

Aus der Neurochirurgischen Klinik und Poliklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. J.- C.Tonn
und
dem Institut für Chirurgische Forschung der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Komm. Direktor: Prof. Dr. med. U. Pohl

**Experimentelle Subarachnoidalblutung bei Ratten –
Ein Vergleich der zerebroprotektiven Effekte von
Small Volume Resuscitation und Mannitol**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Christian F. Bermüller
aus
Landshut

Jahr
2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Robert Schmid-Elsaesser
2. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Christ
Mitberichterstatter: Prof. Dr. S. Nees
 Priv.- Doz. Dr . K. Bötzl
 Prof. Dr. W. Lange

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 19. April 2007

Inhalt

A. Einleitung		
1. Epidemiologie der Subarachnoidalblutung		Seite 7
2. Pathophysiologie der Subarachnoidalblutung		8
2.1 Erhöhung des intrakraniellen Drucks		8
2.2 Abfall der lokalen zerebralen Durchblutung		9
3. Therapieoptionen		9
4. Small Volume Resuscitation		10
5. Hyperonkotische Komponenten		12
5.1 Dextran		13
5.2 Hydroxyethylstärke		14
5.3 Mannitol		14
6. Vorversuche		15
7. Ziel dieser Arbeit		16
B. Material und Methoden		
1. Versuchstiere		18
2. Versuchsdurchführung		
2.1 Arbeitsplatz		18
2.2 Narkose und Prämedikation		18
2.3 Temperaturmessung		
2.3.1 Rektale Temperatur		19
2.3.2 Subtemporale Temperatur		19
2.4 Kranielle Präparation		19
2.5 Intrakranielle Druckmessung		20
2.6 Messung der lokalen Hirndurchblutung mittels Laserfluxmetrie		20
2.7 Blutdruckmessung/ -kontrolle		22
2.8 Venöse Katheterisierung		22
2.9 Induktion der Subarachnoidalblutung		22
2.10 Datenerfassung		24
3. Probenaufbereitung		
3.1 Blutgasanalyse		24
3.2 Hämatokrit- und Blutzellbestimmung		24
3.3 Osmolaritätsmessung		25
4. Histologische Aufbereitung		25
5. Quantitative Histologie		26
6. Postoperative Beobachtung – Quantifizierung der funktionellen neurologischen Defizite		27
6.1 Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits		28
6.2 Quantifizierung des globalen neurologischen Defizits		28
6.3 Seilhängeversuch (prehensile traction)		29
7. Gewicht		30
8. Versuchsgruppen		30
9. Statistik		32
C. Ergebnisse		
1. Blutgase		33
2. pH-Wert		33
3. Basenüberschuss (base excess)		34
4. Blutglukose		35

5. Laktat	35
6. Elektrolyte	
6.1 Natrium	36
6.2 Chlorid	36
6.3 Kalium	37
6.4 Kalzium	38
7. Hämoglobin und Hämatokrit	
7.1 Hämoglobin	38
7.2 Hämatokrit	38
8. Erythrozytenparameter	39
9. Osmolarität	40
10. Lokaler Zerebraler Blutfluss	41
11. Intrakranieller Druck	42
12. Mittlerer Arterieller Druck	43
13. Zerebraler Perfusionsdruck	44
14. Temperatur	45
15. Letalität	46
16. Quantitative Histologie	47
17. Quantifizierung der funktionellen neurologischen Defizite	
17.1 Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits	50
17.2 Quantifizierung des globalen neurologischen Defizits	51
17.3 Seilhängerversuch (prehensile traction)	52
18. Gewicht	53

D. Diskussion

1. Methodik	
1.1 Intraluminales Fadenmodell	54
1.2 Laser-Doppler-Messung der lokalen Hirndurchblutung	55
1.3 ICP- Messung	56
1.4 Blutdruck-, Blutgas, und Serumkontrollmessungen	57
1.5 Neuroscore	57
1.6 Quantitative histologische Auswertung	58
2. Ergebnisse	
2.1 Blutgase, pH-Wert, Laktat und Basenüberschuß	59
2.2 Blutglukose	59
2.3 Elektrolyte	60
2.4 Osmolarität	61
2.5 Hämoglobin und Hämatokrit	62
2.6 Erythrozytenparameter MCH, MCHC, MCV	63
2.7 Lokaler Zerebraler Blutfluss	63
2.8 Intrakranieller Druck	65
2.9 Mittlerer Arterieller Druck	66
2.10 Zerebraler Perfusionsdruck	67
2.11 Temperatur	67
2.12 Blutgase	68
2.13 Letalität	68
2.14 Quantitative Histologie	70
2.15 Neurologische Defizite	
2.15.1 Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits	71
2.15.2 Quantifizierung des globalen neurologischen Defizits	71
2.15.3 Seilhängetest (prehensile traction)	72

2.16 Gewicht	73
--------------	----

E. Zusammenfassung	74
F. Literaturliste	75
G. Lebenslauf	88
H. Danksagung	90

A. Einleitung

1. Epidemiologie

Nach Herz-Kreislaufkrankheiten und Krebserkrankungen stehen zerebrovaskuläre Erkrankungen an dritter Stelle der Todesursachenstatistik (1999: 85 755 Tote) in Deutschland⁽¹⁵⁷⁾.

Die Subarachnoidalblutung (SAB), bei der sich eine arterielle Blutung im Liquorraum zwischen Arachnoidea und Pia mater (Subarachnoidalraum) ausbreitet, hat in Mitteleuropa eine Inzidenz von 10 bis 12/100.000 Einwohner/ Jahr^(66,23,161). Das Blut kann dabei in das Hirnparenchym, das Ventrikelsystem oder in den Subduralraum eindringen, typischerweise sammelt sich das Blut aber in den arachnoidalen Zisternen unterhalb des Gehirns, bzw. entlang der Konvexität. Die Mehrzahl der Subarachnoidalblutungen (80%) sind durch ein rupturiertes Aneurysma der Hirnbasisarterien bedingt, selten sind oberflächliche Tumoren oder Gefäßmalformationen dafür verantwortlich. Aneurysmen entstehen an Abgangsstellen und Verzweigungen der Arterien, wo es zu Verwirbelungen im Blutfluss kommt und daraus aufgrund einer Schwäche der Tunica media muscularis Aussackungen der Gefäßwand entstehen. Risikofaktoren sind arterielle Hypertonie, Rauchen und Hypercholesterinämie⁽¹⁶⁵⁾.

Die meisten Aneurysmen werden an der A. carotis interna (37 - 42%), der A. communicans anterior (16- 24%) und der A. cerebri media (30%) gefunden^(137,165), wobei die genannten Häufigkeiten in der Literatur variieren. Man vermutet weiter eine gewisse Prädisposition, wenn Aneurysmen bei mindestens zwei nahen Verwandten auftreten⁽¹³⁸⁾. Patienten mit hereditärer polyzystischer Nie-

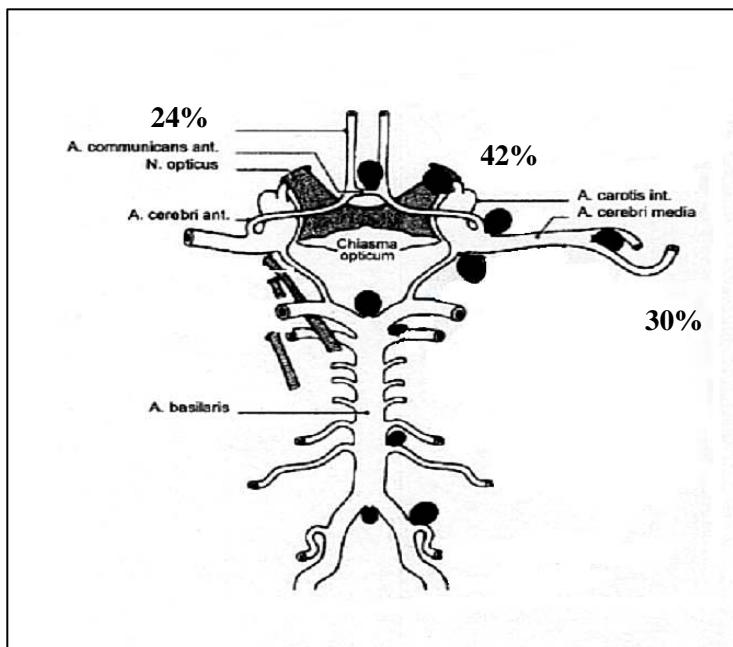


Abbildung 1: Aneurysmalokalisation im Bereich des Circulus arteriosus Willisii modifiziert nach⁽¹⁸⁸⁾

renerkrankung, Ehlers-Danlos-Syndrom, Marfan-Syndrom und fibromuskulärer Dysplasie haben ebenfalls ein erhöhtes Risiko, eine Aneurysmaruptur zu erleiden.

Obwohl der Anteil der SAB an der Zahl der Schlaganfälle nur zwischen 7 – 10% beträgt, liegt der Anteil an den zerebrovaskulären Todesfällen bei 22 – 25%. Die Letalität nach 30 Tagen beträgt ca. 45%⁽¹⁷⁾. Aufgrund des schweren Verlaufs der SAB erreichen nur ca. 58% der Patienten ihren

prämorbidien Status wieder, bei initial stuporösen oder komatösen Patienten kommt es nur bei 30,2%, bzw. 11,1% zu einer vollständigen Erholung. Etwa 40% der initial stuporösen und 70% der initial komatösen Patienten versterben innerhalb von 6 Monaten an den Folgen der Subarachnoidalblutung^(17,78).

2. Pathophysiologie der Subarachnoidalblutung

Wichtigste Ursache für diese hohe Letalität und Morbidität ist die sich nach initialer Blutung bzw. Zweitblutung entwickelnde zerebrale Durchblutungsstörung und die daraus resultierende ischämische Schädigung. Die Schwere der Blutung und das Ausmaß der ischämischen Schädigung sowie der spätere klinische Zustand der betroffenen Patienten korrelierten in einer Vielzahl von experimentellen und klinischen Studien eng^(78,17,6,98,49,101,112).

Die entstehende globale Ischämie des Gehirns wird im wesentlichen durch zwei Pathomechanismen bedingt:

2.1 Erhöhung des intrazerebralen Druckes (ICP)

Klinische Studien ergaben Druckerhöhungen (Normalwert: 5 – 15 mmHg) zwischen 28 mmHg bei kleinen und über 180 mmHg bei großen Hämatomen unmittelbar nach Blutung^(6,69,124,125). In experimentellen Studien wurde ein Anstieg des intrakraniellen Druckes bis über 110 mmHg bei Affen^(96,70,37) und auf 50-90 mmHg bei Ratten^(127,11,156,1) gemessen. Dieser Druckanstieg bis in Höhe des mittleren arteriellen Blutdruckes führt zu einer Unterbrechung der zerebralen Durchblutung und damit zur Minderversorgung des Gehirnes; Messungen beim Menschen mittels transkranieller Doppler-Sonographie zeigten während der Blutung in der Arteria cerebri media einen nahezu vollständigen Flussstillstand^(69,54). Diesem sich schnell entwickelnden ICP-Anstieg liegen - neben der Raumforderung des Hämatoms selbst und eines sich eventuell ausbildenden Hydrozephalus – das entstehende vasogene^(156,58) und zytotoxische Hirnödem^(96,86) zugrunde. Dabei kommt es im Gefolge eines Verlustes der zerebralen Autoregulation⁽¹⁸¹⁾ zu einem Zusammenbruch der Blut-Hirn-Schranke⁽¹⁵⁶⁾ und damit zum Austritt von Wasser und höhermolekularen Substanzen in das perivaskuläre Parenchym; der Zusammenbruch des Energiehaushaltes führt zusätzlich zu einem ungeregelten Einstrom von Wasser und Ionen in die Zellen. Beide Mechanismen bedingen eine Schwellung des Gehirns, welches durch die knöcherne Hülle des Schädels in seiner Ausdehnung und damit in einem Druckausgleich eingeschränkt ist, weswegen es zu einem intrazerebralen Druckanstieg

kommt. Mit steigendem Hirndruck wird aber die Perfusion des Gehirns weiter eingeschränkt, es kommt zur globalen Ischämie mit begleitenden disseminierten kortikalen und hypothalamischen Läsionen^(28,183,122).

2.2 Abfall des zerebralen Blutfluß (CBF)

Die Blutung führt sowohl beim Menschen als auch im experimentellen Modell^(70,127,11,67,135,171) zu einer sofortigen und andauernden Reduktion des zerebralen Blutflusses auf Werte um 36% bis 85% der Kontrollgruppen^(113,117,69,112,49). Diese Reduktion des Blutflusses ist eher blutungsintensitäts- denn lokalisationsabhängig und zeigte in Studien eine enge Korrelation mit dem späteren klinischen Zustand der Patienten^(29,107,55,49,112).

In Untersuchungen zum Pathomechanismus der CBF-Reduktion werden verschiedene potentiell auslösende Substanzen genannt, deren Gewichtung jedoch unklar ist: Erwähnt wird einerseits ein Anstieg von Thromboxan A2, Serotonin^(73,47), freien Sauerstoffradikalen⁽¹⁵⁶⁾, Endothelin^(90,42) und Oxyhämoglobin^(104,16), andererseits ein Abfall von Prostacyklin⁽⁷³⁾ und NO durch Bindung an Oxy-Hb^(167,44,41). Der genaue Pathomechanismus, der die CBF-Senkung hervorruft ist nicht vollständig bekannt; übereinstimmend wird jedoch berichtet, dass die genannten Stoffwechselvorgänge zu einem Endothelschaden und/oder einer Vasokonstriktion führen, welche die unmittelbare Ursache des CBF-Abfalls darstellen.

Beide Mechanismen führen zu einer weiteren Schädigung des betroffenen Hirnareals (sog. Sekundärer Hirnschaden) und tragen so zur schlechten Prognose bei.

3. Therapieoptionen

Die heute übliche Therapie der SAB zielt – neben der baldmöglichen Ausschaltung des Aneurysmas – zum einen darauf, den Allgemeinzustand des Patienten zu stabilisieren (Bettruhe, Analgesie, Blutdruckkontrolle, evtl. Sedierung) und den intrakraniellen Druck zu senken (Anlage eines Ventrikelkatheters, Analgosedierung), zum anderen darauf, einen Vasospasmus und damit eine weitere zerebrale Durchblutungsseinschränkung zu verhindern (Kalziumkanalblocker, z.B. Nimodipin)^(8,162), freie Radikale abzufangen, die erwiesenermaßen Zellschäden verursachen (Tirilazad)^(156,77,194) und mit Hilfe der sog. Triple-H-Therapie^(57,126), d.h. mit **H**ämodilution, **H**ypervolämie und blutdrucksteigernden Medikamenten (**H**ypertonie), zu versuchen, den reduzierten ze-

rebralen Blutfluss zu steigern⁽¹⁶³⁾. Hierbei ist allerdings noch unklar, wie und ob diese Therapie die initiale Ischämie nach SAB beeinflusst, während der Einsatz bei klinischem Auftreten des verzögerten ischämischen Defizits (Vasospasmus) etabliert ist. Zusätzlich wird das Aneurysma möglichst frühzeitig entweder durch eine Operation mittels „Clipping“ oder interventionell durch Plazieren eines Platindrahtes über einen intraarteriellen Katheter („Coiling“) von der arteriellen Durchblutung ausgeschaltet⁽³⁴⁾.

Wenn auch durch obengenannte Therapiekonzepte Fortschritte in der Behandlung von SAB-Patienten erreicht worden sind, sind die Behandlungsmöglichkeiten der initialen ischämischen Schädigung des Gehirns bei weitem noch nicht ausgeschöpft.

Der primäre Schaden, der durch die Raumforderung und destruierende Wirkung der Blutung selbst entsteht, entzieht sich durch das sofortige Auftreten zum Zeitpunkt des Insults einer Therapie. Die Mechanismen, die im Zeitraum von Stunden und den ersten Tagen zu einem sekundären Schaden führen und oben ausgeführt wurden, sollten aber prinzipiell einer Therapie zugänglich sein.

4. Small-Volume-Resuscitation

Gerade im Rahmen von Kreislaufstillstand und Schock, die beide ebenfalls zu einer Durchblutungsstörung des Gehirns führen, bestehen auf mikrozirkulatorischer und zellulärer Ebene Mechanismen, wie sie auch nach SAB zum sekundären Hirnschaden führen; als wichtigste seien die Funktionsstörung der Blut-Hirn-Schranke, die Freisetzung freier Radikale, Eicosanoide und die Aktivierung von Leukozyten erwähnt, welche letztlich in den sekundären Nervenzelluntergang münden.

Auf der Suche nach Möglichkeiten, diese Mechanismen zu hemmen, wurde als neue Therapieoption zuerst für Patienten mit traumatisch-hämorrhagischem Schock, später auch für Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma, das Konzept der Small Volume Resuscitation (SVR) eingeführt. Dabei handelt es sich um ein kleines Volumen (i.d.R. 250 ml) einer stark hyperosmolaren (7,2% - 7,5%) Kochsalzlösung, die als Bolus, d.h. in sehr kurzer Zeit, infundiert wird. Ziel dieser Infusion ist die Wiederherstellung sowohl der Makro-, als auch der Mikrozirkulation.

Die erzielte Wirkung ist die Etablierung eines osmotischen Gradienten über die Gefäßwand, welcher zu einer Mobilisierung von Gewebsflüssigkeit in das Gefäß und zur Schrumpfung des Gefäßendothels führt; die dabei wirkenden Kräfte werden deutlich, wenn man sich vor Augen

führt, dass die Erhöhung der Osmolarität des Plasmas um ein mosm/l einem Druckgradienten zwischen intravasalem und extravasalem Kompartiment von ca. 19 mmHg entspricht⁽¹⁰⁹⁾; bei einer Erhöhung um 20 mosm/l, die durch Infusion hypertoner Lösungen erreicht werden^(62,174), resultiert kurzzeitig ein Druckgradient von fast 400 mmHg, welcher zu einer Mobilisierung von Flüssigkeit des Interstitiums nach intravasal führt. Die dadurch entstehende Hämodilution führt im Zusammenspiel mit dem durch die Schrumpfung des endo- und perivaskulären Volumens verminderten Perfusionswiderstands zu einer signifikanten Verbesserung der Mikrozirkulation und damit zur besseren Versorgung mit Sauerstoff und zum Auswaschen von potentiell toxischen Metaboliten⁽⁵⁶⁾. Um das durch den osmotischen Gradienten nach intravasal mobilisierte Volumen körpereigener Flüssigkeit länger im Intravasalraum zu binden, wird der Lösung eine hyperonkotische Komponente beigegeben, i. d. R. Hydroxyethylstärke (HAES) oder 10% Dextran 60 oder 70^(94,93,128,143,129).

Die Wirkmechanismen von hyperton/hyperonkotischen Lösungen sind im einzelnen:

- Unmittelbarer, überproportionaler Anstieg des Intravasalvolumens durch Mobilisierung körpereigener Flüssigkeit, insbesondere aus dem Gefäßendothel⁽¹¹⁵⁾
- Periphere Gefäßdilatation, insbesondere kleiner Arteriolen⁽⁹²⁾
- Positiv inotroper Effekt am Herzen^(144,91)
- Hämodilution und Verbesserung der Blutfluidität^(180,14)
- Wiederherstellung oder Steigerung der physiologischen Vasomotion⁽³⁹⁾
- Reduktion der postischämischen Leukozytenadhärenz^(123,166)

Diese Wirkungen wurden in tierexperimentellen Studien beobachtet, bei denen ein hämorrhagischer Schock mit und ohne zerebrale Läsion induziert wurde. Insbesondere der positive Einfluss auf die hauptsächlichen Pathomechanismen nach einer SAB, die Erhöhung des intrakraniellen Drucks und die Erniedrigung des zerebralen Blutflusses ist in einer Reihe experimenteller Studien belegt^(143,91,129,144,180,39,15).

In mehreren klinischen Studien wurde SVR mittels hypertoner oder hyperton-hyperonkotischer Lösung als Primärtherapie bei traumatisch-hämorrhagischem Schock und bei Schädel-Hirntrauma getestet:

Vassar et al.⁽¹⁷⁴⁾ fanden in einer prospektiven, doppelblinden, randomisierten Studie bei Patienten mit traumatisch-hämorrhagischem Schock, die mit SVR behandelt wurden, keine erhöhte Reblutungs- oder Anaphylaxieinzidenz. Diese Patienten benötigten während des Transports vom Unfallort zur Klinik weniger Flüssigkeit zur Stabilisierung des Kreislaufs. Bei gleicher Sterberate bis zur stationären Aufnahme hatten Patienten mit schwerem Schädel-Hirntrauma und Gabe von

hyperton-hyperonkotischer Lösung eine verbesserte Überlebensrate von 84% gegenüber 68% bei Gabe von Ringer-Laktat.

1991 wurden die Ergebnisse einer ersten Multicenterstudie bei polytraumatisierten Patienten veröffentlicht⁽¹⁰⁸⁾. Diese ergaben ebenfalls in der präklinischen Phase im Vergleich mit Ringer-Laktat einen signifikant verbesserten Blutdruck, jedoch keine höhere Überlebensrate in den ersten 24 Stunden. Die Untergruppenanalyse der Patienten mit einem GCS (Glasgow Coma Score: 3 - 15) \leq 8, bei denen eine sofortige Operationsindikation bestand, zeigte hingegen eine signifikant höhere Überlebensrate nach SVR. Patienten mit schwerer SAB weisen einen vergleichbaren neurologischen Status auf und sind daher am ehesten mit dieser Gruppe vergleichbar. Nach SVR waren signifikant seltener Komplikationen (ARDS, Nierenversagen, Koagulopathien) zu beobachten. Es traten insbesondere keine pulmonalen Nebenwirkungen (akute Volumenüberladung und erhöhte Filtration von Flüssigkeit) oder Gerinnungsstörungen (getestet wurden Prothrombinzeit, PTT nach 2, 4 und 24 Stunden) auf, abgesehen von einer kurzzeitigen Hypernatri- und Hyperchloridämie und der erwünschten Hämodilution (Hämatokrit 32,7±7%) bei erhöhter Serum-Osmolarität^(174,108,30).

Holcroft et al.⁽⁶²⁾ berichten in einer doppelblinden, prospektiven und randomisierten Studie an polytraumatisierten Patienten, die v.a. wegen Thorax- und Abdominaltraumen einer chirurgischen Versorgung bedurften, ebenfalls von einem verbesserten Überleben in der 7,5% NaCl+ Dextran 70 – Gruppe vs. Ringer Laktat.

Verschiedene Gruppen^(82,45,64,140,63,120,150,160,140) infundierte Patienten hyperton-hyperonkotische Kochsalzlösungen intravenös bei posttraumatischer ICP-Erhöhung. Alle beobachteten eine ICP-Senkung um 20-25 mmHg bei allen behandelten Patienten:

1998 wurde in einer prospektiven, randomisierten und kontrollierten Studie von Simma et al.⁽¹⁵³⁾ bei Kindern mit schweren Schädelverletzungen festgestellt, dass bei Behandlung mit hypertoner Kochsalzlösung die Zahl der Interventionen, um den ICP unter 15 mmHg zu halten, die Flüssigkeitsmenge, um den Blutdruck aufrecht zu erhalten, sowie die Beatmungszeit geringer war als in der Gruppe, die mit Ringer-Laktat-Lösung behandelt wurde.

Schwarz et al.⁽¹⁴⁹⁾ zeigten 2002 bei 8 Schlaganfallpatienten mit 22 Episoden einer mannitolresistenten Hirndruckerhöhung bei jeder Applikation von 10% NaCl-Lösung eine Hirndrucksenkung und Perfusionsdruckerhöhung, ohne Nebenwirkungen feststellen zu können.

2003 wurde von Tseng et al.⁽¹⁷⁰⁾ bei 10 SAB-Patienten mit WFNS-Grad 4-5 (Federation of Neurological Surgeons, WFNS- Grad 1-5, basierend auf dem o.g. Glasgow Coma Score und dem Vorhandensein oder Fehlen von fokalneurologischen Defiziten) eine signifikante Blutdruck-,

Perfusionsdruck- und Blutflussteigerung als auch eine ICP-Senkung nach teils mehrmaliger Applikation von 23,5% NaCl-Lösung beobachtet

5. Hyperonkotische Komponenten

Wie erwähnt, kann die Wirkungsdauer der Bolustherapie mit hypertoner NaCl- Lösung durch Zugabe einer onkotischen Komponente verlängert und so eventuell additive Wirkungen der hyperonkotischen Lösung ausgenutzt werden.

Dazu eignen sich hochmolekulare Lösungen, wie Hydroxyethylstärke 200.000 oder Dextran 60 oder 70, ebenfalls ein Mehrfachzucker, sowie Gelatine oder auch Albumin.

5.1 Dextran

Dextrane sind Mehrfachzucker mit einem Molekulargewicht von ca. 70.000 Da. Ihre Halbwertszeit im Blut beträgt ca. 25 h⁽⁸⁴⁾. Der Abbau erfolgt durch Hydrolyse im Blut, anschließend werden sie renal eliminiert.

In einer Fülle von Arbeiten wurde Dextran in Konzentrationen von 6% bis 24% in Kombination mit und ohne hypertone Kochsalzlösung im Tiermodell und an Patienten getestet. In den meisten Studien an Patienten wurde Dextran 70 in einer Konzentration von 6%^(174,108,62) verwendet.

Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass Dextran das Herzminutenvolumen erhöht^(190,155,179), zusätzlich zur hypertonen NaCl-Lösung das Plasmavolumen steigert^(179,88), eine verringerte Leukozytenadhärenz⁽¹¹⁰⁾ induziert und eine ICP-senkende Wirkung⁽¹⁹⁰⁾ entfaltet. Daneben konnte eine steigernde Wirkung auf den zerebralen Blutfluss festgestellt werden⁽¹⁹⁰⁾. Kürzlich ergaben sich Hinweise, dass die Infusion von Dextran sowohl in Kombination mit isotonischer Ringer-Laktat-, als auch mit hypertoner NaCl-Lösung in höherer Konzentration (2%, 3%) zu einer signifikanten Abnahme der Permeabilität von Gefäßwänden für Wasser führt⁽¹⁷⁷⁾. Danach würde durch die Ausbildung eines osmotischen Gradienten durch die beigemischte hypertone NaCl-Lösung Flüssigkeit ins Gefäßbett gezogen. Der onkotische Gradient, bedingt durch die beigemischte Dextranskomponente, welche nicht durch die semipermeablen Membranen des Endothels das Gefäßlumen verlassen kann, würde die Wirkung des osmotischen Gradienten ergänzen und das nach intravasal gelangte Volumen dort zurückhalten. Zusätzlich verbliebe dann durch die endothelabdichtende Wirkung des Dextrans⁽¹⁷⁷⁾ die nach intravasal gelangte Flüssigkeit ebendort; die Ausbildung eines Hirnödems in den nicht primär geschädigten Arealen würde abgeschwächt bzw. verhindert.

Diese, die hydraulische Konduktivität von Mikrogefäßwänden senkende Wirkung, wurde nicht nur mit hypertonen NaCl-, sondern auch mit isotonen Ringer-Lösungen nachgewiesen und ist somit wirklich eine Eigenschaft des Dextrans und unabhängig von der begleitenden Lösung. Andererseits ergaben sich auch Hinweise, dass der Dextranszusatz zumindest in der Schocktherapie wenig Nutzen haben könnte und dass die Hauptwirkung von der hypertonen NaCl-Lösung ausgeht⁽¹⁷²⁾.

Obwohl v. a. bei Dextran wiederholt berichtet, sind anaphylaktische Reaktionen nach SVR mit dextranshaltigen Lösungen in keiner der kontrollierten klinischen Studien bei Schockpatienten bekannt^(95,178). Dextran beeinflusst außerdem die Gerinnung der Patienten durch Senkung von Plättchenzahl, Fibrinogen- und von Willebrand-Faktorkonzentration, sowie durch herabgesetzte Reagibilität der Thrombozyten auf ADP^(61,52).

5.2 Hydroxyethylstärke

Unter Hydroxyethylstärke (Haes) versteht man ebenfalls verschiedene Polysaccharide mit einem Molekulargewicht von ca. 200.000, deren Halbwertszeit im Blut ca. 38 h⁽¹⁸⁴⁾ beträgt. Der Abbau erfolgt durch Makrophagen und α -Amylase im Blut, die Elimination geschieht renal.

