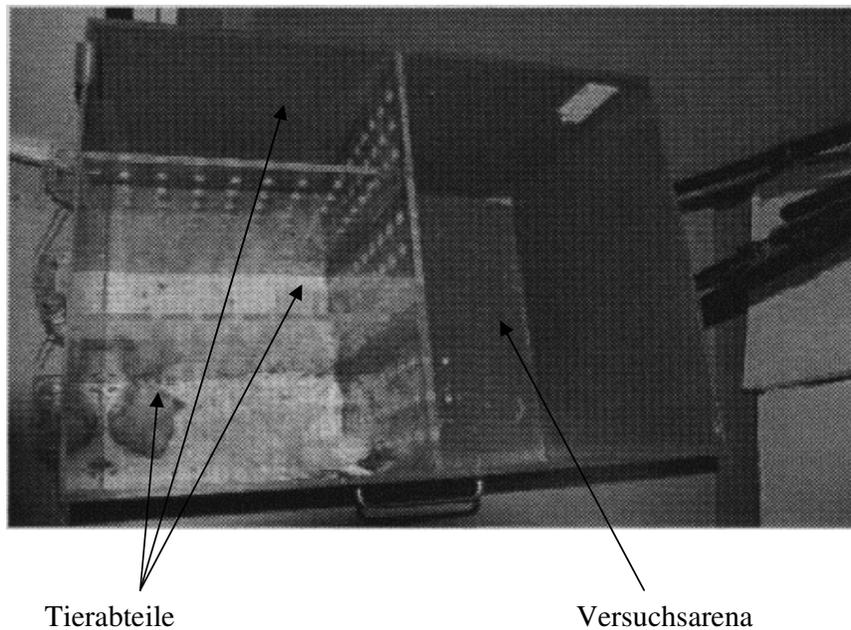


Abb 7: Versuchskäfig

3.3 Versuchsplan

Die Tiere werden randomisiert vier Versuchsgruppen zugeteilt:

- Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe:** 25 µg/kg/h Fentanyl, Beatmung: O₂/N₂O (FiO₂=0,33)
mit cerebraler Ischämie
n=10 (Rattennr.: 4, 7, 8, 11, 16, 18, 25, 26, 31, 32)
- Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe:** 25 µg/kg/h Fentanyl, Beatmung: O₂/N₂O (FiO₂=0,33)
ohne cerebrale Ischämie
n=7 (Rattennr.: 14, 17, 20, 22, 24, 34, 36)
- Sevofluran/Ischämie-Gruppe:** 2% Sevofluran in O₂/Luft-Gemisch (FiO₂=0,33)
mit cerebraler Ischämie
n=10 (Rattennr.: 1, 5, 6, 9, 10, 12, 21, 28, 29, 30)
- Sevofluran/Sham-Gruppe:** 2% Sevofluran in O₂/Luft-Gemisch (FiO₂=0,33)
ohne cerebrale Ischämie
n=7 (Rattennr.: 13, 15, 19, 23, 27, 33, 35)

Die Tiere bei denen keine Ischämie durchgeführt wird (Sham-Gruppen) sind nötig, um den Einfluss der Präparation auf die untersuchten Endpunkte zu ermitteln, so dass letztlich nur der Effekt der Anästhesie untersucht werden kann.

Der Versuch gliedert sich in einen präoperativen, einen operativen und einen postoperativen Abschnitt.

In der präoperativen Phase werden die Tiere 13 Tage lang im modifizierten Hole-Board-Test trainiert. Hierbei lernen sie eine Futterbelohnung aus jeweils drei markierten von den insgesamt 15 Löchern des Hole-Boards herauszuholen.

Am Tag 0 werden die Tiere randomisiert nach einer der oben genannten Gruppen operiert, dabei wird bei den zu operierenden Tieren eine einseitige cerebrale Hemisphärenischämie mit Reperfusion durchgeführt.

Die Ratten werden einen Tag vor der Operation nüchtern gesetzt, um einen hyperglykämischen Zustand während der Operation zu vermeiden. Wasser wird ihnen aber ad libitum zur Verfügung gestellt.

Die operative Phase erfolgt in 6 Abschnitten (siehe Kapitel 3.4), in denen verschiedene operative und anästhetische Schritte durchgeführt werden.

Während der gesamten Zeit der operativen Phase werden verschiedene Parameter zu definierten Zeitpunkten gemessen: als Ausgangswert vor Beginn der cerebralen Ischämie, während der cerebralen Ischämie, am Ende der Reperfusion und 45 min nach Beginn der Erholungs-

phase. Diese Messungen schließen die Atemgasparameter wie die endexpiratorische Gas-konzentrationen von CO₂, O₂, N₂O und Isofluran bzw. Sevofluran, die Atemfrequenz, den Blutdruck, die Blutglucose und die Blutgase, wie PaO₂ (arterieller Sauerstoffpartialdruck), PaCO₂ (arterieller Kohlendioxidpartialdruck), BE (Basenabweichung), Blut-pH-Wert und Standardbicarbonat mit ein. Außerdem werden ständig die pericranielle und rektale Temperatur ermittelt und dokumentiert. Die pericranielle Temperatur, die Blutgaswerte und der pH-Wert werden dabei konstant gehalten.

Postoperativ, nach Aufwachen aus der Narkose und einer adäquaten Beobachtungszeit werden die Tiere wieder in Rattenraum zurück gebracht und die folgenden 10 Tage dem modifizierten Hole-Board-Test unterzogen. Der Test bietet die Möglichkeit, die kognitiven Fähigkeiten vor dem Eingriff mit denen danach zu vergleichen.

Außerdem werden parallel dazu neurologische Verhaltenstests durchgeführt (siehe Kapitel 3.5.4.5.2).

Am 11. Tag nach der Operation werden die Tiere euthanasiert und das Gehirn unmittelbar post mortem entnommen, makroskopisch untersucht, geschnitten, gefärbt, und histologisch bewertet.

3.4 Operationsübersicht

Es gehen gesunde, nüchterne, männliche Sprague-Dawley Ratten (330 ± 40 g KGW) in den Versuch ein. Durchgeführt wird eine einseitige Hemisphärenischämie mit Reperfusion.

Präparation (1,5 h)

Zunächst erfolgt die Anästhesie der Tiere mit Halothan in einem Standzylinder. Die Tiere werden endotracheal intubiert und anschließend die Narkose mit 2Vol% Isofluran in 33% Sauerstoff und 66% Lachgas aufrechterhalten. Die periphere Temperaturmessung erfolgt durch eine in den Enddarm eingeführte Temperatursonde. Die pericranielle Temperaturmessung wird mit einer schädelnah in den rechten M. temporalis eingestochenen ca. 0,3 mm dicken und 1,5 cm langen Temperatursonde gemessen. Die pericranielle Temperatur liegt bei 37,5°C und wird mit Hilfe einer rückgekoppelten Wärmelampe konstant gehalten. Die A. coccygea wird freipräpariert, katheterisiert und zur arteriellen Blutprobenentnahme und kontinuierlichen Blutdruckmessung genutzt. Die rechte V. femoralis wird katheterisiert, um während der ischämischen Phase den Blutentzug zum Zwecke der Hypotension durchzuführen und die Reinfusion des venösen Blutes zu ermöglichen.

Die doppelte Katheterisierung der V. jugularis wird zur Medikamentenapplikation genutzt, wobei ein Katheter für die Gabe von Fentanyl (0,025 mg/kg/h) und der andere Katheter für die Infusion von Natriumbicarbonat und des Muskelrelaxans Rocuronium (0,1 mg/kg/min) (Esmeron[®], Fa. Organon, Oss, Niederlande) dient. Das Muskelrelaxans ist notwendig, da ein konstanter PaCO₂ erreicht werden soll und dies nur über die kontrollierte künstliche Beatmung ohne Spontanatmung erfolgen kann. Ein weiterer Grund für den Einsatz von Rocuronium ist, den bei der Verwendung von Fentanyl und N₂O/O₂ zu erwartenden Rigor zu verhindern.

Die freipräparierte rechte A. carotis communis wird mit einem schmalen Plastikband lose umschlungen, um später das Gefäß zum Clippen hervorziehen zu können.

Zur Ableitung des Elektrokardiogramms werden zwei Nadelelektroden am ventralen Brustkorb subcutan platziert. Durch Auszählen des Elektrokardiogramms wird zusätzlich die Herzfrequenz ermittelt (physiologisch ca. 250-400/min).

Sobald das Tier im stereotaktischen Rahmen fixiert ist, werden Laser-Doppler-Sonden über der rechten und linken Hemisphäre auf dem mit Hilfe eines Bohrers ausgedünnten Schädeldach befestigt. Diese Sonden messen den kortikalen cerebralen Blutfluss.

Nach Beendigung der Präparationsphase wird die Isofluranbeatmung und Lachgaszufuhr gestoppt, und durch die der Gruppe jeweilig zugehörigen Anästhesie ersetzt (siehe unten). Zusätzlich wird Rocuronium verabreicht.

Gruppe 1 und 2: Fentanyl (0,025 mg/kg i.v.) als initialer Bolus anschließend

als Dauerinfusion (0,01 mg/kg/h i.v.) über eine Infusionspumpe und N₂O in O₂ (FiO₂=0,33)

Gruppe 3 und 4: 2 Vol% Sevofluran in O₂/Luft-Gemisch (FiO₂=0,33)

Äquilibration (52 min)

Die Äquilibrationsphase dient nach der initialen Reaktion des Körpers auf die Umstellung der Narkose zur Stabilisierung des Kreislaufs (steady state).

Blutentzug bzw. Hypoperfusion (8 min)

In dieser Phase entnimmt man langsam und konstant während 8 min die Menge Blut aus der rechten V. femoralis, die nötig ist, um einen mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) von 40 mmHg zu erreichen. Wenn der MAP nach 8 min auf 40 mmHg gesunken ist, wird zusätzlich die A. carotis communis mit einem Clip verschlossen. Außerdem wird das Muskelrelaxans durch Natriumbicarbonat 8,4%, zuerst prophylaktisch (1,4 ml/h) und im Weiteren orientiert

an den Blutgasanalysen (ph/Blutgasanalyser 1306; Fa. Instrumentation Laboratory, 20128 Mailand, Italien) zur Verhinderung einer Acidose und zur Konstanthaltung eines physiologischen arteriellen pH-Wertes ersetzt.

Ischämie (45 min)

Sobald der MAP bei 40 mmHg konstant ist und der Clip die A. carotis communis verschließt, beginnt die Ischämiephase, wobei der MAP durch Entnahme oder Zugabe von venösem Blut durch den Katheter in der V. femoralis auf 40 mmHg gehalten wird.

Reinfusion und Reperfusion (15 min)

Nach der Ischämiephase wird der Clip auf der A. carotis communis entfernt und das Plastikband herausgezogen. Das entzogene Blut wird gleichmäßig innerhalb von 15 min reinfundiert und damit das Gehirn vollständig reperfundiert. Die Gabe des Natriumbicarbonats wird durch Esmeron ersetzt.

Erholungsphase (45 min)

Die Erholungsphase dauert 45 min. An ihrem Ende werden die Katheder entfernt und die Wunden lokal mit Bupivacain 0,5% (Bucain[®] 0,5%) als Lokalanästhetikum infiltriert.

Bei den Sham operierten Tieren entfällt der Punkt 3 und 4.

Nachdem die Tiere wieder spontan atmen und die Reflexe vollständig vorhanden sind, werden sie extubiert und atmen weitere 30 min mit O₂ angereicherte Luft ein. Danach werden sie wieder in den Hole-Board-Käfig gesetzt.

Ende der operativen Phase und Beginn der postoperativen Testphase.

Untersuchungsphase im modifizierten Hole-Bord-Test

Dauer: täglich, insgesamt 10 Tage lang

Euthanasie, Entnahme des Gehirns und histologische Untersuchung

siehe auch Kapitel 3.6

3.5 Versuchsablauf

3.5.1 Versuchsvorbereitung

3.5.1.1 Der nach OHL modifizierte Hole-Board-Test

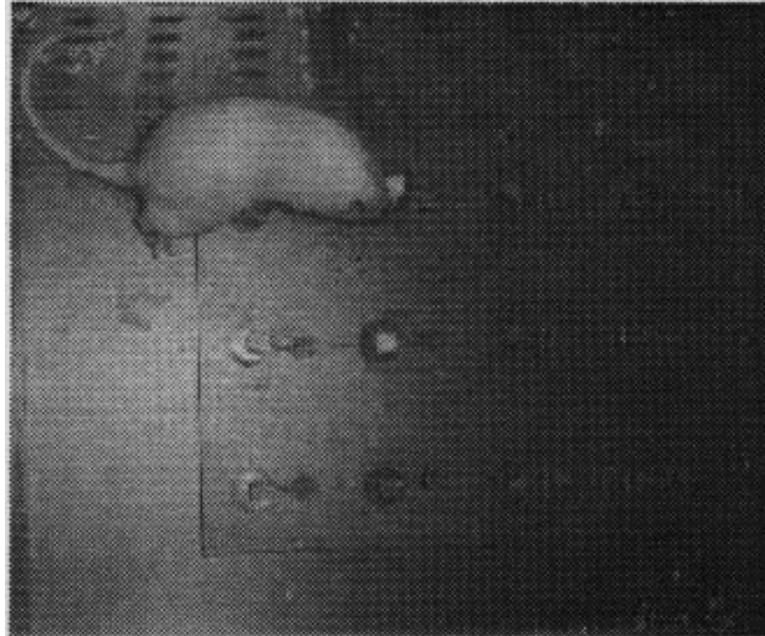


Abb 8: Ratte beim Öffnen eines Lochs beim Hole-Board-Test

Das für Ratten modifizierte Hole-Board ist ein $25 \times 40 \text{ cm}^2$ großes, 1 cm dickes PVC-Brett, in das 15 Löcher mit einem Durchmesser von 2 cm eingelassen sind (Tiefe 0,7 cm). Jedes Loch des modifizierten Hole-Boards ist entsprechend seiner Lage mit einer Nummer 1 bis 15 kodiert. Die Löcher werden von runden PVC-Scheiben mit einem Durchmesser von 2,5 cm und einer Stärke von 2 mm bedeckt. Die Scheiben sind mit je einer kleinen Schraube auf dem Hole-Board so angebracht, dass sie, sich um die Schraube drehend, das darunter liegende Loch freigeben können (siehe Abb 10). Auf jeder Platte ist im Zentrum ein PVC-Würfel mit der Kantenlänge 1 cm aufgeklebt. In der der Schraube zugewandten Seitenfläche befindet sich ein 0,3 cm tiefes Loch mit einem Durchmesser von 0,5 cm. Fünfzehn solche Würfel sind direkt auf dem Board befestigt. Sie befinden sich in 2 cm Abstand zu den Schraubenlöchern der Platten und haben ebenfalls eine Bohrung in der Wand, die der Schraube zugewandt ist. In die Löcher der Würfel werden unter leichter Kompression 2,5 cm lange Metallfedern (11 Windungen, Außendurchmesser 4,5 mm, Innendurchmesser 4,0 mm und Drahtdicke 0,3 mm; Fa. Münchner Federnzentrale) gesteckt, so dass je ein Deckelplattenwürfel mit einem Würfel auf

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

dem Hole-Board verbunden ist. Dies bewirkt, dass sich das Loch automatisch durch die Rückstellkraft der Feder schließt, so dass sie in ihrer Ausgangslage verbleiben oder in diese zurückkehren, wenn die Tiere den Deckel mit der Schnauze oder der Pfote aktiv bewegt haben. Drei dieser Deckel sind mit Leukoplast (Klebeband) als weiße Farbmakierung beklebt. Unter diesen drei Deckeln befindet sich die Futterbelohnung in Form eines in Johannisbeeraromalösung getunkten Puffreiskornes. Die Markierungen der Deckel werden nach dem Zufallsprinzip ausgewählt und wechseln täglich.

Folgende Abbildungen zeigen das modifizierte Hole-Board schematisch und im Detail.

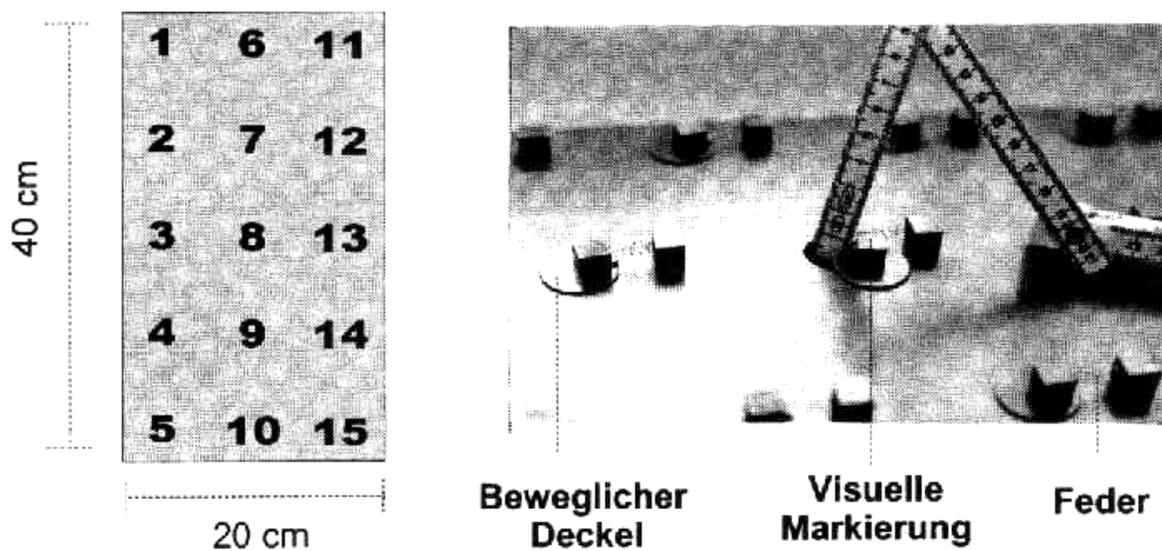


Abb 9: Das modifizierte Hole-Board, verändert nach OHL et al. (1998).

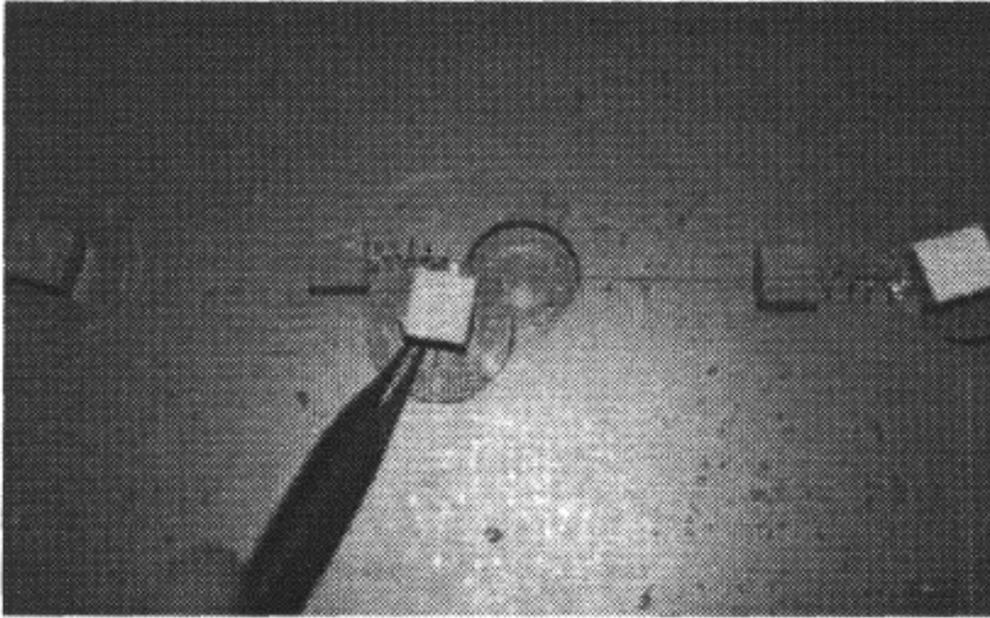


Abb 10: Das Hole-Board mit geöffnetem Loch

3.5.1.2 Futterbelohnung

Zur Belohnung für das richtige Öffnen der markierten Löcher erhalten die Tiere in Johannisbeeraromalösung getauchten Puffreis:

Johannisbeeraroma nat., sprühgetrocknet 0,1 g /50 ml Leitungswasser: Micro-Plus®; Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf,

Puffreis: Knusperpuffreis®; Frigo-Werk, Remshalden

3.5.1.3 Eingesetzte Geräte

- Digital-Camcorder-Videokamera (Model Nr: GR-DV 1800, Sony Cooperation, Japan) mit Stativ um den Verhaltenstest automatisch aufzuzeichnen;
- Mehrere Mini DV-Kassetten, TDK 60 zur ununterbrochenen Aufnahme des Tierverhaltens;
- Computer: Bildschirm von SAMSUNG, syncMaster 151BM;
- Rechner: Vectra zum Erstellen des Versuchsprotokolls;
- Digitalwaage (Fa. Kern, Balingen-Frommern) max 2000 g, d= 0,1 g zur Überprüfung des Tiergewichtes und zur Futter-und Trinkmengenfeststellung;
- Metallgitter (57 cm x 49 cm, Lochabstand 1 cm, Steg 1 mm) zur Durchführung des Drahtgittertests;

- Ein mit Teppich überzogenes rechtwinkeliges Holzgestell zur Durchführung des Greif-Zug-Tests;
- Eine spezielle lautlose, weiche Computertastatur: Foldable Keyboard; 5,0 VDC-30 mA;. Sie sichert eine für die Ratten störungsfreie kontinuierliche Aufnahme der Daten (Modellnr: Fold-2000, made in Taiwan);
- weißes Pflasterstreifen (Leukoplast® hospital 1 cm breit, Beiersdorf S.A., E-08310 Argenta, Spanien) zum Markieren der drei mit Futter bestückten Löcher im Hole-Board;
- Mulltupfer (10 x10 cm, haselnussgroß, lotusform, Karl Beese GmbH und Co., D-22885 Barsbüttel) zum Aufsaugen verbleibender Johannisbeeraromalösung in den Löchern, bzw. auch zum Aufsaugen der Urinverschmutzungen des Boards durch die Ratten;

3.5.2 Eingewöhnung der Tiere

Nach der Anlieferung der frisch abgesetzten Ratten werden die Tiere für 26 Tage in Achtergruppen in Makrolon Typ III Käfigen im Rattenraum gehalten. Sie gewöhnen sich in dieser Zeit an die Haltungsbedingungen. Eine Woche vor Beginn der Testphase wird die Tiergruppe (n=8 Tiere) gemeinsam in dem Versuchskäfig im Rattenraum verbracht. Während dieser Zeit befinden sich zwischen den Tierabteilen und der Versuchsarena keine Trennwände, und der gesamte Käfig ist etwa 3 cm tief mit Weichholzgranulat eingestreut. Die Tiere erhalten täglich ein paar Körner Puffreis, der zuvor in Johannisbeeraromalösung getaucht wird, um sie an die Futterstücke zu gewöhnen. Zwei Tage vor Versuchsbeginn wird das Hole-Board ohne Rückstellfedern und Leukoplastmarkierungen in die Versuchsarena gelegt. In allen Löchern befinden sich in Johannisbeeraromalösung getauchter Puffreis. Die Tiere erhalten so die Gelegenheit, das Hole-Board über Nacht zu explorieren und zu markieren. Das Hole-Board verliert dadurch den Charakter eines Fremdgegenstandes. Aus diesem Grund und um ein ständig wiederholendes Explorations- und Markierungsverhalten zu verhindern, belässt man Markierungen der Tiere, wie z.B. Urin, sofern sie nicht die Deckel betreffen, auf dem modifizierten Hole-Board. Dieser Tag wird als Gewöhnungsphase bezeichnet.

3.5.3 Auswahlverfahren der Tiere

Das Auswahlverfahren findet einen Tag vor Versuchsbeginn statt.

Ziel an diesem Tag ist es, von den acht Tieren sechs für den Versuch geeignete auszuwählen und sie mit dem Hole-Board vertraut zu machen. Das am Abend zuvor in die Versuchsarena

gelegte Hole-Board wird herausgenommen und die sich in der Versuchsarena befindende Einstreu entfernt. Es werden die Zwischenwände eingezogen und die Tiere auf die drei so entstandenen Käfige verteilt. Das Hole-Board-Brett ist während des Auswahlverfahrens federlos.

Alle Löcher sind weit geöffnet, jedes Loch wird mit einem in die Johannisbeeraromalösung getauchten und auf einem Papier abgetropften Puffreiskorn befüllt. Zwei Ratten werden gleichzeitig in das Versuchsfeld gesetzt und beobachtet. Die Ratte, die zuerst drei Puffreiskörner gefressen hat, wird als geeignet markiert und in eines der Tierabteile gesetzt. Sogleich wird eine neue Ratte zu dem in der Testarena verbleibenden Tier gesetzt und wiederum beobachtet, welche Ratte zuerst drei Futterbelohnungen gefressen hat. Die zwei am wenigsten für den Hole-Board-Test geeigneten Tiere werden ermittelt und von der Gruppe separiert. Übermäßige Ängstlichkeit, Hyperaktivität oder Desinteresse am Puffreis sind wichtige Ausschlusskriterien. Zudem soll auch das Gewicht innerhalb der Gruppe möglichst homogen sein. Die verbleibenden Tiere werden für die restliche Zeit des Versuches in Zweiergruppen in je einem Käfigabteil gehalten.

3.5.4 Versuchsdurchführung

3.5.4.1 Täglicher Ablauf nach Gewöhnungsphase und Auswahlverfahren

Der Versuch beginnt täglich um 7.30 Uhr. Der Untersucher trägt stets institutsübliche, grüne OP-Kleidung, um eine eventuelle Beeinflussung der Tiere durch Kleidungsstücke zu verhindern. Der Käfig wird in die Beobachtungsposition geschoben und die Abdeckung entfernt, die Videokamera und der Computer werden betriebsbereit gemacht. Puffreis, Johannisbeeraromalösung und eine anatomische Pinzette sind bereitgelegt. Ab Tag -3, d.h. 3 Tage vor der Operation werden die Tiere gewogen und der Wasser- und Futterverbrauch ermittelt und notiert. Alle Parameter übernimmt man in ein Laborbuch, um sie später in den Computer einzutragen. Anschließend wird das Hole-Board aus der Arena genommen und mit einem Handfeger von Einstreuresten befreit. Die Versuchsarena wird ebenfalls mit Handfeger und Schaufel ausgefegt. Die drei für den entsprechenden Tag vorgesehenen Löcher des Hole-Boards (siehe Tab. 2 und Tab. 3) sind mit weißem Leukoplast markiert. Alle Löcher des Boards werden mit einem in Johannisbeeraromalösung getauchten Puffreiskorn ausgewischt. Nach jeweils drei Löchern wird der Puffreis erneut in die Lösung getaucht. Anschließend saugt man die noch in den Löchern verbleibenden Tropfen der Lösung mit einem Mulltupfer auf. Ziel des Auswischens der Löcher ist es, allen Löchern einen einheitlichen Geruch zu geben, damit die Ratten

olfaktorisch wenig beeinflusst werden und nicht aufgrund des vorliegenden Geruchs ihre Löcherwahl treffen.

Das Hole-Board steht in der Mitte der Testarena, wobei die nicht beweglichen Würfel zu der dem Beobachter abgewandten kurzen Seite zeigen. Drei Puffreisstücke werden in die Johannisbeeraromalösung getaucht und zum Abtropfen kurz auf ein Papiertuch gelegt. Die drei markierten Löcher des Hole-Boards werden mit Hilfe der Pinzette mit der Futterbelohnung bestückt. Das Hole-Board bleibt dabei in der Versuchsarena liegen und wird zur Vermeidung von Geruchsbeeinträchtigungen nicht angefasst.

Die Nummer der Ratte sowie die Nummer des Durchlaufs und die Lochkombination gibt man in den Computer ein. Der Untersucher drückt den Aufnahmeknopf der Kamera und holt die entsprechende Ratte ruhig, aber zügig aus dem Käfig, indem er das Tier an der Schwanzwurzel anhebt und in die linke vordere Ecke der Versuchsarena setzt. Während des Versuchs sitzt der Beobachter auf einem Hocker neben dem Käfig und kann die ganze Versuchsarena gut überblicken. Seine rechte Hand ruht währenddessen auf der Computertastatur, damit durch den entsprechenden Tastendruck das jeweilige dazugehörige codierte Verhalten der Ratte sofort protokolliert werden kann. Wenn die Ratte alle drei Futterbelohnungen gefressen hat oder wenn 10 min seit dem Einsetzen in die Arena vergangen sind, wird das Tier zurück in den Käfig gesetzt.

Der Untersucher gibt die Daten der Ratte in den Computer ein. Jede Ratte absolviert pro Tag vier Durchläufe. Innerhalb der vier Durchläufe eines Tages wechselt die Reihenfolge der sechs Tiere nicht. So ist zwischen den Durchläufen der Tiere eine in etwa gleich lange Ruhepause gewährleistet. Die Reihenfolge der Tiere wird allerdings täglich randomisiert verändert. Die Tiere fangen mit der eigentlichen Lernphase versetzt an, da nur eine Operation am Tag möglich ist. Dabei ist zu beachten, dass jedes Tier am gleichen Versuchstag die für diesen Tag vorgesehene gleiche Lochkombination erhält.

Sofern am Tag zwei Käfige beobachtet werden, beginnt der Untersucher mit dem zweiten Käfig ca. um 11.00 Uhr im Anschluss an den ersten Käfig. Da auch versucht werden sollte, jedes Tier an bestimmten Tagen des Versuchs zu einem ungefähr gleichen Zeitpunkt zu testen, müssen bei der Beobachtung von zwei Käfigen die Zeiten der Testphase gewechselt werden, wobei der Käfig immer zuerst getestet wird, welcher Tiere für eine Operation am selbigen Tag enthält.

3.5.4.2 Lernphase

1.Tag

Da die Ratten um jeweils einen Tag versetzt mit dem Versuch beginnen, wird an diesem Tag nur mit dem ersten Tier gearbeitet. Das zweite Tier absolviert den ersten Tag der Lernphase erst an dem darauffolgenden Tag und so weiter. Daraus ergibt sich die logische Konsequenz, dass jeden Tag zwischen den einzelnen Durchläufen der verschiedenen Tiere jeweils die Lochmarkierungen geändert werden müssen.

Der 1. Tag der Lernphase ist der einzige Tag während der gesamten Versuchszeit, in der nur drei Durchläufe von den Tieren verlangt werden, an allen anderen Tagen werden pro Tier vier Durchläufe getestet.

Während aller drei Durchläufe des ersten Tages sind noch keine Rückstellfedern eingespannt.

- **1. Durchlauf:**

Das Tier wird einzeln in die Versuchsarena gesetzt. Vorher werden alle Löcher wieder mit in Johannisbeeraromalösung getauchtem Puffreis bestückt. Die Löcher des Hole-Boards sind halb geöffnet. Das Tier darf 3 Körner fressen und wird dann wieder in sein Heimatabteil zurückgesetzt.

- **2. Durchlauf:**

Ein großer Teil der Löcher ist geschlossen, einige sind halb geöffnet und lediglich zwei bis vier der nicht mit Puffreis bestückten Löcher sind weit geöffnet. Die Ratte frisst drei Puffreiskörner, bevor sie aus der Arena genommen wird.

- **3. Durchlauf:**

Alle mit Belohnung versehenen Löcher sind geschlossen. Lediglich vier bis sechs leere Löcher sind weit geöffnet.

Da die Tiere mit der Futterbelohnung und dem modifizierten Hole-Board bereits vertraut sind, erfolgt die erste Aufnahme von Puffreis und das Explorieren des modifizierten Hole-Boards meist sehr rasch.

Da an diesem Tag zu Beginn des gesamten Versuchs nur das erste Tier angelernt wird, wären die Zeitabstände zwischen den jeweiligen Durchläufen zu gering. Die Tiere würden sehr schnell an Konzentration verlieren und ermüden. Deshalb ist eine Erholungspause für die Tiere nötig. Man wartet zwischen den einzelnen Durchläufen ca. 10 bis 15 min bevor man fortfährt. Nach ein paar Tagen werden diese Pausenzeiten durch das Antrainieren weiterer Ratten ausgefüllt.

2. Tag

Am zweiten Tag werden die Löcher 2, 5, 8 mit einem hellen Pflasterstreifen (Leukoplast ® hospital 1 cm breit, Beiersdorf S.A., E-08310 Argentona, Spanien) beklebt und mit Futterbelohnungen bestückt. Die ersten beiden Durchläufe finden ohne Federn statt. Für den 3. und 4. Durchlauf werden die Federn zwischen die Würfel gespannt. Das Tier lernt nun, gegen geringen Widerstand die Löcher mit der Pfote oder der Schnauze zu öffnen. Der Untersucher protokolliert das Verhalten des Tieres durch direkte Eingabe in den Computer. Sobald die Ratte alle Futterbelohnungen gefressen hat, wird sie aus der Versuchsarena genommen. Falls eine Ratte nach 10 min noch kein Loch geöffnet hat, wird sie dennoch aus der Arena genommen.

3. Tag

Das Hole-Board-Brett ist von diesem Abend an bis zum Versuchsende immer mit Rückstellfedern bestückt. Es wird die Lochkombination 2, 5, 8 wie am Vortag verwendet.

4. Tag

Ab diesem Tag wechselt die Lochkombination täglich (siehe Tab 2), dadurch sollen die Ratten lernen, die weißen Farbmarkierung mit einer Futterbelohnung zu verbinden.

3.5.4.3 Lochkombinationen und Ende der Lernphase

Die Lochkombinationen der Lernphase sind nachfolgender Tab 2 zu entnehmen:

Tab 2: Randomisierte Lochkombination in der Lernphase

Tag	Lochkombination
2./3. Tag	2, 5, 8
4. Tag	4, 12, 13
5. Tag	3, 10, 12
6. Tag	1, 2, 15
7. Tag	4, 6, 9
8. Tag	9, 12, 13
9. Tag	2, 11, 14
10. Tag	3, 4, 10

Wenn der Durchschnitt des wiederholten Öffnens von markierten Löchern einer Käfiggruppe an drei aufeinander folgenden Tagen unter 0,3 Wiederholungen pro Durchlauf und Tier liegt,

kann davon ausgegangen werden, dass die Tiere den modifizierten Hole-Board-Test beherrschen und die Gruppenleistung für den restlichen Versuchszeitraum konstant bleibt. Die Anzahl der durchschnittlichen Wiederholungen in einer Versuchsgruppe ergibt sich dabei aus den gesamten Wiederholungen eines bestimmten Versuchstages, geteilt durch die Anzahl der Durchläufe (4 Durchläufe pro Tag). Die Tiere benötigen meistens zehn bis dreizehn Tage für das Erlernen des Tests, nach dieser Zeit wird mit der Versuchsphase begonnen, d.h. die Tiere werden operiert, wobei sie am Operationstag selbst nicht getestet werden, da sie nüchtern sein sollen. Sollten die Tiere während der Testtage Verhaltensauffälligkeiten zeigen, z.B. Spielen mit der Rückstellfeder, oder sich als nicht explorativ erweisen und somit die Löcher nicht öffnen, werden sie von dem Versuch ausgeschlossen, verbleiben aber in ihrem Käfigabteil, damit der Testpartner nicht alleine ist.

3.5.4.4 Versuchsphase

Tagesbezeichnung und Lochkombinationen

Tag 0 ist der Tag, an dem die Tiere ohne vorhergehende Testphase operiert werden.

Tag 1 ist der 1. Tag nach der Operation. Die Lochkombination ab Tag 1 ist nachfolgender Tab 3 zu entnehmen. Der Verhaltenstest wird bis Tag 10 fortgesetzt.

Tab 3: Randomisierte Lochkombinationen in der Versuchsphase

Tag	Lochkombination
Tag 1	10, 11, 14
Tag 2	4, 9, 13
Tag 3	2, 5, 11
Tag 4	3, 6, 13
Tag 5	3, 8, 15
Tag 6	1, 7, 10
Tag 7	6, 9, 12
Tag 8	1, 11, 13
Tag 9	1, 6, 15
Tag 10	3, 7, 9

3.5.4.5 Untersuchte Parameter

3.5.4.5.1 Allgemeinbefinden und physiologische Parameter

Ab Tag -3 bis zum Versuchsende wird neben dem Gewicht der Tiere auch die Futter- und Wasseraufnahme registriert. Zudem wird eine neurologische Untersuchung der Tiere nach

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

folgendem Muster durchgeführt und nach einem Punktesystem bewertet und protokolliert (siehe Tab 4)

Dieses Punktebewertungssystem basiert auf einem Bewertungsschema nach COMBS et al. (1987), das in modifizierter Form vielfach bei Untersuchungen des neurologischen Erscheinungsbildes verwendet wird.

