

**EINFLUSS VON XENON  
AUF ZENTRALNERVÖSE LEISTUNGEN  
NACH EXTRAKORPORALER ZIRKULATION  
MIT ZEREBRALEN LUFTEMBOLIEN  
BEI DER RATTE**

---

JASMIN BERKMANN



Aus der Klinik für Anaesthesiologie der Technischen Universität München  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. Phys. E. Kochs)

und aus dem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung  
der Technischen Universität München

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher)

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

Vorgelegt über das

Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung

der Ludwig-Maximilians-Universität München

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. H. Erhard)

**Einfluss von Xenon auf zentralnervöse Leistungen  
nach extrakorporaler Zirkulation mit zerebralen Luftembolien  
bei der Ratte**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Jasmin Berkmann

aus

Oberstdorf

München, 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle  
Referent: Univ.-Prof. Dr. M. H. Erhard  
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. R. Schulz

Tag der Promotion: 15. Juli 2005

Für meine Familie

<b><u>1</u></b>	<b><u>Einleitung</u></b>	<b><u>1</u></b>
<b><u>2</u></b>	<b><u>Schrifttum</u></b>	<b><u>2</u></b>
<b>2.1</b>	<b>Gedächtnis und Verhalten</b>	<b>2</b>
2.1.1	Ultrakurzzeitgedächtnis/Sensorisches Gedächtnis	2
2.1.2	Kurzzeitgedächtnis/Arbeitsgedächtnis	3
2.1.3	Langzeitgedächtnis	4
2.1.3.1	Das deklarative Gedächtnis	5
2.1.3.2	Das nicht-deklarative Gedächtnis	6
2.1.4	Verhalten	6
2.1.5	Verhaltenstests	7
2.1.5.1	Open-Field-Test	7
2.1.5.2	Radial-Arm-Maze-Test	7
2.1.5.3	Morris-Water-Maze-Test	8
2.1.5.4	Modifizierter Hole-Board-Test nach Ohl	9
<b>2.2</b>	<b>Extrakorporale Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine</b>	<b>11</b>
2.2.1	Neurologische Defizite nach extrakorporaler Zirkulation	12
2.2.2	Neurokognitive Defizite nach extrakorporaler Zirkulation	13
2.2.3	Ätiologie und Pathophysiologie	14
2.2.4	Risikofaktoren	18
2.2.5	Auswirkungen	19
2.2.6	Neuroprotektion während extrakorporaler Zirkulation	20
2.2.6.1	Nicht-pharmakologische Strategien	20
2.2.6.2	Pharmakologische Strategien	23
<b>2.3</b>	<b>Xenon</b>	<b>26</b>
2.3.1	Allgemeines	26
2.3.2	Pharmakokinetik	26
2.3.3	Pharmakodynamik	28
2.3.3.1	Anästhetische und analgetische Wirksamkeit	28
2.3.3.2	Wirkung auf das zentrale Nervensystem	29
2.3.3.3	Kardiovaskuläre Wirkung	29
2.3.3.4	Neuroprotektion und Nebenwirkungen	30
<b><u>3</u></b>	<b><u>Eigene Untersuchungen</u></b>	<b><u>33</u></b>
<b>3.1</b>	<b>Zielvorstellungen</b>	<b>33</b>
<b>3.2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>33</b>
3.2.1	Versuchstiere	33
3.2.2	Versuchsplan	34
3.2.3	Chirurgische Präparation	36
3.2.3.1	Anästhesie	37
3.2.3.2	Präparation der Gefäße	39
3.2.3.3	Extrakorporale Zirkulation und Applikation der Luftbläschen	42
3.2.3.4	Erholungsphase nach EKZ	45
3.2.3.5	Messparameter	45
3.2.4	Neurologische Untersuchung	46
3.2.4.1	Versuchsplan	46
3.2.4.2	Versuchsdurchführung und Bewertung der sensorischen Untersuchungen	47
3.2.4.3	Versuchsdurchführung und Bewertung der motorischen Untersuchungen	49
3.2.5	Der modifizierte Hole-Board-Test nach Ohl	52
3.2.5.1	Der Versuchskäfig	53
3.2.5.2	Das modifizierte Hole-Board	54
3.2.5.3	Zeitlicher Versuchsplan	55
3.2.5.4	Versuchsdurchführung	56

3.2.5.5	Datenerfassung	59
3.2.5.6	Qualitäten des modifizierten Hole-Board-Testes	61
3.2.6	Histologische Untersuchung	64
3.2.6.1	Probenentnahme	64
3.2.6.2	Probenaufbereitung	64
3.2.6.3	Mikroskopische Auswertung	65
<b>3.3</b>	<b>Statistik</b>	<b>67</b>
<b>3.4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>68</b>
3.4.1	Physiologische Parameter	69
3.4.1.1	Erhobene Parameter während der Operation	69
3.4.1.2	Körpergewicht	72
3.4.2	Neurologische Parameter	74
3.4.2.1	Sensorik	74
3.4.2.2	Motorik	75
3.4.3	Im modifizierten Hole-Board-Test erhobene Parameter	80
3.4.3.1	Kognitive Parameter	81
3.4.3.2	Verhaltensparameter	84
3.4.3.3	Motorische Parameter	96
3.4.4	Histologische Parameter	98
<b>4</b>	<b><u>Diskussion</u></b>	<b><u>103</u></b>
<b>4.1</b>	<b>Diskussion der Methoden</b>	<b>103</b>
4.1.1	Extrakorporale Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine	103
4.1.2	Injektion von Luftemboli	104
4.1.3	Xenon	108
4.1.4	Neurologische Untersuchung	110
4.1.5	Modifizierter Hole-Board-Test	112
<b>4.2</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>115</b>
4.2.1	Physiologische Parameter	115
4.2.1.1	Überlebensrate	115
4.2.1.2	Erhobene Messparameter während der Operation	115
4.2.1.3	Körpergewicht	116
4.2.2	Neurologische Untersuchung	117
4.2.2.1	Sensorik	117
4.2.2.2	Motorik	118
4.2.3	Modifizierter Hole-Board-Test	119
4.2.3.1	Kognitive Parameter	119
4.2.3.2	Verhaltensparameter	121
4.2.3.3	Motorische Parameter	123
4.2.4	Histologische Untersuchung	124
4.2.5	Abschließende Betrachtung und Ausblick	126
<b>5</b>	<b><u>Zusammenfassung</u></b>	<b><u>127</u></b>
<b>6</b>	<b><u>Summary</u></b>	<b><u>129</u></b>
<b>7</b>	<b><u>Literaturverzeichnis</u></b>	<b><u>131</u></b>
<b>8</b>	<b><u>Tabellenverzeichnis</u></b>	<b><u>150</u></b>
<b>9</b>	<b><u>Abbildungsverzeichnis</u></b>	<b><u>151</u></b>
<b>10</b>	<b><u>Abkürzungsverzeichnis</u></b>	<b><u>154</u></b>
<b>11</b>	<b><u>Danksagung</u></b>	<b><u>156</u></b>

## 1 EINLEITUNG

Neurologische und neurokognitive Defizite nach herzchirurgischen Eingriffen sind auch über fünfzig Jahre nach der Einführung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) noch ein häufig beschriebenes Problem (ROACH et al., 1996; NEWMAN et al., 2001b).

Trotz jahrzehntelanger Forschung sind die zugrundeliegenden Pathomechanismen für diese postoperativen zentralnervösen Schäden nach extrakorporaler Zirkulation (EKZ) noch nicht vollständig geklärt. Ätiologisch handelt es sich vermutlich um ein multifaktorielles Geschehen, wobei insbesondere zerebrale Emboli, die meist von Luftemboli repräsentiert werden, eine bedeutende Rolle spielen (BORGER und FEINDEL, 2002). Auch mehrere präventive pharmakologische und nicht-pharmakologische Strategien zur Neuroprotektion wurden verfolgt. Letztendlich fehlen aber noch immer standardisierte, klinisch einsetzbare neuroprotektive Methoden.

Das Narkosegas Xenon zeichnet sich neben seiner anästhetischen und analgetischen Potenz besonders durch seine günstigen pharmakokinetischen und hämodynamischen Eigenschaften aus. Zudem besitzt dieses seltene Edelgas myokard- und neuroprotektive Effekte. Neurotoxische Wirkungen konnten bisher nicht nachgewiesen werden. Die Neuroprotektivität wird dabei über eine nicht-kompetitive Hemmung des N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptors vermittelt (FRANKS et al., 1998). Die Aktivierung dieses Rezeptors scheint eine wichtige Stellung bei der Entstehung von neuronalem Zellschaden einzunehmen. Ähnlich wie Lachgas verfügt Xenon allerdings über die Fähigkeit, Luftbläschen zu vergrößern (LOCKWOOD, 2002). Inwieweit sich Xenon positiv durch seine ausgeprägte Neuroprotektivität, oder negativ durch Vergrößerung von Luftbläschen, die während EKZ als zerebrale Luftemboli präsent sind, auf die postoperative neurologische und neurokognitive Funktion von Ratten auswirken wird, soll in dieser Studie untersucht werden.

## 2 SCHRIFTTUM

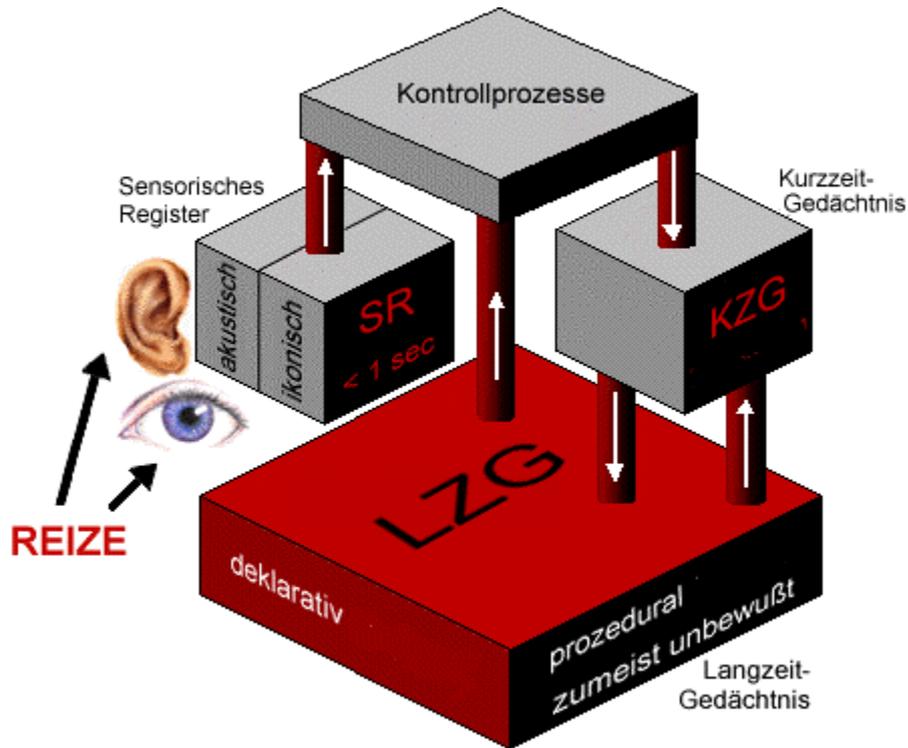
### 2.1 Gedächtnis und Verhalten

Unser Gedächtnis ermöglicht es uns, erlernte Erfahrungen, Kenntnisse und Fähigkeiten zu speichern und bei Bedarf auch abzurufen. Es besteht aus mehreren Speichersystemen, die in verschiedenen Gehirnarealen lokalisiert sind, wobei die Hippokampusformation mit Hippokampus, Gyrus dentatus, Fimbria und Subikulum und der präfrontale Kortex von zentraler Bedeutung sind. Das Speichermedium für Information sind die Nervenzellen des Gehirns, die wie ein Netzwerk untereinander verbunden sind. Lernprozesse führen zu einer strukturellen Veränderung der synaptischen Verschaltungen des Nervensystems, wobei neue Bahnen geknüpft beziehungsweise verstärkt werden (O'KEEFE und CONWAY, 1978; SQUIRE, 1992).

Prinzipiell beruhen Lern- und Gedächtnisprozesse auf der Reizaufnahme (Enkodierung), der Speicherung (Konsolidierung) und Abfrage (Recall) der Erinnerung. Je nachdem, wie viel Zeit zwischen Aufnahme des Reizes und Abfrage liegt, lässt sich das Gedächtnis chronologisch in verschiedene Systeme einteilen (BADDELEY, 2003).

#### 2.1.1 Ultrakurzzeitgedächtnis/Sensorisches Gedächtnis

Zum Ultrakurzzeitgedächtnis (Sensorisches Register) gehören alle sensorischen Gedächtnisinhalte, die zum Beispiel durch optische Reize (ikonisches Gedächtnis), auditive Information (echoisches Gedächtnis) oder durch haptische Information (taktiles Gedächtnis) gewonnen werden (WAUGH und NORMAN, 1965). Die Speicherung der gewonnenen Information erfolgt kurzfristig für wenige Millisekunden und über Kontrollprozesse wird eine Auswahl getroffen, welche Inhalte für kurze Zeit im Kurzzeitgedächtnis oder in dauerhafter Form im Langzeitgedächtnis konserviert und welche Informationen wieder verblassen, also vergessen werden sollen (siehe Abbildung 1) (ATKINSON und SHIFFRIN, 1971).

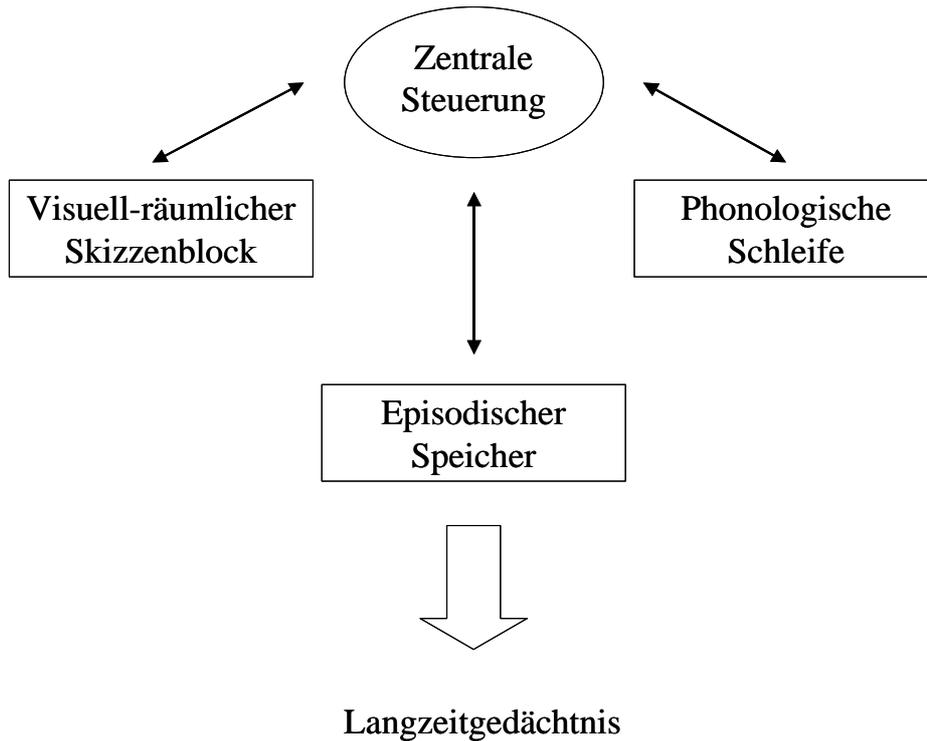


**Abbildung 1:** Rolle des Ultrakurzzeitgedächtnisses (Sensorisches Register) im Gedächtnismodell modifiziert nach ATKINSON und SHIFFRIN, 1971, Online im Internet:URL: <<http://arbeitsblaetter.stangl-taller.at/Gedaechtnis/ModelleSpeicher.shtml>> (Abfrage 01.09.2004).

SR = Sensorisches Register ; KZG = Kurzzeitgedächtnis; LZG = Langzeitgedächtnis

## 2.1.2 Kurzzeitgedächtnis/Arbeitsgedächtnis

Nach neuesten Erkenntnissen besteht das Arbeitsgedächtnis aus einem sogenannten Multi-komponenten-Modell. Es übernimmt nicht nur die kurzzeitige Speicherung (Sekunden bis Minuten) von Informationen, sondern es beteiligt sich auch an körpereigenen Denkprozessen. Zusammengesetzt ist das Arbeitsgedächtnis aus einer zentralen Steuerung, der phonologischen Schleife, dem visuell-räumlichen Skizzenblock und dem episodischen Gedächtnis (siehe Abbildung 2) (BADDELEY, 2003).



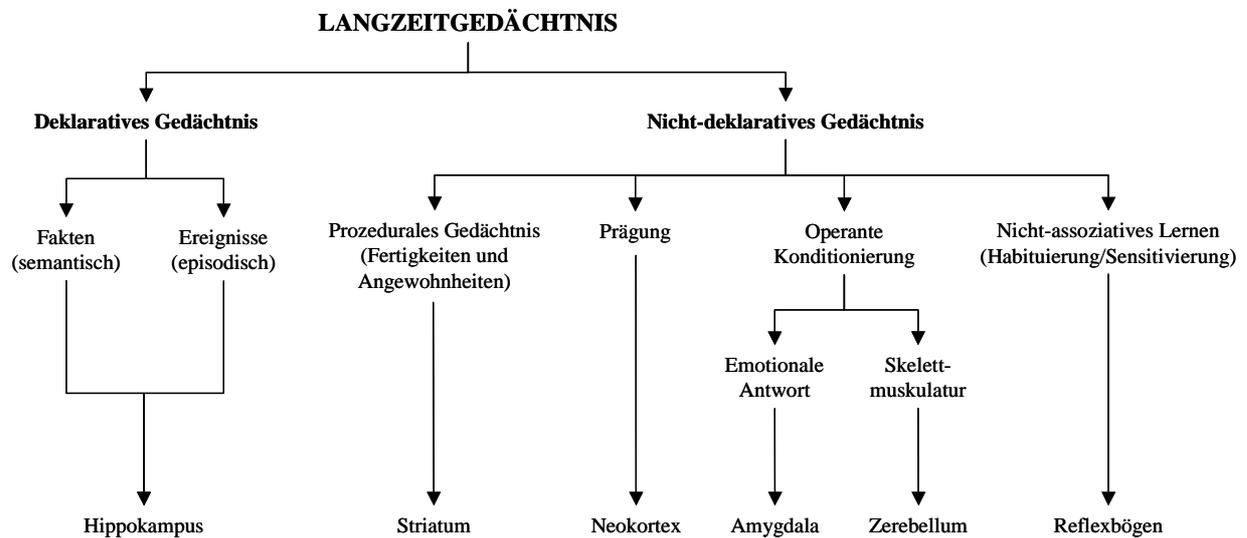
**Abbildung 2:** *Multikomponenten-Modell des Arbeitsgedächtnisses (modifiziert nach BADDELEY, 2003).*

Die zentrale Steuerung wird auch Exekutive genannt und fungiert als Gewaltenteilung zwischen automatischen Vorgängen und einem eingreifenden Aufmerksamkeitssystem. Die phonologische Schleife ist ein verbales und akustisches Speichersystem und ist vermutlich beteiligt am Lernen von Mutter- und Fremdsprachen. Beim visuell-räumlichen Skizzenblock handelt es sich um ein Speichersystem mit limitierter Kapazität, dessen Komponenten auch getrennt voneinander agieren können. Als Zwischenspeicher mit ebenfalls eingeschränkter Kapazität dient der episodische Speicher, der die Informationen verknüpft und vermutlich eine Verbindung zum Langzeitgedächtnis darstellt (BADDELEY, 2003).

### 2.1.3 Langzeitgedächtnis

Im Langzeitgedächtnis werden Informationen für längere, teilweise lebenslange Zeit gespeichert. Die Speicherkapazität von diesem Gedächtnissystem ist nahezu unbegrenzt. Das Langzeitgedächtnis kann in das deklarative (bewusste) und in das nicht-deklarative (unbewusste) Gedächtnis, die sich noch weiter differenzieren lassen, eingeteilt werden. Eine zusammenfas-

sende Darstellung des Langzeitgedächtnisses ist in folgender Abbildung aufgezeigt (siehe Abbildung 3) (SQUIRE, 1998).



**Abbildung 3:** Gliederung des Langzeitgedächtnisses mit assoziierten neuronalen Korrelaten (modifiziert nach SQUIRE, 1998).

### 2.1.3.1 Das deklarative Gedächtnis

Der Begriff „deklarativ“ stammt aus der Humanmedizin und bezieht sich auf das bewusste Gedächtnis. Diese Gedächtnisform ist von der Integrität des Hippokampus und dessen vermittelten Strukturen abhängig (O'KEEFE und CONWAY, 1978; SQUIRE, 1992). Weiterhin kann dieses System in eine semantische und in eine episodische Komponente eingeteilt werden, wobei sich die gespeicherte Information bezüglich ihres Inhaltes unterscheidet. Das semantische Gedächtnis konserviert Fakten und Regeln (sogenanntes Allgemeinwissen, zum Beispiel historische Daten), wohingegen sich das episodische Gedächtnis mit persönlichen Ereignissen beschäftigt, die autobiographisch gespeichert werden (siehe Abbildung 3) (TULVING et al., 1988).

Kontrovers wird diskutiert, ob das semantische und das episodische Gedächtnis auf einer Ebene liegen (SQUIRE und ZOLA, 1996), oder ob das episodische Gedächtnis eine Erweiterung des semantischen darstellt, indem Informationen nur über das semantische in das episodische Gedächtnis gelangen (TULVING und MARKOWITSCH, 1998).

### 2.1.3.2 Das nicht-deklarative Gedächtnis

Dieses Gedächtnissystem setzt sich aus mehreren unbewussten Gedächtnisformen zusammen und befasst sich mit Fähigkeiten, für die eine bewusste Erinnerung an vergangene Ereignisse nicht notwendig ist. Zu diesem System gehören das prozedurale Gedächtnis, die Prägung, die Konditionierung und das nicht assoziative Lernen. Das prozedurale Gedächtnis ist verantwortlich für erlernte motorische und kognitive Fähigkeiten und Angewohnheiten, die automatisiert ablaufen, wie zum Beispiel Auto fahren oder das Spielen eines Instrumentes. Diese Funktionen werden vor allem dem Neostriatum zugeordnet. Unter Prägung, auch „Priming“ genannt, versteht man eine erhöhte Wiedererkennungswahrscheinlichkeit für einen früheren unbewussten Reiz. Lokalisiert ist dieses System im Bereich des Neokortex. Wird ein unbedingter Reflex (Speichelfluss) mit einem bedingten Reflex (akustischer Reiz) verknüpft, entsteht ein neues assoziativ erlerntes Verhaltensmuster und man spricht von einer klassischen Konditionierung. Die Konditionierung kann unterteilt werden in die Konditionierung der Skelettmuskulatur mit Beteiligung des Zerebellums und in die emotionale Konditionierung mit Abhängigkeit von der Amygdala. Mit nicht-assoziativem Lernen bezeichnet man Erregungsprozesse die von Natur aus eine Reaktion hervorrufen, wie etwa das Zusammenzucken nach einem lauten Geräusch. Diese Prozesse sind über Reflexbögen verschaltet und können je nach Auftreten des Reizes eine Sensitivierung oder Habituation erlangen (siehe Abbildung 3) (SQUIRE, 1998).

### 2.1.4 Verhalten

Das Verhalten umfasst alle Aktivitäten und körperlichen Reaktionen auf Umweltreize, die sich beim Menschen oder beim Tier beobachten und messen lassen. Als Ethogramm wird die Gesamtheit aller Verhaltensweisen bezeichnet, die sich unterschiedlichen Funktionskreisen zuordnen lassen. Hierzu gehören das Ernährungs-, das Sozial-, das Fortpflanzungs-, das Ausscheidungs-, Komfort-, Erkundungs- und Fluchtverhalten. Die verschiedenen Verhaltensmuster sind entweder angeboren oder erlernte Erfahrungen, wobei eine angeborene Verhaltensweise durch Übung und Lernen auch vervollständigt werden kann. In der Ethologie versteht man unter Lernen die Modifikation von Wissen oder Verhalten durch Wahrnehmung von Veränderungen in der Umwelt. Die kognitiven Fähigkeiten eines Individuums ermöglichen erst ein Überleben-verträgliches Handeln. Diese Eigenschaft umfasst das Wahrnehmen und Interpretieren von Stimuli aus der Umgebung, das Verständnis und die Speicherung gewonnener Informationen und die Reaktion mit einem angepassten, sinnvollem Verhalten. Abweichungen im Normalverhalten können als Hinweis für funktionelle Störungen dienen. Mit

Verhaltenstests lassen sich sowohl Tiermodelle charakterisieren, die Wirkung von Pharmaka auf das Verhalten beurteilen, als auch neurobiologische Mechanismen, welche einer funktionellen Störung zugrunde liegen, untersuchen (OHL et al., 2001a).

### **2.1.5 Verhaltenstests**

Mit Verhaltenstests ist es möglich, unterschiedliche Verhaltensdimensionen näher zu beschreiben, wobei sich diese teilweise untereinander überschneiden. Zu nennen wäre hier die Emotion (HALL, 1934), das Explorations- (FILE und WARDILL, 1975b), das Sozial- und das Angstverhalten (FILE und HYDE, 1978), sowie die visuell-räumliche Orientierung (MORRIS, 1984) und die Motivation (OHL et al., 2001b). Im Folgenden werden die gebräuchlichsten Verhaltenstests für Nagetiere mit ihren Vor- und Nachteilen kurz beschrieben.

#### **2.1.5.1 Open-Field-Test**

Beim Open-Field-Test handelt es sich um eine runde oder eckige, offene, hell ausgeleuchtete, allseits von einer undurchsichtigen Wand umgebenen Arena, die in ein Zentralfeld und mehrere Außenfelder unterteilt ist. Die Tiere werden immer an gleicher Stelle eingesetzt und mit dem offenen Feld konfrontiert. Vermeidung gegenüber dem offenen Feld wird als Angstverhalten interpretiert (BELZUNG und LE PAPE, 1994). Zusätzlich werden andere Verhaltensmuster wie Linienüberquerungen, Aufrichten auf die Hinterbeine, Kot- und Urinabsatz sowie Pflege des Felles beobachtet, womit Aussagen über emotionales, exploratives und motivationales Verhalten, Allgemeinbefinden und motorische Fähigkeiten getroffen werden können. Mit diesem Test lassen sich feinste Verhaltensänderungen in Stresssituationen darstellen, wobei ein schneller Gewöhnungseffekt eintritt und somit eine Langzeitbeobachtung nicht möglich ist (HALL, 1934).

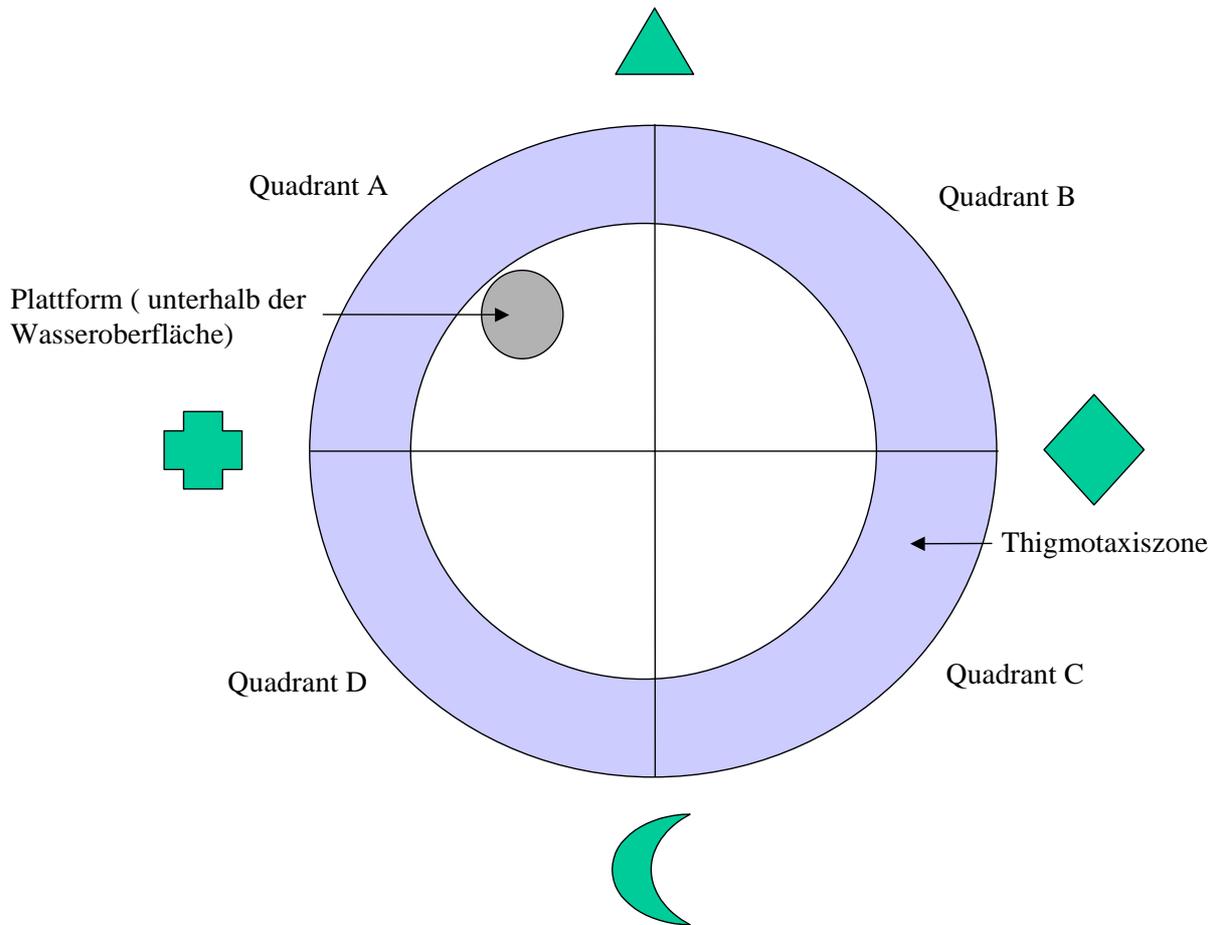
#### **2.1.5.2 Radial-Arm-Maze-Test**

Von einer zentralen Plattform gehen mehrere in ihrer Gestaltung unterschiedliche (überdacht oder offen, breit oder eng) Labyrintharme sternförmig aus. Am Ende mancher Arme befinden sich Futterbelohnungen. Dokumentiert werden beim Radial-Arm-Maze-Test die Anzahl der gesamten Armbesuche, die Anzahl wiederholter Armbesuche, Anzahl der Armbesuche ohne Futterbelohnung (Fehler) und die gesamte Dauer, die eine Ratte benötigt, um alle Futterbelohnungen zu finden. Dieser Test gibt Aufschluss sowohl über die Leistung des Arbeitsgedächtnisses (wiederholte Armbesuche) und des Langzeitgedächtnisses (Anzahl der Fehler),

als auch über die Fähigkeit der Tiere sich visuell-räumlich zu orientieren (spatial learning). Ebenso können motivationales und exploratives Verhalten und motorische Eigenschaften der Ratten näher beschrieben werden. Unterschiedliche Verhaltensweisen lassen sich mit diesem Test beurteilen, auch Langzeitbeobachtungen sind möglich, wohingegen zur erfolgreichen Durchführung ein langes Training und auch eine Nahrungskarenz notwendig sind (OLTON und SAMUELSON, 1976).