Auch Haes ist in Tierversuchen^(180,193,46,81) und am Menschen^(106,59,146) untersucht und in der Schocktherapie etabliert. Beim Einsatz bei Patienten mit zerebraler Läsion ergibt sich allerdings kein einheitliches Bild; Härtl et al⁽⁵⁹⁾ konnten in ihrer Studie bei Patienten mit SHT und erhöhtem ICP feststellen, dass hypertone Kochsalzlösung in Kombination mit Haes eine vielversprechende Möglichkeit der Hirndrucksenkung darstellt.

Schwarz et al.⁽¹⁴⁸⁾ setzten hypertone NaCl mit Haesbeimischung bei Patienten nach ischämischem Apoplex zur ICP-Reduktion ein und konstatierten ebenfalls gute hirndrucksenkende Eigenschaften für die Haeslösung, vergleichbar mit denen der Vergleichslösung Mannitol.

Mast et al.⁽¹⁰⁶⁾ mussten hingegen eine Studie am gleichen Patientengut abbrechen, da sich in einer Zwischenauswertung zeigte, dass die Patienten, die zur isovolämischen Hämodilution (den Patienten wurde eine bestimmte Menge Vollblutes abgenommen, gleichzeitig infundierte man dieselbe Menge an Haes, Zielparameter war ein Hämatokrit von 35%) die Haeslösung erhielten, sich schlechter erholten als die der Kontrollgruppe. Bisher konnte nicht gezeigt werden, dass die Therapie des ischämischen Apoplexes mittels Hämodilution und speziell mittels Haes eine verbesserte Prognose hinsichtlich des Überlebens oder des funktionellen Outcomes bedingt⁽³⁾.

Andere Studien zur Untersuchung von Haes als Monotherapie und in Kombination von Haes mit hypertoner Kochsalzlösung ergaben hirndrucksenkende⁽⁸¹⁾, blutdruckstabilisierende^(192,46) und den CBF^(81,180) steigernde Effekte.

Auch von Hydroxyethylstärke ist bekannt, dass das Gerinnungssystem beeinträchtigt wird: Haes reduziert die Plasmakonzentrationen von Fibrinogen, Faktor VIII, des von-Willebrand-Faktors und die Plättchenfunktion^(95,168).

5.3 Mannitol

Mannitol ist ein Zuckeralkohol mit einem Molekulargewicht von 180 Da, der renal eliminiert wird. Die Halbwertszeit im Blut beträgt ca. 2 h⁽²⁾. Mannitol hat in der Neurochirurgie bzw. Neurologie eine lange Geschichte und wird zur Hirndrucksenkung verwendet. Der Wirkungsmechanismus ist immer noch Gegenstand von Untersuchungen, Mannitol scheint jedoch die Blutviskosität zu senken, was wiederum zu einer CBF-Steigerung führt, welche über eine Hyperämie den Abtransport von vasodilatorisch wirksamen Substanzen bewirkt und damit zu Vasokonstriktion und Drucksenkung im Gehirn führt⁽¹¹⁸⁾. In Tierversuchen wurden positive Effekte bei Ischämie^(100,152,103) nachgewiesen, Hirndrucksenkung^(191,134) und Steigerung des zerebralen Blutflusses^(68,152) konnten ebenfalls gezeigt werden. Mannitol führt außerdem zu einer besseren Verformbarkeit von Erythrozyten⁽¹⁹⁾.

Jafar et al. behandelten in ihrer Studie SAB-Patienten mit Mannitol und konnten neben steigenden Effekten auf den CBF (allerdings nur mit kontinuierlicher Mannitolinfusion) auch einen positiv inotropen Effekt am Herzen feststellen⁽⁶⁸⁾.

Demgegenüber gibt es allerdings auch Hinweise, dass Mannitol durch Akkumulierung im Gehirn zu einer Verschlechterung des Ödems nach Kälteläsion führen kann⁽⁸⁰⁾, was 1994 von Berenberg et al. aber nicht bestätigt werden konnte⁽¹³⁾ und in der Diskussion noch nicht abschließend geklärt ist.

6. Vorversuche

Die Bedeutung der pathologischen Vorgänge in der Akutphase nach einer Subarachnoidalblutung für den resultierenden klinischen Zustand der Patienten und deren gezielte Beeinflussung durch Small-Volume-Resuscitation machten aus unserer Sicht einen therapeutischen Einsatz erfolgver-

sprechend. Aus diesem Grund wurde SVR in einem Tiermodell der SAB auf ihre Wirksamkeit, Wirkmechanismen und therapeutische Sicherheit hin untersucht.

Diese Versuche wurden von Oktober 2000 bis Juni 2001 am Institut für Chirurgische Forschung von Herrn S. Thal durchgeführt. Er testete die Auswirkungen von 7,5% NaCl- Lösung alleine und in Kombination mit Dextran 70 gegen eine Kontrollgruppe mit 0,9% NaCl nach einer experimentellen SAB bei Sprague-Dawley Ratten. Als Ergebnis zeigte sich, dass sowohl mit der hyperosmolaren Lösung alleine, als auch mit der Kombination, der ICP nach der Blutung signifikant gegenüber der Kontrolle gesenkt werden konnte, tendenziell anhaltender mit der 7,5% NaCl/Dextran-Kombination. Die Auswirkungen auf den CBF waren eher gering, es kam nur in der 7,5% NaCl-Gruppe zu einem kurzen (10 min) signifikanten Anstieg der lokalen Hirndurchblutung. Die Letalität war in der Kombinationsgruppe (7,5% NaCl/ Dextran 70) am niedrigsten (7/20) gegenüber 12/20 und 13/20 in der 7,5% NaCl und der Kontrollgruppe. Dies entspricht einer Reduktion der Letalität um 65%; diese Reduktion war zwar nicht signifikant, mit $p < 0,125$ kann man aber von einem statistischen Trend zu Gunsten der hypertonen Lösung sprechen. Die histologische Auswertung ergab eine signifikant höhere Zahl von überlebenden Neuronen im Hippokampus, im Motorkortex und im Kleinhirn.

Die potentiellen Wirkungen der Therapielösungen auf CBF und ICP wurden allerdings durch eine anaphylaktische Reaktion der verwendeten Sprague-Dawley-Ratten auf Dextran unter Umständen reduziert. Die Ratten reagierten auf die Infusion der Dextran-Lösung mit einer kurzzeitigen signifikanten Reduktion des Blutdrucks, der sich aber innerhalb von 25 min nach Infusion wieder erholtet⁽¹⁸⁷⁾.

Ziel der gegenwärtigen Studie

In Anbetracht der beobachteten neuroprotektiven Effekte von SVR nach experimenteller SAB stellte sich die Frage, ob diese sich bei Verwendung von Ratten, die auf eine Dextraninfusion nicht mit einer Hypotonie im Rahmen eines anaphylaktischen Schocks reagieren, steigern ließen. In Bezug auf den Einsatz der SVR bei Patienten nach SAB, untersuchten wir daneben die neuroprotektive Wirksamkeit von Small Volume Resuscitation (hyperosmolare NaCl + Dextran, hyperosmolare NaCl + Haes) im Vergleich untereinander und mit der klinisch gebräuchlichen „Referenzsubstanz“ zur Hirndrucksenkung – Mannitol – in einem in-vivo Modell der Subarachnoid-

dalblutung. Als Zielparameter der Studie dienten intrakranieller Druck, der bilaterale lokale zerebrale Blutfluß, die neurologische Erholung der Tiere, Letalität, und morphologische Schäden.

Die zu untersuchenden Hypothesen der Arbeit waren:

1. Sowohl mit Mannitol, als auch mit 7,5% NaCl/ Dextran 70, 7,2% NaCl/Haes Lösung lässt sich ein nach SAB resultierender Hirndruck signifikant und anhaltend reduzieren.
2. Es gibt Unterschiede in der Dauer und der Nachhaltigkeit der Drucksenkung.
3. Es kann eine Steigerung des zerebralen Blutflusses mit Infusion von hypertoner NaCl-Lösung erreicht werden.
4. Durch Infusion von hypertoner NACl-Lösung kommt es zum Anstieg der Osmolarität
5. Durch Senkung des Hirndruckes und Anhebung des zerebralen Blutflusses kommt es zu einer Neuroprotektion und verbessertem Überleben der Tiere.

B. Material und Methoden

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche dextranresistente Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 250 – 350 g. Alle verwendeten Ratten wurden vor dem Versuch mittels Intrakutantestung auf Dextranverträglichkeit untersucht. Die Tiere wurden im klimatisierten (Raumtemperatur ca. 20°C, relative Luftfeuchtigkeit ca. 65%) Kleintierstall des Institutes für Chirurgische Forschung bei freiem Zugang zu Futter und Wasser gehalten. 12 Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Tieren, bei weiterem freien Zugang zu Wasser, das Futter verwehrt.

2. Versuchsdurchführung

2.1 Arbeitsplatz

Die vorliegenden Versuche wurden im Institut für Chirurgische Forschung an einem für Rattenpräparationen ausgerüsteten Arbeitsplatz von Juli 2001 bis Oktober 2002 durchgeführt.

2.2 Narkose und Prämedikation

Die Einleitung der Narkose erfolgte in einem Behälter mit Äther (Diethylether, Chinosol-fabrik, Deutschland). Um eine Verschleimung der Atemwege zu verhindern, wurde den Tieren Atropinsulfat (Braun, Melsungen, Deutschland) in einer Dosierung von 0,15ml/kg Körpergewicht s.c. appliziert. Anschließend wurden die Tiere im Operationsgebiet (rechter Hals, Kopf) rasiert und in 45 Grad Schräglage unter Sicht (OP-Mikroskop OPMI 6, Zeiss, Deutschland) intubiert. Als Tubus diente ein 16G–Venenverweilkatheter (Vascu-

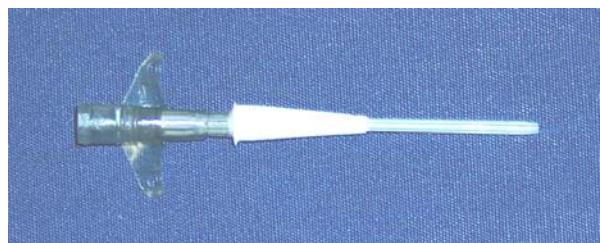


Abbildung 2: Beatmungstubus der Ratte

Ion Plus, BOC Ohmeda AB, Schweden), an dem ein Silikonpropf (\varnothing : 5 mm) zum besseren Verschluß der Glottis befestigt war.

Nach Intubation und Fixierung des Tubus mittels Klebebandes erfolgte die Konexion an einen druckgesteuerten Kleintierrespirator (Kent Scientific, Großbritannien) und die Beatmung mit 30% Sauerstoff– 70% Lachgas-Gemisch, bei 100 - 110 Hüben pro Minute und einem maximalen inspiratorischen Druck von 10-13 cmH₂O.

Dem Beatmungsgasmisch wurde während der anschließenden Kopfpräparation 1,5%, nach der Umlagerung auf den Bauch bis zum Ende der Operation 0,8% Halothan Narkosegas (Eurim-Pharma, Piding, Deutschland) mittels Verdampfer (Dräger-Vapor 19.3, Dräger, Deutschland) zugefügt.

2.3 Temperaturmessung/- kontrolle

2.3.1 Rektale Temperatur

Die Körpertemperatur wurde durch eine rektal plazierte Temperatursonde kontinuierlich gemessen und mit einer Heizplatte, gesteuert von einem Homöostasegerät (Harvard Homothermic Blanket Control Unit, Harvard Apparatus, Kent, Großbritannien), auf 37 ° C temperiert

2.3.2 Subtemporale Temperatur

Da die Gehirntemperatur besser mit der unter dem M. temporalis gemessenen als mit der rektalen Temperatur korreliert, wurde die Kopftemperatur mittels Sonde (Philips, Mantelthermoelement D40, Deutschland), welche unter den M. temporalis inseriert wurde, gemessen und mit einer Heizlampe (Philips R95 Infraphil 100W), welche von einem Homöostasegerät (Philips K40, Deutschland) angesteuert wurde, ebenfalls auf 37 ° C gehalten.

2.4 Kranielle Präparation

Nach Implantation der Sonden und Lagerung des Tieres in Bauchlage erfolgte eine mediale Inzision der Kopfhaut auf ca. 1,5 – 2 cm Länge. Nach Freilegung des Schädelkno-

chens und Fixierung der Hautlappen mittels Nahtmaterial (Ethicon, Prolene 4 – 0) wurde beidseits im Bereich des Versorgungsgebietes der A. cerebri media eine Bohrlochtrepanation (Laser-Doppler-Fluss-Sonden, LDF-Sonden) angelegt. Hierzu wurde mittels Miniatufräse (Uni-Drive N, Starnberg; Bohrer: Aesculap GD870R, 0,8 x 5,1 mm) ca. 5 mm lateral der Sutura sagittalis und 1 mm okzipital der Sutura coronalis unter Erhaltung der Dura mater ein im Durchmesser etwa 1,5 mm messendes Loch gefräst. Eine weitere Trepantanation (ICP-Messung) wurde rechts ca. 1 mm lateral der Sutura sagittalis und 1 mm rostral der Sutura lambdoidea angefertigt.

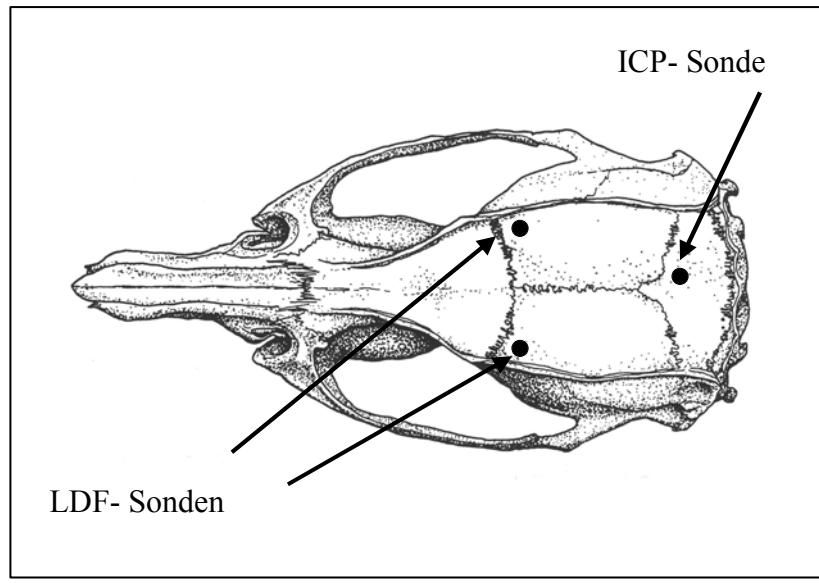


Abbildung 3: Rattenschädel mit Positionen der Messsonden

2.5 Intrakranielle Druckmessung

Vor Implantation der Sonde wurde ein Nullabgleich durchgeführt. Nach vorsichtiger Inzision der Dura mater im Bereich der okzipitalen Trepanation wurde eine ICP-Sonde (Codman Microsensor Basic Parenchymsonde, Codman, Deutschland) mittels eines Micromanipulators (Kopf Instruments, USA) in das Hirnparenchym des parietalen Marklagers ca. 2 mm tief implantiert. Die Sonde wurde anschließend mit Dentalzement (Poly-F Plus Bondex, Dentsply DeTry, Deutschland) fixiert. Die Messung erfolgte mit Codman ICP Express (Codman, Deutschland)

2.6 Messung des lokalen zerebralen Blutflusses mittels Laserdoppler-Fluxmetrie (LDF)

Nach der Hirndrucksondenimplantation erfolgte die Umlagerung in Rückenlage und Fixierung der Ratte im Stereotax (Model 900, Kopf Instruments, USA) mittels Mundsperrre

und das Trommelfell schonenden Ohrstiften („*non-rupture ear bars*“ Model 900, David Kopf Instruments, USA). Jetzt konnten zwei Laserdopplersonden (Typ P5bs, Moor Instruments, Devon, Großbritannien), deren Spitzen rechtwinklig abgewinkelt waren, mittels Mikromanipulatoren unter Sichtkontrolle an die vorher angelegten Bohrlöcher herangeführt und ohne Kompression des darunterliegenden Parenchyms auf die Dura mater aufgesetzt werden.

Laserdoppler-Fluxmetrie erlaubt eine kontinuierliche und nichtinvasive Messung von mikrozirkulatorischem Blutfluss in Gewebe. Bei der Laser-Doppler-Flux-Messung macht

man sich die Eigenschaft von fließenden Teilchen (Fe im Hämoglobin der Erythrozyten) zunutze, auf sie treffendes Laserlicht in seiner Frequenz verändert zu reflektieren. Ruhende Teilchen reflektieren das Licht ohne Frequenzänderung. Diese Frequenzänderung, die pro-

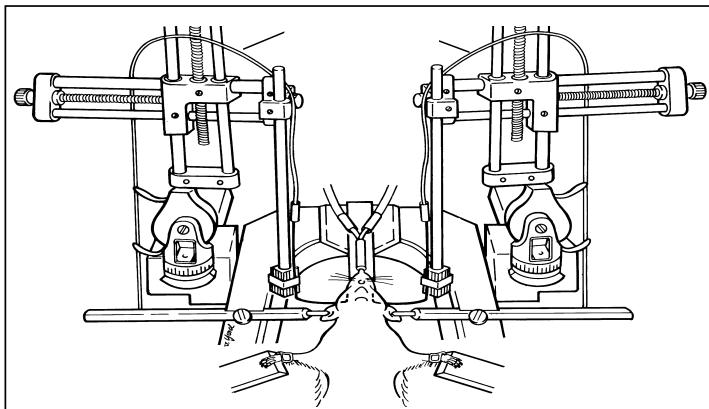


Abbildung 4: Ratte im Stereotax gelagert, Schema

portional zur Bewegungsgeschwindigkeit der Erythrozyten ist, wird mittels Detektoren erfasst und ermöglicht es, Flussgeschwindigkeit und lokale Perfusion zu errechnen. Dabei wird ein Gewebsareal von ca. 1 mm^3 um die Spitze der Sonde untersucht⁽³⁵⁾. In mehreren Arbeiten wurden mit dieser Methode gemessene Blutflusswerte mit konventionell gemessener Durchblutung verglichen, z.B. der $[\text{C}^{14}]$ -Iodoantipyrin-Methode^(35,43) oder der Wasserstoff-Clearance-Methode⁽¹⁵⁴⁾. Dabei zeigte sich, dass mit der Laser-Doppler-Technik keine absoluten Werte gemessen werden können, sondern vielmehr Änderungen des relativen Blutflusses, die gut mit den Änderungen der Durchblutung, die mit o.g. Vergleichsmethoden gemessen wurden, korrelierten. Die Werte der lokalen zerebralen Durchblutung werden in Prozent des prähämorrhagischen Durchschnittwertes angegeben. Um artifizielle Lichtspiegelungen zu vermeiden, wurde der Kopfbereich der Ratten und die Sonden mit lichtundurchlässigem Stoff abgedeckt. Die Sonden waren an ein 2-Kanal Laserdopplergeät angeschlossen (MBF3D, Moore Instruments, Großbritannien). Dieser Versuchsaufbau ermöglichte eine kontinuierliche Messung (2 Hz) des lokalen zerebralen Blutflusses (LCBF) in beiden Gehirnhemisphären⁽¹⁴²⁾.

2.7 Blutdruckmessung/ -kontrolle

Zur kontinuierlichen Blutdruckmessung/-kontrolle und zur Abnahme von arteriellen Blutproben wurde in die Schwanzarterie der Ratte ein Katheter implantiert. Dazu wurde nach proximaler Hautinzision und Faszienspaltung die Arterie freigelegt und mit einem Katheter (Polyethylene Katheter OD 0.96 mm, SIMS Portex, Großbritannien) punktiert, dieser mittels Transducer (DTX Plus DT -XX, Becton Dickinson, USA) an ein Blutdruckmessgerät (Sirecust 304 D, Siemens, Deutschland) zur Blutdruckmessung angeschlossen und um eine Thrombosierung des Katheters oder der Arterie zu verhindern, kontinuierlich mittels Infusionspumpe (WPI SP 100i Syringe Pump, World Precision Instruments, Sarasota, USA) mit 0,9 % NaCl-Lösung bei einer Pumprate von 0,5ml/h gespült.

2.8 Venöse Katheterisierung

Um die Therapielösungen verabreichen zu können, wurde bei jeder Ratte ein Kunststoffkatheter (0,61 mm OD, Polyethylene Katheter, SIMS Portex, Großbritannien) in die linke V. femoralis implantiert. Auch hier erfolgte eine kontinuierliche Spülung mit 0,9% NaCl-Lösung (Flussrate 0,2 ml/h), um eine Thrombosierung zu verhindern.

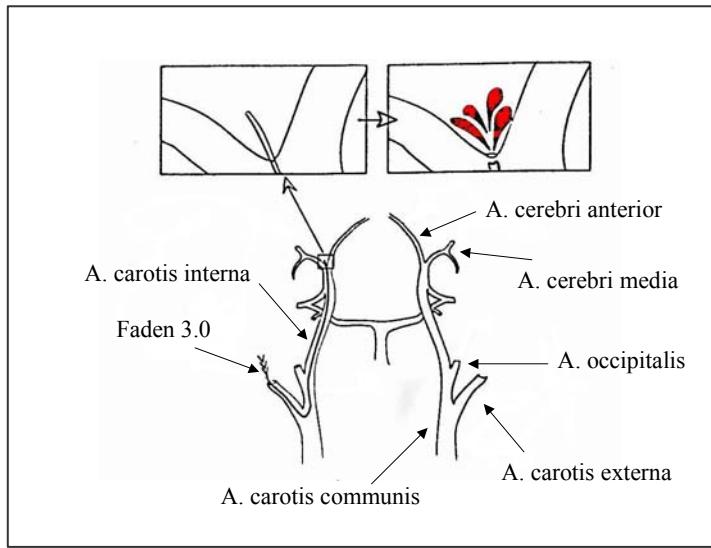
2.9 Induktion der Subarachnoidalblutung

Die Subarachnoidalblutung (SAB) wurde mittels des intraluminalen Fadenmodells nach Bederson⁽¹¹⁾ induziert.

Zuerst wurde im rasierten Operationsfeld am rechten lateralen Hals ca. 2 mm lateral der Medianlinie ein ca. 1,5 – 2 cm langer Hautschnitt angelegt. Nach stumpfem Abdrängen des Fettgewebes und der Gl. submandibularis nach lateral und Verschieben der Zungenbeinmuskulatur nach medial wurde die Gabelung der A. carotis communis dargestellt und von umliegendem Fett- und Bindegewebe unter Schonung des N. vagus befreit. Nach Fadenligatur der A. carotis externa ca. 0,5 cm distal der Gabelung und Elektrokoagulation der in diesem Bereich abgehenden A. thyreoidea cranialis und A. occipitalis wurde die A. carotis interna und die A. carotis communis mittels Aneurysmaclips temporär verschlossen und die A. carotis externa proximal der Fadenligatur durchtrennt. Da bei der

Ratte die Kollateralversorgung des Circulus Willisi für die Hirndurchblutung ausreichend ist, resultierte hierbei keine Mangelversorgung des Gehirns^(132,133). In den entstandenen Stumpf der A. carotis externa wurde ein monofiler Faden (Prolene 3-0, Ethicon, Belgien) von ca. 2,5 cm Länge eingebracht. Der Stumpf wurde mittels Fadenligatur abgedichtet und nach Entfernung der Clips wurde der Perforationsfaden unter Beobachtung der Laserdopplerwerte über die Gabelung in die A. carotis interna und weiter bis zum Abgang der A. cerebri media geschoben. Die Stärke des Fadens war entsprechend der Arbeit von

Abbildung 5: Halsgefäße der Ratte in Anlehnung an^(11,60)



Schwartz et al.⁽¹⁴⁷⁾ gewählt. Mit Passage des Abganges der A. cerebri media konnte eine Reduktion des Laserdopplerflusses um ca. 80% gemessen werden. Der Faden wurde dann noch ca. 3 – 5 mm weitergeschoben, bis nach Perforation der Gefäßwand der Widerstand spürbar nachließ und es zu einem beidseitigen LDF- Abfall und einem gleichzeitigen Anstieges des intrakraniellen Druckes kam⁽¹⁴¹⁾.

Nach Induktion der SAB wurde der Faden vorsichtig zurückgezogen, der Stumpf ligiert. Die maximale Okklusionszeit betrug 5 Minuten.

Nach Beendigung der Versuche wurden sämtliche Katheter und Sonden entfernt, die Bohrlöcher mit Dentalzement verschlossen, eröffnete Gefäße ligiert und die Wunden vernäht. Nach der anschließenden Beendigung der Narkose wurden die Tiere bei suffizienter Spontanatmung extubiert und in Einzelkäfige verbracht.

2.10 Datenerfassung

Alle während der Narkose erhobenen Daten, d.h. Temperatur, intrakranieller Druck, Blutdruck (MAP) sowie lokaler zerebraler Blutfluss wurden mittels PC und der Datenerfassungssoftware DASYLAB 5.0 (National Instruments, Irland) für min. 90 min nach SAB in der Beobachtungsphase aufgezeichnet und nach Beendigung der Versuche mittels des Programms FlexPro 6.0 (Fa. Weisang GmbH & Co KG) ausgewertet.

Dabei wurde ausgehend vom Zeitpunkt des LDF-Abfalls bzw. des ICP-Anstieges als Zeichen der stattgehabten SAB der Nullpunkt definiert. Dann wurden die Basiswerte für Lasserdopplerfluß seitengetrennt durch Mittelung der Werte zwischen 15 und 5 min vor Blutung errechnet. Die weiteren Werte wurden ebenso wie die Daten von Temperatur, MAP und ICP in 3 min Intervallen gemittelt und in Prozent des Basiswertes umgerechnet.

3. Probenaufbereitung

3.1 Blutgasanalyse

Zu den Zeitpunkten 60 min und 10 min vor sowie 30 min, 60 min und 90 min nach Induktion der SAB wurden durch den arteriellen Katheter je 60 µl Blut in eine heparinbeschichtete Kapillare (Chiron Diagnostics, Deutschland) abgenommen und in einem Chiron Diagnostics 860 Blutgasanalysegerät sowohl pH-Wert, pO₂, pCO₂ als auch die Konzentrationen von Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻, Glukose und Laktat bestimmt.

3.2 Hämatokrit- und Blutzellbestimmung

Um Auswirkungen der Hämodilution durch die SVR auf die Blutzellen, auf den Hämatokrit und den Hämoglobingehalt der Erythrozyten zu erfassen, erfolgte zu den Zeitpunkten 10 min vor und 90 min nach SAB zusätzlich eine Entnahme von 120 µl Blut in eine heparinbeschichtete Kapillare. In einem Blutzellanalysegerät Counter AcT 8 (Beckmann Coulter Inc, USA) wurden der Hämatokrit, das MCV, MCHC und MCH zweimal bestimmt und daraus der Mittelwert gebildet, der in die Auswertung einging. Das überschüssige Blut wurde, um den Blutverlust der Tiere möglichst gering zu halten, weiter verwendet zur Osmolaritätsmessung.

3.3 Osmolalitätsmessung

Dazu wurden im Verlauf des Versuches zum Zeitpunkt 10 min vor und 30, 60, und 90 min nach SAB 120 µl (s.o.) Blut in eine heparinisierte Kapillare abgenommen, von dort in ein Reaktionsgefäß (1,5ml, Eppendorf, Hamburg) gefüllt, bei 3500 U/min 10 min zentrifugiert und 50 µl des von korpuskulären Blutbestandteilen freien Überstandes in ein weiteres Reaktionsgefäß pipettiert. Alsdann wurde die Blutplasmaosmolalität in einem Osmometer (Osmomat 030, Gonotec, Berlin) über Gefrierpunktserniedrigung bestimmt.

4. Histologische Aufbereitung

Die Gehirne der Tiere, welche die 7-tägige postoperative Beobachtungsphase überlebten, wurden für eine histologische Aufarbeitung entnommen.

Die Narkose der Tiere wurde mit Diethyläther (Diethylether, Chinosolfabrik, Deutschland) eingeleitet, dann 3,6 mg/100 mg Körpergewicht Chloralhydrat intraperitoneal injiziert; nach Eintritt vollständiger Analgesie und Sedation konnte das Herz freipräpariert werden. Nach Fixierung der Herzspitze mit einer atraumatischen Klemme konnte über die Herzspitze eine stumpfgefeilte Kanüle in die Aorta vorgeschoben werden, über die das Tier mit 2%-iger Paraformaldehydlösung 20 min bei ca. 120 cm H₂O perfundiert wurde. Um einen Austritt der Lösung und des Blutes zu ermöglichen, wurde das rechte Herzohr eröffnet, so dass letztlich der Tod der Tiere durch Entblutung induziert wurde.