3.5.4.5.2 Neurologische Untersuchung zur Bestimmung klinischer Defizite

Tab 4: Neurologisches Untersuchungsprotokoll

Datum			
Tiernummer			
Gewicht			
Kategorie	Punkte	Parameter	Bemerkung
Bewusstsein	0 normal 1 ruhelos o. gedämpft 2 lethargisch 3 erstarrt 4 Krampfanfälle		
Laufen	0 normal 1 Adduktion der Vorderpfoten 2 Hypomobilität 3 Laufen im Kreis 4 Stehufähigkeit		
Kletterverhalten	0 klettert auf die 90° Ebene 1 hängt 5 sek und zieht Beine an 2 bleibt 5 sek hängen 3 bleibt weniger als 5 sek hängen 4 kein Greifreflex vorhanden		
Drehendes Gitter	0 greift bei 180 ° über 5 sek 1 greift bei 180 ° unter 5 sek 2 greift bei 90 °, nicht bei 180° 3 fällt vom vertikalen Gitter		
Pflegeverhalten	0 vorhanden		

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

	1 nicht vorhanden		
Tod	1 Folge der cerebralen Ischämie		

Kategorie „Bewusstsein“

In der Kategorie „Bewusstsein“ werden Ruhelosigkeit, Lethargie, starre Haltung und das Auftreten von Krämpfen bewertet. Tiere mit Schmerzen krümmen häufig den Rücken auf und sind weniger interessiert an ihrer Umgebung.

Zur Durchführung dieses Tests wird der Käfig vorsichtig aus dem Käfigregal hervorgezogen. Hierbei werden die Ratten noch vor der Öffnung des Käfigs beobachtet. Anschließend öffnet man den Käfig. Die Ratte ist von Natur aus sehr neugierig und richtet sich im gesunden Zustand an der Käfigwand auf, um die Umgebung zu erkunden (Abb 11). Nachfolgend wird das Tier aus dem Käfig genommen und auf den Boden gesetzt, um die restlichen Parameter dieser Kategorie auch außerhalb des Käfigs zu bewerten.

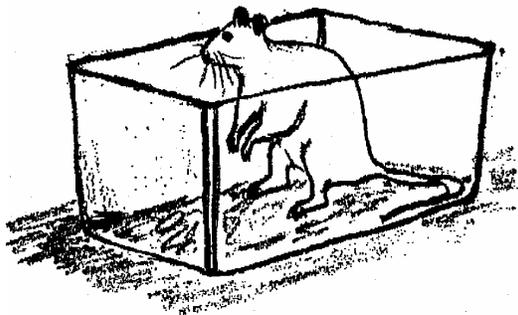


Abb 11: Erkundungsverhalten der Ratte im Käfig (SOMMER 1996)

Kategorie „Laufen“

Innerhalb dieser Kategorie werden die Adduktion der Vorderpfoten, Hypomobilität, Laufen im Kreise und Stehufähigkeit beurteilt. Beim Prüfen der Pfoten werden die Tiere vorsichtig in Höhe der Schwanzwurzel ca. 1 cm über den Boden gehalten (siehe auch 2.9.2.5.4, Hochhalten am Schwanz). Gesunde Ratten strecken die Vorderpfoten dem Boden entgegen. Tiere mit ischämischen Infarkt können ständig eine Vorderpfote auf die kontralaterale Seite der infarzierten Hemisphäre drehen. Diese Stellung kann sich von einer einfachen Adduktion der Pfote bis zu einer Position erstrecken, in der die Ratte schraubenförmig in sich verdreht ist.

Ischämische Infarkte verursachen außerdem häufig Depressionen, die die Motivation beeinflussen und sich in einer Hypomobilität äußern können. Ratten mit einem unilateralen Infarkt

sind häufig nicht mehr in der Lage geradeaus zu laufen. Solche Tiere laufen und drehen sich ipsilateral zur Läsion (MIKLYAEVA et al. 1995). Dieses Verhalten wird hier durch den Parameter „Laufen im Kreise“ bewertet.

Kategorie „Kletterverhalten“

(siehe auch 2.9.2.5.3) Die Tiere müssen sich hierbei an einer rechtwinkligen, mit Teppich überzogenen Platte über die Kante nach oben ziehen. Gesunde Ratten können ohne Probleme die Teppichplatte erklettern. Durch einen Hirninfarkt geschädigte Tiere hingegen sind häufig zu schwach und können sich oftmals nur für kurze Zeit am senkrechten Teil der Teppichwand festhalten.

Kategorie „Drehendes Gitter“

(siehe auch 2.9.2.5.2) Gesunde Ratten sind in der Lage, länger in der vertikalen (Drehen des Gitters um 90°) oder horizontalen Position (unter dem Gitter hängend) auszuharren. Ebenso drehen sich gesunde Ratten zur Orientierung so, dass am vertikal gestellten Gitter der Kopf nach oben oder nach unten zeigt. Ratten mit unilateralem Hirninfarkt zeigen dagegen häufig einen mangelhaften Orientierungssinn. Am vertikal gestellten Gitter können die Stärke der Muskelkraft und der Gleichgewichtssinn ausgezeichnet getestet werden. Die Drehung des Gitters um 180°, bei der sich die Ratten unter dem Gitter festhalten müssen, erlaubt v.a. eine Bewertung der Stärke der Muskelkraft. Die Beobachtung der Art des „Sich-fallen-lassens“ aus der hängenden Position wird zwar nicht als Parameter aufgeführt, eignet sich jedoch gut zur Beurteilung des Gleichgewichtsverhaltens und des Stellreflexes.

Kategorie „Pflegeverhalten“

Ratten sind sehr reinliche Tiere und verbringen einen Großteil ihrer Zeit mit Körperpflege. Das Putzen stellt ein wichtiges Kriterium der emotionalen Reaktivität dar und dient sowohl zur Säuberung, als auch zur Thermoregulation. Der Putzvorgang beginnt an den Pfoten und dehnt sich über das Gesicht, den Körper und den Gliedmaßen bis hin zum Schwanz aus (WHISHAW et al.1981a). Ein normaler Putzvorgang ist in Abb 12 dargestellt.

Kranke Tiere putzen sich weniger ausgiebig als gesunde Tiere, das Fell wird glanzlos und struppig, um die Augen setzt sich rotbraunes Sekret ab. Die Ursache hierfür ist das rötliche Sekret aus den Harderschen Drüsen der Ratte, die Porphyrin produzieren, welches normalerweise beim Putzakt mit dem Speichel vermischt mit den Pfoten auf das gesamte Fell übertragen wird. Wenn sich die Tiere aus Krankheitsgründen nicht putzen, bildet sich ein roter-schwarzer Ring um die Augen (WHISHAW et al 1981a). Auch die Nasenlöcher verkrusten.

Außerdem kürzen die Ratten während sie sich putzen ihre Zehennägel mit Hilfe ihrer Zähne. Wenn zu lange Krallen bemerkt werden, v. a. an den Hinterpfoten, ist dies ein weiteres Indiz für das Fehlen des Putzvorganges (WHISHAW et al 1981a).



- I) Putzen der Pfoten
- II) Putzen des Gesichtes
- III) Putzen des Gesichtes
- IV) Putzen des Körpers

Abb 12: Normaler Putzvorgang mit Zeitangabe (BERRIDGE und WISHAW 1992)

Besondere Erscheinungsmerkmale werden im Protokoll unter der Rubrik „Bemerkung“ eingetragen.

3.5.4.5.3 Hole-Board-Protokoll

Während sich das Tier in der Versuchsarena befindet, bedient die untersuchende Person durch Eingabe auf Tastatur ein Computerprogramm, das das Hole-Board-Protokoll erstellt. Das Programm basiert auf folgendem Prinzip: Während sich die Ratte in der Versuchsarena befindet, läuft eine Stoppuhr. Bestimmte Aktionen der Ratte werden durch eine Taste auf der Tastatur kodiert, die bei der folgenden Darstellung in Klammern angegeben wird. Das Programm kann so errechnen, zu welchem Zeitpunkt welche Tieraktion erfolgt. Nach 10 min wird das Programm automatisch beendet, wenn das Tier innerhalb dieser Zeit nicht alle Löcher geöffnet hat.

Das Hole-Board-Protokoll ist Tab 5 zu entnehmen.

Tab 5: Das Hole-Board-Protokoll

Zeitpunkt	Computer-tastatur	Bedeutung
Start	Druck auf Leertaste	Sobald das Tier in die Versuchsarena gesetzt wird
Betritt Board	Leertaste	Das Tier signalisiert Interesse am Hole-Board, wenn sich eine Vorderpfote und die Nase der Ratte auf oder an dem Hole-Board befinden.
Verlässt Board	Leertaste	Vorderpfoten und Nase verlassen das Hole-Board
Erstmals am Loch	Ö	Tier berührt mit der Schnauze oder den Vorderpfoten erstmals ein markiertes Loch.
Loch 1 zu	J	Tier öffnet das von der Nummerierung her niedrigste Loch der Tageslochkombination. Das Loch gilt als besucht, wenn die Ratte mit der Schnauze oder den Pfoten den Deckel des Lochs aktiv bewegt.
Loch 2 zu	K	Tier öffnet das von der Nummerierung her mittlere Loch der Tageslochkombination. Das Loch gilt als besucht, wenn die Ratte mit der Schnauze oder den Pfoten den Deckel des Lochs aktiv bewegt.
Loch 3 zu	L	Tier öffnet das von der Nummerierung her höchste Loch der Tageslochkombination. Das Loch gilt als besucht, wenn die Ratte mit der Schnauze oder den Pfoten den Deckel des Lochs aktiv bewegt.
Wiederholung Loch 1, 2, 3	Erneutes Drücken der Tasten J, K oder L	Das Tier bewegt mit den Vorderpfoten oder mit der Schnauze aktiv den Deckel eines markierten Lochs, das zuvor bereits besucht wurde. Nicht gewertet wird ein erneutes Nachschauen, ob noch Futterreste im Loch sind, sofern sich die Ratte während des Fressens nicht von dem Loch abgewandt hat.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Falsches Loch	Ä	Die Ratte bewegt mit den Vorderpfoten oder mit der Schnauze den Deckel eines nicht markierten Lochs. Wiederholte Besuche nicht markierter Löcher werden nicht als Wiederholungen gewertet, da die Ratten keine Tendenz zeigen, die jeweilige Sequenz der nicht belegten Löcher zu lernen.
Fressen beendet	H	Tier kaut nicht mehr oder widmet sich einer anderen Tätigkeit.
Männchen machen	I	Tier hebt beide Vorderpfoten hoch und stellt sich auf die Hinterbeine. Dies kann sowohl frei als auch an der Wand der Versuchsarena stattfinden.
Beginn Schnuppern an der Trennwand	U	Tier beschnuppert die Abtrennung zu einem der Tierabteile und steckt seine Nase in eines der Löcher.
Ende Schnuppern an der Trennwand	U	Tier beendet schnuppern und widmet sich einer anderen Tätigkeit.
Beginn groom	O	Tier beginnt sich zu putzen.
Ende groom	O	Tier hört auf sich zu putzen.
Bolus	P	Tier setzt Kotballen ab.
Beginn Inaktivität	Return Taste	Wenn die Ratte 3 bis 5 sek in einer Position verharrt.
Ende Inaktivität	Return Taste	Tier bewegt sich wieder.

3.5.4.6 Bestimmungsmethoden

3.5.4.6.1 Gedächtnisparameter

Fehler (WC)

Wenn ein Loch besucht wird, das nicht mit einer Markierung bzw. Futterbelohnung versehen ist, wird dieses als Fehler oder „wrong choice“ (WC) bewertet. Die Anzahl wird aus der Summe der „falschen Löcher“ des Durchlaufs berechnet.

Zusätzlich zu dieser Anzahl werden die „omission error“ (siehe unten) je Durchlauf dazu addiert, so dass man den Totalwert von WC erhält.

Wiederholung (RC)

Der Besuch eines markierten bzw. belegten Loches, das im selben Versuchsdurchlauf schon einmal besucht wurde, wird als Wiederholung oder „repeated choice“ (RC) gewertet. Da die Ratten keine Tendenz zeigen, die jeweilige Sequenz der nicht markierten Löcher zu lernen, werden wiederholte Besuche nicht markierter Löcher nicht als Wiederholungen, sondern als Fehler bewertet.

Omission error (OE)

Beschreibt die Anzahl der nicht besuchten markierten Löcher. Sie errechnet sich aus der Differenz zwischen Number of hole visits (siehe Kapitel 3.5.4.6.2) und der Summe von WC und RC.

3.5.4.6.2 Explorations-und Motivationsparameter

Die Explorations-und Motivationsparameter dienen als Indikator für lokomotorische Aktivität, die Motivation und den Aufmerksamkeitszustand.

Time complete (TC) in [s]

Die Gesamtzeit eines Durchlaufs ergibt sich aus der gemessenen Zeitspanne vom Einsetzen in die Versuchsarena bis zum „fressen beendet“ des letzten besuchten Loches. Für die TC besteht, unabhängig von der Anzahl der besuchten markierten Löcher, ein Zeitlimit von zehn min, welches von einigen Tieren gelegentlich während der Lernphase in Anspruch genommen wird.

Time on board (TOB) in [s]

Die TOB ist die Zeit, die die Ratte damit verbringt, das modifizierte Hole-Board zu erkunden. Sie errechnet sich aus der Summe der Intervalle „betritt board“ bis „verlässt board“ abzüglich der Intervalle „loch zu“ bis „fressen beendet“ bzw. „verlässt board“.

Number of board entries (NBE)

NBE gibt an, wie oft innerhalb eines Durchlaufs ein Tier das modifizierte Hole-Board betreten hat und errechnet sich aus der Anzahl der „betritt board“ eines Durchlaufs.

Number of hole visits (NHV)

Gesamtsumme der besuchten Löcher inklusive Fehler und Wiederholungen. Sie errechnet sich aus der Summe von „loch 1 auf“, „loch 2 auf“, „loch 3 auf“, Fehlern und Wiederholungen.

Time on board per number of hole visits (TOB/NHV)

Der Quotient aus TOB und NHV ermöglicht, die Motorik der Tiere trotz möglicher kognitiver Funktionsstörungen zu beurteilen.

3.5.4.6.3 Angstbezogene Parameter

Für die erfolgreiche Durchführung des modifizierten Hole-Board-Tests ist es wichtig, dass die Tiere die Versuchsarena angstfrei betreten. (Man hat beobachtet, dass emotionale Tiere in einer Open-Field-Anordnung angebotene Nahrung verweigern und eine quantitativ höhere Kot- und Urinabsatzrate zeigen, als weniger emotionale Tiere. Emotionale Tiere bleiben seltener zum Putzen sitzen als weniger emotionale Tiere (HALL 1934, DOYLE und YULE 1959).

Latency first entry on board (LFEB) in [s]

Zeitspanne bis zum ersten Betreten des modifizierten Hole-Boards. Sie errechnet sich aus der Differenz von „betritt board“ und „start“. Dieser Wert beschreibt die Motivation der Tiere.

Latency first correct hole visit (LFCHV) in [s]

Zeitspanne bis zum Auffinden des ersten mit Futter belegten Loches. Sie ergibt sich aus dem Parameter „erstmal am loch“.

Latency food intake (LFI) in [s]

Zeitspanne bis zur ersten Futteraufnahme. Dauer von „start“ bis zum ersten mal „loch zu“.

Number of group contacts (NGC)

Häufigkeit der Kontaktaufnahme zu den anderen Ratten durch die Trennwände. Summe der „schnuppert Trennwand“.

Group contact [s]

Gesamtzeit der Kontaktaufnahme während eines Durchlaufs.

Grooming (s)

Während des Verhaltenstests putzen sich die Ratten gelegentlich. Die Anzahl der „begin groom“ gibt die Häufigkeit des Putzens an. Die Zeitdauer errechnet sich aus der Summe der Intervalle „begin groom“ bis „end groom“ eines Durchlaufs.

Grooming

Beschreibt die Anzahl der Putzvorgänge pro Umlauf.

Rearing

Hierunter versteht man das Aufrichten des Tieres auf die Hinterpfoten, es kann an den Käfigwänden oder frei in der Mitte der Versuchsarena erfolgen. Summe aller „männchen machen“ innerhalb eines Durchlaufs.

Boli

Summe der abgesetzten Kotballen eines Durchlaufs.

3.5.4.6.4 Parameter, die sich auf das Allgemeinbefinden beziehen

Time immobile , IMB in [s]

Summe der Intervalle „beginn inaktivität“ bis „ende inaktivität“.

Food intake in [s]

Zeit, die das Tier während eines Durchlaufs mit der Futteraufnahme beschäftigt ist. Sie ergibt sich aus der Summe der Intervalle „loch zu“ bis „fressen beendet“.

Trinkmenge

Ab Tag drei vor der Operation wird bis Ende des Versuchs für jedes Tier die Trinkmenge pro Tag ermittelt.

Fressmenge

Ab Tag drei vor der Operation wird bis Ende des Versuchs für jedes Tier die Fressmenge pro Tag ermittelt.

Außerdem enthält das Computerprogramm eine Spalte mit dem Titel „comment“. Störungen innerhalb des Versuches, oder anderweitige außergewöhnliche Vorkommnisse, die den Versuch betreffen, werden hier vermerkt.

3.6 Histologische Untersuchung

3.6.1 Resektion und Verarbeitung des Gehirngewebes

3.6.1.1 Dekapitierung, Entnahme und Einfrieren des Gehirns

Das Tier wird in tiefer Narkose durch eine Überdosis Halothan mit anschließender Dekapitierung getötet, das Gehirn entnommen und in einen 1,5 cm breiten Zylinder aus Aluminium, der mit dem Einfrieremedium (Tissue Tek) gefüllt ist, verbracht. Der Zylinder wird in Methybutan auf Trockeneis durchgefroren und bei -70°C bis zur weiteren Bearbeitung gelagert.

3.6.1.2 Schneiden des Gehirns

Das Gehirn wird von umgebenden Tissue Tek (tissue freezing medium, Fa. Jung, Nußloch) befreit und auf einem Objektisch aufgefroren. Mittels eines Kryotoms werden von rostral Scheiben des Gehirns abgehobelt, bis man die richtige Schnittebene (siehe Abb 13) erreicht hat (Ebene 33, PAXINOS und WATSON 1998). Von dort aus fertigt man $12\ \mu\text{m}$ dicke Schnitte aus drei Ebenen des Hippocampus für die Hämatoxylin und Eosin-Färbung an. Jeweils 2 Schnitte werden auf einen Objektträger aufgenommen.

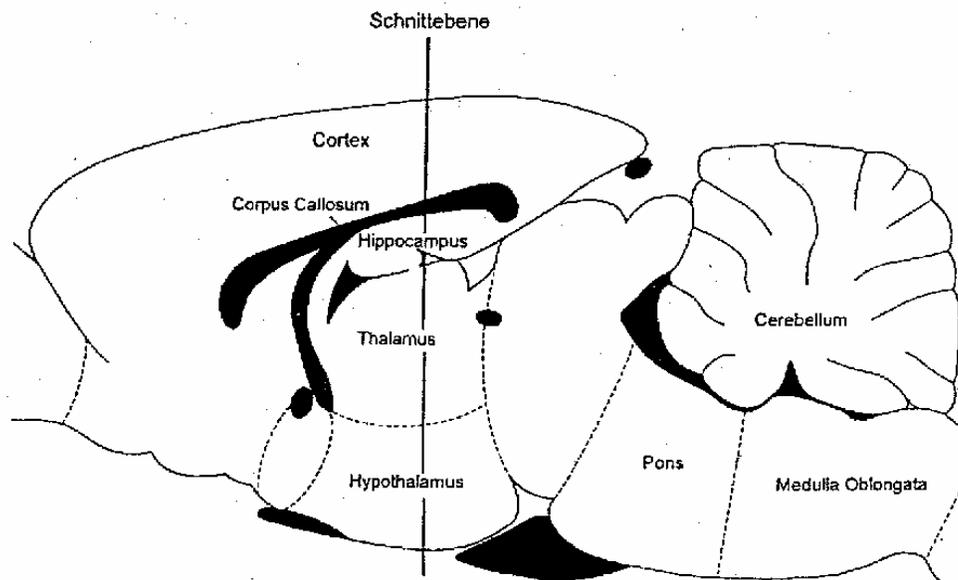


Abb 13: Saggitale Schnittebene durch das Gehirn (Ebene 33, PAXINOS und WATSON 1998)

3.6.2 Untersuchung des Gehirns

3.6.2.1 Hämatoxylin und Eosin (H.E.)-Färbung

Mit der H.E.-Färbung kann man eine mögliche Eosinophilie des Zellplasmas darstellen. Die Eosinophilie setzt ein, wenn die Zelle aufgrund der Umstellung auf die anaerobe Glycolyse vermehrt Lactat bildet und dadurch saure Valenzen entstehen, die sich durch das Eosin rot anfärben (GRAHAM und LANTOS 1997).

Die von jedem Tier im Kryotom hergestellten Gefrierschnitte des Gehirns werden mit H.E. gefärbt. Dabei erfolgt die H.E.-Färbung der Gefrierschnitte mit Hämalaun nach Mayer, welches aus Hämatoxylin hergestellt wird (ROMEIS 1989). Danach werden die Gehirnschnitte mit Deckgläsern eingedeckt und bis zur Betrachtung unter dem Lichtmikroskop bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

3.6.2.2 Mikroskopische Untersuchung

Die mit H.E. gefärbten Gehirnschnitte werden von einer mit den Versuchsgruppen nicht vertrauten, medizinisch-technischen Assistentin unter dem Lichtmikroskop begutachtet. Von den zwei Gehirnschnitten auf dem Objektträger geht der qualitativ hochwertigere, d.h. ohne Schnittartefakte o.ä., in die Auswertung ein. Alle eosinophil angefärbten Zellen in der Hippocampusformation werden in diesem Gehirnschnitt sowohl in der rechten als auch in der linken Hemisphäre ausgezählt. Dabei wird die Anzahl der eosinophilen Zellen jeweils getrennt nach der CA1-, CA2-, CA3-, CA4-Region des Hippocampus und des unteren Astes des Gyrus dentatus festgehalten (siehe Abb 14). Der Hippocampus wird untersucht, da er besonders empfindlich auf die cerebrale Ischämie reagiert und dort schneller ein Nervenzelltod erkennbar ist, als in anderen Hirnregionen (KRAJEWSKI et al. 1995). Die Ausdehnung von eventuell vorhandenen Ödemen wird dabei separat ausgewertet. Die Beurteilung des ischämischen Schadens erfolgt nach einem Punkteschema (siehe Kapitel 3.5.4.5.2)

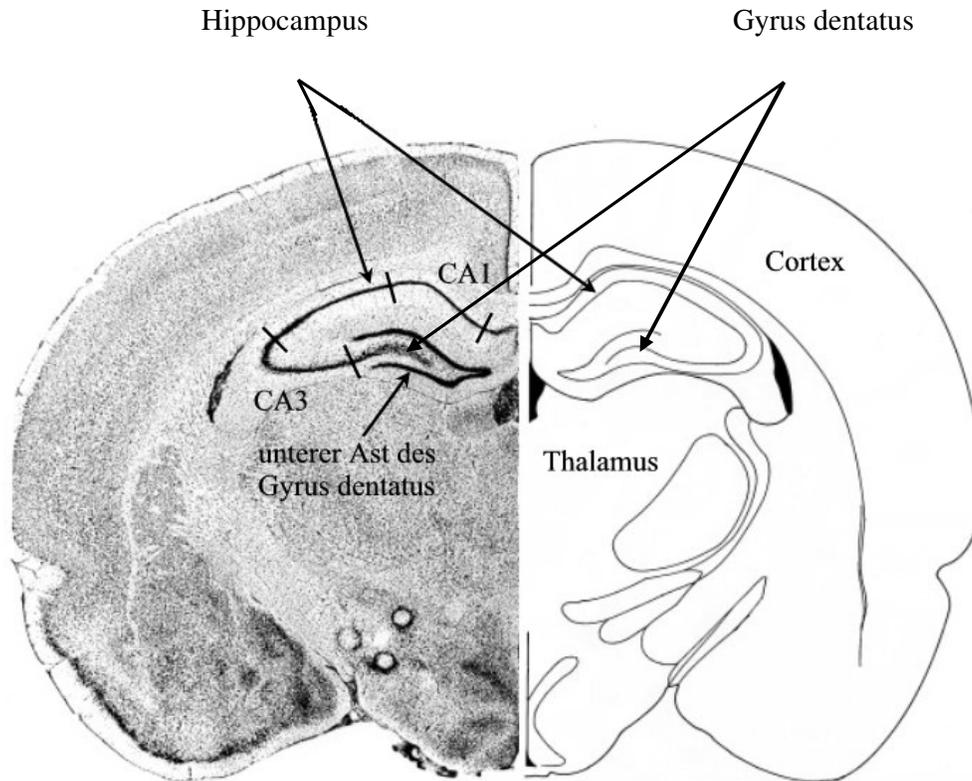


Abb 14: Koronarer Schnitt eines Rattengehirns mit Hippocampus (gekennzeichnete CA1-bis CA4-Region und Gyrus dentatus; Lokalisation im Gehirn: Ebene 33 (PAXINOS und WATSON 1998).

3.6.2.3 Histologisches Auswertungsschema nach Punkten

Die pathologischen Befunde der je 5 zu bewertenden Regionen des Hippocampus der rechten und linken Hemisphäre werden in vier Schweregrade eingeteilt. Diese Regionen werden in jeweils 3 Schnittebenen beurteilt, nämlich einer cranialen, einer mittigen und einer caudalen Ebene im Hippocampus. Die Punkte werden wie folgt vergeben:

- 1 Punkt = Ödem
- 2 Punkte = weniger als 25% neuronale Zellschäden
- 3 Punkte = 25-75% neuronale Zellschäden
- 4 Punkte = mehr als 75% neuronale Zellschäden

Die drei Werte jedes Tieres der Schnittebenen für jede der fünf Regionen werden zusammengezählt, diese fünf Summen addiert und Mittelwerte für jedes Tier errechnet. Die mögliche Anzahl der Punkte beträgt dabei 0-25. Je höher dabei die Punktzahl ist, desto größer ist der Zellschaden.

3.7 Statistische Berechnungen und Dokumentation

Die Hole-Board-Parameter, das Tiergewicht, sowie der Futter- und Wasserverbrauch sind mit Mittelwerten (MW) \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen werden mit einer Varianzanalyse ermittelt und anschließend mit dem Least Squares Means-Test differenziert

Als Signifikanzniveau wird die Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ für signifikant festgesetzt.

Dabei erhält man unterschiedlich vergleichende Signifikanzen:

- Ischämie, Reperfusion, Erholung versus Ausgangswert
- # Sham versus Ischämie in der entsprechenden Narkosegruppe
- § Sevofluran versus Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparationstechnik

Die statistischen Berechnungen werden für den Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 durchgeführt. Der Zeitraum in dem die Versuchstiere den Verhaltenstest erlernen wird deskriptiv dargestellt und bei den statistischen Berechnungen nicht berücksichtigt.

Die Diagramme werden als Hüllkurven ohne Abbildung der SD dargestellt zur besseren Übersichtlichkeit.

Die Daten werden mit Hilfe der Programme Exel und SPSS Version 10.07 GmbH Software, München ausgewertet.

3.8 Ergebnisse

3.8.1 Physiologische Parameter

3.8.1.1 Physiologische Parameter während der Operation

Tab 6: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) (mmHg), arterielle Blutgas-(mmHg), Glucosewerte (mg/dl) und Hämatokritwert (%) der vier Versuchsgruppen während des Ausgangswertes, der Ischämie, Reperfusion und Erholungsphase (MW±SD).

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-
technik

	Prä- paration	Narkose	Ausgangs- wert	Ischämie (45 min)	Reperfusion (15 min)	Erholung (90 min)
MAP (mmHg)	Sham	Fentanyl-N ₂ O	129 ± 14	123 ± 12	123 ± 7	110 ± 13
		Sevofluran	82 ± 12§	85 ± 12	83 ± 11§	79 ± 11§
	Ischämie	Fentanyl-N ₂ O	123 ± 13	40 ± 0	124 ± 16	111 ± 20
		Sevofluran	82 ± 11§	40 ± 0	111 ± 11	87 ± 10
PaO₂ (mmHg)	Sham	Fentanyl-N ₂ O	140 ± 13	139 ± 11	132 ± 17	125 ± 10
		Sevofluran	148 ± 22	151 ± 16	158 ± 22	141 ± 8
	Ischämie	Fentanyl-N ₂ O	140 ± 19	146 ± 9	139 ± 16	122 ± 28
		Sevofluran	148 ± 13	160 ± 13	146 ± 40	130 ± 30
PaCO₂ (mmHg)	Sham	Fentanyl-N ₂ O	39 ± 2	40 ± 3	41 ± 2	43 ± 4
		Sevofluran	42 ± 7	36 ± 8	39 ± 7	42 ± 4
	Ischämie	Fentanyl-N ₂ O	41 ± 3	45 ± 6	41 ± 4	42 ± 6
		Sevofluran	39 ± 4	37 ± 4	39 ± 6	42 ± 6
Glucose (mg/dl)	Sham	Fentanyl-N ₂ O	63 ± 6	63 ± 7	68 ± 7	69 ± 8
		Sevofluran	72 ± 10	74 ± 11	79 ± 12	80 ± 14
	Ischämie	Fentanyl-N ₂ O	68 ± 13	55 ± 8	73 ± 11	93 ± 17
		Sevofluran	68 ± 7	96 ± 22§	103 ± 18§	97 ± 19
Hämato- krit (%)	Sham	Fentanyl-N ₂ O	38 - 42	37 - 42	34 - 40	34 - 39
		Sevofluran	38 - 42	37 - 42	34 - 40	34 - 39
	Ischämie	Fentanyl-N ₂ O	38 - 42	26 - 31	34 - 40	34 - 39
		Sevofluran	38 - 42	26 - 31	34 - 40	34 - 39

Die physiologischen Variablen der Sham-und Ischämie-Ratten werden in Tab 6 dargestellt (MW±SD). Der MAP der Sevofluran anästhesierten Tiere ist im Ausgangswert signifikant niedriger verglichen mit dem der Fentanyl-N₂O anästhesierten Ratten. Der MAP ist ebenfalls signifikant niedriger während der Reperfusion- und der Erholungsphase bei der Sevofluran/Sham-Gruppe verglichen zur Fentanyl-N₂O-Gruppe. Um einen MAP von 40 mm Hg zu erreichen wird bei der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe während der Ischämie maximal 10,8±2,9 ml Blut entzogen. Bei den Sevofluran/Ischämie-Tieren beläuft sich dieser Wert auf 10,7±1,6 ml. Die arteriellen Blutgase werden kontrolliert und zeigen keine Unterschiede zwischen allen Gruppen zu den vier Untersuchungszeitpunkten. Die arterielle Blutglucose steigt bei den Sevofluran anästhesierten Tieren während der Ischämie signifikant gegenüber Fentanyl-N₂O-Tieren an und bleibt während der Reperfusion auf einem signifikanten Niveau erhöht im Vergleich zum Ausgangswert.

In den Ischämie-Gruppen sinkt der Hämatokrit um ca 10% ab, nach der Reperfusion in der Erholung steigt er jedoch wieder auf 2 bis 4% unter dem Ausgangswert an. Außerdem liegt bei allen Tieren ein Erythrozytenverlust vor, welcher sich aus der Differenz zwischen Ausgangswert und Recovery ergibt .

3.8.1.2 Körpergewicht

Tab 7: Durchschnittliches tägliches Körpergewicht in (g) (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	328 ± 32	341 ± 55	338 ± 25	340 ± 12
Tag -2	335 ± 32	341 ± 53	346 ± 25	345 ± 12
Tag -1	340 ± 34	346 ± 55	350 ± 26	348 ± 13
	Operation			
Tag 1	330 ± 35	323 ± 53	335 ± 34	335 ± 13
Tag 2	330 ± 33	310 ± 56	331 ± 36	331 ± 17
Tag 3	335 ± 32	310 ± 59	337 ± 37	339 ± 17
Tag 4	340 ± 30	317 ± 65	345 ± 35	344 ± 17
Tag 5	345 ± 29	315 ± 63	349 ± 32	347 ± 17
Tag 6	351 ± 30	323 ± 58	355 ± 35	353 ± 17
Tag 7	357 ± 29	330 ± 60	361 ± 34	359 ± 18
Tag 8	362 ± 29	323 ± 66	353 ± 44	361 ± 13
Tag 9	367 ± 29	345 ± 57	370 ± 32	366 ± 17
Tag 10	370 ± 30	350 ± 60	376 ± 31	370 ± 18

Das tägliche Körpergewicht (g) der Tiere ist in Tab 7 dargestellt (MW±SD). Die Tiere aller Gruppen zeigen ein unterschiedliches Ausgangsgewicht (340 g bis 350 g) und nehmen bis zum Tag 0 täglich bis zu 8 g zu und nach der Operation wieder bis zu 15 g ab, Tiere der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe sogar bis 25 g. Ab Tag 4 weisen alle Tiere tendenziell wieder eine Zunahme von durchschnittlich 5 g täglich auf. Mit Ausnahme der Tiere der Gruppen Fentanyl-N₂O/Ischämie und Sevofluran/Sham mit einem geringen Gewichtsverlust von Tag 7 auf Tag 8, ist die Gewichtszunahme kontinuierlich bis zum Ende des Versuchs.

3.8.1.3 Aufgenommene Futtermenge

Tab 8: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme in (g) (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	31 ± 9	26 ± 9	27 ± 3	23 ± 7
Tag -2	31 ± 11	31 ± 11	22 ± 7	26 ± 7
Tag -1	29 ± 12	31 ± 10	26 ± 7	25 ± 14
Operation				
Tag 1	-	-	-	-
Tag 2	25 ± 9	17 ± 9	19 ± 5	18 ± 5
Tag 3	27 ± 10	18 ± 7	20 ± 4	24 ± 3
Tag 4	27 ± 5	19 ± 7	24 ± 3	25 ± 2
Tag 5	27 ± 2	24 ± 9	25 ± 2	27 ± 4
Tag 6	27 ± 5	24 ± 4	28 ± 4	28 ± 3
Tag 7	35 ± 17	25 ± 6	28 ± 2	28 ± 1
Tag 8	47 ± 38	25 ± 4	28 ± 2	27 ± 1
Tag 9	39 ± 20	28 ± 4	30 ± 3	27 ± 2
Tag 10	45 ± 34	27 ± 3	28 ± 1	29 ± 3

- = keine Messung

Die tägliche Futteraufnahme (g) ist in Tab 8 dargestellt (MW±SD). Die Futteraufnahme der mit Sevofluran anästhesierten Tiere ist an den Tagen 2 und 3, bei den Tieren, die Fentanyl-N₂O erhalten haben, nur an Tag 1 im Vergleich zum Durchschnitt der anderen Tage deutlich reduziert. Besonders ausgeprägt ist die verminderte Futteraufnahme bei der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe. Die Sevofluran/Ischämie-Gruppe nimmt am Tag 9 weniger Futter auf als an den übrigen Tagen. Ab Tag 3 steigt die durchschnittliche Fressmenge aller Gruppen kontinuierlich an und pendelt sich zwischen 27 und 45 g tendenziell steigend pro Tag ein. Insgesamt sind jedoch keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

3.8.1.4 Wasseraufnahme

Tab 9: Durchschnittliche tägliche Trinkmenge in (g) (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	32 ± 4	33 ± 6	34 ± 5	34 ± 7
Tag -2	34 ± 5	33 ± 5	32 ± 5	36 ± 10
Tag -1	33 ± 9	29 ± 9	35 ± 9	35 ± 8
Operation				
Tag 1	-	-	-	-
Tag 2	34 ± 14	25 ± 13	28 ± 11	30 ± 7
Tag 3	34 ± 6	26 ± 12	33 ± 7	35 ± 3
Tag 4	37 ± 5	37 ± 12	37 ± 5	34 ± 3
Tag 5	35 ± 7	37 ± 8	37 ± 6	40 ± 5
Tag 6	38 ± 4	37 ± 7	41 ± 7	38 ± 3
Tag 7	38 ± 4	37 ± 6	41 ± 5	39 ± 4
Tag 8	38 ± 4	41 ± 9	39 ± 5	46 ± 10
Tag 9	39 ± 5	37 ± 6	43 ± 8	39 ± 4
Tag 10	40 ± 8	41 ± 8	40 ± 5	39 ± 4

- = keine Messung

Die tägliche Trinkmenge (g) der Tiere ist in Tab 9 dargestellt (MW±SD). Der Wasserverbrauch der Fentanyl-N₂O/Ischämie Tiere ist an Tag 2 und 3 geringer als an den anderen Tagen. In beiden Sham-Gruppen zeigt sich eine Reduktion der Trinkmenge an Tag 2. Ab Tag 4 steigt der Wasserverbrauch bei diesen Gruppen wieder an. Insgesamt weist der tägliche Wasserverbrauch keine signifikanten Unterschiede auf.