### **2.1.5.3 Morris-Water-Maze-Test**

Ein bis drei Zentimeter unter der Wasseroberfläche eines Schwimmbeckens befindet sich eine Plattform, die von einer schwimmenden Ratte nicht gesehen werden kann. Die Position der Plattform kann variiert werden. Das Becken ist optisch in vier Quadranten und in Ringbereiche unterteilt (siehe Abbildung 4). Die Aufgabe der Ratten besteht darin, die Plattform von unterschiedlichen Startpunkten aus schwimmend zu erreichen. Die Tiere können sich dabei an verschiedenen Markierungen, die sich an den Wänden um den Pool befinden, orientieren. Gemessen wird die Schwimmstrecke, die Schwimmgeschwindigkeit, die Aufenthaltsdauer in den einzelnen Quadranten und die Zeitdauer bis zum Auffinden der Plattform. Der Water-Maze-Test erlaubt es, Rückschlüsse über die Funktion des deklarativen Gedächtnisses (Latenz bis zum Auffinden der Plattform), über die Leistung des Arbeitsgedächtnisses (Wiederholungsversuch bei wechselnder Plattformposition), über die motorischen Fähigkeiten (Schwimmstrecke, -geschwindigkeit) und auch über das Angstverhalten der Tiere (Thigmotaxis, Zeit in der sich das Tier nahe der Wand fortbewegt) zu ziehen. Zu den Vorteilen dieser Versuchsanordnung zählt, dass der Test schnell erlernbar und ohne Nahrungskarenz durchführbar ist, nachteilig ist aber neben hohen Investitionskosten (spezielle Software) zu erwähnen, dass als Motivation psychischer Stress (Fluchtreaktion vor Wasser) eingesetzt wird und Tiere mit starker körperlicher Beeinträchtigung diesen Test nicht absolvieren können (MORRIS et al., 1982).

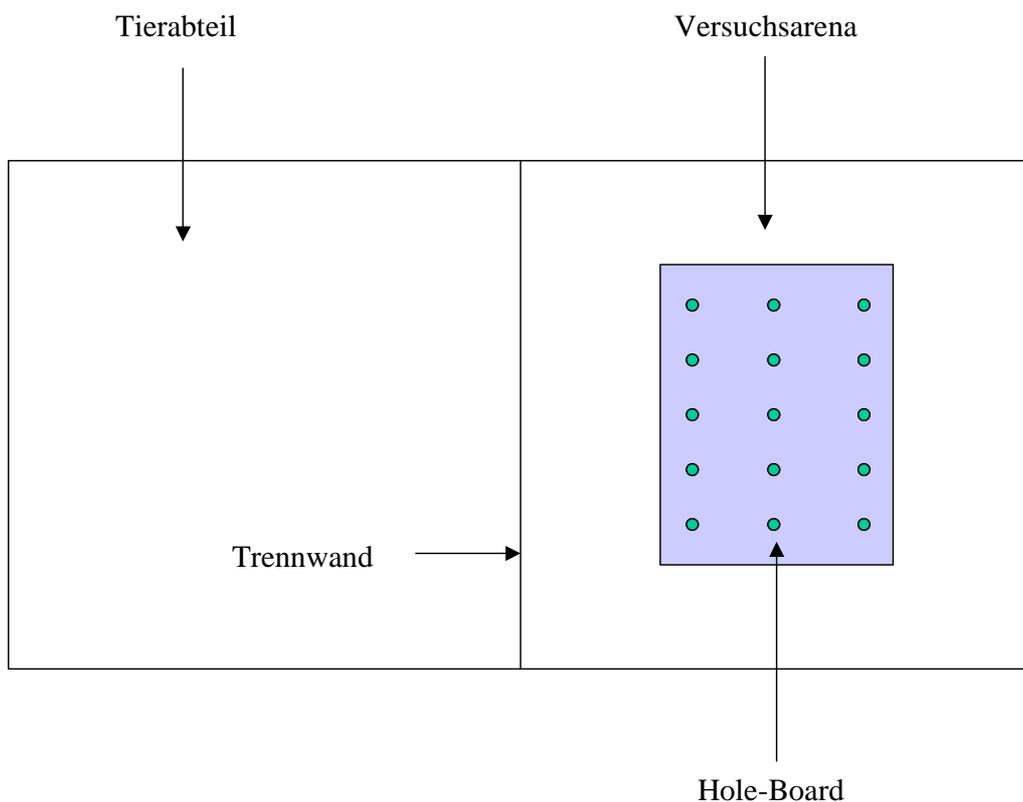


**Abbildung 4:** Schematische Darstellung des Morris-Water-Maze-Tests mit Einteilung in die verschiedenen Quadranten und Zonen (modifiziert nach MORRIS et al., 1982).

#### 2.1.5.4 Modifizierter Hole-Board-Test nach Ohl

In diesem Test sind die Eigenschaften des Open-Field-Testes und des Hole-Boards miteinander vereint. Der Hole-Board-Test wurde ursprünglich zur Untersuchung explorativer Parameter bei Nagetieren entwickelt (FILE und WARDILL, 1975a), dann zur Evaluierung kognitiver Parameter bei Tupaia modifiziert (OHL et al., 1998) und schließlich für die Untersuchung mehrerer Verhaltensmuster bei Ratten adaptiert (OHL et al., 2001a). Der Versuchsaufbau besteht aus einer einem offenen Feld entsprechenden Versuchsarena, in deren Mitte sich ein Brett mit mehreren Löchern (Hole-Board) befindet (siehe Abbildung 5). Die Tiere sollen in diesem Test erlernen, dass sich nur in speziell markierten Löchern eine Futterbelohnung befindet. Gemessen wird eine Vielzahl von Parametern (fehlerhaft oder wiederholt besuchte Löcher, Fresszeiten, Putzphasen, Kot- und Urinabsatz), die es ermöglichen, ein breites Spektrum an Verhaltensdimensionen, wie Angst- und Sozialverhalten, Erregung, Bewegungsaktivi-

tät, exploratives und motivationales Verhalten, aber auch kognitive Fähigkeiten näher zu beschreiben (OHL et al., 2001a). Um den Tieren eine möglichst stressfreie Testsituation ohne Isolationsstress und ohne Transport zur Versuchsarena zu bieten, ist das Tierabteil, in dem die Tiere außerhalb der Testzeiten untergebracht sind, über eine durchsichtige mit Löchern versehene Trennwand direkt an die Versuchsarena angeschlossen (siehe 3.2.5) (OHL et al., 2001b).



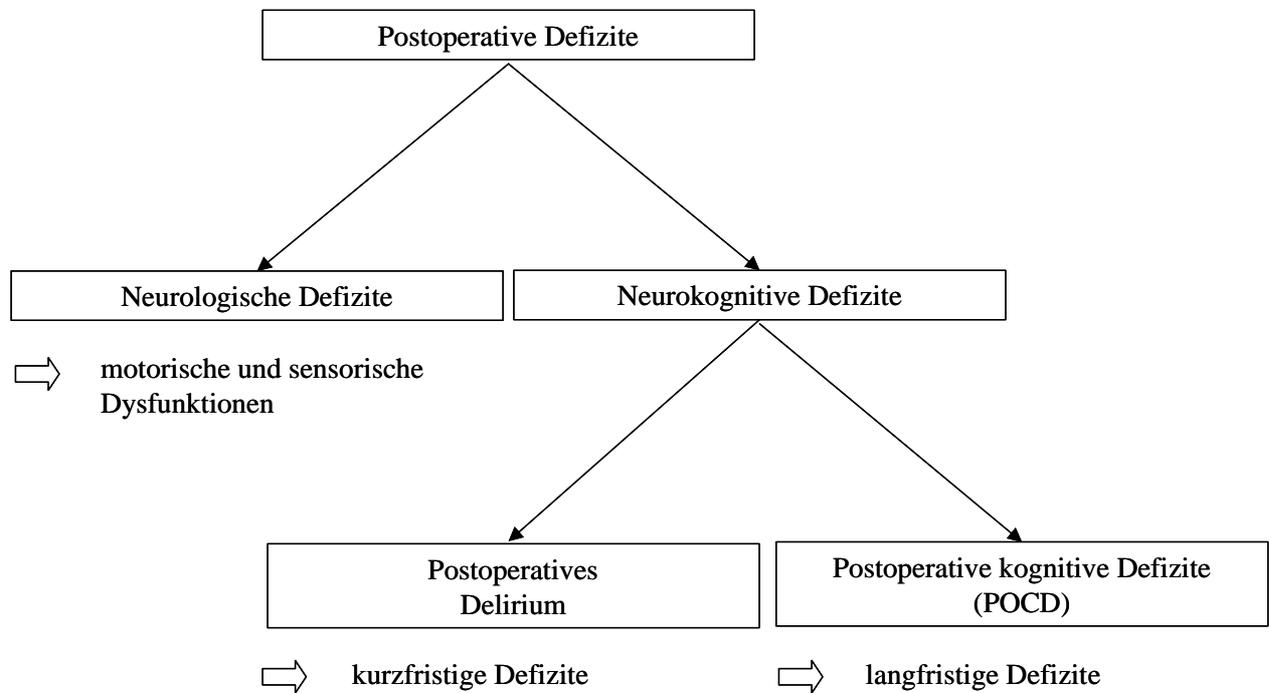
**Abbildung 5:** Schematischer Versuchsaufbau des modifizierten Hole-Board-Testes (modifiziert nach OHL et al., 2001b).

### 2.2 Extrakorporale Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine

Zum ersten Mal wurde die extrakorporale Zirkulation (EKZ) beim Menschen in der Mitte des letzten Jahrhunderts beschrieben (DENNIS et al., 1951). Die Herz-Lungen-Maschine (HLM) mit EKZ findet Anwendung bei Eingriffen am nicht schlagenden Herzen, wie bei Bypassoperationen, Herzklappenersatz und –rekonstruktionen, bei Korrekturen kongenitaler Herzmißbildungen oder bei Herz- und Lungentransplantationen. Hierbei übernimmt die HLM die Funktion des Herzens und der Lunge. Das Blut wird über einen venösen, meistens im rechten Vorhof platzierten Katheter in ein venöses Reservoir drainiert. In einem Oxygenator wird das Blut mit Gasen (Sauerstoff, Narkosegase) angereichert, Kohlendioxid wird eliminiert. Anschließend wird das oxygenierte Blut dem Patienten über einen arteriellen Zugang (Aorta) zugeleitet. Dabei kann zwischen einer vollständigen und einer partiellen EKZ unterschieden werden. Bei der vollständigen wird das gesamte venöse Blut zur HLM geleitet, so dass kein Restblut mehr über die Pulmonararterie in die Lunge gelangt. Bei der partiellen EKZ wird nur ein Teil des venösen Blutes über die HLM drainiert, der andere Teil gelangt weiterhin über den rechten Ventrikel – Lunge – linker Vorhof in den Körperkreislauf (ARENS, 1976).

Trotz der fortschreitenden Weiterentwicklung der technischen Grundlagen der HLM und dem verbesserten Verständnis der physiologischen Vorgänge während einer EKZ sind Schäden am zentralen Nervensystem (ZNS) infolge eines herzchirurgischen Eingriffes immer noch ein häufig beschriebenes Problem. Diese postoperativen Komplikationen gehen einher mit einer verlängerten Hospitalisation, einer erhöhten Morbidität und Mortalität, steigenden Kosten und einem ungünstigen Einfluss auf die Lebensqualität (NEWMAN et al., 2001a). Es wird unterschieden zwischen neurologischen Schäden, die sich meist als motorische oder sensorische Defizite präsentieren und einfach diagnostiziert werden können und den subtileren neurokognitiven Dysfunktionen. Die letzteren werden in der Literatur durch Aufmerksamkeits-, Kognitions-, Wiedererkennung-, Orientierungs-, Gedächtnis- und Lerndefizite charakterisiert. In den letzten Jahrzehnten haben sich aber zahlreiche Synonyme für diese kognitiven Defizite etabliert, zum Beispiel mentale Dysfunktion, postoperatives Delirium oder Verwirrheitszustand. Bei der bestehenden unübersichtlichen Menge an Definitionen für diese postoperativ auftretenden Störungen ist es für das allgemeine Verständnis wichtig, einheitliche Definitionen zu finden. Es sollte dabei zwischen dem eher kurzfristig auftretenden Delirium und den

über einen längeren Zeitraum bestehenden postoperativen kognitiven Defiziten (POCD) differenziert werden (siehe Abbildung 6) (MACKENSEN und GELB, 2004).



**Abbildung 6:** Einteilung der postoperativ auftretenden neurologischen und neurokognitiven Defizite nach extrakorporaler Zirkulation (modifiziert nach MACKENSEN und GELB, 2004).

### 2.2.1 Neurologische Defizite nach extrakorporaler Zirkulation

In einer Studie von ROACH et al. (1996) hatten bei der Entlassung 6,1 % der Patienten neurologische Komplikationen nach herzchirurgischen Eingriffen, wobei diese noch weiter in zentralnervöse Schäden von Typ I und Typ II unterteilt werden. Zu den Schäden vom Typ I zählen fokaler Schlaganfall, Stupor oder Koma, zu Typ II gehören die Verschlechterung der intellektuellen Fähigkeiten, Gedächtnisdefizite und Krampfanfälle. Die Inzidenzen für Schäden vom Typ I liegen bei 3,1 % und für Typ II bei 3,0 %. In einer weiteren Untersuchung, bei der man jedoch zusätzlich zu aortokoronarem Bypass eine Herzklappenrekonstruktion durchgeführt hat, konnten bei 16 % der Patienten neurologische Defizite festgestellt werden, von denen 8,4 % der Kategorie vom Typ I und 7,3 % vom Typ II entsprachen (WOLMAN et al., 1999).

### 2.2.2 Neurokognitive Defizite nach extrakorporaler Zirkulation

Bei den kurzfristigen neurokognitiven Defiziten handelt es sich meist um gravierende und offensichtlich auftretende kognitive Probleme, die auch oft als postoperatives Delirium bezeichnet werden. Diese Ausfälle treten akut mit einem Manifestationsmaximum am zweiten postoperativen Tag auf, und werden auch als ein nichtspezifisches organisches Gehirnsyndrom bezeichnet, welches sich mit einer eingeschränkten psychomotorischen Funktion, Bewusstsein, Kognition, Gedächtnis oder mit gestörten Emotionen äußern kann (MARCANTONIO et al., 1994). Die Angaben bezüglich der Inzidenzen für das Auftreten eines postoperativen Deliriums variieren in der Literatur beträchtlich (0 bis 73 %) und hängen von mehreren Faktoren wie Patientenalter, Operationsmethode, Bildungsstand des Patienten, bestehenden zusätzlichen Erkrankungen und der Methodik der Diagnosefindung ab (DYER et al., 1995). Zur Prävention und Therapie des postoperativen Deliriums ist eine schnelle und korrekte Diagnosefindung mit Behandlung der zugrundeliegenden Ursachen unumgänglich (MARCANTONIO et al., 2001) und trägt auch entscheidend zur Prophylaxe von POCD bei, für die das nicht erkannte oder unbehandelte postoperative Delirium einen zusätzlichen Risikofaktor darstellt (ROGERS et al., 1989).

Bei den längerfristigen postoperativen kognitiven Defiziten handelt es sich eher um subtilere Beeinträchtigungen. Zu diesen zählen vor allem Bewusstseins Einschränkungen, Gedächtnis- und Lernschwierigkeiten, Verlust kognitiver Fähigkeiten oder ein gestörtes Wiedererkennungs- und Orientierungsvermögen, die meist nur mit Hilfe von komplexen Testbatterien zu identifizieren sind (MACKENSEN und GELB, 2004). Bezüglich der Inzidenz besteht eine große Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren (Patientenalter, Operationsmethode, Bildungsstand des Patienten, bestehende zusätzliche Erkrankungen, Methodik der Diagnosefindung). Bei circa 80 % aller herzchirurgischer Patienten mit EKZ, konnten POCD bei Entlassung aus der Klinik diagnostiziert werden, die bei 42 % der Patienten auch noch nach drei bis fünf Jahren bestehen blieben (NEWMAN et al., 2001b). Die Angaben der Inzidenz für POCD nach nicht herzchirurgischen (abdominalen, thorakalen oder orthopädischen) Eingriffen ohne EKZ belaufen sich auf deutlich geringere Werte. So wurde in einer Multicenter-Studie mit älteren Patienten nach einer Woche bei 25,8 %, nach drei Monaten bei 9,9 % und nach einem Jahr nur noch bei 1,0 % der Patienten POCD detektiert (MOLLER et al., 1998). Diesen Beeinträchtigungen nach nicht herzchirurgischen Operationen ohne EKZ werden Faktoren wie Hypotension, zerebrale Hypoxämie, der Einfluss der verwendeten Sedativa und Anästhetika und metabolische Störungen ursächlich zugrundegelegt (RASMUSSEN, 1999).

Seit Jahrzehnten werden die Mechanismen, die zu zentralnervösen Schäden nach EKZ führen, erforscht und kontrovers diskutiert. Es handelt sich hier am ehesten um ein multifaktorielles Geschehen, an dem verschiedene Parameter unterschiedlich stark beteiligt sind. Zu den wichtigsten Ursachen gehören zerebrale Emboli und Hypoperfusion während der EKZ (GILMAN, 1965), systemische Entzündungsreaktionen (HALL et al., 1997) und genetische Prädisposition (NEWMAN et al., 1999) (siehe 2.2.3).

### **2.2.3 Ätiologie und Pathophysiologie**

#### Zerebrale Embolien

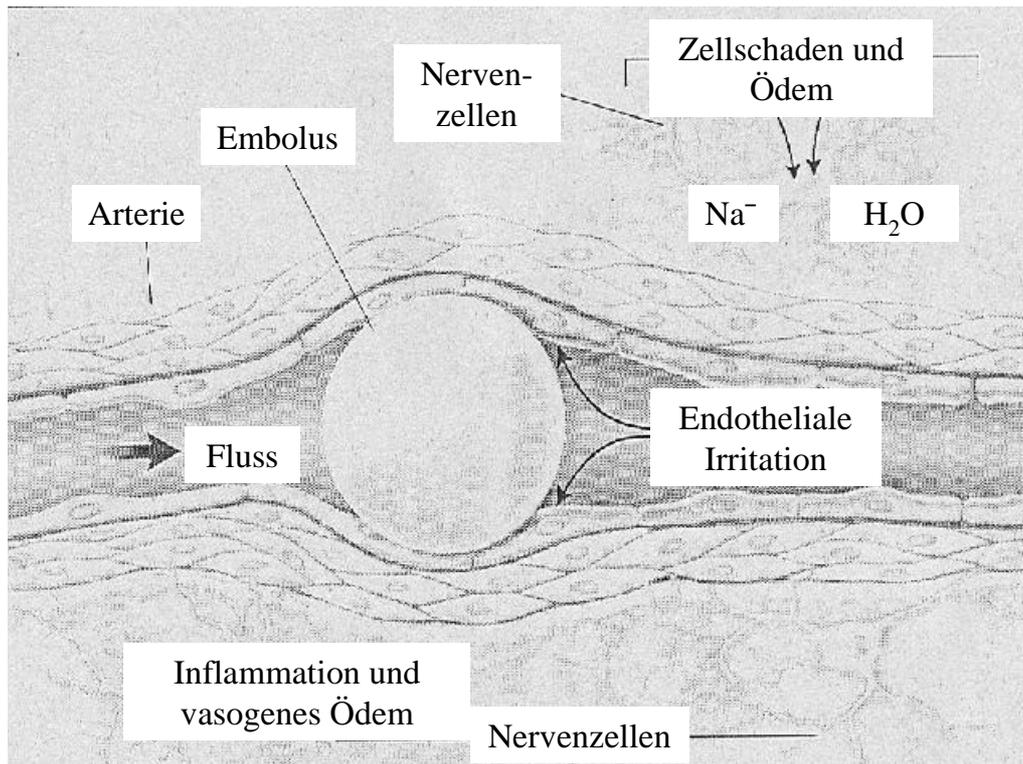
Eine große Anzahl von Daten liegt vor, aus denen hervorgeht, dass Patienten während einer EKZ tausenden von zerebralen Mikroemboli ausgesetzt werden. Bei der Durchführung einer EKZ können sowohl feste als auch gasförmige Emboli entstehen. Aus klinischen Untersuchungen an herzchirurgischen Patienten ist bekannt, dass das Ausmaß von POCD mit der Häufigkeit mikroembolischer Ereignisse und der Dauer der EKZ assoziiert ist (STUMP et al., 1996), und es gibt Hinweise dafür, dass diese Mikroemboli überwiegend durch Luftbläschen repräsentiert sind (BORGER und FEINDEL, 2002). Gasförmige Emboli können vielerorts entstehen. Eine wichtige Quelle stellt die Operation am offenen Herzen dar, bei der ein direkter Kontakt zwischen Blut und Luft geschaffen wird. So werden Luftbläschen vom EKZ-Kreislaufsystem selbst durch Turbulenzen oder durch das Vakuum bei der venösen Drainage produziert, beziehungsweise vergrößert, wenn schon vorher vorhanden. Auch der Oxygenator seinerseits bleibt eine potentielle Quelle für die Entstehung von gasförmigen Emboli. Jegliche Injektion ins venöse Reservoir stellt ein weiteres Risiko für das Einbringen von Luftbläschen dar (BORGER et al., 2001). Durch die Begasung des Operationsfeldes mit Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) scheint die Menge an Luftbläschen abzunehmen, die aus der direkten Umgebung ins Herz gelangen kann (WEBB et al., 1997). Die transkranielle Doppler-Sonographie (TCD) ermöglicht eine Detektion zirkulierender intrakranieller Mikroembolien. Mit dieser Untersuchungsmethode wurde in zahlreichen Studien der Zusammenhang zwischen zerebraler embolischer Belastung und neurokognitiver Dysfunktion nachgewiesen (PUGSLEY et al., 1994).

Partikelförmige Emboli können durch den EKZ-Kreislauf selbst in Form von Thrombozyten-Fibrin-Aggregaten oder anderen Debris entstehen, aber auch bei der Reperfusion von Blut kann der Körper mit festen lipidhaltigen Emboli belastet werden (BROOKER et al., 1998). Jedoch vor allem Patienten mit kardiovaskulären Vorerkrankungen wie Arteriosklerose, besit-

zen ein erhöhtes Risiko für partikelförmige Emboli (BLAUTH et al., 1992). Die atheromatösen Plaques lösen sich vornehmlich bei der Kanülierung der Aorta und beim Klemmen beziehungsweise beim Entfernen von Klemmen an der Aorta (BAKER et al., 1995; SYLIVRIS et al., 1998).

Zu den Gefäßerkrankungen zählen vor allem moderate bis schwerwiegende atheromatöse Veränderungen der Aorta. Diese Ablagerungen können röntgenologisch, über einen Herzkatheter, durch intraoperative Palpation, mit Hilfe einer transösophagealen Echokardiographie (TEE), oder vor Ort mit Hilfe einer epiaortalen Echokardiographie diagnostiziert werden. Dabei bietet der epiaortale Ultraschall den anderen Methoden gegenüber den Vorteil, dass die gesamte Aorta ascendens dargestellt werden kann (SYLIVRIS et al., 1997). Mit Hilfe einer TEE wurden 189 herzchirurgische Patienten anhand ihrer atherosklerotischen Veränderungen in einer Skala von I bis V eingestuft. Patienten mit Einstufungsgrad III bis V (mobile Plaque-Komponente) zeigten eine Schlaganfallrate von bis zu 45 % (HARTMANN et al., 1996), ebenso konnte eine Korrelation zwischen dem Grad der atheromatösen Veränderung und der Länge der postoperativen Hospitalisationsphase aufgezeigt werden (BARBUT et al., 1997).

Gelangen nun feste oder gasförmige Partikel in die zerebrale Zirkulation werden vor allem Gefäße mit einem Durchmesser von 30 bis 60  $\mu\text{m}$  verlegt (DUTKA, 1985). Diese Obstruktion führt zu einer verminderten Perfusion des distal gelegenen Versorgungsgebietes (Ischämie), außerdem strömt Natrium und Wasser ins Gefäßlumen und ein zytotoxisches Ödem entwickelt sich. Die Oberfläche des Luftbläschens oder des Plaquefragmentes wirkt wie ein Fremdkörper und zieht eine zelluläre und humorale Immunantwort nach sich. Ebenso kommt es durch den Embolus zu einer mechanischen Irritation des Endothels. All diese Vorgänge führen zu einer verstärkten Minderdurchblutung mit Schädigung der Neuronen, was im schlimmsten Fall zum Zelluntergang durch Nekrose oder Apoptose führen kann (siehe Abbildung 7) (MUTH und SHANK, 2000).



**Abbildung 7:** *Obstruktion einer zerebralen Endarterie durch ein Luftbläschen und deren Auswirkungen auf das umliegende Gewebe (modifiziert nach MUTH und SHANK, 2000).*

Auch spielen vor allem durch Thrombozyten, Fibrin und Leukozyten vermittelte inflammatorische Reaktionen bei der Pathophysiologie zerebraler Luftembolien eine Rolle. Die Luftbläschen fließen zwar nur kurz durch die Kapillaren, führen aber trotzdem, vermutlich durch eine Adhäsion von Leukozyten, die sich an das geschädigte Endothel binden, zu einem eingegengten Gefäßlumen, was in einem verringerten Blutfluss resultiert. Doxzyklin hemmt mehrere Leukozytenfunktionen und führte nach Luftinjektion von 100  $\mu\text{l}/\text{kg}$  in die A. carotis interna (CAAE) beim Kaninchen zu besseren somatosensorisch evozierten Potentialen (SSEP) und vier Stunden nach dem Eingriff zu einem verbessertem neurologischen Ergebnis im Vergleich zur Gruppe, die kein Doxzyklin erhielt (REASONER et al., 1997). HINDMAN et al. (1999) stellten nach CAAE beim Kaninchen einen Dosis-abhängigen zerebralen neuronalen Schaden fest. Schon Mikroembolien (50  $\mu\text{l}/\text{kg}$ ) führten in dieser Studie zu abnormen somatosensorisch evozierten Potentialen (SSEP) und einem verschlechterten Ergebnis in der neurologischen Untersuchung. 24 Stunden nach einer Luftinjektion wurden histologisch jedoch nur nach voluminösen Luftblasen (200  $\mu\text{l}/\text{kg}$ ) Infarkte im Gehirn nachgewiesen (HINDMAN et al., 1999).

### Zerebrale Hypoperfusion

Zerebrale Hypoperfusion, sei es eine regionale Hypoperfusion durch Emboli, oder eine globale Hypoperfusion bedingt durch die unphysiologischen Effekte einer EKZ, wird seit langem für postoperativ auftretende neurologische Defizite verantwortlich gemacht (GILMAN, 1965). Vor allem der arterielle Blutdruck beeinflusst den Grad der Hypoperfusion. In einer Studie an Hochrisikopatienten mit Atheromatose wurde mit einem erhöhten mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) von 80 bis 100 mmHg während einer EKZ ein besseres neurologisches Ergebnis postoperativ erzielt als in der Vergleichsgruppe mit einem niedrigeren MAP von 50 bis 60 mmHg. Die Autoren vermuten, dass der MAP eine bedeutende Rolle bei der kollateralen Perfusion von wegen Emboli minderdurchbluteten Gehirnbereichen einnimmt (GOLD et al., 1995). VAN WERMESKERKEN et al. (2000) konnten in einer vergleichbaren Untersuchung an Hochrisikopatienten mit einem erhöhten MAP jedoch keine Verbesserung des neurologischen Outcomes erzielen. In einer weiteren Untersuchung mit einem MAP von 50 mmHg während EKZ konnte ein Zusammenhang zwischen ansteigendem Alter und dem Auftreten neurologischer Komplikationen aufgezeigt werden, wobei postuliert wird, dass ältere Patienten während der Hypotension in der EKZ-Phase empfänglicher für zerebrale Hypoperfusion sind (NEWMAN et al., 1995a).

### Systemische Inflammation

Die EKZ löst durch verschiedene Faktoren systemische Entzündungsreaktionen im Körper aus (whole-body inflammatory reaction). Hierzu gehören der Reperfusionsschaden, der Kontakt des Blutes mit der fremden Oberfläche des EKZ-Kreislaufes, und die Entwicklung einer durch einen reduzierten Blutfluss bedingten Endotoxämie (KHARAZMI et al., 1989). Dabei kommt es zur Aktivierung von den unterschiedlichsten immunologischen Systemen. Verschiedene Komponenten des Komplement-Systems (Kallikrein-Bradykinin, Koagulation, Fibrinolyse) und der Arachidonsäure-Kaskade, aber auch pro-inflammatorische Zytokine (Tumornekrosefaktor  $\alpha$ , Interleukin 1, 6 und 8) sind in die inflammatorischen Prozesse involviert (KIRKLIN et al., 1983; JANSEN et al., 1991; KAWAMURA et al., 1993). Diese resultieren dann in komplexen Wechselwirkungen zwischen den aktivierten Leukozyten, Thrombozyten und Endothelzellen (ASIMAKOPOULOS und TAYLOR, 1998). Klinisch führen diese systemischen Entzündungsreaktionen möglicherweise zu transienten zerebralen Ödemen, wobei deren Zusammenhang mit einem ungünstigen neurokognitiven Ergebnis nach EKZ unklar ist (HARRIS et al., 1998). In Tierexperimenten konnten jedoch nach zerebraler

Ischämie Verbindungen zwischen Inflammation und neuronalen Schädigungen (Infarktvolu-  
mina) nachgewiesen werden (GARCIA et al., 1994; KOGURE et al., 1996).

### Genetische Prädisposition

Im letzten Jahrzehnt gab es vermehrt Hinweise darauf, dass sich genetische Faktoren prädis-  
ponierend auf neurologische Erkrankungen auswirken. Vor allem das Apolipoprotein  $\epsilon 4$  (A-  
poE4) scheint hierbei einen wichtigen Stellenwert einzunehmen. So wurde nicht nur im Zu-  
sammenhang mit Morbus Alzheimer (SAUNDERS et al., 1993), Schlaganfällen (SLOOTER  
et al., 1997) und intrazerebralen Hämorrhagien (ALBERTS et al., 1995) über eine Beziehung  
mit dem ApoE4-Genotyp berichtet, sondern auch für das Auftreten von kognitiven Dysfunk-  
tionen nach Herz-Operationen wurde eine signifikante Assoziation zu ApoE4 festgestellt  
(TARDIFF et al., 1997). Unterstützt werden diese Angaben auch durch Untersuchungen im  
Tiermodell an ApoE-defizienten Mäusen, welche nach globaler zerebraler Ischämie ein  
schlechteres neurologisches und histologisches Untersuchungsergebnis im Vergleich zur Kon-  
trollgruppe aufwiesen (SHENG et al., 1999). Vermutlich beeinflusst der ApoE-Genotyp die  
Mechanismen der Entstehung von neuronalen Schäden (ApoE4) und deren Reparatur (A-  
poE3), ebenso scheint er die Gliazellantwort im Zusammenhang mit Entzündungsreaktionen  
zu modulieren (NEWMAN et al., 1999). Auch gibt es Hinweise für die Eigenschaften von  
ApoE, immunmodulatorisch einzugreifen, indem die Lymphozytenproliferation und die Syn-  
these von Immunglobulinen unterdrückt werden (HUI et al., 1980; MACY et al., 1983).