Das entnommene Gehirn wurde in 2%-iger Paraformaldehydlösung gelagert und anschließend in Paraffin eingebettet (Shardon, Deutschland).

Groß- und Kleinhirn wurden mit einem Mikrotom (Reichert-Jung Biocut, Deutschland) in 4 µm dicke Scheiben geschnitten, wobei jeweils 4 Scheiben in Abständen von 400 µm verwendet wurden. Die Schnittrichtung beim Großhirn war in Richtung Riechhirn, beim Kleinhirn in Richtung Medulla oblongata.

Die Gehirnschnitte wurden mit einer Standardfarbmischung nach Nissl gefärbt.

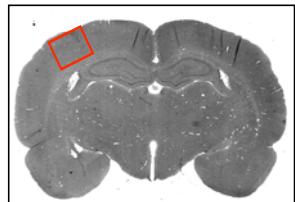
5. Quantitative Histologie

Zur Bestimmung der Neuronenzahl wurden beiderseits verschiedene Hirnregionen untersucht, die mit Hilfe eines stereotaktischen Rattenhirnatlas (George Paxinos & Charles Watson, 1998, Academic Press, San Diego, USA) ausgewählt waren: Motorkortex M1 und M2, Kaudoputamen, Hippokampusregionen CA 1 – CA 3, sowie im Kleinhirn die Purkinjezellen in Fissura posterior superior (psf) und Fissura prima (prf).

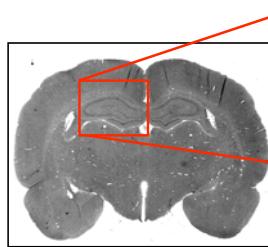
Die Regionen wurden auf den Schnitten unter einem Mikroskop mit 16-facher Objektivvergrößerung aufgesucht, über einen Adapter mit einer Kamera (Fuji Digital Camera HC-300Z) und zugehöriger Software (Photograb 300Z Version 2) aufgenommen und per PC gespeichert. Dort wurden die Rohdaten mit einer Bildbearbeitungssoftware (Optimate 6.51, BioScan Inc., Edmonds, USA) ausgewertet, indem alle Bilder in eine einheitliche Position gedreht wurden, ein vorher kalibrierter Rahmen der Größe 0,2 x 0,3 mm über das Bild gelegt wurde und die im Rahmen vorhandenen vitalen Neurone gezählt wurden.

Die Auszählung erfolgte verblindet. Lebensfähige (gezählte) Zellen erfüllten folgende Kriterien: scharf abgegrenzter Nukleus, klar erkennbarer Nukleolus in der Mitte des Nukleus, klar vom umgebenden Neuropil abgrenzbares neuronales Zytoplasma, weniger als ein Drittel des Neurons umgeben von konfluierenden Vakuolen⁽¹⁵⁹⁾.

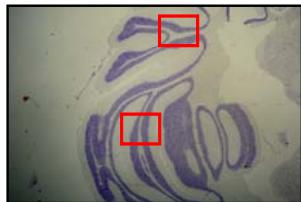
Intakte Neurone / Bewertungsareal (0,2 x 0,3 mm) in:



Motorischer Kortex



Hippokampus CA 1 - 3



Zerebellum



Kaudoputamen

Abbildung 6: Darstellung der ausgezählten Hirnareale

6. Postoperative Beobachtung - Quantifizierung der funktionellen neurologischen Defizite

Um die funktionelle Schädigung bzw. die neurologische Erholung der Tiere zu bestimmen, wurde an den postoperativen Tagen 1, 3 und 7 ein nach Bederson et al.⁽¹²⁾ modifizierter Score zur Beurteilung des lateralisierten sensormotorischen Defizits verwendet⁽¹⁸⁶⁾; daneben wurde eine Beurteilung von Vigilanz, Hirnnervenausfällen, Motorik, Sensorik und motorischen Koordination mittels einer etablierten Beurteilungsskala von 0 - 91⁽⁷⁹⁾ erhoben. Zusätzlich wurde Koordination und Kraft im Bereich der Vorderpfoten mittels des „Prehensile traction Tests“ gemessen⁽¹⁸⁶⁾.

6.1 Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits:

Der Test unterscheidet die Grade 0 – 5:

- Grad 0: keine Spontanbewegung
- Grad 1: Spontane Kreisbewegung (Circling) der Tiere in Richtung der Hemiparese
- Grad 2: Kreisbewegung bei Zug am Schwanz, so dass die Ratten nur mehr mit den Vorderläufen den Boden berührten
- Grad 3: Keine Kreisbewegung, verminderte Standstabilität bei Druck von der Seite
- Grad 4: Keine Kreisbewegung, keine verminderte Standstabilität. Beim Hochheben am Schwanz und Annäherung an den Boden besteht Unfähigkeit, die zum Infarkt/Blutung kontralaterale Vorderpfote zu strecken
- Grad 5: neurologisch unauffälliges Tier

6.2 Quantifizierung des globalen neurologischen Defizits

Die maximal erreichbare Summe von 91 Punkten definiert das schlechteste, 0 Punkte das bestmögliche Ergebnis (Katz et al.⁽⁷⁹⁾):

- Allgemeines Verhalten
 - Aufmerksamkeit:
 - Ratte an Umwelt interessiert = 0 P
 - Ratte ist träge/ uninteressiert = 20 P
 - Atmung:
 - normal = 0 P
 - abnorm = 20 P
- Hirnnervenstatus
 - Geruchssinn
 - vorhanden (Reaktion auf angeb. Futter) = 0 P
 - nicht vorhanden = 4 P
 - Kornealreflex
 - vorhanden = 0 P
 - nicht vorhanden = 4 P
- Bewegung der Barthaare
 - vorhanden = 0 P
 - nicht vorhanden = 4 P
- Gehör
 - vorhanden = 0 P
 - nicht vorhanden = 4 P
- Motorik
 - normal = 0 P

	steif	=	5 P
	gelähmt	=	10 P
o Sensorik			
Schmerzreaktion	vorhanden	=	0 P
	nicht vorhanden	=	10 P
o Koordination			
Bodengreiftest (Ratte streckt Vorderlauf, wenn sie am Schwanz hochgehoben wird)			
	vorhanden	=	0 P
	nicht vorhanden	=	5 P
Aufrichttest (Ratte dreht sich auf den Bauch, wenn sie auf den Rücken gelegt wird)			
	vorhanden	=	0 P
	nicht vorhanden	=	5 P
Stop am Ende des Tisches			
	vorhanden	=	0 P
	nicht vorhanden	=	5 P
		=	91P

6.3 Seilhängeversuch

Die Apparatur bestand aus einem 60 cm langen 0,3 cm dicken Drahtseil, das in ca. 45 cm Höhe über einer Schaumstoffmatte gespannt war. Daran wurden die Ratten mit den Vor-



Abbildung 7: Seilhängeapparat

derpfoten gehängt und die Zeit gemessen, in der sie sich frei hängend am Seil halten konnten^(25,31). Die maximale Testzeit betrug 120 Sekunden, es wurden zwei Durchgänge mit 5 Minuten Pause dazwischen gemessen.

Zusätzlich wurde notiert, ob die Tiere eine Hinterpfote auf das Seil heben konnten.

7. Gewicht

Als Parameter für die allgemeine Erholung der Tiere wurde an den postoperativen Tagen 1, 3 und 7 das Körpergewicht ermittelt.

8. Versuchsgruppen

Die Therapielösungen wurden als Bolus innerhalb von zwei Minuten intravenös bei allen Tieren 30 Minuten nach SAB in die V. femoralis appliziert. Die Tiere wurden in vier Gruppen à 15 Tiere randomisiert:

- (1) 0,9% NaCl- Lösung (Kontrollgruppe) [4ml/kg Körpergewicht]
- (2) 7,5% NaCl- Lösung mit 6% Dextran 70 (Rescue FlowTM)
[4ml/kg Körpergewicht]
- (3) 7,2% NaCl- Lösung mit 200.000 HAES (HyperHAES[®])
[4ml/kg Körpergewicht]
- (4) 20% Mannitol [9,33ml/kg Körpergewicht]

Die 0,9% NaCl- Lösung stammte von B. Braun Melsungen AG, Deutschland.

Für die Gruppe 2 diente Rescue FlowTM von BioPhausia, Uppsala, Schweden als Therapielösung. Die Lösung enthält 60 g Dextran 70 und 75g NaCl pro 1000 ml Infusionslösung, entsprechend einer 7,5% NaCl- Lösung mit 6% Dextran 70. Der gemessene pH-Wert lag bei 5,42. Die Lösung hat eine Osmolarität von 2568 mosm/l und ist für die Akutbehandlung von hämorrhagischem Schock zugelassen.

Als Haes-Lösung wurde HyperHAES[®] von der Firma Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland verwendet (Gruppe 3). Die Lösung besteht aus Hydroxyethylstärke (Molekulargewicht 200.000) und 7,2% NaCl. Der gemessene pH-Wert beträgt 5,60, die Osmolari-

tät 2464 mosm/l. Auch HyperHAES® ist zur Initialbehandlung von Hypovolämie in Deutschland zugelassen.

Die genannten Lösungen wurden als Bolus in der Dosierung 4ml/kg Körpergewicht, die auch in der Schockbehandlung Anwendung findet, verabreicht.

Es wurde Mannitol-Lösung 20% Köhler (Fa. Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach-Hähnlein, Deutschland) mit 200g Mannitol/1000 ml, einer Osmolarität von 1100 mosm/l und einem gemessenen pH- Wert von 6,34 verwandt. Um gleich viele osmotisch wirksame Teilchen wie in den SVR- Lösungen vorhanden zu infundieren, wurde diese Lösung in der Dosierung 9,33ml/kg Körpergewicht gegeben (vgl.⁽¹⁵⁾)

Die gesamte infundierte Flüssigkeitsmenge, d.h. Therapielösung, Spülflüssigkeit der arteriellen und venösen Katheter wurde bei jedem Tier ggf. mittels physiologischer 0,9% NaCl-Lösung auf ein Gesamtvolumen von 15ml/kg Körpergewicht ergänzt.

Nach Präparation der Tiere und Implantation der verschiedenen Sonden, wurde die Subarachnoidalblutung induziert (Zeitpunkt 0 min). 30 min nach SAB wurden die Therapielösungen infundiert, der Zustand der Tiere weitere 60 min kontrolliert und aufgezeichnet.

9. Statistik

Statistische Analysen wurden mit der statistischen Auswertesoftware SigmaStat 2.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt.

Dabei wurden physiologische Parameter mittels one-way ANOVA, intrakranieller Druck, Laserdopplerfluss und die Daten der Hirnmorphometrie mittels ANOVA on Ranks bzw. Vergleiche innerhalb einer Gruppe mittels RM ANOVA on Ranks durchgeführt. Die Daten der neurologischen Untersuchungen wurden mittels ANOVA on Ranks auf Signifikanz hin geprüft. Soweit Mehrfachvergleiche notwendig waren, wurden diese mit dem Dunnett- oder Student-Newman-Keuls-Test durchgeführt.

Unterschiede wurden als signifikant angenommen, sobald sich $p < 0,05$ darstellte.

Die Daten sind soweit nicht anders erwähnt als Mittelwert (MW) \pm standard error of the mean (SEM) angegeben.

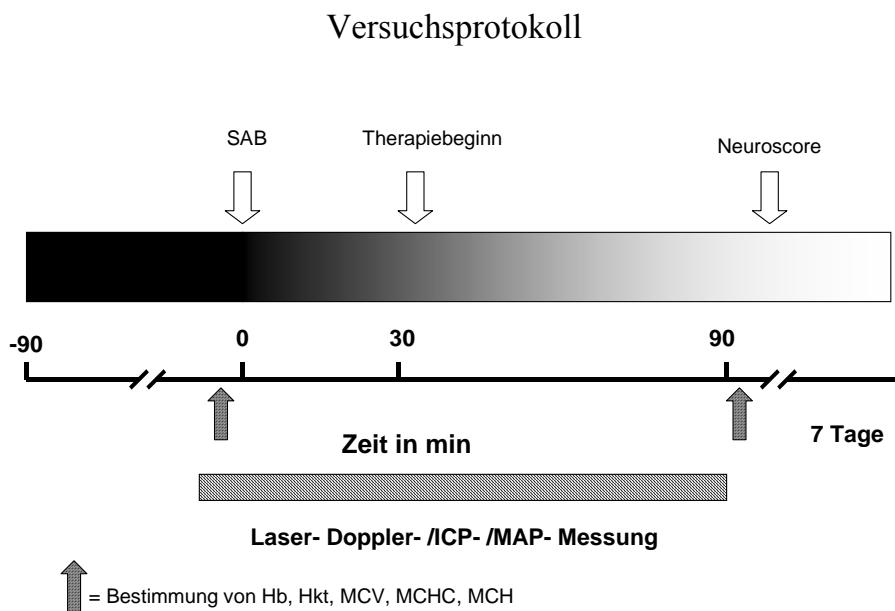


Abbildung 8: Versuchsablauf im Überblick

C. Ergebnisse

1. Blutgase

Intraoperativ wurde versucht, die Blutgase durch Anpassung der Beatmungsparameter in

PO ₂ [mmHg]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-40 min	116,3±8,6	106,4±4,7	104,2±4,9	99,0±3,8
-10 min	110,1±6,9	113,5±6,0	101,4±5,5	101,5±3,9
32 min	97,2±6,0	108,9±8,1	93,1±3,8	101,2±3,6
62 min	100,4±6,4	103,6±6,0	91,5±4,0	115,0±1,0
92 min	105,3±7,7	107,4±5,6	102,2±6,8	96,1±4,7

Tabelle 1: pO₂ (MW ± SEM)

den physiologischen Grenzen zu halten. Im Versuchsverlauf ergaben sich keine wesentlichen signifikanten Unterschiede bei pO₂, pCO₂.

Während der pO₂ leicht abnahm (von ca. 110 auf 100 mmHg), stieg der pCO₂ im Verlauf leicht an.

PCO ₂ [mmHg]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-40 min	34±1,9	32,3±2,0	33,5±1,6	37,7±1,9
-10 min	35,9±1,4	34,2±1,7	37,2±2,3	31,1±2,6
32 min	39,9±1,6	38,5±1,2	45,1±2,1*	43,9±1,8
62 min	40,2±1,1	39,8±1,4	42,7±2,4	42,5±1,7
92 min	40,9±0,97	41,1±1,2	43,6±1,7	41,1±2,2

Tabelle 2: pCO₂ (MW ± SEM) * p < 0,05 Mannitol vs. NaCl

2. pH-Wert

Der pH-Wert fiel in allen Gruppen nach der Blutung im Vergleich zum 40 min-Wert ab, am tiefsten und nachhaltigsten in der mit 7,5% NaCl/Dextran behandelten Gruppe; ein andauernder signifikanter Unterschied zeigte sich nur zwischen der mit 7,5% NaCl/Dextran behandelten und der Kontrollgruppe (0,9 % NaCl).

PH	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-40 min	7,43±0,02	7,43±0,02	7,42±0,01	7,39±0,01
-10 min	7,43±0,01	7,44±0,02	7,41±0,02	7,42±0,02
32 min	7,35±0,01	7,37±0,01	7,33±0,01	7,31±0,01*
62 min	7,36±0,01	7,37±0,01	7,34±0,01	7,32±0,01*, \$
92 min	7,37±0,01	7,37±0,01	7,36±0,01	7,33±0,01*

Tabelle 3: pH (MW ± SEM), * p < 0,05 Dextran vs. NaCl;

\$ p < 0,05 Dextran vs. Haes

3. Basenüberschuß (base excess)

Hier zeigen sich keine Unterschiede zwischen und in den Gruppen, bis auf den letzten Wert, der in der dextranbehandelten Gruppe signifikant unter denen der anderen Gruppen liegt.

BE[mmol/l]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-40 min	-2,5±0,7	-3,2±0,6	-3,3±0,4	-3,0±0,6
-10 min	-1,2±0,9	-1,5±0,7	-1,8±0,8	-2,1±0,6
32 min	-4,2±0,8	-3,5±0,7	-2,8±0,5	-4,7±0,5
62 min	-2,9±0,5	-3,0±0,7	-3,3±0,9	-4,8±0,6
92 min	-2,4±0,8	-2,1±0,4	-1,9±0,8	-4,9±1,0*

Tabelle 4: Base excess (MW ± SEM), * p < 0,05 Dextran vs. Haes, NaCl, Mannitol

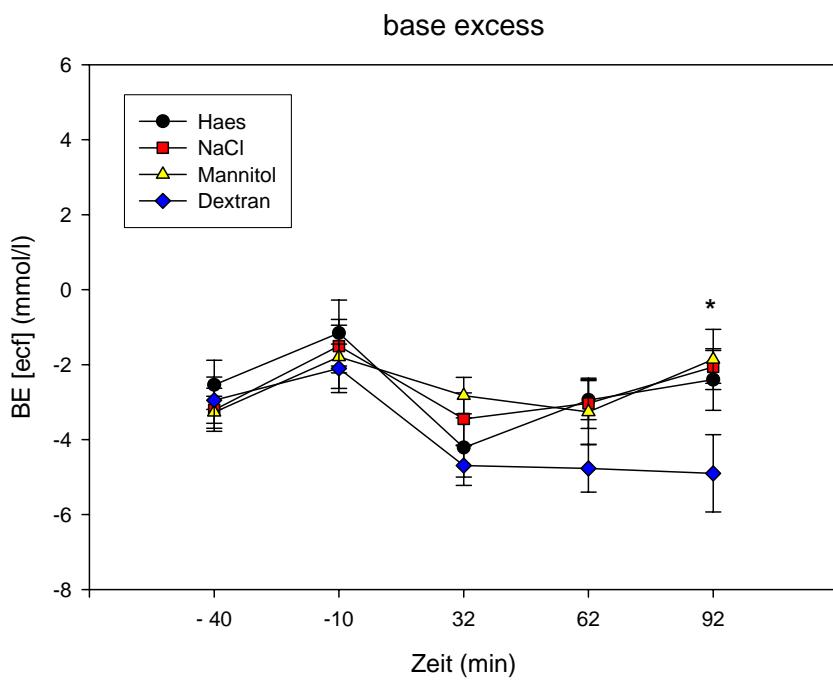


Abbildung 9: Basenüberschuß (MW ± SEM), * p < 0,05
Dextran vs. NaCl, Mannitol, Haes

4. Blutglukose

Vor Therapiebeginn waren keine Unterschiede zwischen den Gruppen feststellbar. Im

Glukose [mg/dl]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-40 min	116,3±8,6	106,3±4,7	104,2±4,9	99,0±3,8
-10 min	110,1±6,9	113,5±6,0	101,4±4,9	101,5±3,9
32 min	97,2±5,9	108,9±8,1	93,14±3,8	101,2±3,6
62 min	100,4±6,4	103,6±6,0	91,5±4,0	115,0±1,0 *
92 min	105,3±7,7	107,4±5,6	102,2±6,8	96,1±4,7

Tabelle 5: Blutzucker (MW ± SEM), * p < 0,05 Dextran vs. Haes, Mannitol

Verlauf der Versuche waren die Glukosekonzentrationen stabil; es kam nur zum Zeitpunkt 62 min zu signifikanten Unterschieden: Hier lag der Wert der dextranbehandelten Tiere höher als der der mannitol- und haesbehandelten Tiere.

5. Laktat

Die Laktatkonzentrationen der Versuchsgruppen unterschieden sich weder vor, noch nach Induktion der SAB. Lediglich in der dextranbehandelten Gruppe waren die letzten Werte (62 min, 92 min) signifikant kleiner als der – 40 min Wert.

Laktat [mmol/l]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-40 min	1,18±0,10	1,22±0,13	0,99±0,83	1,00±0,14
-10 min	0,90±0,07	0,89±0,08	0,85±0,05	0,79±0,08
32 min	0,71±0,05	0,89±0,13	0,68±0,05	0,72±0,06
62 min	0,66±0,04	0,71±0,06	0,73±0,06	0,63±0,07*
92 min	0,68±0,04	0,70±0,05	0,82±0,09	0,64±0,07*

Tabelle 6: Laktat (MW ± SEM), * p < 0,05 Dextran vs. Ausgangswert

6. Elektrolyte

6.1 Natrium

Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen vor Induktion der SAB bzw. vor Therapiebeginn. Nach Beginn der Therapie erhöhten sich in der dextran- und haesbehandelten Gruppe die Natriumkonzentrationen signifikant gegenüber der mit 0,9 % NaCl- sowie der Mannitolbehandelten Gruppe; die Natriumkonzentration in der mit Mannitol therapierten Gruppe zum Zeitpunkt 32 min war signifikant niedriger als der zugehörige Referenzwert vor Beginn der Therapie.

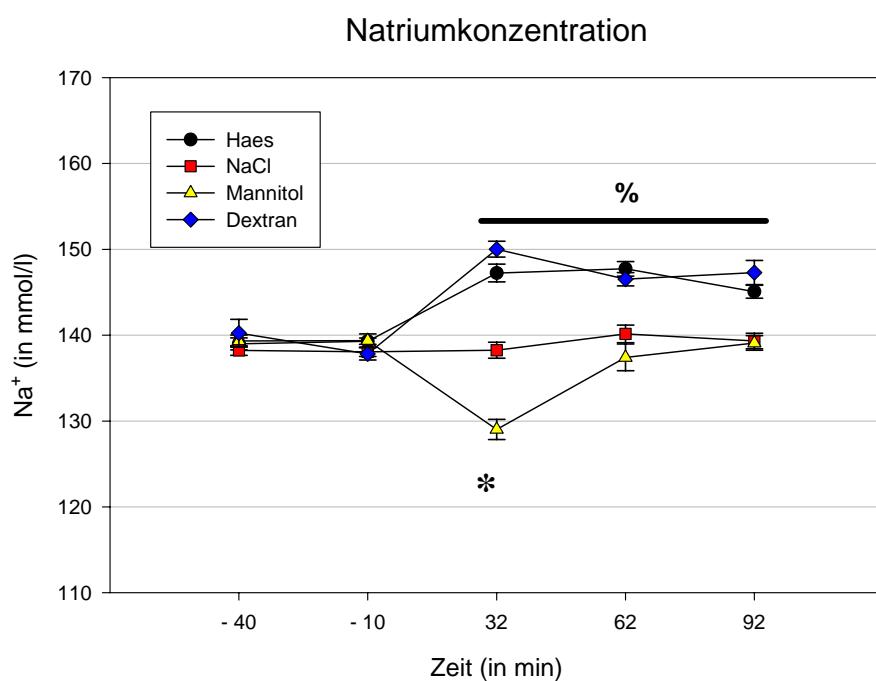


Abbildung 10: Natriumkonzentration (MW \pm SEM), % p < 0,05 Haes, Dextran vs. Mannitol, NaCl; * Mannitol 32 vs. Mannitol - 40

6.2 Chlorid

Auch hier zeigte sich in den beiden kolloidalen Versuchsgruppen (Dextran und Haes) ein signifikanter Anstieg analog zu dem der Na^+ -Konzentration nach Therapiebeginn. In der mit 0,9% NaCl- behandelten Gruppe ergab sich keine Veränderung, in der Mannitoltherapiegruppe nahm die Cl^- -Konzentration zuerst ab, um sich dann dem Ausgangswert wieder anzunähern.

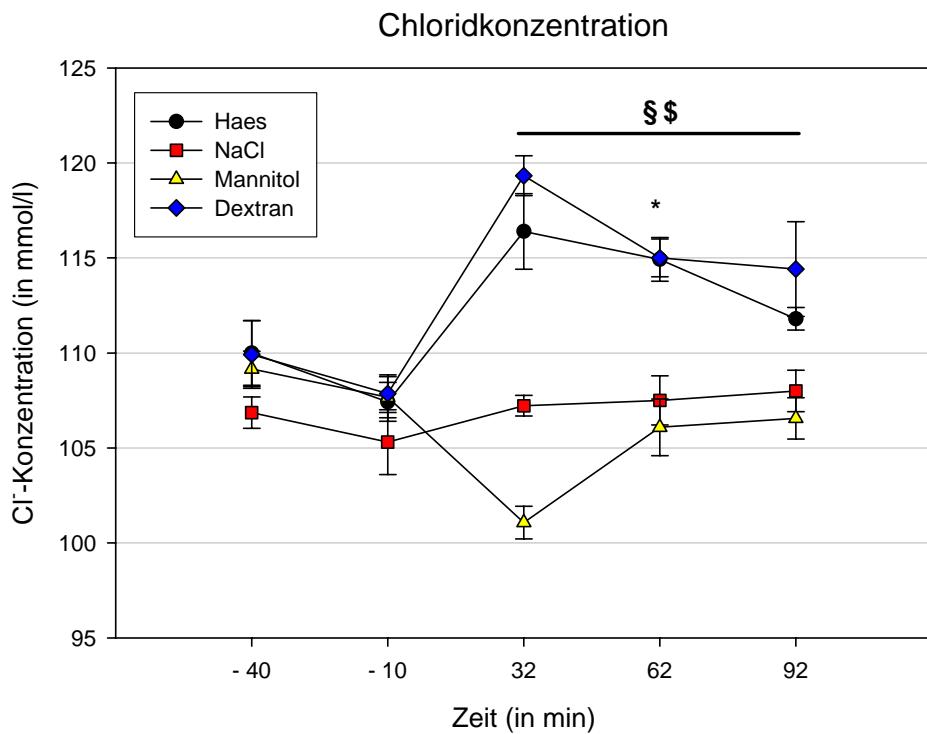


Abbildung 11: Chloridkonzentration (MW \pm SEM), * p < 0,05 Haes vs. NaCl; § p < 0,05 Dextran vs. NaCl, Mannitol; §§ p < 0,05 Haes vs. Mannitol

6.3 Kalium

Die vor SAB nicht signifikant unterschiedlichen Ausgangswerte blieben den Versuchsverlauf über konstant; nur der 32 min- Wert in der Mannitoltherapiegruppe war signifikant höher als der Wert in der mit Dextran- bzw. Haeslösung therapierten Gruppe.

Kalium [mmol/l]	Haes	NaCl	Mannit	Dextran
-40 min	4,07 \pm 0,16	4,14 \pm 0,11	4,01 \pm 0,11	4,12 \pm 0,09
-10 min	4,31 \pm 0,16	4,34 \pm 0,13	4,03 \pm 0,12	4,28 \pm 0,14
32 min	3,93 \pm 0,21	4,18 \pm 0,15	4,44 \pm 0,10*	3,97 \pm 0,08
62 min	4,05 \pm 0,16	4,29 \pm 0,17	4,40 \pm 0,17	4,10 \pm 0,12
92 min	4,13 \pm 0,19	4,35 \pm 0,14	4,61 \pm 0,12	4,27 \pm 0,09

Tabelle 7: Kaliumkonzentration (MW \pm SEM), * p < 0,05 Mannitol vs. Haes, Dextran

6.4 Kalzium

Die Kalziumkonzentration im Blut nahm in den mit Dextran und Haes therapierten Gruppen gegen Ende der Beobachtung zu, es ergaben sich aber keine signifikanten Gruppenunterschiede.

Kalzium [mmol/l]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-40 min	1,14±0,01	1,16±0,02	1,16±0,02	1,15±0,02
-10 min	1,17±0,02	1,23±0,03	1,17±0,02	1,14±0,01
32 min	1,17±0,03	1,19±0,05	1,18±0,02	1,20±0,01
62 min	1,22±0,02	1,24±0,03	1,20±0,02	1,20±0,02
92 min	1,21±0,01	1,24±0,33	1,21±0,02	1,29±0,05

Tabelle 8: Kalziumkonzentration (MW ± SEM)

7. Hämoglobin und Hämatokrit

7.1 Hämoglobin

Vor SAB unterschieden sich die Hämoglobinkonzentrationen der mit Dextran behandelten Tiere signifikant von denen, die mit Haes bzw. Mannitol therapiert wurden; zusätzlich er-

Hämoglobin [g/dl]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-10 min	14,98±0,21*§	15,77±0,20	15,14±0,29*	16,14±0,14
92 min	14,05±0,20&	14,51±0,44&	15,08±0,34	14,19±0,31&

Tabelle 9 : Hämoglobinkonzentration (MW ± SEM), * p < 0,05 Dextran vs. Haes, Mannitol, § p < 0,05 NaCl vs. Haes, & p < 0,05 Wert 92 min vs. Wert -10 min

gaben sich Unterschiede zwischen Tieren der Kontrollgruppe und der mit Haes therapierten Tiere; nach Beginn der Therapie waren keine Unterschiede zwischen den

Gruppen mehr festzustellen. In allen, außer der mannitoltherapierten Gruppe, waren die Hämoglobinwerte nach der Therapie signifikant niedriger im Vergleich zum Ausgangswert.