3.8.1.5 Neurologischer Score

Tab 10: Summe der Punkte des neurologischen Bewertungsprotokolls (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	0,3± 0,5	0,3± 0,4	0,3± 0,5	0,4± 0,5
Tag -2	0,3± 0,5	0,1± 0,3	0,4± 0,5	0,3± 0,5
Tag -1	0,3± 0,5	0,3± 0,4	0,3± 0,5	0,4± 0,5
	Operation			
Tag 1	0,4± 0,5	0,6± 0,9	0,4± 0,5	0,6± 0,5
Tag 2	0,2± 0,4	0,4± 0,5	0,4± 0,5	0,7± 0,5
Tag 3	0,3± 0,5	0,5± 0,5	0,4± 0,5	0,4± 0,5
Tag 4	0,3± 0,5	0,3± 0,4	0,4± 0,5	0,6± 0,5
Tag 5	0,3± 0,5	0,3± 0,5	0,6± 0,5	0,4± 0,5
Tag 6	0,3± 0,5	0,3± 0,5	0,6± 0,5	0,7± 0,5
Tag 7	0,4± 0,5	0,3± 0,4	0,6± 0,5	0,4± 0,5
Tag 8	0,4± 0,5	0,2± 0,4	0,3± 0,5	0,7± 0,5
Tag 9	0,3± 0,5	0,3± 0,4	0,6± 0,5	0,6± 0,5
Tag 10	0,4± 0,5	0,3± 0,4	0,7± 0,5	0,4± 0,5

Tab 10 gibt die Punktesummen aller durchgeführten neurologischen Tests an (MW±SD). Dieser score schließt verschiedene Testkategorien wie Bewusstsein, Laufen, drehendes Gitter, Kletterverhalten, Pflegeverhalten ein (s.u.). Der Neurologische Score ist bei allen Tieren zu Beginn der neurologischen Testphase unregelmäßig niedrig und liegt bei Werten im Bereich von durchschnittlich 0,2 bis 0,4 Punkten. Am Tag 1 nach der OP weisen die Tiere der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe eine Erhöhung der Werte bis hin zu 0,6 Punkten auf, die sich ab Tag 4 wieder auf niedrigere Level zubewegen (0,1-0,3 Punkte). Die Tiere der Sevofluran/Ischämie-Gruppe, weisen von Tag -3 bis Tag -1 einen neurologischen Score von 0,3 Punkten auf, zeigen eine leichte Erhöhung an Tag 1, 7 und 8 mit 0,4 Punkten und bleiben

sonst bei 0,3 Punkten. Die Tiere der beiden Sham-Gruppen zeigen tendenziell eine Verbesserung des neurologischen Scores von 0,3 bis 0,4 am Tag -3 bis -1 auf 0,4 bis 0,6 (Sevofluran/Sham) und 0,4 bis 0,7 (Fentanyl-N₂O/Sham). Es sind jedoch keine Signifikanzen zu erkennen (Abb 15).

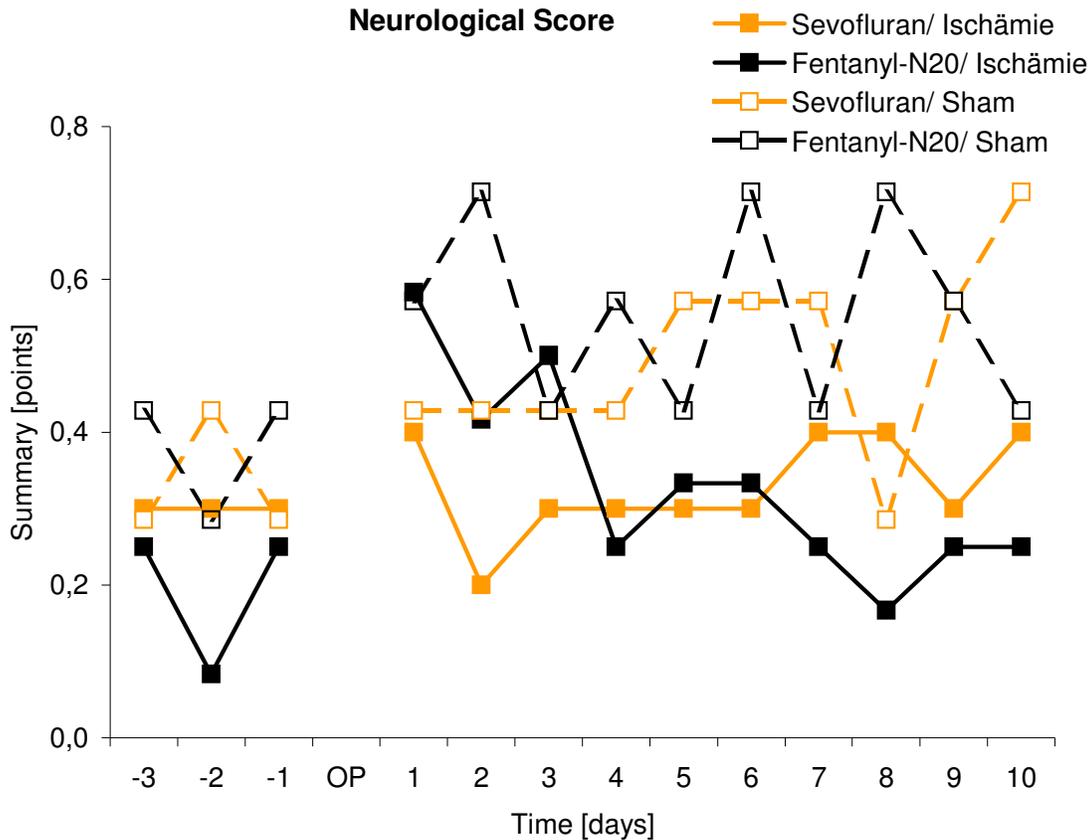


Abb 15: Summe der Punkte des neurologischen Bewertungsprotokolls im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW).

Ergebnisse der einzelnen Kategorien des neurologischen Untersuchungsprotokolls:

Bewusstsein:

Bei allen Tieren der vier verschiedenen Versuchsgruppen ist über den gesamten Testzeitraum das Bewusstsein ungestört. Eine Ausnahme stellt die Ratte 7 der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe dar, die eine lethargische Bewusstseinsstörung am zweiten und dritten Tag nach der Operation zeigt, welche mit zwei Punkten bewertet wird.

Laufen:

Auch hier sind über den gesamten Versuchsablauf hinweg keine pathologischen Veränderungen bei allen Tieren aller Gruppen aufgetreten.

Drehendes Gitter:

Hier gibt es kein einheitliches Ergebnis in Bezug auf die ersten Tage nach der Operation. Sowohl in der Sevofluran/Ischämie-Gruppe (Ratte Nr. 10), als auch in der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe (Ratte Nr. 11) gibt es Tiere, die über den gesamten Testzeitraum hinweg keine Veränderung der Leistungen zeigen. Diese Tiere gehen mit 0 Punkten in die Bewertung ein. Die Ratte 33 der Sevofluran/Sham-Gruppe geht immer mit einem Punkt in die Bewertung ein, hält sich also von Anfang an weniger als 5 sek an dem um 180° gedrehten Gitter. Am ersten Tag nach der Operation weist die Ratte 9 mit einem Punkt eine verminderte Leistung auf, im Gegensatz zu den erhaltenen 0 Punkten an allen anderen Tagen. Auch die Ratte 23 derselben Gruppe erhält erstmals ab Tag 1 einen Punkt. Hier jedoch verbessert sich die Leistung bis zum Ende des Versuches nicht mehr, sondern bleibt konstant. Andere Tiere aller Gruppen wiederum zeigen eine von Tag zu Tag unterschiedliche Leistung, sowohl vor, als auch nach der Operation. Insgesamt gesehen lässt sich keine Tendenzen in den Ergebnissen erkennen.

Kletterverhalten:

Die Ratte 35 der Gruppe Sevofluran/Sham geht am Tag 6 des Versuchszeitraums mit einem Punkt in die Bewertung ein, da sie an diesem Tag nicht, wie an allen anderen Tagen auf die 90°-Ebene geklettert ist. Alle anderen Tiere werden über den gesamten Versuch mit 0 Punkten bewertet, es zeigen sich also keine Unterschiede.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Pflegeverhalten

Das Pflegeverhalten ist bei allen Tieren stets ungestört und wird deshalb mit 0 Punkten bewertet.

Tod:

Keines der Tiere starb als Folge der cerebralen Ischämie.

3.8.2 Hole-Board-Parameter

3.8.2.1 Gedächtnisparameter

3.8.2.1.1 Wrong choices (WC)

Tab 11: Durchschnittliche Fehlerzahl eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

#=p<0,05 Sham verglichen zur Ischämie in der entsprechenden Narkosegruppe

§=<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	0,7 ± 1,0	0,4 ± 0,5	0,6 ± 0,6	0,2 ± 0,3
Tag -2	0,4 ± 0,4	0,7 ± 0,8	0,3 ± 0,4	0,3 ± 0,4
Tag -1	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,6	0,4 ± 1,0	0,1 ± 0,1
Operation				
Tag 1	0,6 ± 0,8	1,0 ± 1,0§	0,5 ± 0,4	0,5 ± 0,5#
Tag 2	0,6 ± 0,6	0,6 ± 0,7	0,6 ± 0,5	0,8 ± 0,6
Tag 3	0,3 ± 0,3	0,8 ± 1,0	0,3 ± 0,2	0,5 ± 0,6
Tag 4	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,5	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,5
Tag 5	0,7 ± 0,6	0,9 ± 0,8	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,2
Tag 6	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,4	0,5 ± 0,5	0,6 ± 0,6
Tag 7	0,4 ± 0,3	0,6 ± 0,6	0,3 ± 0,5	0,2 ± 0,2
Tag 8	0,5 ± 0,3	0,4 ± 0,4	0,4 ± 0,4	0,2 ± 0,3
Tag 9	0,5 ± 0,5	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,1
Tag 10	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,0 ± 0,1

In Tab 11 werden die Fehler im Hole-Board-Test dargestellt (MW±SD), ein Indikator für das deklarative Gedächtnis. Die Anzahl ist tendenziell bei allen Gruppen am Tag 1 nach der Operation schlechter, wobei die mit Fentanyl-N₂O anästhesierten Tiere eine signifikant höhere Fehlerzahl aufweisen verglichen mit den Sevofluran anästhesierten Ratten. Dabei ist die

durchschnittliche Fehlerzahl von bis zu einem Fehler pro Durchlauf bei den Fentanyl-N₂O/Ischämie-Tieren am Tag 1 signifikant erhöht zum Ausgangswert. Außerdem lässt sich am Tag 1 nach der Operation eine signifikante Erhöhung der Fentanyl-N₂O/Sham –Gruppe verglichen mit der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe erkennen. Die Werte aller Gruppen bewegen sich bis zum Tag 10 des Versuchs wieder zum Ausgangslevel zurück (Abb 16).

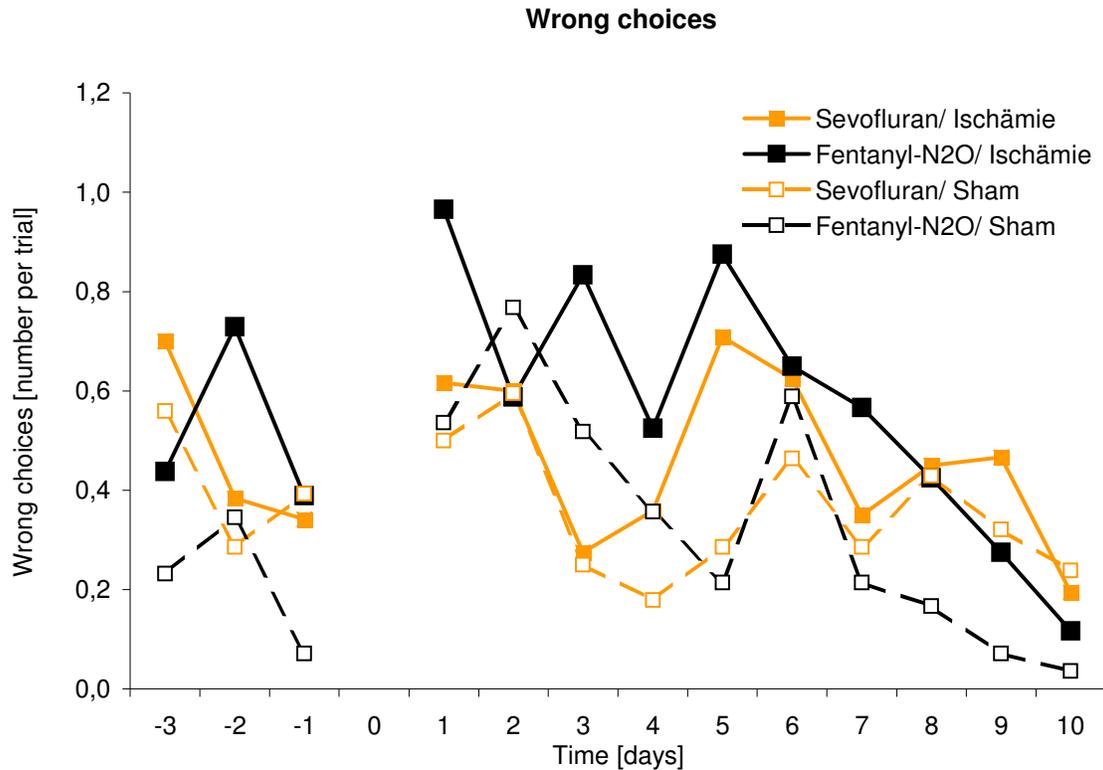


Abb 16: Fehlerzahl (wrong choices) eines Durchlaufs pro Tag im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW) der Tiere aller Gruppen, d.h. Informationen über das deklarative Gedächtnis.

3.8.2.1.2 Repeated choices (RC)

Tab 12: Durchschnittliche Anzahl der Wiederholungen eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran	Fentanyl-N ₂ O	Sevofluran	Fentanyl-N ₂ O
	(n= 10)	(n= 10)	(n= 7)	(n= 7)
Tag -3	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1
Tag -2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1
Tag -1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	Operation			
Tag 1	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,5§	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,3
Tag 2	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,3
Tag 3	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
Tag 4	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,1
Tag 5	0,2 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1
Tag 6	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,2 ± 0,2
Tag 7	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag 8	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1
Tag 9	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0
Tag 10	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0

Das Arbeitsgedächtnis wird mit Hilfe der „repeated choices“, d.h. der wiederholt geöffneten Löcher eines Durchlaufs pro Tag in Tab 12 dargestellt (MW±SD). Das Ergebnis zeigt eine tendentielle Verschlechterung am Tag 1 nach der Operation der ischämischen Tiere im Vergleich zu den Sham-Gruppen. Am Tag 1 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Ischämiegruppen, wobei die ischämischen Fentanyl-N₂O Tiere ein schlechteres Ergebnis aufweisen als die mit Sevofluran anästhesierten Tiere. Auch diese Werte bewegen sich innerhalb von 2 Tagen wieder auf das Ausgangsniveau zurück (Abb 17).

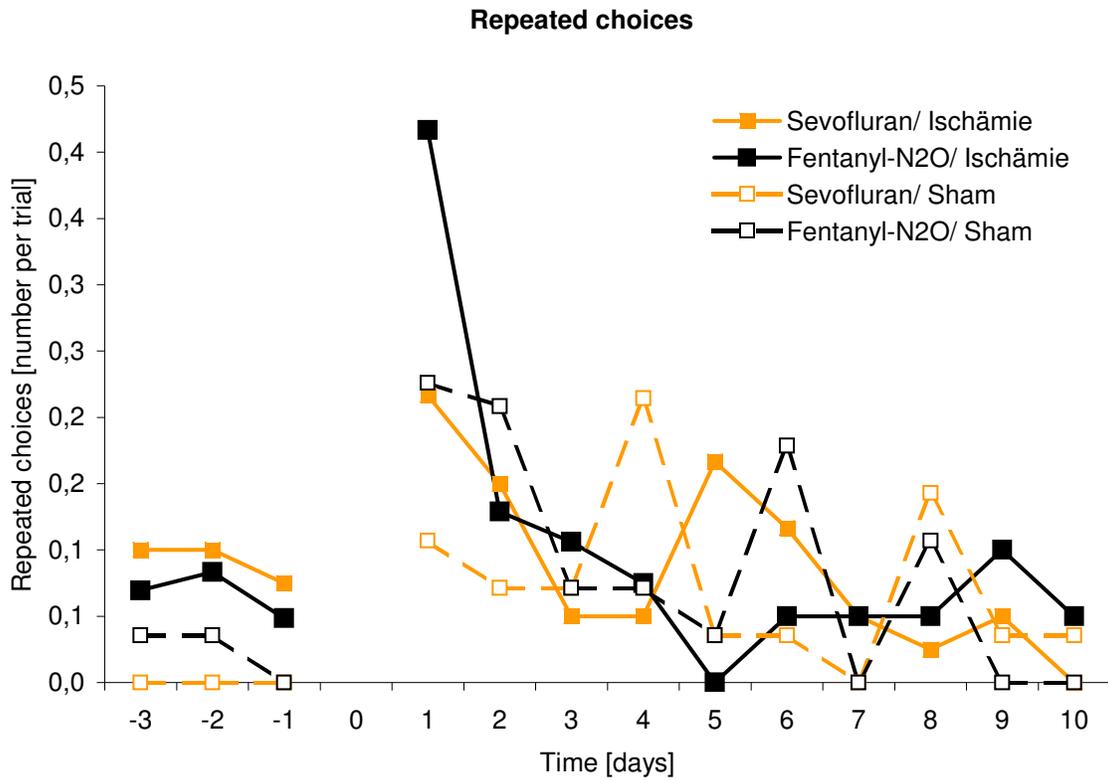


Abb 17: Anzahl der Wiederholungen (repeated choices) eines Durchlaufs pro Tag im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Arbeitsgedächtnis.

3.8.2.1.3 Omission error (OE)

Tab 13: Durchschnittliche Anzahl von nicht besuchten markierten Löchern eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1
Tag -2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag -1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	Operation			
Tag 1	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,9	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3
Tag 2	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,5
Tag 3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,3	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1
Tag 4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag 5	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag 6	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1
Tag 7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag 8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag 9	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag 10	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Nicht besuchte markierte Löcher geben einen Hinweis auf das deklarative Gedächtnis und sind in Tab 13 dargestellt (MW±SD). An den letzten 3 Tagen vor der Operation sind die Leistungen aller Gruppen konstant. Am Tag 1 ergibt sich eine tendentielle Erhöhung der nicht besuchten markierten Löcher der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe und am Tag 2 der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe. Die Tiere der Sevofluran/Ischämie Gruppe weisen keine Verschlechterung nach der Operation auf. Die Sevofluran/Sham-Gruppe jedoch zeigt am Tag 1 und 2 einen geringen nicht signifikanten Anstieg des OE. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede (Abb 18).

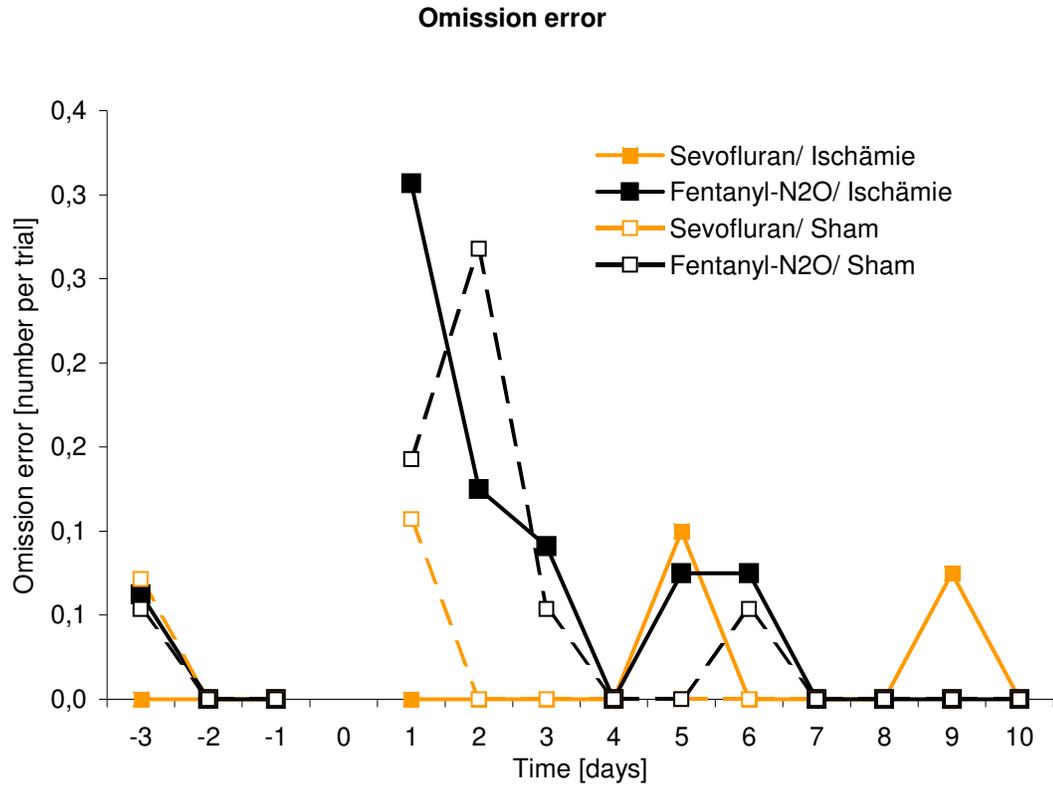


Abb 18: Anzahl von nicht besuchten markierten Löchern (omission error) eines Durchlaufs pro Tag im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das deklarative Gedächtnis.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.8.2.2 Explorations-und Motivationsparameter

3.8.2.2.1 Time complete (TC)

Tab 14: Zeit in sek, die die Tiere für einen Durchlauf benötigen (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	78,7 ± 43,3	80,7 ± 39,9	121,7 ± 97,7	116,8 ± 110,2
Tag -2	76,3 ± 59,6	97,7 ± 72,9	89,6 ± 35,5	125,0 ± 90,0
Tag -1	57,3 ± 19,2	75,8 ± 31,4	88,4 ± 34,6	88,2 ± 76,5
Operation				
Tag 1	82,0 ± 29,0	187,2 ± 151,1§	140,7 ± 90,0	197,0 ± 171,8§
Tag 2	75,1 ± 25,6	107,2 ± 79,1	100,3 ± 58,1	164,8 ± 164,4
Tag 3	62,5 ± 27,7	117,6 ± 130,7	75,4 ± 36,2	126,1 ± 122,3
Tag 4	55,5 ± 29,3	63,3 ± 24,1	95,4 ± 40,1	88,9 ± 57,3
Tag 5	52,8 ± 25,4	55,6 ± 21,9	62,4 ± 21,2	62,0 ± 29,5
Tag 6	57,7 ± 26,5	57,0 ± 19,6	70,6 ± 29,1	79,6 ± 68,9
Tag 7	43,9 ± 14,3	51,6 ± 18,7	62,6 ± 20,1	53,6 ± 24,4
Tag 8	53,4 ± 20,4	47,6 ± 20,0	63,8 ± 29,2	58,1 ± 48,0
Tag 9	44,7 ± 11,2	48,5 ± 23,4	51,8 ± 7,5	45,5 ± 22,6
Tag 10	52,5 ± 26,7	45,7 ± 14,0	47,3 ± 12,4	56,3 ± 21,6

Die benötigte Zeit pro Durchlauf ist Ausdruck der Motivation der Tiere. Die Werte sind in Tab 14 dargestellt (MW±SD). Die Tiere benötigen als Ausgangswert im Durchschnitt ca. 60-70 sek für einen Durchlauf. Am Tag 1 ist eine signifikante Erhöhung der Durchlaufszeit der mit Fentanyl-N₂O behandelten Gruppen, sowohl bei Sham, als auch bei den ischämischen Tieren (verdoppelte TC) sichtbar. Die Tiere der Sevofluran/Sham-Gruppe zeigen am Tag 1 nur eine geringe Erhöhung der Gesamtversuchsdauer im Vergleich zu den Tagen vor der Ope-

ration und erreichen ab Tag 3 wieder ihre Leistung wie vor der Operation. Bei den Sevofluran/Ischämie Tieren ist zu keinem Zeitpunkt ein Anstieg der TC zu erkennen. Ab Tag 4 sind die Ausgangswerte bei den Fentanyl-N₂O Tieren wieder erreicht (Abb 19).

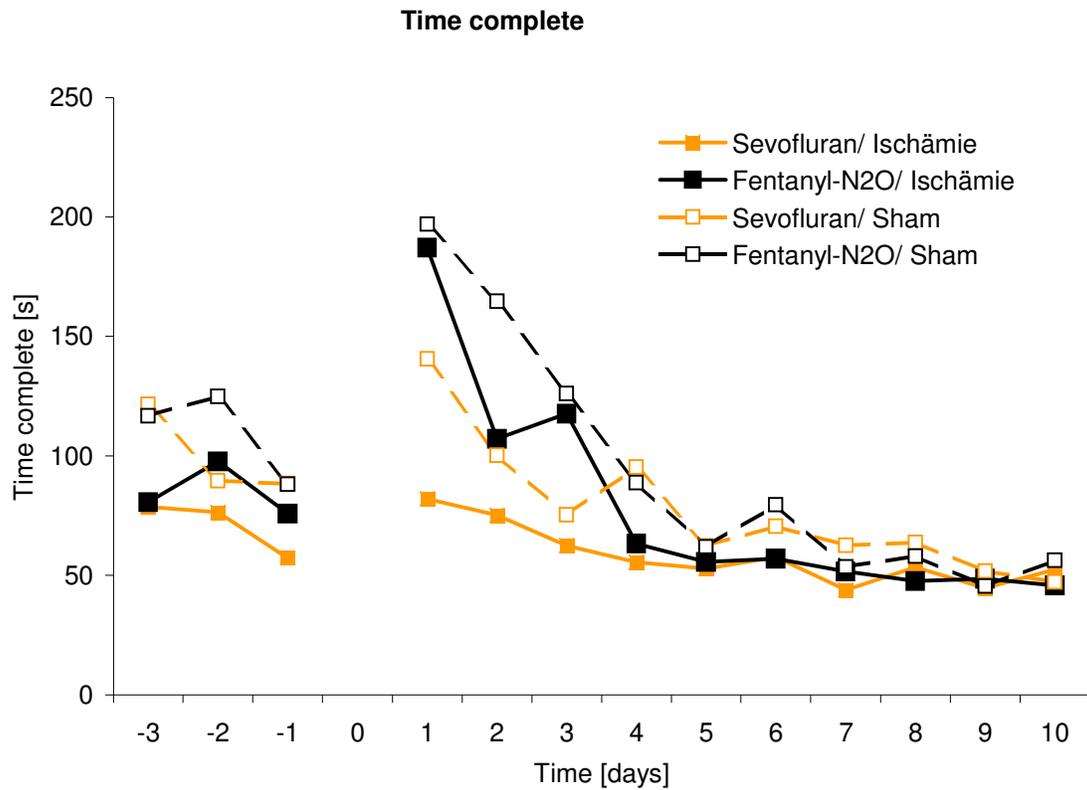


Abb 19: Zeit in sek, die die Tiere für einen Durchlauf benötigen (time complete) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Motivation der Tiere.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.8.2.2.2 Time on board (TOB)

Tab 15: Zeit in sek, die die Tiere pro Durchlauf auf dem Hole-Board verbringen (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

§=<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-
technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	28,3 ± 15,1	28,5 ± 13,2	36,2 ± 28,8	35,4 ± 23,9
Tag -2	26,9 ± 17,4	35,5 ± 22,4	28,3 ± 13,0	47,1 ± 29,4
Tag -1	24,2 ± 9,9	24,5 ± 10,3	30,6 ± 9,5	25,0 ± 12,8
Operation				
Tag 1	29,8 ± 9,6	49,0 ± 28,1§	38,8 ± 18,3	53,4 ± 25,6
Tag 2	26,5 ± 7,3	37,6 ± 26,1	31,6 ± 12,5	34,9 ± 13,8
Tag 3	23,0 ± 9,9	38,6 ± 32,8	25,4 ± 12,2	29,5 ± 16,4
Tag 4	19,5 ± 8,9	24,0 ± 9,3	30,4 ± 15,9	28,0 ± 14,4
Tag 5	21,4 ± 9,0	23,6 ± 11,0	18,4 ± 3,3	21,4 ± 6,6
Tag 6	21,3 ± 7,8	24,6 ± 7,7	26,1 ± 11,5	28,1 ± 15,4
Tag 7	16,1 ± 5,6	20,6 ± 7,8	21,4 ± 6,3	20,4 ± 9,1
Tag 8	18,6 ± 9,7	17,3 ± 8,0	23,9 ± 11,4	22,0 ± 14,4
Tag 9	15,4 ± 4,9	15,5 ± 5,8	18,4 ± 3,6	16,7 ± 4,0
Tag 10	17,7 ± 9,7	14,1 ± 3,6	15,7 ± 3,8	21,2 ± 7,3

In Tab 15 ist die Zeit in sek dargestellt, die die Tiere an einem Tag durchschnittlich während eines Durchlaufs auf dem Hole-Board verbringen (MW±SD). Sie wird als TOB bezeichnet und ist motivations-und angstbezogen. Die Tiere der beiden mit Fentanyl-N₂O anästhesierten Gruppen zeigen einen tendenziellen Anstieg am Tag 1 auf die doppelte Sekundenanzahl, welcher bei den ischämischen Tieren signifikant ist. Die mit Sevofluran behandelten Tiere beider Gruppen weisen nur einen sehr geringen Anstieg von 5,6 sek (Ischämie) und 8,2 sek (Sham) auf. Der Faktor Ischämie oder Sham spielt dabei keine Rolle (Abb 20).

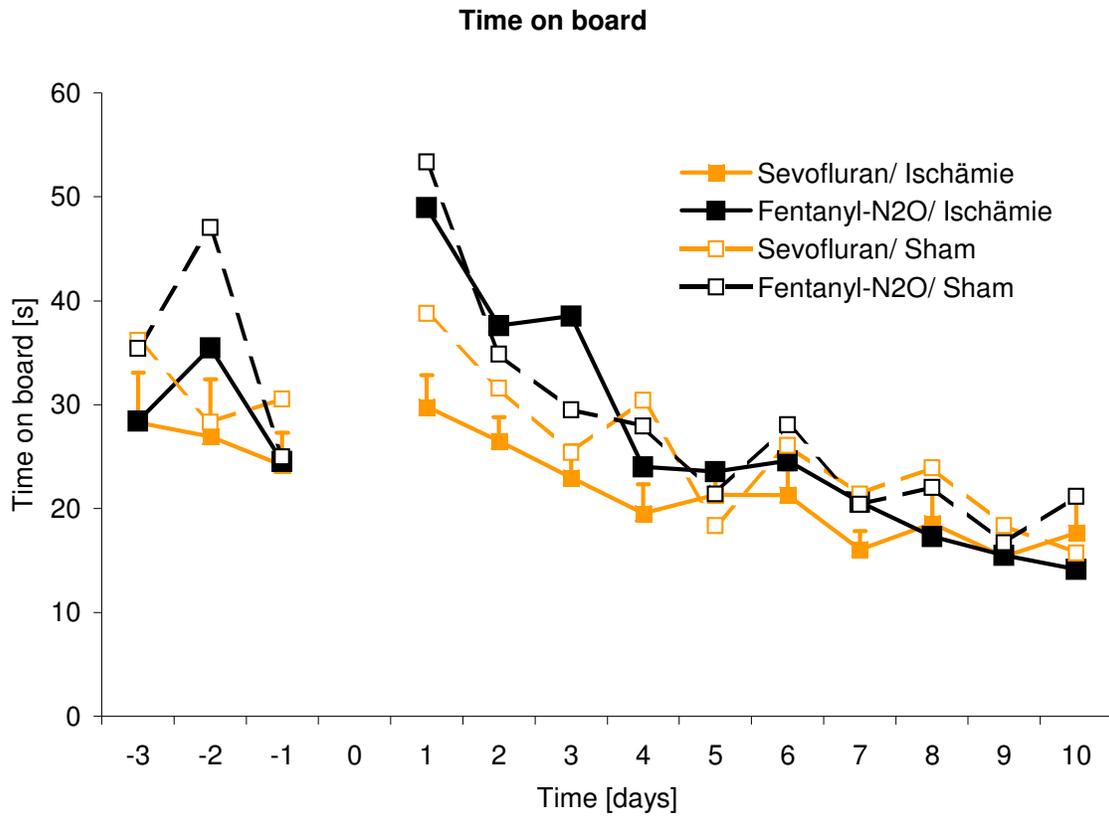


Abb 20: Zeit in sek, die die Tiere pro Durchlauf auf dem Hole-Board verbringen (time on board) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Motivation und das Angstverhalten der Tiere.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.8.2.2.3 Number of board entries (NBE)

Tab 16: Anzahl der Aufenthalte auf dem Hole-Board pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	4,9 ± 2,2	4,9 ± 2,3	6,1 ± 4,5	5,3 ± 3,3
Tag -2	4,9 ± 2,8	5,3 ± 2,5	5,1 ± 2,3	6,8 ± 4,1
Tag -1	3,8 ± 1,3	4,6 ± 1,5	4,0 ± 1,4	4,6 ± 2,8
	Operation			
Tag 1	4,7 ± 1,7	5,7 ± 2,2	6,0 ± 2,7	7,1 ± 3,8
Tag 2	4,7 ± 1,3	4,0 ± 1,4	4,8 ± 2,6	5,9 ± 3,0
Tag 3	4,2 ± 1,4	5,1 ± 3,0	4,5 ± 2,5	5,3 ± 2,2
Tag 4	3,6 ± 1,7	3,7 ± 1,9	5,4 ± 2,1	4,7 ± 2,1
Tag 5	3,4 ± 1,3	3,5 ± 1,8	3,7 ± 1,7	4,6 ± 2,1
Tag 6	3,7 ± 1,7	3,8 ± 2,1	4,4 ± 2,0	4,9 ± 3,0
Tag 7	2,9 ± 1,2	3,6 ± 1,8	3,6 ± 1,1	3,6 ± 1,5
Tag 8	3,3 ± 1,8	3,0 ± 1,1	4,1 ± 2,0	3,8 ± 2,6
Tag 9	3,0 ± 0,9	3,1 ± 1,7	3,3 ± 0,8	2,8 ± 1,2
Tag 10	3,6 ± 1,9	3,2 ± 1,3	2,7 ± 1,3	4,0 ± 1,7

Die Anzahl der Aufenthalte (NBE) auf dem Hole-Board liefert eine Aussage über das Angstverhalten der Tiere und ist in Tab 16 dargestellt (MW±SD). Die NBE beider Fentanyl-N₂O anästhesierten Gruppen zeigen eine nur geringe Erhöhung am Tag 1. Die NBE der Tiere der Sevofluran/Ischämie-Gruppe bleiben durchweg konstant. Insgesamt ergeben sich innerhalb der beiden Anästhesiegruppen keinerlei signifikanten Unterschiede (Abb 21).

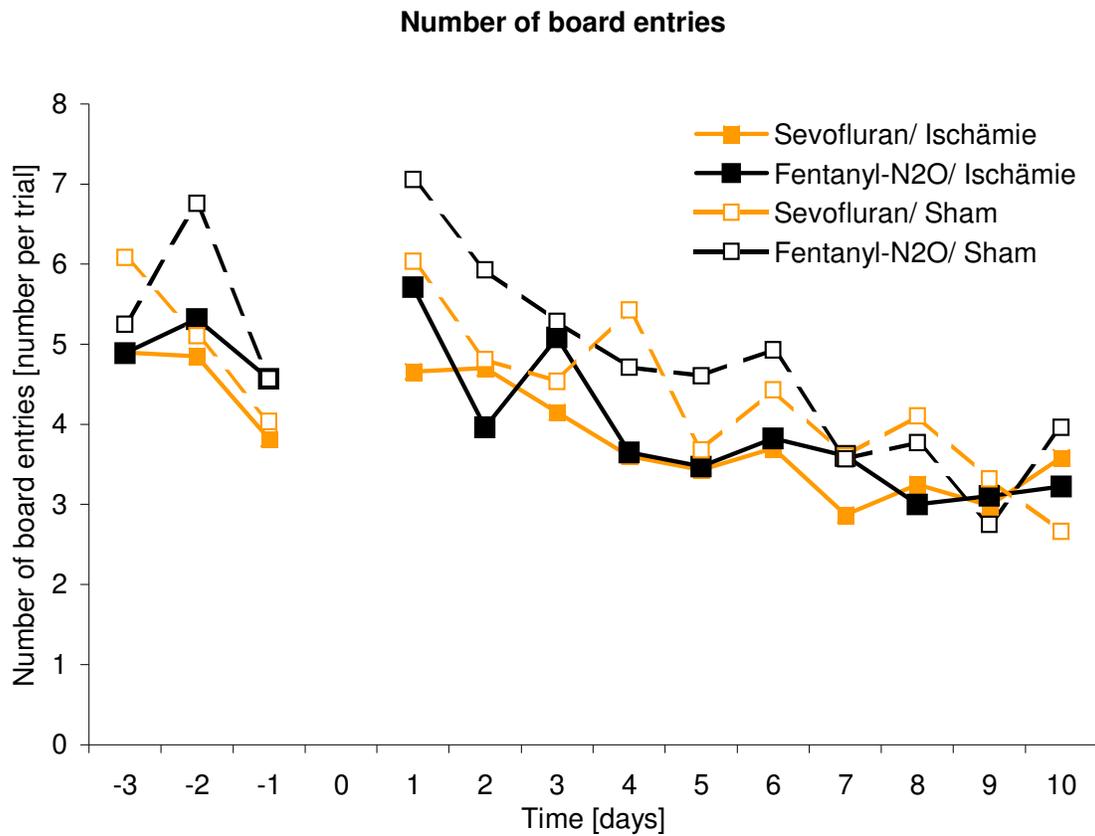


Abb 21: Anzahl der Aufenthalte auf dem Hole-Board pro Durchlauf (number of board entries) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Angst und Motivation der Tiere.