### **2.2.4 Risikofaktoren**

Mit dem sogenannten Schlaganfall-Risiko-Index kann mit einer 95-%igen Wahrscheinlichkeit  
das individuelle Risiko eines Patienten für einen Schlaganfall eingestuft werden. Die Ent-  
wicklung dieses Index erfolgte anhand von Ergebnissen einer Studie, die an 2107 Patienten  
durchgeführt wurde. Dabei erfasste man grundsätzliche Risikofaktoren wie Vorerkrankungen  
(Gefäß-, Lungen- und ZNS-Krankheiten, Angina pectoris, Diabetes), frühere Herzoperationen  
und Patientenalter mit Hilfe eines Punkteschemas (NEWMAN et al., 1996). Frühere Erkan-  
kungen wie Schlaganfall oder vorübergehende ischämische Insulte/Attacken (TIA) sind e-  
benso mit einem erhöhten Risiko für postoperative zentralnervöse Defizite verbunden. Dies  
liegt vermutlich daran, dass die neurologische Vorerkrankung zu pathologischen Veränderun-  
gen im zerebralen Gefäßsystem führen, die mit einem veränderten zerebralen Blutfluss, einer  
gestörten Autoregulation und einer inadäquaten Entwicklung von Kollateralgefäßen im Ge-

hirn zusammenhängen (ROACH et al., 1996). Auch Patienten mit einer Diabetes-mellitus-Erkrankung müssen mit einem erhöhten Risiko für eine neurokognitive Beeinträchtigung nach der Operation rechnen. Wahrscheinlich sind der allgemein angegriffene Zustand der Gefäße, welcher den Grad der atherosklerotisch veränderten Gefäße beeinflusst und die gestörte Autoregulation im Gehirn während einer EKZ dafür verantwortlich (CROUGHWELL et al., 1990).

Weitere Risiken für neurokognitive Defizite werden vor allem dem Patientenalter, der genetischen Prädisposition (siehe 2.2.3), dem Geschlecht, dem Ausmaß präoperativer zerebrovaskulärer Erkrankungen (siehe 2.2.3), dem Grad zerebraler Mikroembolien während EKZ, der Dauer der EKZ und dem Temperatur- und Säure-Basen-Management zugeschrieben (ARROWSMITH et al., 1999). Auch exzessiver Alkoholkonsum und postoperative Dysarrhythmien werden in der Literatur mit einem erhöhten Risiko für neurologische Defizite verbunden (ROACH et al., 1996). Das Patientenalter scheint aber eine vorherrschende Stellung einzunehmen. Eine Studie an 215 Patienten ergab einen Zusammenhang zwischen dem steigenden Patientenalter und dem Grad an kognitiver Dysfunktion nach EKZ, jedoch bestanden keinerlei Korrelationen zwischen Dysfunktion und den altersbedingten Veränderungen der zerebralen Autoregulation. Ebenso trägt vermutlich eine vom Alter abhängige Änderung der zerebralen Oxygenierung während der Wiedererwärmungsphase nach EKZ zu einem Anstieg von kognitiven Defiziten bei (NEWMAN et al., 1994). Die Risikoeinschätzung eines Patienten ist sowohl aus klinischer als auch aus wissenschaftlicher Sicht ein wichtiger Punkt. Die Identifizierung von Risikofaktoren ermöglicht eventuell das bessere Verständnis der Vorgänge. Außerdem könnten ausgewählte neuroprotektive Strategien an den Hochrisikopatienten angewandt werden, die am meisten davon profitieren und die den Einsatz teurer Neuroprotektiva rechtfertigen würden (GROCOTT et al., 2003).

### **2.2.5 Auswirkungen**

Angesichts von jährlich circa einer Million weltweit durchgeführten herzchirurgischen Eingriffen mit HLM (ROACH et al., 1996) stellen die kurz- und vor allem die langfristigen postoperativen neurokognitiven Komplikationen ein nicht zu unterschätzendes Problem dar. Noch fünf Jahre postoperativ können kognitive Defizite detektiert werden, welche die Lebensqualität nicht nur der Patienten, sondern auch deren Familienangehörigen negativ beeinflussen können. Auch die Selbsteinschätzung des eigenen Gesundheitszustandes korrelierte mit der kognitiven Funktionalität. Unabhängig vom Alter arbeiteten Patienten, die postoperativ in

ihrer Kognition weniger eingeschränkt waren, wesentlich produktiver (NEWMAN et al., 2001a). Viele Strategien wurden in der Vergangenheit mit unterschiedlichem Erfolg verfolgt, diese zerebralen Konsequenzen nach kardialen Eingriffen mit EKZ zu minimieren. Jedoch fehlen noch immer nachgewiesene effiziente, klinisch anwendbare Methoden. Die steigenden Zahlen durchgeführter Herzoperationen mit steigendem Alter der Patienten und dem damit erhöhten Risiko für POCD verdeutlichen die Notwendigkeit der Entwicklung weiterer perioperativer neuroprotektiver Strategien zur Reduktion neurologischer Schäden (GROCOTT et al., 2002). Die Zahl herzchirurgischer Eingriffe nimmt jährlich zu, so dass auch erhöhte Kosten, zum Beispiel durch verlängerte Krankenhausaufenthalte und Rehabilitation für das Gesundheitssystem entstehen. Daraus ergeben sich jährliche Mehrkosten in Milliardenhöhe, die vermutlich noch ansteigen werden (ROACH et al., 1996).

### **2.2.6 Neuroprotektion während extrakorporaler Zirkulation**

#### **2.2.6.1 Nicht-pharmakologische Strategien**

Seit der Durchführung von Operationen am Herzen dominieren nicht-pharmakologische Strategien zur Neuroprotektion des Gehirnes. Teilweise erfolgreiche Ansätze wurden unter anderem auf dem Gebiet der Operationstechnik, eines optimalen Operationsmanagement während der EKZ und der Reduktion zerebraler Emboli unternommen (GROCOTT et al., 2003).

#### Operationstechnik

Konventionell wird bei einer typischen HLM das Blut mit einem nicht-pulsatilen Fluss transportiert. Obwohl es sich hier unumstritten um einen unphysiologischen Zustand handelt, gibt es in der Humanmedizin keine einheitlichen Daten darüber, ob ein pulsatiler Fluss für den Patienten von Vorteil wäre. In mehreren Studien konnten unterschiedliche Ergebnisse mit einer pulsatilen oder nicht-pulsatilen Perfusion erzielt werden. Ein pulsatiler Fluss führte zum Beispiel in einer Untersuchung zu einer geringeren Mortalitätsrate und einem verminderten Auftreten von Herzinfarkten, Arrhythmien und Nierenversagen (MURKIN et al., 1995a), auf die venöse Sauerstoffsättigung und die regionale Sauerstoffversorgung des Gehirnes konnte kein positiver Einfluss festgestellt werden (KAWAHARA et al., 1999). Jedoch ist anzumerken, dass es mit dem derzeitigen Stand der Technik noch nicht gelungen ist, einen tatsächlich physiologischen pulsatilen Fluss zu erreichen. Im Tiermodell konnten vermehrt positive Auswirkungen eines pulsatilen Blutflusses aufgezeigt werden. Beim Schwein führte nach tief

hypothermem Kreislaufstillstand (DHCA) die pulsatile im Vergleich zur nicht-pulsatilen Perfusion zu einer besseren Durchblutung des Gehirnes, der Niere und des Herzmuskels (UNDAR et al., 1999), und in einer anderen Arbeit zu einer besseren venösen Sauerstoffsättigung während der Aufwärmphase (MUTCH et al., 1998).

Bei einem „Off-pump coronary artery bypass“ (OPCAB) wird eine aortokoronare Bypassoperation mit Thorakotomie, aber ohne Anschluss an die HLM, durchgeführt. Nachteilig ist, dass die Exposition der Koronarien an der Hinter- und Seitenwand eine Luxation und Rotation des Herzens erfordert, was vermutlich mit einer Beeinflussung der Hämodynamik einhergeht. Aufgrund der fehlenden Kanülierung und Dekanülierung, dem Aortenklemmen und dem fehlenden Anschluss an den Pump-Kreislauf verspricht man sich eine geringere Belastung mit zerebralen Emboli (WATTERS et al., 2000). Eine signifikant geringere Inzidenz für postoperative neurokognitive Defizite zeigten Patienten, die mit OPCAB-Technik operiert wurden, im Vergleich zu Patienten mit konventioneller „On-pump“-Technik. Fünf Tage nach der Operation hatten 66 % der „Off-pump“-Gruppe und 90 % der „On-pump“-Gruppe Probleme mit der kognitiven Leistungsfähigkeit, die bei 5 % der „Off-pump“-Gruppe und bei 50 % der „On-pump“-Gruppe noch bis zu drei Monaten nach dem Eingriff bestehen blieben (MURKIN et al., 1999). Limitierend für diese Studie ist die Tatsache, dass die Patienten die „on-pump“ operiert wurden, mehr Bypässe (3,1 versus 1,1) bekommen haben. In einer anderen Studie, die einen homogeneren jüngeren Patientenpool bei ihrem ersten herzchirurgischen Eingriff untersuchte, konnten diese Effekte nicht nachgewiesen werden. Die Methoden der „Off-pump“- und der „On-pump“-Prozedur wurden anhand postoperativer kognitiver Tests miteinander verglichen. Dabei konnten 12 Monate nach dem Eingriff keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (VAN DIJK et al., 2000).

### Operationsmanagement

Schon seit langer Zeit werden herzchirurgische Eingriffe unter hypothermen Bedingungen durchgeführt. Der durch die Hypothermie herabgesetzte Stoffwechsel soll vor allem Herz und Gehirn, aber auch alle anderen Organe vor dem negativen Einfluss der EKZ schützen. In letzter Zeit wird die Effektivität einer Hypothermie jedoch vermehrt kontrovers diskutiert. Die unterschiedlichen Ergebnisse der folgenden Studien beruhen eventuell lediglich auf einer fehlerhaften, beziehungsweise voneinander abweichenden Definition von hypo- und normotherm. MARTIN et al. (1994) konnten bei Patienten, die unter Normothermie ( $\geq 35$  °C) einer EKZ unterzogen wurden, ein dreifach erhöhtes Vorkommen von Schlaganfällen und

Enzephalopathien feststellen, als bei Patienten, die unter Hypothermie ( $\leq 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) operiert wurden. Dagegen konnten keine Unterschiede zwischen EKZ unter hypothermen ( $25\text{ bis }30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) und normothermen ( $33\text{ bis }37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) Bedingungen bezüglich des Auftretens eines Schlaganfalles in einer Multicenterstudie an 1732 Patienten nachgewiesen werden (INVESTIGATORS, 1994). Einen entscheidenden Einfluss bringt auch Dauer und Geschwindigkeit der Wiedererwärmung nach EKZ mit sich. Eine zu schnelle Wiedererwärmung führte bei Patienten einer Studie von GRIGORE et al. (2002) vermehrt zu kognitiven Defiziten. Einen weiteren wichtigen Hinweis für die Bedeutung des postoperativen Temperaturmanagements liefert eine Studie aus dem Jahre 2002. Hier wurden Zusammenhänge zwischen einer Hyperthermie, die gewöhnlich innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Eingriff entstehen kann, und dem Auftreten von POCD nachgewiesen (GROCOTT et al., 2002).

Beim intraoperativen pH-Management während EKZ hat sich bei erwachsenen Patienten die sogenannte  $\alpha$ -stat-Methode gegenüber der pH-stat-Methode weitgehend durchgesetzt. Bei der  $\alpha$ -stat-Methode erfolgt die pH- und  $\text{pCO}_2$ -Korrektur unabhängig von der Temperatur bei  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , wohingegen bei der pH-stat-Methode die pH- und  $\text{pCO}_2$ -Werte Temperatur-korrigiert aufrechterhalten werden. Untersuchungen ergaben für Patienten mit  $\alpha$ -stat-Management eine Prävalenz von 27 % und für pH-stat-korrigierte Patienten eine Prävalenz von 44 % für das Auftreten postoperativer kognitiver Defizite (MURKIN et al., 1995b). Die Gründe für die schlechteren Ergebnisse während eines pH-stat-Managements sind vermutlich in einem übermäßigen zerebralen Blutfluss zu suchen, mit dem auch vermehrt schädigende Emboli ins Gehirn gelangen (SCHELL et al., 1993).

Hyperglykämie ist ein oft auftretendes Phänomen während einer EKZ. Ursächlich kommen sowohl Glukose-haltige Kardioplegie-Lösungen, als auch Stress-induzierte Veränderungen in der Insulinsekretion und -resistenz in Frage. In experimentell herbeigeführter fokaler und globaler zerebraler Ischämie konnte eine neurologische Verschlechterung unter hyperglykämischen Bedingungen aufgezeigt werden (DIETRICH et al., 1993). Die Gründe hierfür liegen im anaeroben Glukose-Stoffwechsel, bei dem das entstehende Laktat zu einer intrazellulären Azidose führt, die letztendlich in einer gestörten Zellhomöostase und einem beeinträchtigten zellulären Stoffwechsel mündet (LANIER, 1991; FEERICK et al., 1995). Rückblickend konnte bei einem Datenvergleich von 2862 Patienten hingegen kein Zusammenhang zwischen neurologischen Defiziten und der intraoperativen Glukosekonzentration nachgewiesen werden,

wobei ein optimales Glukose-Mangement und die negativen Effekte einer Hyperglykämie weiterhin unklar bleiben (VAN WERMESKERKEN et al., 2000).

### Strategien zur Reduktion von Embolien

Wie schon zuvor erwähnt, erlaubt die epiaortale Echokardiographie eine zuverlässige Untersuchung, Identifikation und genaue Lokalisation atheromatöser Plaques in der Aorta. Es gibt viele Methoden diese Plaques daran zu hindern, dass sie in den zerebralen Kreislauf gelangen. Hierzu gehört die optimale Plazierung der Aortenkanüle an einer möglichst Plaque-freien Stelle der Gefäßwand, das Benutzen spezieller Kanülen ohne sogenannten „Sandstrahl“-Effekt und der Einsatz eines Filters, der kurz bevor die Klemmen an der Aorta geöffnet werden, eingesetzt wird (REICHENSPURNER et al., 2000).

Mikroemboli, die während einer EKZ vermehrt entstehen, sind mit einem ungünstigen neurokognitiven Ergebnis assoziiert (PUGSLEY et al., 1990). Mit verschiedenen präventiven Methoden konnte die mikroembolische Belastung während einer EKZ deutlich reduziert werden. Bessere Ergebnisse konnten mit dem Einsatz eines Membran- anstelle eines Blasen-oxygenators und dem Gebrauch arterieller Filter erzielt werden (PADAYACHEE et al., 1987; PUGSLEY et al., 1994). Auch scheint die Begasung des Operationsfeldes mit CO<sub>2</sub> und eine Reduktion der Injektionen ins venöse Reservoir sinnvoll. Gleichzeitig ist die Dauer der EKZ auf das Nötigste zu beschränken, da die EKZ-Zeit mit einem erhöhten Vorkommen von zerebralen Mikroembolien korreliert ist (BROWN et al., 2000).

### **2.2.6.2 Pharmakologische Strategien**

Unzählige potentiell neuroprotektive Substanzen wurden in den letzten Jahrzehnten untersucht. Diese Substanzen gehören vor allem der Gruppe der Barbiturate, Enzyminhibitoren, Kalzium-Kanal-Blocker, Natrium-Kanal-Blocker, Beta-Blocker und der N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor-Antagonisten an. Der Angriffspunkt dieser Pharmaka ist meist die ischämische Kaskade, welche einen zentralen Stellenwert bei der Entstehung zerebraler Schäden nach Herzoperationen einnimmt. Sie ist ein komplexes Netzwerk von intrazellulären Abläufen, von denen es abhängt, ob eine Zelle zugrunde geht oder überlebt (GROCOTT et al., 2003).

Als eine der ersten potentiell neuroprotektiven Substanzen wurde das Barbiturat **Thiopental** angesehen (NUSSMEIER et al., 1986). Vermutlich resultierten die positiven Effekte von Thi-

opental nicht auf einer direkten neuroprotektiven Wirkung, sondern vielmehr indirekt auf seiner vasokonstriktiven Wirkung, die zu einer Reduktion der zerebralen Belastung mit Emboli führte. Das Purin-Nukleosid **Acadesine** erhöht den Adenosin-Spiegel im ischämischen Gebiet und führte in einer Patientenstudie zu einer geringeren Inzidenz für einen Schlaganfall (MANGANO, 1995). Einer der wohl faszinierendsten Substanzen, die zeitweise in der Herzchirurgie Beachtung als Neuroprotektivum erhalten hat, ist der nicht-spezifische Serinproteaseinhibitor **Aprotinin**. Die positiven Auswirkungen wurden aber letztendlich wiederum auf eine indirekte neuroprotektive Wirkung zurückgeführt, die durch eine verminderte Belastung des Gehirns mit Emboli, bedingt durch eine reduzierte Rückführung von Blut aus dem Reservoir zustande kam (STUMP et al., 2000). Wegen erhöhter Blutungsneigung und Todesfällen wurden Studien mit zunächst vielversprechenden Kalzium-Kanal-Blockern (zum Beispiel **Nimodipine**) jedoch vorzeitig beendet (LEGAULT et al., 1996). Auch das Kurzzeithypnotikum **Propofol** verfügt über ein neuroprotektives Potential, indem der zerebrale Stoffwechsel und Energiebedarf gesenkt wird. Propofol wirkt antagonistisch am GABA-Rezeptor, zeigt aber auch Fähigkeiten als Antioxidans und Kalzium-Kanal-Antagonist (NEWMAN et al., 1995b). Das Lokalanästhetikum **Lidocain**, ein Cocainderivat, verfügt bei intravenöser Applikation über die Fähigkeit, Natrium-Kanäle zu blocken, wirkt zusätzlich anti-inflammatorisch und führte in einer Untersuchung an Patienten zu einem besseren postoperativen neurologischen Ergebnis (MITCHELL et al., 1999). Auch Beta-Blocker scheinen ein neuroprotektives Potential zu besitzen, welches sich vermutlich auf eine Veränderung des zerebrovaskulären Druckes und der EKZ-assoziierten Entzündungsvorgänge zurückführen lässt (SAVITZ et al., 2000). **Pergotein**, ein SOD-Mimetikum, wurde aufgrund seiner katabolen Eigenschaften auf freie Radikale in einer Studie untersucht, es konnte ihm jedoch keinerlei Neuroprotektivität nachgewiesen werden (BUTTERWORTH et al., 1999). Mit der Substanz **C5a** (h5G1.1-scFv), einem Komplementfaktor-5-Antikörper, gelang es, kognitive Defizite in einer Untersuchungsgruppe zu reduzieren (FITCH et al., 1999).

Der N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor moduliert die Exzitotoxizität, welche eine bedeutende Rolle bei der Entstehung neurologischer Schäden einnimmt. Obwohl NMDA-Antagonisten in der Humanmedizin durch ihre ungünstigen psychomimetischen Nebenwirkungen auffielen, gibt es viele experimentell ermittelte Daten, welche diesen Antagonisten durchaus neuroprotektive Fähigkeiten zuschreiben. Nach Applikation von **Dizocilpine** (MK-801), einem NMDA-Rezeptor-Antagonist, zeigten AOKI et al. (1994) eine Verbesserung der zerebralen Energetik bei Schweinen nach hypothermem Kreislaufstillstand. Eine reduzierte c-

fos-Expression konnte in einer Untersuchung mit neugeborenen Lämmern nach hypothermem Kreislaufstillstand mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten **Cerestat** (CNS 5161A) erreicht werden, was ebenfalls ein neuroprotektives Potential vermuten lässt (BOKESCH et al., 1996). Mit dem Hintergrundwissen aus experimentellen Untersuchungen wurde **Remacemide**, ein nicht-kompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonist und bisher als Antiepileptikum verwendet, auf seine Neuroprotektivität während EKZ getestet. Patienten, die Remacemide über einen Zeitraum von vier Tagen präoperativ und fünf Tage postoperativ oral verabreicht bekamen, zeigten eine deutlich bessere neurokognitive Leistung, als Patienten mit Placebo (ARROWSMITH et al., 1998).

(Auf die Wirkungsmechanismen von NMDA-Rezeptor-Antagonisten wird im Kapitel 2.3.3.4 nochmals ausführlicher eingegangen.)

### 2.3 Xenon

#### 2.3.1 Allgemeines

Xenon (griechisch Fremder) wurde von Sir William Ramsay und Morris William Travers 1898 durch Abtrennung von Rohkrypton entdeckt und gehört mit Helium, Neon, Argon, Krypton und Radon zu der chemischen Gruppe der Edelgase. Unter Normalbedingungen ist Xenon ein farb- und geruchloses, einatomiges Gas. Wegen seiner abgeschlossenen Valenzelektronenschale ist Xenon ein sehr reaktionsträges Gas, welches jedoch unter bestimmten Bedingungen Verbindungen mit einigen Halogenen, Sauerstoff oder Stickstoff eingehen kann, und somit nicht als vollkommen inertes Gas bezeichnet werden kann. Mit einem Vorkommen von 0,0000087 % in der Atmosphäre gehört Xenon zu einem der seltensten Edelgase. Die Gewinnung erfolgt durch fraktionierte Kondensation beziehungsweise Destillation von verflüssigter Luft. Xenon ist ein umweltfreundliches Gas, das nach der Verwendung wieder zurück in die Luft gelangt. Neben der Lampen- (Halogen-, Blitzlampen et cetera), Elektronik-, Laser- und Raumfahrtindustrie findet Xenon heutzutage auch in der Medizin, vor allem bei Perfusionsmessungen, bei der Kernspintomographie und in der Anästhesie Verwendung. Seitdem 1990 von LACHMANN et al. die erste Patientenstudie durchgeführt wurde, wird Xenon vor allem im Rahmen von wissenschaftlichen Untersuchungen erfolgreich eingesetzt. Die limitierte Verfügbarkeit und der hohe Preis erfordern eine klare Indikation für den klinischen Einsatz von Xenon, die in experimentellen und klinischen Untersuchungen noch genauer definiert werden muss (REYLE-HAHN und ROSSAINT, 2000).

#### 2.3.2 Pharmakokinetik

Mit dem geringsten Blut-/Gasverteilungskoeffizienten aller Inhalationsanästhetika von 0,115 (GOTO et al., 1998) ist ein extrem rasches An- und Abfluten von Xenon möglich. Daraus ergibt sich eine gute Steuerbarkeit der Narkose mit einem schnellen Einschlaf- und Aufwachverhalten (siehe Tabelle 1) (GOTO et al., 1997).

Während einer Anästhesie mit Xenon kommt es zu Veränderungen in der Atemmechanik. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Xenon eine hohe Dichte ( $5,9 \text{ kg/m}^3$ ) und Viskosität aufweist. Bei Hunden wurde unter höheren Xenonkonzentrationen ein geringgradiger Anstieg des Atemwegwiderstands festgestellt (ZHANG et al., 1995).

Aufgrund der geringen Löslichkeit von Xenon im Blut besteht wie bei Lachgas die Möglichkeit der Entstehung einer Diffusionshypoxie. Trotz des geringeren Blut-Gas-Verteilungskoeffizienten von Xenon im Vergleich zu Lachgas, ist bei Xenon das Auftreten einer Diffusionshypoxie weniger wahrscheinlich als unter Lachgas. Dies liegt daran, dass Xenon bedingt durch seine Größe deutlich langsamer als Lachgas durch Membranen diffundiert (siehe Tabelle 1) (STAHL et al., 1998).

Die minimale alveoläre Konzentration (MAC) ist ein Maß für die Wirkstärke eines Inhalationsanästhetikums und gibt die Konzentration des Anästhetikums in den Alveolen an, bei der 50 % der Testpersonen nicht mehr auf einen Hautschnitt reagieren. Je niedriger der MAC-Wert eines Anästhetikums ist, umso größer ist seine Wirkstärke. Der MAC-Wert von Xenon liegt für den Menschen bei 71 Vol % (CULLEN et al., 1969) und für die Ratte bei 161 Vol % (siehe Tabelle 1) (KOBLEN et al., 1998).

Xenon als inertes Edelgas wird nicht metabolisiert und über die Atemwege wieder ausgeschieden (siehe Tabelle 1) (LUTTROPF et al., 1991).

**Tabelle 1:** Wichtige physikalische Parameter einiger volatiler Anästhetika für den Menschen und für die Ratte (modifiziert nach KOBLIN et al., 1998; LECLERC et al., 2000)

	<b>Sevofluran</b>	<b>Isofluran</b>	<b>Lachgas</b>	<b>Xenon</b>
<b>Molekulargewicht (Da)</b>	200	184	44	131
<b>Verteilungskoeffizient Öl/Gas</b>	47	91	1,4	1,8
<b>Verteilungskoeffizient Blut/Gas</b>	0,65	1,4	0,47	0,115
<b>Metabolisierungsrate (%)</b>	< 5 %	< 1 %	0	0
<b>MAC (Vol %) beim Menschen</b>	2,0	1,15	104	71
<b>MAC (Vol %) bei der Ratte</b>	2,5	1,12	-	161

### 2.3.3 Pharmakodynamik

#### 2.3.3.1 Anästhetische und analgetische Wirksamkeit

BEHNKE und YARBOROUGH beschrieben erstmals die anästhetischen Eigenschaften von Xenon 1938. Bestätigt wurde diese Beobachtung an Mäusen, die mit 80 % Xenon und 20 % Sauerstoff anästhesiert wurden (LAWRENCE et al., 1946). Beim Menschen fand Xenon als Anästhetikum zum ersten Mal 1951 Anwendung (CULLEN und GROSS, 1951). Die anästhetische Potenz von Xenon wird in erster Linie einer antagonistischen Wirkung am N-Methyl-

D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor zugeschrieben. NMDA-Rezeptor-Antagonisten verhindern den durch Glutamat bedingten Kalziumeinstrom und führen zu einem Anstieg der neuronalen Kalziumkonzentration und somit zu einer veränderten Erregbarkeit von Nervenzellen (FRANKS et al., 1995).

Neben Lachgas ist Xenon das einzige Inhalationsanästhetikum mit analgetischer Komponente. Diese analgetische Potenz wird vermutlich auch über die antagonistische Wirkung von Xenon am NMDA-Rezeptor vermittelt. Patienten, die mit 0,7 MAC Xenon anästhesiert wurden, benötigten eine geringere Konzentration an Fentanyl, um somatische und hämodynamische Reaktionen auf eine Hautinzision zu unterdrücken (NAKATA et al., 2000), als Patienten, die mit 0,7 MAC Lachgas anästhesiert wurden (GLASS et al., 1993).

### **2.3.3.2 Wirkung auf das zentrale Nervensystem**

Xenon findet schon lange Anwendung bei der radiologischen Bestimmung des zerebralen Blutflusses (CBF). Bei freiwilligen Probanden wurde ein Anstieg des CBF während einer Xenon-Anästhesie beobachtet (HARTMANN et al., 1991). Zu den selben Ergebnissen kam eine weitere Patientenstudie mit Hilfe transkranieller Doppler-Sonographie (LUTTROPPE et al., 1993). In einer neueren Untersuchung an Ratten konnte allerdings nur ein vorübergehender Anstieg des CBF mit Absinken auf die Ausgangswerte nach fünf Minuten festgestellt werden. Gleichzeitig konnte man keine signifikante Beeinflussung des zerebralen Stoffwechsels, lediglich ein Absinken der Glukose-Konzentration bei der Hälfte der untersuchten Tiere, konstatieren (FRIETSCH et al., 2001).

### **2.3.3.3 Kardiovaskuläre Wirkung**

Das Edelgas Xenon zeichnet sich besonders durch seine hämodynamische Stabilität aus. So wurden in einer Patientenstudie kardiovaskuläre Effekte von Propofol mit Xenon verglichen. Mit Xenon anästhesierte Patienten zeigten keine Veränderungen der Herzfrequenz und des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP), im Vergleich zur Propofol-Gruppe (DINGLEY et al., 2001). In weiteren Arbeiten wurde publiziert, dass Xenon eher einen hemmenden Einfluss auf das autonome Nervensystem ausübt, indem es die synaptische Transfusion der Neurotransmitter unterdrückt (ISHIGURO et al., 2000). Keine Beeinträchtigung der ventrikulären Funktion wurde bei 17 Patienten mit intraabdominalen Eingriffen festgestellt (LUTTROPPE et al., 1993). In einer Arbeit von HETTRICK et al. (1998) wurden Hunde mit induzierter Kardiomyopathie bezüglich der Wirkung von Xenon auf die myokardiale Kontraktilität unter-

sucht und es konnten keine Veränderungen festgestellt werden. Auch an isolierten Meer-schweinchen-Herzen zeigten die Myozyten unter der Einwirkung von Xenon keine funktionelle Beeinträchtigung (STOWE et al., 2000). Vermutlich basieren diese positiven kardio-vaskulären Eigenschaften von Xenon auf einer erniedrigten Ausschüttung von Stresshormonen (LACHMANN et al., 1990) und auf der geringen Beeinflussung des Kalzium-, Natrium- und Kalium-Transportes (STOWE et al., 2000).

### **2.3.3.4 Neuroprotektion und Nebenwirkungen**

Gerade bei herzchirurgischen Eingriffen, bei denen die Patienten ein hohes Risiko für perioperative zerebrale Schädigungen zeigen und bei denen die Applikation genau auf den Zeitpunkt der Schädigung abgestimmt werden kann, könnte Xenon als Neuroprotektivum von großem Nutzen sein. Aufgrund der bereits beschriebenen Auswirkungen neurologischer und neurokognitiver Defizite nach herzchirurgischen Operationen mit EKZ auf die Lebensqualität der Patienten und das Gesundheitssystem, wären der Einsatz des teuren Edelgases gerechtfertigt. Gleichzeitig kann Xenon einfach verabreicht werden und flutet aufgrund seiner physikalischen Eigenschaften schnell im Gehirn an. Ebenso könnte Xenon im Rahmen einer balancierten Anästhesie zur Dosisreduktion anderer Anästhetika führen, und damit deren mögliche Nebenwirkungen verringern helfen. FRANKS et al. entdeckten 1998 die Fähigkeiten von Xenon als NMDA-Rezeptor-Antagonist zu fungieren. NMDA-Rezeptoren sind eine Subgruppe von Glutamat-Rezeptor-Kanälen, die von Xenon nicht kompetitiv blockiert werden. Seitdem untersuchte man in vielen Studien in den letzten Jahren die neuroprotektive Potenz von Xenon und konnte diese auch mehrfach nachweisen. In einer In-Vitro-Untersuchung an neuronalen, durch eine Sauerstoffdeprivation geschädigte Gliazellen, wurde anhand der Laktat-Dehydrogenase-(LDH)-Konzentration als Indikator für den Schädigungsgrad der Zellen die Eigenschaften von Xenon überprüft. Die mit Xenon begasten Gliazellen zeigten eine signifikant niedrigere Ausschüttung von LDH als die Kontrollzellen (WILHELM et al., 2002). Ebenso konnten EKZ-bedingte neurologische und neurokognitive Defizite an einem Rattenmodell durch eine Anästhesie mit Xenon signifikant reduziert werden (MA et al., 2003). Auch bei experimentell induzierter fokaler zerebraler Ischämie durch Okklusion der A. cerebri media (MCAO) bei der Maus führte Xenon zu einem sowohl histologisch als auch funktionell verbesserten Ergebnis (HOMI et al., 2003).