7.2 Hämatokrit

Der Hämatokritwert der Gruppe der mit Haeslösung behandelten Tiere lag vor Induktion der SAB signifikant niedriger als der der mit Dextran- und der mit NaCl-Lösung therapierten Gruppe. Diese Unterschiede waren nach Beginn der Therapie nicht mehr feststellbar. Der Hämatokritabfall nach Therapie im Vergleich zum Ausgangswert war ebenfalls -

wie oben - in den Gruppen mit Haes und Dextrantherapie sowie in der Kontrollgruppe signifikant.

Hämatokrit [%]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-10 min	42,48±0,67*§	45,12±0,56	43,38±0,83*	46,39±0,80
92 min	40,26±0,59&	42,09±1,14&	43,43±0,78	41,43±0,80&

Tabelle 10: Hämatokrit (MW ± SEM), * p < 0,05 Dextran vs. Haes, Mannitol, § p < 0,05 NaCl vs. Haes, & p < 0,05 Wert 92 min vs. Wert -10 min

8. Erythrozytenparameter

Nur bei MCH und MCHC ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Ausgangswerten und den Werten nach Therapie: In der Haestherapiegruppe stieg der Wert an, in der Mannitol- und Dextrantherapiegruppe fiel er ab.

Der MCHC- Wert reduzierte sich in der Haes- und Dextrantherapiegruppe, nicht hingegen in der mannitoltherapierten Gruppe und der Kontrollgruppe.

MCV[fl]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-10 min	55,37±0,87	56,40±1,14	57,52±0,71	54,78±0,82
92 min	56,84±0,74*	56,49±1,17	58,52±0,57*	54,68±0,86*

Tabelle 11: MCV (MW ± SEM) *p < 0,05 Haes, Mannitol, Dextran vs. Ausgangswert

MCH[pg]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-10 min	19,53±0,34	19,39±0,35	20,33±0,24	19,05±0,31
92 min	19,65±0,30*	19,40±0,39	20,28±0,12*	18,70±0,32*

Tabelle 12: MCH (MW ± SEM) *p < 0,05 Haes, Mannitol, Dextran vs. Ausgangswert

MCHC[g/dl]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
-10 min	35,27±0,15	34,95±0,19	35,28±0,23	34,74±0,18
92 min	34,93±0,15*	34,68±0,17	34,68±0,26	34,21±0,19*

Tabelle 13: MCHC (MW ± SEM) p < 0,05 Haes, Dextran vs. Ausgangswert

9. Osmolarität

Die Ausgangswerte der einzelnen Gruppen vor Therapie differierten nicht. Nach Infusion der Therapielösungen kam es in allen drei Gruppen zu einer deutlichen Erhöhung der Osmolarität, die bis 62 min signifikant war, bis 92 min nur in den hypertonushyperonkotischen Gruppen signifikant blieb. In der Gruppe der dextran-behandelten Tiere hielt die Erhöhung den gesamten Beobachtungszeitraum über an. In der Kontrollgruppe hingegen kam es zu keiner deutlichen Änderung, obwohl hier ein Abfall in bezug auf den Ausgangswert feststellbar war (32, 62 min). Am größten war der Anstieg in der Dextrantherapiegruppe, die Serumosmolarität lag zum Zeitpunkt 32 min signifikant über den Werten der Mannitol- und Haestherapiegruppe.

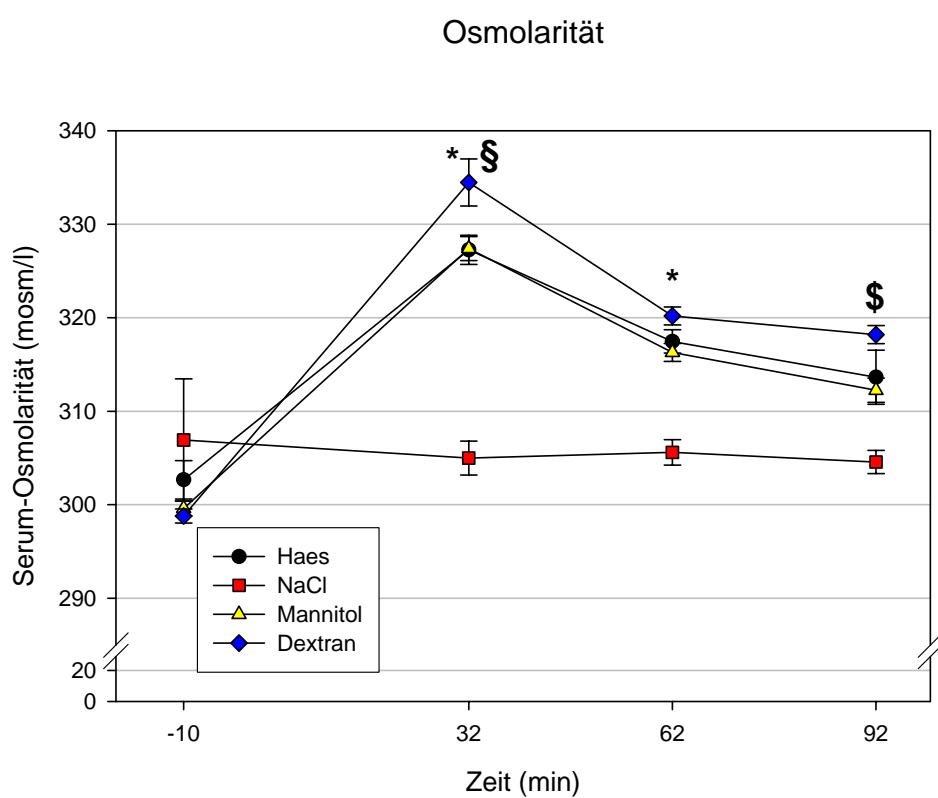


Abbildung 12: Osmolarität (MW \pm SEM), * $p < 0,05$ NaCl vs. Mannitol, Dextran, Haes; \$ $p < 0,05$ NaCl vs. Dextran, Haes; § $p < 0,05$ Dextran vs. Haes, Mannitol

10. Lokaler zerebraler Blutfluß

Bis zur Induktion der SAB unterschieden sich die LDF (Laser-Doppler-Fluss)-Werte der Therapiegruppen beidseits nicht. Nach Perforation des Gefäßes kam es auf beiden Seiten zu einem Abfall des LDF auf Werte um 20% (ipsilateral) – 40% (kontralateral) des Ausgangsniveaus; im weiteren Verlauf erholten sich die Werte langsam, allerdings erreichten sie in keiner Therapiegruppe wieder Ausgangsniveau. Weder ipsi- noch kontralateral ließen sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen erkennen.

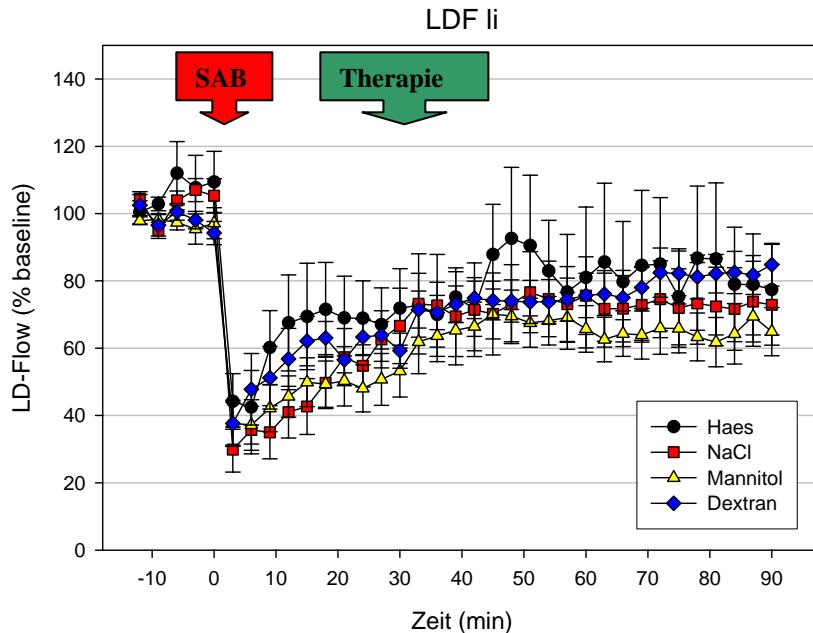


Abbildung 13: Laserdopplerfluß links (MW \pm SEM)

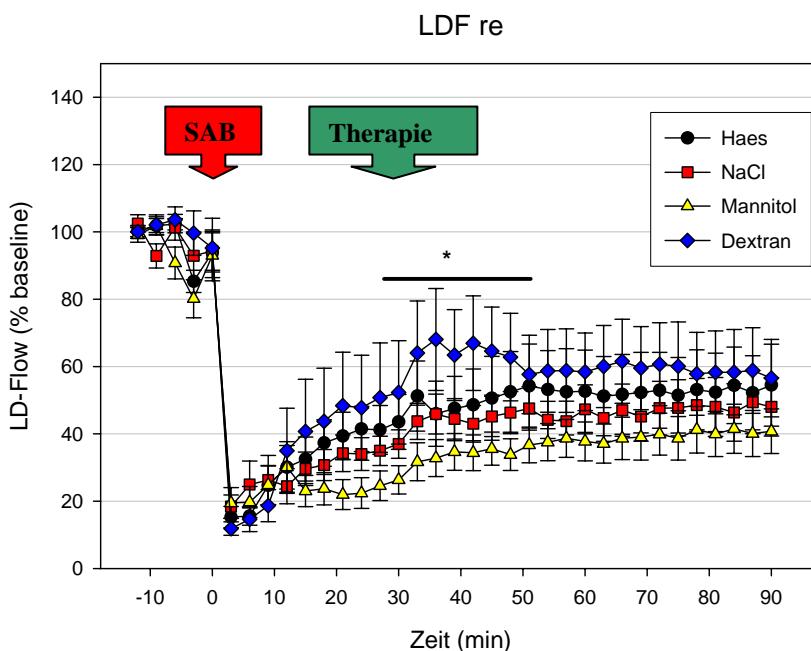


Abbildung 14: Laserdopplerfluß rechts (MW \pm SEM), * $p < 0,05$ Dextran vs. Ausgangswert 30 min

11. Intrakranieller Druck

Die Gruppen unterschieden sich vor SAB und vor Therapie nicht signifikant voneinander. Die Induktion der SAB führte zu einer Druckerhöhung von ca. 5 mmHg auf ca. 45 mmHg. Bis zum Zeitpunkt der Therapie sank der Mitteldruck in allen Gruppen auf ca. 35 mmHg. Die Infusion der Therapielösungen führte in allen drei Verumgruppen zu einer signifikanten Senkung des ICP gegenüber der Kontrollgruppe über den gesamten Beobachtungszeitraum. Der ICP wurde von ca. 30 mmHg auf anfangs bis unter 20 mmHg (Dextran), am Ende zumindest auf ca. 28 mmHg (vs. 36 mmHg NaCl) gesenkt, wobei Mannitol insbesondere im Zeitraum 60 – 90 min den Druck anhaltender zu senken schien als Dextran- und Haeslösung. Dieser Vorteil verschwand gegen Ende der Beobachtung jedoch wieder. In der Kontollgruppe blieb der Druck nach einem geringen Abfall in der ersten halben Stunde über den Beobachtungszeitraum konstant in einem pathologischen Bereich.

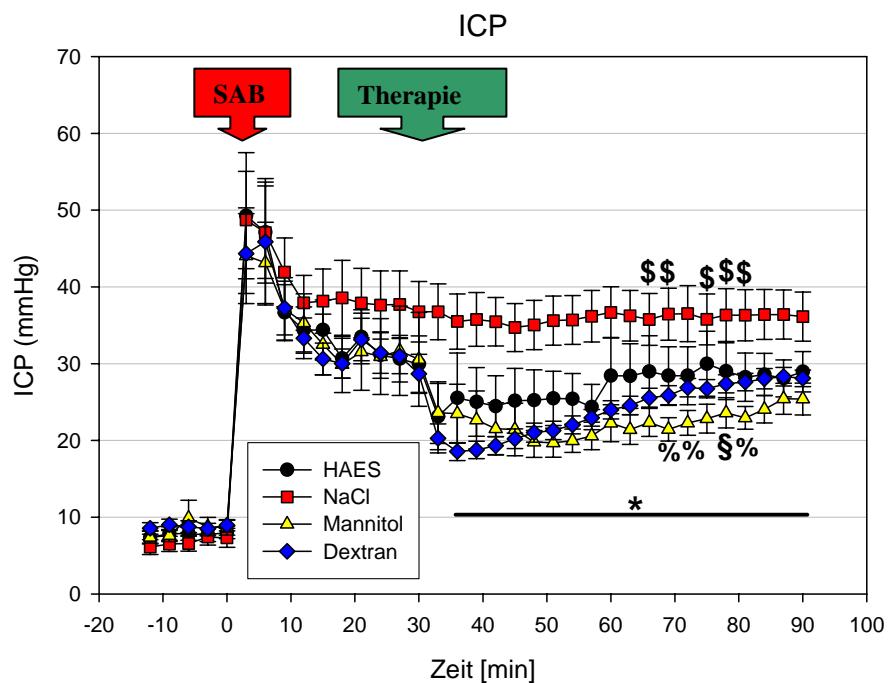


Abbildung 15: Intrakranieller Druck (MW \pm SEM), * $p < 0,05$ NaCl vs. Dextran, Haes, Mannitol; % $p < 0,05$ Haes vs. Mannitol; \$ $p < 0,05$ Dextran vs. Mannitol; § $p < 0,05$ Dextran vs. Haes

12. Mittlerer Arterieller Blutdruck

Zum Zeitpunkt der Blutung unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant voneinander. Nach Induktion der SAB kam es in allen Gruppen zu einem Anstieg des MAP, wobei es in der Haes- und der Dextrantherapiegruppe nach Infusion der Therapielösung jeweils zu einem kurzzeitigen (5 min) und mäßigen, jedoch in der Haestherapiegruppe signifikanten Blutdruckabfall kam.

Die Druckkurve der Mannitolbehandelten Gruppe wies einen mäßigen Anstieg nach SAB auf, im Gegensatz zu beiden vorgenannten Gruppen ist ein MAP-Abfall nach Infusion der Mannitollösung nicht zu erkennen. Diese Kurve liegt für ca. 35 min signifikant unter der Kurve der Kontrolltiere. Des Weiteren waren die Werte relativ konstant bis Ende der Beobachtung.

Die Drucke der Kontrollgruppe, sowie der Mannitol- und Haestherapiegruppe näherten sich gegen Ende der Beobachtung ihren Ausgangswerten, der MAP der Dextrangruppe lag etwas unterhalb.

Die Druckkurve der mit Dextranlösung therapierten Tiere war signifikant höher als die der anderen drei Gruppen vor und nach Induktion der SAB sowie nach Therapie bis ca. 75 min nach SAB.

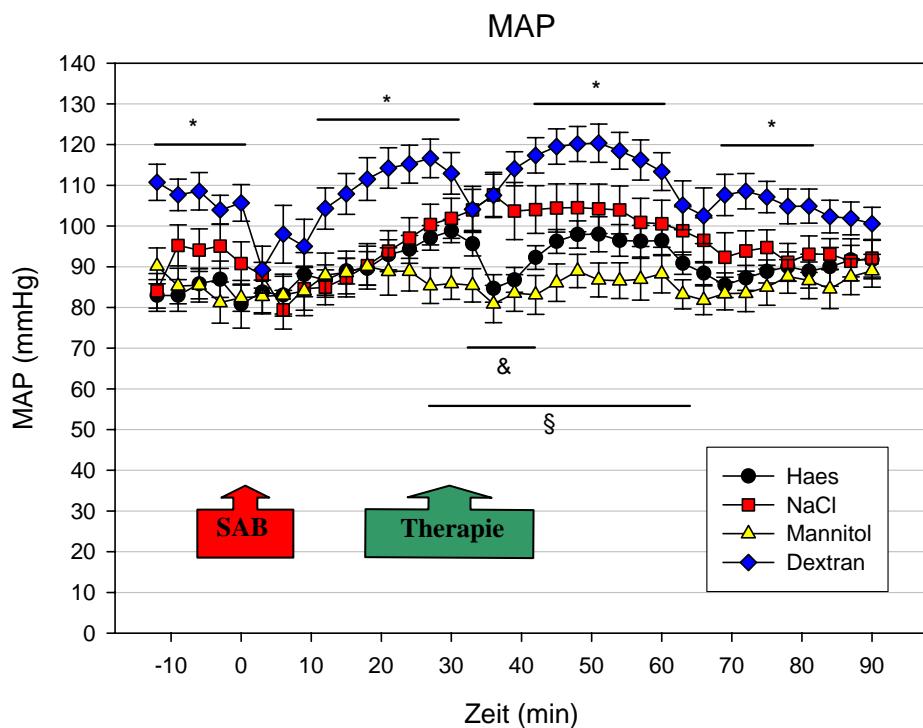


Abbildung 16: mittlerer arterieller Druck (MW \pm SEM); * $p < 0,05$ Dextran vs. Mannitol, NaCl, Haes; & $p < 0,05$ Haes vs. NaCl; § $p < 0,05$ Mannitol vs. NaCl

13. Zerebraler Perfusionsdruck

Die Unterschiede der Gruppen in Bezug auf MAP und ICP schlugen sich auch bei der Ermittlung des zerebralen Perfusionsdruckes (CPP) nieder. Die Gruppen der mannitol- und haesbehandelten Tiere sowie die Kontrollgruppe unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant. Mit Beginn der Therapie ergab sich ein signifikant verbesserter CPP in der Dextrantherapiegruppe gegenüber NaCl und Mannitol über 21 Minuten; von 27 min – 39 min war der CPP der dextranbehandelten Tiere immer gegen Mannitol signifikant erhöht; ab 69 min bis 75 min wieder gegen alle drei Gruppen, bis zum Ende der Beobachtung ergeben sich dann keine signifikanten Unterschiede mehr.

Betrachtet man die CPP- Werte zu unterschiedlichen Zeitpunkten innerhalb der Gruppen, stellen sich nur in der Haes- und anhaltender in der Dextrantherapiegruppe signifikante Steigerungen nach Therapie dar: Haes erhöhte zu den Zeiten 42 und 45 min den CPP signifikant gegenüber dem Wert zum Zeitpunkt 30 min, Dextran zu den Zeiten 42, 45, 48 und 51 min. Die Infusion der Haes- und Dextranlösung bewirkte also - anders als Mannitollösung - eine signifikante zerebrale Perfusionsdruckerhöhung, wobei Dextran zu einer länger andauernden Erhöhung führte als Haes.

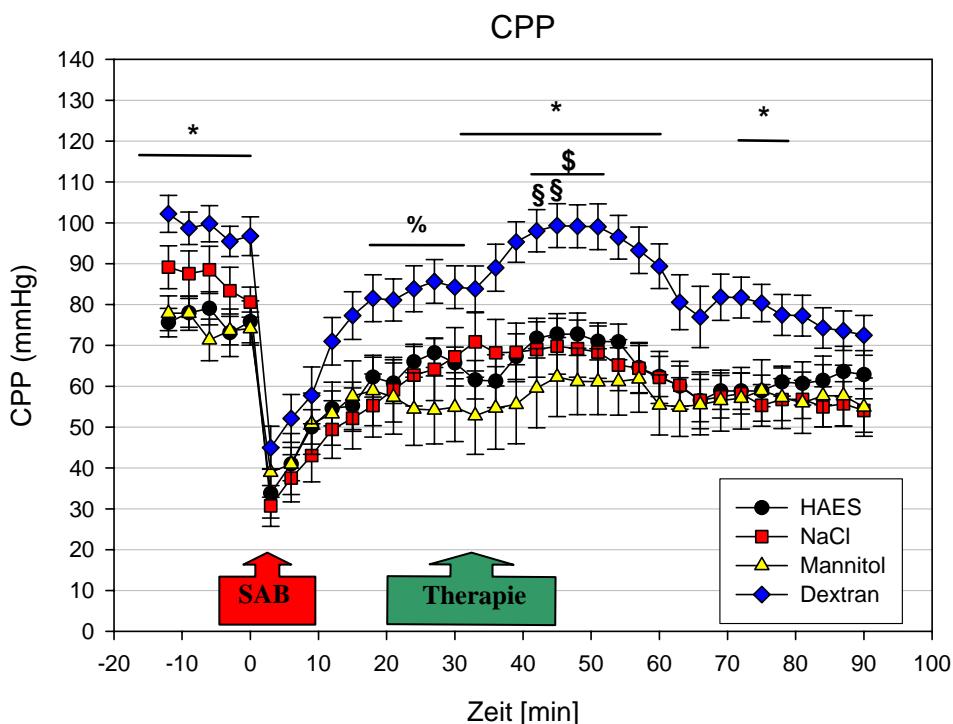


Abbildung 17: zerebraler Perfusionsdruck (MW \pm SEM), * $p < 0,05$ Dextan vs. Haes, NaCl, Mannitol; % $p < 0,05$ Dextran vs. Mannitol; \$ $p < 0,05$ Dextran vs. Ausgangswert 30 min; §§ $p < 0,05$ Haes vs. Ausgangswert 30 min

14. Temperatur

Die subtemporal und rektal gemessenen Temperaturen aller Gruppen unterschieden sich im Verlauf der Versuche nicht. Die Temperaturen schwankten zwischen 36,5 °C und 37,5°C.

15. Letalität

Von 60 Versuchstieren starben insgesamt 37 (61,7%) vor Ablauf der siebentägigen post-operativen Beobachtungszeit. Diese Tiere verteilten sich wie folgt auf die Gruppen: In der Kontrollgruppe (0,9 % NaCl) starben 9 von 15 (60%), in der Dextrantherapiegruppe 6 von 15 (40%), in der Haestherapiegruppe 11 von 15 (73%) und in der Mannitoltherapiegruppe 11 von 15 (73%).

Im χ^2 -Test ergeben sich keine signifikanten ($p=0,189$) Unterschiede zwischen den Gruppen.

Betrachtet man die Überlebenskurven nach Kaplan-Meier, so ergibt sich auch hier kein signifikanter Vorteil für eine der Versuchsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,168$). Es fanden sich jedoch Unterschiede in Bezug auf den Zeitpunkt des Versterbens: In der Dextrantherapiegruppe war v.a. die Frühletalität geringer als in den drei anderen Gruppen; hinsichtlich der mittleren Überlebenszeiten in Tagen ergab sich ein Trend zu Gunsten einer längeren Überlebensdauer der mit Dextran behandelten Tiere:

NaCl:	$4,04 \pm 0,83$	Haes:	$3,11 \pm 0,74$
Dextran:	$5,67 \pm 0,63$	Mannitol:	$3,57 \pm 0,75$

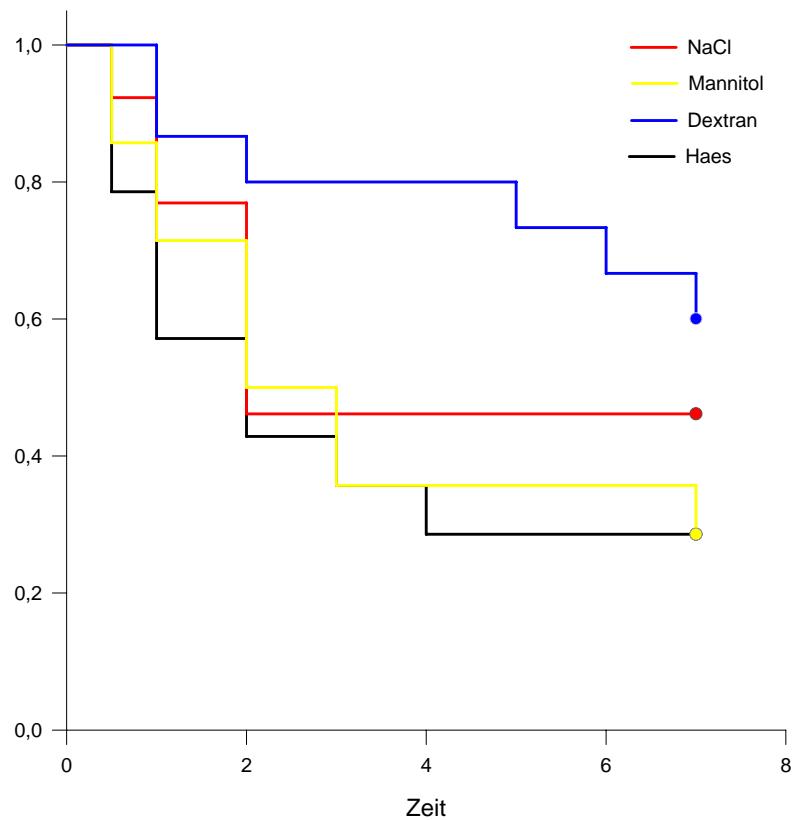


Abbildung 18: Überlebensanalyse nach Kaplan- Meier

Um andere als zerebrale Ursachen für den Tod auszuschließen, wurden die verstorbenen Tiere obduziert; dabei zeigten sich erheblich geschwollene Gehirne mit großen basalen Blutansammlungen. Die übrigen Organe wiesen keine wesentlichen pathologischen Besonderheiten auf.

16. Quantitative Histologie

Die quantitative histologische Auswertung der Gehirne der nach 7 Tagen perfundierten Ratten ergab signifikante Unterschiede im Kaudoputamen links. Dort fanden sich signifikant mehr Neurone in der dextranbehandelten Gruppe als in der Kontrollgruppe (Haes: $15,00 \pm 2,12$; NaCl: $11,66 \pm 1,63$; Mannitol: $20,50 \pm 4,13$; Dextran: $22,33 \pm 2,58$) erhalten. Daneben gab es in der motorischen Region M2 links eine signifikant größere Zahl an intakten Neuronen in der Dextrantherapiegruppe als in der Mannitoltherapiegruppe (Haes: $5,50 \pm 1,44$; NaCl: $5,33 \pm 1,23$; Mannitol: $2,75 \pm 0,75$; Dextran: $9,22 \pm 1,12$). Außerdem überlebten in der Region M2 rechts signifikant mehr Neurone in der Dextrantherapiegruppe als in allen anderen Gruppen (Haes: $4,25 \pm 0,63$; NaCl: $4,00 \pm 1,18$; Mannitol: $2,75 \pm 0,85$; Dextran: $9,00 \pm 0,93$).

Betrachtet man die Gesamtanzahl der Neuronen in M1 und M2 auf beiden Seiten, fanden sich links in der dextrantherapierten Gruppe signifikant mehr Neuronen intakt als in den anderen drei Gruppen, rechts ebenfalls in der mit Dextran behandelten Gruppe mehr als in der Mannitoltherapiegruppe und der Kontrollgruppe (s. Abb. 20 und 21). Keine Unterschiede ergaben sich im gesamten Hippokampus und dem Kleinhirn.

Bei der mikroskopischen Betrachtung der Gehirnschnitte stellte sich heraus, dass es bei einem Tier in der Dextrangruppe zu einem einseitigen Mediainfarkt rechts nach SAB gekommen war. Dieser führte bei diesem Tier zum Ausschluss der gezählten Neuronen rechts von der Auswertung.