3.8.2.2.4 Number of hole visits (NHV)

Tab 17: Anzahl der besuchten Löcher pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	3,8 ± 1,1	3,4 ± 0,5	3,4 ± 0,6	3,2 ± 0,3
Tag -2	3,5 ± 0,5	3,8 ± 0,9	3,3 ± 0,4	3,4 ± 0,4
Tag -1	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,6	3,4 ± 1,0	3,1 ± 0,1
Operation				
Tag 1	3,8 ± 1,0	3,7 ± 1,5	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,8
Tag 2	3,8 ± 0,7	3,5 ± 0,5	3,7 ± 0,6	3,4 ± 0,6
Tag 3	3,3 ± 0,3	3,7 ± 1,2	3,3 ± 0,2	3,5 ± 0,6
Tag 4	3,4 ± 0,3	3,6 ± 0,5	3,4 ± 0,3	3,4 ± 0,6
Tag 5	3,8 ± 0,6	3,8 ± 0,7	3,3 ± 0,3	3,3 ± 0,2
Tag 6	3,7 ± 0,4	3,6 ± 0,4	3,5 ± 0,6	3,7 ± 0,5
Tag 7	3,4 ± 0,3	3,6 ± 0,6	3,3 ± 0,5	3,2 ± 0,2
Tag 8	3,5 ± 0,3	3,5 ± 0,4	3,6 ± 0,3	3,3 ± 0,3
Tag 9	3,4 ± 0,6	3,4 ± 0,3	3,3 ± 0,3	3,1 ± 0,1
Tag 10	3,2 ± 0,3	3,2 ± 0,2	3,3 ± 0,2	3,0 ± 0,1

Tab 17 zeigt die Anzahl der pro Durchlauf an einem Tag besuchten Löcher (number of hole visits).

Sie macht Aussagen über die Motivation der Tiere (MW±SD). Außerdem lassen sich Rückschlüsse auf das Erkundungsverhalten ziehen.

Die Werte liegen bei allen Gruppen pro Durchlauf und Tag zwischen 3,1 und 3,8.

Sie bleiben sowohl vor der Operation als auch nach dem operativen Eingriff bis zum Versuchsende konstant.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Über den gesamten Versuchszeitraum ergeben sich keinerlei signifikanten Unterschiede innerhalb der beiden Präparationsgruppen, als auch zwischen den mit unterschiedlichen Anästhetika behandelten Tieren.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.8.2.2.5 Time on board per number of hole visits (TOB/NHV)

Tab 18: Zeit in sek auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	7,3 ± 2,6	8,3 ± 3,9	15,4 ± 19,1	11,9 ± 9,7
Tag -2	7,9 ± 5,2	9,1 ± 6,3	8,5 ± 3,4	13,4 ± 8,0
Tag -1	7,0 ± 2,9	7,1 ± 2,5	9,3 ± 2,9	8,0 ± 4,1
	Operation			
Tag 1	8,0 ± 2,7	13,1 ± 6,0	11,8 ± 5,7	19,1 ± 14,4§
Tag 2	7,1 ± 2,1	10,8 ± 8,7	8,6 ± 3,4	9,4 ± 4,5
Tag 3	7,0 ± 3,4	10,4 ± 10,1	7,7 ± 3,5	8,3 ± 4,3
Tag 4	5,6 ± 2,8	6,6 ± 2,0	8,7 ± 3,7	8,3 ± 3,9
Tag 5	5,4 ± 1,9	6,0 ± 2,0	5,6 ± 0,9	6,7 ± 2,4
Tag 6	5,8 ± 2,1	6,6 ± 1,9	7,2 ± 2,2	7,1 ± 2,3
Tag 7	4,8 ± 1,8	5,8 ± 2,1	6,6 ± 2,0	6,3 ± 2,5
Tag 8	5,1 ± 2,4	4,9 ± 2,2	6,6 ± 2,5	6,2 ± 3,1
Tag 9	4,4 ± 1,3	4,6 ± 1,4	5,6 ± 0,9	5,4 ± 1,4
Tag 10	5,2 ± 2,7	4,5 ± 1,3	4,8 ± 1,3	7,0 ± 2,5

Der Quotient von der Zeitdauer auf dem Board zu der Anzahl der besuchten Löcher (TOB/NHV) lässt Rückschlüsse auf die Motorik und Motivation der Tiere zu und ist bei den Fentanyl-N₂O-Gruppen am Tag 1 tendenziell höher verglichen mit den Sevofluran behandelten Ratten. Dieser Effekt ist bei der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe gegenüber der Sevofluran/Sham-Gruppe signifikant. Die Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe hingegen weist nur eine geringe Erhöhung am Tag 1 auf und die Sevofluran/Ischämie Tiere bleiben nach der Ischämie auf ihrem alten Niveau (Abb22).

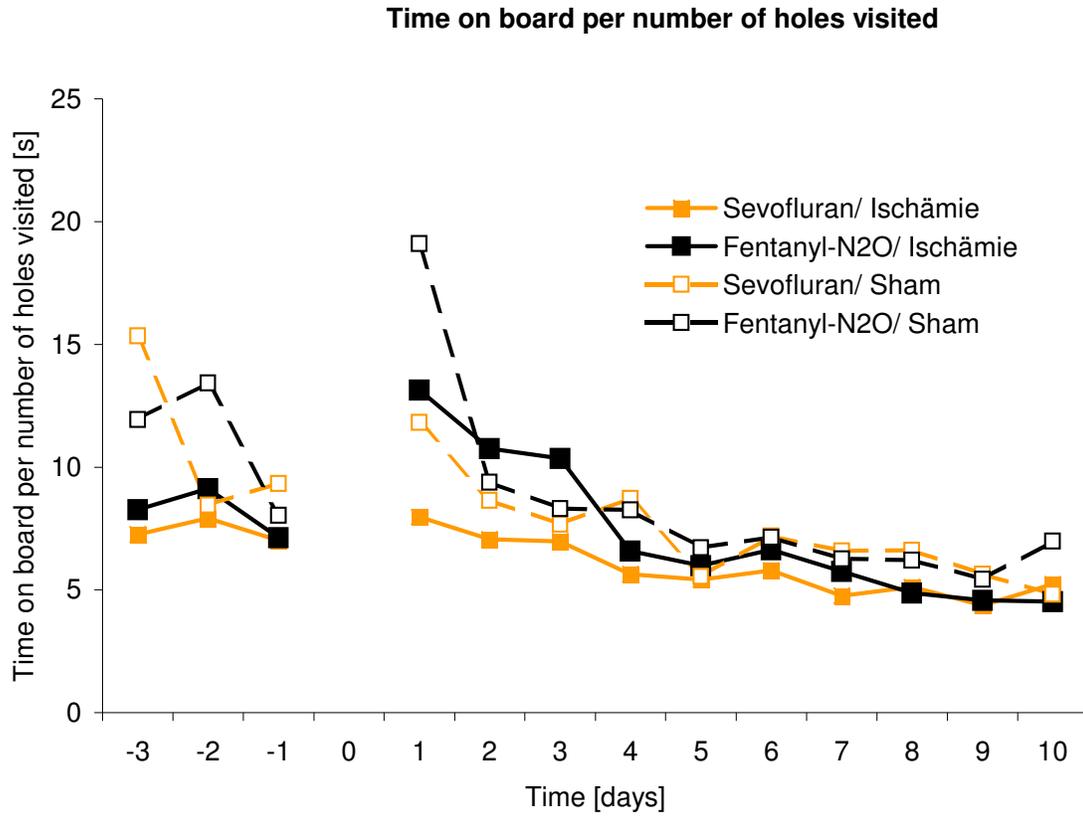


Abb 22: Zeit in sek auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch pro Durchlauf im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über Motivation und Motorik der Tiere.

3.8.2.3 Angstbezogene Parameter

3.8.2.3.1 Latency first correct hole visit (LFCHV)

Tab 19: Zeit in sek, bis das erste markierte Loch besucht wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

#=p<0,05 Sham verglichen zur Ischämie in der entsprechenden Narkosegruppe

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	15,7 ± 13,0	33,3 ± 46,2	34,9 ± 36,5	40,5 ± 56,2
Tag -2	16,4 ± 13,3	15,9 ± 14,4	23,0 ± 11,7	28,8 ± 27,6
Tag -1	9,3 ± 7,2	15,3 ± 10,6	19,0 ± 10,4	20,4 ± 17,6
Operation				
Tag 1	16,1 ± 12,1	74,0 ± 166,6§	47,6 ± 55,5	50,0 ± 63,0
Tag 2	8,6 ± 4,9	32,8 ± 57,0	19,2 ± 15,0#	64,1 ± 122,8
Tag 3	10,3 ± 6,3	16,6 ± 17,5	16,2 ± 9,3	18,1 ± 21,4
Tag 4	10,6 ± 8,4	9,7 ± 3,6	19,0 ± 12,0	13,0 ± 11,0
Tag 5	29,8 ± 59,9	23,4 ± 45,3	12,1 ± 5,1	10,3 ± 5,5
Tag 6	11,4 ± 9,9	22,6 ± 44,5	14,6 ± 16,0	10,1 ± 4,0
Tag 7	6,4 ± 2,4	6,6 ± 3,4	10,9 ± 4,9	12,1 ± 6,4
Tag 8	9,4 ± 8,0	8,9 ± 9,0	11,4 ± 5,2	9,2 ± 5,7
Tag 9	22,3 ± 44,8	8,9 ± 5,2	10,1 ± 4,8	9,1 ± 5,4
Tag 10	8,3 ± 3,8	6,9 ± 3,3	9,7 ± 4,3	11,0 ± 6,2

Tab 19 zeigt die Dauer in sek, die die Tiere pro Durchlauf benötigen, um das erste Loch aufzufinden, was ein Hinweis auf das Angstverhalten der Tiere darstellt (MW±SD). Am Tag 1 erkennt man eine signifikante Verzögerung der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppen im Vergleich zu den Tieren der Sevofluran/Ischämie-Gruppe. Die Tiere der Fentanyl-N₂O/Sham-

Gruppe zeigen an den Tagen 1 und 2 eine signifikant verlängerte Zeitdauer bis zum Besuch des ersten Loches im Vergleich zu der mit Fentanyl behandelten Ischämie-Gruppe (Abb 23).

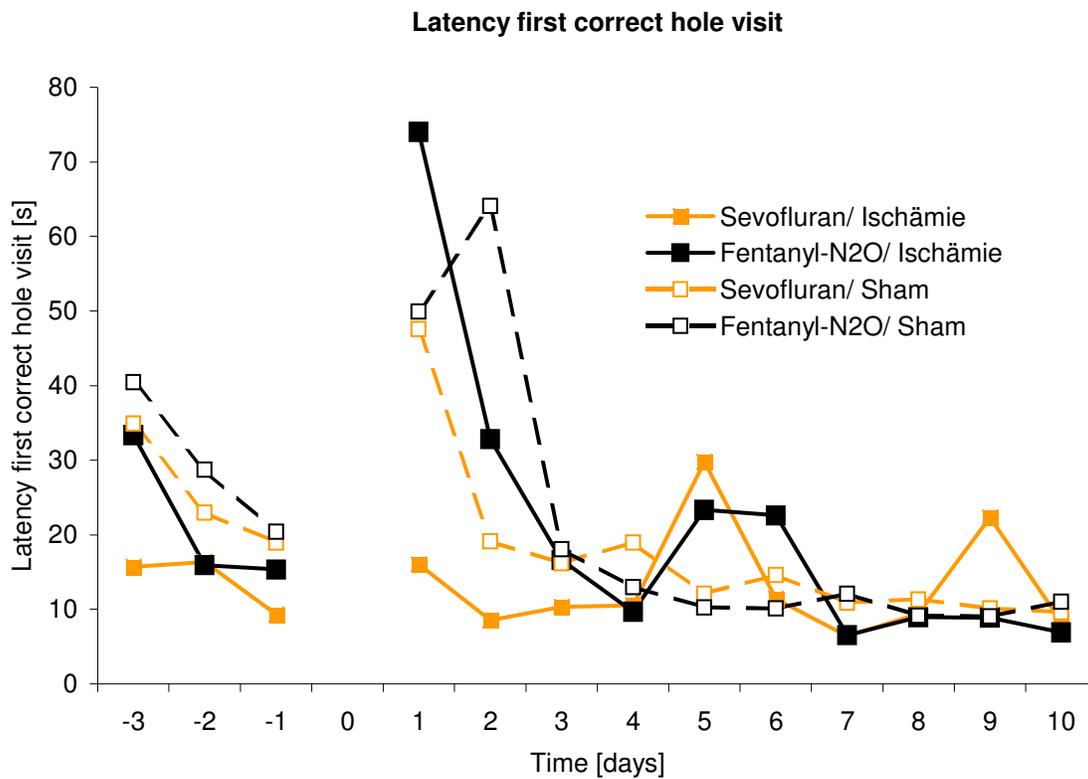


Abb 23: Zeit in sek, bis das erste markierte Loch besucht wird im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über das Angstverhalten der Tiere.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.8.2.3.2 Latency food intake (LFI)

Tab 20: Zeit pro Durchlauf in sek (MW±SD) nach der die Tiere anfangen erstmals die Futterbelohnung zu fressen (LFI) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

§=<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-
technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	18,4 ± 12,5	24,5 ± 16,4	36,8 ± 38,4	42,3 ± 56,7
Tag -2	18,0 ± 13,5	17,5 ± 14,6	24,4 ± 12,0	30,0 ± 27,9
Tag -1	10,7 ± 7,5	16,7 ± 10,7	20,7 ± 10,5	22,3 ± 17,6
	Operation			
Tag 1	17,7 ± 12,4	76,1 ± 166§	49,0 ± 55,5	51,0 ± 63,0
Tag 2	10,2 ± 4,6	18,9 ± 12,5	20,6 ± 14,8	64,9 ± 122,7
Tag 3	11,8 ± 6,6	18,2 ± 17,8	17,6 ± 9,8	19,0 ± 21,9
Tag 4	11,5 ± 8,3	10,9 ± 3,7	20,3 ± 11,9	13,9 ± 11,4
Tag 5	12,8 ± 10,9	10,4 ± 5,2	13,3 ± 5,3	11,5 ± 5,8
Tag 6	12,8 ± 9,9	10,6 ± 6,4	15,9 ± 16,4	11,5 ± 4,5
Tag 7	7,9 ± 2,1	8,4 ± 3,2	12,7 ± 5,0	13,2 ± 6,5
Tag 8	10,7 ± 8,0	9,9 ± 9,5	12,4 ± 5,1	10,0 ± 5,6
Tag 9	8,8 ± 3,2	9,9 ± 5,2	11,5 ± 5,2	10,2 ± 5,3
Tag 10	9,2 ± 3,7	8,1 ± 3,4	10,5 ± 4,5	12,1 ± 6,2

In Tab 20 wird die Zeit pro Durchlauf in sek angegeben, nach der die Tiere anfangen erstmals die Futterbelohnung zu fressen (MW±SD). Dies gibt Auskunft über das Angstverhalten der Tiere. Eine tendenzielle Verzögerung am Tag 1 tritt bei allen Gruppen außer der Sevofluran/Ischämie-Gruppe im Vergleich zum Ausgangswert auf. Dabei ist die Verzögerung bei den ischämischen Tieren bei der mit Fentanyl-N₂O behandelten Gruppe signifikant höher, verglichen mit den Sevofluran anästhesierten Tieren. Bei der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe erkennt man am Tag 2 eine Verzögerung, verglichen zum Ausgangswert (Abb 24).

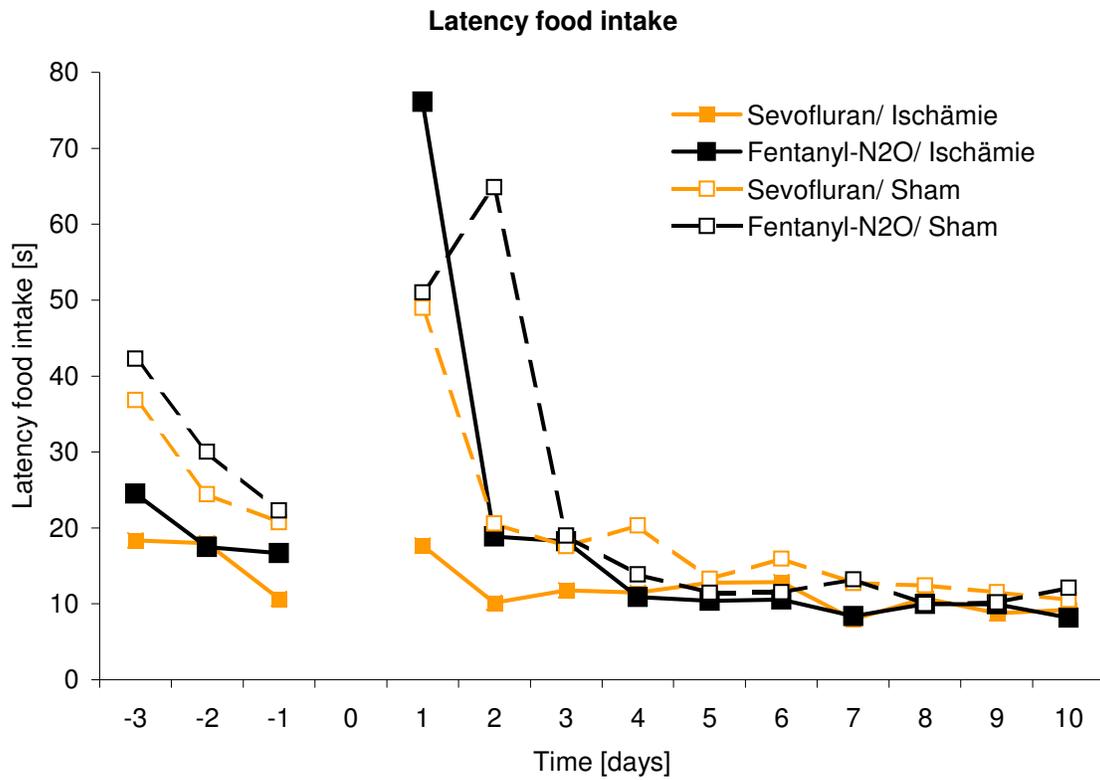


Abb 24: Zeit pro Durchlauf in sek, nach der die Tiere anfangen erstmals die Futterbe-
 lohnung zu fressen (LFI) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über
 das Angstverhalten der Tiere.

3.8.2.3.3 Group contacts (GC)

Tab 21: Zeit in sek, in denen während eines Durchlaufs Kontakt zu den Artgenossen gepflegt wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	3,4 ± 2,3	0,3 ± 0,3	13,9 ± 23,6	0,3 ± 0,2
Tag -2	1,2 ± 1,2	1,2 ± 1,1	3,8 ± 3,5	0,4 ± 0,1
Tag -1	0,6 ± 0,7	5,9 ± 8,9	1,8 ± 1,2	0,1 ± 0,1
	Operation			
Tag 1	6,0 ± 4,9	2,9 ± 1,1	1,9 ± 0,9	1,1 ± 1,2
Tag 2	2,3 ± 1,4	1,3 ± 0,9	1,2 ± 0,9	1,6 ± 0,3
Tag 3	5,3 ± 6,9	2,2 ± 2,9	1,4 ± 1,2	4,0 ± 5,5
Tag 4	1,5 ± 1,4	0,5 ± 0,7	7,1 ± 10,2	1,3 ± 0,4
Tag 5	1,9 ± 2,0	1,9 ± 2,3	0,8 ± 0,6	1,7 ± 0,7
Tag 6	2,1 ± 2,6	1,9 ± 2,0	1,0 ± 1,0	0,7 ± 0,4
Tag 7	0,5 ± 0,7	3,1 ± 4,9	1,1 ± 0,7	0,2 ± 0,2
Tag 8	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1
Tag 9	0,5 ± 0,4	0,3 ± 0,3	0,9 ± 0,7	0,4 ± 0,4
Tag 10	0,0 ± 0,0	0,9 ± 0,6	0,9 ± 0,6	1,2 ± 0,7

Tab 21 zeigt die der Gesamtzeit in sek, in denen die Tiere der Gruppen während eines Durchlaufs Kontakt zu den Artgenossen aufnehmen (MW±SD) und gibt Hinweise auf das Sozialverhalten. Die Werte weisen im gesamten Versuchszeitraum und in allen Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf und liegen durchschnittlich bei 2 bis 6 sek (Abb 25).

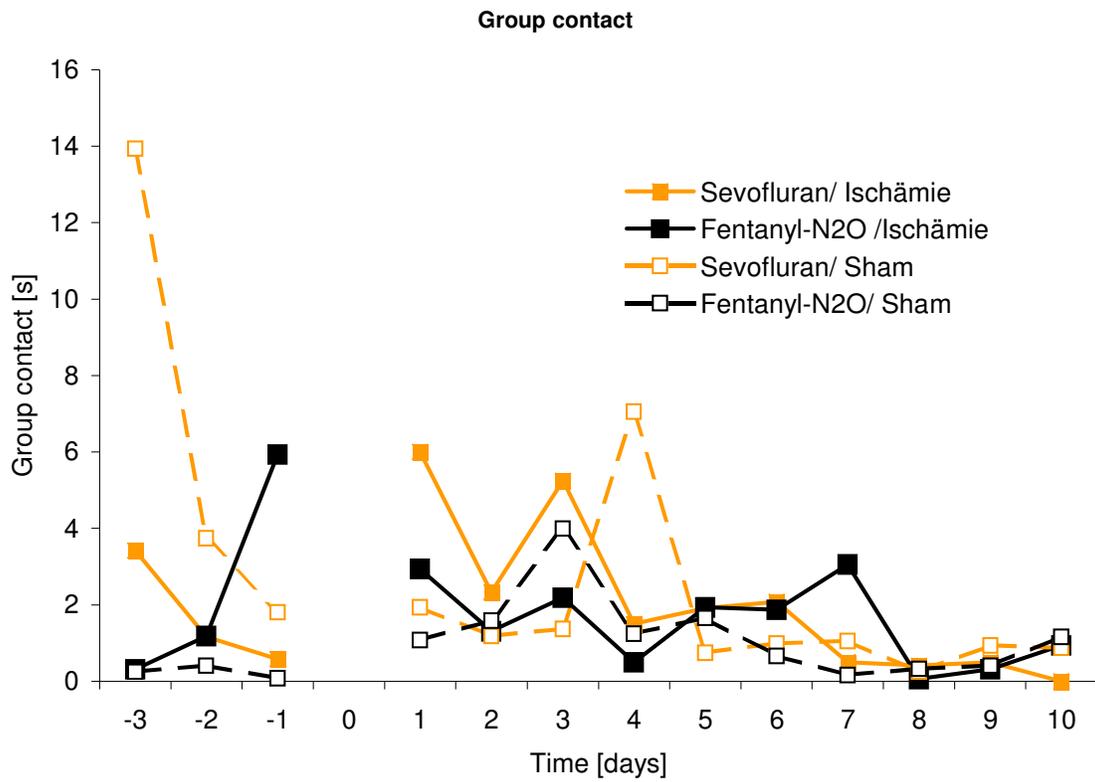


Abb 25: Zeit in sek, in denen die Tiere der Gruppen während eines Durchlaufs Kontakte zu den Artgenossen pflegen im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Sozialverhalten der Tiere.

3.8.2.3.4 Number of group contact (NGC)

Tab 22: Anzahl der Kontaktaufnahme zu den Artgenossen pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	1,1 ± 1,1	0,9 ± 1,2	3,7 ± 4,1	1,1 ± 1,2
Tag -2	0,6 ± 0,6	1,2 ± 1,0	1,9 ± 0,9	2,6 ± 2,6
Tag -1	0,4 ± 0,6	1,4 ± 1,5	1,5 ± 1,5	1,4 ± 2,1
	Operation			
Tag 1	1,1 ± 0,8	2,0 ± 1,1	2,5 ± 1,8	4,0 ± 4,9§
Tag 2	1,1 ± 1,0	1,4 ± 1,3	1,5 ± 1,8	3,7 ± 4,3§
Tag 3	0,8 ± 0,9	1,5 ± 1,4	1,7 ± 1,0	2,8 ± 3,2§
Tag 4	0,7 ± 1,0	0,9 ± 1,2	2,5 ± 1,4	2,1 ± 2,3
Tag 5	0,6 ± 0,8	0,6 ± 0,9	1,5 ± 1,2	1,5 ± 1,3
Tag 6	0,9 ± 0,9	0,6 ± 0,7	1,4 ± 1,3	1,6 ± 3,0
Tag 7	0,4 ± 0,4	0,5 ± 0,6	1,0 ± 0,6	0,9 ± 0,9
Tag 8	0,7 ± 0,9	0,3 ± 0,4	0,9 ± 0,8	0,9 ± 1,4
Tag 9	0,4 ± 0,4	0,5 ± 0,8	0,8 ± 0,4	0,3 ± 0,2
Tag 10	0,6 ± 0,8	0,6 ± 0,6	0,5 ± 0,4	0,7 ± 0,4

Tab 22 beschreibt die Anzahl der Kontaktaufnahmen zu anderen Artgenossen während eines Durchlaufs der Tiere aller Gruppen (MW±SD). Am Tag 1 bis 3 zeigen die Tiere der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe eine signifikante Erhöhung der Anzahl verglichen zu den Tieren der Sevofluran/Sham-Gruppe (Abb 26).

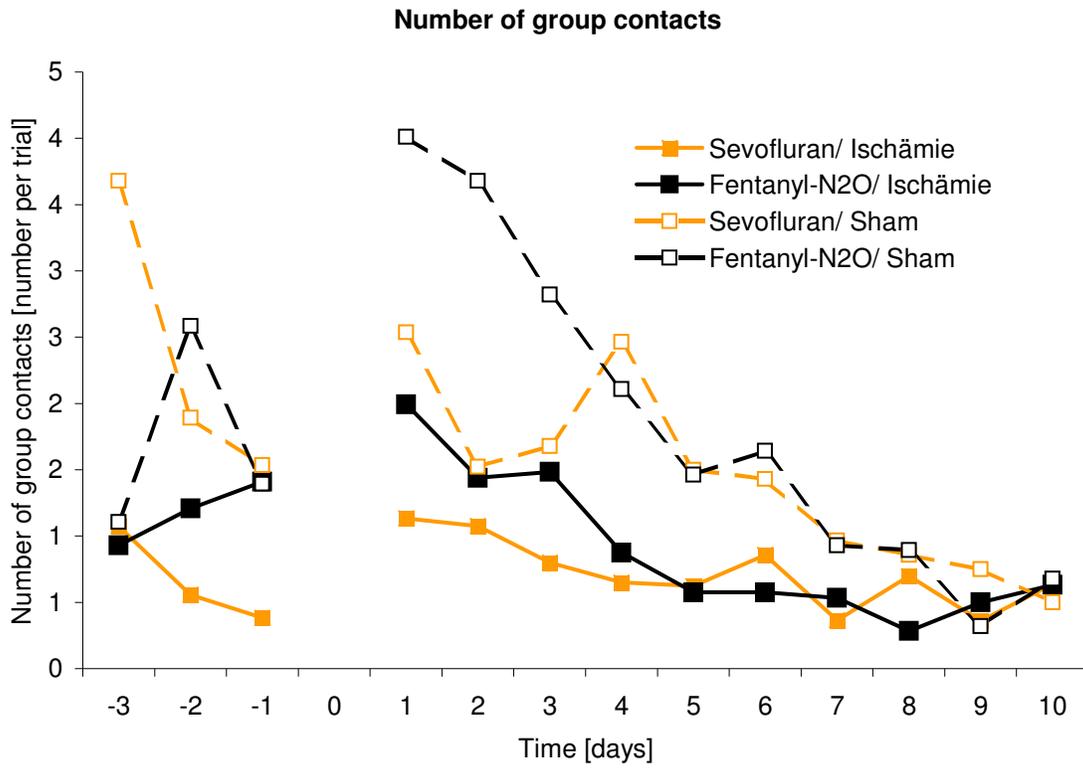


Abb 26: Anzahl der Kontaktaufnahme zu den Artgenossen pro Durchlauf im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Sozialverhalten der Tiere.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.8.2.3.5 Grooming number

Tab 23: Durchschnittliche Anzahl der Putzvorgänge aller Tiere während eines Durchlaufs (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

#=p<0,05 Sham verglichen zur Ischämie in der entsprechenden Narkosegruppe

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,3	0,0 ± 0,1
Tag -2	0,2 ± 0,4	0,0 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,0 ± 0,0
Tag -1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,2
	Operation			
Tag 1	0,1 ± 0,2	0,3 ± 0,3	0,9 ± 1,0#	0,8 ± 1,0#
Tag 2	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,3	0,6 ± 0,7#	0,7 ± 0,9#
Tag 3	0,0 ± 0,1	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,3 ± 0,5
Tag 4	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,4	0,1 ± 0,1
Tag 5	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,1	0,3 ± 0,3	0,0 ± 0,1
Tag 6	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,3
Tag 7	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2
Tag 8	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0
Tag 9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,3
Tag 10	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,1

In Tab 23 ist die Anzahl der Putzvorgänge der Ratten pro Durchlauf ersichtlich (MW±SD). Die Werte sind bei allen Tieren der vier untersuchten Gruppen zu allen Zeitpunkten konstant. Einzig bei den beiden Sham-Gruppen putzen sich die Tiere signifikant häufiger verglichen zu den Ischämie-Gruppen an den Tagen 1 und 2 (Abb 27).

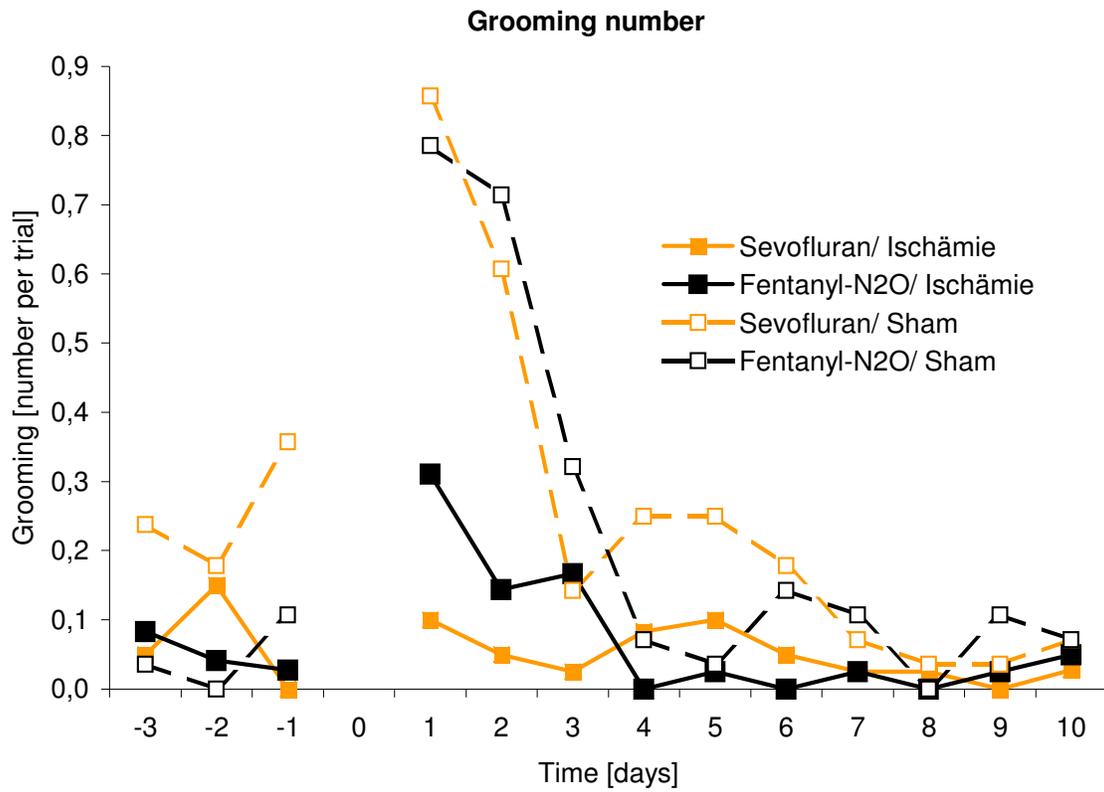


Abb 27: Anzahl der Putzvorgänge während eines Durchlaufs im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über den Erregungszustand und das Sozialverhalten der Tiere.

3.8.2.3.6 Grooming time

Tab 24: Durchschnittliche Zeit in sek, die während eines Durchlaufs für Körperpflege verwendet wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

#=p<0,05 Sham verglichen zur Ischämie in der entsprechenden Narkosegruppe

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	0,4 ± 0,8	0,2 ± 0,6	1,1 ± 1,9	0,2 ± 0,5
Tag -2	1,2 ± 2,7	0,5 ± 1,5	1,3 ± 2,0	0,0 ± 0,0
Tag -1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	1,9 ± 1,8	1,1 ± 2,4
	Operation			
Tag 1	1,1 ± 2,2	2,8 ± 3,0	8,5 ± 12,0#	8,0 ± 11,0#
Tag 2	0,6 ± 1,7	1,2 ± 2,5	3,4 ± 5,7#	6,2 ± 12,3#
Tag 3	0,5 ± 1,4	1,0 ± 2,0	1,4 ± 2,1	3,8 ± 7,8
Tag 4	0,4 ± 0,9	0,0 ± 0,0	2,1 ± 3,5	0,5 ± 1,2
Tag 5	0,8 ± 1,8	0,2 ± 0,5	1,4 ± 1,6	0,1 ± 0,3
Tag 6	0,5 ± 1,3	0,0 ± 0,0	0,7 ± 1,1	0,9 ± 1,6
Tag 7	0,1 ± 0,2	0,1 ± 0,2	0,4 ± 0,9	0,9 ± 1,6
Tag 8	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,6	0,0 ± 0,0
Tag 9	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,7	0,2 ± 0,4	0,8 ± 2,0
Tag 10	0,1 ± 0,3	0,4 ± 0,8	0,1 ± 0,3	0,6 ± 1,0

In der Tab 24 ist die Dauer der Putzvorgänge eines Durchlaufs der Tiere aller Gruppen dargestellt (MW±SD). An den Tagen 1 und 2 bei den beiden Sham-Gruppen fällt ein signifikanter Anstieg der Dauer auf, verglichen zu den Ischämie-Gruppen. Bei den Tieren der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe ist am Tag 1 nur ein geringer Anstieg der Putzdauer zu beobachten (Abb 28).