Glutamat ist einer der wichtigsten exzitatorischen Neurotransmitter im Säuger-Gehirn und essentiell für die Funktionalität des ZNS, wobei großen Mengen an Glutamat zum Zellunter-

gang führen können. Der Begriff Exzitotoxizität, erstmals von OLNEY 1969 geprägt, beschreibt die übermäßige Aktivierung des Glutamat-Rezeptors, vor allem von NMDA-Subtypen, welche zu einem exzessiven Kalziumeinstrom in die Zelle führt, was wiederum eine biochemische Kaskade auslöst, die letztendlich zum Zelluntergang führt. NMDA-Antagonisten am Glutamat-Rezeptor weisen aber nicht nur neuroprotektive, sondern auch neurotoxische Eigenschaften auf. Bei bisher verwendeten NMDA-Rezeptor-Antagonisten wurden des Öfteren psychomimetische Verhaltensänderungen als Nebenwirkung beobachtet (MALHOTRA et al., 1996). Histologische Daten mehrerer Studien mit verschiedenen NMDA-Rezeptor-Antagonisten, wie zum Beispiel MK 801 und Ketamin, offenbarten geschädigte Pyramidenzellen im Bereich des posterior-zingulären und retro-splenialen (PC/RS) Kortex, welche ursächlich an den veränderten Verhaltensweisen beteiligt sein könnten (OLNEY et al., 1989). Eventuell sind aber noch andere Systeme an der Neurotoxizität von NMDA-Rezeptor-Antagonisten beteiligt. Ketamin und Lachgas aktivieren auch Dopamin-Rezeptoren und führen zu einer vermehrten Ausschüttung von Dopamin (MURAKAWA et al., 1994; MOGHADDAM et al., 1997). Für Xenon konnte jedoch kein Einfluss auf Dopamin-Rezeptoren (PETZELT et al., 2004), und eine verminderte neurotoxische Wirkung (Anteil c-fos positiver Neuronen) nachgewiesen werden (MA et al., 2003).

Bei trächtigen Ratten, von denen ein Teil nach dem 9. Gestationstag für 48 Stunden Xenon beziehungsweise Lachgas ausgesetzt wurden, stellte man in der Lachgas-Gruppe eine erhöhte Rate an Missbildungen beziehungsweise Resorptionen im Vergleich zur Xenon- und Kontrollgruppe fest (LANE et al., 1980).

Wie Lachgas besitzt auch Xenon die Fähigkeit luftgefüllte Hohlräume zu vergrößern (LOCKWOOD, 2002). Ursächlich kommt hierfür die geringe Blutlöslichkeit von Xenon und Lachgas in Frage. Am Schwein wurden an abgebundenen Darmabschnitten die Diffusionsmengen von Xenon, Lachgas und als Kontrolle von Stickstoff verglichen. Xenon führte zu einer signifikant geringeren diffundierten Menge im Vergleich zur Lachgas-Gruppe, war jedoch im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht (REINELT et al., 2001).

Zusammenfassend lässt sich Xenon als ein überaus geeignetes Inhalationsanästhetikum beschreiben, welchem aufgrund seines limitierten Vorkommens und dem damit verbundenen hohen Preis eindeutige Indikationen zugeschrieben werden müssen. Solche klaren Indikationen wären, wie bereits erwähnt, für herzchirurgische Patienten, die einer EKZ ausgesetzt werden, gegeben. Bevor man jedoch die neuroprotektiven Eigenschaften von Xenon in humanen

Studien unter den speziellen Bedingungen der EKZ untersuchen kann, muss sichergestellt werden, dass Xenon die Luftemboli, die während einer EKZ entstehen, nicht vergrößert und damit zu einem eher negativen postoperativen Ergebnis führt.

Ob bei Verwendung von Xenon die negativen Effekte durch Vergrößerung der Luftbläschen oder die positiven neuroprotektiven Effekte durch NMDA-Antagonismus überwiegen, soll in dieser Studie untersucht werden.

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Zielvorstellungen

Dieses Projekt setzt sich aus einem Vor- und einem Hauptversuch zusammen. Im Vorversuch wurde in einer Dosis-Findungs-Studie der Einfluss der Größe von zerebralen Luftembolien auf die postoperative neurologische Funktion und die Mortalität bei Ratten ermittelt. Damit konnte gezeigt werden, dass zehn repetitiv verabreichte zerebrale Luftemboli (Einzelbolus 0,3  $\mu$ l) während extrakorporaler Zirkulation (EKZ) bei der Mehrheit der Tiere zu neurologischen Defiziten führte und in 99 % der Fälle mit einem langfristigen Überleben zu vereinen war (CARLSEN, 2005).

Nun soll in dem vorliegenden Hauptversuch untersucht werden, ob das Narkosegas Xenon während EKZ in Verbindung mit 0,3  $\mu$ l großen repetitiv applizierten zerebralen Luftemboli die neurokognitiven Fähigkeiten und die motorische Funktion bei der Ratte positiv durch seine neuroprotektive Komponente oder gar negativ durch Vergrößerung der Luftemboli beeinflusst.

In histologischen Untersuchungen der Gehirne soll das Infarktvolumen und die maximale Infarktfläche bestimmt und zwischen den einzelnen Gruppen verglichen werden.

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

#### 3.2 Material und Methoden

##### 3.2.1 Versuchstiere

Die Untersuchungen werden an 40 männlichen Sprague-Dawley Ratten (Charles River GmbH, Sulzfeld) durchgeführt. Das Körpergewicht der drei Monate alten Tiere liegt am Operationstag zwischen 330 und 390 g.

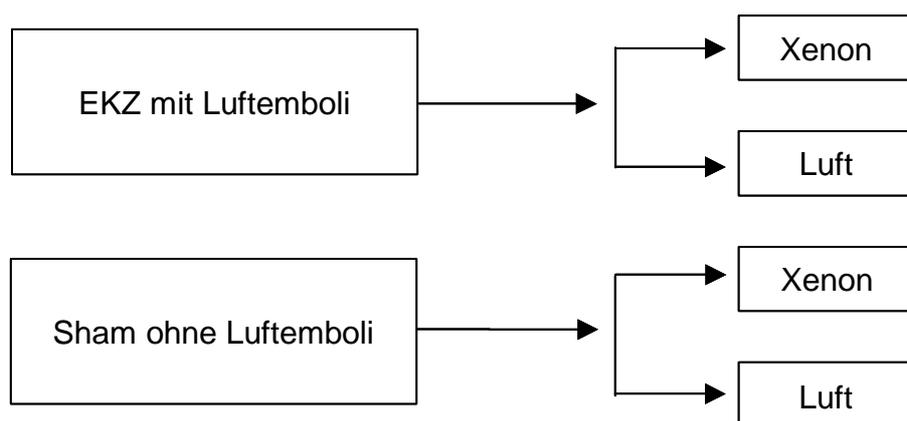
Die Akklimation der Tiere erfolgt gruppenweise zu vier Tieren in den ersten elf Tagen in Standardkäfigen aus Makrolon (Typ IV) und in den folgenden zehn Tagen (circa eine Woche vor dem Operationstag) an ihren Versuchskäfig. Futter (Altromin 1324, Fa. Altromin, Lage-Lippe) und Wasser (Trinkwasser bei täglichem Wechsel der Trinkflaschen) erhalten die Tiere ad libitum. Den Tieren stehen neben entstaubtem und entkeimtem Holzgranulateinstreu (Altromin Faser, Fa. Altromin, Lage-Lippe) Zellstoff als Nestbaumaterial zur Verfügung. Außerdem erhalten die Tiere zur Beschäftigung sterilisiertes Heu.

Die Ratten werden gemäß den Bestimmungen zur Versuchstierhaltung bei einer Raumtemperatur von 20 bis 24 °C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 45 bis 75 % und bei einem Hell-Dunkel-Rhythmus von je 12 Stunden (maximal 60 Lux im Käfig) gehalten.

### 3.2.2 Versuchsplan

Die nachfolgende Untersuchung lässt sich in vier Phasen unterteilen: Operation, neurologische Untersuchung, modifizierter Hole-Board-Test (mHBT) und die histologische Untersuchung.

Am Tage der Operation (Tag 0) werden die Tiere randomisiert einer der unten aufgeführten vier Gruppen zugeteilt (siehe Abbildung 8):



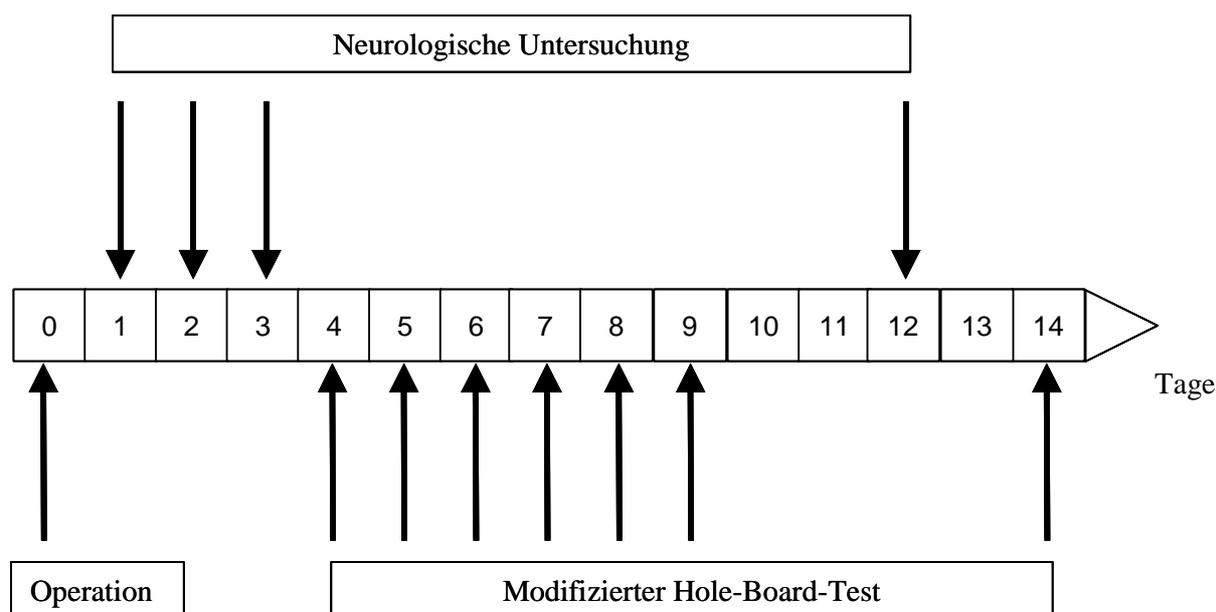
**Abbildung 8:** Gruppeneinteilung

Die Tiere der EKZ-Gruppen (EKZ/Xenon und EKZ/Luft) werden für 90 Minuten an die Herz-Lungen-Maschine (HLM) angeschlossen. Als Kontrollgruppen (sham-operierte) dienen Rat-

ten, die dem selben Protokoll mit den gleichen Mengen an Anästhetika unterliegen, aber nicht an die EKZ angeschlossen werden. Die Tiere der Xenon-Gruppen (EKZ/Xenon und Sham/Xenon) erhalten 20 Minuten vor, während und 30 Minuten nach der EKZ beziehungsweise zu analogem Intervall in der Sham-Gruppe (Sham/Xenon) 56 % Xenon. Die Tiere, die kein Xenon erhalten (EKZ/Luft und Sham/Luft) bekommen anstelle von Xenon Luft appliziert. In allen vier Gruppen wird zur Präparation Isofluran verabreicht und anschließend wird die Anästhesie mit einer intravenösen Basisnarkose (Hypnotikum, Analgetikum, Muskelrelaxans) aufrechterhalten. Während der 90-minütigen EKZ-Phase appliziert man über einen Zeitraum von 60 Minuten Luftboli (repetitiv zehn mal 0,3 µl) in die Arteria (A.) carotis interna dextra. Die sham-operierten Gruppen erhalten anstatt der Luftboli die selbe Menge an physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Nach Beendigung der EKZ bleiben die Tiere noch für 60 Minuten anästhesiert, bevor sie in einer mit Sauerstoff angereicherten Narkosebox aufwachen. Nach mehreren Stunden Nachbeobachtung werden sie in den Versuchskäfig zurückgesetzt.

Diejenigen Tiere, welche wegen Gehirnschäden beziehungsweise Gehirntod, die durch EEG und Pupillomotorik festgestellt werden, aus der Narkose nicht mehr erwachen, werden in tiefer Isoflurannarkose entblutet. Ebenfalls erfolgt eine Euthanasie bei den Tieren, die nach dem Erwachen durch deutlich ausgeprägte neurologische Schäden auffallen, zum Beispiel wenn die selbständige Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme nicht gewährleistet ist.

Bei den restlichen Tieren wird vom ersten bis dritten und am 12. postoperativen Tag der neurologische Status mit sensorischen und motorischen Untersuchungen bewertet und die neurokognitive Leistungsfähigkeit ab dem vierten bis neunten und am 14. postoperativen Tag im mHBT evaluiert (siehe Abbildung 9).

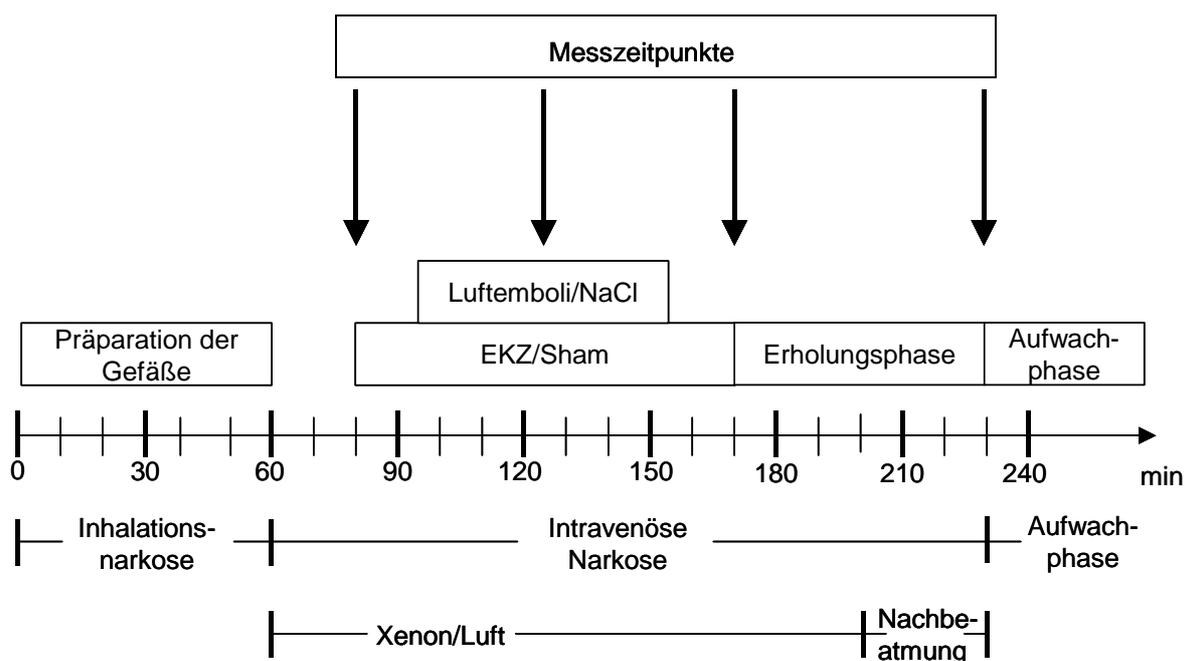


**Abbildung 9:** Zusammenfassende Darstellung der Operation, der neurologischen Untersuchung und des modifizierten Hole-Board-Testes im zeitlichen Verlauf.

Nach dem sogenannten „Wiederholungstest“ (Retest) am 14. postoperativen Tag werden die Tiere in tiefer Isoflurannarkose entblutet, das Gehirn entnommen und Formalin-fixiert bis zur histologischen Aufarbeitung der Hirnschnitte mit Bestimmung des Infarktvolumens und des maximalen Infarktgebietes aufbewahrt.

### 3.2.3 Chirurgische Präparation

Die gesamte Operation lässt sich in mehrere Phasen einteilen, in welchen verschiedene operative Maßnahmen mit unterschiedlicher Narkose durchgeführt werden. Nach Einleitung der Narkose erfolgt die Präparation der Gefäße, anschließend je nach Gruppeneinteilung die EKZ mit Applikation der Luftemboli und letztendlich die Erholungsphase mit Aufwachen aus der Narkose. In folgender Abbildung sind die einzelnen Phasen der Operation aller vier Gruppen, das jeweilige Narkoseverfahren und die Messzeitpunkte für die physiologischen Parameter während der Operation im zeitlichen Verlauf übersichtlich aufgezeigt (siehe Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Zusammenfassende Darstellung der einzelnen operativen Phasen, der jeweiligen Narkose und der Messzeitpunkte im zeitlichen Verlauf aller vier Gruppen.

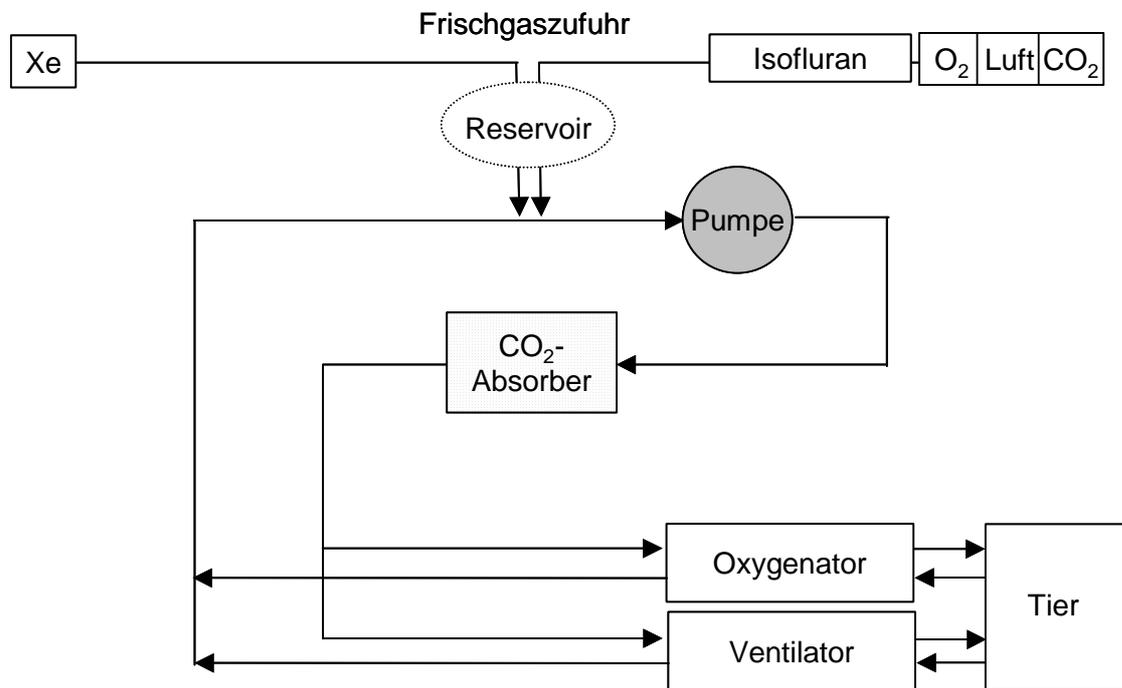
### 3.2.3.1 Anästhesie

#### Narkoseeinleitung

Am Operationstag (Tag 0) werden die Tiere in einer Narkosebox aus Plexiglas mit 5 Vol % Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) in Sauerstoff anästhesiert und nach endotrachealer Intubation (Venenverweilkatheter, 14/16 GA, Venflon™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) druckkontrolliert beatmet (Kleintierbeatmungsgerät KTR 4, Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten). Die Beatmung erfolgt mit 2,0 bis 2,5 Vol % Isofluran in einem Sauerstoff/Luft-Gemisch ( $FiO_2 = 0,5$ ) mit einer Atemfrequenz von 50 bis 60 pro Minute und einem Atemwegswiderstand von 10 bis 15  $cmH_2O$ .

Das in der vorliegenden Studie verwendete halbgeschlossene Narkosesystem (siehe Abbildung 11) verfügt über zwei getrennte Möglichkeiten der Frischgaszufuhr, eine für Isofluran/Sauerstoff/Luft/ $CO_2$  und eine andere für Xenon. Im nachfolgenden Reservoirbeutel erfolgt die Mischung der Gase. Über eine Pumpe wird das jeweilige Frischgas zu einem  $CO_2$ -Absorber geführt. Diese können nun über zwei getrennte Ausgänge, entweder über das Beat-

mungsgerät (Ventilator), oder während der EKZ über den Oxygenator dem Tier zugeführt werden.



**Abbildung 11:** Vereinfachte schematische Darstellung des Narkosesystems mit wählbarer Isofluran- oder Xenonzufuhr.

### Anästhesie vor EKZ

Während der chirurgischen Präparation der Gefäße wird die Isoflurankonzentration bei 2,0 bis 2,5 % beibehalten.

Sobald alle Gefäße katheterisiert sind, erfolgt eine Narkoseumstellung. Anstelle von Isofluran erhalten alle Gruppen eine intravenöse Basisnarkose bestehend aus einem Hypnotikum (Midazolam-Ratiopharm®, Ratiopharm GmbH, Neuss), einem Muskelrelaxans (Atracurium, Nimbex®, GlaxoSmithKline GmbH & Co KG, München) und einem Analgetikum (Fentanyl®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss). Die Medikamente werden zunächst als Bolus mit einer Dosierung von 0,4 mg/kg Midazolam, 0,5 mg/kg Atracurium und 30 µg/kg Fentanyl, und anschließend als Dauerinfusion mit einer Geschwindigkeit von 1,3 ml/h über einen Perfusor, der an die Vena (V.) epigastrica superficialis caudalis angeschlossen ist, mit einer Dosierung von 0,03 mg/kg/min Midazolam, 0,084 mg/kg/min Atracurium und 2,5 µg/kg/min Fentanyl verabreicht. Zusätzlich zur Basisnarkose erhalten die Tiere der Xenon-Gruppen (Sham/Xenon

und EKZ/Xenon) 56 % Xenon (34 % O<sub>2</sub>, 5 % N<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub>), wohingegen die Tiere ohne Xenon analog Luft (34 % O<sub>2</sub>, 61 % N<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub>) bekommen. Die Applikation der Narkosegase erfolgt bei den Tieren, die einer EKZ unterzogen werden, vor der EKZ über das Beatmungsgerät und während der EKZ über den Oxygenator. 20 Minuten nach der Narkoseumstellung werden diejenigen Tiere, die der EKZ-Gruppen zugeordnet sind, an die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen (siehe auch Abbildung 10).

### Anästhesie nach EKZ

Um dem erhöhten Narkosebedarf während der Reperfusionphase gerecht zu werden, erfolgt bei allen Tieren nach der EKZ-Phase eine Erhöhung der Basisnarkose (Midazolam, Atracurium, Fentanyl), indem die Infusionsgeschwindigkeit von 1,3 ml/h auf 2,0 ml/h erhöht wird. Diese hält man noch 60 Minuten bis zum operativen Versuchsende bei. Die Tiere der Xenon-Gruppen (Sham/Xenon und EKZ/Xenon) erhalten im Gegensatz zu denen ohne Xenon (Sham/Luft und EKZ/Luft) in den ersten 30 Minuten der Erholungsphase noch weiterhin Xenon (siehe auch Abbildung 10).

### **3.2.3.2 Präparation der Gefäße**

Bevor man mit der Gefäßpräparation beginnt, wird zur perikraniellen Temperaturkontrolle eine Sonde (Newport® Hypodermic Temperature Needle Probes, Hpm-1, Newport Electronics, USA) im rechten Musculus (M.) temporalis platziert und die Kornea zum Schutz vor Austrocknung mit Salbe (Bepantene® Augen- und Nasensalbe, Hoffmann-La- Roche AG, Grenzach-Wyhlen) versorgt.

Die Präparation der Gefäße erfolgt immer auf die gleiche Art und Weise und wird im Folgenden einmal ausführlich, und die Besonderheiten der einzelnen Gefäße dann im Anschluss separat, dargestellt:

Das Operationsgebiet wird zunächst geschoren, mit einem Desinfektionsmittel (Cutasept® F, Fa. Bode, Hamburg) eingesprüht und mit einem Lokalanästhetikum (Xylocain 2 %, Astra Zeneca, Großbritannien) infiltriert. Nach einem ein bis zwei Zentimeter langen Hautschnitt über dem darzustellenden Gefäß, präpariert man das Unterhautgewebe stumpf frei und kauterisiert eventuell blutende Gefäße sorgfältig. Zum Aufspannen des Gefäßes wird an dessen distalem Ende eine feste Ligatur (4-0 PH-Seide, Ethicon®, Ethicon GmbH, Norderstedt) und an dessen proximalem Ende eine lose Ligatur gesetzt. Zwischen beiden Ligaturen erfolgt das

Aufspannen des Gefäßes und die Inzision der Gefäßwand mit einer feinen Augenschere. In die so entstandene Öffnung wird ein mit heparinierter Kochsalzlösung (Thomaejoninlösung®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) gefüllter Katheter eingeführt. Diesen befestigt man zum einen mit der proximalen vorgelegten losen Ligatur und sichert ihn zum anderen mit einer zusätzlichen Ligatur. Zur Kontrolle, ob der Katheter richtig plaziert ist, erfolgt eine Spülung mit heparinierter Kochsalzlösung. Zum Schutz des Gewebes vor Austrocknung werden die Wundränder mit einem U-Heft (4-0 Prolene™, Ethicon®, Ethicon GmbH, Norderstedt) adaptiert, und das Wundgebiet mit einem in physiologischer Kochsalzlösung getränkten Tupfer abgedeckt.

### Schwanzarterie (A. mediana sacralis)

Die Schwanzarterie kanüliert man möglichst weit proximal mit einem 20 Gauge (G) Katheter (Insyte-W™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg). Über diesen Katheter werden die Tiere mit 450 IE/kg Heparin-Natrium (Liquemin® Nn 2500, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) heparinisiert. Die Schwanzarterie erlaubt einen direkten Zugang über die kaudale Aorta und dient während der EKZ als arterieller Zufluss für die HLM und bis zur Präparation der A. epigastrica superficialis zur Blutdruckmessung.

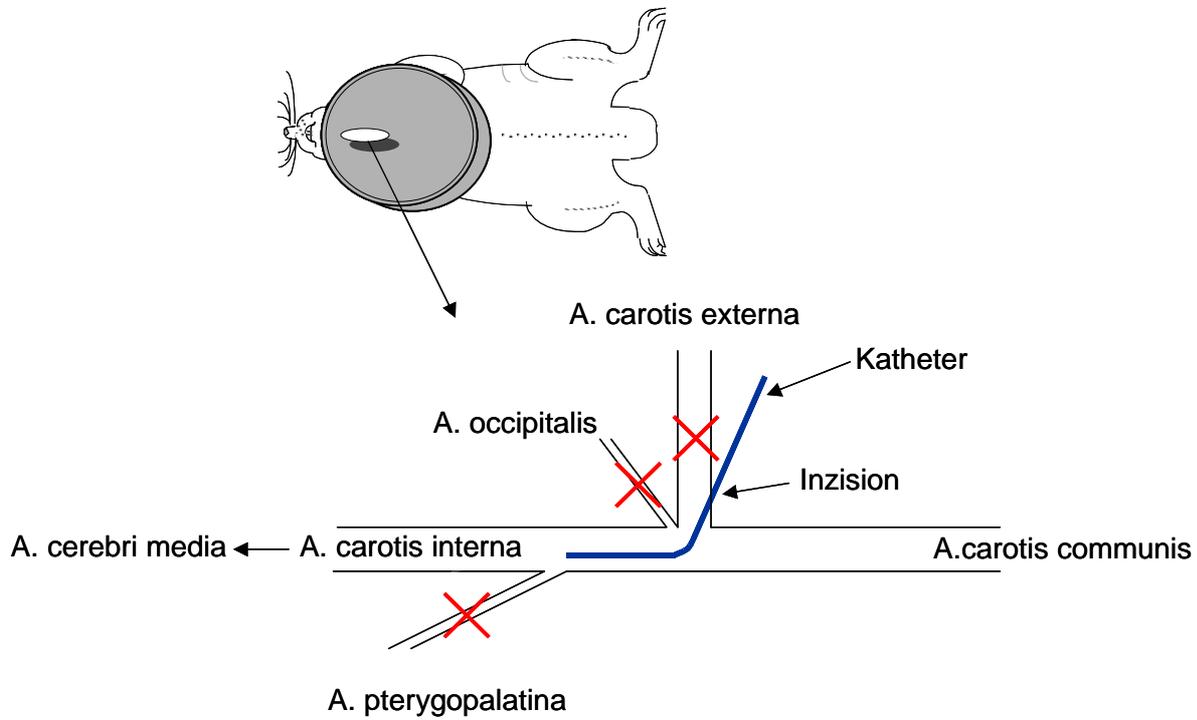
### Oberbaucharterie/-vene (A. und V. epigastrica superficialis caudalis dextra)

Die Darstellung der Oberbaucharterie und -vene erfolgt in der rechten Leistengegend. Die Kanülierung wird bei diesen beiden Gefäßen mit PE 10-Kathetern (Intramedic™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) durchgeführt. Nach erfolgter Katheterisierung nutzt man die Arterie zur Blutdruckmessung während der EKZ und die Vene für die intravenöse Applikation der Medikamente.

### Halsschlagader (A. carotis interna)

Die Darstellung der Halsschlagader (A. carotis communis mit Verzweigung zur A. carotis interna und externa) erfolgt im Halsbereich. Folgende Gefäße werden nacheinander doppelt ligiert und anschließend durchtrennt: die von der A. carotis externa abzweigende A. thyroidea superior und A. occipitalis und die A. carotis externa selbst. Über den Stumpf der A. carotis externa schiebt man nun einen PE 10-Katheter in die A. carotis interna bis kurz distal des Abganges der A. pterygopalatina vor. Die A. pterygopalatina wird ebenfalls ligiert, um zu ver-

hindern, dass Luft in extrazerebral gelegene Gefäße gelangt. Über diesen Katheter verabreicht man mit Hilfe einer 10 µl-Hamilton-Spritze die Luftboli (siehe Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Schematische Darstellung der Gefäßaufzweigung der A. carotis communis und der Lage des Katheters für die Verabreichung der Luftemboli.