Motorcortex gesamt rechts

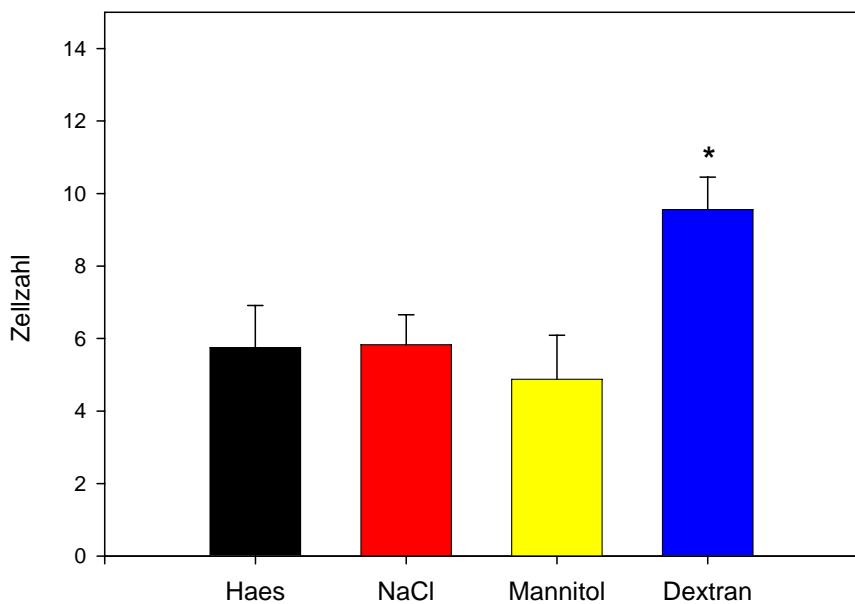


Abbildung 19: Zellzahlen Motorkortex gesamt rechts (MW \pm SEM); * $p < 0,05$
Dextran vs. NaCl, Mannitol

Motorkortex gesamt links

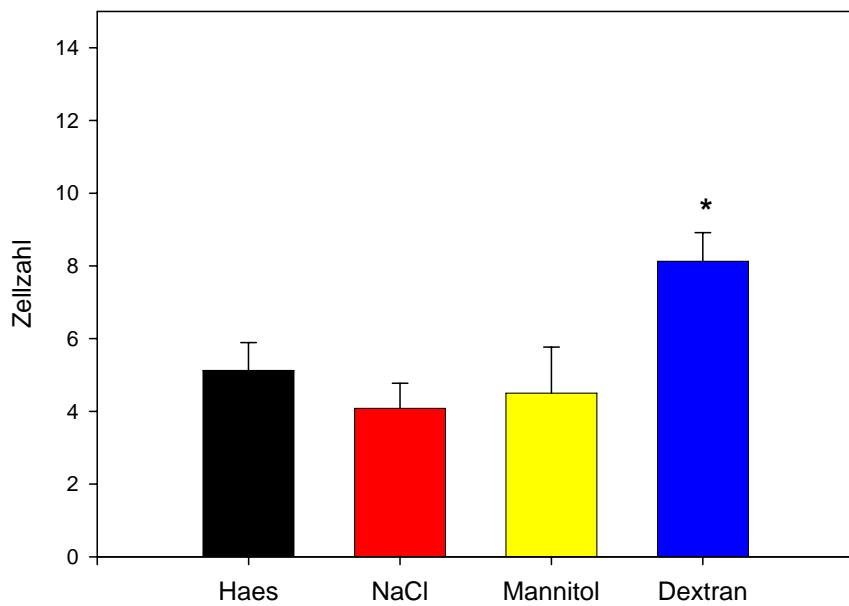


Abbildung 20: Zellzahlen Motorkortex gesamt links (MW \pm SEM), * $p < 0,05$
Dextran vs. Haes, NaCl, Mannitol

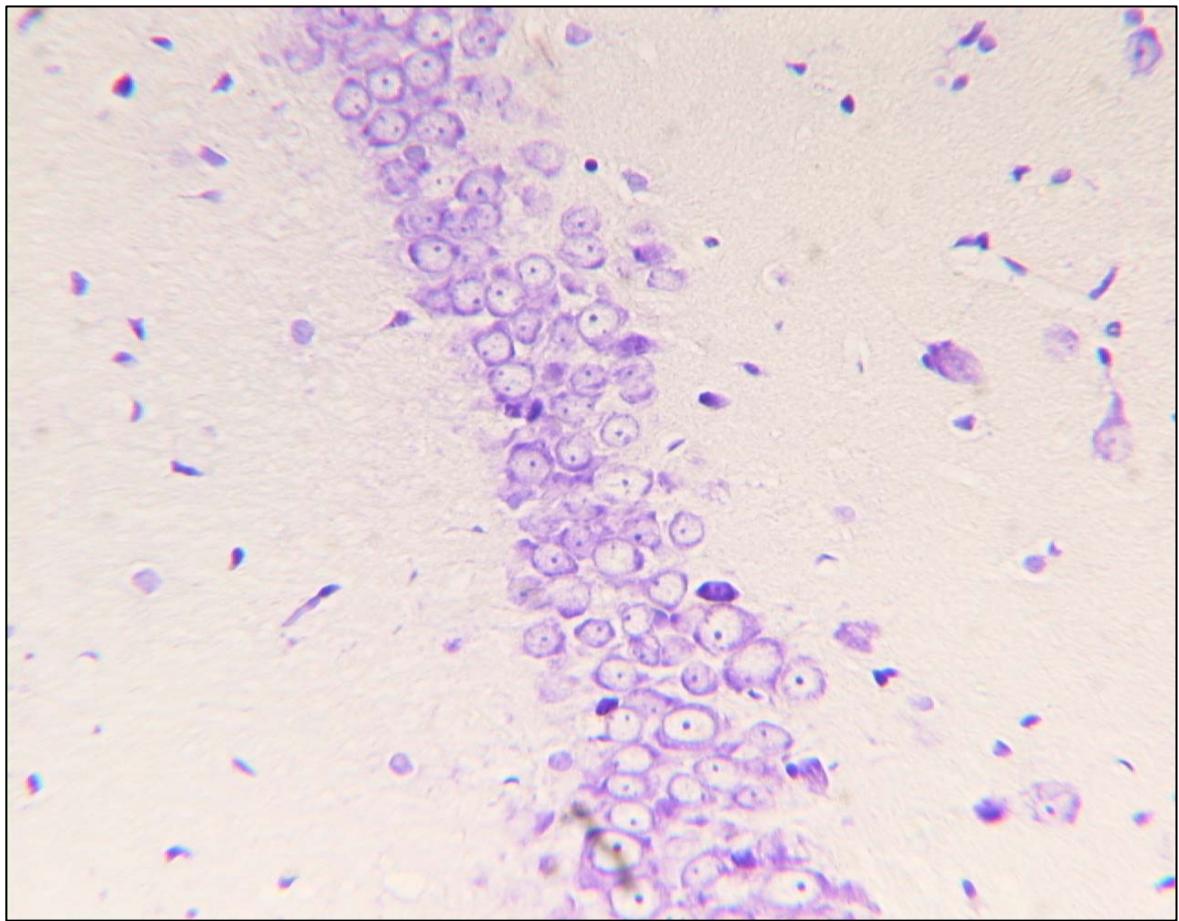


Abbildung 21: Mikroskopische Aufnahme aus dem Hippokampus rechts (CA2) eines Versuchstieres.

In der Mitte der Abbildung sind überlebende Neurone mit Nukleolus zu erkennen, rechts und links ein weitgehend neuronenfreies Neuropil.

17. Quantifizierung der funktionellen neurologischen Defizite

17.1 Quantifizierung des globalen neurologischen Defizits

Es ergaben sich zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen; lediglich im Vergleich innerhalb der Gruppen zeigten sich Unterschiede: in der Dextran- und NaCl-Gruppe war der 7 Tage-Wert signifikant niedriger als der 1 Tage-Wert, d.h. hier erfolgte eine signifikante Besserung des neurologischen Defizits. Die Punktwerte der anderen Tiere nehmen zwar ebenfalls ab, allerdings nicht signifikant.

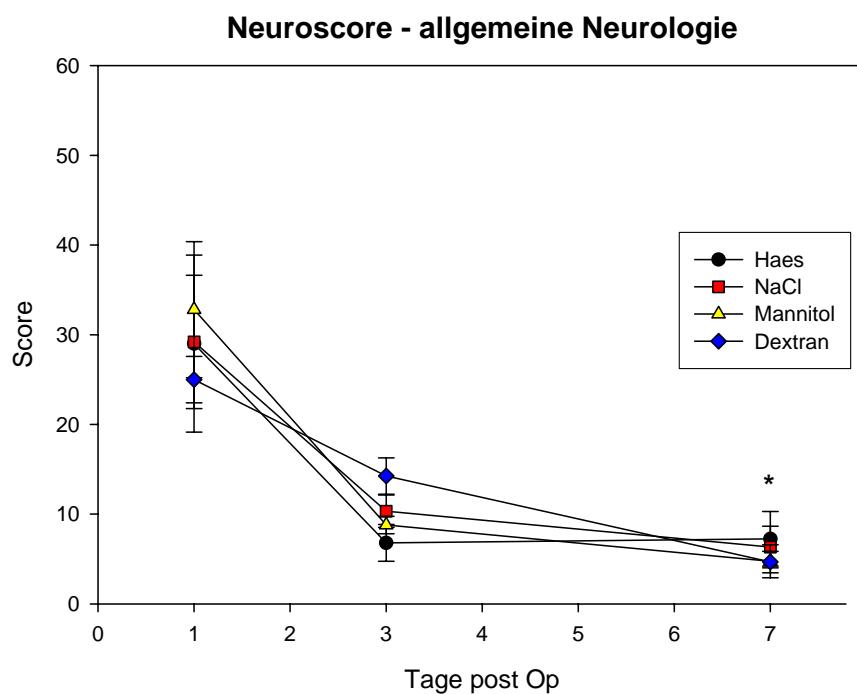


Abbildung 22: allgemeiner Neuroscore (MW \pm SEM), * $p < 0,05$ Dextran 7, NaCl 7 vs. Dextran 1, NaCl 1

17.2 Neuroscore zur Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits

Der Neuroscore zur Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits zeigte zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. In allen Gruppen nahm der erreichte Punktewert im Verlauf der Beobachtungszeit zu; diese Zunahme und damit die angezeigte Erholung war allerdings nur zum Zeitpunkt 7 Tage in der Dextrantherapiegruppe signifikant.

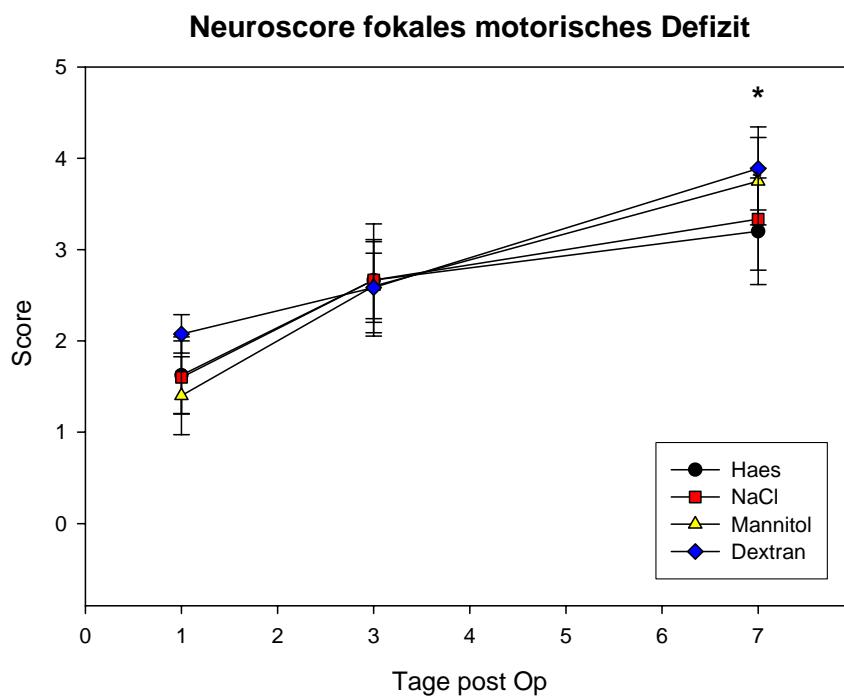


Abbildung 23: Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits (MW \pm SEM), * $p < 0,05$ Dextran 7 vs. Dextran 1

17.3 Prehensile traction (Seilhängeversuch)

Die im Seilhängeversuch erreichten Zeiten der einzelnen Gruppen unterschieden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant. Sie nahmen im Verlauf der Beobachtung in allen Gruppen zu; signifikant war diese Zunahme nur in der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt 7 Tage und in der Dextrantherapiegruppe zum Zeitpunkt 3 und 7 Tage, jeweils im Vergleich zur erreichten Zeit zum Zeitpunkt 1 Tag nach SAB.

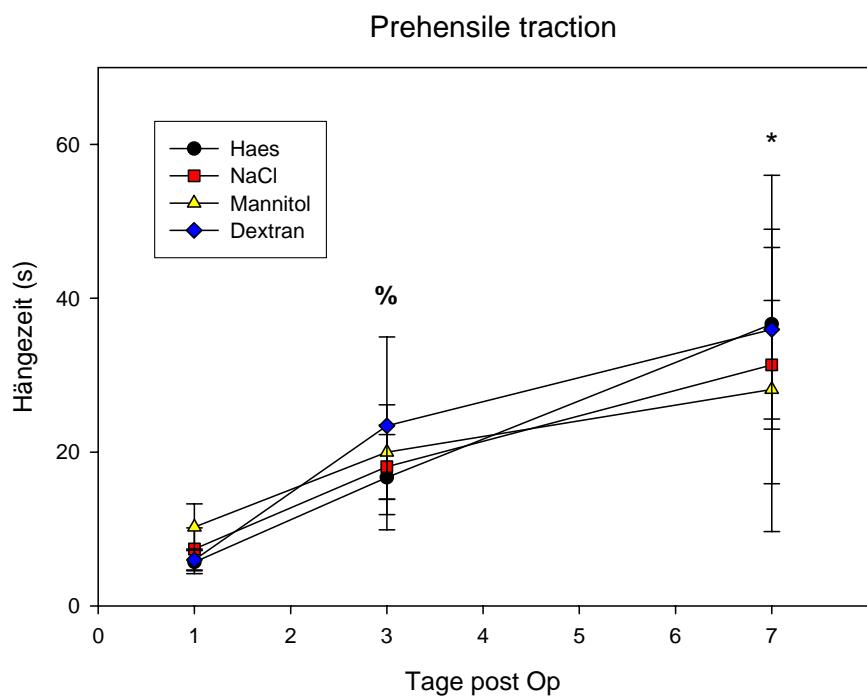


Abbildung 24: Seilhängeversuch (MW \pm SEM), * $p < 0,05$ Dextran 7, NaCl 7 vs. Dextran 1, NaCl 1; % $p < 0,05$ Dextran 3 vs. Dextran 1

18. Gewicht

Die dextranbehandelten Tiere hatten am Tag der Induktion der SAB signifikant weniger Gewicht als die haesbehandelten und die Tiere der Kontrollgruppe. Alle Tiere verloren nach der SAB an Gewicht; nach ca. ein bis zwei Tagen setzte die Erholung ein, d.h. die Tiere nahmen wieder an Gewicht zu, wobei diese Zunahme an Gewicht in den Gruppen dermannitol- und haesbehandelten Tiere sowie in der Kontrollgruppe früher einsetzte als in der Gruppe der mit Dextranlösung behandelten Tiere. Am Tag 7 konnte ein signifikant geringeres Gewicht der Tiere der Dextrantherapiegruppe gegenüber den Tieren der Mannitol- sowie der Haestherapiegruppe festgestellt werden.

Gewicht [g]	Haes	NaCl	Mannitol	Dextran
Vor Op	303,9±9,3	314,3±10,1	291,4±5,8	272,3±17,7*\$
Tag 1	272,6±8,7	289,9±10,3	264,2±7,9	247,7±8,3\$
Tag 3	281,4±8,8	281,7±7,6	288,8±16,9	233,3±10,3*\$
Tag 7	304,8±15,0	280,2±14,0	315,5±10,3	252,2±9,9*§

Tabelle 14: Gewichtsentwicklung (MW ± SEM) * p < 0,05 Haes vs. Dextran, \$ p < 0,05 Dextran vs. NaCl, § p < 0,05 Mannitol vs. Dextran

D. Diskussion

Diskussion der Methoden

1. Intraluminales Fadenmodell

Für die vorliegenden Experimente wurde das Fadenmodell mit Punktions einer intrakraniellen Arterie nach Bederson⁽¹¹⁾ gewählt, welches ähnlich auch von Veelken⁽¹⁷⁵⁾ nahezu zeitgleich publiziert wurde. Es handelt sich um eine Abwandlung des von Koizumi⁽⁸⁷⁾ erstmals beschriebenen Modells zur Induktion einer fokalen Ischämie bei der Ratte. Mit dem von Bederson modifizierten Modell ist es möglich, die Ruptur eines Aneurysmas der Basisarterien des Gehirns unter kontrollierten Bedingungen zu simulieren und die wesentlichen pathophysiologischen Mechanismen nach einer akuten SAB - ICP-Anstieg und CBF-Abfall - adäquat abzubilden.

Insgesamt existieren drei Haupttechniken, experimentell eine SAB zu induzieren:

- Punktion einer Arterie mit Austritt von Blut in den Subarachnoidalraum^(11,175,1,74,127)
- Chirurgische Darstellung einer Arterie und Verteilung von autologem Blut in der Umgebung ohne eigentliche Verletzung eines Gefäßes⁽⁷⁶⁾
- Injektion von Blut in den Subarachnoidalraum, meist in die Cisterna magna^(32,67)

Der Vorteil der verbreiteten Injektion von Blut in eine basale Zisterne liegt in der gut reproduzierbaren Menge des Blutes und damit der Hämatomgröße, der konstanten Lokalisation und der geringen Letalität (ca. 25% bei druckgesteuerter Injektion in die basalen Zisternen und nahezu 0% bei volumengesteuerter Injektion) des Modells⁽¹³⁰⁾. Mit diesem Modell lässt sich gut reproduzierbar ein Vasospasmus im Bereich der A. basilaris induzieren, weswegen es vorwiegend für Studien zur Untersuchung des Vasospasmus verwendet wird⁽¹⁸²⁾

Das Fadenmodell bietet im Gegensatz zur offenen Punktions der Arterien^(1,74) den Vorteil, dass weder der Schädelknochen noch die Dura verletzt bzw. eröffnet werden müssen.

Nachteile entstehen daraus, dass das Hämatomvolumen lediglich annäherungsweise kontrolliert werden kann, die Okklusion der A. carotis interna eine Ischämie induzieren kann

und dass die hohe posthämorrhagische Letalität von ca. 50%, die der von Patienten mit schwerer SAB entspricht^(17,78), die Untersuchung von Langzeitfolgen wie Vasospasmus erschwert. Durch die Auswahl des Fadens, mit dem die Perforation des Gefäßes durchgeführt wird, ist es jedoch möglich das Hämatomvolumen einzuschränken: Schwartz et al.⁽¹⁴⁷⁾ verglichen Hämatomvolumina, welche durch Punktionsmethoden mittels monofilem 3.0 oder 4.0 Faden induziert wurden, mit der Injektionsmethode (0,3 ml Blut in 30 s). Dabei war der ICP ab 10 min bis 60 min nach SAB in der 4.0 Gruppe höher als in der Injektions- oder 3.0-Gruppe. Die Größe der Blutung war in der 3.0-Gruppe vergleichbar mit der der Injektionsgruppe.

Die Gefahr einer fokalen Ischämie im Mediagebiet ist mit der intraluminalen Fadenmethode relativ gering, weil die Okklusionszeit, in der die A. carotis interna mittels Aneurysmaclip verschlossen ist, mit unter 5 min weit von der 30 min Marke entfernt ist, die als Infarktschwelle genannt wird⁽¹⁰²⁾. Darüberhinaus verfügt die Ratte über eine sehr gute Kollateralisierung, so dass in den Versuchen mittels LDF nur ein geringer Abfall des Blutflusses beim Setzen des Clips festgestellt werden konnte und das auch nur über kurze Zeit, innerhalb der sich der lokale CBF noch vor Entfernung des Clips wieder normalisierte.

Gegenüber den „offenen“ Verfahren, bei denen eine Eröffnung des Schädels nötig ist, besticht das Fadenmodell mit der Intaktheit des knöchernen Schädels und somit durch die Möglichkeit, den entstehenden ICP-Anstieg, CBF-Abfall und das resultierende Hirnödem mit ihren gegenseitigen Wechselwirkungen ohne den Einfluss einer Drucksenkung durch Trepanationen untersuchen zu können.

2. Laser-Doppler-Messung der lokalen Hirndurchblutung

Die Messung des lokalen zerebralen Blutflusses mittels Laser-Doppler-Fluxmetrie ist ein wesentlicher Bestandteil des experimentellen Versuchsaufbaus, welche einerseits die Untersuchung der Therapieauswirkungen auf die lokale zerebrale Durchblutung (rCBF) nach Induktion der Subarachnoidalblutung ermöglicht; andererseits konnte so verifiziert werden, ob tatsächlich eine SAB induziert wurde; dies konnte durch den beidseitigen Abfall des LDF-Wertes sichergestellt werden^(142,141).

Die Laser-Doppler-Fluxmetrie, die eine gute Korrelation mit dem lokalen zerebralen Blutfluss aufweist^(154,35,43), erlaubt den Nachweis relativer Änderungen der lokalen zerebralen

Perfusion kontinuierlich und ohne zeitliche Verzögerung. Nachteil dieser Methode ist, dass die lokale Mikrozirkulation nur in einem Gewebevolumen von 1 mm³ erfasst wird, so dass eine Neupositionierung der Sonden während des Experiments die Messergebnisse erheblich verfälschen würde. Als Ort der Blutflusskontrolle wurde daher ein konstanter und repräsentativer Abschnitt des Mediastromgebiets ausgewählt und bei der Positionierung der Sonden darauf geachtet, dass keine größeren Duragefäße in der unmittelbaren Nähe der Sonden verliefen. Die Lokalisation der Sonde wurde so gewählt, dass ein relativer Blutfluss von mindestens 250 Fluxeinheiten (max. 1000 AI) gemessen wurde. Verfälschungen durch externes Licht, beispielsweise durch die Wärmelampe oder die Mikroskopbeleuchtung, wurden durch Abdeckung der Sonden mit speziell zurechtgeschnittenen lichtundurchlässigen Abschirmtüchern verhindert. Wesentlich ist, dass alle Tiere in einem stereotaktischen Halter und die Sonden in entsprechenden Haltevorrichtungen absolut positionsstabil plaziert wurden. In Anbetracht dieser Maßnahmen konnten bei allen Tieren valide Messungen ohne gravierende Korrekturmaßnahmen erzielt werden – eine detaillierte Analyse des Nutzens der Laser-Doppler-Fluxmetrie bei zerebralen Läsionen wurde von unserer Arbeitsgruppe bereits vor einigen Jahren veröffentlicht⁽¹⁴²⁾.

3. ICP- Messung

Die angewandte Methode zur Messung des intraparenchymatösen Hirndrucks wird zum Monitoring beim Menschen eingesetzt. Der Implantationsort war so gewählt, dass die geringen Schäden, die die Intraparenchymsonde im Gehirn verursachte, nicht in den in histologisch ausgezählten Regionen lagen und diese Analyse beeinflussten. Vorteil gegenüber Messmethoden mit Implantation von Kathetern mit angeschlossenen Druckaufnehmern in der Cisterna magna^(11,9) und den damit verbundenen Problemen hinsichtlich Liquorverlust und dem Umstand einer infratentoriellen Hirndruckmessung ist die einfache Handhabung und die Robustheit dieser Sonde und Messmethode. Mit diesem Aufbau war es möglich, zusätzlich zum CBF-Abfall, den Zeitpunkt der SAB durch ICP-Anstieg zu kontrollieren und den Druckverlauf nach Therapieinfusion kontinuierlich zu verfolgen.

4. Blutdruck-, Blutgas, und Serumkontrollmessungen

Alle Versuche wurden unter kombinierter Halothan- und Lachgasnarkose durchgeführt. Lachgas (N_2O) wirkt vasodilatatorisch, Halothan erhöht ebenfalls den CBF und beeinflusst die zerebrale Autoregulation⁽⁶⁵⁾. Eine länger dauernde Halothannarkose mit Konzentrationen ab 2% verringert den Blutdruck und kann einen reduzierenden Effekt auf das Hirnödem nach fokaler zerebraler Ischämie durch Verminderung der postischämischen Hyperämie haben⁽²²⁾. Als Konsequenz wurden während der Versuche der arterielle Blutdruck kontinuierlich kontrolliert und aufgezeichnet und die Narkose mit einer Halothankonzentration von 0,8% unterhalten⁽¹⁸⁵⁾.

Durch die regelmäßige Kontrolle der Blutgase war es möglich, z.B. insuffiziente Beatmung zu erkennen und die Beatmungsparameter der metabolischen Situation der Tiere anzupassen, um konstante Versuchsbedingungen zu ermöglichen.

Daneben wurde die Glukosekonzentration bestimmt und durch generelle Nüchternheit der Tiere zu Versuchsbeginn konstant gehalten, da bekannt ist, dass eine erhöhte Blutglucosekonzentration bei zerebraler Ischämie eine Vergrößerung des Infarktgebietes durch einen vermehrten Anfall von Laktat und damit der lokalen Azidose mit wiederum einer konsekutiv erhöhten Konzentration freier Radikale zur Folge haben kann⁽⁴⁰⁾. Die Ergebnisse zeigen, dass es bis auf den 62 min – Wert in der Dextrangruppe gelungen ist, die Blutglukosekonzentration konstant zu halten. Da die Laktatwerte der verschiedenen Gruppen nicht signifikant voneinander differieren, ist es unwahrscheinlich, dass die Ergebnisse der Versuche durch diesen nur zu einem Messzeitpunkt bestehenden Unterschied der Glukosekonzentration nennenswert beeinflusst wurden, besonders, da der Unterschied der Glukosekonzentration zur Kontrollgruppe nicht signifikant ist.

Daneben wurde die Elektrolytkonzentration und Osmolarität ebenfalls in regelmäßigen Abständen kontrolliert, um die Auswirkungen der Therapielösungen erkennen zu können.

5. Neuroscore

Um die neuroprotektiven Wirkungen der Substanzen nicht nur anhand der morphologischen Veränderungen beurteilen zu können, wurde die neurologische Erholung der Tiere an den Tagen 1, 3 und 7 nach Operation geprüft. Die Tage der Erhebung wurden nach Erfahrungen aus Vorversuchen gewählt, die zeigten, dass die Tiere bei zu häufiger Erhebung

des Neuroscores nicht mehr die volle Leistung entfalteten und eine virtuelle sekundäre Verschlechterung des Scores eintrat. Dabei kamen zwei Testreihen zum Einsatz, ein die wesentlichen neurologischen Qualitäten umfassender („allgemeiner Neuroscore“) und ein Test, der speziell kortikale Funktionen im Perfusionsbereich der A. cerebri media bewertet.

Der allgemeine Test ist einem Score nachempfunden, der ursprünglich für die Untersuchung von Ratten nach Herzstillstand mit resultierender globaler Mangeldurchblutung des Gehirns entwickelt wurde⁽⁷⁹⁾. Dabei wurden vegetative und höhere kognitive Funktionen getestet. Der angewandte Score zeichnet sich durch seine einfache Erhebung und die klare Unterscheidbarkeit der Kriterien aus, so dass die Möglichkeiten der unbewussten Manipulation durch den Untersucher minimiert wurden.

Der spezielle Test zur Quantifizierung des lateralisierten, auf einer fokalen Läsion beruhenden Defizits wurde ursprünglich von Bederson⁽¹²⁾ zur Evaluation der neurologischen Schädigung bei Ratten nach Okklusion der A. cerebri media entwickelt; dabei korreliert die Größe des Infarktes mit dem neurologischen Defizit des Tieres^(12,186). In einer Vorstudie konnte gezeigt werden, dass das hier verwendete Modell der SAB zu einer Betonung des fokalen motorischen Defizits auf der Seite der Blutung führt, weswegen eine Evaluation desselben sinnvoll erschien; Dieser Score wurde von mehreren Arbeitsgruppen überarbeitet und ergänzt^(102,111) und wurde in der in Teil B beschriebenen Version eingesetzt.

6. Quantitative Histologische Auswertung

Die Anzahl intakter Neurone wurde im Hippokampus, Kaudoputamen, Motorkortex und Kleinhirn jeweils beidseits bestimmt. Die Hirnschnitte wurden mittels Hirnatlas den einzelnen Lokalisationen zugeordnet und die vitalen Zellen nach etablierten und standardisierten morphologischen Kriterien ausgezählt^(5,79,10,48).

Durch konsequente Verblindung der Proben wurde eine Beeinflussung des Ergebnisses durch den auswertenden Studienteilnehmer vermieden.

Diskussion der Ergebnisse

1. Blutgase, pH-Wert, Laktat und Basenüberschuss

Durch die kontrollierte mechanische Beatmung der Tiere konnten konstante Versuchsbedingungen geschaffen werden; damit ist sie der häufig in Tierexperimenten verwendeten Spontanatmung überlegen⁽¹⁸⁵⁾. Die arteriellen Blutgase konnten in allen Versuchen in physiologischen Grenzen gehalten werden. Es kam in allen Gruppen im Verlauf des Versuches zu einem leichten pCO₂-Anstieg und pO₂-Abfall, so dass diese Entwicklung wahrscheinlicher auf eine generell sich entwickelnde diskrete Gasaustauschstörung in Folge der prolongierten Versuchsdauer zurückzuführen sein dürfte, als auf die Wirkungen einzelner Therapielösungen.