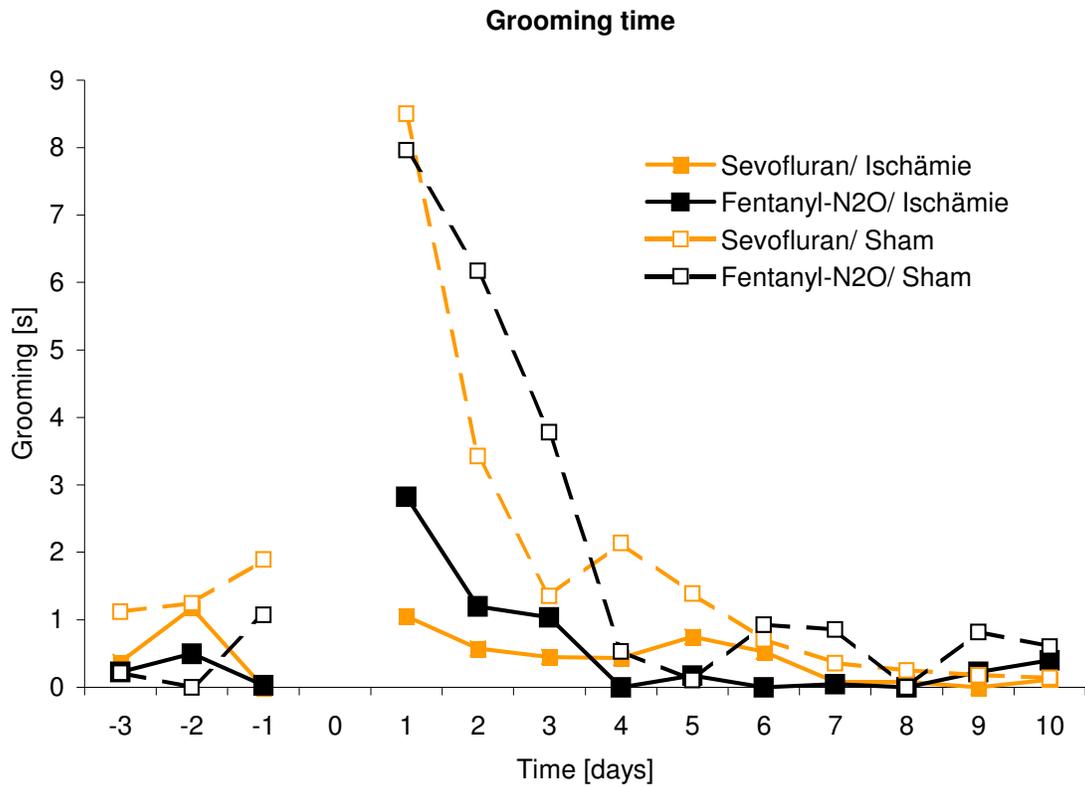


Abb 28: Zeit in sek, die während eines Durchlaufs für Körperpflege verwendet wird im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Erregung der Tiere.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.8.2.3.7 Rearing

Tab 25: Durchschnittliche Anzahl des „Männchen machens“ während eines Durchlaufs (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	0,9 ± 1,6	0,7 ± 0,9	1,9 ± 2,3	1,5 ± 1,6
Tag -2	0,7 ± 1,2	0,5 ± 0,6	1,4 ± 1,1	1,7 ± 1,8
Tag -1	0,6 ± 0,8	0,8 ± 1,0	1,2 ± 0,8	1,0 ± 0,7
	Operation			
Tag 1	0,7 ± 1,1	1,0 ± 1,4	1,8 ± 1,8	2,0 ± 2,0
Tag 2	0,7 ± 1,3	0,5 ± 0,6	1,3 ± 1,0	1,8 ± 1,3
Tag 3	0,7 ± 0,9	0,7 ± 1,2	1,2 ± 1,4	1,0 ± 1,0
Tag 4	0,8 ± 1,3	0,2 ± 0,3	1,9 ± 1,1	1,4 ± 1,0
Tag 5	0,5 ± 0,8	0,1 ± 0,2	0,5 ± 0,3	0,8 ± 0,8
Tag 6	0,6 ± 1,2	0,3 ± 0,4	1,1 ± 1,2	1,1 ± 1,4
Tag 7	0,5 ± 0,7	0,4 ± 0,6	0,8 ± 0,6	0,8 ± 0,5
Tag 8	0,5 ± 0,7	0,5 ± 0,5	1,1 ± 0,9	0,7 ± 0,4
Tag 9	0,7 ± 0,7	0,6 ± 1,1	1,1 ± 0,8	0,5 ± 0,4
Tag 10	1,0 ± 1,2	0,7 ± 1,4	0,7 ± 0,5	0,8 ± 0,5

Die Häufigkeit des Aufrichtens auf die Hinterbeine während eines Durchlaufs wird in Tab 25 dargestellt (MW±SD) und gibt Hinweise auf ungerichtete Erkundungsmotivation der Tiere. Tendenziell richten sich die Tiere der Sevofluran/Sham-Gruppe am Tag 1 und 4, die Tier der Gruppe Fentanyl-N₂O/Sham am Tag 1, 2 und 4 häufiger auf verglichen zu den anderen Versuchsgruppen. Es sind jedoch keine signifikanten Unterschiede zu erkennen (Abb 29).

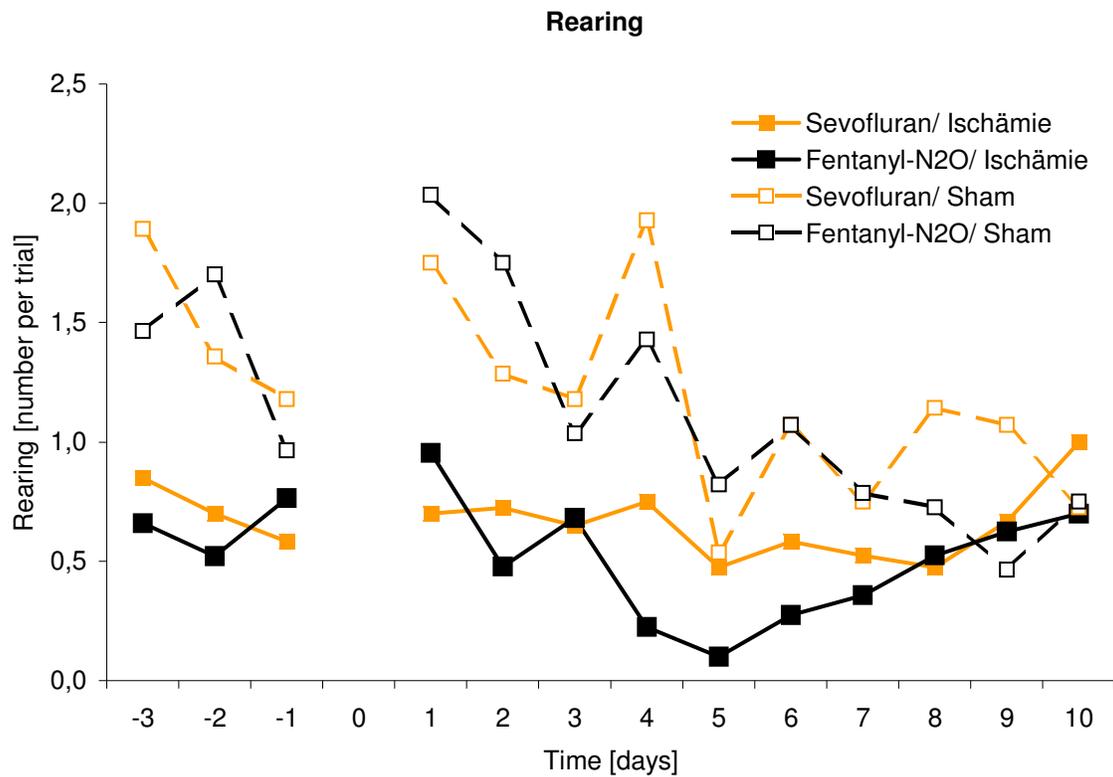


Abb 29: Durchschnittliche Anzahl des „Männchen machens“ während eines Durchlaufs im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die ungerichtete Erkundungsmotivation der Tiere.

3.8.2.3.8 Bolus

Die Tiere aller Gruppen zeigen während der gesamten Testphase keine Tendenz vermehrt Kot abzusetzen und somit ergeben sich keinerlei signifikanten Unterschiede.

3.8.2.3.9 Latency first entry on board (LFEB)

Tab 26: Zeitspanne in sek bis das Hole-Board erstmals betreten wird pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	6,4 ± 4,0	6,7 ± 5,6	9,4 ± 8,5	6,0 ± 4,4
Tag -2	4,7 ± 3,7	6,0 ± 4,9	9,9 ± 4,2	4,6 ± 3,2
Tag -1	4,1 ± 2,2	6,4 ± 5,4	7,4 ± 3,0	5,1 ± 3,9
	Operation			
Tag 1	5,3 ± 3,7	8,7 ± 10,4	5,5 ± 3,4	5,4 ± 3,2
Tag 2	4,2 ± 2,1	5,8 ± 3,8	4,5 ± 3,1	8,8 ± 10,1
Tag 3	4,2 ± 2,2	7,2 ± 8,8	5,8 ± 3,2	5,2 ± 3,6
Tag 4	4,6 ± 4,4	4,4 ± 2,4	5,8 ± 3,3	5,5 ± 2,6
Tag 5	5,1 ± 4,9	3,2 ± 1,5	6,3 ± 4,0	4,0 ± 1,5
Tag 6	4,6 ± 4,5	2,7 ± 1,0	4,6 ± 1,8	3,8 ± 1,9
Tag 7	3,9 ± 1,9	3,2 ± 2,2	4,6 ± 1,8	3,7 ± 2,3
Tag 8	3,9 ± 2,3	2,9 ± 1,7	4,3 ± 2,1	3,3 ± 1,8
Tag 9	3,5 ± 1,1	5,0 ± 4,4	5,0 ± 2,6	3,5 ± 2,6
Tag 10	3,8 ± 2,3	3,5 ± 1,6	3,4 ± 1,5	3,5 ± 1,9

Tab 26 gibt die Dauer in sek an (MW±SD), die die Tiere nach dem Einsetzen in die Versuchsarena benötigen, um das Hole-Board zu betreten (LFEB) und beschreibt die Motivation der Tiere. Die Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe zeigt eine tendenzielle Verlängerung der Dauer am Tag 1 verglichen zur Sevofluran/Ischämie-Gruppe. Am Tag 2 ist eine tendenzielle Verzögerung der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe zu erkennen im Vergleich zu den anderen Gruppen an Tag 2 bzw. zum Ausgangswert. Die mit Sevofluran behandelten Tiere zeigen keine Unterschiede in den Tagen nach der Operation verglichen mit den Tagen davor. Ab Tag 5 nimmt die LFEB bei allen Gruppen kontinuierlich ab, d.h., die Tiere betreten das Hole-Board im Laufe des Versuchs immer schneller (Abb 30).

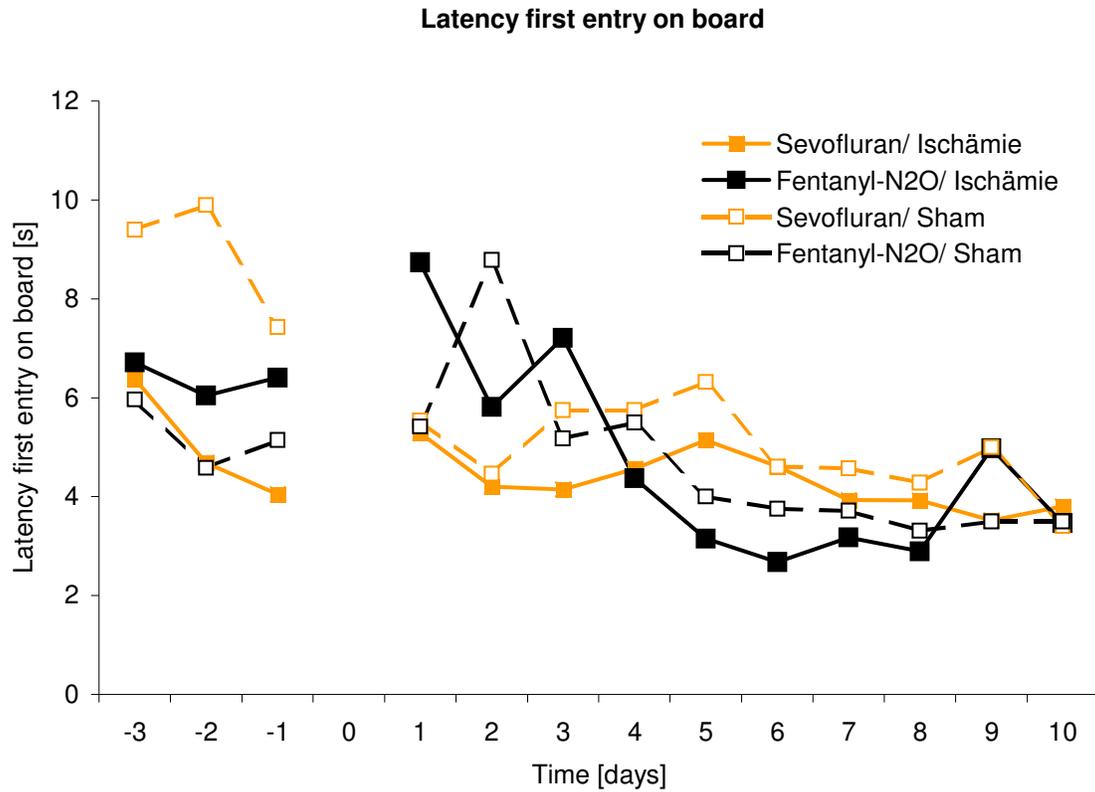


Abb 30: Zeitspanne in sek bis das Hole-Board erstmals von den Tieren aller Gruppen betreten wird pro Durchlauf im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über die Motivation der Tiere.

3.8.2.4 Hole-Board-Parameter, die das Allgemeinbefinden betreffen

3.8.2.4.1 Food intake (FI)

Tab 27: Zeit in sek pro Durchlauf, die für die Futteraufnahme verwendet wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	15,9 ± 4,5	18,7 ± 5,9	20,3 ± 5,8	16,5 ± 6,6
Tag -2	14,9 ± 3,9	18,0 ± 5,9	19,3 ± 7,0	17,6 ± 4,5
Tag -1	15,5 ± 4,2	18,7 ± 6,8	22,0 ± 8,2	18,7 ± 8,5
Operation				
Tag 1	17,4 ± 4,2	28,7 ± 14,7§	22,9 ± 4,5	18,4 ± 3,3
Tag 2	18,7 ± 6,1	27,4 ± 20,1	26,0 ± 9,3	15,0 ± 4,9
Tag 3	16,6 ± 5,1	20,5 ± 9,3	20,5 ± 7,3	20,1 ± 8,3
Tag 4	15,6 ± 5,2	21,1 ± 10,6	22,9 ± 6,3	19,3 ± 10,1
Tag 5	14,3 ± 5,5	18,3 ± 4,7	21,0 ± 7,7	16,9 ± 5,9
Tag 6	15,4 ± 5,4	16,8 ± 3,8	19,0 ± 4,8	18,0 ± 5,1
Tag 7	15,0 ± 6,2	17,5 ± 3,7	20,8 ± 4,0	16,4 ± 6,5
Tag 8	15,9 ± 6,4	17,1 ± 2,7	18,8 ± 5,5	16,5 ± 8,8
Tag 9	16,9 ± 5,5	16,1 ± 3,2	18,8 ± 5,6	15,4 ± 7,7
Tag 10	16,2 ± 6,9	16,0 ± 4,5	19,2 ± 4,8	16,6 ± 5,8

In Tab 27 ist die Zeitdauer dargestellt, die die Tiere während eines Durchlaufs an den jeweiligen Testtagen mit dem Fressen der Futterbelohnung verbringen (MW±SD). Sie liegt im Allgemeinen zwischen 15 und 25 sek. Bei den Tieren der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe steigt sie signifikant am Tag 1 von 18,7 auf 28,7 sek an und am Tag 2 auf 27,4 sek im Vergleich zur Sevofluran/Ischämie-Gruppe. Die Sevofluran Tiere weisen kaum Schwankungen auf (Abb 31).

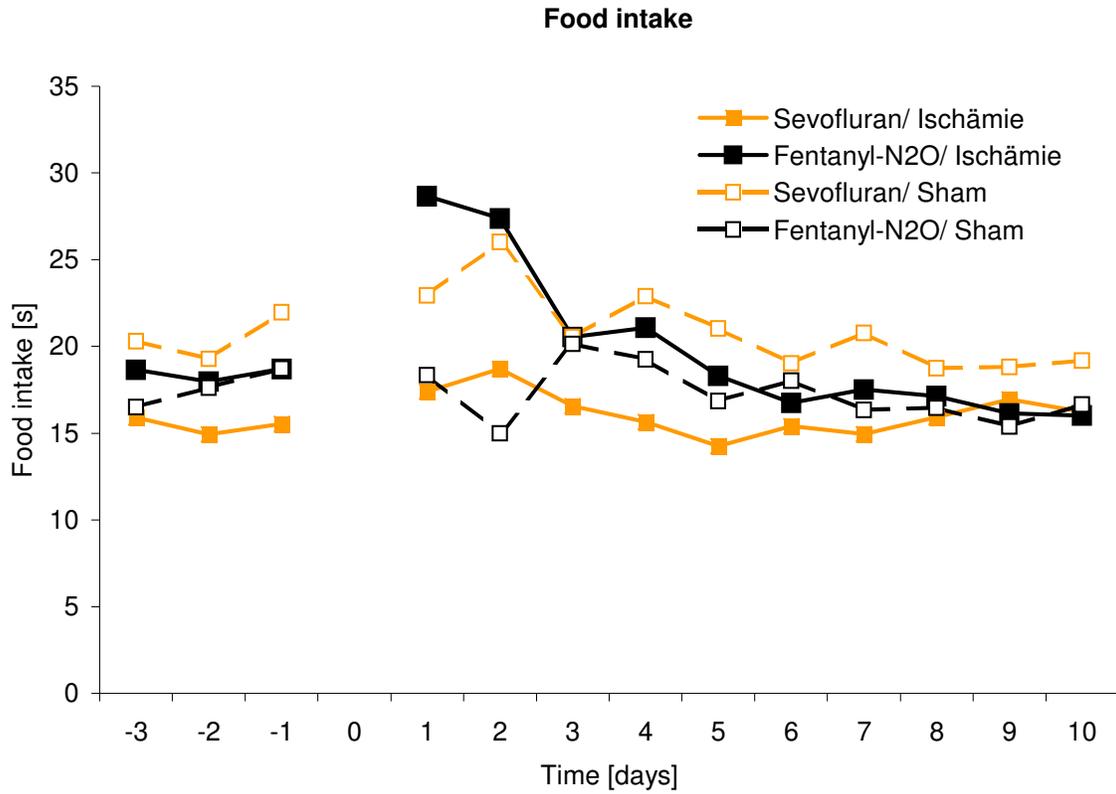


Abb 31: Zeit in sek pro Durchlauf, die für die Futteraufnahme verwendet wird im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Geschicklichkeit und das Angstverhalten der Tiere.

3.8.2.4.2 Time immobile (TI)

Tab 28: Zeit in sek, die die Tiere während eines Durchlaufs verharren, ohne sich zu bewegen (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.

#=p<0,05 Sham verglichen zur Ischämie in der entsprechenden Narkosegruppe

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

Versuchstag	<i>Ischämie</i>		<i>Sham</i>	
	Sevofluran (n= 10)	Fentanyl-N ₂ O (n= 10)	Sevofluran (n= 7)	Fentanyl-N ₂ O (n= 7)
Tag -3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,5 ± 1,3	18,0 ± 38,9
Tag -2	0,0 ± 0,0	4,2 ± 14,0	0,2 ± 0,4	5,4 ± 10,6
Tag -1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	5,8 ± 14,1
	Operation			
Tag 1	0,0 ± 0,0	22,1 ± 50,6§	22,6 ± 55,3#	45,0 ± 70,6§
Tag 2	0,0 ± 0,0	10,5 ± 31,7	0,0 ± 0,0	45,6 ± 75,9§
Tag 3	0,0 ± 0,0	16,0 ± 50,7	0,0 ± 0,0	22,7 ± 43,7§
Tag 4	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,6	0,0 ± 0,0	3,2 ± 5,8
Tag 5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,7
Tag 6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,8 ± 9,4
Tag 7	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,8	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,6
Tag 8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,8 ± 4,5
Tag 9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Tag 10	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

In Tab 28 ist dargestellt, wieviele sek eines Durchlaufs die Tiere desinteressiert und unbeweglich in einer Position verharren. Diese Werte geben Hinweise auf das Wohlbefinden und mögliche Angst der Tiere. Die Tiere sind an den zwei letzten Tagen vor der Operation während eines Durchlaufs nie länger als 6 sek nicht beschäftigt. Bei den Tieren der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe steigen die Werte an Tag 1, 2 und 3 auf 45 ± 70,6 bzw 45,6 ± 75,9 bzw. 22 ± 43 sek signifikant an, verglichen zu den Tieren der Sevofluran/Sham-Gruppe. Auch die

Tiere der Sevofluran/Sham und Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe zeigen einen Anstieg an Tag 1 auf $22,6 \pm 55,3$ bzw. $22,1 \pm 50,6$ sek. Der Anstieg letzter genannten Gruppe ist signifikant erhöht verglichen zu den Sevofluran/Ischämie-Tieren. Ab Tag 4 sind die Ausgangswerte wieder erreicht. Die Tiere der Sevofluran/Ischämie-Gruppe zeigen zu keinem Zeitpunkt eine Inaktivität (Abb 32).

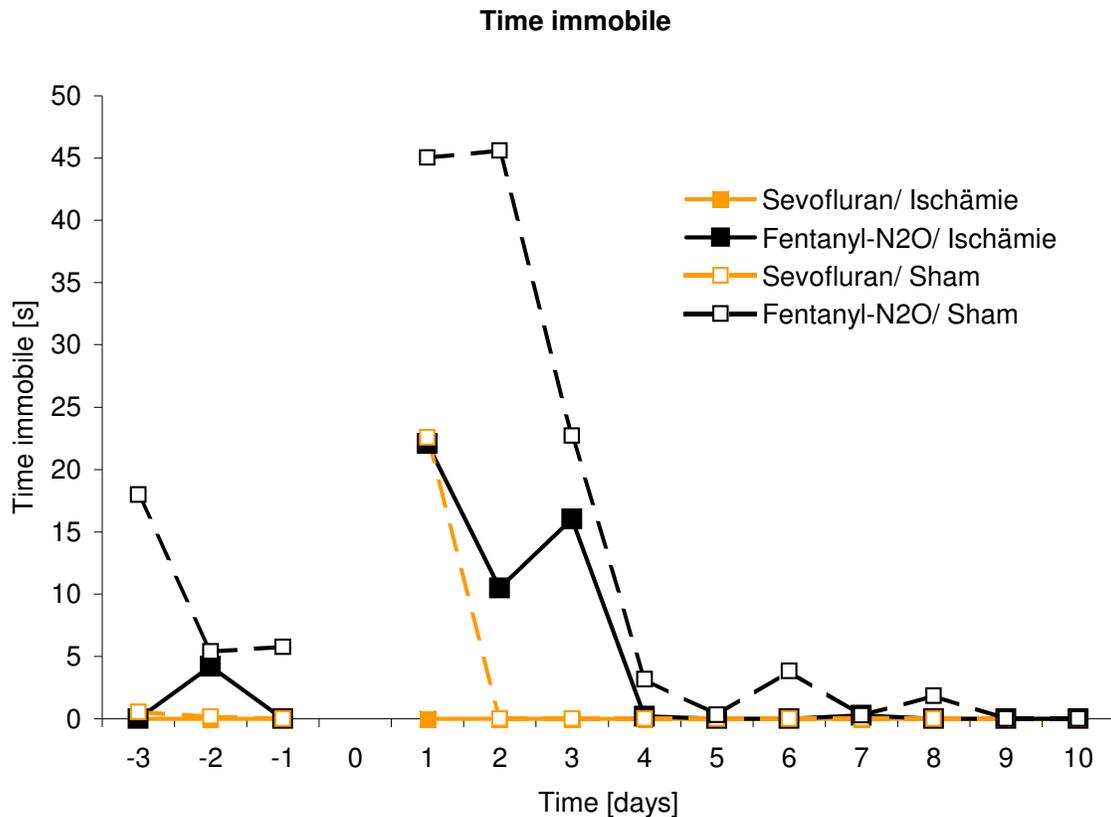


Abb 32: Zeit in sek, die die Tiere während eines Durchlaufs verharren, ohne sich zu bewegen im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Wohlbefinden und Angstverhalten der Tiere.

3.8.2.5 Histologischen Befunde

3.8.2.5.1 Punktebewertung des hippocampalen Zellschadens

Tab 29: Hippocampaler Zellschaden in der CA1-, CA2-, CA3- und CA4-Region und im Gyrus dentatus (GD) in der ischämischen Hemisphäre der zwei verschiedenen Behandlungsgruppen. Skala von 0 bis 25.

#=p<0,05 Sham verglichen zur Ischämie in der entsprechenden Narkosegruppe

§=p<0,05 Sevofluran verglichen mit Fentanyl-N₂O in der entsprechenden Präparations-technik

<i>Sevofluran/Ischämie</i>										
Rattenummer	1	5	6	9	10	12	21	28	29	30
CA 1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
CA 2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
CA 3	0	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0
CA 4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
GD	0	2,3	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0

<i>Fentanyl-N₂O/Ischämie§#</i>										
Rattenummer	4	7	8	11	16	18	25	26	31	32
CA 1	2,3	3	0	3	2,7	0	2,7	0	3,7	0
CA 2	2,3	3	0	3	2	0	3,3	0	3,3	0
CA 3	2	3	0	3	0	0	3,3	0	3,7	0
CA 4	2	3,3	0	3	0,7	0	2	0	3,3	0
GD	3	2	0	2	0	0	2	0	4	0
Summe	11,6	14,3	0	14	5,4	0	13,3	0	18	0

Der Tab 29 ist das Ausmaß des hippocampalen Zellschadens nach HE-Färbung mit Hilfe einer Punkteskala zu entnehmen. Die Histopathologie des Hippocampus zeigt signifikant stärkere Schäden in der ischämischen Hemisphäre bei den Fentanyl-N₂O behandelten Tieren verglichen zu den Sham Tieren oder der Sevofluran Ischämie-Gruppe (siehe auch Abb 33). Die

Anzahl der eosinophilen Zellen ist ähnlich in den CA1-, CA2-, CA3- und CA4-Regionen des Hippocampus und des Gyrus dentatus der Tiere. Die Sham behandelten Ratten zeigen keinerlei eosinophile Zellen in der ipsilateralen Hemisphäre. Die contralateralen Hemisphären zeigen sowohl in sham und ischämisch behandelten Tiergruppen keinerlei eosinophile Zellen.

3.8.2.5.2 Histologische Präparate

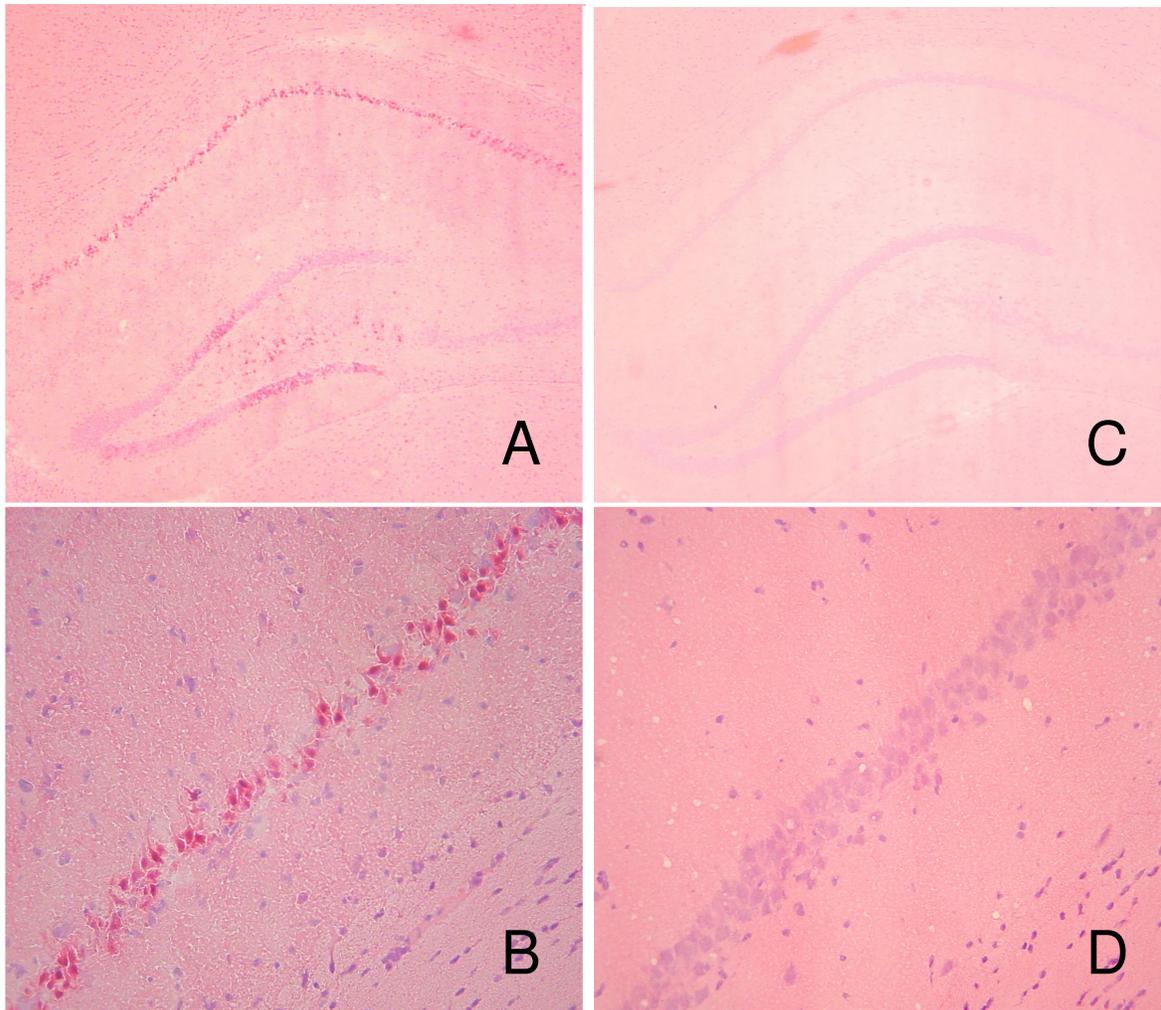


Abb 33: Übersichtsaufnahme (A) und Detailaufnahme (B) der H.E.-Färbung in der ipsilateralen Hemisphäre des Hippocampus eines ischämischen Fentanyl-N₂O-Tieres (Tier Nr. 7). Übersichtsaufnahme (C) und Detailaufnahme (D) der H.E.-Färbung in der ipsilateralen Hemisphäre des Hippocampus eines ischämischen Sevofluran-Tieres (Tier Nr. 28).

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

In Abb 33 wird das Ausmaß des ischämischen Schadens sichtbar. Eine signifikant auftretende Eosinophilie der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe (vertreten durch das Tier 7) (Nr. A und B) verglichen zu der Sevofluran/Ischämie-Gruppe (vertreten durch Tier 28) (Nr. C und D) ist bei den histologischen Bildern erkennbar.

4. DISKUSSION

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Der Hole-Board-Test

Als Schlüsselfaktor für die Aussagekraft der erhaltenen Daten bei der Untersuchung kognitiver Prozesse dient neben der Auswahl des Tiermodells auch das eingesetzte Testparadigma.

Der Hole-Board-Test modifiziert nach OHL et al. (1998) wird ursprünglich für Spitzmäuse (*Tupaia belangeri*), die zur Familie der Insektenfresser gehören, entwickelt, um die Auswirkungen von chronisch psychosozialem Stress auf kognitive Prozesse zu untersuchen.

Im Vergleich zu den Tupaia ist der Hole-Board-Test bei Ratten, die zur Familie der Nagetiere gehören, aufwendiger, da Ratten eine längere Trainingsphase benötigen, um stabile Ausgangswerte bei diesem kognitiven Test aufzuweisen. Die Ratten erreichen ihre Ausgangswerte nach den vorliegenden Untersuchungen ca. ab dem 10. Tag, die Spitzmäuse hingegen bereits ab dem 2. Tag (OHL et al. 1998).

Es ist wichtig, ein den Fähigkeiten der zu testenden Spezies entsprechendes Paradigma anzuwenden, das zugleich das Abfragen aussagefähiger kognitiver Prozesse erlaubt.

Dies wird erfüllt durch die dem natürlichen Futtersuchverhalten der Ratten ähnlichem Aufsuchen der Futterbelohnung im modifizierten Hole-Board-Paradigma. Auch hier wird, wie in der Natur am Boden, das Öffnen der Löcher des modifizierten Hole-Boards mit Pfote und Schnauze bewerkstelligt, wofür die Ratte nur eine geringe Anstrengung aufbringen muss. Damit wird den natürlichen Lebensbedingungen der Ratte weitestgehend entsprochen.

Außerdem durchlaufen die Tiere den modifizierten Hole-Board-Test ohne Wasser-und/oder Futterentzug oder anderen Stressoren, wie Schwimmen (siehe Morris-Water-Maze), welche zur Motivationssteigerung bei Nagetieren häufig eingesetzt werden (POOLE 1997).

Auch ermöglicht das Paradigma das Testen der Tiere in ihrem Heimkäfig und verhindert somit eine zusätzliche Belastung durch einen Transport zu einer speziellen Testvorrichtung und den Aufenthalt unter veränderten Umgebungsbedingungen. Diese Faktoren erhöhen die Motivation den Test zu absolvieren im Vergleich zu anderen kognitiven Tests und führen zu einer Verbesserung der Leistung über den gesamten Testzeitraum. Die verbesserte Leistung zu Beginn der Testperiode und nachfolgend der Anästhesie/Ischämie zeigt, wie wichtig die Motivation zur erfolgreichen Absolvierung des Tests ist. Die Tatsache, dass Ratten mit signifikanter Hippocampusverletzung ihre Leistung verbessern können, bis hin zu einem ähnlichen Status

wie bei nicht-ischämischen Tieren, ist vielleicht begründet in Plastizitätsprozessen im Gehirn der Testtiere.

Die Testdurchführung in vertrauter Umgebung mit ständigem Geruchs- und Sichtkontakt zu den bekannten Artgenossen trägt zur Stressreduzierung bei. Verhaltensstudien an Ratten in Gruppen- und Einzelhaltung haben ergeben, dass Tiere mit sozialen Kontakten mehr an ihrer Umwelt teilhaben und ein ausgeprägteres Erkundungsverhalten, sowie eine höhere motorische Aktivität aufweisen, als Tiere in Einzelhaltung (STERN et al. 1960, THIESSEN et al. 1962).

Nur so ist eine objektivierte Beurteilung von Motivation und Angst der Ratten gewährleistet. Beim Hole-Board-Test beziehen sich die Fehler, also das Öffnen eines nicht markierten Loches, auf von der Ratte erlernte Information, die von Tag zu Tag konstant bleibt. Damit wird das deklarative Gedächtnis (Langzeitgedächtnis) angesprochen, d.h. bewusstes Erinnern an gelernten Informationen und von Fakten über die Einrichtung und Umgebung. Wiederholungen, definiert als wiederholtes Öffnen eines markierten Loches innerhalb eines Durchlaufs, beziehen sich auf Informationen, welche von Tag zu Tag und von Durchlauf zu Durchlauf variieren, da die Tiere sich nur kurzzeitig merken müssen, welche Löcher sie schon geöffnet haben. Damit kann man Aussagen über das Arbeitsgedächtnis (Kurzzeitgedächtnis) treffen (OHL und FUCHS 1999), dessen Sitz dem präfrontalen Cortex zugeordnet wird (DUNNET 1990).

Letztendlich besteht ein weiterer Vorteil des Hole-Board-Tests in der Möglichkeit der Differenzierung zwischen neurokognitiven Leistungen, welche empfindlich auf hippocampale Verletzungen reagieren (wie in vorliegender Studie) und Motivationsparameter, welche nicht sensibel auf Hippocampusverletzungen reagieren.

Tests, mit denen das Arbeitsgedächtnis beurteilt wird, sind äußerst störanfällig, da sie flexible Reiz-Reaktions-Assoziationen erfordern (OLTON et al. 1979). Deshalb wird während der Testdurchführung auf eine ruhige und störungsfreie Umgebung geachtet. Nur bestimmte Personen betreten den Raum bzw. führen den Test durch.

Insgesamt werden dadurch unkontrollierbare und zusätzlich für den Test belastende Faktoren vermieden. Dennoch muss erwähnt werden, dass der zeitlich versetzte Beginn der Lernphase der einzelnen Tiere und das damit verbundene Umkleben der markierten Löcher zwischen den einzelnen Durchläufen aller Tiere als Störung gewertet werden kann. Auch ist nicht endgültig auszuschließen, dass trotz des Auswischens der Löcher mit Johannisbeeraromalösung eine gewisse Geruchsorientierung beim Absolvieren des Tests eine Rolle spielt.

Ein zusätzlicher Nachteil liegt in dem sehr hohen Aufwand der Testdurchführung. Außerdem können evtl. Krankheiten (unabhängig von der Ischämie, z.B. Rattenschnupfen) der Tiere die Aussage einschränken.

4.1.2 Ischämiemodell

Ausprägung und Ursachen des menschlichen ischämischen Infarkts sind vielfältig und in ihrer Komplexität im Tiermodell nicht vollgültig nachvollziehbar.