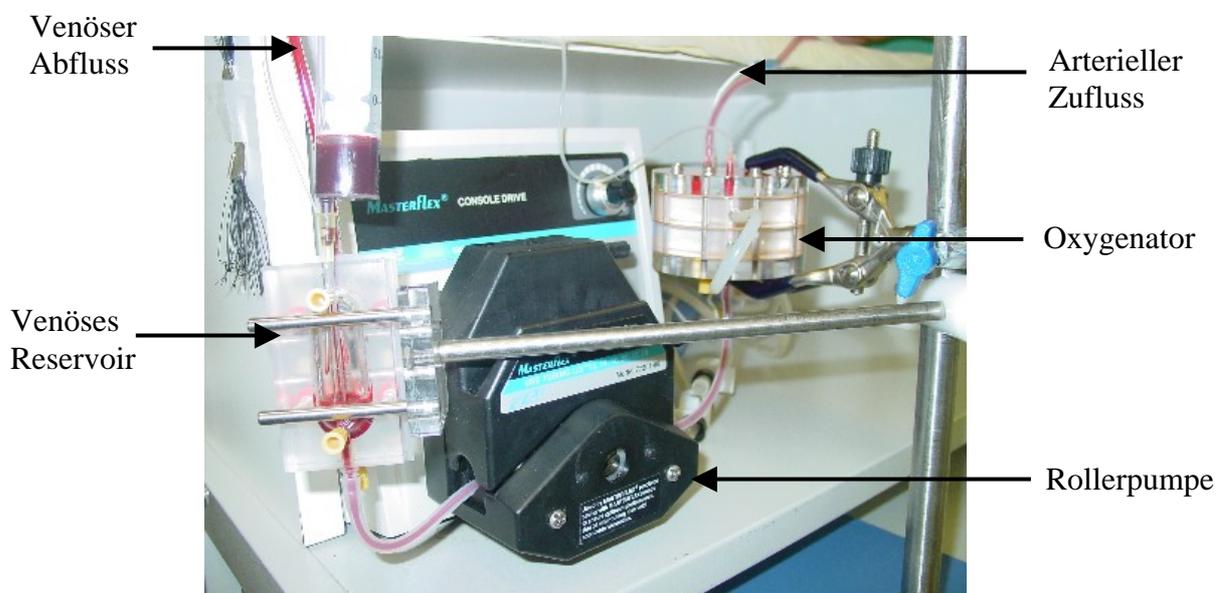
### Drosselvene (V. jugularis externa dextra)

Die Präparation der Jugularisvene erfolgt zwischen dem M. brachiocephalicus und dem M. sternooccipitalis im Sulcus jugularis. Bei der venösen Drainage gebraucht man eine speziell angefertigte großlumige Kanüle (4,5 Fr) mit eingestanzten Drainagelöchern, die über die V. jugularis externa bis in den rechten Vorhof vorgeschoben wird. Durch ihre Position am Übergang der V. cava caudalis wird eine vollständige Drainage des rechten Vorhofes ermöglicht. Während der EKZ-Phase dient diese Kanüle dem venösen Abfluss.

### 3.2.3.3 Extrakorporale Zirkulation und Applikation der Luftbläschen

#### Anschluss an die Herz-Lungen-Maschine

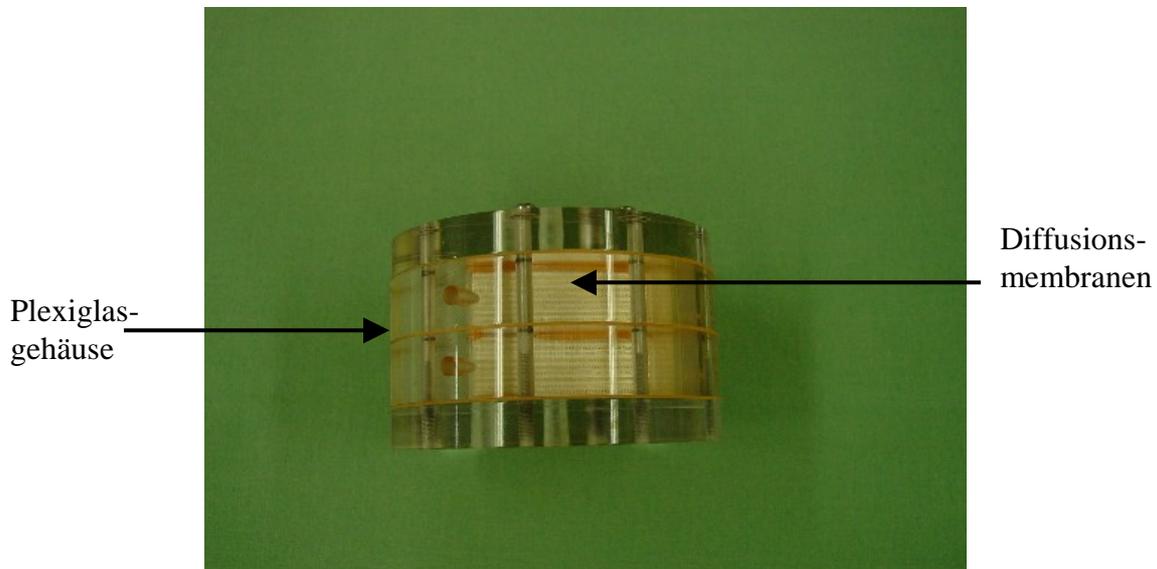
Die Herz-Lungen-Maschine (HLM) besteht aus der venösen Abflusskanüle, einem venösen Reservoir (Plexiglas®, Dipl. Ing. M. Humbs, Valley), einer nicht-pulsatilen Rollerpumpe (Masterflex®, Cole-Parmer Instrument Co., USA), einem Membranoxygenator, einer integrierten ultrasonographischen Fluss-Sonde (T208, Transonics Systems, Inc., USA) und der arteriellen Einflusskanüle. Alle Elemente sind durch Silikonschläuche (1,6 mm Innendurchmesser, Tygon®, Cole-Parmer Instrument Co., USA) untereinander verbunden (siehe Abbildung 13).



**Abbildung 13:** Herz-Lungen-Maschine mit venösem Reservoir, Rollerpumpe und Membranoxygenator (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

Der Membranoxygenator setzt sich aus zwei Membranpaketen (4 x 4 cm, Höhe: 1,5 cm) zusammen, die jeweils aus mehreren kreuzweise übereinander gelegten Diffusionsmembranen (Polymethylpenten, Jostra AG, Hirrlingen) bestehen. Beide Pakete sind in ein Plexiglasgehäuse (8 x 8 cm) eingebettet und bilden insgesamt eine Gasaustauschfläche von 1256,8 cm<sup>2</sup> (siehe Abbildung 14). Dieser neu entwickelte Membranoxygenator gewährleistet bei einer Beatmung mit 34 % O<sub>2</sub> eine ausreichende Oxygenierung, so dass das restliche Volumen für die in diesem Versuch benötigte Menge an Xenon (56 %) zur Verfügung steht (CARLSEN, 2005). Das venöse Blut, das aus dem Venenkatheter in das venöse Reservoir fließt, wird zur Roller-

pumpe drainiert. Von dort gelangt es über die Rollerpumpe zu den Sauerstoffmembranen. Hier wird das Blut oxygeniert, von CO<sub>2</sub> befreit und mit den jeweiligen Narkosegasen angereichert und gelangt über die arterielle Kanüle wieder zurück in den Körperkreislauf.



**Abbildung 14:** Membranoxygenator mit einer gesamten Gasaustauschfläche von 1256,8 cm<sup>2</sup> (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

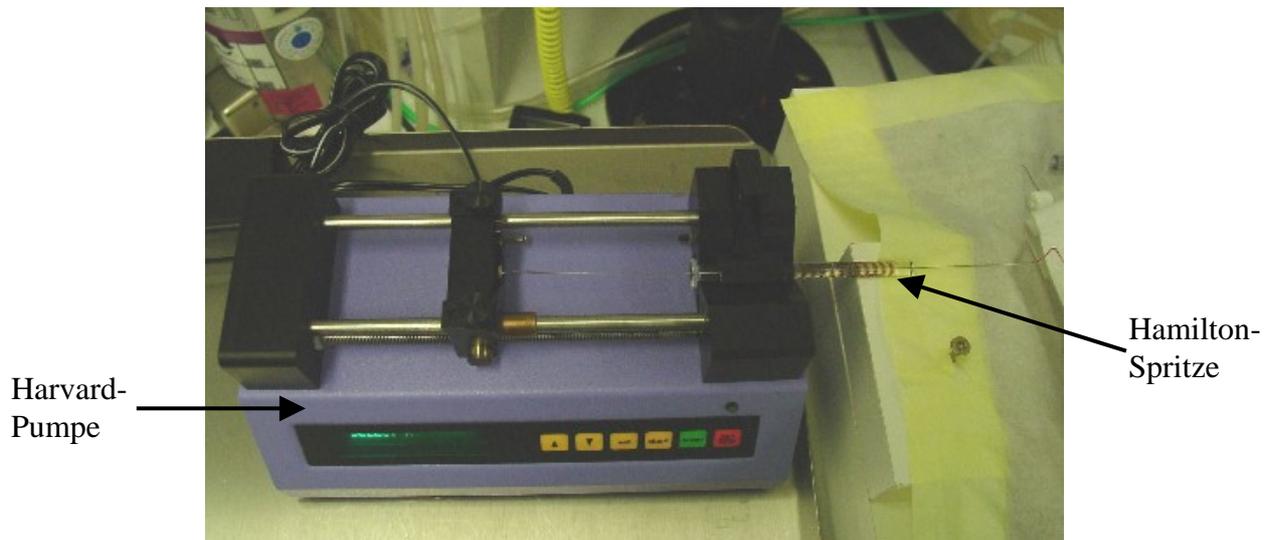
Zu Beginn der EKZ wird der Kreislauf im sogenannten „priming“ mit circa 14 Milliliter Vollblut, welche einem vollheparinisierten Spendertier entnommen werden, zwei Milliliter Hydroxyethylstärke (HAES 60 mg/ml, Voluven®, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg) und 100 IE Heparin aufgefüllt und gleichzeitig entlüftet.

Die Tiere, die randomisiert der EKZ-Gruppen zugeteilt sind, werden nun an die HLM angeschlossen. Zunächst wird der Jugulariskatheter an den Kreislauf konnektiert, aber noch nicht geöffnet. Nach Anschluß und Öffnung des Schwanzarterienkatheters öffnet man auch den Venenkatheter. Gleichzeitig erfolgt die kontinuierliche Einstellung der Flussrate, entsprechend dem physiologischen Ruhe-Herzzeitvolumen der Ratte, auf einen Bereich zwischen 160 und 180 ml/kg/min. Nach dem Erreichen des angestrebten Blutflusses stellt man den Ventilator ab und die Anreicherung des Blutes mit Gasen erfolgt nun über den Oxygenator.

### Verabreichung der Luftbläschen

Das 60-minütige Zeitintervall der wiederholten Injektionen beginnt 15 Minuten nach Initiierung der EKZ (beziehungsweise in der Sham-Gruppe entsprechend zeitkorreliert) und endet 15 Minuten vor Abgang von der EKZ (siehe auch Abbildung 10).

Die Luft-/Kochsalzlösunginjektion erfolgt über eine Hamilton-Gastight-Microliterspritze (10  $\mu$ l 1701 N Hamilton Bonaduz AG, Schweiz). Die 10  $\mu$ l-Hamilton-Spritze ist bei Tieren mit Luftinjektionen (EKZ-Gruppen) mit 2,5  $\mu$ l physiologischer Kochsalzlösung – 0,3  $\mu$ l Luft – 2,5  $\mu$ l physiologischer Kochsalzlösung, und bei Tieren ohne Luftinjektion (Sham-Gruppen) nur mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Die Injektionsgeschwindigkeit wird mit Hilfe eines Perfusors (Harvard-Pumpe, Harvard Apparatus, So. Watick, MA 01760) bei 0,15 ml/h eingestellt (siehe Abbildung 15). Über einen Zeitraum von 60 Minuten erfolgt die repetitive Injektion von zehn Boli mit je 0,3  $\mu$ l, also insgesamt 3,0  $\mu$ l Luft. Nach dem letzten Bolus spült man den Katheter nochmal mit 10  $\mu$ l Kochsalzlösung, um sicherzustellen, dass auch die letzte Luftblase ins Tier gelangt ist.



**Abbildung 15:** Harvard-Pumpe mit Hamilton-Spritze (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

### Abgang von der Herz-Lungen-Maschine

Nach 90-minütiger EKZ diskonnektiert man die Tiere von der HLM. Hierzu wird nacheinander mit kontinuierlich steigendem Atemzugvolumen beatmet, die Flussrate langsam verringert und der venöse Abfluss (Jugulariskatheter) geschlossen. Bis zu einem MAP von 80 mmHg bleibt die Blutzufuhr aufrechterhalten und wird dann durch Verschluss des arteriellen Kathe-

ters (Schwanzarterie) unterbrochen. Es folgt das Ziehen des Jugulariskatheters, das Ligieren des Gefäßes und das Kauterisieren eventueller Blutungen. Auch der Karotiskatheter wird entfernt, das Gefäß ligiert und die Wundränder mit U-Heften adaptiert.

### 3.2.3.4 Erholungsphase nach EKZ

Zur Wiederherstellung der Homöostase kontrolliert und reguliert man zum Schluss der EKZ-Phase alle physiologischen Parameter, die nach Ablauf der 60-minütigen Erholungsphase nochmals überprüft werden. Die intravenöse Basisnarkose wird beendet, die Katheter der A. und V. epigastrica superficialis, sowie der A. mediana sacralis werden entfernt, die Gefäße ligiert und die Hautwunden verschlossen. Sobald die Tiere spontan zu atmen beginnen und versuchen sich umzudrehen, erfolgt die Extubation. Zur Beobachtung setzt man die Tiere in eine mit Sauerstoff angereicherten Box mit Wasser und Futter ad libitum. Hier bleiben die Tiere über Nacht und werden am nächsten Morgen zurück in den Versuchskäfig gesetzt.

### 3.2.3.5 Messparameter

Zur Gewährleistung eines konstanten standardisierten Versuchsablaufes erfolgt während der gesamten operativen Phase zu definierten Zeitpunkten, nämlich direkt vor Anschluss der EKZ (prä EKZ), nach 45 und 90 Minuten EKZ (45 und 90 min EKZ) und 60 Minuten nach Beendigung der EKZ (post EKZ) die Überwachung, die Dokumentation und gegebenenfalls die Korrektur verschiedener physiologischer Parameter.

#### Temperatur:

Die perikraniell gemessene Temperatur wird kontinuierlich mit Hilfe einer wassergefüllten Wärmematte und eines Warmlüfters (WarmTouch® 5200, Nellcor, USA) bei  $37,5 \pm 0,5$  °C reguliert.

#### Blutdruck, Blutgase, pH, Basenabweichung, Elektrolyte und Hämatokrit:

Über die A. epigastrica superficialis caudalis erfolgt die Blutdruckmessung, wobei der MAP über 70 mmHg liegen soll. Das Blut für die Blutgasanalyse (Rapidlab™ 860, Bayer Vital GmbH, Fernwald) nimmt man vor und nach EKZ über die A. mediana sacralis und während der EKZ direkt am Oxygenator ab. Vom Referenzbereich abweichende arterielle Sauerstoff- (75 bis 100 mmHg) und Kohlendioxidpartialdruckwerte (30 bis 38 mmHg) werden mit entsprechenden Veränderungen der Beatmungsfrequenz und des Atemzugvolumens korrigiert.

Der pH-Wert soll über den gesamten Zeitraum der Operation hinweg nicht unter 7,35 und nicht über 7,45 liegen. Respiratorische Azidosen werden über die Beatmung, metabolische mit Natriumhydrogenkarbonat (84 mg/ml, DeltaSelect, Pfullingen) nach der Formel Bikarbonat =  $-BE \times 0,3 \times \text{kg KGW}$  korrigiert. Auch die Elektrolyte Natrium, Kalium und Kalzium werden überwacht und gegebenenfalls substituiert. Der Hämatokritwert soll am Ende des Versuches nicht unter 30 % betragen.

### Blutglukose:

Gleichzeitig erfolgt mit einem Schnelltestgerät (Glucometer® Elite™, Bayer HealthCare AG Diagnostics, USA) die Messung der Blutglukose-Konzentration. Hypoglykämische Zustände (Blutglukose unter 80 mg/dl) werden mit Glukose-Infusionen (0,1 bis 0,2 ml Glukose 50 %, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) ausgeglichen.

### Atmung:

Die inspiratorischen und endexpiratorischen Sauerstoff-, Kohlendioxid- und Isoflurankonzentrationen werden mit Hilfe eines Atemgasmonitors (Capnomac Ultima, Datex-Ohmeda GmbH, Duisburg) überwacht. Für die Überprüfung der Xenonkonzentrationen steht ein zusätzlicher Atemgasmonitor zur Verfügung.

## **3.2.4 Neurologische Untersuchung**

Zusätzlich zum modifizierten Hole-Board-Test (mHBT) werden die Tiere zur Erfassung von neurologisch-motorischen Defiziten einer neurologischen Untersuchung unterzogen. Hierzu führt man verschiedene Tests durch, mit denen es möglich ist, sensorische (Seh- und Hörvermögen, Propriozeption, Laufvermögen, Bewusstsein) und motorische (Gleichgewicht, Koordination, Greif- und Haltevermögen) Fähigkeiten genauer zu beurteilen.

### **3.2.4.1 Versuchsplan**

Um die Ratten an den Ablauf der unterschiedlichen Tests zu gewöhnen, werden alle neurologischen Untersuchungen (NU) ohne Dokumentation am Tag -2 vor der Operation durchgeführt. Am folgenden Tag -1 werden die Untersuchungen bewertet und schriftlich festgehalten. Die Ergebnisse von diesem Tag dienen als Ausgangswert (sogenannte Baseline) zum Vergleich mit den postoperativ erhobenen Messwerten. Die nach dem Operationstag Tag 0 durchgeführten neurologischen Untersuchungen erfolgen am Tag 1, Tag 2, Tag 3 und nach

einer acht-tägigen Pause am Tag 12. Um eine gegenseitige Beeinflussung der neurologischen Untersuchung und des mHBT auszuschließen, findet an diesen Tagen keine Untersuchung der Tiere im mHBT statt.

Bei allen Versuchen wird durch eine untergelegte Schaumstoffmatte (80 x 50 x 10 cm) gewährleistet, dass sich die Tiere im Falle eines Sturzes nicht verletzen können.

### **3.2.4.2 Versuchsdurchführung und Bewertung der sensorischen Untersuchungen**

Die Beurteilung und Dokumentation der Ergebnisse der sensorischen Tests erfolgt mit einem Punktesystem.

#### Wattebauschtest

Um das Sehvermögen der Tiere zu untersuchen, wird der sogenannte Wattebauschtest durchgeführt: ein Wattebausch wird am äußeren Sehfeld jeden Auges fallengelassen, ohne dass dabei das Tier berührt wird. Ein normal sehendes Tier reagiert mit einer Kopfbewegung in Richtung des Wattebausches (Bewertung null Punkte), wohingegen bei einem reduzierten Sehvermögen keine Reaktion (Bewertung ein Punkt) erfolgt.

#### Hörtest

Durch Geräuscherzeugung (Händeklatschen) direkt hinter dem Tier wird bei hörenden eine Reaktion, zum Beispiel Drehen des Kopfes oder Loslaufen, provoziert (Bewertung null Punkte). Ist keinerlei Reaktion zu beobachten, wird das Hörvermögen als eingeschränkt bewertet (ein Punkt).

#### Propriozeption Körper (Body proprioception)

Die Beurteilung der Propriozeption am Körper erfolgt anhand der Reaktion des Tieres auf folgenden Reiz: mit einer Pinzette wird einmal die rechte und einmal die linke Flankengegend der Ratte kurz, aber deutlich wahrnehmbar für das Tier, berührt. Ein normal reagierendes Tier antwortet auf diesen Reiz mit einer Bewegung des Kopfes oder des Körpers (null Punkte). Undeutliche Reaktionen werden mit einem Punkt, fehlende Reizantworten mit zwei Punkten bewertet. Hierbei achtet man vor allem auf eine seitenbetonte Einschränkung, da in dem benutzten Modell der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) mit injizierten Luftboli fokale Ischämien induziert werden.

### Vibrissenreaktion (Response to Vibrissae)

Mit einer Pinzette werden von seitlich hinter dem Tier (außerhalb des Sichtfeldes) dessen Tasthaare (Vibrissen) einmal von der rechten Seite und einmal von der linken Seite berührt. Die Reaktion auf diesen Stimulus dokumentiert man folgendermaßen: Bewegungen des Kopfes, der Tasthaare oder ähnliches werden mit null Punkten als physiologisch gewertet, nicht eindeutige Reaktionen auf die Berührung werden mit einem Punkt als reduziert und jegliches Fehlen einer Antwort wird mit zwei Punkten als nicht vorhanden bewertet. Auch bei diesem Test wird besonders auf die seitenvergleichenden Reaktionen geachtet.

### Laufvermögen

Das Laufvermögen der Tiere wird schon beim täglichen Handling, während der Durchführung des mHBT und der unterschiedlichen neurologischen Untersuchungen beobachtet. Man bewertet, ob die Ratten ein normales Laufverhalten mit gleichmäßigen Bewegungsabläufen (null Punkte), eine eingeschränkte Mobilität, zum Beispiel Koordinationsstörungen oder Kreisbewegungen, zeigen (ein Punkt).

### Bewusstsein

Schon während dem Handling (Füttern, tägliches Wiegen et cetera) und den anderen durchzuführenden Untersuchungen (mHBT, neurologische Tests) erfolgt die Beurteilung der Tiere im Bezug auf ihr Bewusstsein, Pflegeverhalten und Allgemeinbefinden. Pflegeverhalten und Allgemeinbefinden fließen bei der Bewertung des Bewusstseins mit ein, und werden deshalb nicht extra bewertet. Gesunde Tiere besitzen ein glattes, anliegendes Fell, die Augen- und Nasenumgebung ist nicht verschmutzt. Ratten sind von Natur aus sehr neugierige und gesellige Tiere. Ein nicht geschädigtes Tier zum Beispiel erkundet aufmerksam seine Umgebung, sucht Kontakt zu seinen Artgenossen und liegt beim Schlafen dicht bei den anderen Gruppenmitgliedern. In ihrem Bewusstsein gestörte Tiere fallen durch struppiges, verschmutztes, rot gefärbtes (Sekret der Harderschen Drüsen) Fell, reduzierte Wasser- und Futteraufnahme (Körpergewichtsabnahme), Absondern von der Gruppe, veränderte Körperhaltung (aufgekrümmter Rücken), bis hin zur Lethargie, auf. Je nach Schädigungsgrad wird das Bewusstsein als physiologisch mit null Punkten, als gedämpft beziehungsweise ruhelos mit einem Punkt oder als lethargisch mit zwei Punkten bewertet.

### 3.2.4.3 Versuchsdurchführung und Bewertung der motorischen Untersuchungen

Die Ergebnisse der motorischen Untersuchungen werden in Form von Absolutwerten erhoben und dokumentiert.

#### Balken-Gleichgewichts-Test (Beam-Balance)

Zur Untersuchung von Gleichgewicht und Muskelkraft setzt man die Ratten beim Beam-Balance auf einen 1,5 cm breiten und 130 cm langen Holzbalken. Hier müssen die Tiere das Gleichgewicht für maximal 60 Sekunden halten (siehe Abbildung 16). Der Test wird im Abstand von jeweils einer Minute noch zweimal wiederholt. Dokumentiert wird die Balance-Zeit in Sekunden von jedem der drei Testdurchgänge, wovon die Mittelwerte gebildet werden. Für nicht geschädigte Tiere stellt es kein Problem dar, das Gleichgewicht auf dem Balken für 60 Sekunden zu halten.



**Abbildung 16:** Ratte während Balken-Gleichgewicht-Test (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

#### Balken-Geh-Test (Beam-Walking)

Bei diesem Test sollen die Ratten auf einem 2,5 cm breiten und 130 cm langen Holzbalken eine definierte Strecke von drei mal einem Meter hin und her laufen, also insgesamt drei Meter zurücklegen (siehe Abbildung 17). Festgehalten wird die Anzahl und Lokalisation (Vorder-/Hintergliedmaße, rechts/links) der Fehlritte, und ob ein Tier überhaupt fähig ist, sich auf dem Balken zu halten. Mit diesem Test lässt sich eine Aussage über Gleichgewicht, Muskel-

kraft, Funktion der Stellreflexe und über die Seitenbetonung der motorischen Störung treffen. Ist es für ein Tier nicht möglich, sich auf dem Balken zu halten und sich fortzubewegen, bewertet man dies mit einer maximal erreichbaren Anzahl von 100 Fehlritten.



**Abbildung 17:** *Beispiel einer Ratte beim Balken-Geh-Test (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).*

### Drahtgitter-Test (Rotating-Grid)

Der Drahtgitter-Test ist eine Untersuchung, bei welcher das Greif- und Haltevermögen der Vorder- und Hintergliedmaßen getestet wird. Hierzu sollen sich die Tiere an einem unterschiedlich stark geneigten Drahtgitter (57 x 50 cm, Lochgitterabstand 1 cm) festhalten. Das Gitter wird zunächst in horizontaler ( $0^\circ$ ), dann nach langsamer Drehung in vertikaler ( $90^\circ$ ) (siehe Abbildung 18 A) und schließlich um  $180^\circ$  gedrehter Position (siehe Abbildung 18 B) für fünf Sekunden gehalten. Dabei dokumentiert man, wie lange, beziehungsweise ob sich die Ratten in der jeweiligen Position festhalten können.

A)



B)

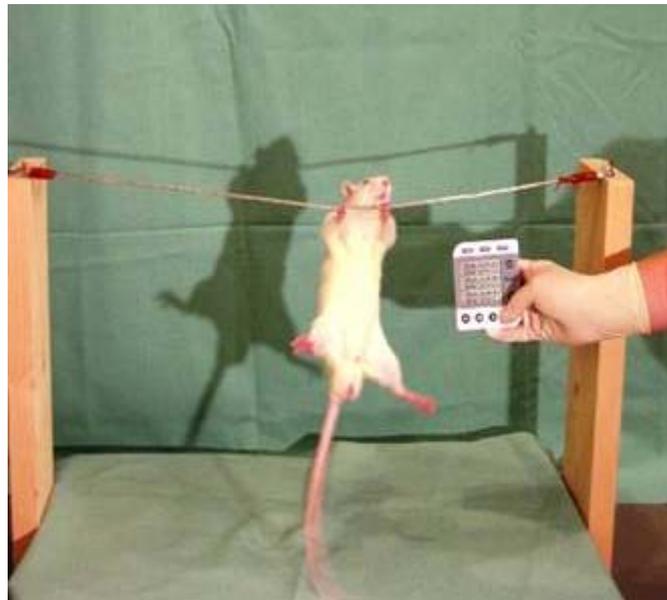


**Abbildung 18:** Drahtgitter-Test bei vertikaler (A) und um 180° gedrehter Position (B) (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

Greif-Zug-Test (Prehensile-Traction) und Symmetrie der Bewegungen (Movement Symmetry)

Zur Untersuchung der Muskelkraft und des Greifvermögens der Vordergliedmaßen muss sich das Tier an einem Drahtseil (60 x 0,3 x 0,3 cm), welches 40 cm über dem Boden angebracht ist, für maximal 15 Sekunden festhalten (siehe Abbildung 19). Dabei beurteilt man die Haltezeit in Sekunden und die Symmetrie des Greifvorganges (symmetrisch, einseitig reduziert, beidseitig reduziert). Im Abstand von einer Minute wird dieser Test ein zweites mal wieder-

holt und die erfassten Werte gemittelt. Gesunde Tiere greifen symmetrisch mit beiden Vordergliedmaßen und können sich ohne Probleme bis zu 15 Sekunden festhalten.



**Abbildung 19:** Beispiel einer Ratte beim Greif-Zug-Test (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

### Motorische Parameter im mHBT

Noch zwei weitere Parameter gehen in die Bewertung der motorischen Fähigkeiten mit ein, die jedoch im Rahmen der Durchführung des mHBT stattfinden. Dies ist zum einen die Fresszeit, welche das Tier benötigt, um eine Futterbelohnung zu fressen und zum anderen ist dies die Geschicklichkeit, mit welcher die Tiere ein Loch öffnen und die Futterbelohnung herausholen. Gelingt dies aufgrund von motorischen Defiziten nicht, spricht man von einem sogenannten frustranen Lochbesuch (siehe 3.2.5.6).

### **3.2.5 Der modifizierte Hole-Board-Test nach Ohl**

Der modifizierte Hole-Board-Test (mHBT) ist ein visuell-räumlicher Verhaltenstest, der eine Kombination aus dem Hole-Board zur Untersuchung des Explorationsverhaltens (FILE und WARDILL, 1975b) und dem Open-Field-Test zur Beurteilung von emotionalem Verhalten darstellt (BROADHURST, 1957).

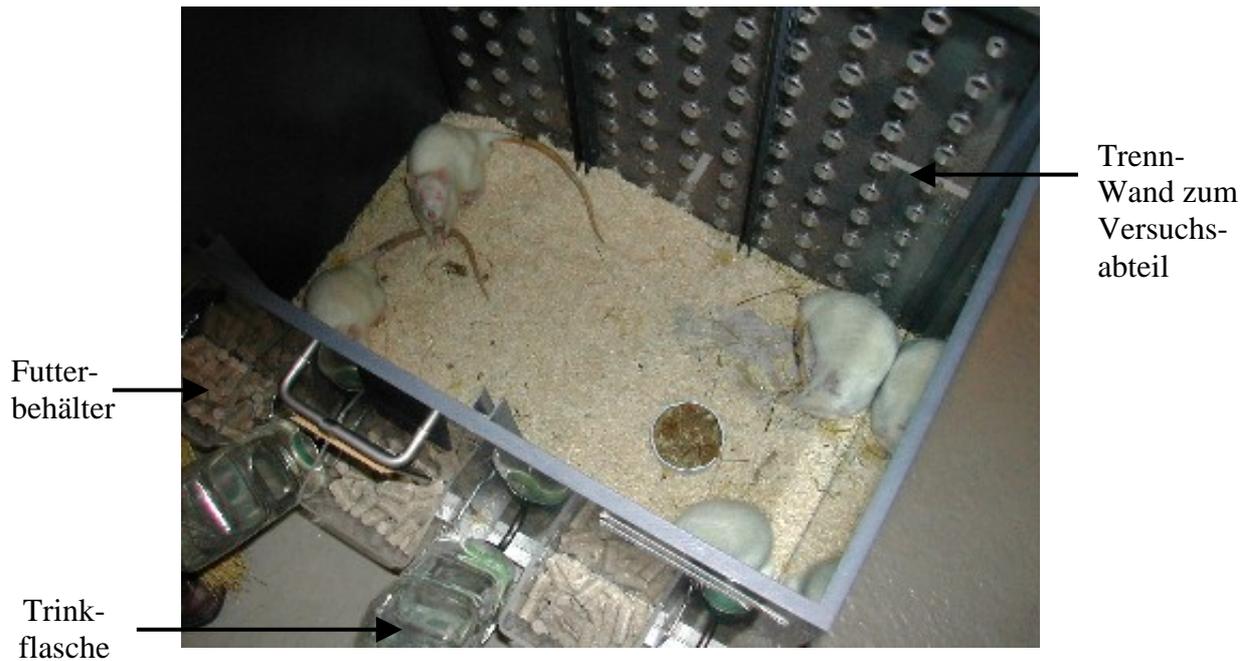
Die Tiere lernen bei diesem Test, eine Futterbelohnung in Form von Puffreis (Frigeo, Remshalden) aus drei markierten von 15 möglichen, sich selbst schließenden Mulden zu holen. Die

Muldenkombination ist randomisiert und wird täglich gewechselt. Pro Untersuchungstag werden drei Durchläufe absolviert, die Ergebnisse werden gemittelt. Der mHBT hat gegenüber anderen Verhaltenstests den Vorteil, dass gleichzeitig kognitive, emotionale und motivationale Verhaltensparameter bestimmt werden können und dazu kein negativer Stimulus, wie etwa Futterentzug nötig ist, da die Tiere aus Neugier lernen. Ebenso ist es mit diesem Test möglich, motorische Defizite zu detektieren.