Der pH-Wert sank in allen Gruppen im Versuchsverlauf, in der Dextrantherapiegruppe am stärksten und signifikant gegenüber der Kontrollgruppe. Die pH-Abnahme könnte zum einen auf die Blutung und die im Ischämiegebiet entstehenden sauren Metabolite (v.a. Laktat) zurückzuführen sein, zum anderen wurden in den Therapiegruppen, v.a. in der mit Dextranlösung behandelten Gruppe durch die Lösungen selbst saure Valenzen zugeführt, vgl. pH-Werte der Lösungen (Rescue FlowTM: 5,42; HyperHAES[®]: 5,60; Mannitol: 6,34).

Der Laktatwert war zu allen Zeitpunkten in allen Gruppen innerhalb physiologischer Grenzen und nahm in allen Gruppen zum Ende des Versuches hin ab, so dass die sich entwickelnde diskrete Azidose am ehesten auf die applizierten Lösungen zurückzuführen ist.

Der Verlauf des „base excess“ stützt die These der sauren Lösungen. Dieser entwickelte sich in allen Gruppen nach Infusion der Therapielösungen hin zu stärker negativen Werten und erholte sich bis Ende der Versuche wieder auf Ausgangsniveau. Ausnahme war die Dextrangruppe, in der die sauerste Lösung infundiert wurde.

2. Glukose

Nach Kannel et al.⁽⁷⁵⁾ und Pulsinelli et al.⁽¹³¹⁾ wird beim ischämischen Schlaganfall das Ausmaß des Infarkts sowie die resultierende funktionelle Beeinträchtigung durch Hyperglykämie erheblich agraviert. Im Rahmen des durchgeführten engmaschigen Gluko-

semonitorings ergaben sich bis auf einen Zeitpunkt (62 min: Glukosewerte Dextrantherapiegruppe höher als die der Mannitol- und Haestherapiegruppe) keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die gemessenen Werte bewegten sich deutlich unterhalb der Werte hyperglykämischer Tiere in der Arbeit von Duverger et al.(40), so dass eine Beeinflussung der funktionellen und histologischen Ergebnisse unwahrscheinlich erscheint.

3. Elektrolyte

Wie zu erwarten, stieg der Na^+ - Wert in der Gruppe der dextran- und haesbehandelten Tiere nach Infusion der 7,5% bzw. 7,2% NaCl-Lösung stark (bis auf Werte um 150 mmol/l) an, ging im weiteren zwar etwas zurück, blieb aber immer signifikant höher als der Na^+ - Wert in der Kontroll- und Mannitoltherapiegruppe. Der Abfall des Na^+ - Gehaltes in der Mannitoltherapiegruppe wurde bereits anderweitig bei Tieren⁽¹⁵⁾ und Menschen^(105,45) beobachtet, und wahrscheinlich auf den diuretischen Effekt des Mannitols zurückzuführen.

Die Chloridwerte verhielten sich entsprechend: Nach einem infusionsbedingten Anstieg in den hypertonen NaCl-Gruppen fiel der Wert zum Ende hin wieder ab. Ein Abfall zeigte sich auch in der Mannitoltherapiegruppe, der Wert stabilisierte sich gegen Ende wieder knapp unter Ausgangsniveau. Die Werte in der Kontrollgruppe blieben konstant.

Die Kaliumwerte blieben außer bei den mit Mannitol behandelten Tiere relativ konstant. Diese stiegen dort im Verlauf an, waren aber nur am Ende des Versuches signifikant höher als der Ausgangswert. Die Beobachtung, dass die Serumkaliumkonzentration nach Gabe von Mannitol ansteigt, steht im Einklang mit anderen Studien^(105,18,116,136).

Jedoch existieren auch gegenteilige Ergebnisse, d.h. es kam nach Mannitolinfusion zu einer Senkung der Kaliumkonzentration⁽²⁷⁾. In den oben angeführten Studien wurden zwar unterschiedliche und im Vergleich zur vorliegenden Studie niedrigere Dosierungen verwendet, außerdem stammen die Messungen von unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Mannitolgabe, es ist aber erkennbar, dass mit höheren Dosen Mannitol eher eine Erhöhung des Kaliumwertes einhergeht. Die Gründe liegen in einer Verdünnung des Plasmabicarbonates⁽⁹⁹⁾ und damit einer Azidose mit resultierender Bewegung von Kalium aus den Zellen nach extrazellulär entlang des osmotischen Gradienten, bzw. einer direkten Wirkung auf Erythrozyten⁽¹⁰⁵⁾. Eine durch Natriurese entstehende Hyperkaliämie steht e-

benfalls zur Debatte. Die Annahme, dass die durch Verdünnung des Bicarbonates entstandene Azidose mit konsekutivem Austausch von K^+ gegen H^+ -Ionen an den Zellmembranen als alleiniger Grund für die gestiegenen Kaliumwerte in Frage kommt, wird jedoch durch die auch in der Dextran- und Haestherapiegruppe vorhandene Azidose ohne gleichzeitigen Kaliumanstieg relativiert. Weitere potentielle Mechanismen wie Hämolyse oder Expansionsazidose werden von Manninen⁽¹⁰⁵⁾ als unwahrscheinlich dargestellt, so dass der Mechanismus nicht umfassend geklärt ist, eine eventuelle renale Genese aber auch nicht ausgeschlossen werden kann.

4. Osmolarität

In allen Gruppen, außer der Kontrollgruppe, konnte ein signifikanter Anstieg der Osmolarität sowohl gegenüber der Kontrollgruppe als auch gegenüber dem Ausgangswert vor Blutung und Therapie beobachtet werden. Diese Osmolaritätssteigerung war in der Dextrantherapiegruppe am größten und hielt am längsten an. Nur in dieser Gruppe war die Osmolarität 90 min nach Induktion der SAB (entspricht 60 min nach Beginn der Therapie) noch signifikant gegenüber dem Ausgangswert erhöht. Diese länger dauernde Wirkung könnte abhängig von der Art der osmotisch wirksamen Teilchen sein, denn andernfalls hätte die Mannitollösung ebenfalls bis 60 min nach Therapiebeginn eine signifikant höhere Osmolarität als die physiologische NaCl-Lösung bewirken müssen, da in allen drei Verumgruppen eine vergleichbare Menge an osmotisch wirksamen Teilchen zugeführt wurde. Einen Trend zur sukzessiven Normalisierung der Osmolarität in der Mannitolgruppe konnten auch Berger et al.⁽¹⁵⁾ ausmachen. Hinweise auf eine prolongierte Osmolaritätserhöhung durch hypertone NaCl-Lösungen ergeben sich auch in der Arbeit von Viallet et al.⁽¹⁷⁶⁾; hier führte die Applikation von hypertoner NaCl-Lösung auch nach vier Stunden zu einer signifikant erhöhten Osmolarität gegenüber der Gruppe, die mit 20% Mannitol behandelt wurde; Freshman et al.⁽⁴⁵⁾ stellten nach Infusion von 7,5% NaCl ebenfalls eine signifikant höhere Osmolarität als nach Gabe von 20% Mannitollösung.

Als Grund hierfür könnte eine schnellere renale Elimination des zugeführten Mannitols als der zugeführten $Na^+ Cl^-$ -Ionen verantwortlich sein.

5. Hämoglobin und Hämatokrit

Da sich die Gruppen in beiden Parametern vor der Blutung bzw. Therapie unterschieden, sind Aussagen über Unterschiede zwischen den Gruppen nicht oder nur eingeschränkt möglich; trotzdem kann man die Entwicklung innerhalb der Gruppen in Bezug zum Ausgangswert beurteilen. In der Dextrantherapie-, der Haestherapie-, und auch der Kontrollgruppe war der Hb-Wert 60 min nach Infusion signifikant niedriger als der Ausgangswert. Beim Hämatokrit zeigt sich das gleiche Bild: Auch hier sind die Werte in den genannten drei Gruppen signifikant niedriger als die Ausgangswerte. Diese Beobachtungen sprechen für eine durch die Therapielösungen induzierte Hämodilution. Tseng et al.⁽¹⁷⁰⁾ machten bei Patienten mit erlittener SAB nach Applikation hypertoner Kochsalzlösung dieselbe Beobachtung, der Hämoglobinwert und der Hämatokritwert nahmen nach Infusion der Lösung ab.

In der Mannitoltherapierten Gruppe bestand kein signifikanter Unterschied zwischen Hb- und Hämatokritwert vor und nach Therapie. Dies könnte daran liegen, dass der hämodiluierende Effekt durch eine mannitolvermittelte vermehrte Diurese ausgeglichen wird. Ähnliche Beobachtungen machten Berger et al.⁽¹⁵⁾ und Muizelaar et al.⁽¹¹⁸⁾ sowie Freshman et al.⁽⁴⁵⁾; der nach 60 Minuten gemessene Hämatokrit lag auf dem Niveau des vor Therapie gemessenen Wertes bzw. sogar noch höher.

Über die Hintergründe der - wenn auch geringgradigen Unterschiede - im initialen Hämoglobininhalt, bzw. Hämatokrit kann nur spekuliert werden. Da alle Tiere das identische Futter, unbegrenzten Zugang zu Wasser hatten und denselben klimatischen Bedingungen ausgesetzt waren, ist eine Beeinflussung durch diese Parameter ausgeschlossen. Eine intraoperative Überhitzung mit nachfolgendem Wasserverlust hätte durch Temperaturunterschiede auffallen müssen. Die operative Behandlung der Tiere war streng standardisiert, so dass eine aus dem experimentellen Setup resultierende Differenz unwahrscheinlich erscheint.

6. Erythrozytenparameter MCH, MCHC, MCV

Diese Werte sollten Aufschluss geben über die Frage, ob durch die applizierten hypertonen Lösungen wesentliche Eigenschaften der Erythrozyten beeinflusst werden⁽⁹⁴⁾. Zu keinem Zeitpunkt traten signifikante Gruppenunterschiede auf. Im Vergleich zwischen An-

fangs- und Endwert innerhalb der Gruppen ergaben sich lediglich bei MCH- und MCHC-Werten signifikante Unterschiede. Bei einer Schrumpfung der Erythrozyten wäre eine Verkleinerung des MCV zu erwarten gewesen, welche jedoch nicht nachgewiesen werden konnte. Ein Grund dafür könnte sein, dass die Bestimmung der Parameter 60 min nach Infusion zu spät war, als dass noch Effekte der hypertonen Lösungen auf die Erythrozyten festgestellt hätten werden können. Mazzoni et al.⁽¹⁰⁹⁾ schildern den zeitlichen Verlauf der Wasserbewegungen während der Infusion von 7,5% NaCl- 6% Dextran 70 nach hämorrhagischem Schock bei Hasen; dabei gehen sie davon aus, dass die initialen Volumenverluste der Endothelien und Erythrozyten zumindest teilweise wieder kompensiert werden, wobei diese Kompensation bereits nach Minuten beginnt, was wiederum die nicht (mehr) detektierbaren Veränderungen der Erythrozytenvolumina erklären würde. Die veränderten MCHC- und MCH-Werte spiegeln dagegen die in Folge der hypertonen Lösungen induzierte Hämodilution wieder.

7. Lokaler zerebraler Blutfluss

In allen Gruppen kam es nach Induktion der SAB zu einem signifikanten beidseitigen Abfall des lokalen zerebralen Blutflusses wie von Schmid-Elsaesser et al.⁽¹⁴¹⁾ und Bederson et al.⁽¹¹⁾ als Beweis für eine SAB festgestellt, auf ca. 40% des Ausgangswertes kontralateral und 20% des Ausgangswertes ipsilateral zur Blutung. Bis 30 min nach der Blutung, dem Beginn der Infusion, erholte sich der CBF wieder, blieb aber weiterhin mit ca. 70% unter den Ausgangswerten vor der Blutung. Dieser Rückgang hängt mit dem ICP-Verlauf zusammen, der im gleichen Zeitrahmen von seinem Spitzenwert langsam abfällt und so zu einem erhöhten CPP und zur besseren Perfusion führt. In den Versuchen von Alkan et al.⁽¹⁾, in denen der CBF bis 60 min nach SAB untersucht wurde, erreichte der ebenfalls mittels LDF gemessene CBF in gleicher Weise die Ausgangswerte nicht wieder (ohne Therapie). Kaderet al.⁽⁷⁴⁾ und Jackowski et al.⁽⁶⁷⁾ ermittelten einen erniedrigten CBF bis 14 bzw. 2 Tage nach SAB. Am Menschen sind Messungen des CBF längere Zeit nach SAB von Meyer et al.⁽¹¹²⁾ und Matsuda et al.⁽¹⁰⁷⁾ durchgeführt worden; dabei zeigte sich der CBF bis zu 1 Jahr vermindert, vor allem bei älteren Patienten und bei Patienten mit schlechterem Outcome. Es zeigte sich eine Korrelation zwischen CBF und dem erreichten Outcome.

Auf der zur Blutung kontralateralen Seite ergab sich in der vorliegenden Studie bei keiner Therapiegruppe ein Effekt hinsichtlich des lokalen CBF. Rechts, d.h. ipsilateral zur Blutung, bestanden zwar ebenfalls keine Gruppenunterschiede bzw. im Vergleich zur Kontrolle, allerdings fand sich ein signifikanter Anstieg des LDF im Vergleich zum letzten gemessenen Wert vor Beginn der Therapie in der Dextrantherapiegruppe. Die von anderen Gruppen beobachteten steigernden Effekte von Mannitol auf den CBF konnten nicht nachvollzogen werden; so beschrieben Muizelaar et al.⁽¹¹⁹⁾ eine CBF-Steigerung von mehr als 15% bei Patienten mit defekter Autoregulation. Jafar et al.⁽⁶⁸⁾ sahen ebenfalls in einer klinischen Studie von Patienten mit zerebraler Läsion, davon 16 Patienten mit stattgehabter SAB, eine CBF-Steigerung, allerdings bei kontinuierlicher Mannitolinfusion; Kirkpatrick und Mitarbeiter⁽⁸⁵⁾ berichten nach Infusion von 20% Mannitollösung innerhalb von 20 min von einer Steigerung des CBF um 14 % verbunden mit einer Senkung des zerebralen Gefäßwiderstandes bei Patienten nach SHT verschiedener Ätiologie. Bei mit Mannitol vorbehandelten Ratten konnten Shirane et al. nach 30 min Okklusion der A. carotis communis eine CBF-Steigerung um bis zu 300% im Vergleich zu den nichtischämischen Kontrolltieren feststellen⁽¹⁵²⁾. Da unterstellt werden kann, dass nach SAB die Autoregulation gestört ist^(97,135) und Muizelaar et al.⁽¹¹⁹⁾ bei Patienten mit gestörter Autoregulation eine CBF-Steigerung gefunden haben (s.o.), wäre auch in den vorliegenden Versuchen eine Steigerung zu erwarten gewesen. Kempski et al.⁽⁸¹⁾ sahen nach globaler Ischämie bei Hasen eine schnellere Restitution des CBF nach Therapie mit hypertoner Kochsalzlösung und Haes als mit Haes alleine, Waschke et al.⁽¹⁸⁰⁾ nach hypovolämischem Schock eine CBF-Steigerung in beiden Therapiegruppen (hypertone Kochsalzlösung mit Haes und Haes alleine) vs. Kontrolle. Kürzlich berichteten Tseng et al.⁽¹⁷⁰⁾ nach Anwendung von 23,5% hypertoner Kochsalzlösung von steigendem CBF bei Patienten mit schwerer SAB (WFNS Grad 4-5).

Die Gründe für den fehlenden, bzw. nur mäßigen und kurzzeitigen CBF-Anstieg in lediglich einer Therapiegruppe (7,5% NaCl/Dextran) bleiben unklar. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass es in Anbetracht des punktuellen Messvolumens in angrenzenden Hirnarealen zu einer nicht erfassten Steigerung des lokalen zerebralen Blutflusses nach Infusion von Mannitol-, Dextran-, oder Haeslösung gekommen ist.

8. Intrakranieller Druck

Wesentliche Gründe für den plötzlichen Anstieg des intrakraniellen Drucks nach SAB sind die raumfordernde Wirkung des Hämatoms und eine akute Vasoparalyse. Daraus resultiert ein Anstieg des intrakraniellen Blutvolumens⁽⁵⁴⁾ und die schnelle Entwicklung eines Hirnödems^(24,71) als Ergebnis des Zusammenbruchs der zerebralen Autoregulation^(54,135) und der Blut-Hirn-Schranke^(139,36). Claassen et al.⁽²⁴⁾ zeigten, dass das globale Hirnödem einen unabhängigen Risikofaktor für Sterblichkeit und schlechtes neurologisches Outcome darstellt. In neuropathologischen Studien wiesen Neil-Dwyer et al. in 34 von 54 kurz nach SAB verstorbenen Patienten ein diffuses Hirnödem mit geschwollenen Neuronen und Endothelzellen nach⁽¹²²⁾.

Die Infusion von hypertoner Kochsalzlösung mit Zusatz von Dextran oder Haes führte ebenso wie Mannitol zu einer sofortigen und nachhaltigen Senkung des ICP nach SAB, während in den mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Tieren der ICP nach SAB weitgehend unverändert bis zum Ende der Beobachtung in einem pathologischen Bereich verharrte. Zwischen den Therapiegruppen bestanden temporäre Unterschiede, die darauf hindeuteten, dass Mannitol in der zweiten Hälfte der Messperiode den ICP noch stärker zu senken imstande war als die hypertonen Kochsalzlösungen, deren Wirksamkeit sich nach 30 Minuten bereits abzuschwächen schien. Dies könnte darin begründet sein, dass zu späteren Zeitpunkten ein Teil des durch die hypertone Kochsalzlösung aufgebauten Gradienten abgebaut war und sich nur mehr die Wirkung der hyperonkotischen Komponente zeigte. Diese These wird u.a. von den Ergebnissen der Vorversuche gestützt, wo nur das hypertone Kochsalz/ Dextran-Gemisch bis zum Schluss nach Gabe der Lösung signifikant erniedrigte ICP-Werte erbrachte, nicht jedoch die 7,5%- NaCl- Lösung. Berger et al.⁽¹⁵⁾ machten bei einem Therapievergleich von SVR vs. Mannitol nach experimentellem traumatischen Hirnschaden ebenfalls die Beobachtung, dass der Effekt von Mannitol nach einmaliger Gabe länger anhielt, bei wiederholter Gabe aber kein Wirkungsdauerunterschied zwischen Mannitol und 7,5% NaCl/ Dextranlösung mehr zu finden war. Jüngst veröffentlichten Vialet et al.⁽¹⁷⁶⁾ eine prospektive, randomisierte Studie, in der die Effektivität von Mannitol und 7,5% NaCl (je 2ml/kg KG) den ICP bei Patienten mit Schädel-Hirn- Trauma zu senken, untersucht wurde. Darin war die hypertone NaCl- Lösung Mannitol in den Bereichen Ausmaß und Dauer der ICP-Senkung, sowie Behandlungserfolg überlegen.

Darüber hinaus belegten in der jüngeren Vergangenheit mehrere Studien und Fallbeschreibungen den Nutzen hypertoner Kochsalzlösungen hinsichtlich einer ICP-Senkung bei Patienten (teilweise nach SAB), die auf Mannitol und Barbiturate nicht mehr ange- sprochen hatten^(160,59,63).

9. Mittlerer Arterieller Druck

Der Verlauf der Blutdruckkurven war in allen Gruppen bis zur Therapie, wenn auch auf unterschiedlichen Druckniveaus, gleich; nach kurzem Einbruch kam es zu einer Steigerung des Druckes über die Ausgangswerte hinaus (Cushing-Reflex)^(169,33). Diese Regulationsmaßnahme soll eine suffiziente Durchblutung des Gehirnes auch bei erhöhtem ICP sicherstellen. Zu Beginn der Therapie kam es vor allem in den hypertonen NaCl-Gruppen zu einem Blutdruckeinbruch, der aber nicht auf eine Anaphylaxie, sondern auf eine durch den Osmolaritätsgradienten bedingte Vasodilatation zurückzuführen sein dürfte. Dieses Phänomen ist auch von Kien et al.⁽⁸³⁾ und Cote et al.⁽²⁶⁾ beschrieben und wird mit einer Verminderung des peripheren Strömungswiderstandes in Gefäßen v.a. der Skelettmuskeln, bzw. einer Freisetzung des Vasodilatators Stickstoffmonoxid (NO) erklärt⁽⁹⁴⁾.

Im Anschluss an diesen kurzen Abfall erholte sich der Blutdruck in allen Therapiegruppen; jetzt wurde auch der volumenrestituierende Effekt der hypertonen Lösungen mit einer signifikanten Blutdrucksteigerung eindrücklich, am stärksten in der Haestherapiegruppe, wo sich der Blutdruck bis auf 120% des Wertes vor Blutung steigerte. In der Mannitolgruppe war ein solcher Effekt nicht zu erkennen. Die Dextraninfusion steigerte den Druck immerhin auf 110%. Gegen Ende fiel der MAP bei allen Gruppen ab, was am ehesten der zunehmenden Elimination der osmotischen Komponenten oder - beim Mannitol - der verstärkten Diurese zuzuschreiben ist. Der blutdrucksteigernde Effekt von SVR ist v.a. bei Patienten mit Schock gut untersucht^(173,172,108), aber auch in Tierversuchen mit und ohne Läsion am Gehirn nachgewiesen^(38,89,15,46,179).

10. Zerebraler Perfusionsdruck

Der CPP fiel in allen Gruppen nach SAB auf Werte unter 20 mmHg ab, um sich dann zu erholen und bis zum Zeitpunkt der Therapie auf ca. 60 mmHg bzw. 80 mmHg zu stabilisieren. Die Therapie führte nur in der Dextrantherapiegruppe und kurzzeitig in der Haestherapiegruppe zu einer signifikanten Steigerung in Bezug zum letzten Wert vor Therapie als Referenzwert. Diese Verbesserung der zerebralen Perfusion stellt möglicherweise einen wesentlichen Grund für die deutlich reduzierte Letalität und den zerebroprotektiven Effekt der 7,5% NaCl/Dextranlösung im Hinblick auf die signifikant erhöhte Anzahl erhaltener Neuronen dar. Durch die signifikanten Unterschiede im MAP ist die Unterscheidung, ob der Anstieg des CPP in der Dextrantherapiegruppe auf die Infusion der Lösung oder auf den bereits vorher höheren MAP zurückzuführen ist, erschwert. Ein CPP-steigernder Effekt hypertoner NaCl-Lösungen konnte in den Studien von Tseng et al.⁽¹⁷⁰⁾, Härtl et al.⁽⁵⁹⁾, Horn et al.⁽⁶³⁾, Berger et al.⁽¹⁵⁾ nachgewiesen, sowohl für reine hypertone NaCl, als auch für Kombination mit Haes oder Dextran.

11. Temperatur

Aus experimentellen Studien ist bekannt, dass die Reduktion der Körpertemperatur, bereits um wenige Grade, eine ausgeprägte neuroprotektive Wirkung entfaltet^(21,145,164). Deshalb war es notwendig, die Körper- und besonders die Kopftemperatur während Narkose und Präparation in engen Grenzen zu halten. Die Ergebnisse zeigen, dass der Regelkreis aus Messsonde und Heizmatte bzw. Heizlampe stabile physiologische Werte gewährleisten konnte. Zu keinem Zeitpunkt unterschieden sich die drei Therapiegruppen. In weiteren Studien^(189,20) wurde gezeigt, dass auch in der postoperativen Phase, d.h. nach dem Aufwachen, die Körpertemperatur einen Einfluss auf den neurologischen Schaden hat. Da alle Tiere nach der Narkose unter gleichen Bedingungen im klimatisierten (Raumtemperatur etwa 20°C und relative Luftfeuchtigkeit um 65%) Tierstall unter identischen Bedingungen gehalten wurden, ist dahingehend keine selektive Protektion einer Therapiegruppe zu erwarten.

12. Blutgase

Die Kontrolle der zerebralen Durchblutung über die Vasomotorik wird maßgeblich von der Konzentration von Sauerstoff und Kohlendioxid im Blut beeinflusst. Im Sinne der Autoregulation der Durchblutung des Gehirns führt beispielsweise die Reduktion des $p\text{CO}_2$ zu einer zerebralen Vasokonstriktion. Um die Blutgase bei allen Tieren zu kontrollieren, wurden die Ratten intubiert und druckgesteuert ventilirt. Dabei wurden vor SAB-Induktion optimale Blutgase angestrebt und durch zweimalige Blutgaskontrollen verifiziert. Im Verlauf der Versuche wurden die Beatmungsparameter den wiederholt gemessenen Blutgasen angepasst, um diese Parameter konstant zu halten. Dadurch kam es zu keinen Unterschieden zwischen den Gruppen, die die Aussagekraft der übrigen Ergebnisse beeinflussen könnten.

13. Letalität

Obwohl die Unterschiede zwischen den Gruppen keine statistische Signifikanz erreichten, kann man, in Anbetracht von p -Werten $< 0,189$ bzw. $< 0,168$, von einem statistischen Trend zugunsten der Therapie mit NaCl/ Dextran sprechen, so dass sich Hinweise auf eine Senkung der Frühletalität durch die 7,5% NaCl-Dextran-Lösung ergeben. Auffallend ist, dass in der NaCl/Dextrangruppe 3/15 Tieren nach dem 4. postoperativen Tag starben. In den anderen Gruppen verstarb nur ein einziges Tier nach diesem Zeitpunkt. Ein Grund für diese Spätletalität könnte ein posthämorrhagischer Vasospasmus sein, induziert durch das persistierende subarachnoidale Hämatom. Delgado et al. stellten bei experimenteller SAB der Ratte fest, dass der Vasospasmus biphasisch auftritt, ca. 10 min nach Blutung und erneut am 2. bis 5. Tag⁽³²⁾; Rasmussen et al. hingegen zeigten, dass auch die Autoregulation mindestens bis zum 5. Tag gestört ist und wahrscheinlich auch länger⁽¹³⁵⁾. Kader et al. machten die Entdeckung, dass der CBF bei Ratten nach SAB noch bis 14 d nach der Blutung erniedrigt ist, und das in einem Modell, in dem der ICP nur um 2,3 mmHg über dem Ausgangswert lag.

Insofern erscheint die Hypothese eines kausalen Vasospasmus als Ursache der späten Letalität möglich und manifestiert sich wegen der größeren Anzahl der lange überlebenden Tiere verstärkt in der Dextrantherapiegruppe.

Das schlechte Abschneiden von Mannitol und Haes mag erstaunen, jedoch bestanden auch in früheren Studien bereits Hinweise, dass durch Mannitol das Hirnödem nach SAB agraviert werden könnte. Eine Studie mit Haes nach Schlaganfall musste sogar abgebrochen werden⁽¹⁰⁶⁾, weil die Patienten mit Haes-Hämodilution sich in Bezug auf ihre neurologische Erholung im Vergleich zur Kontrollgruppe verschlechterten.

In weiteren Versuchen wurden Unterschiede zwischen Haes- und Dextranlösungen in Bezug auf ihre Wirkungen auf Leukozyten-Endothelinteraktionen untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass nur eine 6% Dextran 60-Lösung, nicht aber eine 6% Haes 200.000-Lösung in der Rückenhautkammer beim Hamster die Leukozyten- Endothelinteraktionen wirkungsvoll hemmen kann⁽¹¹⁰⁾. Eine solche Leukozyten-Endothelinteraktionshemmung könnte den sekundären Hirnschaden verringern, einerseits durch die verringerte Ausbildung von sog. No-reflow-Phänomenen, d.h. Verstopfung von Kapillaren durch adhärente Leukozyten, andererseits durch Hemmung der Freisetzung von Sauerstoffradikalen aus adhärenten Leukozyten. Diese genannten Effekte könnten durch eine Umkleidung der Leukozyten und/oder der endothelialen Zelloberfläche mit Dextransmolekülen bedingt sein. Für Haes fehlen Hinweise auf entsprechende Eigenschaften^(110,7).

Im Hinblick auf die Beeinflussung der Rheologie des Blutes durch Haes- oder Dextranlösungen konnten ebenfalls Unterschiede detektiert werden; dabei induzierten Dextranlösungen eine stärkere Verminderung der Erythrozytenaggregation, eine größere Verringerung der Blutviskosität⁽⁴⁾, sowie eine verringerte arteriovenöse Sauerstoffdifferenz⁽¹⁵⁸⁾ verglichen mit Haeslösungen.