Daher ist es unerlässlich mit einfach reproduzierbaren und kontrollierten In-vivo-Tiermodellen zu arbeiten, um Studien zur cerebralen Ischämie durchzuführen. Dafür sprechen mehrere Gründe.

Invasive Verfahren und direkter Zugang zum Hirngewebe sind zur vollständigen histopathologischen, biochemischen und physiologischen Untersuchung nötig.

Der zeitliche Verlauf ist im Tiermodell steuerbar und eine Überwachung und Kontrolle verschiedener Parameter ist vor, während und nach der cerebralen Ischämie möglich.

Dabei ist die Verwendung von Ratten vorteilhaft und wünschenswert, da sie eine mit dem Menschen vergleichbare Anatomie und Physiologie aufweisen, eine größere ethische Akzeptanz als beispielsweise Hunde und Katzen besitzen und geringere Kosten verursachen als größere Spezies.

Um eine cerebrale Ischämie zu induzieren stehen mehrere Rattenmodelle zur Verfügung (siehe Kapitel 2.3).

Ziel des vorliegenden Ischämiemodells ist es, eine temporäre inkomplette cerebrale Ischämie mit Reperfusion im Rattenhirn zu erhalten. Dabei wird ein ausgeprägter Schaden in den selektiv vulnerablen Neuronen der Hippocampusformation verursacht. Der Grund warum in dieser Studie das Ischämiemodell verwendet wird, liegt an der klinischen Konstellation nach Trauma, Ligatur hirnversorgender Gefäße oder cardiopulmonaler Reanimation, wie sie in der Anästhesie und Intensivmedizin häufig vorkommen.

Nur bei noch erhaltener Restdurchblutung des Gehirngewebes können Anästhetika zu dem ischämischen Bezirk gelangen und dort wirksam werden. Aus diesem Grund wird bei dem angewandten Versuchsmodell eine inkomplette cerebrale Ischämie induziert. Ziel der vorliegenden Studie ist es, anhand dieser regionalen inkompletten cerebralen Ischämie zu untersuchen, wie das volatile Anästhetikum Sevofluran das neurokognitive Endergebnis beeinflusst. Als vergleichende Anästhesieform wird Fentanyl/ Lachgas eingesetzt, da diese Kombination hinsichtlich des cerebralen Blutflusses und Stoffwechsels sowie der Reaktionsfähigkeit des sympathischen Nervensystems dem Zustand eines wachen Patienten vergleichbar ist und

nachweislich keine hirnpotektive Wirkung besitzt (BAUGHMAN et al. 1988). Da es sich bei beiden Anästhesieformen in der vorliegenden Dosierung um sehr flache Narkosen handelt (2% Sevofluran liegt unter dem MAC für Ratten), wird, um Spontanbewegungen zu vermeiden das kurzwirkende Muskelrelaxans während der 90 minütigen Versuchsphase verabreicht. Dabei werden in vorliegender Studie Sprague-Dawley Ratten eingesetzt, da sich dieser Rattenstamm aus eigener Erfahrung gut für diese Art von Operation eignet, da bekannt ist, dass diese Tiere eine relativ konstante cerebrale Blutversorgung besitzen.

4.1.3 Klinisch neurologische und motorische Tests

Im Rahmen der vorliegenden Studie wird ein Punktbewertungssystem zur Untersuchung des klinisch-neurologischen Verhaltens angewandt. Dabei erfolgt eine Einteilung in fünf verschiedene Kategorien, die in kurzer Zeit ausführbare Testmethoden enthalten. Ziel dieser Untersuchung soll es sein, einen möglichst umfangreichen Überblick über das gesamte Verhaltensspektrum der Ratte zu erhalten, das für die Aussagekraft über die protektive Wirkung einer Substanz bei inkompletter cerebraler Ischämie von Bedeutung ist. Kenntnisse über die allgemeinen Verhaltensweisen von Ratten werden dabei vorausgesetzt. Hierbei muss auf eine technische Durchführbarkeit der Versuchsmethoden im Laborbetrieb, aber insbesondere auf eine gute Aussagekraft der Tests über die bei einseitig cerebral geschädigten Ratten zu erwartenden Defizite geachtet werden. Mit dem eingesetzten Tiermodell werden vorrangig hippocampale Strukturen im Rattenhirn geschädigt. Schädigungen des Hippocampus als Teil des limbischen Systems stellen sich für den Betrachter in erster Linie in kognitiven Leistungsstörungen des deklarativen und räumlichen Gedächtnisses dar (siehe Kapitel 2.6.2.5), welche ohne signifikante Veränderungen in der Motorik der Tiere auftreten können. Aufgrund seiner Verbindung über weit verzweigte Bahnsysteme mit der Großhirnrinde sind auch motorische Verhaltensstörungen denkbar, da cortical das Zentrum der Willkürmotorik angesiedelt ist (HALL und LINDHOLM 1974). Oben genanntes Bewertungssystem ist weitgehend auf das motorische Verhalten bezogen und erschwert somit eine objektive Beurteilung des emotionalen Verhaltens der Tiere.

Der neurologische Score beinhaltet verschiedene Testkategorien:

In der Testkategorie „Bewusstsein“ (siehe Kapitel 3.5.4.5.2) (SQUIRE et al. 1993) wird dagegen das Spontan- und Erkundungsverhalten der Tiere bewertet, das eine wesentliche Aussage über das Allgemeinbefinden treffen kann. Gewisse Schwierigkeiten stellen hierbei die Subjektivität in der Beurteilung der Emotionalität eines Tieres dar. Zudem ist viel Erfahrung nötig, um die vielschichtigen Reaktionen der Tiere richtig einzuordnen. Aus diesem Grund muss

man nach Möglichkeiten suchen, das für die Beurteilung des neurologischen Zustandes der Ratte sehr wichtige Allgemeinbefinden mit objektiveren Messmethoden in die Bewertung des klinisch neurologischen Endergebnisses mit einzubeziehen.

Die Emotionalität, das Erkundungsverhalten, die Bewegungsmotivation und viele motorische Asymmetrien können bereits während der Testphase im Hole-Board-Test beurteilt werden (BROADHURST 1957, LAININGER 1989). Dieser Test ist in der Untersuchungsmethodik der hier vorliegenden Arbeit indirekt bei der Testkategorie „Laufen“ (siehe Kapitel 3.5.4.5.2) integriert.

Die Muskelkraft, als Ausdruck des neurologischen Zustandes, ist in der Testkategorie „Kletterverhalten“, in Form eines Greif-Zug-Tests (siehe Kapitel 2.9.2.5) berücksichtigt.

Bei der Testkategorie „Drehendes Gitter“ (siehe Kapitel 3.5.4.5.2) wird ebenfalls die Muskelkraft beurteilt. Sobald sich die Tiere aus der Rückenlage unter dem Gitter fallen lassen, kann man zusätzlich den Stellreflex (siehe Kapitel 2.9.2.5) beim Fallverhalten beurteilen und in das Bewertungsschema zu integrieren. Der Nutzen dieses Testes für dieses Untersuchungsschema wird aber durch die Tatsache in Frage gestellt, dass der Stellreflex v.a. auf Ebenen des Mittelhirns verschaltet wird (KOLB und WHISHAW 1985). Dadurch wird nur eine unzureichende Aussage über die im vorliegenden Modell v.a. zu erwartenden hippocampalen Läsionen gemacht. Es soll jedoch beachtet werden, dass manche Tiere nach einiger Zeit wissen, dass sie sich ohne Gefahr auf die weiche Unterlage fallen lassen können, sich deshalb nicht mehr anstrengen und sich bewusst fallen lassen. Dies beeinträchtigt eine objektive Beurteilung der Testdurchführung.

Die Testkategorie „Pflegeverhalten“ (siehe Kapitel 3.5.4.5.2), mit nur maximal einem zu erreichenden Punkt erhält in vorliegendem Bewertungsschema einen geringeren Stellenwert (LAININGER 1989). Auch dieser Punkt kann indirekt während der Testphase im Hole-Board-Test bewertet werden, denn hier ist die Beobachtungszeit vor allem am Anfang relativ lang und die Chance, die Tiere direkt während eines Putzvorgangs beobachten zu können, relativ hoch. Ist dies nicht der Fall, muss die Bewertung indirekt über die Körperverschmutzung beurteilt werden.

Das verwendete Beurteilungsschema enthält keinen Test, in dem speziell der Gleichgewichtssinn der Tiere überprüft werden kann. Hierzu ist als hilfreiche Ergänzung der Gleichgewichtsbalken-Test (siehe Kapitel 2.9.2.5.1) (COMBS und D'ALECY 1987) oder der Beam-walking-Test (siehe Kapitel 2.9.2.5.9) (KOLB und WHISHAW 1985) erwähnenswert, welcher einen nützlichen Beitrag zur Verfeinerung der Bewertung des klinisch neurologischen Defizits der einseitig cerebral geschädigten Ratten liefern könnte (COMBS und D'ALECY

1987, KOLB und WHISHAW 1985, SHAPIRA et al. 1995, SHAPIRA et al. 1990, STERMAN und SHEPPHARD 1983). Dieser Test wurde jedoch nicht eingesetzt, um eine Überlastung der ohnehin durch die Operation bereits geschwächten Tiere zu vermeiden.

4.1.4 Histopathologisches Bewertungssystem

4.1.4.1 Hämatoxylin&Eosin-Färbung

Diese Färbemethode ist eine einfache und schnell durchzuführende Kernfärbung, welche saure Valenzen rot anfärbt, die durch den ischämisch bedingten Energiemangel und die konsekutive Lactatanreicherung entstehen. Saure, also sterbende Zellen, lassen sich somit gut erkennen und geben einen Überblick über das Ausmaß des ischämischen Zellschadens.

4.1.4.2 Punkteauswertungssystem

Das angewandte Auswertungsschema (siehe Kapitel 3.6.2.3) hat sich bereits bewährt und wird erfolgreich bei der Beurteilung cerebraler Histopathologie nach einer Bakteriämie in einem Schweinmodell eingesetzt (BOGDANSKI et al. 2000).

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Physiologische Parameter während der operativen Phase

In vorliegender Untersuchung ist der MAP der Sevofluran anästhesierten Tiere im Ausgangswert signifikant niedriger als der der Fentanyl-N₂O anästhesierten Ratten. Dies liegt vor allem an der Depression der Herzmuskelkontraktilität und der peripheren Vasodilatation die unter Sevofluran wesentlich stärker sind als unter Fentanyl-N₂O (BAUGHMAN et al. 1988). Fentanyl-N₂O stellt eine Anästhesieform dar, die eine normale Reaktionsfähigkeit des Körpers auf ischämische Stressreize ermöglicht. Somit ist eine Reaktion auf die chirurgische Manipulation (Stress) im Unterbewusstsein möglich und auch wahrscheinlich. Dies äußert sich in einem erhöhten MAP dieser Gruppe. Dafür spricht nicht nur der verringerte MAP der Sevofluran anästhesierten Tiere im Ausgangswert, sondern auch der, während der Ischämiephase, der Reperfusion und der Erholungsphase, kontinuierlich anhaltende signifikant verringerter MAP der Sevofluran behandelten Tiere. Ein weiterer Grund des verringerten MAP der mit Sevofluran anästhesierten Tiere liegt darin, dass Sevofluran Kontraktilitätseinschränkungen bewirkt. Eine solche wie oben beschriebene Reaktionsfähigkeit des Körpers wird durch die Anästhesie mit den volatilen Anästhetika Isofluran und Sevofluran eher unterbunden (WERNER et al. 1990).

Durch die mehrfach während der operativen Versuchsphase durchgeführten Blutgasanalysen und das kontinuierliche Atemgasmonitoring wurde eine Überwachung und das gleichzeitige Konstanthalten der arteriellen Blutgaswerte (PaO_2 und PaCO_2) in physiologischen Bereichen ermöglicht.

Diese Maßnahme ist notwendig, um Einflüsse dieser Parameter auf den cerebralen Schaden möglichst auszuschließen. Eine Hyperventilation mit einer anschließenden Hypokapnie würde eine respiratorische Alkalose sowie eine Vasokonstriktion u.a. der cerebralen Arteriolen führen (HOFF 1986), was eine nicht kontrollierbare Beeinflussung des cerebralen Schadens und Verfälschung der Versuchsergebnisse ergeben könnte. Aus diesem Grund wurden während des operativen Versuchsteils über eine Regulation der Beatmung diese Werte in physiologischen Grenzen gehalten und weisen innerhalb der verschiedenen Gruppen keine gravierenden Unterschiede auf.

In dieser Studie ist außerdem die Plasmaglukosekonzentration während der Ischämie signifikant niedriger in Fentanyl- N_2O anästhesierten Ratten verglichen mit den Sevofluran behandelten Tieren. Das ist ein weiterer Hinweis auf das neuroprotektive Potential einer Sevoflurananästhesie, da eine ansteigende Plasmaglukosekonzentration das Gehirn vor Energiemangel schützen kann. Die Entstehung der Hyperglycämie könnte als Folge des erniedrigten Blutdrucks und daraus resultierender Katecholaminausschüttung entstehen. Außerdem wird bei vorhandener Hypoxie aus der Nebennierenrinde Adrenalin freigesetzt, was wiederum ebenfalls zu einem Anstieg der Glucose führt. Auf lange Sicht kann dies aber den neuronalen Schaden auch verschlimmern (HOFFMAN et al. 1990, DE COURTEN-MYERS et al. 1988, PULSINELLI et al. 1982). In vorliegender Arbeit jedoch läuft die erhöhte Plasmaglukosekonzentration in einem positiv zu beurteilenden Rahmen ab. Es entsteht kein so massiver Glucoseüberschuss, welcher eine schädigende Lactatbildung zur Folge hätte. Somit ist die vorhandene moderate Hyperglycämie als positiv und auch neuroprotektiv zu bewerten (NEDEGAARD et al. 1988).

Zur Einstellung eines systemischen Blutdruckes von 40 mmHg muss in der Fentanyl- N_2O -Gruppe genauso viel Blut entzogen werden wie in der Sevofluran-Gruppe, obwohl der MAP im Ausgangswert signifikant unterschiedlich ist.

4.2.2 Physiologische Parameter während des Hole-Board-Tests

Am Tag 1 nach der Operation ist eine Abnahme des Körpergewichtes bis zu 15 g aller Tiere zu beobachten. Diese Gewichtsreduktion liegt zum einen an der reduzierten Futter- und Wasseraufnahme nach der Operation, zum anderen an dem Nahrungsentzug vor der Operation und

an der Belastung durch die Operation selbst. Einem möglichen erhöhten Flüssigkeitsverlust über den Respirationstrakt während der Inhalationsnarkose mit Beatmung wird durch regelmäßige Infusionen entgegengewirkt. Die Tiere erholen sich jedoch bereits ab Tag 4 wieder, was durch den steigenden Futter- und Wasserverbrauch und daraus resultierend dem ansteigenden Körpergewicht ab diesem Tag ersichtlich wird.

Der Wasser- und Futtermittelverbrauch ist bei allen Gruppen am Tag 2 nach der Operation reduziert. Da die Tiere für die Operation nüchtern gesetzt werden, erfolgt keine Messung am Tag der Operation und auch nicht am Tag 1, da die Tiere erst wieder an diesem Tag in den Hole-Board-Käfig zurückgesetzt werden und somit ein regulärer Futter- und Wasserverbrauch erst wieder am Tag 2 stattfinden kann. Problematisch zu bewerten ist neben der nicht konstant durchgehenden Messung der Nahrungsaufnahme auch, dass kein auf jedes Tier zutreffender Absolutwert erhoben werden kann, da die Tiere immer zu Zweit in einem Abteil leben und somit nur der Durchschnitt von der aufgenommenen Futter- und Wassermenge zweier Tiere gemessen werden kann. Außerdem muss sowohl bei der Futteraufnahme als auch bei der Wasseraufnahme mit einer hohen Messungsgenauigkeit gerechnet werden, da das Zurückwiegen kleiner Futterpartikel, die im Futterspender und im Heimkäfig zurückbleiben, nicht möglich ist. Auch kann nicht ausgeschlossen werden, dass Futterpellets bei Manipulationen am Käfig aus dem Futterspender herausfallen und somit die gemessene Futteraufnahme fälschlicherweise erhöhen. Auch die Messung der Wasseraufnahme unterliegt ähnlichen Problemen. So können die Wasserflaschen z.B. teilweise oder sogar fast vollständig auslaufen, wenn die Tiere die Einstreu vor die Flaschen schieben und sich die Einstreu mit dem Trinkwasser vollsaugt. In der Folge kann es somit zu falsch hohen Ergebnissen hinsichtlich der Wasseraufnahme kommen. Falsch niedrige Ergebnisse bekommt man dann, wenn die Tiere durch einen Gegenstand (z.B. ein Stück Holz) sich selber den Zugang zum Wasser verstellen und über mehrere Stunden nicht trinken können. War die Trinkflasche vollständig geleert und die Einstreu nass oder war anzunehmen, dass den Tieren der Zugang zur Trinkflasche mehr als drei Stunden versperrt war, wurden an dem Tag bei diesen Tieren die Wasseraufnahme nicht berücksichtigt. Auch wenn auffällig viele Futterpellets neben dem Futterspender lagen, wurden die Futteraufnahme an dem Tag bei diesen Tieren nicht berücksichtigt. Das Absinken des Nahrungsverbrauches an Tag 2 kann neben der vorangegangenen Operation auch daran liegen, dass durch die versetzte Durchführung der Operation ein Tier ca. 40 h alleine (12 h nüchtern plus 1 Tag für die Operation) im Hole-Board-Käfig verbringen muss. Es ist denkbar, dass es sich deshalb unwohl fühlt und sich dies in einer verminderten Nahrungsaufnahme äußern kann.

4.2.3 Neurologische Parameter

Die Tiere absolvieren ab Tag -3 bis zum Versuchsende täglich mehrere neurologische Tests, welche in Kapitel 2.9 beschrieben sind. Alle Ratten zeigen im Verlauf der Untersuchungsphase ein ungestörtes Bewusstsein. Tiere mit Schmerzen krümmen häufig den Rücken auf und sind an ihrer Umgebung nicht interessiert (MIKLYAEVA et al. 1995). Dies ist bei den Testtieren der vorliegenden Studie jedoch nicht zu erkennen.

Auch die Auswertung der Testkategorie „drehendes Gitter“ und „Laufen“ liefern keine aussagekräftigen Ergebnisse. Ratten mit unilateralem Infarkt sind häufig nicht mehr in der Lage geradeaus zu laufen. Diese Tiere drehen sich ipsilateral zur Läsion (MIKLYAEVA et al. 1995). Dieses „Laufen im Kreis“ wird jedoch bei keinem der vorliegenden Tiere beobachtet. Das Laufen ist stets physiologisch.

Auch die Aussagekraft des Parameters „Kletterverhalten“ zeigt keinerlei eindeutige neurologische Ausfälle. Gesunde Tiere können ohne Probleme die rechtwinklige Teppichplatte erklimmen. Ischämisch geschädigte Tiere hingegen können sich oftmals nur für kurze Zeit am senkrechten Teil der Teppichwand festhalten, unfähig auf die Waagrechte zu klettern. In vorliegender Studie jedoch können alle Tiere die 90° Ebene erreichen mit Ausnahme einer Ratte der Sevofluran/Sham-Gruppe am Tag 6. Da jedoch dieses Tier an den anderen Tagen durchaus in der Lage ist die Aufgabe zu bewältigen und im Bewusstsein am Tag 6 auch unauffällig ist, ist diese Bewertung wohl nicht begründet in einem Leistungsabfall der Muskelkraft und der Motorik. Es ist vielmehr wahrscheinlich, dass sich das Tier aus irgendeinem anderen Grund (Manipulation von außen, Störung durch Geräusch etc.) gestört fühlt und unsicher wird. Ein ängstliches regungsloses Festklammern an der senkrechten Wand ist die Folge, ohne auch nur den Versuch zu starten auf die Waagrechte zu gelangen. Die Ergebnisse beim „drehenden Gitter“ innerhalb aller Tiere und Gruppen haben stets einen variablen Verlauf unabhängig von der Operation. Normalerweise sind gesunde Ratten fähig sich länger in der vertikalen oder horizontalen Position zu halten. Auch drehen diese Tiere sich stets so, dass am vertikal gestellten Gitter der Kopf nach oben oder nach unten zeigt. Dieser Orientierungssinn ist bei kranken Tieren oft mangelhaft. Eine einheitliche Tendenz in vorliegender Arbeit kann nicht festgestellt werden. Aus eigener Erfahrung lässt sich sagen, dass die Tiere, die sich vor den festgesetzten 5 sek aus der Rückenlage fallen lassen, oft schon gelernt haben, dass ihnen bei dem Fall auf die weiche Unterlage nichts passiert, somit strengen sie sich gar nicht erst an, die Aufgabe zu erfüllen. In oben genanntem Test wird neben dem Gleichgewichtssinn, dem Stellreflex und vor allem der Motorik auch die Muskelkraft beurteilt. Die Ergebnisse stimmen mit den Aussagen anderer Studien überein, die besagen, dass cerebrale ischämische Verlet-

zungen, welche neurokognitive Störungen auslösen können, nicht unbedingt eine Beeinträchtigung der Motorik aufweisen müssen.

Auch dass physiologische Pflegeverhalten aller Tiere deutet auf ein ungestörtes Allgemeinbefinden hin. Kranke Tiere vernachlässigen oftmals ihre Körperpflege. Das rotbraune Augensekret, welches normalerweise mit dem Speichel vermischt zum Putzen des gesamten Körpers genutzt wird, wird daher nicht abgewischt. Es bildet sich bei diesen Tieren ein durch Krankheit bedingte verminderte Körperpflege gut sichtbarer roter Ring um die Augen (WHISHAW et al 1981a). Dies jedoch ist bei keinem Tier aufgetreten.

Bedingt durch die undeutlichen Ergebnisse der einzelnen Kategorien der neurologischen Untersuchung, stellt sich auch bei der Betrachtung des neurologischen Scores kein einheitliches Bild dar. Tendenziell jedoch zeigt sich eine Punkterhöhung am Tag 1 bei der Fentanyl-N₂O/Ischämie Gruppe. Das volatile Anästhetikum Sevofluran kann somit die ischämiebedingte Punkterhöhung im neurologischen Score im Gegensatz zu dem Anästhetikum Fentanyl-N₂O verhindern, was wiederum auf eine neuroprotektive Wirkung von Sevofluran hindeutet. Bei keinem Tier wird eine Hemiparese festgestellt.

Kritisch betrachtet ist die Methodik des Punktbewertungsschemas jedoch stark auf das motorische Verhalten bezogen, was natürlich auch einen Einfluss auf die Beurteilung des psychischen Verhaltens des Tieres haben kann.

4.2.4 Gedächtnisparameter

Gedächtnisprozesse sind hippocampusabhängig, wenn sie die Verarbeitung erlernter Informationen über die Umwelt betreffenden Fakten und Ereignisse ermöglichen (SQUIRE 1992). Diese kognitiven Prozesse werden als deklaratives Gedächtnissystem zusammengefasst. Das Öffnen eines nicht markierten Loches durch die Ratte ist als Fehler des deklarativen Gedächtnisses der Ratten einzustufen. Um den modifizierten Hole-Board-Test erfolgreich zu absolvieren, müssen die Ratten verschiedene, die Umwelt betreffende Informationen abspeichern und wieder äußern, die ihnen das Auffinden der Futterbelohnung ermöglicht. Die sich ständig ändernden Sequenzen der Löcher sind darauf abgerichtet, flexible und damit hippocampusabhängige kognitive Prozesse abzufragen und zu verhindern, dass sich automatisierte und damit hippocampusunabhängige kognitive Prozesse etablieren. Das deklarative Gedächtnis gemessen an dem Parameter „wrong choices“ (WC) ist bei der Beurteilung im Hole-Board-Test nach der Ischämie beeinträchtigt, wobei die Fentanyl-N₂O-Gruppen schlechtere Ergebnisse erzielen, als die mit Sevofluran anästhesierten Tiere. Dieser Effekt ist signifikant. Die vorliegenden Untersuchungen ergeben, dass erst wieder ab Tag 6 nach dem Eingriff tendenziell

eine gleichmäßige Verbesserung der Leistung innerhalb der WC erreicht wird. Ab Tag 8 ist das Ausgangsniveau naheliegend erreicht.

Die Auswertung des Gedächtnisparameters „repeated choices“ (RC) ergibt für die Fentanyl-N₂O/ Ischämie-Gruppe am Tag nach der Ischämie einen signifikanten Anstieg, welcher jedoch nur einen Tag anhält und sich ab dem 2. Tag wieder kontinuierlich dem Ausgangswert nähert um sich ab Tag 4 wieder auf die „base-line“ einzuspielen. Der kognitive Parameter „repeated choices“ indiziert dabei einen Fehler des Arbeitsgedächtnisses. Abgefragt wird die zeitlich begrenzte Speicherung der Information, welches Loch, das mit einer Futterbelohnung versehen ist, von der Ratte in dem gerade laufenden Test bereits besucht wurde. Um wiederholte Besuche mit Futter belegter Löcher vermeiden zu können, müssen sich die Ratten während eines Versuchsdurchlaufs, also nur kurzzeitig, merken, welches der zunächst mit Futter belegten Löcher sie bereits geöffnet und geleert haben. Nur kurzzeitig gespeicherte Informationen werden vom sogenannten Arbeitsgedächtnis verarbeitet (BADDELEY 1998). Die Ergebnisse im Hinblick auf das deklarative- und das Arbeitsgedächtnis bekräftigen die Rolle des Hippocampus in der neurokognitiven Gedächtnisleistungsfähigkeit (BLISS et al. 1993, YAMAMOTO et al. 1993, CHUNG et al. 2002), welche nach cerebralen ischämischen Verletzungen signifikant gemindert sein kann (ZOLA-MORGAN et al. 1986, MICHEAU et al. 1985, KIPRIANOVA et al. 1999, PLASCHKE et al. 2000, HOSSAIN et al. 2001). Die vergleichsweise bessere Leistung der WC und RC der mit Sevofluran behandelten Tiere unterstützen die Hypothese, dass das Anästhetikum über die Reduzierung des neurologischen Defizits des Gehirns die neurokognitive Leistung sowohl im Bezug auf das deklarative Gedächtnis, als auch auf das Arbeitsgedächtnis positiv beeinflusst (WERNER et al. 1995). Eine vorangehende Studie hat bereits gezeigt, dass bei einer herbeigeführten fokalen cerebralen Ischämie in der Ratte durch middle cerebral artery (MCA)-occlusion 1,4 MAC Sevofluran einen Abfall des kortikalen Infarktolumens von 36 mm³ verglichen mit 115 mm³ bei wachen Ratten. Diese Studie deutet an, dass eine cerebrale metabolische Depression mit Sevofluran oder eine Erhöhung des collateralen Blutflusses verglichen mit wachen oder Fentanyl-N₂O anästhesierten Tieren den ischämiebedingten neuronalen Schaden vermindert und somit auch die damit im Zusammenhang stehende Gedächtnisleistung bewirkt (WARNER et al. 1993). In vorliegender Arbeit ist, das Ausmaß des ischämischen Schadens mit Hilfe eines etablierten Ischämie-modells (Okklusion der rechten A. carotis communis und hämorrhagische Hypotension auf einen MAP von 40mmHg) begrenzt (EBERSPÄCHER et al. 2001). Der ischämische Schaden erstreckt sich überwiegend auf die Hippocampusregion und den Gyrus dendatus (Regionen, welche besonders empfindlich auf ischämische Provokationen reagieren) (ITO et

al. 1975). Trotzdem ist vor allem bei den nicht mit Sevofluran behandelten Tieren nicht ausgeschlossen, dass auch Teile der Großhirnrinde in Mitleidenschaft gezogen werden und somit neben dem deklarativen Gedächtnis auch das hippocampusunabhängige Arbeitsgedächtnis beeinflusst wird. Das deklarative Gedächtnis ist hippocampusabhängig und das Arbeitsgedächtnis hat seinen Sitz im präfrontalen Cortex (GOLDMAN-RAKIC 1994).

Auch die Anzahl der „omission error“ (OE), d.h. die nicht besuchten markierten Löcher eines Durchlaufs, sind bei den Sevofluran anästhesierten Tieren niedriger, verglichen zu den mit Fentanyl-N₂O behandelten Tieren. Auffallend jedoch ist, dass die Tiere der Sevofluran/Ischämie-Gruppe keine Verschlechterung nach der Ischämie zeigen, verglichen zur Sevofluran/Sham-Gruppe. Diese weist einen, im Vergleich zu den Fentanyl-N₂O-Gruppen jedoch geringeren Anstieg der OE am Tag 1 und 2 auf. Dies kann daran liegen, dass Tiere, die eine ischämische Verletzung erlitten haben, die Reize ihrer Umwelt nicht mehr so wahrnehmen, wie nicht-ischämische Tiere. Deshalb „vergessen“ sie die veränderten Ereignisse vor der Operation und weisen zusätzlich durch die neuroprotektive Anästhesie mit Sevofluran keine Einschränkung ihrer Leistungsfähigkeit auf. Diese Tiere können sich ungestört nur auf das Öffnen der Löcher konzentrieren. Die Sham-Tiere dagegen sind in ihrer Aufnahmefähigkeit gegenüber der Umwelt nicht eingeschränkt und fokussieren nicht nur auf einen Punkt, sondern nehmen sowohl den veränderten Gesundheitszustand der anderen Tiere (z.B. anderer Geruch), als auch die eigenen vorangegangenen ungewohnten Geschehnisse stärker wahr, werden deswegen durch andere Eindrücke von außen abgelenkt, sind vorsichtiger, ängstlicher und zeigen deshalb kognitiv schlechtere Leistungen als die ischämischen Tiere. Die signifikant veränderten Leistungen innerhalb des Parameters OE am Tag 1 der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe zeigen bereits am Tag 2 eine deutliche Verbesserung und bewegen sich innerhalb der ersten vier Tage nach der Operation zum Ausgangswert zurück.

Die Tatsache, dass Ratten mit signifikanter Hippocampusverletzung ihre Leistung verbessern können bishin zu einem ähnlichen Status wie bei nichtischämischen Tieren ist vielleicht begründet in Plastizitätsprozessen im Gehirn des Testtieres.

4.2.5 Explorations- und Motivationsparameter

Bei der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe ist am Tag 1 und bei der Sevofluran/Ischämie-Gruppe am Tag 1 und 2 ein Anstieg der „number of hole visits“ (NHV), also die Anzahl der besuchten Löcher pro Durchlauf, zu erkennen. Dieser beruht bei erstgenannter Gruppe auf der erhöhten Wiederholungszahl, bei der zweiten Gruppe auf der vermehrten Fehlerzahl an diesen Tagen. Die deutlich verlängerte „time complete“ (TC), also die Zeitdauer in der ein Durchlauf

absolviert wird, der mit Fentanyl-N₂O behandelten Gruppen liegt zum einen in einer erhöhten Anzahl der Kontaktpflege und des Aufrichtens der Fentanyl-N₂O/Sham-Tiere, als auch in der vermehrten Anzahl der Putzvorgänge. Dadurch ergibt sich eine erhöhte Gesamtputzdauer. Außerdem steigt der Parameter „food intake“ bei der Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe von 18,7 sek auf 28,7 sek an und die Immobilität erhöht sich von 0 auf 22,1 sek (Fentanyl-N₂O/Ischämie) bzw. von 5,8 auf 45 sek (Fentanyl-N₂O/Sham) am Tag 1. Alle diese Faktoren resultieren in einer erhöhten „time complete“. Die „time on board per numbers of holes visited“ (TOB/NHV) ergibt sich aus dem Quotient der Zeitdauer auf dem Board und der Anzahl der besuchten Löcher. Sie ist Ausdruck der Motivation und Motorik und weist eine signifikante Erhöhung am Tag 1 bei der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe auf, verglichen zu den anderen Gruppen. Da speziell diese Gruppe auch einen Anstieg der OE erkennen lässt, könnte man vermuten, dass eine Beeinträchtigung des Motivationszustandes und der Motorik die Ursache der zu beobachtenden kognitiven Schwächen des deklarativen Gedächtnisses ist. Dem widerspricht jedoch der starke Abfall der TOB/NHV am Tag 2, wohingegen die Anzahl der OE dieser Gruppe an diesem Tag noch weiter ansteigt. Bei dem zeitbezogenen Motivations- und Explorationsparameter „time on board“ zeigen die beiden mit Fentanyl-N₂O behandelten Gruppen eine Verlangsamung am Tag 1. Diese resultiert aus der bereits schon erwähnten Erhöhung der TC. Eine Steigerung der „number of board entries“ (NBE) bei der Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe ergibt sich aus einer verlängerten TC, wodurch die Tiere insgesamt gesehen einfach öfter die Möglichkeit haben das Board zu betreten. Außerdem bewirken die vermehrte Kontaktaufnahme, welche an den Löcher der Trennwand zu den anderen Ratten, also außerhalb des Boards zu beobachten ist, und das vermehrte Aufrichten auf die Hinterbeine (vorzugsweise ausgeführt an den Trennwänden der Versuchsarena) zwangsweise das kurzfristige Verlassen des Boards.

Insgesamt gesehen wird die Motivation und die Bewegungsfähigkeit wohl nicht durch die Ischämie gehemmt, aber durch die Wahl des Anästhetikums beeinflusst. Dies erkennt man daran, dass beide mit Sevofluran behandelten Gruppen nach der Operation kaum eine Verschlechterung der Motivation und Motorik aufweisen. Die Fentanyl-Gruppen jedoch zeigen eine deutliche Motivations- und Motorikminderung nach dem operativen Eingriff.

Abschließend muss noch erwähnt werden, dass bei der Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Tiere im Hole-Board-Test insgesamt gesehen die Motivation zur Absolvierung des Tests erhöht ist verglichen zu anderen kognitiven Tests. Dies liegt daran, dass die Tiere mit einem Minimum an Stress den Test freiwillig absolvieren, um die Futterbelohnung zu erhalten. Dafür ist nur eine geringe Anstrengung nötig. Diese Faktoren erhöhen wahrscheinlich die Moti-

vation und führen zu einer signifikanten Verbesserung der Leistung über die ganze Zeit (OHL et al. 1993, OHL et al. 1998).

4.2.6 Angstbezogene Parameter

Die Parameter „number of group contacts“, „grooming time“, „number of groomings“ und „rearing“ zeigen nur bei den beiden Sham-Gruppen eine deutliche Erhöhung am Tag 1. Dies wiederum spricht für die Theorie, dass die Ischämie-Tiere beider Gruppen ihre Umwelt nicht so intensiv wahrnehmen, dadurch weniger Angstverhalten zeigen und sich intensiv nur auf die Lösung ihrer Aufgabe konzentrieren können (DOYLE und YULE, 1959). Die vermehrten und verlängerten Putzvorgänge („number of groomings“, „grooming time“) jedoch deuten laut DOYLE und YULE (1959) weniger auf ein Angstverhalten hin, mehr auf eine Aktion weniger erregter Tiere. Dieser Widerspruch lässt sich eventuell dadurch erklären, dass die Tiere eine durch die Operation bedingte Naht auf ihrer Kopfhaut als Störung und Beschmutzung empfinden und sich deshalb intensiver um ihre Körperpflege kümmern, was jedoch bei den Ischämietieren nicht beobachtet werden kann. Dies mag einerseits an dem oben erläuterten Grund liegen, aber möglicherweise ist die reduzierte Putzdauer dieser Tiere verglichen zu den Shamtieren auch ein Zeichen eines reduzierten Allgemeinzustandes.

Obwohl die Anzahl der Kontaktaufnahme („number of group contacts“) steigt, bleibt die Dauer der Kontaktaufnahmen konstant. Die erhöhte Anzahl der Kontaktaufnahme ist möglicherweise damit zu erklären, dass die Ratten als soziale in einer Gemeinschaft lebenden Tiere sich um kranke (in diesem Fall operierte) und Einzeltiere kümmern. Außerdem ist bis zum Ende der operativen Phase, wie bereits erwähnt, ein Tier immer eine Zeit lang alleine und vermisst möglicherweise seinen Abteilpartner und sucht deswegen vermehrten Kontakt.

Die Tiere aller Gruppen zeigen kein verändertes Kotabsatzverhalten. Eine vermehrte Kotabsatzrate würde für eine Erregung der Tiere sprechen (HALL 1934) oder für einen erhöhten Grundumsatz bei schlechtem Allgemeinzustand.

Bei den „latency first entry on board“, „latency first correct hole visit“ und der „latency food intake“ zeigen die mit Fentanyl-N₂O anästhesierten Tiere eine schlechtere Leistung. Diese Parameter geben nicht nur Auskunft über das Angstverhalten sondern, auch über die Motivation der Tiere. Wie schon die Ergebnisse der Explorations- und Motivationsparameter zeigen, führen auch diese Ergebnisse zu dem Schluss, dass die Tiere durch eine Fentanyl-N₂O Anästhesie, egal ob mit oder ohne Ischämie weniger explorativ agieren und insgesamt demotivierter sind als die mit Sevofluran anästhesierten Tiere. Man kann dabei an einen postoperativen „hang over“ durch das Opiat Fentanyl in Zusammenhang mit der Ischämie denken.