Für den Erfolg dieses sensiblen Testes ist es notwendig, dass konstante, standardisierte Bedingungen in allen Einzelschritten eingehalten werden. Die empfindlichen und auf jede Änderung reagierenden Tiere werden immer vom gleichen Untersucher gepflegt und getestet. Zugang zum Untersuchungsraum haben nur befugte Personen, die bestimmte Vorschriften zu erfüllen haben. Die Kleidung besteht aus sauberer OP-Wäsche, Mundschutz, Haube, Überschuhen und Handschuhen. Die Untersuchungen erfolgen täglich zur selben Zeit zwischen 8:00 und 12:00 Uhr, möglichst nahe an der Dunkelphase (12:00 bis 24:00 Uhr).

### **3.2.5.1 Der Versuchskäfig**

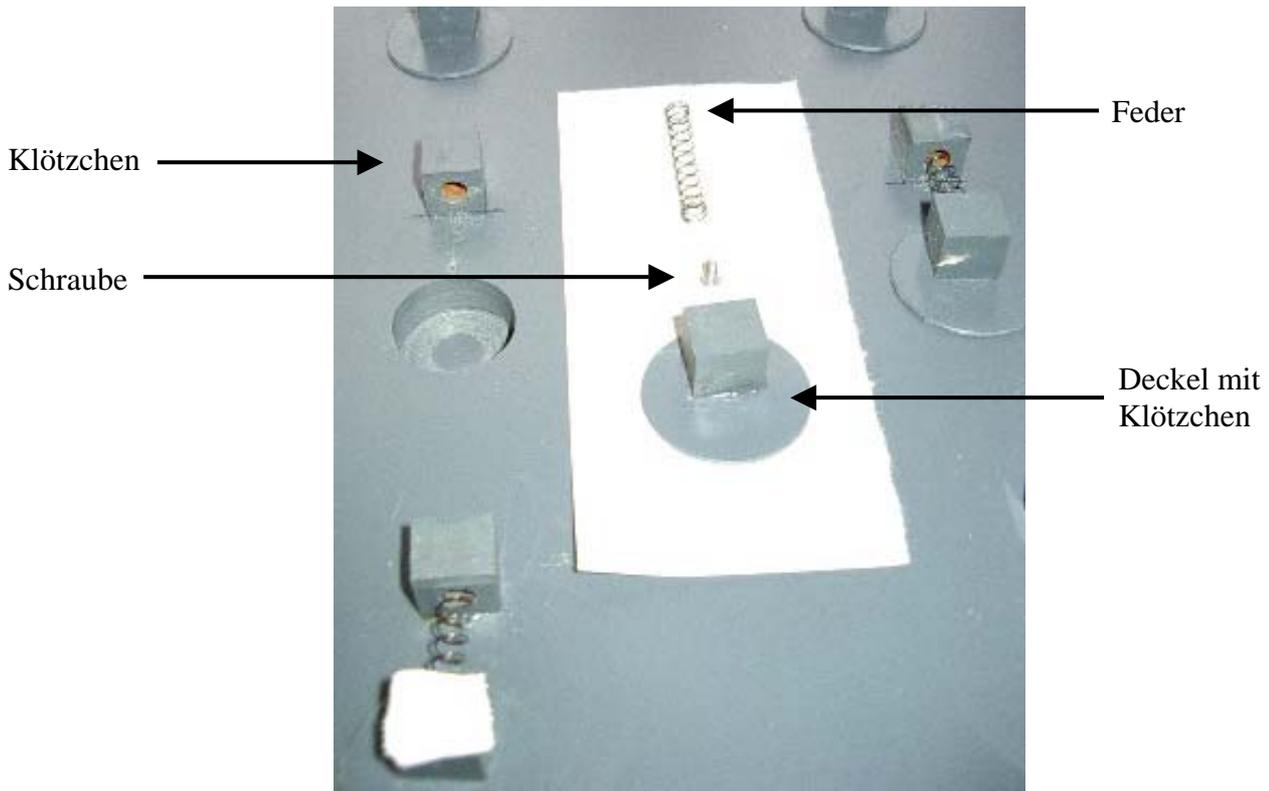
Der Untersuchungskäfig, in dem die Tiere schon 10 Tage vor Testbeginn zur Gewöhnung gehalten werden, besteht aus grauem PVC (Firma Josef Weiss Plastik GmbH, München) mit den Maßen 80 x 60 x 50 cm, Schichtdicke 1 cm. Nach oben hin ist er mit einem abnehmbaren Metallgitter (Moradelli, Fabrik für Lochbleche, Kirchheim) mit einer Quadratlochung von 1 x 1 cm abgedeckt. Nach der einwöchigen Gewöhnungsphase wird mit Hilfe von PVC-U-Profilschienen (Firma Karmann und Droll, Karlsfeld, 13 x 15 x 1,5 mm, Länge 50 cm) eine Trennwand aus durchsichtigem Plexiglas (Firma Josef Weiss Plastik GmbH, München, 50 x 60 cm, Schichtdicke 1 cm) eingeschoben. Diese Trennwand teilt den Versuchskäfig in zwei gleich große Bereiche (je 40 x 60 x 50 cm), nämlich in ein Tierabteil und eine Versuchsarena, ab. In der Trennwand befinden sich im Abstand von 5 cm Löcher mit einem Durchmesser von 2 cm. Diese Löcher ermöglichen den Tieren in der Versuchsarena die Kontaktaufnahme zu den Gruppenmitgliedern im Tierabteil. An der Stirnseite des Tierabteils befinden sich Futterbehälter und Trinkflaschen, zu denen die Tiere jederzeit Zugang haben (siehe Abbildung 20).



**Abbildung 20:** Abgetrenntes Tierabteil (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

### 3.2.5.2 Das modifizierte Hole-Board

Das modifizierte Hole-Board besteht aus einer grauen PVC-Platte (Firma Josef Weiss Plastik GmbH, München, 40 x 25 cm, Schichtdicke 1 cm), auf welcher 15 Löcher gleichmäßig verteilt sind. Die Löcher haben einen Durchmesser von 2 cm und eine Lochtiefe von 0,7 cm. Jedes Loch wird von einem dünnen PVC-Deckel ( $\varnothing = 2,5$  cm) geschlossen, der über eine kleine Schraube am Board beweglich befestigt ist. Auf dem Deckel und auf dem Board sind zusätzlich zwei PVC-Klötzchen angebracht, über welche eine Stellfeder eingespannt ist. Durch diese Stellfeder wird gewährleistet, dass der Deckel nach dem Öffnen wieder in seine ursprünglich geschlossene Position zurückgelangt (siehe Abbildung 21).



**Abbildung 21:** *Aufbau eines modifizierten Hole-Boards mit Deckel, Klötzchen, Schraube und Feder (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).*

Vor Gebrauch des Hole-Boards erfolgt die Vorbereitung immer auf die selbe Art und Weise. Zuerst wird es mit Zellstoff und Wasser gereinigt. Da Ratten über einen sehr guten Geruchssinn verfügen, streicht man alle Löcher vor dem Test mit Johannisbeeraroma (Mikro-Plus®, Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf) aus und taucht den Puffreis in Johannisbeeraroma, sodass der Eigengeruch der Puffreisstücke überdeckt wird und alles gleich riecht. Aus dem selben Grund werden über Nacht die Leukoplast-Klebestreifen (Leukoplast® hospital, BSN medical GmbH & Co. KG, Hamburg) zur Markierung der Deckel auf jedem Deckel angebracht, damit am nächsten Tag alle Deckel gleich stark nach Kleber riechen.

### 3.2.5.3 Zeitlicher Versuchsplan

Zur Gewöhnung an das modifizierte Hole-Board, an die Versuchsarena und an die Testsituation, erfolgt am Tag -3 eine Gruppenhabituation, an den Tagen -1/-2 eine Paarhabituation und am 2. und 3. postoperativen Tag eine Einzelhabituation (siehe Punkt 3.2.5.4). Die sechstägige Lernphase beginnt am 4. und endet am 9. postoperativen Tag. Nach einer Pause von vier Ta-

gen führt man am Tag 14 einen Wiederholungstest (Retest) durch, in dem geprüft wird, ob das in der Lernphase Gelernte noch vorhanden ist.

### 3.2.5.4 Versuchsdurchführung

#### Akklimatisierungsphase

Die Tiere werden nach ihrer Ankunft aus dem Zuchtbetrieb in Vierergruppen in Makrolon Käfigen vom Typ IV gehalten. Hier verbringen sie die ersten elf Tage und gewöhnen sich an die neuen Haltungsbedingungen (verändertes Raumklima, neuer Tag- Nachtrhythmus, fremde Tierpfleger). Zehn Tage vor der Operation werden die Tiere dann in Achtergruppen in den Versuchskäfig umgesetzt. Bis zum Tag -1 steht ihnen der gesamte Versuchskäfig zur Verfügung (siehe Abbildung 22). Da Ratten über eine Futterinhibition verfügen, das heißt fremdes neuartiges Futter wird zunächst nicht von allen Tieren aufgenommen (SOUBRIE et al., 1975), wird ihnen an den Tagen -5 und -4 Puffreis aus der Hand des Untersuchers angeboten. Dabei gewöhnen sie sich gleichzeitig an den Untersucher.



**Abbildung 22:** Versuchskäfig ohne Abtrennung (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München).

#### Gruppenhabituation

Am Tag -3 kommen die Ratten während der sogenannten Gruppenhabituation das erste Mal mit dem Hole-Board in Berührung. Dazu wird es zuerst gereinigt und die Mulden werden mit Johannisbeeraroma ausgestrichen. Alle 15 Löcher befüllt man mit Johannisbeeraroma benetz-

ten Puffreisstücken und die Löcher sind nicht geschlossen. Die Deckel sind noch nicht mit Leukoplast-Klebestreifen beklebt und die Federn sind noch nicht eingesetzt. So vorbereitet wird es nun in der gleichen Position in den Käfig, wie später unter Testbedingungen, gelegt. Das Board verbleibt bis zum nächsten Tag im Käfig, somit haben die Tiere genügend Zeit das Hole-Board in der ihnen bekannten Umgebung und in der Sicherheit der Gruppe zu erkunden und zu markieren. Gleichzeitig erlernen die Tiere, die Futterbelohnung mit dem Board zu assoziieren.

### Paarhabituation

Bei dieser Habituation können sich die Ratten in Zweiergruppen an das Hole-Board und an die Versuchsarena gewöhnen. Daraus ergibt sich, dass ein Tier am Tag -2 und das zweite Tier am Tag -1 seiner Versuchsphase paarweise habituiert wird. Die Abtrennung des Käfigs in Tierabteil und Arena erfolgt nun durch Einsetzen der Trennwand, die Versuchsarena wird von Streu und Schmutz befreit und mit Leukoplaststreifen in vier gleich große Bereiche unterteilt. Das vorbereitete und komplett befüllte Board platziert man mittig in der Arena, Markierungen und Federn fehlen. Nun können die beiden Tiere nochmals das Board und die Arena gemeinschaftlich explorieren und markieren.

### Einzelhabituation

Die Einzelhabituation findet am Tag 2 im 3 D-Test (3 Durchläufe) und am Tag 3 im 4 D-Test (4 Durchläufe) nach der Operation statt. An diesen beiden Tagen werden die Tiere nun schrittweise an die Versuchsanordnung herangeführt, welche dann in der Lernphase bis zum Testende beibehalten wird. Die Ratten gewöhnen sich an mehrere Durchläufe und erlernen das Öffnen der Löcher mit den eingespannten Federn. Außerdem wird ihnen vermittelt, dass sich nur noch unter markierten Deckeln eine Futterbelohnung befindet. Ein Durchlauf ist beendet, wenn drei Puffreisstücke gefressen werden beziehungsweise, wenn die maximale Dauer von zehn Minuten eines Durchganges erreicht ist.

Beim 3 D-Test sind im ersten Durchlauf alle Löcher mit Puffreis bestückt und die Deckel bleiben alle ohne Federn halb geöffnet. Im zweiten Durchlauf sind nur noch zehn Mulden mit Futterbelohnungen gefüllt, wobei fünf davon geschlossen und die anderen fünf halb geöffnet bleiben. Die fünf leeren Löcher bleiben weit offen. Im dritten Durchlauf werden wiederum zehn Löcher befüllt, die jetzt alle geschlossen werden. Die restlichen fünf leeren bleiben vollständig geöffnet.

In den ersten beiden Durchläufen des 4 D-Testes am Tag 3 sind nur noch drei Löcher (randomisierte Lochkombination) mit einer Futterbelohnung bestückt und alle Deckel sind geschlossen. Die Deckel dieser befüllten Mulden sind nun markiert. Der dritte und vierte Durchgang unterscheidet sich vom ersten beziehungsweise zweiten nur dadurch, dass noch zusätzlich die Federn eingesetzt werden.

### Lernphase

Die einzelnen Tage der Lernphase (Tag 4 bis Tag 9) unterscheiden sich untereinander nur durch die täglich wechselnde Lochkombination. Diese entnimmt man einer standardisierten Randomisierungsliste (siehe Tabelle 2). Täglich absolvieren die Tiere drei Durchläufe, die der Versuchsanordnung des dritten und vierten Durchganges des 4 D-Testes am Tag 3 entsprechen, die jeweiligen Ergebnisse dieser drei Durchgänge werden gemittelt.

**Tabelle 2:** *Randomisierte Lochkombinationen für den modifizierten Hole-Board-Test*

<b>Tag</b>	<b>Lochkombination</b>
<b>3 (4 D)</b>	2/5/8
<b>4</b>	2/5/8
<b>5</b>	4/12/13
<b>6</b>	3/10/12
<b>7</b>	1/2/15
<b>8</b>	4/6/9
<b>9</b>	9/12/13
<b>14</b>	2/11/14

### Wiederholungstest

Nach einer Pause von vier Tagen erfolgt am Tag 14 ein Wiederholungstest (Retest) mit anschließender Euthanasie und Organentnahme.

**Tabelle 3:** Zusammenfassende Darstellung der einzelnen Phasen des modifizierten Hole-Board-Testes im zeitlichen Verlauf

<b>Tag</b>	<b>Phase</b>
<b>-21 bis -11</b>	Akklimatisierung in Makrolonkäfigen
<b>ab -10</b>	Habituation an Versuchskäfig
<b>-4 und -5</b>	Habituation an Futterbelohnung
<b>-3</b>	Gruppenhabituation an mHBT
<b>-2/-1</b>	Paarhabituation an mHBT
<b>0</b>	Operation
<b>1</b>	1-tägige Pause
<b>2 und 3</b>	Einzelhabituation an mHBT (3 D und 4 D)
<b>4 bis 9</b>	Lernphase mHBT
<b>10 bis 13</b>	4-tägige Pause
<b>14</b>	Wiederholungstest mHBT

---

*mHBT = modifizierter Hole-Board-Test*

### **3.2.5.5 Datenerfassung**

Die Datenerfassung während des mHBT erfolgt mit einer speziell für diese Verhaltensuntersuchungen entwickelten Software (Jens Frühauf, München). Dabei werden verschiedene Parameter vom Beobachter per Tastendruck in einen Computer eingegeben. Jeder Tastenbefehl kodiert ein bestimmtes mit dem mHBT erfassbares Verhalten (siehe Tabelle 4).

**Tabelle 4:** *Tastenbefehle und ihre Bedeutung im mHBT*

<b>Tastenbefehl</b>	<b>Beobachtetes Verhalten</b>
<b>Box</b>	Tier exploriert die Versuchsarena
<b>Board</b>	Tier exploriert das modifizierte Hole-Board
<b>Männchen (Rearing)</b>	Männchen machen
<b>Linienüberquerung (Line Crossing)</b>	Tier übertritt eine auf dem Boden markierte Linie
<b>Urin</b>	Urinabsatz
<b>Boli</b>	Kotabsatz
<b>Korrekter Lochbesuch 1, 2 oder 3 (Correct Hole Visit)</b>	Tier besucht eines der drei markierten Löcher mit Futterbelohnung
<b>Wiederholer (Repeated Choice)</b>	Wiederholter Besuch eines bereits erfolgreich (Futterbelohnung wurde gefressen) besuchten markierten Loches
<b>Fehler (Wrong Choice)</b>	Besuch eines falschen, nicht markierten Loches ohne Futterbelohnung
<b>Fressen (Food Intake)</b>	Tier beginnt die Futterbelohnung zu fressen
<b>Immobilität (Immobility)</b>	Tier verharrt regungslos
<b>Fellpflege (Grooming)</b>	Tier putzt sich
<b>Kontaktaufnahme (Group Contact)</b>	Tier schnuppert an der Trennwand und nimmt Kontakt zur Gruppe auf

Die dadurch gewonnene Information speichert das Programm zeitkorreliert in einer Textdatei und wertet automatisch verschiedene Parameter aus, die dann wiederum den verschiedenen Qualitäten des Hole-Boards (siehe 3.2.5.6) zugeordnet werden können.

### 3.2.5.6 Qualitäten des modifizierten Hole-Board-Testes

Die Informationen, die mit dem mHBT gewonnen werden, ermöglichen es, kognitive Fähigkeiten, verschiedene Verhaltensdimensionen und motorische Leistungen der Tiere genauer zu betrachten und zu vergleichen. Außerdem lassen sich anhand der kognitiven Defizite auch Rückschlüsse auf deren Lokalisation im ZNS ziehen.

#### Kognitive Parameter

Die **Gesamtzeit** in Sekunden (Time Complete), die ein Tier für einen Durchlauf benötigt, ist beendet, wenn alle drei Belohnungen gefressen sind oder wenn die Maximalzeit von 600 Sekunden erreicht ist (siehe Tabelle 5).

Das Öffnen eines nicht markierten Loches wertet man als **Fehler** (Wrong Choice). Wird ein korrektes Loch (markiert mit Futter) während eines gesamten Durchganges nicht aufgesucht, so zählt dies als **Unterlassungsfehler** (Omission Error). Die Anzahl der nicht besuchten markierten Löcher (Omission Errors) werden zu der Anzahl der Fehler (Wrong Choices) addiert und ergeben zusammen die Anzahl der **Gesamtfehler** pro Durchlauf (Wrong Choices Total) (siehe Tabelle 5).

Der erneute Besuch eines Loches, bei welchem die Futterbelohnung bereits gefressen wurde, wird als **Wiederholer** (Repeated Choice) festgehalten (siehe Tabelle 5).

**Tabelle 5:** *Kognitive Parameter des mHBT mit den assoziierten Gehirnbereichen und den beteiligten Gedächtnissystemen (modifiziert nach OHL, 2000)*

Kognitive Parameter	ZNS-Korrelat	Gedächtnissystem
<b>Gesamtzeit [s]</b>		Lernleistung
<b>Gesamtfehler [Anzahl pro Durchlauf]</b>	Hippokampus	Deklaratives Gedächtnis
<b>Wiederholer [Anzahl pro Durchlauf]</b>	Präfrontaler Kortex	Arbeitsgedächtnis

### Verhaltensparameter

Zu beachten ist, dass sich die einzelnen Parameter nicht exakt einem Verhaltensmuster zuordnen lassen, vielmehr kommt es zu Überschneidungen. Ein immobiles Tier zum Beispiel bewegt sich nicht, weil es entweder psychisch durch Stress, Angst oder Schmerz nicht dazu in der Lage ist, oder weil es aufgrund einer gestörten Motorik nicht fähig ist. Die einzelnen Parameter werden im folgenden ihrem hauptsächlichen Aussagewert zugeordnet.

Das *Angstverhalten* wird neben der Anzahl der **Board Besuche** (Number of Board Entries), der **Latenz bis zum ersten Board Besuch** (Latency first Entry on Board) und der **auf dem Board verbrachten Gesamtzeit** (Time on Board) während eines Durchganges genauer beschrieben. Ebenso spiegelt sich das Angstverhalten in der Dauer der **Immobilität** (Immobility) wieder (siehe Tabelle 6).

Beim *Erkundungsverhalten* unterscheidet man zwischen (ziel-)gerichteter und ungerichteter Exploration. Zum gerichteten Erkundungsverhalten (Directed Exploration) zählt die gesamte Anzahl **besuchter Löcher** (Number of Holes Visited) und die **Latenz des zuerst besuchten Loches** (Latency first Hole Visit). Die Häufigkeit mit der die Ratten **Männchen** machen (Rearing) wird dem ungerichteten Erkundungsverhalten (General Exploration) zugeordnet (siehe Tabelle 6).

*Soziales Verhalten* äußert sich im mHBT durch die Zeitspanne, die das Tier mit der **Kontaktaufnahme** zur Gruppe (Group Contact) über die Trennwandlöcher verbringt (siehe Tabelle 6).

Die *Erregung* eines Tieres kennzeichnet sich durch vermehrten **Kotabsatz** (Boli) und durch eine längere Zeit, welche die Ratte mit der **Fellpflege** (Grooming) beschäftigt ist.

Als Indikator für die *Bewegungsaktivität* (Locomotor Activity) eines Tieres gelten die Menge an **Linienüberquerungen** (Line Crossings) (siehe Tabelle 6).

**Tabelle 6:** Verhaltensparameter im mHBT mit den assoziierten Verhaltensdimensionen (modifiziert nach OHL, 2000)

Verhaltensparameter	Verhaltensdimension
<b>Board Besuche [Anzahl pro Durchlauf]</b>	Angst
<b>Latenz erster Board Besuch [s]</b>	Angst
<b>Auf dem Board verbrachte Gesamtzeit [%]</b>	Angst
<b>Immobilität [%]</b>	Angst/Lokomotion/Allgemeinbefinden
<b>Besuchte Löcher [Anzahl pro Durchlauf]</b>	Exploration/Motivation
<b>Latenz erster Lochbesuch [s]</b>	Exploration/Motivation
<b>Männchen [Anzahl pro Durchlauf]</b>	Exploration/Motivation
<b>Gruppenkontakt [%]</b>	Soziale Affinität
<b>Kotabsatz [Anzahl pro Durchlauf]</b>	Erregung
<b>Fellpflege [%]</b>	Erregung
<b>Linienüberquerungen [Anzahl pro min]</b>	Lokomotion

### Feinmotorik

Die Beurteilung der motorischen Fähigkeiten erfolgen im mHBT anhand der pro Futterbelohnung benötigten **Fresszeit** (Food Intake) und anhand der Anzahl **frustranter Lochbesuche** (Previsited Holes) (siehe Tabelle 7).

**Tabelle 7:** *Motorische Parameter im mHBT mit den assoziierten motorischen Leistungen (modifiziert nach OHL, 2000)*

<b>Motorische Parameter</b>	<b>Motorische Leistung</b>
<b>Fresszeit [s]</b>	Feinmotorik
<b>Frustraner Lochbesuch [Anzahl pro Durchlauf]</b>	Feinmotorik

### 3.2.6 Histologische Untersuchung

#### 3.2.6.1 Probenentnahme

Nach Abschluss des Wiederholungstestes am Tag 14 werden die Tiere in tiefer Isofluran-Narkose (5,0 Vol %) euthanasiert. Durch eine zunächst mit 20 ml Natriumchloridlösung (0,9 %, DeltaSelect GmbH, Pfullingen), dann mit 20 ml Paraformaldehydlösung (4 %, Hausapotheke) intrakardiale Applikation, wird das Gehirn einer Formalinfixierung unterzogen. Das fixierte Gehirn wird vorsichtig entnommen und in 4-%iger Paraformaldehydlösung bei 4 °C aufbewahrt.

#### 3.2.6.2 Probenaufbereitung

##### Herstellung der Gehirnschnitte

Das gesamte formalinfixierte Gehirn schneidet man im Abstand von zwei mm in der Koronarebene von rostral nach kaudal in Blöcke. Jeweils zwei dieser Blöcke werden nebeneinander in Paraffin eingebettet. Von jedem dieser zwei mm dicken Paraffinblöcke werden nun mit einem Mikrotom (HM 355, Microm International GmbH, Walldorf) Schnitte in fünf verschiedenen Ebenen (Ebene 0; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0) angefertigt. Pro Ebene werden zunächst durch Trimmschnitte eine bestimmte, genau dokumentierte Materialmenge entfernt, bevor 5 x 10 µm große Schnitte entnommen und auf Objektträger (SuperFrost®Plus, Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig) aufgezogen werden (siehe Tabelle 8). Über Nacht folgt die Trocknung der Schnitte im Trockenofen bei 41 °C.

**Tabelle 8:** Ebenen und Schnitte eines zwei mm dicken Paraffinblockes

<b>Ebene</b>	<b>Trimmschnitte</b> (Anzahl x Dicke)	<b>Färbeschnitte</b> (Anzahl x Dicke)
<b>0</b>	5 x 50 µm	5 x 10 µm
<b>1,0</b>	5 x 50 µm	5 x 10 µm
<b>1,5</b>	3 x 50 µm	5 x 10 µm
<b>2,0</b>	2 x 50 µm	5 x 10 µm
<b>3,0</b>	5 x 50 µm	5 x 10 µm

### Hämatoxylin- und Eosin-Färbung

Für die Hämatoxylin- und Eosin-Färbung (HE-Färbung) werden die Gehirnschnitte für 50 Minuten in Roti-Histol (Firma Roth Carl GmbH & Co., Karlsruhe) entparaffinisiert. Es folgt eine schrittweise Hydrierung mit einer absteigenden Alkoholreihe (jeweils drei Minuten in 100-%igem, 96-%igem und 70-%igem Ethanol, Firma Merck KGaA, Darmstadt) mit anschließender Haemalaun-Färbung nach Mayer (Hausapotheke). Nach einer zweimaligen fünfminütigen Spülung mit Leitungswasser folgt eine Eosin-Färbung (40 Sekunden in wässriger Eosin-Dinatrium Lösung, Hausapotheke) mit anschließender Spülung in destilliertem Wasser. Danach werden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe (je 30 Sekunden in 70-%igem und 96-%igem und für 60 Sekunden in 100-%igem Ethanol) dehydriert. Letztendlich verbringt man die Schnitte für zwei Minuten in Roti-Histol, deckt sie mit Roti-Histokitt (Firma Roth Carl GmbH & Co., Karlsruhe) ein, trocknet sie und lagert sie bei Raumtemperatur in Objektträgerkästen.

### **3.2.6.3 Mikroskopische Auswertung**

Bei einer HE-Färbung stellen sich geschädigte Zellen entweder durch eine vermehrte Eosinophilie des Zellplasmas, oder als sogenannte dunkle Neuronen (dark neurons) dar. Die letzteren zeichnen sich durch ihr hochgradig basophiles Zytoplasma mit pyknotischen oder karyorhektischen Zellkernen ohne erkennbaren Nukleolus aus. Nicht geschädigte intakte Nervenzellen hingegen besitzen ein basophil angefärbtes Zytoplasma und einen basophilen Zellkern mit deutlich sichtbarem Nukleolus.

Die Auswertung der HE-gefärbten Schnitte erfolgt von einer geblindeten Assistentin unter dem Lichtmikroskop. Pro Ebene wird ein Schnitt ausgewählt und dessen Lage zum Riechhirn genau berechnet. Die Größe des Zellschadens (Infarktfläche in  $\text{mm}^2$ ) je Schnitt bestimmt man mit einer speziellen Software (Image Pro® Express, Version 4.5.1.3, Media Cybernetics Inc., Gleichen; Evolution MP Color-Kamera, Media Cybernetics Inc., Gleichen). Zunächst erfolgt das Ausmessen eventuell vorhandener Randinfarkte, indem man zuerst die Fläche der gesunden, meist linken Hemisphäre, dann die geschädigte Fläche der anderen Gehirnhälfte berechnet. Die Differenz beider Flächen ergibt dann die Randinfarktfläche pro Ebene. Zusätzlich zu dieser Fläche werden alle Mikroinfarkte addiert, womit sich die gesamte Infarktfläche pro Ebenenschnitt ergibt. Auf die gleiche Art und Weise werden von allen fünf Ebenen jedes einzelnen Paraffinblockes die Infarktflächen ermittelt. Abschließend wird anhand der einzelnen Infarktflächen und deren Abstand zum Riechhirn das gesamte Infarktvolumen ( $\text{mm}^3$ ) und der Schnitt mit der maximalen Infarktfläche ( $\text{mm}^2$ ) pro Gehirn bestimmt.

### 3.3 Statistik

Die physiologischen, neurologischen, kognitiven und das Verhalten betreffende Parameter analysiert man mit allgemeinen, hierarchischen Modellen. Betrachtet werden die Faktoren Zeit, Präparation (EKZ mit Luftemboli im Vergleich zu Sham ohne Luftemboli) und Behandlung (Luft oder Xenon), sowie sämtliche Wechselwirkungsbeziehungen. Die Untersuchung der Veränderungen im Zeitverlauf erfolgen für die physiologischen und neurologischen Variablen quadratisch (Faktor Zeit<sup>2</sup>) und für die im mHBT erhobenen Variablen (Kognition und Verhalten) linear (Faktor Zeit). Weist eine dieser Wechselwirkungsfaktoren Signifikanzen ( $p < 0,05$ ) auf, wird anschließend eine post-hoc Zweifache-Varianzanalyse durchgeführt, um die Gruppen im Zeitverlauf zu vergleichen. Anschließend wird am Tag 12 für die neurologischen Ergebnisse und am Tag 14 für die Parameter Kognition und Verhalten eine weitere post-hoc Einwege-Varianzanalyse durchgeführt.

Da in den Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) keine histologischen Veränderungen auftreten, vergleicht man nur die histologischen Ergebnisse der beiden EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) mit Hilfe eines t-Testes ( $p < 0,05$ ) miteinander.

### 3.4 Ergebnisse

Bei der vorliegenden Studie gehen insgesamt 40 Tiere in die Bewertung mit ein. Diese sind je nach Präparation und Behandlung randomisiert in vier Gruppen eingeteilt (siehe Tabelle 9).

**Tabelle 9:** *Gruppeneinteilung mit Präparation und Behandlung*

<b>Gruppe</b>	<b>Präparation</b>	<b>Behandlung</b>
<b>Sham/Luft</b> (n=10)	Sham ohne Luftemboli	Luft
<b>Sham/Xenon</b> (n=10)	Sham ohne Luftemboli	Xenon
<b>EKZ/Luft</b> (n=10)	EKZ mit Luftemboli	Luft
<b>EKZ/Xenon</b> (n=10)	EKZ mit Luftemboli	Xenon

Insgesamt neun Tiere werden aus folgenden Gründen bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Jeweils ein Tier aus der Sham/Luft- und der Sham/Xenon-Gruppe muss aufgrund von akzidenteller Luftinjektion in die A. carotis interna ersetzt werden. Aus der EKZ/Luft-Gruppe werden vier Tiere aufgrund einer Blutung an der Schwanzarterie während EKZ, beziehungsweise Schwierigkeiten bei der Präparation der V. oder A. epigastrica superficialis und aufgrund einer Hämatombildung im Halsbereich von der Auswertung ausgeschlossen. Auch drei Tiere aus der EKZ/Xenon-Gruppe gehen wegen Druckproblemen am Bypass, Hypoxie während EKZ und wegen postoperativen Blutungen im Halsbereich nicht in die Bewertung mit ein. Um eine Gruppengröße mit jeweils zehn Tieren zu erreichen, werden die ausgefallenen Tiere ersetzt.

### **3.4.1 Physiologische Parameter**

#### **3.4.1.1 Erhobene Parameter während der Operation**

Während der operativen Phase werden zu bestimmten Messzeitpunkten (prä EKZ, 45 min EKZ, 90 min EKZ, 60 min post EKZ) verschiedene Parameter zur Überwachung der Vitalfunktionen erhoben. Die Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm$ SD) der physiologischen Parameter sind in nachfolgender Tabelle aufgeführt (siehe Tabelle 10).