Auch für Mannitol sind senkende Wirkungen auf die Viskosität des Blutes bekannt, so erhöht Mannitol die Verformbarkeit der Erythrozyten, was zur Senkung der Viskosität und somit zur Verbesserung der Perfusion der Gewebe führt⁽¹⁹⁾. Man vermutet, dass Mannitol neben der osmotischen Wirkung v.a. über eine Hämatokritsenkung, aber auch über die o.g. Veränderung der Erythrozytenverformbarkeit und über eine Reduktion des Erythrozytenvolumens zu einer Senkung der Blutviskosität führt. Diese wiederum bedingt eine erhöhte Durchblutung des Gehirns, worauf die Gefäße autoregulatorisch mit einer Vaskonstriktion reagieren. Es resultiert eine Reduktion des CBF durch Reduktion des zerebralen Blutvolumens und dadurch ebenso eine ICP- Senkung^(19,118). Voraussetzung dieser Mechanismen ist allerdings eine intakte Autoregulation. Diese positiven Wirkungen von Mannitol könnten aber durch eine evtl. Aggravierung des Hirnödems s.o. und einer etwaiigen Wirkung auf der ipsilateralen Seite⁽¹⁵⁾, also der ohnehin schon geschädigten, kontraktiert werden, was das schlechtere Outcome dieser Therapiegruppe erklären könnte.

Zusammenfassend dürfte die durch die Dextranskomponente verbesserte Rheologie zusammen mit der verminderten Leukozyten-Endothelinteraktion und dem verbesserten CBF am ehesten für die verringerte Sterblichkeit in der Dextrantherapiegruppe verantwortlich sein und letztlich auch die besseren Ergebnisse in der Histomorphometrie erklären.

14. Quantitative Histologie

Die untersuchten Hirnschnitte zeigten Unterschiede zwischen den Gruppen im Kaudoputamen links, dem Motorkortex beidseits, der motorischen Region M2 links und M2 rechts. Da keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich der Ausmaß und Lokalisation des subarachnoidalalen Hämatoms beobachtet wurden und auch ICP-, sowie CBF-Verlauf vor Applikation der Therapie keine signifikanten Unterschiede aufwiesen, die für ein unterschiedliches Ausmaß der Blutung sprechen würden, kann davon ausgegangen werden, dass die beobachteten morphologischen Unterschiede zwischen den Gruppen therapiebedingt sind. Mögliche zu Grunde liegende Mechanismen sind die therapieinduzierte CPP-Erhöhung und ICP-Senkung. Ein weiterer Effekt der Neuroprotektion könnte die durch den Wasserentzug durch SVR entstehende Reduktion des Hirnödems sein. Berger et al.⁽¹⁵⁾ konnten eine Ödemreduktion durch hypertone NaCl/Dextranlösung nachweisen. Dabei schien eine repetitive Anwendung von hypertoner NaCl/Dextranlösung zu einem geringeren Wassergehalt auf der kontralateral zur Läsion gelegenen Seite als Maß für eine Ödemreduktion zu führen. Mannitol reduzierte demgegenüber den Wassergehalt auf der ipsilateralen Seite. Qureshi et al.⁽¹³⁴⁾ stellten in einem Modell für intrazerebrale Blutung fest, dass in allen mannitolbehandelten Tieren der Wassergehalt höher war, als in den mit 3% NaCl behandelten. Freshman et al.⁽⁴⁵⁾ hingegen konnten keine Unterschiede im Wassergehalt zwischen Mannitol- und 7,5% NaCl-Gruppe nach Hirntrauma feststellen.

Sheikh et al. verglichen 7,5% NaCl gegen Ringer-Laktat nach Schock und SHT bei Schafen⁽¹⁵¹⁾. Die Versuche ergaben in der mit 7,5% NaCl-behandelten Gruppe eine signifikante Reduktion des Wassergehaltes in allen untersuchten Regionen, sowohl ipsi-, als auch kontralateral zur Schädigung. Nach experimentellem Hirntrauma konnte von Rosenberg⁽¹³⁾ eine Reduktion des Ödems nach mehrmaliger Applikation von Mannitol feststellen und keine Aggravation des Ödems wie Kaufmann und Cardoso⁽⁸⁰⁾. Das schlechte Ab-

schnieden der Mannitolgruppe könnte aber dennoch evtl. auf eine solche Verschlechterung des Hirnödems zurückzuführen sein.

Eine weitere Erklärung für eine Ödemreduktion könnte zumindest in der 7,5% NaCl/Dextrangruppe eine potentiell verringerte Permeabilität der Gefäße für Elektrolyte und konsekutiv für Wasser sein und damit die Eindämmung des entstehenden Ödems⁽¹⁷⁷⁾. Germanò et al. untersuchten den Zeitverlauf der Blut-Hirn-Schrankenstörung nach eSAB der Ratte; sie gaben eine signifikante Extravasation 36 h und 48 h nach SAB an⁽⁵¹⁾. Andere Arbeiten zeigten eine posthämorrhagische Permeabilitätsverhöhung bereits zu früheren Zeitpunkten: Doczi et al. 6 h⁽³⁶⁾, Joshita et al. 0 – 6 Tage⁽⁷²⁾, Germanò et al. 48h nach SAB⁽⁵⁰⁾. Es erscheint daher in Anbetracht des zeitlichen Verlaufs der Schrankenstörung möglich, dass Dextran positive Wirkungen auf die Dichtigkeit der Blut-Hirn-Schranke entfalten kann und diese kausal an der festgestellten Neuroprotektion des 7,5% NaCl/Dextrangemisches beteiligt ist.

Ob die Applikation der hypertonen Lösungen in den vorliegenden Versuchen das Ödem günstig beeinflussten, kann nur indirekt über die beobachtete ICP-Senkung für die Dauer der intraoperativen Beobachtung konstatiert werden.

15. Neurologische Defizite

15.1 Quantifizierung des lateralisierten motorischen Defizits

Dieser Test erwies sich als nicht sensitiv genug, um Unterschiede zwischen den Gruppen zu detektieren. Lediglich in der Dextrangruppe konnte eine signifikante Steigerung am Tag 7 zu Tag 1 verzeichnet werden, wobei keine sichere Differenzierung hinsichtlich tatsächlicher therapeutischer Effekte bzw. einem durch die posthämorrhagische Letalität erzielten Selektionseffekt getroffen werden kann.

15.2 Quantifizierung des globalen neurologischen Defizits

Ziel dieses Tests ist es, umfassend den neurologischen Zustand der Ratten zu evaluieren⁽⁷⁹⁾. Untersucht werden Vigilanz bzw. Aufmerksamkeit, Hirnnerven, Motorik, Sensibilität und Koordination. In diesem Test zeigten sich zwischen den Gruppen keine Unterschiede. Lediglich im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen zeigte sich am letzten

Tag in der Dextrantherapiegruppe und der Kontrollgruppe eine signifikante Besserung der neurologischen Defizite. In den anderen Gruppen verbesserten sich die Tiere im Laufe der Tage ebenfalls, die Steigerung war aber nicht signifikant.

Die mangelnden Unterschiede lassen sich eventuell mit der Selektion der stärker beeinträchtigten Tiere durch Tod erklären, so dass nur Tiere mit geringem Schaden überlebten und untersucht wurden, was zu einer Nivellierung im Outcome zwischen den Gruppen geführt haben könnte.

15.3 Seilhängetest

Bei diesem Test wird hauptsächlich die Kraft und Koordination der vorderen Extremitäten gemessen. Auch wenn dieser Test wichtige Aspekte der Motorik untersucht, war der Test nicht sensitiv genug, um Unterschiede zwischen den Gruppen zu detektieren. Lediglich innerhalb der Dextransgruppe konnte eine signifikante Erholung festgestellt werden, d.h. eine signifikante Zunahme der Hängezeiten am Seil an Tag 3 und 7 und in der NaCl- Gruppe am Tag 7.

Verschiedene Faktoren, wie die beidseitige kortikale Repräsentation der Vorderläufe⁽¹²¹⁾ und die größere kortikale Repräsentation auf der Hirnoberfläche für die Vorderpfoten mit den resultierenden erweiterten Möglichkeiten der Kompensation eventueller Defizite, sind wahrscheinlich für die geringe Sensitivität des Tests verantwortlich.

Ein weiteres Problem bei diesem Test ist die Motivation der Ratten, eine maximale Kraftentfaltung zu entwickeln. Unabhängig von der Schwere der neurologischen Ausfälle ließen sich die Ratten mit zunehmenden Beobachtungsdauer nach SAB häufiger fallen. Tests, die nicht nur Kraft, sondern auf Greiffertigkeiten testen, wie der Pfoten-Greiftest (oder Treppenstufentest)^(53,114) sind eventuell sensitiver für die Überprüfung der Funktion der vorderen Extremität.

Prinzipiell muss bei der Betrachtung der Ergebnisse der neurologischen Beurteilung beachtet werden, dass nur Tiere, die die Blutung überlebten, in die Beurteilung einbezogen werden konnten, und dadurch gewisse Selektionseffekte die Unterschiede zwischen den Gruppen verwischt haben könnten. Dies gilt auch für die Entwicklung des posthämorrhagischen Gewichts.

16. Gewicht

Als zusätzlichen Parameter für die Erholung der Tiere erhoben wir an drei Tagen das Gewicht der Tiere.

Alle Tiere nahmen gegen Ende der Betrachtung als Hinweis auf eine allgemeine Erholung wieder an Gewicht. Da die Gruppen vor Induktion der SAB differierten, können die signifikanten Unterschiede während der Beobachtungsperiode nur bedingt als Hinweis auf einen therapeutischen Effekt angesehen werden. Auch sollte berücksichtigt werden, dass sich in den Gruppen Mannitol und Haes zum Ende der Beobachtung nur noch wenige Tiere befanden.

E. Zusammenfassung

Hintergrund der vorliegenden Studie war, ein Behandlungskonzept für die unmittelbar nach einer Subarachnoidalblutung einsetzenden Pathomechanismen zu entwickeln. Dabei bilden das post-hämorrhagische Hirnödem neben der akut einsetzenden Erhöhung des intrakraniellen Drucks (ICP) und dem Abfall der zerebralen Perfusion (CBF) die wesentlichen kausalen Pathomechanismen für die hohe Frühmorbidität und -letalität der Patienten.

Zu diesem Zweck wurde das therapeutische Konzept der Small Volume Resuscitation – einer neuen Primärtherapie des traumatisch-hämorrhagischen Schocks und des Schädel-Hirn-Traumas - evaluiert, bei der die intravenöse Bolusinjektion eines kleinen Volumens (250 ml) einer stark hyperosmolaren (7,5 %) Kochsalzlösung genutzt wird, um intraendothiales und intraparenchymales Wasser zu mobilisieren und dadurch das intravaskuläre Volumen wiederherzustellen. Die erzielte Hämodilution zusammen mit dem hyperosmolaritätsbedingten Schrumpfen des endothelial-perivaskulären Volumens führt zu einer verbesserten Mikrozirkulation und einem Auswaschen potentiell gefährlicher Metaboliten – es kommt zur Reduktion des perivaskulären Ödems mit Reperfusion der mikrozirkulatorischen Strombahn.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, verschiedene klinisch gebräuchliche hypertonus-hyperonkotische Lösungen hinsichtlich ihrer therapeutischen Wirksamkeit nach experimenteller Subarachnoidalblutung der Ratte zu vergleichen. Diese Untersuchung sollte anhand von definierten Zielparametern, sowohl hinsichtlich kurzfristiger Wirkungen nach SAB (Verlauf von ICP und CBF während der ersten 90min nach SAB) als auch hinsichtlich längerfristiger Effekte (Neuroscore für 7 posthämorrhagische Tage und quantitative histologische Auswertung) durchgeführt werden. 60 männliche dextranresistente Wistaratten wurden in vier Gruppen à 15 Tiere randomisiert um dann entweder mit 0,9% NaCl- Lösung (Kontrollgruppe), 7,5% NaCl- Lösung mit 6% Dextran 70 (Rescue FlowTM), 7,2% NaCl- Lösung mit 200.000 HAES (HyperHAES[®]) oder 20% Mannitol 30 min nach Induktion der SAB intravenös therapiert zu werden. Nach Beendigung der Messung der kontinuierlich aufgezeichneten Parameter wurden die Tiere 7 Tage lang nachbeobachtet und ihre neurologische Erholung dokumentiert; dann wurden die Gehirne entnommen und histologisch aufgearbeitet.

Mit Hilfe dieses experimentellen Setups konnte nachgewiesen werden, dass der Hirndruck nach experimenteller SAB bei Ratten durch die Applikation der untersuchten hypertonen Lösungen (7,5% NaCl- Lösung mit 6% Dextran 70 [Rescue FlowTM], 7,2% NaCl- Lösung mit 200.000

HAES [HyperHAES[®]] und 20% Mannitol in vergleichbarer Weise unmittelbar und anhaltend signifikant gegenüber der Kontrollgruppe gesenkt werden konnte. Die Kontrolllösung konnte den ICP nicht senken. Nur die Applikation von 7,5 % NaCl/ Dextran – Lösung konnte den zerebralen Blutfluss auf der von der Blutung betroffenen Seite für 20 min steigern. Die mit den verwendeten Tests beschriebene neurologische Erholung konnte durch Therapie mit den getesteten Lösungen nicht signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe verbessert werden; es ergaben sich auch zwischen den anderen Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Eine signifikante Steigerung der Leistungen während des Beobachtungszeitraums konnte allerdings innerhalb der 7,5 % NaCl/ Dextrantherapiegruppe gezeigt werden. Nur in der mit 7,5 % NaCl/ Dextran therapierten Gruppe zeigten sich zudem signifikante protektive Effekte im Motorkortex und Kaudoputamen im Hinblick auf die Zahl intakter Neurone. Allein die Therapie mit 7,5 % NaCl/ Dextranlösung konnte, wenn auch nur als statistischer Trend, die Frühletalität nach SAB senken. Bei keinem der Versuche kam es nach Applikation der Therapielösungen zu einer erneuten SAB.

Die vorhandene klinische Zulassung von 7,5% + 6% Dextran 70 (RescueFlowTM) für die initiale Behandlung von hämorrhagischem Schock würde eine rasche Umsetzung der experimentellen Ergebnisse im Rahmen einer klinischen Studie bei Patienten mit schwerer SAB erleichtern.

Literaturliste

1. Alkan, T, Korfali, E.: Experimental subarachnoid hemorrhage models in rats. *Acta Neurochir.[Suppl]*: 83,61-69,2002
2. Anderson, P, Boreus, L.: Use of mannitol during neurosurgery: interpatient variability in the plasma and csf levels. *Eur J Clin Pharmacol*: 35,6:643-649,1988
3. Asplund, K: Haemodilution for acute ischaemic stroke. *Cochrane.Database.Syst.Rev*: 4:CD000103-2003
4. Audibert, G, Donner, M., Lefevre, J.C., Stoltz, J.F., Laxenaire, M.C.: Rheologic effects of plasma substitutes used for preoperative hemodilution. *Anesth.Analg.*: 78,4:740-745,1994
5. Avendano, C, Roda, J.M., Carceller, F., Dieztejedor, E.: Morphometric study of focal cerebral ischemia in rats: A stereological evaluation. *Brain Res.*: 673,83-92,1995
6. Bailes, J E, Spetzler, R.F., Hadley, M.N., Baldwin, H.Z.: Management morbidity and mortality of poor-grade aneurysm patients. *J.Neurosurg.*: 72,559-566,1990
7. Baldwin, A L, Wu, N.Z., Stein, D.L.: Endothelial surface charge of intestinal mucosal capillaries and its modulation by dextran. *Microvasc Res*: 42,160-178,1991
8. Barker, F, Ogilvy, C.: Efficacy of prophylactic nimodipine for delayed ischemic deficit after subarachnoid hemorrhage: a metaanalysis. *J.Neurosurg.*: 84,405-414,1996
9. Barth, K N M, Onesti, S.T., Krauss, W.E., Solomon, R.A.: A simple and reliable technique to monitor intracranial pressure in the rat: Technical note. *Neurosurgery*: 30,138-140,1992
10. Baughman, V L, Hoffman, W.E., Miletich, D.J., Albrecht, R.F., Thomas, C.: Neurologic outcome in rats following incomplete cerebral ischemia during halothane, isoflurane, or N₂O. *Anesthesiology*: 69,2:192-198,1988
11. Bederson, J B, Germano, I.M., Guarino, L.: Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat. *Stroke*: 26,1086-1092,1995
12. Bederson, J B, Pitts, L.H., Tsuji, M., Nishimura, M.C., Davis, R.L., Bartowski, H.: Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*: 17,3:472-476,1986
13. Berenberg, P, Unterberg, A., Schneider, G.H., Lanksch, W.: Treatment of Traumatic Brain Edema by Multiple doses of Mannitol. *Acta Neurochir.[Suppl]*: 60,531-533,1994
14. Berger, S, Deisböck, T., Dellian, M., Schürer, L., Härtl, R., Messmer, K., Baethmann, A.: Blood-brain barrier permeability for FITC-dextran with acute brain injury receiving small-volume resuscitation fluid. *Prog Appl Microcirc*: 22,20-32,1996
15. Berger, S, Schürer, L., Härtl, R., Messmer, K., Baethmann, A.: Reduction of post-traumatic intracranial hypertension by hypertonic/hyperoncotic saline/dextran and hypertonic mannitol. *Neurosurgery*: 37,1:98-108,1995
16. Bozana, A, Vollrath, B., Cook, D.: Intracellular mechanisms involved in the responses of cerebrovascular smooth-muscle cells to hemoglobin. *J.Neurosurg.*: 80,261-268,1994

17. Broderick, J, Brott, T.G., Duldner, J.E., Tomsick, T., Leach, A.: Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage. *Stroke*: 25,1342-1347,1994
18. Buckell, M: Bloodchanges on intravenous administraton of mannitol or urea for reduction of intracranial pressure in neurosurgical patients. *Clin Sci*: 27,223-227,1964
19. Burke, A M, Quest, D.O.: The effects of mannitol on blood viscosity. *J Neurosurg*: 55,550-553,1981
20. Busto, R, Dietrich, W.D., Globus, M.Y.: Postischemic moderate hypothermia inhibits CA1 hippocampal ischemic neuronal injury. *Neurosci.Lett.* 101:299-304, 1989. *Neurosci.Lett.*: 101,299-304,1989
21. Busto, R, Dietrich, W.D., Globus, M.Y., Valdes, Y., Scheinberg, P., Ginsberg, M.D.: Small differences in intraischemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*: 7,6:729-738,1987
22. Cahn, R, Dupont, J.M.: Effect of halothane on ischemic brain edema. *Adv.Neurol.*: 52,93-96,1990
23. Cessarini, K G, Hardemark, H.G.: Improved survival after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: review of case management during a 12- year period. *J Neurosurg*: 90,664-672,1999
24. Claassen, J, Carhuapoma, J.R., Kreiter, K.T., Du, E.Y., Connolly, E.S., Mayer, S.A.: Global cerebral edema after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*: 33,1225-1232,2002
25. Combs, D J, DAlecy, L.G.: Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: Effect of fasting and 1,3-Butanediol. *Stroke*: 18,503-511,1987
26. Cote, C J, Greenhow, D.E.: The hypotensive response to rapid intravenous administration of hypertonic solutions in man and in the rabbit. *Anesthesiology*: 1:30-35,1979
27. Cottrell, J E, Robustelli, A.: Furosemide- and mannitol-induced changes in intracranial pressure and serum osmolality and electrolytes. *Anesthesiology*: 47,28-30,1977
28. Crompton, M R: Cerebral infarction following the rupture of cerebral berry aneurysms. *Brain*: 87,263-280,1964
29. Davis, S M, Andrews, J.T., Lichtenstein, M., Kaye, A.H., Tress, B., Rossiter, S.C., Salehi, N., Binns, D.: A single-photon emission study computed tomography of hypoperfusion after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*: 21,252-259,1990
30. De Felippe, J, Rocha-e-Silva, M.: Treatment of refractory hypovolemic shock by 7.5% sodium chloride injections. *The Lancet*: 8,1002-1004,1980
31. DeGraba, T J, Ostrow, P., Hanson, S., Grotta, J.C.: Motor performance, histologic damage, and calcium influx in rats treated with NBQX after focal ischemia. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*: 14,262-268,1994
32. Delgado, T, Svendgaard, N.: Subarachnoid haemorrhage in the rat: Angiography and floourescence microscopy of the major cerebral arteries. *Stroke*: 16,595-601,1985
33. Dickinson, C J: Reappraisal of the Cushing reflex: the most powerful neural blood pressure stabilizing system. *Clin Sci (Lond)*: 79,6:543-550,1990

34. Diener, H, Hacke, W., für die Kommission "Leitlinien" der Deutschen Gesellschaft für Neurologie: Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Georg-Thieme-Verlag,270-275,2002
35. Dirnagl, U, Kaplan, B., Jacewicz, M.: Continous measurement of cerebral cortical blood flow by laser-doppler flowmetry in a rat stroke model. *J Cereb.Blood Flow Metab.*: 9,589-596,1989
36. Doczi, T, Joo, F., Adam, G., Bozoky, B., Szerdahelyi, P.: Blood-brain barrier damage during the acute stage of subarachnoid hemorrhage, as exemplified by a new animal model. *Neurosurgery*: 18,733-739,1986
37. Dorsch, N, Branston, N.M., Symon, L., Jakubowski, J.: Intracranial pressure changes following primate subarachnoid hemorrhage. *Neurological Research*: 11,201-204,1989
38. Dubick, M A, Davis, J.M., Kramer, G.C.: Dose response effects of hypertonic saline and dextran on cardiovascular responses and plasma volume expansion in sheep. *Shock*: 3 No. 2,137-144,1995
39. Ducey, J, Mozingo, D., Lamiell, J., Okerburg, C., Gueller, G.: A comparison of the cerebral and cardiovascular effects of complete resuscitation with isotonic and hypertonic saline, hetastarch, and whole blood following hemorrhage. *The Journal of Trauma*: 29,1510-1518,1989
40. Duverger, D, MacKenzie, E.T.: The quantification of cerebral infarction following focal cerebral ischemia in the rat: Influence of strain, arterial pressure, blood glucose concentration, and age. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*: 8,449-461,1988
41. Edwards, D, Griffith, T.: The effect of chronic subarachnoid hemorrhage on basal endothelium-derived relaxing factor activity in intrathecal arteries. *J.Neurosurg.*: 76,830-837,1992
42. Ehrenreich, H, Lange, M., Near, K.A., Anneser, F., Schoeller, L.A., Schmid, R., Winkler, P.A., Kehrl, J.H., Schmiedek, P., Goebel, F.D.: Long term monitoring of immunoreactive endothelin-1 and endothelin-3 in ventricular cerebrospinal fluid, plasma, and 24-h urine of patients with subarachnoid hemorrhage. *Res.Exp.Med.*: 192,257-268,1992
43. Fabricius, M, Lauritzen, M.: Laser- Doppler evaluation of rat brain microcirculation: Comparison with the [C14]-Iodoantipyrin method suggests discordance during cerebral blood flow increases. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*: 16,1:156-161,1996
44. Faraci, F: Endothelium-derived vasoactive factors and regulation of the cerebral circulation. *Neurosurgery*: 33,648-659,1993
45. Freshman, S, Battistella, F.D.: Hypertonic saline (7,5%) versus mannitol: a comparison for treatment of acute head injuries. *J Trauma*: 35, No. 3,344-348,1-9-1993
46. Frey, L, Kreimeier, U., Messmer, K.: Effect of 7,2% saline/10% dextran 60 vs. 7,2% saline /10% hydroxyethyl starch an macro- microhemodynamics in traumatic-hemorrhagic hypotension. *Am.J Physiol.*: 263,297-297,1992
47. Fuji, Y, Tanaka, R.: Ultra-early rebleeding in spontaneous subarachnoid hemorrhage. *J.Neurosurg.*: 84,35-42,1996
48. Garcia, J H, Wagner, S., Liu, K.-F., Hu, X.-J.: Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion. *Stroke*: 26,627-635,1995

49. Geraud, G, Tremoulet, M., Guell, A., Bes, A.: The prognostic value of noninvasive CBF measurement in subarachnoid hemorrhage. *Stroke*: 15,301-305,1984
50. Germano, A, d'Avella, D., Ciacciarello, R.: Blood brain barrier permeability changes after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*: 30,882-886,1992
51. Germano, A, d'Avella, D., Imperatore, C.: Time-course of blood-brain barrier permeability changes after experimental subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir.(Wien.)*: 142,575-581,2000
52. Glowaski, M M, Moon-Massat, P.F., Erb, H.N., Barr, S.C.: Effects of oxypolygelatin and dextran 70 on hemostatic variables in dogs. *Vet.Anaesth.Analg.*: 30,4:202-210,2003
53. Grabowski, M, Brundin, P., Johansson, B.B.: Paw-reaching, sensorimotor, and rotational behavior after brain infarction in rats. *Stroke*: 24,6:889-895,1993
54. Grote, E, Hassler, W.: The critical first minutes after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*: 22,654-661,1988
55. Grubb, R L, Raichle, M.E., Eichling, J.O., Gado, M.H.: Effects of subarachnoid blood volume, blood flow, and oxygen utilization in humans. *J.Neurosurg.*: 46,446-453,1977
56. Gurfinkel, V, Poggetti, R.S., Fontes, B., Costa Ferreira, N.F., Birolini, D.: Hypertonic saline improves tissue oxygenation and reduces systemic and pulmonary inflammatory response caused by hemorrhagic shock. *J Trauma*: 54,6:1137-1145,2003
57. Haberl, R L, Villringer, A.: Hypertensive-hypervolämische Therapie bei zerebralem Vasospasmus. *Nervenarzt*: 61,749-751,1990
58. Hall, E D, Travis, M.A.: Attenuation of progressive brain hypoperfusion following experimental SAH by large intravenous doses of methylprednisolone. *Experimental Neurology*: 99,594-606,1988
59. Härtl, R, Ghajar, J.: Hypertonic/Hyperoncotic saline reliably reduces ICP in severely head-injured patients with intracranial hypertension. *Acta Neurochir.Suppl.Wien.*: 70,126-129,1997
60. Hebel, R, Stromberg, M.W.: Anatomy of the laboratory rat. 96-100,1976
61. Hess, J, Wade, C.E.: The Effects of 7.5% NaCl/6% Dextran 70 on Coagulation and Platelet Aggregation in Humans. *The Journal of Trauma*: 32,40-44,1992
62. Holcroft, J, Vassar, M.: 3% NaCl and 7,5% NaCl/Dextran 70 in the resuscitation of severely injured patients. *Ann Surg*: 206 No. 3,279-288,1987
63. Horn, P, Munch, E., Vajkoczy, P., Herrmann, P., Quintel, M., Schilling, L., Schmiedek, P., Schürer, L.: Hypertonic saline solution for control of elevated intracranial pressure in patients with exhausted response to mannitol and barbiturates. *Neurol.Res.*: 21,8:758-764,1999
64. Huang, S J, Chang, L., Han, Y.Y., Lee, Y.C., Tu, Y.K.: Efficacy and safety of hypertonic saline solutions in the treatment of severe head injury. *Surg Neurol.*: 65,6:539-546,2006
65. Hudetz, A G, Lee, J.G., Smith, J.J.: Effects of volatile anesthetics on cerebrocortical laser doppler flow: hyperemia, autoregulation, carbon dioxide response, flow oscillations, and role of nitric oxide. *Advances in Pharmacology*: 31,577-593,1994