4.2.7 Parameter, die sich auf das Allgemeinbefinden beziehen

Eine Beeinflussung des Allgemeinbefindens ist bei keinem Tier deutlich zu erkennen. Jedoch könnte die Verlängerung der Fresszeit („food intake“) bei den Fentanyl-N₂O/Ischämie-Tieren an Tag 1 und 2 auf einen reduzierten Appetit hinweisen. Dafür würde auch die im Verhältnis zu den anderen Gruppen stärkere Abnahme der Futteraufnahme bei dieser Gruppe an diesen Tagen sprechen. Auch hier spricht die Wahl des Anästhetikums Fentanyl-N₂O eventuell für eine erhöhten intraoperativen Stress, nachfolgend resultierend in einer reduzierten Nahrungsaufnahme. Auch beim Menschen kann der Einsatz von Fentanyl-N₂O-Anästhesien nach der Operation Symptome wie Übelkeit, Obstipation und Blasenentleerungsstörungen bewirken, welche die Nahrungsaufnahme postoperativ reduzieren können (JURNA I, 1987).

Die Zeitdauer, in der die Tiere ohne Bewegung verharren wird durch den Parameter „time immobile“ (TI) ausgedrückt. Hierbei zeigen die Fentanyl-N₂O-Tiere verglichen zu den Ischämie-Tieren die ersten Tage nach der Operation eine signifikante Erhöhung. Dies kann auf allgemeine Schwäche nach der Operationsphase hindeuten, sowie auf ein vermehrtes Angstempfinden der Tiere. Das wiederum ist durch die bereits oben erwähnten Eigenheiten der flacheren Fentanyl-N₂O-Narkose zu erklären. Fentanyl gehört außerdem als Morphinderivat zu den Opiatabkömmlingen und kann somit als Nebenwirkung neben Euphorie auch Angstempfinden hervorrufen, was eine weitere Möglichkeit für oben genannte Ausführungen darstellt (JURNA I, 1987).

4.2.8 Histologische Parameter

Durch das verwendete Ischämiemodell ist der ischämische Schaden weitgehend auf die Hippocampusregion und den Gyrus dentatus begrenzt. Alle Sham-Tiere beider Narkoseverfahren zeigen keinerlei neuronale Schädigung in beiden Hemisphären. Das zeigt, dass ein möglicher cerebraler Schaden einzig durch die Ischämieinduktion verursacht wird und nicht durch die Präparation, die Dauer der Narkose oder die Wahl des Anästhetikums. Bei den Tieren, bei denen eine einseitige cerebrale Ischämie induziert worden ist, zeigt sich in den contralateralen Hemisphären ebenfalls keinerlei Schaden: Bei den Sevofluran anästhesierten Tieren ist bis auf ein Tier kein neurologischer Schaden in der ipsilateralen Seite zu finden. In der ipsilateralen Seite der Fentanyl-N₂O Tiere ist jedoch bei sechs Tieren ein neuronaler Schaden zu erkennen. Dieses Ergebnis unterstreicht die Bedeutung des Anästhetikums Sevofluran als potentiell neuroprotektives Agens. Es kann weiterhin daraus geschlossen werden, dass die bereits oben erläuterten ischämiebedingten Leistungen bei Fentanyl-N₂O Ratten aller Wahrscheinlichkeit

nach auf die hippocampalen Schäden zurückzuführen sind und weniger auf neuronale Schäden in anderen Hirnregionen.

Dies stimmt mit den Aussagen einiger anderer Studien überein, in denen Sevofluran das Gehirn vor den Folgen einer inkompletter Ischämie schützen kann (ENGELHARD et al. 2002) und das neurokognitive Defizit reduziert (WERNER et al. 1995) im Vergleich zu Anästhesien mit Fentanyl-N₂O. Der hirnpotektive Effekt von Sevofluran kann möglicherweise der cerebralen metabolischen Depression, die von Sevofluran produziert wird beruhen. Eine weitere Begründung liegt möglicherweise in der cerebrovasodilatativen Wirkung des Sevoflurans verbunden mit einer Erhöhung des collateralen Blutflusses.

4.2.9 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse zeigen, dass eine selektive Hippocampusverletzung, hervorgerufen durch eine inkomplette cerebrale Ischämie ein signifikantes kurzeitiges Gedächtnisdefizit bei Ratten bewirkt. Dieses Defizit ist bei einer Narkose mit Sevofluran reduziert. Diese Ergebnisse werden mit Hilfe des modifizierten Hole-Board-Tests erhoben. Das aufgetretene Defizit ist bei den Fentanyl-N₂O anästhesierten Ratten signifikant schlechter im Vergleich zu den mit Sevofluran anästhesierten Tieren. Gleichzeitig sind motivationsbedingte Leistungen bei den Fentanyl-N₂O behandelten Tieren vermindert verglichen mit den Sevofluran anästhesierten Tieren. Dieser Effekt ist unabhängig von der Ischämie, die außerdem auch keine Störung der Motivation verursacht. Das kognitive Defizit ist daher nicht Ausdruck einer Motivationsstörung oder krankheitsbedingter Müdigkeit. Die histologischen Untersuchungen konnten klar eine Neuronen schützende Wirkung des Sevofluran nachweisen.

Die Daten zeigen, dass kognitive Leistungsbeurteilung genutzt werden kann, um einen ischämischen Hippocampuschaden, der unabhängig von anderen Hirnregionen ist, zu identifizieren. Genauso kann der separate Einfluss von unterschiedlichen Anästhetika untersucht werden.

In dieser Studie konnte die Bedeutung des Sevofluran als ein über Tage oder sogar Wochen wirksames Neuroprotektivum nach cerebraler Ischämie unterstrichen werden. Die Kenntnisse, dass ein verminderter cerebraler Stoffwechsel auch zu einem geringeren neurologischen und somit auch neurokognitiven Defizit führt (BAUGHMAN et al. 1988) ist eine Erklärung für die neuroprotektive Wirkung von Sevofluran. Durch Depression des cerebralen Metabolismus soll dabei der Energiebedarf an das geringe Energie- und Sauerstoffangebot angeglichen werden (HOFF 1986).

DISKUSSION

Vorliegende Ergebnisse sind daher als ein weiterer wichtiger Baustein zum Verständnis der Therapie der cerebralen Minderdurchblutung zu werten.

Es sind jedoch weitere experimentelle Untersuchungen und klinische Studien nötig, um eine sinnvolle neuroprotektive Therapie weiter zu definieren.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Einflüsse einer inkompletten cerebralen Hemisphärenischämie und Reperfusion auf das Verhalten, die kognitiven Fähigkeiten und die Mikromorphologie des zentralen Nervensystems bei Sevofluran anästhesierten Ratten.

Mit Hilfe des Hole-Board-Tests modifiziert nach OHL et al. (1998) wurden die Auswirkungen einer induzierten inkompletten einseitigen cerebralen Hemisphärenischämie und Reperfusion unter dem Einfluss des volatilen Anästhetikums Sevofluran im Vergleich zu Fentanyl-N₂O an der Ratte untersucht. Dabei wurde besonderes Augenmerk auf die neurokognitiven und motorischen Fähigkeiten, sowie das histologische Ergebnis gerichtet. Die Tiere wurden nach der Präparation je nach Gruppenzugehörigkeit unterschiedlich anästhesiert. Dafür wurden männliche Sprague-Dawley Ratten (n=34) randomisiert in vier Versuchsgruppen eingeteilt, die sich wie folgt zusammensetzten:

- Fentanyl-N₂O/Ischämie-Gruppe:** 25 µg/kg/h Fentanyl, Beatmung: O₂/N₂O (FiO₂=0,33)
mit cerebraler Ischämie, n=10
- Fentanyl-N₂O/Sham-Gruppe:** 25 µg/kg/h Fentanyl, Beatmung: O₂/N₂O (FiO₂=0,33)
ohne cerebrale Ischämie, n=7
- Sevofluran/Ischämie-Gruppe:** 2% Sevofluran in O₂/Luft-Gemisch (FiO₂=0,33)
mit cerebraler Ischämie, n=10
- Sevofluran/Sham-Gruppe:** 2% Sevofluran in O₂/Luft-Gemisch (FiO₂=0,33)
ohne cerebrale Ischämie, n=7

Alle Tiere wurden 13 Tage vor dem Eingriff täglich dem modifizierten Hole-Board-Test unterzogen. Der Test wurde nach dem Eingriff weitere 10 Tage fortgesetzt. Bei dem modifizierten Hole-Board-Test lernen die Ratten, eine Futterbelohnung aus jeweils drei markierten von den insgesamt 15 Löchern des Hole-Boards heraus zu holen. Jedes Tier absolviert täglich 4 Durchläufe, wobei jeden Tag die Kombination der markierten Löcher wechselt. Mit dem Test können die kognitiven Fähigkeiten des Arbeitsgedächtnisses, des deklarativen Gedächtnisses und Motivationsparameter getrennt voneinander beurteilt werden. Zusätzlich wurden der Gewichtsverlauf, das Allgemeinbefinden, sowie die Futter- und Wasseraufnahme der Tiere täglich protokolliert. Am 11. Tag nach der Operation wurden die Gehirne entnommen und in der histopathologischen Untersuchung wurde mit Hilfe der HE-Färbung der neuronale Schaden beurteilt.

Alle Gruppen zeigten direkt nach der Operation Defizite, wobei die mit Fentanyl-N₂O anästhesierten Tiere signifikant schlechtere Reaktionen zeigten. Diese signifikante Verschlechterung zeigte sich nicht nur in den Gedächtnisparametern (Anzahl der falschen geöffneten Löcher = „wrong choices“ (deklaratives Gedächtnis), Anzahl der wiederholt geöffneten Löcher = „repeated choices“ (Arbeitsgedächtnis)), sondern auch in Motivations- und Motorikparametern, wie die Zeitdauer auf dem Board im Verhältnis zu der Anzahl der besuchten Löcher („time on board per number of holes visited“ (TOB/NHV)). Außerdem zeigten die Fentanyl-N₂O anästhesierten Ischämie-Tiere einen signifikanten Anstieg des histopathologischen Schadens. Aus den Untersuchungen ist zu schließen, dass das volatile Anästhetikum Sevofluran eine schützende Wirkung auf das Hirngewebe ausübt und somit auch die neurokognitiven Fähigkeiten postischämisch positiv beeinflusst, verglichen zu den Fentanyl-N₂O-Gruppen. Übertragen auf die Humanmedizin könnte unter Umständen somit bei Operationen im Bereich der A. carotis, der Hirnarterien oder am Gehirn selbst ein Einsatz des volatilen Anästhetikums Sevofluran vorteilhaft sein um neurokognitive postoperative Schäden einzudämmen bzw. den neurokognitiven Defizit zu verringern.

6. SUMMARY

Influence of an incomplete cerebral ischemia and reperfusion on behaviour, cognitive abilities and micromorphology of the central nervous system of sevoflurane anesthetized rats.

The cognitive performance of rats that received selective hippocampal injury produced by incomplete brain ischemia and reperfusion of sevoflurane anesthetized rats was investigated by using the modified hole-board-test (OHL et al. 1998). There was a special attention to neurocognitive and motoric abilities and histopathologic outcome. These results were compared to the cognitive performance of rats with fentanyl-N₂O anesthesia.

Male Sprague-Dawley rats (n=34) were randomised into four groups:

- Fentanyl-N₂O/ischemia-group:** 25 µg/kg/h fentanyl and O₂/N₂O (FiO₂=0.33)
with cerebral ischemia, n=10
- Fentanyl-N₂O/sham-group:** 25 µg/kg/h fentanyl, and O₂/N₂O (FiO₂=0.33)
without cerebral ischemia, n=7
- Sevofluran/ischemia-group:** 2 vol% sevofluran in O₂/air (FiO₂=0.33)
with cerebral ischemia, n=10
- Sevofluran/sham-group:** 2 vol% sevofluran in O₂/air (FiO₂=0.33)
without cerebral ischemia, n=7

The daily training with the hole-board started 13 days before surgery. The modified hole-board-test was continued until day 10 after ischemia. The aim of the modified hole-board-test was that the rats learn that 3 visually marked holes out of 15 contain food. Every day 3 different holes are visually marked. Each rat makes four trails/day. The cognitive abilities of the working memory and the declarative memory can be tested with the modified hole-board-test. Apart from that, the bodyweight, the general body condition and the food and water consumption were noted. On day 11 brains were removed for histopathologic evaluation (H/E-staining).

The results show that selective ischemic hippocampal injury impaired declarative (wrong choices=number of wrong opened holes) and working memory (repeated choices=number of repeated opened holes) function in rats in every group. But the response was worse in the fentanyl-N₂O group compared to sevoflurane anesthetized rats and this effect was significant. Also there was a significant effect in motoric and motivational parameters like time on board per number of holes visited (TOB/NHV). Fentanyl-N₂O anesthetized ischemic rats developed a significant increase in the histopathologic damage.

This evaluation indicates that sevoflurane protects the brain and shows a well influence on postischemic neurocognitive abilities compared to fentanyl-N₂O anesthesia.

In humane medicine the use of sevoflurane during brain surgery and operations of the brain arteries could be advantageous to decrease neurokognitive deficits after injury.

7. LITERATURVERZEICHNIS

ADIS INTERNATIONAL (1996)

Drug Evaluation.
Drugs 51, 658-700

ARCHER J (1973)

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

ASKEW HR (1997)

Behandlung von Verhaltensproblemen bei Hund und Katze: ein Leitfaden für die tierärztliche Praxis.
Blackwell-Wissenschaftsverlag, Berlin und Wien, 260-266

ASTRUP J (1981)

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

ATKINSON RC, SHIFFRIN RM (1998)

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

AUER RA, SMITH ML, SIESJÖ BK (eds) (1986)

Ischemic brain damage in the rat in long term recovery model.
In: BAETHMANN A, GO KG, UNTERBERG A: Mechanisms of secondary brain. Plenum, New York, 131-142

BADDELEY A (1998)

Working memory.
Life Sci 321, 167-173

BAETHMANN A, GO KG, UNTERBERG A (eds) (1986)

Mechanisms of secondary brain damage.
Plenum, New York, 32-41

BAMFORD J, SANDERCOCK P, JONES L, WARLOW C (1987)

The natural history of lacunar infarction:
Stoke 18, 545-551

BAUGHMAN VL, HOFFMAN WE, THOMMAS C, MILETICH DJ, ALBRECHT RF (1988)

Neurologic outcome in aged rats after incomplete cerebral ischemia.
Anesth Analg 67, 677-682

BAUGHMAN VL, HOFFMAN WE, MILETICH DJ, ALBRECHT RF, THOMAS C (1988)

Neurologic outcome in rats following incomplete cerebral ischemia during halothane, isoflurane, or N₂O.
Anesth 69, 192-198

BAUGHMAN VL, HOFFMAN WE, THOMAS C, MILETICH DJ, ALBRECHT RF (1990)

Comparison of methohexital and isoflurane on neurological outcome and histopathology following incomplete ischemia in rats.
Anesth 72, 85-94

BECKER JT, WALKER JA, OLTON WH (1980)

Neuroanatomical bases of spatial memory.
Brain Res 200, 307-320

BEDERSON JB, PITTS LH, TSUJI M, NISHIMURA MC, DAVIS RL, BARTKOWSKI HM (1986)

Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination.
Stroke 17, 472-476

BEDFORTH NM, HARDMAN JG, NATHANSON MH (2000)

Cerebral hemodynamic response to the introduction of desflurane: a comparison with sevoflurane.
Anesth Analg 91, 152-155

BENINGER RJ, COOPER AT, MAZURSKI EJ (1985)

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

BERRIDGE KC, WHISHAW IQ (1992)

Cortex, striatum and cerebellum: control of a syntactic grooming sequence.
Exp Brain Res 90, 275-290

BIRBAUMER N, SCHMIDT RF (1996)

Biologische Psychologie.
Springer, Berlin, 15-35

BLAKE DW, HOGG MN, HACKMAN CH, PANG J, BJOKSTEN AR (1998)

Induction of anaesthesia with sevoflurane, preprogrammed propofol infusion or combined sevoflurane/propofol for laryngeal mask insertion: cardiovascular, movement and EEG bispectral index responses.
Anaesth Intens Care 26, 360-365

BLISS TVP, COLLINGRIDGE GL (1993)

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

BOGANSKI R, BLOBNER M, BECKER I, HÄNEL F, FINK H, KOCHS E (2000)
Cerebral histopathology following portal venous infusion of bacteria in a chronic porcine model.
Anesth 93, 793-804

BOISSIER J-R, TARDY J, DIVERRES J-C(1960)
Une nouvelle methode simple pour explorer l'action „tranquillisante”: le teste de la Cheminee.
Med exp 3, 81-84

BROADHURST PL (1957)
Determinants of emotionality in the rat. I. Situational factors.
Br J Psychol 48, 1-12

BROADHURST PL (1958B)
Determinants of emotionality in the rat. III. Strain differences.
Br J Psychol 52, 55-59

BROADHURST PL (1958A)
Determinants of emotionality in the rat. II. Antecedent factors.
Br J Psychol 49, 12-20

BUSTO R, DIETRICH WD, GLOBUS MYT, VALDE'S I, SCHEINBERG P, GINSBERG MD (1987)
Small differences in intraschemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury.
J Cereb Blood Flow Metabol 7, 729-738

CALDWELL JE, LASTER MJ, MAGORIAN T, HEIER T, YASUDA N, LYNAM D, EGER II EI (1991)
The neuromuscular effects of desflurane, alone and combined with pancuronium or succinylcholine in humans.
Anesth 74, 412-418

CAVE CB, SQUIRE LR (1992)
Intact verbal and nonverbal short-term memory following damage to the human Hippocampus.
Hippocampus 2, 151-163

CHARRIAUT-MARLANGUE C, REMOLLEAU S, AGGOUN-ZOUAOU D, BEN-ARI Y (1998)
Apoptosis and programmed cell death: a role in cerebral ischemia.
Biomed Pharmacother 52, 264-269

CHOPP M, LI Y, ZHANG ZG, FREYTAG SO (1992)
P53 expression in brain after middle cerebral artery occlusion in the rat.
Biochem Biophys Res Commun 182, 1201-1207

CHUNG E, IWASAKI K, MISHIMA K, EGASHIRA N, FUJIWARA M (2002)

Repeated cerebral ischemia induced hippocampal cell death and impairments of spatial cognition in the rat.

Life Sci 72, 609-619

COMBS DJ, D'ALECY LG (1987)

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

Stroke 18, 503-511

CONZEN P, HOBBAHN J (1996)

Sevofluran Kompendium.

Wissenschaftliche Verlagsabteilung Abbott GmbH, Wiesbaden, 12-45

DAHAN A, SARTON E, VAN DEN ELSEN M, VAN KLEEF J, TEPPEMA L, BERKENBOSCH A (1996)

Ventilatory response to hypoxia in humans: influences of subanesthetic desflurane.

Anesth 85, 60-68

DALE O, BROWN BR (1987)

Clinical pharmacokinetics of the inhalational anaesthetics.

Clin Pharmacokin 12, 145-167

DE COURTEN-MYERS GM, MYERS RE, SCHOOLFIELD L (1988)

Hyperglycemia enlarges infarct size in cerebrovascular occlusion in cats.

Stroke 19, 623-630

DEL ZOPPO GJ (1994)

Microvascular changes during cerebral ischemia and reperfusion.

Cerebravasc Brain Metab Rev 6, 47-96

DIETRICH WD, BUSTO R, ALONSO O, GLOBUS MYT, GINSBERG MD (1993)

Intraischemic but not postischemic brain hypothermia protects chronically following global forebrain ischemia in rats.

J Cereb Blood Flow Metab 13, 541-549

DIVAC I (1971)

Frontal lobe system and spatial reversal in the rat.

Neuropsychologia 9, 175-183

DOYLE G, YULE EP (1957)

Grooming activities and freezing behaviour in relation to emotionality in albino rats.

Anim Behav 7, 18-22

DRUMMOND JC, SHAPIRO HM (1993)

Cerebral physiology.

In: MILLER RD (Hrsg.), Anaesthesia. 4. Aufl., Churchill Livingstone, New York, 689-729

DUNNETT SB (1990)

Role of prefrontal cortex and striatal output systems in short-term memory deficits associated with ageing, basal forebrain lesions, and cholinergic-rich grafts.

Can J Psychol 44, 210-232

EBERSPÄCHER E, WERNER C, ENGELHARD K (2001)

Apoptosis-regulating proteins are influenced by sevoflurane after incomplete cerebral ischemia in rats.

J Neurosurg Anesth 13, 361-365

EBERT TJ, HARKIN CP, MUZI M (1995)

Cardiovascular responses to sevoflurane: a review.

Anesth Analg 81, 11-22

EGER II EI, JOHNSON BH (1987)

Rates of awakening from anesthesia with I-653, halothane, isoflurane, and sevoflurane. A test of the effect of anesthetic concentration and duration in rats.

Anesth Analg, 66, 977-982

EGER II EI (1994)

New inhaled anesthetics.

Anesth 80, 906-922

EGER II EI (1993)

New inhalational agents-desflurane and sevoflurane.

Can J Anaesth 40, 3-5

EGER II EI (1992)

Desflurane animal and human pharmacology. Aspects of kinetics, safety, and MAC.

Anesth Analg 75, 3-9

EICHENBAUM H, OTTO T, COHEN NJ (1992)

The hippocampus-what does it do?

Behav Neural Biol 57, 2-36

ENGELHARD K, BACHL M, EBERSPÄCHER E, WERNER C (2002)

Long-term effects of sevoflurane on expression of apoptosis-regulating proteins after cerebral ischemia in rats.

Anesth 96, A-740 (Meeting Abstracts)

ENGELHARD K, WERNER C, REEKER W, LU H, MÖLLENBERG O, MIELKE L, KOCHS E (1999)

Desflurane and isoflurane improve neurological outcome after incomplete cerebral ischaemia in rats.

Br J Anaesth. 83, 412-415

ERVIN FR, ANDERS TR (1970)

Normal and pathological memory, data and a conceptual scheme.

In: SCHMITT FO (Hrsg.) The Neurosciences, Second study Program, Rockefeller University Press, New York, 163

FILE SE, WARDILL AG (1975)

The reliability of the hole-board apparatus.
Psychopharmacologia 44, 47-51

FISH FF (eds) (1996)

Measurement of swimming kinematics in small terrestrial mammals.
In: OSSENKOPP K-P, KAVALIERS M, SANBERG PR: Measuring movement and locomotion, From invertebrates to humans. RG Landes, Austin, Texas, 135-164

FRACKOWIAK RSJ, FRISTON KJ, FRITH CD (1997)

Human Brain Function.
Academic Press, San Diego, 1-3

FREDMAN B, NATHANSON MH, SMITH I, WANG J, KLEIN K, WHITE PF (1995)

Sevoflurane for outpatient anesthesia, a comparison with propofol.
Anesth Analg 81, 823-825

FUNK W, GRUBER M, WILD K, HOBBAHN J (1999)

Dry soda lime heavily degrades sevoflurane during simulated inhalation induction.
Br J Anaesth 82, 193-198

GAZZANIGA MS (1995)

The Cognitive Neurosciences.
Cambridge (MA), MIT Press, 17-22

GINSBERG MD, BOGOUSLAVSKY J (1998)

Cerebrovascular disease, pathophysiology, diagnosis, and management.
Blackwell Science, Massachusetts, 287-307

GINSBERG MD, BUSTO R (1989)

Rodent models of cerebral ischemia.
Stroke 20, 1627-1642

GINSBERG MD, PRADO R, DIETRICH WD, BUSTO R, WATSON BD (1987)

Hyperglycemia reduces the extent of cerebral infarction in rats.
Stroke 18, 570-574

GINSBERG MD, WELSH FA, BUDD WW (1980)

Deleterious effect of glucose pretreatment on recovery from diffuse cerebral ischemia in the cat. I. Local cerebral blood flow and glucose utilization.
Stroke 11, 347-354

GOLDBERG ME, CANTILLO J, DEAL E, VEKEMAN D, McDOUGALL R, AFSHAR M, ZAFEIRIDIS A, LARIJANI G (1999)

Dose of compound A, not sevoflurane, determines changes in the biochemical markers of renal injury in healthy volunteers.
Anesth Analg 88, 437-445

GOLDMAN-RACIK PS (1988)

Topography of cognition, parallel distributed networks in primate association Cortex.
Annu Rev Neurosci 11, 137-156

GOLDMAN-RACIK PS (1994)

Das Arbeitsgedächtnis.
In: Gehirn und Bewusstsein. Spektrum Akad Verlag, Heidelberg, 68-76

GONOWSKI CT, LASTER MJ, EGER II EI, FERREL LD, KERSCHMANN RL (1994)

Toxicity of Compound A in rats, effect of 3-hour administration.
Anesth 80, 556-565

GOULD JL (1986)

The biology of learning.
Ann Rev Psychol 37, 163-193

GRAHAM DI, LANTOS BL (1997)

Greenfield's Neuropathology.
6. Edition, Arnold, London, 86-90

GRAUVOGL A (1983)

zum Begriff "artgerecht" und "verhaltensgerecht" in Bezug auf die Nutztierhaltung.
Prakt Tierarzt 65, 232-243

GÜTTNER J (1993)

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

HAKIM AM (1987)

The cerebral ischemic penumbra.
Can J Neurol Sci 14, 557-559

HALL CS (1934)

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

HALL JE, STEWART JIM, HARMER M (1997)

Single-breath inhalation induction of sevoflurane anaesthesia with and without nitrous oxide, a feasibility study in adults and comparison with an intravenous bolus of propofol.
Anaesthesia 52, 410-415

HALL RD, LINDHOLM EP (1974)

Organization of motor and somatosensory neocortex in the albino rat.
Brain Res 66, 23-38

HALLENBECK JM, DUTKA AJ (1990)

Background review and current concepts of reperfusion injury.
Arch Neurol 47, 1245-1254

HARA H, SUKAMOTO T, KONGURE K (1993)

Mechanism and pathogenesis of ischemia-induced neuronal damage.
J Cerebr Blood Flow Metabol 11, 994-1000

HARRISON LM, MAIR RG (1996)

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

HEINDEL WC, SALMON DP, BUTTERS N (1991)

The biasing of weight judgments in Alzheimer's and Huntington's disease, a priming or programming phenomenon.
J Clin Exp Neuropsychol 13, 189-203

HEINDEL WC, SALMON DP, SHULTS CW, WALICKE PA, BUTTERS N (1989)

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

HENNERICI M (1995)

Pathophysiologische Aspekte des ischämischen Hirninfarkts.
Akt Neurol 22, 81-86

HILL NC, MILIKAN CH, WALKIN KG, SAYRE GP (1955)

Studies in cerebrovascular disease. VII. Experimental production of cerebral infarction by intracarotid injection of homologous blood clot.
Mayo Clin Proc 30, 625

HODGES H (1996)

Maze procedures, the radial-arm and Water-Maze compared.
Cogn Brain Res 3, 167-181

HOFF JT (1986)

Cerebral protektion.
J Neurosurg, 65, 579-591

HOFFMAN WE, BAUGHMAN VL, ALBRECHT RF (1993)

Interaction of catecholamines and nitrous oxide ventilation during incomplete brain ischemia in rats.
Anesth Analg 77, 908-912

HOFFMAN WE, BRAUCHER E, PELLIGRINO DA, THOMAS C, ALBRECHT RF, MILETICH DJ (1990)

Brain lactate and neurologic outcome following incomplete ischemia in fasted, nonfasted and glucose-loaded rats.
Anesth, 72, 1045-1050

HOFFMAN WE, WERNER C, BAUGHMAN VL, THOMAS C, MILETICH DJ, ALBRECHT RF (1991)

Postischemic treatment with hypothermia improves outcome from incomplete cerebral ischemia in rats.

J Neurosurg Anesth 3, 34-38

HOFFMAN WE, THOMAS C (1996)

Effects of graded hypothermia on outcome from brain ischemia.

Neurol Res 18 185-189

HOSSAIN M, UMA DEVI P (2001)

Effect of irradiation at the early foetal stage on adult brain function of mouse: learning and memory.

Int J Radiat Biol 77, 581-585

HOSSMANN KA (1985)

Postischemic resuscitation of the brain, selective vulnerability versus global resistance.

Progr Brain Res 63, 3-25

HOWE ML, COURAGE ML (1993)

On resolving enigma of infantile amnesia.

Psychol Bull 2, 305-326

HUH PW, BELAYEV L, ZHAO W, KOCH S, BUSTO R, GINSBERG MD (2000)

Comparative neuroprotective efficacy of prolonged moderate intraischemic and postischemic hypothermia in focal cerebral ischemia.

J Neurosurg 92 91-99

IMAMURA S, IKEDA K (1987)

Comparison of the epinephrine-induced arrhythmogenic effect of sevoflurane with isoflurane and halothane.

J Anaesth 1, 62-68

ITO U, SPATZ M, WALKER JT, KLATZO I (1975)

Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils.

Acta Physiol Scand 92, 209-223

JACKSON PA, KESNER RP, AMANN K(1998)

Memory for duration, role of Hippocampus and medial prefrontal Cortex.

Neurobiol Learn Mem 70, 328-348

JARRARD LE, FELDON J, RAWLINS JN, SINDEN JD, GRAY JA (1986)

The effects of intrahippocampal ibotenate on resistance to extinction after continuous or partial reinforcement.

Exp Brain Res 61, 519-530

JONES RM (1990)

Desflurane and sevoflurane, Inhalation anaesthetics for this decade?

Br J Anaesth 65, 527-536

JURNA I (1987)

Analgetika.

In: FORTH W, HENSCHLER D, RUMMEL W: Pharmakologie und Toxikologie. 5. Auflage, BI Wissenschaftsverlag, Mannheim, 523-535

KAMEYAMA M, SUZUKI J, SHIRANE R, OGAWA A (1985)

A new model of bilateral hemispheric ischemia in the rat-three vessel occlusion model.
Stroke 16, 489

KAMMER T, REHBERG B, MENNE D, WARTENBERG HC, WENNINGMANN I, URBAN BW (2002)

Propofol and Sevofluran in subanesthetic concentrations act preferentially on the spinal cord.
Anesth 97, 1416-1425

KANDEL ER, SCHWARTZ JH (eds) (1985)

Principles of Neural Science.

2nd Ed. New York, Elsevier, 25-41

KAUPPINEN RA, WILLIAMS SR, BUSZA AL, VAN BRUGGEN N (1993)

Applications of magnetic resonance spectroscopy and diffusion-weighted imaging to the study of brain biochemistry and pathology.
Trends Neurosci 16, 88-94

KAWAI N, OKAUCHI M, MORISAKI K, NAGAO S (2000)

Effects of delayed intraischemic and postischemic hypothermia on a focal model of transient cerebral ischemia in rats.
Stroke 31, 1982-1989

KELLEY AE, CADOR M, STINUS L (1985)

Behavioral analysis of the effect of substance P injected into the ventral mesencephalon on investigatory and spontaneous motor behavior in the rat.
Psychopharmacology 85, 37-46

KEMPSKI O (1994)

Neuroprotektion.

Anaesthesist 43, 225-233

KESNER, RP, CHIBA AA, JACKSON-SMITH P (1994)

Rats do show primacy and recence effects in memory for lists of spatial locations, a reply to Gaffan.
Anim Learn Behav 22, 214-218

KIKURA M, IKEDA K (1993)

Comparison of effects of sevoflurane/nitrous oxide and enflurane/nitrous oxide on myocardial contractility in humans. Load-independent and noninvasive assessment with transesophageal echocardiography.
Anesth 79, 235-243

KIPRIANOVA I, SANDKUHLER J, SCHWAB S (1999)
Brain-derived neurotrophic factor improves long-term potentiation and cognitive function after transient forebrain ischemia in the rat.
Exp Neurol 151, 511-519

KITAGUCHI K, OHSUMI H, KURO M, NAKAJIMA T, HAYASHI Y (1993)
Effects of sevoflurane on cerebral circulation and metabolism in patients with ischemic cerebrovascular disease.
Anesth 79, 704-709

KITAHATA H, TANAKA K, KIMURA H, SAITO T (1993)
Effects of sevoflurane on left ventricular diastolic function using transesophageal echocardiography.
Masui 42, 358-364

KLINKE R, SILBERNAGL S (2000)
Lehrbuch der Physiologie.
3. Auflage, Thieme, Stuttgart, 728-756

KOCHS E, HOFFMAN W, WERNER C, THOMAS C, ALBRECHT R, SCHULTE AM ESCH J (1992)
The Effect of Propofol on Brain Electrical Activity, Neurologic outcome, and Neuronal damage Following Incomplete Ischemia in Rats.
Anesthesiology 76, 245-252

KOHNO K, UCHIDA H, YAMAMOTO N, KOSAKA K (1994)
Sevoflurane anesthesia in a patient with multiple sclerosis [in Japanese].
Masui Aug 43, 1229-1232

KOIDE T, WIELOCH TW, SIESJÖ BK (1986)
Circulating catecholamines modulate ischemic brain damage.
J Cereb Blood Flow Metab 6, 559-565

KOLB B, PITTMAN K, SUTHERLAND RJ, WHISHAW IQ (1982)
Dissociation of the contributions of the prefrontal cortex and dorsomedial thalamic nucleus to spatially guided behavior in the rat.
Behav Brain Res 6, 365-378

KOLB B, WHISHAW IQ (1985)
An observer's view of locomotor asymmetry in the rat.
Neurobehav Toxicol Teratol 7, 71-78

KOLB B (1984)
Functions of the frontal cortex of the rat, a comparative review.
Brain Res 320, 65-98

KRAJEWSKI S, MAI JK, KRAJEWSKI M SIKORSKA M, MOSSAKOWSKI MJ, REED JC (1995)
Upregulation of Bax protein levels in neurons following cerebral ischemia.
J Neurosci 15, 6364-6376

KUDO M, AOYAMA A, ICHIMORI S, FUKUNAGA N (1982)

An animal model of cerebral infarction, homologous blood clot emboli in rats.
Stroke 13, 505

LAININGER M (1989)

Kann mit einfachen Verhaltenstests das Wohlbefinden von Labortieren beurteilt werden?
Verhaltensuntersuchung am Beispiel der Ratte.
Vet Med Diss FU Berlin

LANGE KW, RIEDERER P (eds) (1993)

The neurochemistry of glutamate.
In: KEMPSKI O: Glutamate-transmitter and toxin. Zuckschwerdt, München Bern, Wien, 30-43

LARSEN R (1990)

In: URBAN-SCHWARZENBERG: Anästhesie. 3.Aufl., München, Wien, Baltimore, 199

LEMAY DR, GEHUA L, ZELENOCK GB, D'ALECY LG (1988)

Insulin administration protects neurologic function in cerebral ischemia rats.
Stroke, 19, 1411-1419

LIEBMAN, M (1993)

Blutversorgung des Gehirns.
In: SCHÜNKE M. UND SCHÜNKE G.(Hrsg.), Basiswissen Neuroanatomie. George Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 113-117

LOCKHART SH, RAMPIL IJ, YASUDA N, EGER II EI, WEISKOPF RB (1991)

Depression of ventilation by desflurane in humans.
Anesth, 74, 484-488

LU H, WERNER C, ENGELHARD K, SCHOLZ M, KOCHS E (1998)

The effects of sevoflurane on cerebral blood flow autoregulation in rats.
Anesth Analg 87, 854-858

LYSKO PG, FEUERSTEIN G (eds) (1993)

Excitatory amino acid neurotoxicity at the N-methyl-D-aspartate receptor, protection by sigma agonists.
In: KEMPSKI O: Glutamate-transmitter and toxin. Zuckschwerdt, München Bern Wien, 86-94

MacMILLAN V, SIESJÖ BK (1973)

The influence of hypocapnia upon intracellular pH and upon some carbohydrate substrates, amino acids and organic phosphates in the brain.
J Neurochem 21, 1283-1299

MacPHAIL EM (1982)

Brain and Intelligence in Vertebrates.
Clarendon, 110-114

MacPHAIL, EM (1996)

Cognitive function in mammals, the evolutionary perspective.
Cogn Brain Res 3, 279-290

MALAN TP JR (1995)

Sevofluran and renal function.
Anesth Analg 81, 39-45

MANNS M (2001)

Verursacht die Induktion cerebraler Stickoxidsynthesen kognitive Leistungsstörungen während einer systemischen Infektion? Experimentelle Untersuchungen an der Ratte.
Vet Med Diss TU München

MARCOUX FW, POBERT AW, WEBER ML, BOXER PA (eds) (1993)