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

**Tabelle 10:** Physiologische Parameter aller vier Gruppen während der operativen Phase

Parameter	Gruppe	prä EKZ	45 min EKZ	90 min EKZ	60 min post EKZ	
<b>MAP</b> [mmHg]	Sham/Luft	101±18	130±11	126±11	131±15	
	Sham/Xenon	84±8 *	127±13	129±17	131±14	
	EKZ/Luft	92±10	88±22	*# 75±14	*# 123±18	
	EKZ/Xenon	82±14 *	71±15	*# 76±11	*# 115±17	
<b>Hb</b> [mg/dl]	Sham/Luft	13,5±0,3	13,6±0,5	13,6±0,8	13,0±0,6	
	Sham/Xenon	13,2±0,6	13,1±0,6	13,0±0,5	12,2±0,9	
	EKZ/Luft	13,5±0,9	11,4±0,6	*# 11,2±0,7	*# 11,7±0,6	*
	EKZ/Xenon	13,2±0,8	11,2±0,3	*# 11,2±0,4	*# 11,7±0,7	*
<b>PaCO<sub>2</sub></b> [mmHg]	Sham/Luft	35,5±4,4	33,0±2,9	35,6±2,0	36,7±2,4	
	Sham/Xenon	41,8±3,1 *	39,2±1,1 *	39,9±2,4 *	33,0±4,1	
	EKZ/Luft	33,2±4,0 #‡	38,0±2,4 *	39,0±3,0 *	37,4±3,1	
	EKZ/Xenon	38,3±3,8	38,3±3,5 *	39,1±2,5 *	34,4±4,8	
<b>PaO<sub>2</sub></b> [mmHg]	Sham/Luft	125±16	136±13	131±15	231±53	
	Sham/Xenon	117±14	125±10	122±14	281±43	
	EKZ/Luft	126±14	179±21	*# 160±27	*# 208±60	#
	EKZ/Xenon	124±23	191±13	*# 173±14	*# 180±45	#
<b>BE</b> [mmol/l]	Sham/Luft	1±2	-1±1	-2±1	-2±2	
	Sham/Xenon	1±2	0±2	-1±2	-1±2	
	EKZ/Luft	0±3	-1±2	-3±1	-3±1	
	EKZ/Xenon	-1±1	-1±2	-3±1	-3±1	
<b>pH-Wert</b>	Sham/Luft	7,5±0	7,5±0	7,4±0	7,4±0	
	Sham/Xenon	7,4±0	7,4±0	7,4±0	7,4±0	
	EKZ/Luft	7,5±0	7,4±0	7,4±0	7,4±0	
	EKZ/Xenon	7,4±0	7,4±0	7,4±0	7,4±0	
<b>HCO<sub>3</sub></b> [mmol/l]	Sham/Luft	24,0±2	22,3±1	22,2±1	22,2±1	
	Sham/Xenon	25,8±1	24,6±2	23,9±0	22,0±2	
	EKZ/Luft	23,0±2	23,0±2	21,8±0	21,7±1	
	EKZ/Xenon	23,5±2	23,7±1	22,3±0	21,0±1	
		* vs. Sham/Luft	# vs. Sham/Xenon	‡ vs. EKZ/Xenon		

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (±SD) des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP) in mmHg, der Hämoglobinkonzentration (Hb) in mg/dl, des arteriellen

*Kohlendioxidpartialdruckes ( $\text{PaCO}_2$ ) in mmHg, des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes ( $\text{PaO}_2$ ) in mmHg, des pH-Wertes, des Basenüberschusses (BE) in mmol/l und des Standardbikarbonates ( $\text{HCO}_3$ ) in mmol/l vor Anschluss an die EKZ (prä EKZ), nach 45 Minuten EKZ (45 min EKZ), am Ende der EKZ (90 min EKZ) und 60 Minuten nach Abgang von der EKZ (60 min post EKZ). \*  $p < 0,05$  verglichen mit Sham/Luft; #  $p < 0,05$  verglichen mit Sham/Xenon; ‡  $p < 0,05$  verglichen mit EKZ/Xenon.*

Der **mittlere arterielle Blutdruck** (MAP) ist vor Anschluss an die extrakorporale Zirkulation (EKZ) in allen vier Gruppen im Referenzbereich. Nach 45 min EKZ steigt der Druck bei den Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) und bleibt auch bis zum letzten Messzeitpunkt in diesem Bereich. Bei den EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) hingegen fällt der Blutdruck leicht bis zum Ende der EKZ (90 min EKZ) ab, und ist dann bei der letzten Messung (60 min post EKZ) deutlich erhöht im Vergleich zum Ausgangswert. Zum Zeitpunkt prä EKZ zeigen die Tiere der Xenon-Gruppen (Sham/Xenon und EKZ/Xenon) einen deutlich verringerten MAP im Vergleich zu den Luft-Gruppen (Sham/Luft und EKZ/Luft). Während der EKZ-Phase (45 min EKZ und 90 min EKZ) weisen die Tiere der EKZ-Gruppen signifikant niedrigere Werte im Gegensatz zu den Sham-Gruppen auf (siehe Tabelle 10).

Die Mittelwerte der **Hämoglobin-Konzentration** (Hb) in den EKZ-Gruppen fallen vom Ausgangswert bis zum Ende der EKZ (90 min EKZ) ab. 60 min post EKZ sind bei allen Gruppen niedrigere Werte als beim ersten Messpunkt vorhanden. Signifikanzen bestehen bei den Zeitpunkten 45 min und 90 min EKZ zwischen den EKZ-Gruppen und den Sham-Gruppen und bei 60 min post EKZ zwischen den EKZ-Gruppen und der Sham/Luft-Gruppe (siehe Tabelle 10).

In der Sham/Xenon-Gruppe ist der **arterielle Kohlendioxidpartialdruck** ( $\text{PaCO}_2$ ) zum ersten Messzeitpunkt signifikant höher als in der Sham/Luft-Gruppe. Außerdem liegt der  $\text{PaCO}_2$  in der EKZ/Luft-Gruppe signifikant unter dem der Sham/Xenon-Gruppe. Die EKZ/Luft-Gruppe zeigt einen Anstieg bis zum Ende der EKZ-Phase und sinkt dann wieder, ohne das Ausgangsniveau zu erreichen. Die Mittelwerte der Sham/Luft-Gruppe bleiben die gesamte Untersuchung hindurch relativ konstant. Während der EKZ-Phase (45 min und 90 min EKZ) unterscheiden sich die  $\text{PaCO}_2$ -Werte der Sham/Xenon-, EKZ/Luft- und EKZ/Xenon-Gruppen signifikant von denen der Sham/Luft-Gruppe (siehe Tabelle 10).

Signifikante Erhöhungen des **arteriellen Sauerstoffpartialdruckes** ( $\text{PaO}_2$ ) lassen sich während der EKZ-Phase bei den EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) im Vergleich zu den Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) feststellen. 60 min nach Abgang von der EKZ

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

zeigen beide EKZ-Gruppen im Gegensatz zur Sham/Xenon-Gruppe signifikant niedrigere Werte (siehe Tabelle 10).

Der **Basenüberschuss** (BE) weist in allen Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf. Drei Tiere der EKZ/Luft-Gruppe werden mit  $0,4 \pm 0,3$  mmol/l Natriumbikarbonat und ein Tier der EKZ/Xenon-Gruppe wird mit  $0,3 \pm 0,0$  mmol/l Natriumbikarbonat substituiert. (siehe Tabelle 10).

Während der gesamten Operation liegen die **pH-Werte** bei allen Gruppen konstant zwischen 7,4 und 7,5 und weisen keinerlei signifikante Schwankungen auf (siehe Tabelle 10).

Das **Standardbikarbonat** ( $\text{HCO}_3$ ) sinkt vom Beginn der Messung bis zum Ende in jeder Gruppe geringgradig ab. Es liegen keine signifikanten Unterschiede vor (siehe Tabelle 10).

### 3.4.1.2 Körpergewicht

Bei den Tieren wird ab Tag -1 bis zum Tag 14 an jedem Untersuchungstag das Körpergewicht (g) bestimmt. Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm$ SD) sind in folgender Tabelle aufgeführt. Anschließend folgt die graphische Darstellung der Mittelwerte (MW) und Standardfehler ( $\pm$ SEM).

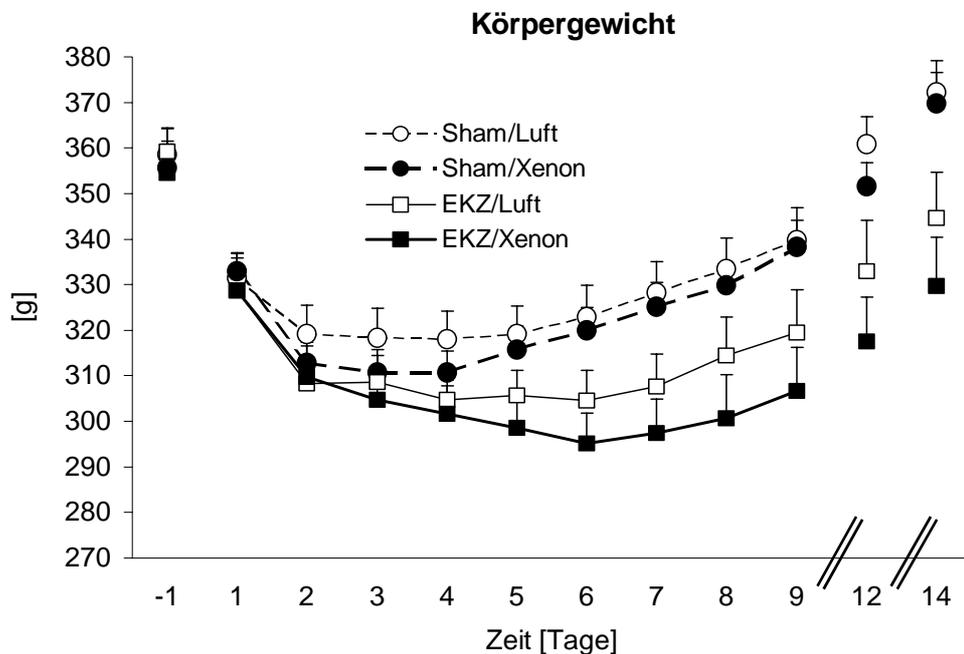
**Tabelle 11:** Körpergewicht aller vier Gruppen

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
	-1	359 $\pm$ 18	356 $\pm$ 17	359 $\pm$ 17	355 $\pm$ 22
	1	332 $\pm$ 17	333 $\pm$ 13	329 $\pm$ 15	329 $\pm$ 23
	2	319 $\pm$ 20	313 $\pm$ 14	308 $\pm$ 15	310 $\pm$ 21
	3	318 $\pm$ 21	311 $\pm$ 16	309 $\pm$ 18	305 $\pm$ 21
<b>Körper- gewicht</b>	4	318 $\pm$ 20	311 $\pm$ 15	305 $\pm$ 13	302 $\pm$ 19
	5	319 $\pm$ 20	316 $\pm$ 16	306 $\pm$ 17	299 $\pm$ 20
	6	323 $\pm$ 22	320 $\pm$ 16	305 $\pm$ 21	295 $\pm$ 21
	7	328 $\pm$ 22	325 $\pm$ 17	308 $\pm$ 23	297 $\pm$ 23
	8	333 $\pm$ 22	330 $\pm$ 16	315 $\pm$ 27	301 $\pm$ 30
	9	340 $\pm$ 22	338 $\pm$ 18	320 $\pm$ 30	307 $\pm$ 30
	12	361 $\pm$ 19	352 $\pm$ 16	332 $\pm$ 36	318 $\pm$ 31
	14	372 $\pm$ 21	370 $\pm$ 22	345 $\pm$ 32	330 $\pm$ 34

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm$ SD) des Körpergewichtes in Gramm (g) aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die Ausgangswerte für das Körpergewicht liegen am Tag -1 bei allen Gruppen auf dem gleichen Niveau. Die Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) verzeichnen bis zum 4. postoperativen Tag eine Abnahme des Gewichtes, welches dann kontinuierlich bis zum 14. postoperativen Tag über den Ausgangswert ansteigt. Die Gewichtsabnahme in den EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) hält bis zum Tag 6 nach der Operation an, bevor die Tiere bis zum letzten Untersuchungstag kontinuierlich an Gewicht zunehmen, wobei sie das präoperative Niveau nicht erreichen. Die auftretenden Unterschiede zwischen den Sham- und den EKZ-Gruppen sind mit einem  $p = 0,007$  signifikant (siehe Tabelle 11 und Abbildung 23).



**Abbildung 23:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  des Körpergewichtes (g) der Tiere aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

### 3.4.2 Neurologische Parameter

#### 3.4.2.1 Sensorik

Die sensorischen Fähigkeiten werden mit einem Punktesystem bewertet. Die Ergebnisse sind zunächst tabellarisch (MW±SD) und dann graphisch (MW±SEM) dargestellt.

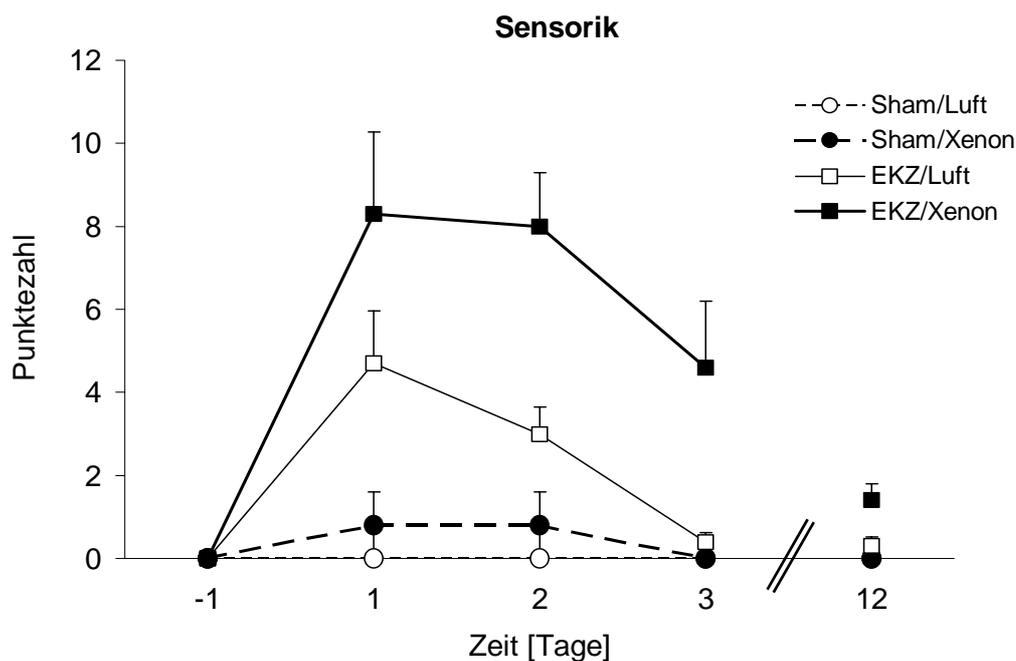
Seh-, Hörvermögen, Propriozeption Körper, Vibrissenreaktion, Bewusstsein

**Tabelle 12:** Punktesumme der sensorischen Untersuchungen

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Punkte</b>	-1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,3
	1	0,0 ± 0,0	0,8 ± 2,5	4,7 ± 4,0	8,3 ± 0,7
	2	0,0 ± 0,0	0,8 ± 2,5	3,0 ± 2,1	8,0 ± 0,2
	3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,7	4,6 ± 1,4
	12	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,7	1,4 ± 1,3

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (±SD) der Punktesumme der sensorischen Untersuchungen (Seh-, Hörvermögen, Propriozeption, Bewusstsein) aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

Die Ausgangswerte für die sensorischen Untersuchungen liegen am Tag -1 bei allen Gruppen auf dem gleichen physiologischen Niveau. Die Sham/Luft- und Sham/Xenon-Gruppen behalten diese Werte die gesamte Untersuchungsdauer relativ konstant bei, wohingegen die Tiere der EKZ/Luft-Gruppe am Tag 1 und Tag 2, und die Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe am Tag 1, Tag 2 und Tag 3 eine deutlich eingeschränkte Sensorik aufweisen ( $p = 0,032$ ). Nach 12 Tagen bestehen noch signifikante Unterschiede zwischen der EKZ-Xenon-Gruppe zu den anderen Gruppen ( $p < 0,001$ ) (siehe Tabelle 12 und Abbildung 24).



**Abbildung 24:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Punktesumme der sensorischen Untersuchungen aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

### 3.4.2.2 Motorik

Die neurologisch-motorischen Parameter werden anhand ihrer Absolutwerte analysiert. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt zunächst in tabellarischer ( $MW \pm SD$ ) und anschließend in graphischer Form ( $MW \pm SEM$ ).

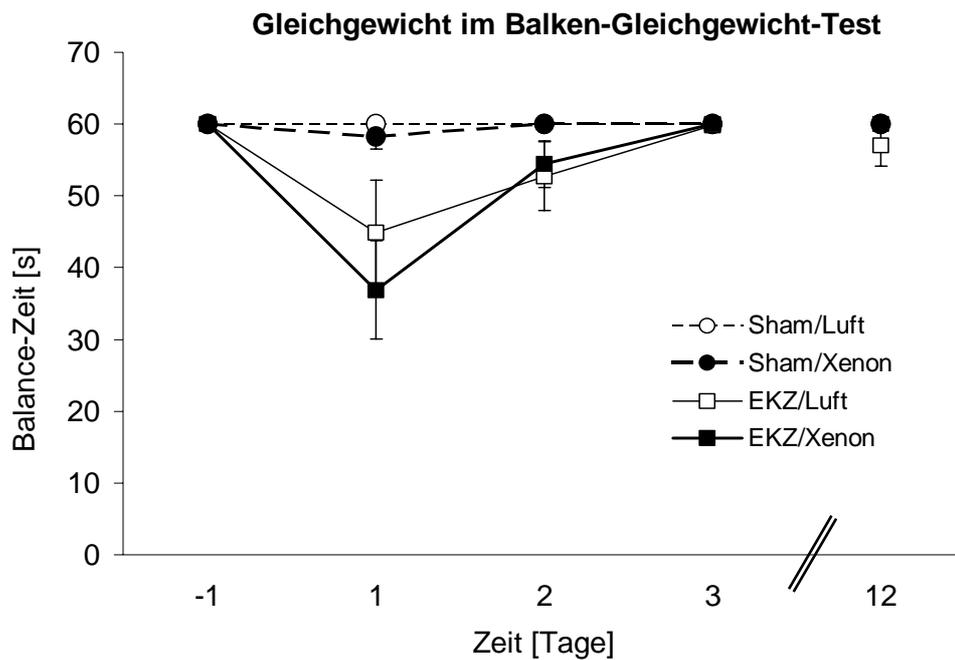
#### Gleichgewicht im Balken-Gleichgewicht-Test

**Tabelle 13:** Balance-Zeit im Balken-Gleichgewicht-Test

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Gleichgewicht</b>	-1	60 ± 0	60 ± 0	60 ± 0	60 ± 0
	1	60 ± 0	58 ± 5	45 ± 23	37 ± 22
	2	60 ± 0	60 ± 0	53 ± 15	54 ± 10
	3	60 ± 0	60 ± 0	60 ± 1	60 ± 0
	12	60 ± 0	60 ± 0	57 ± 10	60 ± 0

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Balance-Zeit in Sekunden (s) im Balken-Gleichgewicht-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Alle vier Gruppen zeigen am präoperativen Tag -1 Werte im physiologischen Normbereich. Bei den beiden Gruppen Sham/Luft und Sham/Xenon bleiben die Werte bis zum 12. postoperativen Tag konstant in diesem Bereich. Die beiden EKZ-Gruppen hingegen erreichen ihr Minimum am Tag 1 nach der Operation und steigen dann bis zum Tag 12 wieder auf das Ausgangsniveau an. Die Sham- und die EKZ-Gruppen unterscheiden sich im zeitlichen Verlauf signifikant ( $p = 0,001$ ). Die Analyse am 12. postoperativen Tag ergibt keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 13 und Abbildung 25).



**Abbildung 25:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Balance-Zeit (s) im Balken-Gleichgewicht-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

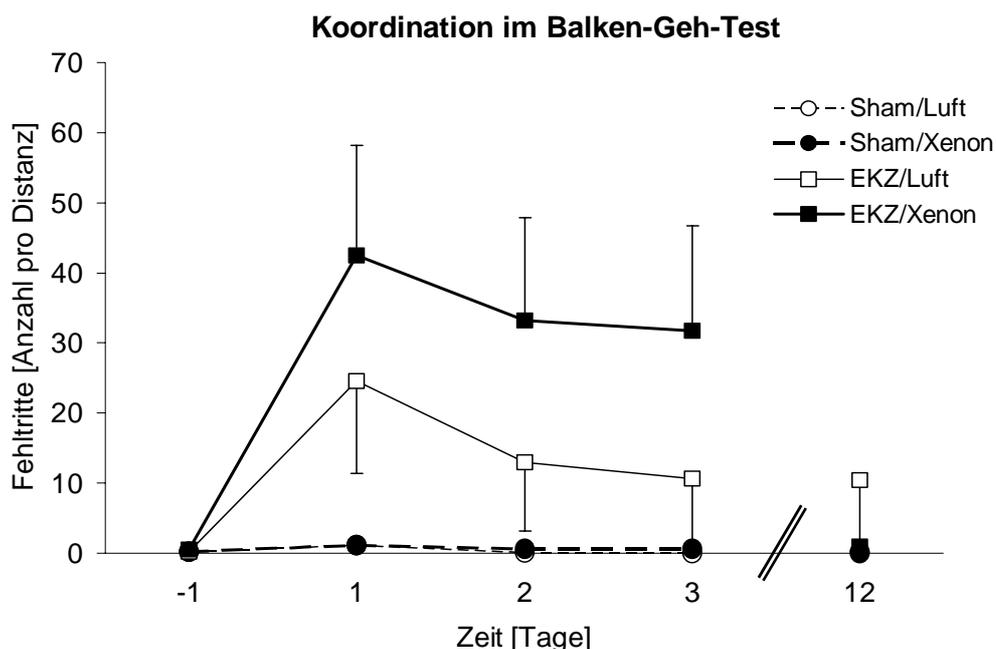
Koordination im Balken-Geh-Test

**Tabelle 14:** Anzahl der Fehlritte im Balken-Geh-Test

	<b>Tag</b>	<b>Sham/Luft</b> (n = 10)	<b>Sham/Xenon</b> (n = 10)	<b>EKZ/Luft</b> (n = 10)	<b>EKZ/Xenon</b> (n = 10)
<b>Koordi- nation</b>	-1	0,2 ± 0,6	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,4	0,5 ± 1,3
	1	1,2 ± 1,2	1,2 ± 1,2	24,6 ± 41,8	42,5 ± 49,6
	2	0,1 ± 0,3	0,6 ± 1,0	13,0 ± 31,0	33,2 ± 46,3
	3	0,0 ± 0,0	0,6 ± 1,0	10,7 ± 31,4	31,7 ± 47,3
	12	0,2 ± 0,4	0,0 ± 0,0	10,4 ± 31,5	1,0 ± 1,9

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (±SD) der Anzahl der Fehlritte pro Distanz im Balken-Geh-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

Die Mittelwerte der Anzahl der Fehlritte sind initial am Tag -1 in allen Gruppen im Normbereich. Die beiden Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) bleiben bis zum Ende der Testphase auf diesem Niveau. Die beiden EKZ-Gruppen hingegen zeigen einen signifikant unterschiedlichen Verlauf im Vergleich zu den Sham-Gruppen ( $p = 0,007$ ). Sie erreichen am ersten Tag nach der Operation (Tag 1) einen Maximalwert, wobei am letzten Untersuchungstag zwischen den vier Gruppen keine signifikanten Unterschiede mehr bestehen. Signifikanzen zwischen der Gruppe EKZ/Xenon und EKZ/Luft bestehen nicht (siehe Tabelle 14 und Abbildung 26).



**Abbildung 26:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Anzahl der Fehlritte pro Distanz im Balken-Geh-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Greif- und Haltevermögen im Greif-Zug-Test

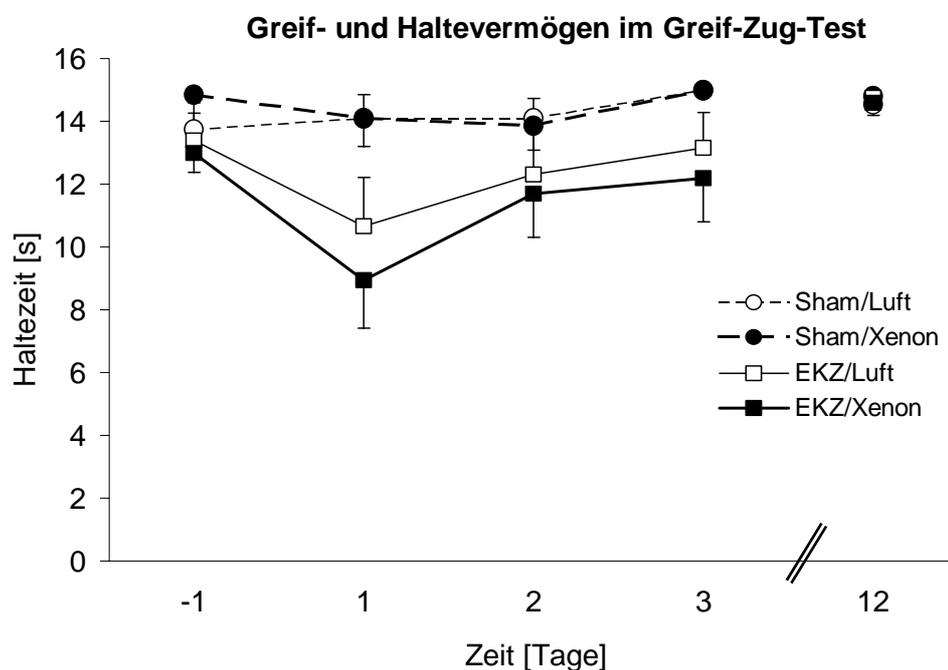
**Tabelle 15:** Haltezeit im Greif-Zug-Test

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Halte- ver- mögen</b>	-1	14 ± 3	15 ± 0	13 ± 3	13 ± 2
	1	14 ± 2	14 ± 3	11 ± 5	9 ± 5
	2	14 ± 2	14 ± 2	12 ± 5	12 ± 4
	3	15 ± 0	15 ± 0	13 ± 4	12 ± 4
	12	15 ± 1	15 ± 1	15 ± 1	15 ± 1

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Haltezeit in Sekunden (s) im Greif-Zug-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Mittelwerte des Haltevermögens befinden sich zu Beginn am Tag -1 bei allen Gruppen im physiologischen Bereich. Die beiden Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) behalten diese Werte bis zum Ende der Untersuchung am Tag 12 bei. Die beiden EKZ-Gruppen hingegen zeigen einen signifikant unterschiedlichen Verlauf im Vergleich zu den Sham-Gruppen ( $p = 0,026$ ). Sie erreichen am ersten Tag nach der Operation (Tag 1) einen Minimalwert, wobei

am 12. postoperativen Tag alle vier Gruppen wieder Ausgangswerte erreichen (siehe Tabelle 15 und Abbildung 27).



**Abbildung 27:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Haltezeit (s) im Greif-Zug-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Greif- und Haltevermögen im Drahtgitter-Test

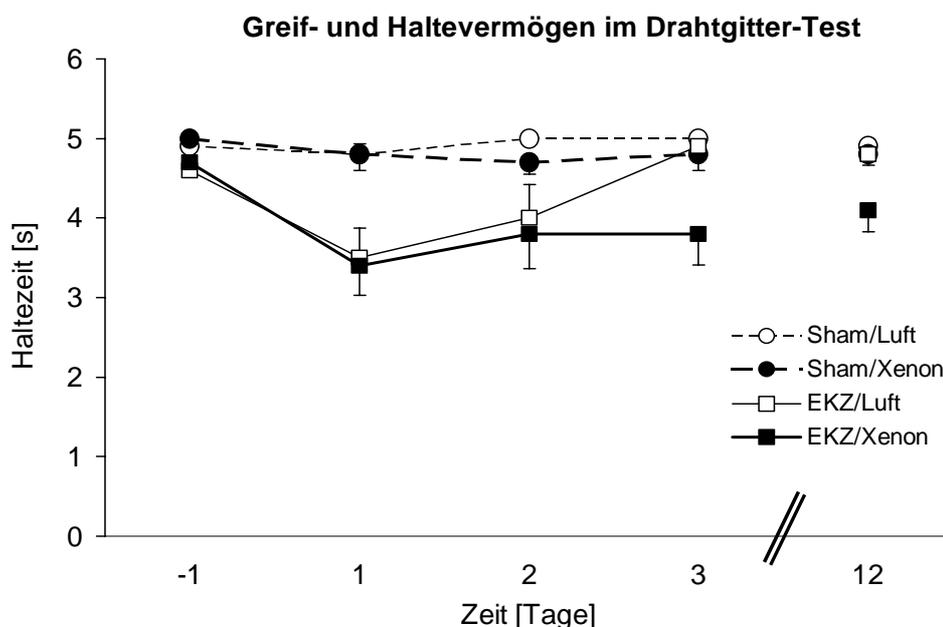
**Tabelle 16:** Haltezeit im Drahtgitter-Test

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Halte- ver- mögen</b>	-1	4,9 ± 0,3	5,0 ± 0,0	4,6 ± 0,8	4,7 ± 0,5
	1	4,8 ± 0,4	4,8 ± 0,6	3,5 ± 1,2	3,4 ± 1,2
	2	5,0 ± 0,0	4,7 ± 0,5	4,0 ± 1,3	3,8 ± 1,4
	3	5,0 ± 0,0	4,8 ± 0,6	4,9 ± 0,3	3,8 ± 1,2
	12	4,9 ± 0,3	4,8 ± 0,4	4,8 ± 0,4	4,1 ± 0,9

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Haltezeit in Sekunden (s) im Drahtgitter-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Ausgangswerte der Haltezeit liegen am Tag -1 bei allen Gruppen auf dem gleichen Niveau. Die Sham/Luft- und Sham/Xenon-Gruppen behalten diese Werte die gesamte Untersu-

chungsdauer konstant bei, wohingegen die Tiere der EKZ/Luft-Gruppe am Tag 1 und Tag 2, und die Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe am Tag 1, Tag 2 und Tag 3 deutlich verkürzte Haltezeiten zeigen ( $p = 0,007$ ). Im Vergleich zu allen anderen Gruppen weist die EKZ/Xenon-Gruppe sogar noch am 12. postoperativen Tag Schwächen auf ( $p = 0,009$ ) (siehe Tabelle 16 und Abbildung 28).



**Abbildung 28:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Haltezeit (s) im Drahtgitter-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

### 3.4.3 Im modifizierten Hole-Board-Test erhobene Parameter

Die Daten, die mit dem modifizierten Hole-Board-Test (mHBT) gewonnen werden, können in kognitive, motorische und das Verhalten betreffende Parameter eingeteilt werden. Angegeben werden in den Tabellen die Mittelwerte (MW), die aus drei Durchläufen pro Untersuchungstag und Tiergruppe berechnet werden, und deren Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) beziehungsweise in der graphischen Darstellung die Mittelwerte (MW) und deren Standardfehler ( $\pm SEM$ ).