66. Ingall, T J, Whisnant, J.: Has there been a decline in subarachnoid hemorrhage mortality? *Stroke*: 20,718-724,1989
67. Jackowski, A, Crockard, A., Burnstock, G., Ross Russell, R., Kristek, F.: The time course of intracranial pathophysiological changes following experimental subarachnoid hemorrhage in the rat. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*: 10,835-849,1990
68. Jafar, J J, Johns, L.M.: The effect of mannitol on cerebral blood flow. *J Neurosurg*: 64,754-759,1986
69. Jakobsen, M, Enevoldsen, E.M., Bjerre, P.: Cerebral blood flow and metabolism following subarachnoid hemorrhage: cerebral oxygen uptake and global blood flow during the acute period in patients with SAH. *Acta Neurol.Scand.*: 82,174-182,1990
70. Jakubowski, J, Bell, B.A., Symon, L., Zawirski, M.B., Francis, D.: A primate model of subarachnoid hemorrhage: change in regional cerebral blood flow, autoregulation carbon dioxide reactivity, and cerebral conduction time. *Stroke*: 13,5:601-611,1982
71. Johshita, H, Kassell, N.F., Sasaki, T., Ogawa, H.: Impaired capillary perfusion and brain edema following experimental subarachnoid hemorrhage: a morphometric study. *J.Neurosurg.*: 73,410-417,1990
72. Joshita, H, Kassell, N.F., Sasaki, T.: Blood brain barrier disturbance following subarachnoid hemorrhage in rabbits. *Stroke*: 21,1051-1058,1990
73. Juvela, S, Hillbom, M., Kaste, M.: Platelet thromboxane and delayed cerebral ischemia in patients with subarachnoid hemorrhage. *J.Neurosurg.*: 74,386-392,1991
74. Kader, A, Krauss, W.E., Onesti, S.T., Elliott, J.P., Solomon, R.A.: Chronic cerebral blood flow changes following experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke*: 21,577-581,1990
75. Kannel, W B, Wolf, P.A.: Risk factors for stroke. 47-58,1984
76. Kapp, J, Mahaley, M.S., Odom, G.L.: Cerebral arterial spasm: part II - experimental evaluation of mechanical and humoral factors in pathogenesis. *J Neurosurg*: 29,339-349,1968
77. Kassell, N, Alves, W.: Randomized, double-blind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J.Neurosurg.*: 84,221-228,1996
78. Kassell, N F, Torner, J.C., Haley, E.C., Jane, J.A., Adams, H.P., Kongable, G.L.: The aneurysmal cooperative study on the timing of aneurysm surgery Part I: Overall management results. *J.Neurosurg.*: 73,18-36,1990
79. Katz, L, Ebmeyer, U., Safar, P., Radovsky, A., Neumar, R.: Outcome model of asphyxial arrest in rats. *J.Cereb.Blood Flow Metab.*: 15,6:1032-1039,1995
80. Kaufmann, A M, Cardoso, E.R.: Aggravation of vasogenic cerebral edema by multiple-dose mannitol. *J Neurosurg*: 77,584-589,1992
81. Kempski, O, Obert, C., Mainka, T., Heimann, A., Strecker, U.: "Small volume resuscitation" as treatment of cerebral blood flow disturbances and increased ICP in trauma and ischemia. *Acta Neurochir.[Suppl]*: 66,114-117,1996

82. Khanna, S, Davis, D., Peterson, B., Fisher, B., Tung, H., O'Quigley, J., Deutsch, R.: Use of hypertonic saline in the treatment of severe refractory posttraumatic intracranial hypertension in pediatric traumatic brain injury. *Crit Care Med.*: 28,4:1144-1151,2000
83. Kien, N D, Kramer, G.C.: Acute hypotension caused by rapid hypertonic saline infusion in anesthetized dogs. *Anesth.Analg.*: 73,5:597-602,1991
84. Kienlen, J, Mathieu-Daude, J.C.: Pharmakinetics and changes in the physical properties of blood and urine after administration of dextran 60 000. *Ann Fr Anesth Reanim*: 9 No. 6,495-500,1990
85. Kirkpatrick, P, Smielewski, P.: Early Effects of Mannitol in Patients with head injuries assessed using bedside multimodality monitoring. *Neurosurgery*: 39,4:714-721,1996
86. Klatzo, I: Evolution of brain edema concepts. *Acta Neurochir.[Suppl]*: 60,3-6,1994
87. Koizumi, J, Yoshida, Y., Nakazawa, T., Ooneda, G.: Experimental studies of ischemic brain edema. 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke*: 8,1-8,1986
88. Kramer, G C, Gunther, R., Walsh, C.: Early effects of dextran in resuscitation of hemorrhage with hypertonic saline/dextran. *Am.J Physiol.*: 263,297-297,1992
89. Kramer, G C, Perron, P., Lindsey, C., Ho, H., Gunther, R., Boyle, W., Holcroft, J.: Small-volume resuscitation with hypertonic saline dextran solution. *Surgery*: 100,2:239-245,1986
90. Kraus, G E, Bucholz, R.D., Yoon, K.W., Knuepfer, M.M., Smith, K.-R.: Cerebrospinal fluid endothelin-1 and endothelin-3 levels in normal and neurosurgical patients: A clinical study and literature review. *Surg.Neurol.*: 35,20-29,1991
91. Kreimeier, U, Brückner, U., Niemczyk, S., Messmer, K.: Hyperosmotic saline dextran for resuscitation from traumatic-hemorrhagic hypotension: Effect on CBF. *Circulatory Shock*: 32,83-99,1990
92. Kreimeier, U, Frey, L., Messmer, K.: Small volume resuscitation. *Current Opinion in Anaesthesiology*: 6,400-408,1993
93. Kreimeier, U, Messmer, K.: Hypertonic saline dextran resuscitation during the initial phase of acute endotoxemia: Effect on regional blood flow. *Crit.Care Med.*: 19,801-809,1991
94. Kreimeier, U, Messmer, K.: Was gibt es Neues in der Schockforschung? *Der Chirurg*: 66,1029-1039,1995
95. Kreimeier, U, Messmer, K.: Small-volume resuscitation: from experimental evidence to clinical routine. Advantages and disadvantages of hypertonic solutions. *Acta Anaesthesiol Scand*: 625-638,2002
96. Kuyama, H, Ladds, A., Branston, N., Nitta, M., Symon, L.: An experimental study of acute subarachnoid hemorrhage in baboons: changes in cerebral blood volume, blood flow, electrical activity and water content. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry*: 47,354-364,1984
97. Lang, E W, Diehl, R.R., Mehdorn, H.M.: Cerebral autoregulation testing after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: the phase relationship between arterial blood pressure and cerebral blood flow velocity. *Crit.Care Med.*: 29,1:158-163,2001
98. LeRoux, P, Winn, R.: Predicting outcome in poor-grade patients with subarachnoid hemorrhage: a retrospective review of 159 aggressively managed cases. *J.Neurosurg.*: 85,39-49,1996

99. Lilien, O M, Andaloro, V.A.: Mannitol and ionic shifts. *Invest Urology*: 7,467-477,1970
100. Little, J R: Modification of acute focal ischemia by treatment with mannitol. *Stroke*: 9,1:4-9,1978
101. Ljundgren, B, brandt, L.: Causes of unfavorable outcome after early aneurysm surgery. *Neurosurgery*: 13,6:629-633,1983
102. Longa, E Z, Weinstein, P.R., Carlson, S., Cummins, R.: Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*: 20,84-91,1989
103. Luvisotto, T L, Auer, R.N., Sutherland, G.R.: The effect of mannitol on experimental cerebral ischemia, revisited. *Neurosurgery*: 38,1:131-138,1996
104. MacDonald, R, Weir, B.: A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke*: 22,971-982,1991
105. Manninen, P H, Lam, A.M.: The effect of high-dose mannitol on serum and urine electrolytes and osmolality in neurosurgical patients. *Can J Anaesth*: 34 No.5,442-446,1987
106. Mast, H, Marx, P.: Neurological deterioration under isovolemic hemodilution with hydroxyethyl starch in acute cerebral ischemia. *Stroke*: 22, No 5,680-683,1-5-1991
107. Matsuda, M, Handa, J.: Sequential changes of cerebral blood flow after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir*: 105,98-106,1990
108. Mattox, K L, Maningas, P.A., Moore, E.E., Mateer, J.R., Marx, J.A., Aprahamian, C., Burch, J.M., Pepe, P.E.: Prehospital hypertonic saline/dextran infusion for post-traumatic hypotension. The U.S.A. Multicenter Trial. *Ann.Surg.*: 213,5:482-491,1991
109. Mazzoni, M C, Borgström, P., Arfors, K.E.: Dynamic fluid redistribution in hyperosmotic resuscitation of hypovolemic hemorrhage. *Am.J Physiol.*: 255,H629-H637,1988
110. Menger, M D, Thierjung, C.: Dextran vs. hydroxyethylstarch in inhibition of postischemic leukocyte adherence in striated muscle. *Circulatory Shock*: 41,248-255,1993
111. Menzies, S A, Hoff, J.T., Betz, A.L.: Middle cerebral artery occlusion in rats: a neurological and pathological evaluation of a reproducible model. *Neurosurgery*: 31,100-107,1992
112. Meyer, C H, Lowe, D., Meyer, M., Richardson, P.L., Neil-Dwyer, G.: Progressive change in cerebral blood flow during the first three weeks after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*: 12,58-76,1983
113. Mickey, B, Vorstrup, S., Voldby, B., Lindewald, H., Harmsen, A., Lassen, N.A.: Serial measurement of regional cerebral blood flow in patients with SAH using ^{133}Xe inhalation and emission computerized tomography. *J.Neurosurg.*: 60,916-922,1984
114. Montoya, C P, Campbell-Hope, L.J., Pemberton, K.D., Dunnett, S.B.: The "staircase test": a measure of independent forelimb reaching and grasping abilities in rats. *J.Neurosci.Methods*: 36,2-3:219-228,1991
115. Moon, P, Hollyfield-Gilbert, M.A., Myers, T.L., Uchida, T., Kramer, G.C.: Fluid compartments in hemorrhaged rats after hyperosmotic crystalloid and hyperoncotic colloid resuscitation. *Am.J.Physiol.*: 1995
116. Moreno, M, Murphy, C.: Increase in serum potassium resulting from the administration of hypertonic mannitol and other solutions. *J Lab Clin Med*: 73,291-298,1969

117. Mountz, J M, McGillicuddy, J.E., Wilson, M.W., Bartold, S.P., Siegal, E.M.: Pre- and postoperative blood flow changes in subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir.*: 109,30-33,1991
118. Muizelaar, J P, Enoch, P.: Mannitol causes compensatory cerebral vasoconstriction and vasodilatation in response to blood viscosity. *J Neurosurg.*: 59,822-828,1983
119. Muizelaar, J P, Lutz, H.A., Becker, D.P.: Effect of mannitol on ICP and CBF and correlation with pressure autoregulation in severely head-injured patients. *J Neurosurg.*: 61,700-706,1984
120. Munar, F, Ferrer, A.M., de Nadal, M., Poca, M.A., Pedraza, S., Sahuquillo, J., Garnacho, A.: Cerebral hemodynamic effects of 7.2% hypertonic saline in patients with head injury and raised intracranial pressure. *J Neurotrauma*: 17,1:41-51,2000
121. Neafsey, E J, Sievert, C.: A second forelimb motor area exists in rat frontal cortex. *Brain Res.*: 232,1:151-156,28-1-1982
122. Neil-Dwyer, G, Lang, D.A., Doshi, B., Gerber, C.J., Smith, P.W.: Delayed cerebral ischemia: The pathological substrate. *Acta Neurochir.*: 131,137-145,1994
123. Nolte, D, Messmer, K.: Attenuation of postischemic microvascular disturbances in striated muscle by hyperosmolar saline dextran. *Am.J.Physiol.*: 263:H1411-H1416,1992
124. Nornes, H: The role of intracranial pressure in the arrest of hemorrhage in patients with ruptured intracranial aneurysm. *J.Neurosurg.*: 39,226-234,1973
125. Nornes, H: Cerebral arterial flow dynamics during aneurysm hemorrhage. *Acta Neurochir.*: 41,39-48,1978
126. Origitano, T C, Waschke, K.F.: Sustained increased cerebral bloodflow with prophylactic hypervolemic hemodilution ("triple-H-therapy") after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*: 27 No. 5,729-740,1990
127. Piepgras, A, Schmiedek, P.: Characterization of an anterior circulation rat subarachnoid hemorrhage model. *Stroke*: 26,2347-2352,1995
128. Prough, D, Whitley, J., Olympio, M., Taylor, C., DeWitt, D.: Hypertonic/hyperoncotic Fluid Resuscitation after hemorrhagic shock in dogs. *Anesth.Analg.*: 73,738-744,1991
129. Prough, D, Whitley, J., Taylor, C., Deal, D., DeWitt, D.: Regional cerebral blood flow following resuscitation from hemorrhagic shock with hypertonic saline. *Anesthesiology*: 75,319-327,1991
130. Prunell, G F, Mathiesen, T., Diener, H., Svendgaard, N.: Experimental subarachnoid hemorrhage: Subarachnoid blood volume, mortality rate, neuronal cell death, cerebral blood flow, and perfusion pressure in three different rat models. *Neurosurgery*: 52,165-176,2003
131. Pulsinelli, W, Levy, D.E.: Increased damage after ischemic stroke in patients with hyperglycemia with or without established diabetes. *Am J Med*: 74,540-544,1983
132. Pulsinelli, W A, Brierley, J.B.: A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*: 10,3:267-272,1979
133. Pulsinelli, W A, Buchan, A.M.: The four-vessel occlusion rat model: method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke*: 19,7:913-914,1988

134. Qureshi, A I, Wilson, D.A.: Treatment of elevated intracranial pressure in experimental intracerebral hemorrhage: comparison between mannitol and hypertonic saline. *Neurosurgery*: 44, No.5,1055-1063,1999
135. Rasmussen, G, Hauerberg, J., Waldemar, G., Gjerris, F., Juhler, M.: Cerebral blood flow autoregulation in experimental subarachnoid hemorrhage in rat. *Acta Neurochir.*: 119,128-133,1992
136. Ravussin, P, Archer, D.P.: Effects of rapid mannitol infusion on cerebral bloodvolume. *J Neurosurg*: 64,104-113,1986
137. Rinkel, G J E, Mamuka, D.: Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms. A systematic review. *Stroke*: 29,251-256,1998
138. Ronkainen, A, Miettinen, H.: Risk of harboring an unruptured intracranial aneurysm. *Stroke*: 29,359-362,1998
139. Sasaki, T, Lehman, M.: Barrier disruption in the major cerebral arteries during the acute stage after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*: 19,177-184,1986
140. Schatzmann, C, Heissler, H., Samii, M.: Treatment of elevated intracranial pressure by infusion of 10% saline in severely head injured patients. *Acta Neurochir.[Suppl]*: 71,31-33,1998
141. Schmid-Elsaesser, R, Zausinger, S., Baethmann, A., Reulen, H.J.: Subarachnoid hemorrhage in an experimental model of focal cerebral ischemia. *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.*: 16 (Suppl 1),225-225,1996
142. Schmid-Elsaesser, R, Zausinger, S., Hungerhuber, E., Baethmann, A., Reulen, H.J.: A critical reevaluation of the intraluminal thread model of focal cerebral ischemia. Evidence of inadvertent premature reperfusion and subarachnoid hemorrhage in rats by Laser-Doppler flowmetry. *Stroke*: 29,2162-2170,1998
143. Schmoker, J D, Zhuang, J., Shackford, S.R.: Hypertonic Fluid Resuscitation Improves Cerebral oxygen Delivery and reduces Intracranial Pressure after Hemorrhagic Shock. *The Journal of Trauma*: 31,1607-1613,1991
144. Schürer, L, Dautermann, C., Härtl, R., Murr, R., Berger, S., Röhrich, F., Messmer, K., Baethmann, A.: Treatment of hemorrhagic hypotension with hypertonic/hyperoncotic solutions: Effects on regional CBF and brain surface oxygen tension. *Eur Surg Res*: 24,1-12,1992
145. Schwab, S, Schwarz, S., Spranger, M., Keller, E., Bertram, M., Hacke, W.: Moderate hypothermia in the treatment of patients with severe middle cerebral artery infarction. *Stroke*: 29,12:2461-2466,1998
146. Schwab, S, Steiner, T., Aschoff, A., Schwarz, S., Steiner, H.H., Jansen, O., Hacke, W.: Early hemicraniectomy in patients with complete middle cerebral artery infarction. *Stroke*: 29,9:1888-1893,1998
147. Schwartz, A Y, Masago, A., Sehba, F.A., Bederson, J.B.: Experimental models of subarachnoid hemorrhage in the rat: a refinement of the endovascular filament model. *J.Neurosci.Methods*: 96,2:161-167,15-3-2000
148. Schwarz, S, Schwab, S., Bertram, M., Aschoff, A., Hacke, W.: Effects of hypertonic saline hydroxyethyl starch solution and mannitol in patients with increased intracranial pressure after stroke. *Stroke*: 29,8:1550-1555,1998

149. Schwarz, S, Georgiadis, D., Aschoff, A., Schwab, S.: Effects of hypertonic (10%) saline in patients with raised intracranial pressure after stroke. *Stroke*: 33,1:136-140,2002
150. Shackford, S R, Bourguignon, P.R., Wald, S.L., Rogers, F.B., Osler, T.M., Clark, D.E.: Hypertonic saline resuscitation of patients with head injury: a prospective, randomized clinical trial. *J Trauma*: 44,1:50-58,1998
151. Sheikh, A A, Matsuoka, T.: Cerebral effects of resuscitation with hypertonic saline and a new low-sodium hypertonic fluid in hemorrhagic shock and head injury. *Crit.Care Med*: 24 No. 7,1226-1232,1996
152. Shirane, R, Weinstein, P.R.: Effect of Mannitol on local cerebral blood flow after temporary complete cerebral ischemia in rats. *J.Neurosurg.*: 76,486-492,1992
153. Simma, B, Burger, R.: A prospective, randomized and controlled study of fluid management in children with severe head injury: lactated Ringer's solution versus hypertonic saline. *Crit.Care Med*: 26 No. 7,1265-1270,1998
154. Skarphedinsson, J O, Harding, H.: Repeated measurements of cerebral blood flow changes in rats. Comparisons between the hydrogen clearance method and laser Doppler flowmetry. *Acta Physiol.Scand.*: 134,133-142,1988
155. Smith, G J, Kramer, G.C.: A comparsion of several hypertonic solutions for resuscitation of bleed sheep. *J.Surg.Res.*: 39,517-528,1985
156. Smith, S, Hall, E.D.: Protective effects of tirilazad mesylate and metabolite U-89678 against blood-brain barrier damage after subarachnoid hemorrhage and lipid peroxidative neuronal injury. *J.Neurosurg.*: 84,229-233,1996
157. Statistisches Bundesamt Deutschland: Todesursachenstatistik Deutschland.
<http://www.destatis.de>: 2002
158. Strecker, U, Dick, W., Madjidi, A., Ant, M.: The effect of the type of colloid on the efficacy of hypertonic saline colloid mixtures in hemorrhagic shock: dextran versus hydroxyethyl starch. *Resuscitation*: 25,1:41-57,1993
159. Stummer, W, Weber, K., Tranmer, B., Baethmann, A., Kempski, O.: Reduced mortality and brain damage after locomotor activity in gerbil forebrain ischemia. *Stroke*: 25,9:1862-1869,1994
160. Suarez, J I, Qureshi, A.I., Bhardwaj, A., Williams, M.A., Schnitzer, M.S., Mirski, M., Hanley, D.F., Ulatowski, J.A.: Treatment of refractory intracranial hypertension with 23.4% saline. *Crit.Care Med.*: 26,6:1118-1122,1998
161. Sudlow, C L M, Warlow, C.P.: Comparable studies of the incidence of stroke and its pathological types. *Stroke*: 28,491:499-1997
162. Tettenborn, D, Dycka, J.: Prevention and treatment of delayed ischemic dysfunction in patients with aneurysmal SAH. *Stroke*: 21,IV:85-89,1990
163. The Hemodilution in stroke study group: Hypervolemic Hemodilution treatment of acute stroke. *Stroke*: 20 No. 3,317-323,1988
164. The Hypothermia after Cardiac Arrest Study Group: Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N Engl J Med*: 346,8:549-556,21-2-2002

165. The international study of unruptured intracranial aneurysms investigators: Unruptured intracranial aneurysms - risk of rupture and risks of surgical intervention. *The New England Journal of Medicine*: 339,34:1998
166. Thiel, M, Buessecker, F., Eberhardt, K.: Effects of hypertonic saline on expression of human polymorphonuklear leukocyte adhesion molecules. *J Leukoc Biol*: 70,261-273,2001
167. Toda, N, Okamura, T.: Endothelial modulation of contractions caused by oxyhemoglobin and N-Nitro-L-Arginine in isolated dog and monkey cerebral arteries. *Stroke*: 24,1584-1589,1993
168. Treib, J, Haaß, A.: Rheologische Eigenschaften von Hydroxyethylstärke. *Dtsch.med.Wschr.*: 122,1319-1322,1997
169. Trojanowski, T: Early Effects of Experimental Arterial Subarachnoid Haemorrhage on the Cerebral Circulation Part I: Experimental Subarachnoid Haemorrhage in cat and its Pathophysiologic effects. *Acta Neurochir.(Wien.)*: 72,79-94,1984
170. Tseng, M-Y, Al-Rawi, P.G., Pickard, J.D., Rasulo, F.A., Kirkpatrick, P.J.: Effect of hypertonic saline on cerebral blood flow in poor-grade patients with subarachnoid hemorrhage. *Stroke*: 34,1389-1397,2003
171. Umansky, F, Shalit, M.: Regional cerebral blood flow in the acute stage of experimentally induced subarachnoid hemorrhage. *J.Neurosurg.*: 58,210-216,1983
172. Vassar, M, Fischer, R., Holcroft, J.: A multicenter trial for resuscitation of injured patients with 7,5% sodium chloride - the effect of added dextran 70. *Arch Surg*: 128,1003-1013,1993
173. Vassar, M, Holcroft, J.: Use of hypertonic-hyperoncotic fluids for resuscitation of trauma patients. *J Intensive Care Med*: 7,189-198,1992
174. Vassar, M, Perry, C., Gannaway, W., Holcroft, J.: 7.5% sodium chloride/dextran for resuscitation of trauma patients undergoing helicopter transport. *Arch Surg*: 126,1065-1072,1991
175. Veelken, J A, Laing, R.J., Jakubowski, J.: The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke*: 26,7:1279-1283,1995
176. Vialet, R, Albanèse, J.: Isovolumic hypertonic solutes (sodium chloride or mannitol) in the treatment of refractory posttraumatic intracranial hypertension: 2 ml/kg 7,5% saline is more effective than 2ml/kg 20% mannitol. *Crit.Care Med*: 31,6:1683-1687,2003
177. Victorino, G P, Newton, C.R., Curran, B.: Dextran modulates microvascular permeability: effect in isotonic and hypertonic solutions. *Shock*: 19,2:183-186,2003
178. Wade, C E, Kramer, G.C., Grady, J.J., Fabian, T.C., Younes, R.N.: Efficacy of hypertonic 7.5% saline and 6% dextran-70 in treating trauma: a meta-analyzis of controlled clinical studies. *Surgery*: 122,3:609-616,1997
179. Walsh, J C, Kramer, G.C.: Resuscitation of hypovolemic sheep with hypertonic saline/dextran: the role of dextran. *Circulatory Shock*: 34,336-343,1991
180. Waschke, K F, Albrecht, D.M., van Ackern, K., Kuschinsky, W.: Coupling between Cerebral Blood Flow and Metabolism after Hypertonic/Hyperoncotic Fluid Resuscitation from Hemorrhage in Conscious rats. *Anesth.Analg.*: 82,52-60,1996
181. Weaver, J P, Fisher, M.: Subarachnoid Hemorrhage: an update of pathogenesis, diagnosis and management. *J.Neurol.Sci.*: 125,119-131,1994

182. Widenka, D C, Medele, R.J., Stummer, W., Bise, K., Steiger, H.J.: Inducible nitric oxide synthase: a possible key factor in the pathogenesis of chronic vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *J.Neurosurg.*: 90,6:1098-1104,1999
183. Wijdicks, M, Vermeulen, M., Murray, G.D., Hijdra, A., van Gijn, J.: The effects of treating hypertension following SAH. *Clin Neurol Neurosurg*: 1990
184. Wilkes, N J, Woolf R.L.: Hydroxyethyl starch in balanced electrolyte solution (Hextend)- pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles in healthy volunteers. *Anesth.Analg.*: 94 ,3:538-544,2002
185. Zausinger, S, Baethmann, A., Schmid-Elsaesser, R.: Anesthetic methods in rats determine outcome after experimental focal cerebral ischemia: Mechanical ventilation is required to obtain controlled experimental conditions. *Brain Res.Protocols*: 9,112-121,2002
186. Zausinger, S, Hungerhuber, E., Baethmann, A., Reulen, H.J., Schmid-Elsaesser, R.: Neurological impairment in rats after transient middle cerebral artery occlusion: A comparative study under various treatment paradigms. *Brain Res.*: 863,94-105,2000
187. Zausinger, S, Thal, S.C., Kreimeier, U., Messmer, K., Schmid-Elsaesser, R.: Hypertonic Fluid Resuscitation from Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Neurosurgery*: in press,2004
188. Zerebrovaskuläre Arbeitsgruppe der Schweiz und Schweizerische Herzstiftung: Die aneurysmatische Subarachnoidalblutung. *Schweizerische Ärztezeitung*: 81,23:1249-1257,2000
189. Zhao, W, Alonso, O.F., Loor, J.Y.: Influence of early posttraumatic hypothermia therapy on local cerebral blood flow and glucose metabolism after fluid-percussion brain injury. *J.Neurosurg.*: 90,510:519-1999
190. Zhuang, J, Shackford, S.R., Schmoker, J.D.: Colloid infusion after brain injury: EFFECT ON INTRACRANIAL PRESSURE; CEREBRAL BLOOD FLOW AND OXYGEN DELIVERY. *Crit.Care Med*: 23 No. 1,140-148,1995
191. Zornow, M H, Oh, Y.S.: A comparison of the cerebral and hemodynamic effects of mannitol and hypertonic saline in animal model of brain injury. *Acta Neurochir.Suppl.Wien.*: 51,324-325,1990
192. Zornow, M H, Schellinger, P.D.: Acute cerebral effects of isotonic crystalloid and colloid solutions following cryogenic brain injury in the rabbit. *Anesthesiology*: 69,180-184,1988
193. Zornow, M H, Todd, M.M., Moore S.S.: The acute cerebral effects of changes in plasma osmolality and oncotic pressure. *Anesthesiology*: 67,936-941,1987
194. Zuccarello, M, Anderson, D.K.: Protective effect of a 21-aminosteroid on the blood-brain barrier following subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke*: 20,367-371,1989

G. Lebenslauf

Name: Christian Friedrich Bermüller

Geburtstag: 10. April 1978

Geburtsort: Landshut

Eltern: Dr. med. Gerd Friedrich Bermüller, Facharzt für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Elke Bermüller, geb. Bachmaier, Direktrice

Familienstand: ledig

Schulbildung:

1984 – 1989 Grundschule Neuötting

1989 – 1997 König-Karlmann-Gymnasium, Altötting, allgemeine Hochschulreife

Zivildienst:

1997 – 1998 Mobiler Sozialer Hilfsdienst und Essen auf Rädern beim BRK

Studium:

1998 – 2000 Vorklinischer Abschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München

2000 Ärztliche Vorprüfung

2000 – 2003 Klinischer Abschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München

2001 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung

2003 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr: 04/2004 – 08/2004 Innere Medizin, Med. Klinik I, Prof. A. Holstege, Klinikum Landshut

08/2004 – 12/2004 HNO, HNO-Klinik des Universitätsspitals Zürich,
Prof. S. Schmid

12/2004 – 04/2005 Chirurgie, Chir. Klinik, Prof. Filler, Klinikum Landshut

04/2005 Ärztliche Prüfung

05/2005 Approbation

seit 06/2005 Assistenzarzt an der Universitätsklinik und Ambulanz für Hals-Nasen-
Ohrenheilkunde der Universität Ulm, Prof. Dr. med. G. Rettinger

H. Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn PD Schimd-Elsaesser für die Überlassung des Themas der Arbeit.

Meinem Betreuer, Herrn Dr. Stefan Zausinger danke ich für die gute Betreuung während der Experimente und der erwiesenen Unterstützung bei der schriftlichen Fixierung der Ergebnisse.

Bei Frau Veronika Bischoff möchte ich mich für ihre Unterstützung bei der histologischen Aufarbeitung der Gehirne sehr herzlich bedanken. Ihr Engagement als MTA für diese Arbeit ging weit über das übliche Maß hinaus und durch ihre exzellente Arbeit wurden manche Ergebnisse dieser Arbeit erst möglich.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Serge Thal, der mir geduldig die nötigen Kenntnisse der Rattenpräparation beibrachte und auch sonst zur Stelle war, wenn Probleme auftauchten.

Herrn Prof. Dr. A. Baethman gilt mein Dank für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe „Experimentelle Neurochirurgie“ am Institut für Chirurgische Forschung der LMU. Hier konnte ich nicht nur die Experimente durchführen und die Daten erheben, sondern in der professionellen Arbeitsumgebung lernen, was es bedeutet, wissenschaftlich zu arbeiten; der Teamgeist und die freundliche Atmosphäre trugen das ihre zur Arbeitsmotivation und – freude bei.

Herrn Prof. Dr. Dr. hc. mult. K. Messmer danke ich für die Aufnahme am Institut für Chirurgische Forschung.

Meinen Eltern möchte ich für die geistig-moralische Unterstützung in Höhen und Tiefen des Studiums und der vorliegenden Arbeit danken.

Ohne sie und meine Freundin Maike Gaugler, die mich in meinem Studium, bei den Examina und nicht zuletzt während der Phase der Experimente ertragen und unterstützt hat, wäre es mir nicht möglich gewesen, diese Experimente durchzuführen und diese Arbeit zu schreiben.