Glutamate mediated excitotoxicity and experimental stroke.
In: KEMPSKI O: Glutamate-transmitter and toxin. Zuckschwerdt, München, Bern, Wien, 76-85

MARLER P, TERRACE HS (eds) (1984)

The Biology of Learning.
Springer, Berlin, 132-150

MARSHALL LF, DURITY F, LOUNSBURY R, GRAHAM DI, WELSCH F, LANGFIT TW (1975)

Experimental cerebral oligemia and ischemia produced by intracranial hypertension. Part 1, Pathophysiology, electroencephalography, cerebral blood flow, blood-brain barrier and neurological function.
J Neurosurg 43, 308

MARTIN JL (1995)

Hepathotoxicity after desfluran anesthesia.
Anesth; 83, 1125-1129

MARTIN P, BATESON P (1993)

Measuring behaviour.
An introductory guide Cambridge University Press, 2. Auflage, 25-27

MARTZ D, RAYOS G, SCHIELKE GP, BETZ AL (1989)

Allopurinol and dimethylthiourea reduce brain infarction following middle cerebral artery occlusion in rats.
Stroke 20, 488-494

MASUDA Y, HAYASHI M, OBARA H (1994)

Sevofluran anesthesia for a patient with facioscapulohumeral muscle dystrophy [in Japanese].
Masui Apr 43, 580-583

MATTA BF (1999)

Direct cerebral vasodilatory effects of sevoflurane and isoflurane.
Anesth, 91, 677-680

MC AULEY MA (1995)

Rodent models of focal ischemia.
Cerebrovasc Brain Metab Rev 7, 153-180

McINTOSH TK, YU T, GENNARELLI TA (1994)

Alterations in regional brain catecholamine concentrations after experimental brain injury in the rat.
J Neurochem 63, 1426-1433

McNAMARA RK, SKELTON RW (1993)

The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze.
Brain Res Rev 18, 33-49

MESULAM M-M (1998)

From sensation to cognition.
Brain 121, 1013-1052

MICHAELIS EM (2002)

Vergleichende Untersuchungen der kognitiven Fähigkeiten von Ratten nach Infektion mit E. coli-Bakterien bzw. Injektion von devitalisierten Corynebacterium parvum.
Vet Med Diss TU München

MICHEAU J, DESTRADE C, JAFFARD R (1985)

Physiostigmine reverses memory deficits produced by pretraining electrical stimulation of the dorsal hippocampus in mice.
Behav brain Res 15, 75-81

MIKLYAEVA EI, MARTENS DJ, WHISHAW IQ (1995)

Impairments and compensatory adjustments in spontaneous movement after unilateral dopamine depletion in rats.
Brain Res 681, 23-40

MILTNER WHR, WEISS T (1999)

Psychologische und psychobiologische Grundlagen der Verhaltensmedizin.
In: ENZYKLOPÄDIE DER PSYCHOLOGIE. Bd.3, Göttingen, 29-173

MIURA Y, GROCOTT H, BART R, PEARLSTEIN R, DEXTER F, WARNER D (1998)

Differential effects of anesthetic agents on outcome from near-complete but not incomplete global ischemia in the rat.
Anesth 89, 391-400

MORIO M, FUJI K, IMAI M (1992)

Reaction of sevoflurane and degradation products with soda lime, toxicity of byproducts.
Anesth 77, 1155-1164

MORRIS R (1984)

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

MORRIS RG, GARRUD P, RAWLINS JN, O'KEEFE J (1982)

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

MORRIS, RG, EVENDEN LL, SAHAKIAN BJ and ROBBINS TW (eds) (1987)

Computer-aided assessment of dementia. Comparative studies of neuropsychological deficits in Alzheimer's and Parkinson's disease.
In: STAHL SM: Cognitive Neurochemistry. Oxford University Press. Oxford,UK, 21-36

MRSULJA BB, DJURICIC BM, UEKI Y, CAHN R, CVEJIC V, MARTINEZ H, MICIC DV, SPATZ M (eds) (1985)

Cerebral bloodflow, energy utilization, serotonin metabolism (NaK), ATPase activity and postischemic brain swelling.
In: INABA Y, KATZO I, SPATZ M: Brain edema. Springer, Berlin Heidelberg, 170-177

MURDOCH J, HALL R (1990)

Brain protection, physiological and pharmacological considerations. Part I, The physiology of brain injury.
Can J Anaesth 6, 663-671

NAKASHIMA K, TODD MM, WARNER DS (1995)

The relation between cerebral metabolic rate and ischemic depolarization.
Anesth 82, 1199-1208

NEDEGAARD M, JAKOBSEN J, DIEMER NH (1988)

Autoradiographic determination of cerebral glucose content, blood flow, and glucose utilization in focal ischemia of the rat brain: Influence of the plasma glucose concentration.
J Cereb Blood Flow Metab 8, 100-108

NEMOTO EM, KLEMENTAVICIUS R, MELICK JA, YONAS H (1996)

Norepinephrine activation of basal cerebral metabolic rate for oxygen (CMRO₂) during hypothermia in rats.
Anesth Analg 83, 1262-1267

NICKEL R, SCHUMMER A, SEIFERLE E (1991)

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere: Band 4, Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine, Drüsen.
3. Edition, Paul Parey Verlag, Berlin, 74-199

NONNEMAN AJ, VOIGT J, KOLB BE (1974)

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

NUSCHELER M, CONZEN P, SCHWENDER D, PETER K (1996)

Fluoridinduzierte Nephrotoxizität, Fakt oder Fiktion.
Anaesthesist 45, 32-40

OGASAWARA H, SHIMODATE Y, ISOZAKI K, et al.(1990)

Sevoflurane anesthesia for a patient with cerebral palsy.
Masui 39, 500-502

O'KEEFE J, CONWAY DH (1978)

Hippocampal place units in the freely moving rat, why they fire where they fire.
Exp Brain Res 31, 573-579

OHL F, FUCHS E (1999)

Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew.
Cognitive Brain Res 7, 379-387

OHL F, OITZL MS, FUCHS E (1998)

Assessing cognitive functions in the tree shrews, visuo-spatial and spatial learning in the home cage.
J Neurosci Methods 81, 35-40

OHL F, TOSCHI N, HENNIGER MSH, LANDGRAF R (2000)

Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety.
Behav Neurosci, in press

OLTON DS (1989)

Frontal Cortex, timing and memory.
Neuropsychologia 27, 121-130

OLTON DS, BECKER JT, HANDELMANN GE (1979)

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

OLTON DS, MARKOWSKA AL, PANG K, GOLKI S, VOYTKO ML, GORMAN LK (1992)

Comparative cognition and assessment of cognitive processes in animals.
Behav Pharmacol 3, 307-318

PALISSA A, BECKER A (1986)

Der Chimney-Test. Erfahrungen bei der Anwendung eines Verhaltenstests zur Prüfung von Pharmaka.
Versuchstierkunde 28, 129-134

PANDIT JJ, MANNING-FOX J, DORRINGTON KL, ROBBINS PA (1999)

Effects of subanaesthetic sevoflurane on ventilation. 1, Response to acute and sustained hypercapnia in humans.
Br J Anaesth 83, 204-209

PANG K, MERKEL F, EGETH H, OLTON DS (1992)

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

PAXINOS G, WATSON C (1998)

The rat brain in stereotaxic coordinates.
4. Edition, Academic Press, San Diego, 128-144

PLASCHKE K, YUN SW, MARTIN E, HOYER S, BARDENHEUER HJ (2000)
Linear relation between cerebral phosphocreatine concentration and memory capacities during permanent brain vessel occlusion in rats.
Ann N Y Acad Sci 903, 299-306

POOLE T (1997)
Happy animals make good science.
Anim Behav 31, 116-124

POPOVIC R, LINIGER R, BICKLER PE (2000)
Anesthetics and mild hypothermia similarly prevent hippocampal neuron death in an in vitro model of cerebral ischemia.
Anesth 92, 1343-1349

POUCET B (1990)
A further characterization of the spatial problem-solving deficit induced by lesions of the medial frontal cortex in the rat.
Behav Brain Res 41, 229-237

PULSINELLI WA, BRIERLEY JB, PLUM F (1982)
Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia.
Ann Neurol 11, 491-498

PULSINELLI WA, BRIERLEY JB (1979)
The temporal profile of ischemic neuronal damage in the four-vessel occlusion rat model.
Stroke, 492

PULSINELLI WA, WALDMAN D, RAWLINSON D, PLUM F (1982)
Moderate hyperglycemia augments ischemic brain damage, A neuropathologic study in the rat.
Neurology 32, 1239-1246

REEKER W, WERNER C, MÖLLENBERG O, MIELKE L, DROESE D, KOCHS E (1996)
S-(+)-ketamine reduces neurological deficit following incomplete cerebral ischemia in rats.
Br J Anaesth 75, 756-760

REISNER I (1991)
The Pathophysiologic Basic of Behavior Problems.
Vet Clin N Am Small Anim Pract 21, 207-224

REULER JB (1978)
Hypothermia, pathophysiology, clinical settings, and management.
Ann Inter Med 89, 519-527

ROBERTS AC (1996)
Comparison of cognitive function in human and non-human primates.
Cogn Brain Res 3, 279-290

ROBINSON RG, COYLE JT (1980)

The differential effect of right versus left hemispheric cerebral infarction on catecholamines and behavior in the rat.

Brain Res 188, 63-78

ROBINSON RG, SHOEMAKE WJ, SCHLUMPF M, VALK T, BLOOM FE (1975)

Effect of experimental cerebral infarction in rat brain on catecholamines and behavior.

Nature 225, 332-334

ROBINSON RG (1979)

Differential behavioral and biochemical effects of right and left hemispheric cerebral infarction in the rat.

Science 205, 707-710

ROMEIS B (1989)

Mikroskopische Technik.

17. Edition, Urban und Schwarzenberg, München, 213-220

ROSOMOFF HL, HOLADAY DA (1954)

Cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption during hypothermia.

Am J Phys 179, 85-88

SALIS M (1972)

Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat.

Physiol Behav 8, 119-122

SANCHEZ-SANTED F, DE BRUIN JP, HEINSBROEK RP, VERWER RW (1997)

Spatial delays alternation of rats in a T-maze, effects of neurotoxic lesions of the medial prefrontal cortex and of T-maze rotations.

Behav Brain Res 84, 73-79

SANFORD J, EWBANK R, MOLONY V, TAVERNOR D, UVAROV O (1986)

Guidelines for the recognition and assesment of pain in animals.

et Rec 118, 334-338

SCHACTER DL (1987)

Implicit expressions of memory in organic amnesia, learning of new facts and associations.

Hum Neurobiol 6, 107-118

SCHELLER MS, NAKAKIMURA K, FLEISCHER JE, ZORNOW MH (1990)

Cerebral effects of sevoflurane in the dog, comparison with isoflurane and enflurane.

Br J Anaesth 65, 388-392

SCHELLER MS, TATEISHI A, DRUMMOND JC, ZORNOW MH (1988)

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.

Anesth 68, 548-551

SCHMIDT RF, THEWS G (1997)

Physiologie des Menschen.
Springer, Berlin, 123-189

SHALLICE T, WARRINGTON EK (1970)

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

SHAPIRA Y, ARTRU AA, QASSAM N, NAVOT N, VALD U (1995)

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

SHAPIRA Y, YADID G, COTEV S, NISKA A, SHOHAMI (1990)

Protectiv effect of MK-801 in experimental brain infury.
J Neurotrauma 3, 131-139

SHIRAISHI Y, IKEDA K (1990)

Uptake and biotransformation of sevoflurane in humans: a comparative study of sevoflurane with enflurane, and isoflurane.
J Clin Anesth 2, 381-386

SCHWENDER D, DAUNDERER M, KLASING S, FINSTERER U, PETER K (1998)

Power spectral analysis of the electroencephalogram during increasing end-expiratory concentrations of isoflurane, desflurane and sevoflurane.
Anaesthesia 53, 335-342

SIENKOWICZ E, HANSEN AJ (1978)

Clinical restitution following cerebral ischemia in hypo-, normo-, and hyperglycemic rats.
Acta Neurol Scand 58, 1

SIESJÖ BK (1981)

Cell damage in the brain, a speculative synthesis.
J Cereb Blood Flow Metab 1, 155-185

SIESJÖ BK (1992a)

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

SIESJÖ BK (1992b)

Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II, Mechanisms of damage and treatment.
J Neurosurg 77, 337-354

SILBERNAGL S, DESPOPOULOS A (1991)

Taschenatlas der Physiologie.
4. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 56 und 260

SINHA A, CLATCH RJ, STUCK G, BLUMENTHAL SA, PATEL SA (1996)

Isoflurane hepatotoxicity, a case report and review of the literature.
Am J Gastroenterol 91, 2406-2409

SMITH M, BENDEK G, DAHLGREN N, ROSEN I, WIELOCH T, SIESJÖ B (1984)

Models for studying long-term recovery following forebrain ischemia in the rat. 2. A 2-vessel occlusion model.
Acta Neurol Scand 69, 385

SOMMER M (1996)

Auswirkung von S(+)-Ketamin auf das klinisch neurologische Verhalten von Ratten nach inkompletter cerebraler Ischämie.
Vet Med Diss München

SPINELLI JS, MARKOWITZ H (1987)

Clinical recognition and anticipation of situations likely to induce suffering in animals.
JAVMA 191, 1216-1218

SQUIRE LR (1992)

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

SQUIRE LR, KNOWLTON B, MUSEN G (1993)

The structure and organization of memory.
Annu Rev Psychol 44, 453-495

SQUIRE LR, ZOLA SM (1996)

Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems.
Proc Nat Acad Sci 93, 13515-13522

SQUIRE LR (1987)

The organization and neural substrates of human memory.
Int J Neurol 22, 218-222

SQUIRE LR (1994)

Declarative and nondeclarative memory, multiple brain systems supporting learning and memory.
In: SCHACTER DL, TULVING E: Memory Systems, Cambridge. MIT Press, 203-232

SQUIRE LR (1998)

Memory systems.
C R Acad Sci III 321, 153-156

STECKLER T, MUIR L (1996)

Measurement of cognitive function, relating rodent performance with human minds.
Cognitive Brain Res 3, 299-308

STERMAN AB, SHEPPARD RC (1983)

A correlative neurobehavioral morphological model of acrylamide neuropathy.
Neurobehav Toxicol Teratol 5, 151-159

STERN JA, WINOKUR G, EISENSTEIN A, TAYLOR R, SLY M (1960)

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

J Psychosom Res 4, 185-190

SUMMORS AC, GUPA AK, MATTA BF (1999)

Dynamic cerebral autoregulation during sevoflurane anesthesia, a comparison with isoflurane. Anesth Analg 88, 341-345

SUTHERLAND RJ, DYCK RH (1984)

Place navigation by rats in a swimming pool.

Can J Psychol 38, 322-347

SUTHERLAND RJ, WHISHAW IQ, KOLB B (1983)

A behavioural analysis of spatial localization following electrolytic, kainate-or colchicine-induced damage to the hippocampal formation in the rat.

Behav Brain Res 7, 133-153

SUTHERLAND RJ, WHISHAW IQ, KOLB B (1988)

Contributions of cingulate cortex to two forms of spatial learning and memory.

J Neurosci 8, 1863-1872

SYMON L (1993)

Recovery of brain function following ischemia.

Acta Neurochir 57, 102-109

TAKAHASHI H, MURATA K, IKEDA K (1993)

Sevoflurane does not increase intracranial pressure in hyperventilated dogs.

Br J Anaesth 71, 551-555

TAMURA A, GRAHAM DI, McCULLOCH J, TEASDALE GM (1981a)

Focal cerebral ischaemia in the rat, 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion.

J Cereb Blood Flow Metab1, 61-69

TAMURA A, GRAHAM DI, McCULLOCH J, TEASDALE GM (1981b)

Focal cerebral ischaemia in the rat, 2. Regional cerebral blood flow determined by [14C]iodoantypyrine autoradiography following middle cerebral artery occlusion.

J Cereb Blood Flow Metab1, 61-69

THIESSEN DD, ZOLMAN JF, RODGERS DA (1962)

Relation between adrenal weight, brain cholinesterase activity, and hole-in-wall behavior of mice under different living conditions.

J Comp Physiol Psychol 55, 186-190

THOMPSON RF (1988)

The neural basis of basic associative learning of discrete behavioral responses.

Trends Neurosci 11, 152-155

THWAITES A, EDMENDS S, SMITH I (1997)

Inhalation induction with sevoflurane, a double-blind comparison with propofol.
Br J Anaesth 78, 356-361

TULVING E, MARKOWITSCH HJ (1998)

Episodic and declarative memory, role of the hippocampus.
Hippocampus 8, 198-204

TULVING E (eds) (1995)

Organization of memory, quo vadis?
In: GAZZANIGA MS: The cognitive neurosciences. Cambridge (MA), MIT Press; 839-850

URBAN BW (1992)

Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin.
Schmerztherapie 27, 68-75

VAN DEN ELSEN M, SARTON E, TEPPEMA L, BERKENBOSCH A, DAHAN A (1998)

Influence of 0,1 minimum alveolar concentration of sevoflurane, desflurane and isoflurane on dynamic ventilatory response to hypercapnia in humans.
Br J Anaesth 80, 174-182

VOLL CL, AUER RN (1988)

The effect of postischemic blood glucose levels on ischemic brain damage in the rat.
Ann Neurol 24, 638-646

VOLL CL, WHISHAW IQ, AUER RN (1989)

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

WALLACE JE, KRAUTER EE, CAMPBELL BA (1980)

Motor and reflexive behavior in the aging rat.
J Gerontol 35, 364-370

WARLOW CP (eds) (1993)

Disorders of the cerebral circulation.
In: WALTON J: Brain diseases of the nervous system.
Oxford Medical, Oxford, 197-268

WARNER DS, McFARLANE C, TODD MM, LUDWIG P, McALLISTER AM (1993).

Sevoflurane and halothane reduce focal ischemic brain damage in the rat.
Anesth 79, 985-992

WARNER DS, ZHOU J, RAMANI R, TODD MM (1991)

Reversible focal ischemia in the rat, effects of halothane, isoflurane, and methohexital anesthesia.
J Cereb Blood Flow Metabol 11, 794-780

WATSON NA, JONES RM (1993)

Desflurane.
Bailliere's Clin Anaesthesiol 7, 873-897

WAUGH NC, NORMAN DA (1965)

Primary memory.
Psychol Rev 72, 89-104

WEISKRANTZ L (1990)

Problems of learning and memory, one or multiple memory systems?
Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 329, 99-108

WEISKRANTZ L (1997)

The problem of animal consciousness in relation to neuropsychology.
Behav Brain Res, 171-175

WERNER C, HOFFMAN WE, THOMAS C, MILETICH DJ, ALBRECHT RF (1990)

Ganglionic blockade improves neurologic outcome from incomplete ischemia in rats: Partial reversal by exogenous catecholamines.
Anesth 73, 923-929

WERNER C, MÖLLENBERG O, KOCHS E, SCHULTE AM ESCH J (1995)

Sevoflurane improves neurological outcome after incomplete cerebral ischaemia in rats.
Br J Anaesth 75, 756-760

WERNER C (1997)

Milde und moderate Hypothermie in der Anästhesie und Intensivmedizin – Neuroprotektive Ansätze.
In: Refresher Course; Aktuelles Wissen für den Anästhesisten, 23. Edition, Deutsche Akademie für Anästhesiologische Fortbildung, Springer-Verlag, Hamburg, 189-197

WERNER C (2000)

Neuroprotektion.
In: JANTZEN J-P, LÖFFLER W.(Hrsg.): Neuroanaesthesie.
Thieme Verlag, Stuttgart, 121-142

WERNER C (1993)

Wirken Anästhetika hirnpotektiv?
Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 28, 92-97

WERNER C, MÖLLENBERG O, KOCHS E, SCHULTE AM ESCH (1995)

Sevoflurane improves neurological outcome after incomplete cerebral ischaemia in rats.
British Journal of Anaesthesia 75, 756-760

WHISHAW IQ (1985)

Formation of a place learning-set in the rat. A new procedure for neurobehavioural studies.
Physiol Behav 35, 139-143

WHISHAW IQ, NONNEMAN AJ, KOLB B (1981a)

Environmental constraints on motor abilities used in grooming, swimming, and eating by decorticate rats. J Comp Physiol Psychophysical methods for study of sensory-motor behavior using a food-carrying (hoarding) task in rodents.
J Neurosci Method 32, 123-133

WHISHAW IQ, PELLIS SM, GORNY BP (1992b)

Skills reaching in rats and humans. Parallel development of homology.
Behav Brain Res 47, 59-70

WHITE KG, RUSKE AC, COLOMBO MW (1996)

Memory procedures, performance and processes in pigeons.
Cogn Brain Res, 3, 309-317

WIESNER G, WILD K, MERZ M, HOBBAHN J (1995)

Aufwachzeiten, Kreislaufverhalten und unerwünschte Wirkungen bei Anwendung von Sevofluran und Enfluran, Eine offene, randomisierte, vergleichende Phase III-Studie.
Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 30, 290-296

WIESNER G, WILD K, SCHWÜRZER S, MERZ M, HOBBAHN J (1996)

Serumfluoridkonzentrationen und exokrine Nierenfunktion bei Anwendung von Sevofluran und Enfluran.
Anaesthesist 45, 31-36

WILLIAMS DF, WELLS PA (1970)

Differences in home-cage-emergence in the rat in relation to infantile handling.
Psych Sci 18, 168-169

WILLIAMS SR, CROCKARD HA, GADIAN D (1989)

Cerebral ischaemia studied by nuclear magnetic resonance spectroscopy.
Cerebrovasc Brain Metab Rev 1, 91-114

WOODY CD (1982)

Memory, Learning and Higher Function. A Cellular View.
Springer, Berlin, 135-148

WOODY CD (1986)

Understanding the cellular basis of memory and learning.
Ann Rev Psychol 37, 433-493

WYPER DJ (1993)

Funktional neuroimaging with single photon emission computed tomography (SPECT).
Cerebrovasc Brain Metab Rev 5, 199-217

YAMAMOTO M, TAKAHASHI K, OHYAMA M (1993)

Behavioral and histological changes after repeated brief cerebral ischemia by carotid artery occlusion in gerbils.
Brain Res 1993, 16-20

ZAPP M, KOFKE W, DAVIS D (1992)

Comparison of the effects of volatile anesthetics in varying concentrations on brain energy metabolism with brain ischemia in rats.

Neurochem Research 4, 301-305

ZASSLOW MA, PEARL RG, SHUER LM, STEINBERG GK, LIEBERSON RE, LARSON JR CP (1989)

Hyperglycemia decreases acute neuronal ischemic changes after middle cerebral artery occlusion in cats.

Stroke 20, 519-523

ZHUO M, SMALL SA, KENDEL ER, HAWKINS RD (1993)

Nitric oxide and carbon monoxide produce activity-dependent long-term synaptic enhancement in hippocampus.

Science 260, 1946-1950

ZIGMOND MJ, BLOOM FE, et al. (1999)

Fundamental Neuroscience.

Academic Press, San Diego, 212-228

ZOLA-MORGAN SM, SQUIRE LR (1990)

The primate hippocampal formation, evidence for a time-limited role in memory storage.

Science 250, 288-290

8. TABELLENVERZEICHNIS

Tab 1: Wichtige pharmakologische Parameter der gebräuchlichsten volatilen Anästhetika (JONES 1990, EGER 1994).	18
Tab 2: Randomisierte Lochkombination in der Lernphase	62
Tab 3: Randomisierte Lochkombinationen in der Versuchsphase	63
Tab 4: Neurologisches Untersuchungsprotokoll	64
Tab 5: Das Hole-Board-Protokoll	68
Tab 6: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) (mmHg), arterielle Blutgas-(mmHg), Glucosewerte (mg/dl) und Hämatokritwert (%) der vier Versuchsgruppen während des Ausgangswertes, der Ischämie, Reperfusion und Erholungsphase (MW±SD).	77
Tab 7: Durchschnittliches tägliches Körpergewicht in (g) (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	79
Tab 8: Durchschnittliche tägliche Futtermenge in (g) (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	80
Tab 9: Durchschnittliche tägliche Trinkmenge in (g) (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	81
Tab 10: Summe der Punkte des neurologischen Bewertungsprotokolls (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	82
Tab 11: Durchschnittliche Fehlerzahl eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	86
Tab 12: Durchschnittliche Anzahl der Wiederholungen eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	88
Tab 13: Durchschnittliche Anzahl von nicht besuchten markierten Löchern eines Durchlaufs pro Tag (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	90
Tab 14: Zeit in sek, die die Tiere für einen Durchlauf benötigen (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	92
Tab 15: Zeit in sek, die die Tiere pro Durchlauf auf dem Hole-Board verbringen (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	94
Tab 16: Anzahl der Aufenthalte auf dem Hole-Board pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	96
Tab 17: Anzahl der besuchten Löcher pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	98
Tab 18: Zeit in sek auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	100
Tab 19: Zeit in sek, bis das erste markierte Loch besucht wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	102
Tab 20: Zeit pro Durchlauf in sek (MW±SD) nach der die Tiere anfangen erstmals die Futterbelohnung zu fressen (LFI) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	104
Tab 21: Zeit in sek, in denen während eines Durchlaufs Kontakt zu den Artgenossen gepflegt wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	106
Tab 22: Anzahl der Kontaktaufnahme zu den Artgenossen pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	108
Tab 23: Durchschnittliche Anzahl der Putzvorgänge aller Tiere während eines Durchlaufs (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	110
Tab 24: Durchschnittliche Zeit in sek, die während eines Durchlaufs für Körperpflege verwendet wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	112
Tab 25: Durchschnittliche Anzahl des „Männchen machens“ während eines Durchlaufs (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	114
Tab 26: Zeitspanne in sek bis das Hole-Board erstmals betreten wird pro Durchlauf (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	116
Tab 27: Zeit in sek pro Durchlauf, die für die Futtermenge verwendet wird (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	118
Tab 28: Zeit in sek, die die Tiere während eines Durchlaufs verharren, ohne sich zu bewegen (MW±SD) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10.	120
Tab 29: Hippocampaler Zellschaden in der CA1-, CA2, CA3- und CA4-Region und im Gyrus dentatus (GD) in der ischämischen Hemisphäre der zwei verschiedenen Behandlungsgruppen. Skala von 0 bis 25.	122

9. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb 1: Ischämiekaskade im Verlauf des hypoxisch-ischämischen Nervenzellschadens (WERNER 1993).....	8
Abb 2: Chemische Strukturformel von Sevofluran (ADIS INTERNATIONAL 1996).....	16
Abb 3: Unterteilung des Gedächtnisse nach MILTNER und WEISS (1999)	27
Abb 4: Testaufbau Drahtgittertest (SOMMER 1996)	41
Abb 5: Versuchsaufbau des Prehensil-traction-Tests (SOMMER, 1996)	42
Abb 6: Reaktion einer unilateral infarzierten (links) und einer gesunden Ratte (rechts) (SOMMER 1996)	43
Abb 7: Versuchskäfig.....	50
Abb 8: Ratte beim Öffnen eines Lochs beim Hole-Board-Test	55
Abb 9: Das modifizierte Hole-Board, verändert nach OHL et al. (1998).	56
Abb 10: Das Hole-Board mit geöffnetem Loch	57
Abb 11: Erkundungsverhalten der Ratte im Käfig (SOMMER 1996)	65
Abb 12: Normaler Putzvorgang mit Zeitangabe (BERRIDGE und WISHAW 1992)	67
Abb 13: Saggitale Schnittebene durch das Gehirn (Ebene 33, PAXINOS und WATSON 1998)	73
Abb 14: Koronarer Schnitt eines Rattengehirns mit Hippocampus (gekennzeichnete CA1-bis CA4-Region und Gyrus dentatus; Lokalisation im Gehirn: Ebene 33 (PAXINOS und WATSON 1998).....	75
Abb 15: Summe der Punkte des neurologischen Bewertungsprotokolls im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW).....	83
Abb 16: Fehlerzahl (wrong choices) eines Durchlaufs pro Tag im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW) der Tiere aller Gruppen, d.h. Informationen über das deklarative Gedächtnis.	87
Abb 17: Anzahl der Wiederholungen (repeated choices) eines Durchlaufs pro Tag im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Arbeitsgedächtnis.....	89
Abb 18: Anzahl von nicht besuchten markierten Löchern (omission error) eines Durchlaufs pro Tag im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das deklarative Gedächtnis.....	91
Abb 19: Zeit in sek, die die Tiere für einen Durchlauf benötigen (time complete) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Motivation der Tiere	93
Abb 20: Zeit in sek, die die Tiere pro Durchlauf auf dem Hole-Board verbringen (time on board) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Motivation und das Angstverhalten der Tiere.	95
Abb 21: Anzahl der Aufenthalte auf dem Hole-Board pro Durchlauf (number of board entries) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Angst und Motivation der Tiere.....	97
Abb 22: Zeit in sek auf dem Hole-Board pro besuchtem Loch pro Durchlauf im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über Motivation und Motorik der Tiere.....	101
Abb 23: Zeit in sek, bis das erste markierte Loch besucht wird im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über das Angstverhalten der Tiere.	103
Abb 24: Zeit pro Durchlauf in sek, nach der die Tiere anfangen erstmals die Futterbelohnung zu fressen (LFI) im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über das Angstverhalten der Tiere	105
Abb 25: Zeit in sek, in denen die Tiere der Gruppen während eines Durchlaufs Kontakte zu den Artgenossen pflegen im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Sozialverhalten der Tiere.....	107
Abb 26: Anzahl der Kontaktaufnahme zu den Artgenossen pro Durchlauf im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Sozialverhalten der Tiere.	109
Abb 27: Anzahl der Putzvorgänge während eines Durchlaufs im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über den Erregungszustand und das Sozialverhalten der Tiere.	111
Abb 28: Zeit in sek, die während eines Durchlaufs für Körperpflege verwendet wird im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Erregung der Tiere.....	113
Abb 29: Durchschnittliche Anzahl des „Männchen machens“ während eines Durchlaufs im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die ungerichtete Erkundungsmotivation der Tiere.	115
Abb 30: Zeitspanne in sek bis das Hole-Board erstmals von den Tieren aller Gruppen betreten wird pro Durchlauf im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Information über die Motivation der Tiere.....	117
Abb 31: Zeit in sek pro Durchlauf, die für die Futteraufnahme verwendet wird im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über die Geschicklichkeit und das Angstverhalten der Tiere.	119
Abb 32: Zeit in sek, die die Tiere während eines Durchlaufs verharren, ohne sich zu bewegen im Zeitraum Tag -3 bis Tag 10 (MW), d.h. Informationen über das Wohlbefinden und Angstverhalten der Tiere.....	121
Abb 33: Übersichtsaufnahme (A) und Detailaufnahme (B) der H.E.-Färbung in der ipsilateralen Hemisphäre des Hippocampus eines ischämischen Fentanyl-N ₂ O-Tieres (Tier Nr. 7). Übersichtsaufnahme (C) und Detailaufnahme (D) der H.E.-Färbung in der ipsilateralen Hemisphäre des Hippocampus eines ischämischen Sevofluran-Tieres (Tier Nr. 28).	123

10. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
A.	Arteria
Aa.	Arteriae
AB	Allgemeinbefinden
Abb	Abb
ADH	Antidiuretisches Hormon
AMPA	α-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazopropionic-acid
Anesth	Anesthesiology
ATP	Adenosintriphosphat
BE	Basenabweichung
BHS	Blut-Hirn-Schranke
bzw.	Beziehungsweise
Ca ²⁺	Calcium-Ion
CBF	Cerebraler Blutfluss
CCA	Common carotid artery occlusion
Cl ⁻	Chlorid
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
CS	Conditioned stimulus
db	Dezibel
d.h.	das heißt
Da	Dalton
EEG	Elektroencephalogramm
et al.	und andere
EU	Europäische Union
evtl.	eventuell
F ⁻	Fluorid
Fa.	Firma
Fe ²⁺	Eisen-Ion
FI	Food intake
FiO ₂	Inspiratorische Sauerstoffkonzentration
g	Gramm
h	Stunde
H.E.	Hämatoxylin und Eosin
HF	Herzfrequenz
H-FCKW	Fluorchlorkohlenwasserstoffe
HFIP	Hexafluoroisopropanol
HZV	Herzzeitvolumen
i.v.	intravenös
ICP	Intracranieller Druck
K ⁺	Kalium-Ion
kg	Kilogramm

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

KGW	Körpergewicht
LFCHV	Latency first correct hole visit
LFEB	Latency first entry on board
LFI	Latency food intake
LTP	Long term potentiation
m	Meter
MAC	Minimale alveoläre Konzentration
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MCAO	Middle cerebral artery occlusion
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mPFC	Medialer präfrontaler Cortex
MW	Mittelwert
n	Anzahl
N ₂ O	Lachgas
Na ⁺	Natrium-Ion
NaCl	Natriumchlorid
NBE	Number of board entries
NGC	Number of group contacts
NHV	Number of hole visits
NMDA	N-methyl-D-aspartat
o.ä.	oder ähnliches
O ₂	Sauerstoff
ODP	Ozon depletion potential
OE	Omission error
P≤0,05	Signifikanzniveau
PaCO ₂	Arterieller Kohlendioxid-Partialdruck
PaO ₂	Arterieller Sauerstoff-Partialdruck
PCP	Phencyclidine
pH	pH-Wert
PVC	Poly-Vinyl-Chlorid
RC	Repeated choices
s/sek	sek
SD	Standardabweichung
SOD	Superoxiddismutase
SPF	Spezifisch pathogenfrei
SpO ₂	Periphere Sauerstoff-Sättigung
Tab.	Tab
TC	Time complete
TOB	Time on board
TOB/NHV	Time on board per number of hole visits
UCR	Unconditioned reflex
UCS	Unconditioned stimulus
usw.	und so weiter
UV	Ultraviolett
V.	Vena
v.a.	vor allem
Vol%	Volumen Prozent

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

WC	Wrong choices
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

11. DANKSAGUNG

Am Ende meiner Arbeit gilt mein besonderer Dank:

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

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher für die Möglichkeit, die tierexperimentellen Studien an seinem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München durchführen zu können.

Herrn Univ.-Prof. Dr. Dipl. phys. E. Kochs, Direktor der Klinik für Anästhesiologie der Technischen Universität München, für die Bereitstellung der Rahmenbedingungen, unter denen diese Studie erstellt wurde.

Herrn Prof. Dr. med. vet., Dr. med. habil. W. Erhardt, für die Vermittlung der Dissertation und die jederzeit freundliche und geduldige Unterstützung und Beratung bei der Korrektur dieser Studie.

Herrn PD Dr. med. M. Blobner für die Überlassung des Themas und die Betreuung meiner Arbeit bei der praktischen Durchführung und statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse.

Frau Dr. med. vet. E. Eberspächer für den operativen Arbeitsteil dieser Studie, deren gewissenhafte und zügige Korrektur und die stets nette und hilfsbereite Unterstützung in allen Bereichen, die für diese Arbeit wichtig war.

Frau Dr. med. B. Eckel für die Durchsicht des Ergebnis- und Diskusstils und für die freundliche Unterstützung.

Frau A. Frye für die gewissenhafte Begutachtung der histologischen Präparate.

Den Tierpflegern, für die stets vorhandene Hilfsbereitschaft.

Schließlich auch noch den Ratten, ohne die diese Arbeit überhaupt nicht stattgefunden hätte.

Am allermeisten bedanke ich mich bei meiner lieben Mama und meinem lieben Papa, die mir in allen Lebenslagen sowohl finanziell als auch mental zur Seite gestanden haben und es immer noch tun. Ohne meine Eltern wäre ich nicht soweit gekommen. Ich hab' euch sehr lieb!

12 LEBENS LAUF

Name	Katja Anna Maria Müller
Geburtsdatum:	15.02.1974
Geburtsort:	Augsburg
Nationalität:	Deutsch
Eltern:	Emil Müller, Ingenieur (Ruhestand) Anna Maria Müller; geb. Stöhr, Sekretärin (Ruhestand)
Geschwister:	Dr. Peter Müller, Jurist
Familienstand:	Ledig
Schulbildung:	1980-1984 Grundschule in Neusäß 1984-1993 Justus-von-Liebig-Gymnasium Neusäß 07/1993 Abitur
Berufsausbildung:	11/1993-07/1996: Pferdewirtin, Schwerpunkt Reiten, Abschlussprüfung
Berufsausübung:	07/1996-10/1996: Arbeit als Pferdewirtin im Landesleis- tungszentrum Schwaben in Mertingen
Universitätsausbildung:	11/1996-12/2001: Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München Abschluss des dritten Teils des Staatsexamen am 05.12.2001
Tierärztliche Approbation:	11.02.2002

Seit Dezember 2001 Doktorandin am Institut für Experimentelle Onkologie und
Therapieforschung der Technischen Universität München.

Seit Juni 2003 Tierärztin in der Pferdeabteilung der Tierklinik Gessertshausen bei Augsburg.