### 3.4.3.1 Kognitive Parameter

Im Folgenden werden die Ergebnisse der kognitiven, im mHBT erhobenen Parameter aufgezeigt. Hierzu zählen die Gesamtfehler (Anzahl pro Durchlauf), die Wiederholer (Anzahl pro Durchlauf) und die für einen Durchlauf benötigte Gesamtzeit (s).

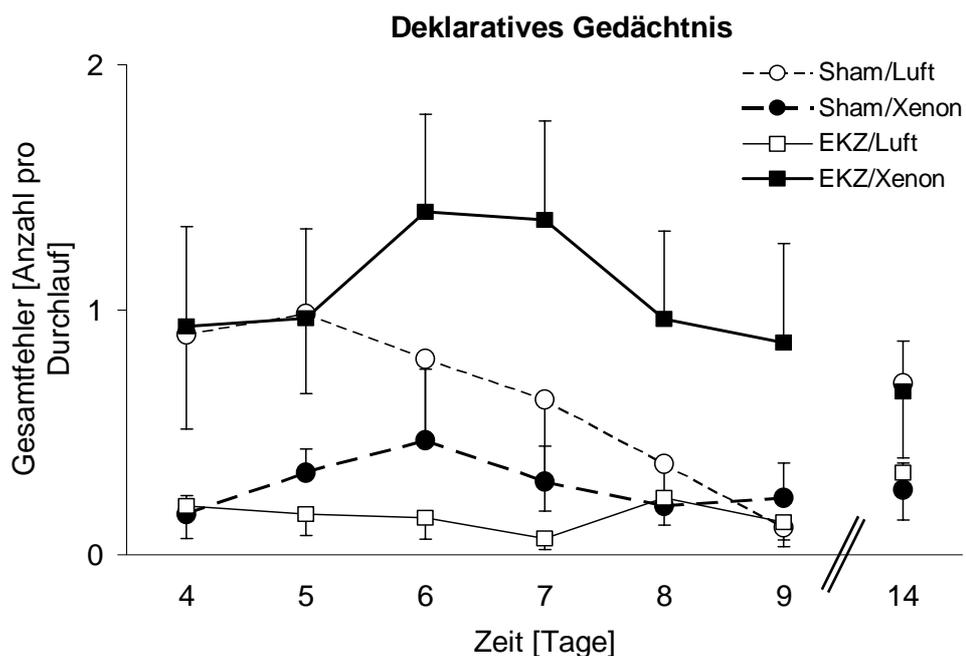
#### Gesamtfehler

**Tabelle 17:** Anzahl der Gesamtfehler im mHBT

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Gesamt- fehler</b>	4	0,9 ± 1,2	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,4	0,9 ± 1,3
	5	1,0 ± 1,0	0,3 ± 0,3	0,2 ± 0,3	1,0 ± 1,2
	6	0,8 ± 1,1	0,5 ± 0,9	0,2 ± 0,3	1,4 ± 1,3
	7	0,6 ± 1,4	0,3 ± 0,5	0,1 ± 0,1	1,4 ± 1,3
	8	0,4 ± 0,6	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,4	1,0 ± 1,1
	9	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,5	0,1 ± 0,2	0,9 ± 1,3
	14	0,7 ± 1,0	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,6	0,7 ± 0,7

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm$ SD) der Anzahl der Gesamtfehler (Unterlassungsfehler und Fehler) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

Die Sham/Luft- und die EKZ/Xenon-Gruppe fallen an den ersten zwei Untersuchungstagen mit erhöhten Mittelwerten im Vergleich zur Sham/Xenon- und zur EKZ/Luft-Gruppe auf. Die Werte der EKZ/Xenon-Gruppe unterscheiden sich weiterhin im Vergleich zum stetig abfallenden Verlauf der Sham/Luft-Gruppe, sie steigen weiterhin bis zum Tag 7 an und fallen dann bis zum letzten Untersuchungstag hin ab ( $p = 0,002$ ). Die sham-operierten Tiere mit Xenon-anästhesie und die EKZ/Luft-Gruppe behalten die gesamte Lernphase über relativ konstante Werte bei. Die post hoc Analyse zum Zeitpunkt des Wiederholungstestes (Tag 14) ergibt keinerlei Signifikanzen zwischen allen vier Gruppen (siehe Tabelle 17 und Abbildung 29).



**Abbildung 29:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Anzahl der Gesamtfehler pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Wiederholer

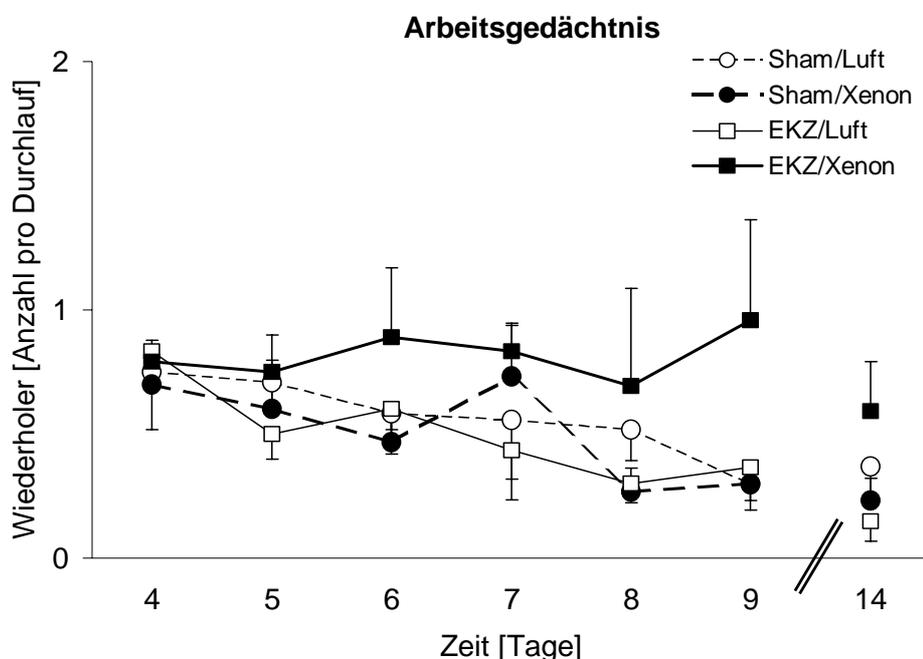
**Tabelle 18:** Anzahl der Wiederholer im mHBT

Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
4	0,8 ± 0,7	0,7 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,8 ± 1,3
5	0,7 ± 0,4	0,6 ± 0,6	0,5 ± 0,3	0,8 ± 1,2
6	0,6 ± 0,5	0,5 ± 0,5	0,6 ± 0,3	0,9 ± 1,3
7	0,6 ± 0,7	0,7 ± 0,6	0,4 ± 0,6	0,8 ± 1,3
8	0,5 ± 0,4	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,3	1,0 ± 1,1
9	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,3	0,4 ± 0,4	1,0 ± 1,2
14	0,4 ± 0,4	0,2 ± 0,3	0,2 ± 0,3	0,6 ± 0,6

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Anzahl der Wiederholer pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Tiere aller vier Gruppen beginnen am 4. postoperativen Tag mit einer annähernd gleichen Anzahl von Wiederholern. Tendenziell nehmen die Werte in den Gruppen Sham/Luft, Sham/Xenon und EKZ/Luft bis zum Ende der Untersuchung hin ab. Die EKZ-operierten Tie-

re mit Xenonanästhesie verzeichnen am 9. Untersuchungstag einen tendenziell höheren Wert, erreichen aber zum Zeitpunkt der letzten Untersuchung auch das Niveau der anderen Gruppen. Die Unterschiede zwischen allen Gruppen sind zu keinem Zeitpunkt signifikant (siehe Tabelle 18 und Abbildung 30).



**Abbildung 30:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Anzahl der Wiederholer pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

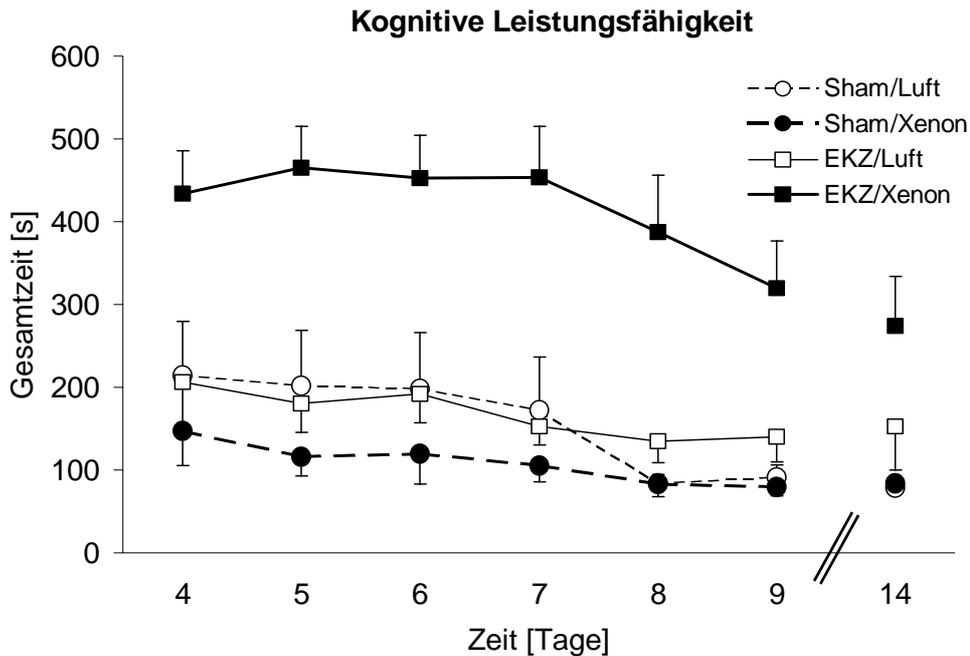
Gesamtzeit

**Tabelle 19:** Gesamtzeit im mHBT

Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
4	214 ± 206	148 ± 135	206 ± 160	434 ± 164
5	202 ± 212	116 ± 75	181 ± 111	465 ± 158
<b>Gesamtzeit</b>	199 ± 214	120 ± 118	192 ± 109	452 ± 165
7	172 ± 202	105 ± 60	153 ± 73	454 ± 193
8	84 ± 31	83 ± 48	135 ± 82	388 ± 205
9	91 ± 45	80 ± 36	140 ± 95	320 ± 181
14	79 ± 27	84 ± 39	153 ± 167	274 ± 190

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der benötigten Gesamtzeit in Sekunden (s) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Sham/Luft-, Sham/Xenon- und EKZ/Luft-Gruppen benötigen für den mHBT anfangs annähernd die gleiche Zeit und absolvieren den Test bis zum letzten Untersuchungstag hin in einer tendenziell abnehmenden Dauer. Die EKZ/Xenon-Gruppe braucht vom 4. bis zum 9. Testtag signifikant mehr Zeit ( $p < 0,001$ ), um den Test zu bewältigen. Auch am 14. postoperativen Tag unterscheiden sich die Werte der EKZ/Xenon-Gruppe von den drei anderen Gruppen noch signifikant ( $p = 0,007$ ) (siehe Tabelle 19 und Abbildung 31).



**Abbildung 31:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Gesamtzeit (s) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

### 3.4.3.2 Verhaltensparameter

Die verschiedenen Parameter kann man unterschiedlichen Verhaltensmustern zuordnen, wobei zu beachten ist, dass sich diese teilweise überschneiden. Hierzu gehören das Angstverhalten (Boardbesuche, Latenz bis zum ersten Bordbesuch, auf dem Board verbrachte Zeit, Immobilität), die Exploration (Lochbesuche, Latenz bis zum ersten Lochbesuch, Männchen) und das Sozialverhalten (Gruppenkontakte). Auf eine statistische Berechnung bei den Parametern, die das Angstverhalten näher beschreiben wird jedoch verzichtet, da diese Parameter von anderen Faktoren, wie zum Beispiel der motorischen Leistung, dem Allgemeinbefinden, der Motivation und äußeren Faktoren, beeinflusst werden.

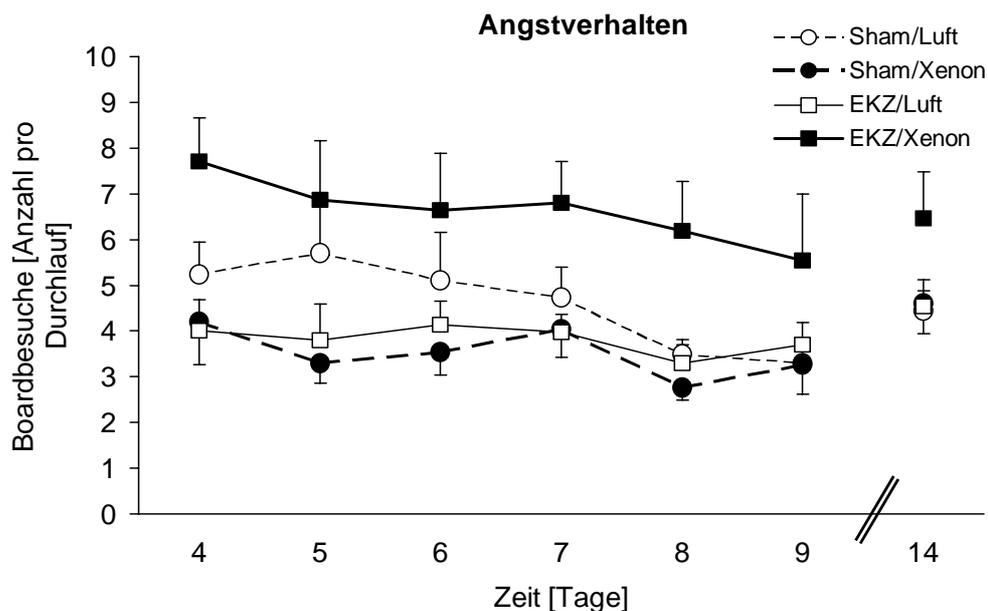
Anzahl der Boardbesuche

**Tabelle 20:** Anzahl der Boardbesuche im mHBT

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Board- besuche</b>	4	0,48 ± 0,50	0,20 ± 0,10	0,27 ± 0,44	2,03 ± 2,60
	5	0,26 ± 0,22	0,00 ± 0,12	0,07 ± 0,14	1,20 ± 1,57
	6	0,22 ± 0,55	0,10 ± 0,12	0,23 ± 0,45	1,27 ± 1,71
	7	0,17 ± 0,36	0,10 ± 0,05	0,13 ± 0,17	0,85 ± 1,27
	8	0,07 ± 0,22	0,07 ± 0,01	0,10 ± 0,22	1,00 ± 1,59
	9	0,11 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,42	0,93 ± 1,25
	14	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,14	0,77 ± 0,96

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Anzahl der Boardbesuche pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

Die Sham/Xenon- und die EKZ/Luft-Gruppe zeigen vom ersten Untersuchungstag bis zum 9. postoperativen Tag annähernd konstante Mittelwerte. Die Anzahl der Boardbesuche in der Sham/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe sinken vom 4. bis zum 9. postoperativen Tag in nicht linearem Verlauf, die EKZ/Xenon-Gruppe betritt das Board insgesamt häufiger als die anderen Gruppen. Am Ende der Untersuchung (Tag 14) liegen die Werte aller vier Gruppen über den Werten vom 9. Untersuchungstag, wobei alle Gruppen wieder annähernd die Ausgangswerte erreichen. Tendenziell betritt die EKZ/Xenon-Gruppe das Board öfter als die anderen Gruppen (siehe Tabelle 20 und Abbildung 32).



**Abbildung 32:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Anzahl der Boardbesuche pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Latenz erster Boardbesuch

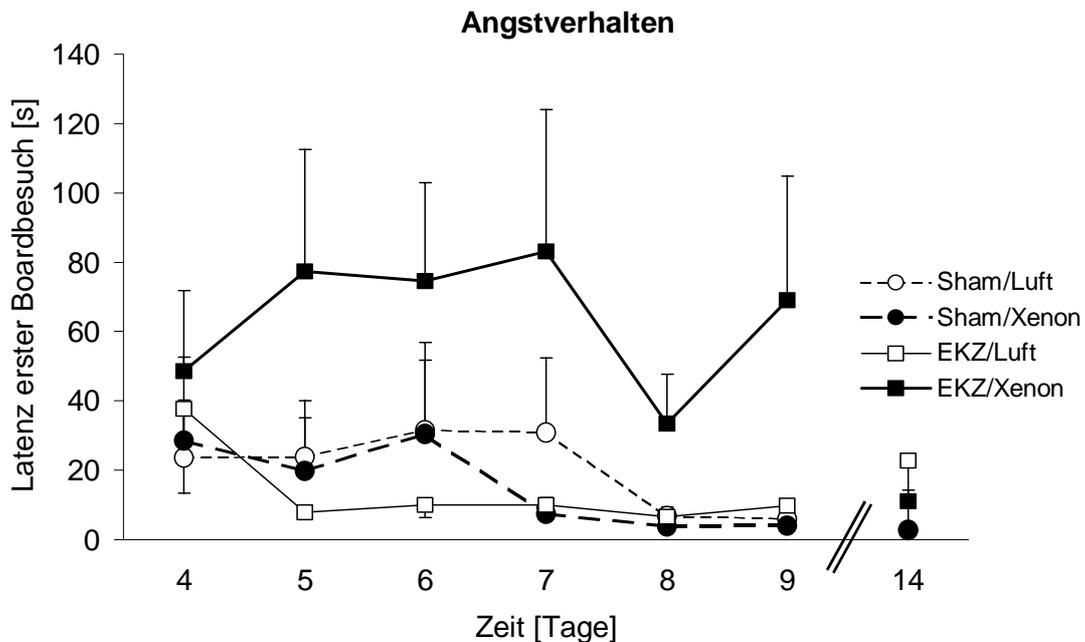
**Tabelle 21:** Latenz erster Boardbesuch im mHBT

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Latenz erster Board- besuch</b>	4	23,6 ± 53,1	28,6 ± 75,9	37,6 ± 76,5	48,5 ± 73,5
	5	23,9 ± 50,9	19,8 ± 48,7	8,0 ± 6,3	77,3 ± 111,5
	6	31,5 ± 64,3	30,6 ± 83,3	10,0 ± 11,6	74,5 ± 89,9
	7	30,9 ± 68,2	7,5 ± 14,4	10,1 ± 10,1	83,2 ± 129,3
	8	6,9 ± 7,6	3,8 ± 4,2	6,5 ± 5,2	33,5 ± 42,7
	9	6,0 ± 7,1	4,1 ± 2,9	9,8 ± 19,5	69,1 ± 113,3
	14	2,8 ± 1,1	2,8 ± 2,6	22,9 ± 60,0	11,0 ± 10,6

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Latenz erster Boardbesuch in Sekunden (s) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Alle vier Gruppen beginnen mit ähnlichen Latenzen, wobei die Gruppen Sham/Luft-, Sham/Xenon und EKZ/Xenon bis zum Ende der Lernphase am 9. postoperativen Tag eine nicht lineare Abnahme verzeichnen. Die EKZ/Luft-Gruppe zeigt bis zum 7. postoperativen

Tag ansteigende Mittelwerte, am Tag 8 einen Wert, der unterhalb des Ausgangswertes zu liegen kommt, und am 9. Tag post OP wieder einen Anstieg. Zum Zeitpunkt des Wiederholungstestes (Tag 14) weisen alle vier Gruppen ähnlich niedrige Mittelwerte für die Latenz erster Boardbesuch auf. Bis auf die Werte am Tag 14 beanspruchen die EKZ/Xenon Tiere eine längere Latenz bis zum ersten Boardbesuch (siehe Tabelle 21 und Abbildung 33).



**Abbildung 33:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Latenz des ersten Boardbesuches (s) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

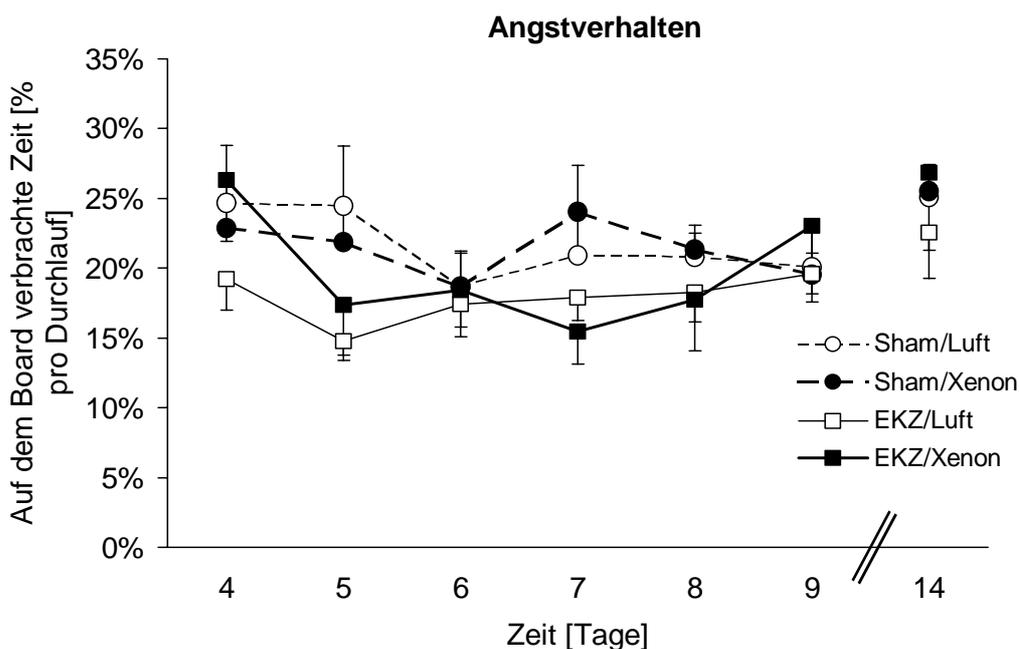
Insgesamt auf dem Board verbrachte Zeit

**Tabelle 22:** *Insgesamt auf dem Board verbrachte Zeit im mHBT*

	<b>Tag</b>	<b>Sham/Luft</b> (n = 10)	<b>Sham/Xenon</b> (n = 10)	<b>EKZ/Luft</b> (n = 10)	<b>EKZ/Xenon</b> (n = 10)
<b>Auf Board verbrachte Zeit</b>	4	25 ± 13	23 ± 8	19 ± 7	26 ± 14
	5	24 ± 13	22 ± 7	15 ± 4	17 ± 11
	6	19 ± 8	19 ± 8	17 ± 5	18 ± 11
	7	21 ± 10	24 ± 11	18 ± 5	15 ± 7
	8	21 ± 5	21 ± 6	18 ± 7	18 ± 11
	9	20 ± 10	20 ± 5	20 ± 5	23 ± 17
	14	25 ± 7	26 ± 6	23 ± 10	27 ± 17

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm$ SD) der auf dem Board verbrachten Zeit in Prozent (%) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

Die auf dem Board verbrachte Gesamtzeit schwankt in allen vier Gruppen vom ersten bis zum letzten Testtag auf annähernd gleichbleibendem Niveau. Dabei ist in allen Gruppen eine nicht lineare Abnahme der Werte bis zum 6. postoperativen Tag der Lernphase, und ein Anstieg am letzten Untersuchungszeitpunkt (Tag 14) auf das Ausgangsniveau zu verzeichnen (siehe Tabelle 22 und Abbildung 34).



**Abbildung 34:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der auf dem Board verbrachten Zeit (%) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

### Immobilität

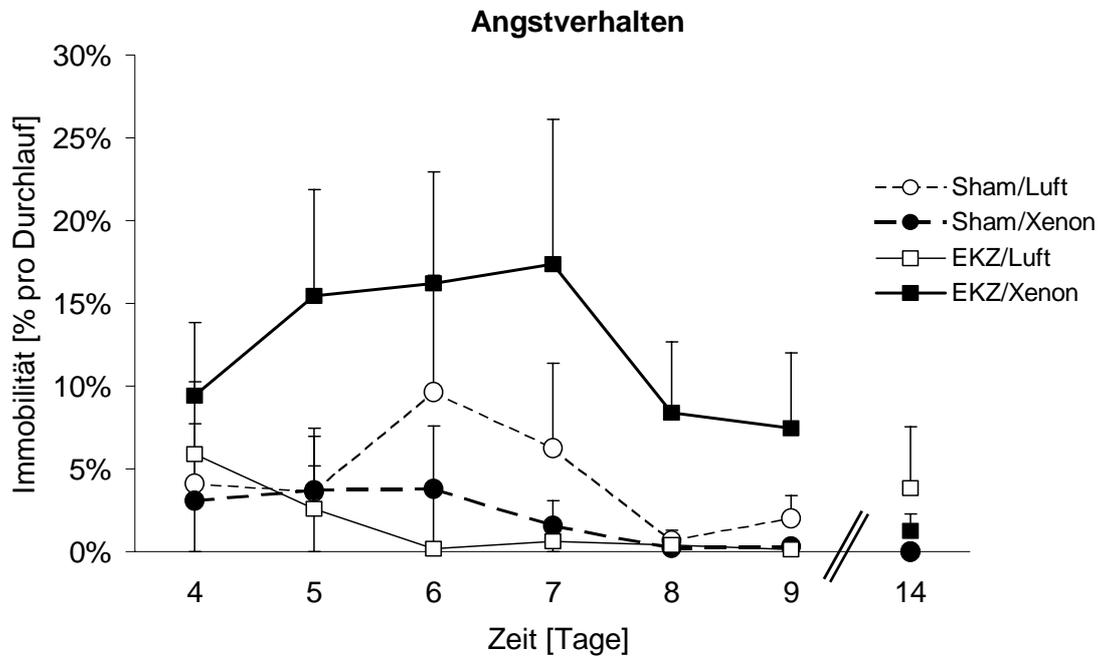
**Tabelle 23:** Immobilität im mHBT

Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
4	4 ± 11	4 ± 10	6 ± 14	9 ± 14
5	4 ± 11	3 ± 12	3 ± 8	15 ± 20
<b>Immo- bilität</b>	10 ± 22	4 ± 12	0 ± 1	16 ± 21
7	6 ± 16	2 ± 5	1 ± 1	17 ± 28
8	1 ± 2	0 ± 1	0 ± 1	8 ± 13
9	2 ± 4	0 ± 0	0 ± 0	7 ± 14
14	0 ± 0	0 ± 1	4 ± 4	1 ± 3

Mittelwerte (MW) und Standardabweichung ( $\pm SD$ ) der Dauer der Immobilität in Prozent (%) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Immobilitätsphasen der Gruppen Sham/Luft, Sham/Xenon und EKZ/Luft beginnen am ersten Untersuchungstag mit etwa den gleichen Mittelwerten. Die Sham/Luft-Gruppe verzeichnet bis zum 6. postoperativen Tag steigende Werte, die dann bis zum Tag 8 und 9 unter

den Ausgangswert absinken. Am letzten Untersuchungstag (Tag 14) sind bei diesen Tieren keine immobilen Phasen mehr zu verzeichnen. Die Mittelwerte der Immobilitätsphasen der Tiere der Sham/Xenon-Gruppe verbleiben bis zum 6. postoperativen Tag auf Ausgangsniveau und sinken dann bis zum Tag 8 auf den Wert Null ab, was bis zum Untersuchungsende beibehalten wird. Die Tiere der Gruppe EKZ/Luft zeigen bis zum Tag 6 abnehmende immobile Phasen, behalten dieses Niveau bis zum 9. Tag bei und verzeichnen am 14. Tag wieder eine immobile Phase, die jedoch unter dem Ausgangswert liegt. Die EKZ/Xenon-Gruppe weist initial (Tag 4) eine etwa doppelt so lange Immobilität im Vergleich zu den anderen Gruppen auf. Die Werte steigen noch bis zum 7. postoperativen Tag an, bevor sie stetig bis zum Zeitpunkt des Wiederholungstestes am Tag 14 auf mit den anderen Gruppen vergleichbare Werte abfallen (siehe Tabelle 23 und Abbildung 35).



**Abbildung 35:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Dauer der Immobilität (%) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

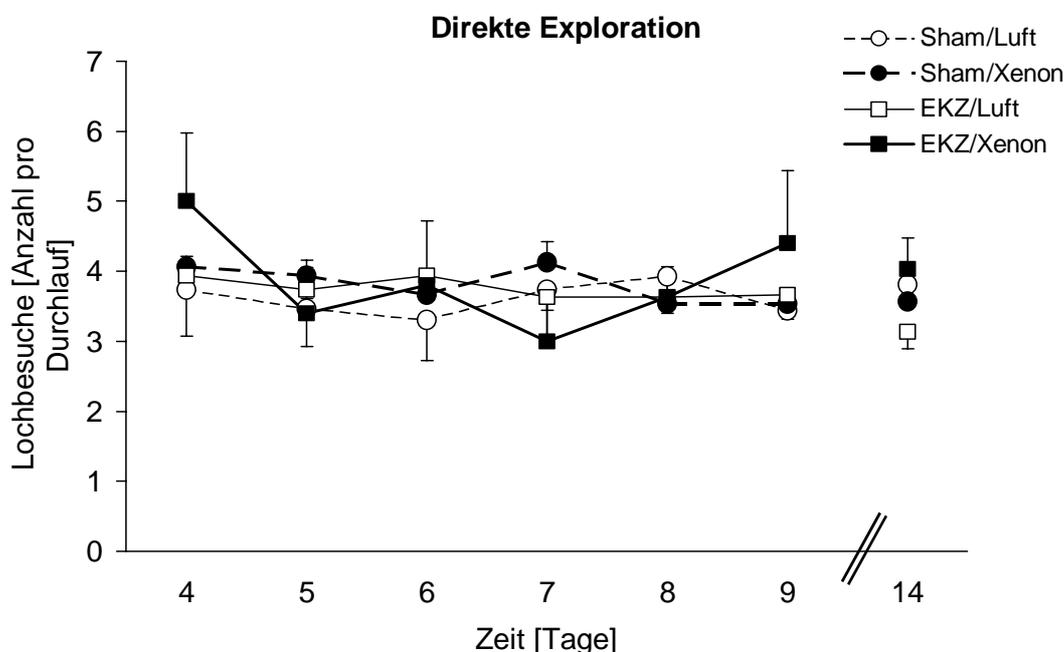
Anzahl der Lochbesuche

**Tabelle 24:** Anzahl der Lochbesuche im mHBT

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Loch- besuche</b>	4	3,7 ± 2,1	4,1 ± 0,5	3,9 ± 0,8	5,0 ± 3,1
	5	3,5 ± 1,7	3,9 ± 0,7	3,7 ± 0,4	3,4 ± 2,1
	6	3,3 ± 1,8	3,7 ± 0,5	3,9 ± 0,4	3,8 ± 2,9
	7	3,7 ± 2,2	4,1 ± 0,9	3,6 ± 0,6	3,0 ± 2,1
	8	3,9 ± 0,9	3,5 ± 0,5	3,6 ± 0,7	3,6 ± 1,3
	9	3,4 ± 0,4	3,5 ± 0,6	3,7 ± 0,8	4,4 ± 3,3
	14	3,8 ± 0,8	3,6 ± 0,6	3,1 ± 0,8	4,0 ± 1,4

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Anzahl der Lochbesuche pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Mittelwerte aller vier Gruppen verlaufen während der gesamten Untersuchung schwankend auf einem ähnlichen Niveau, wobei zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede auffallen (siehe Tabelle 24 und Abbildung 36).



**Abbildung 36:** Graphische Darstellung der MW $\pm$ SEM der Anzahl der Lochbesuche pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

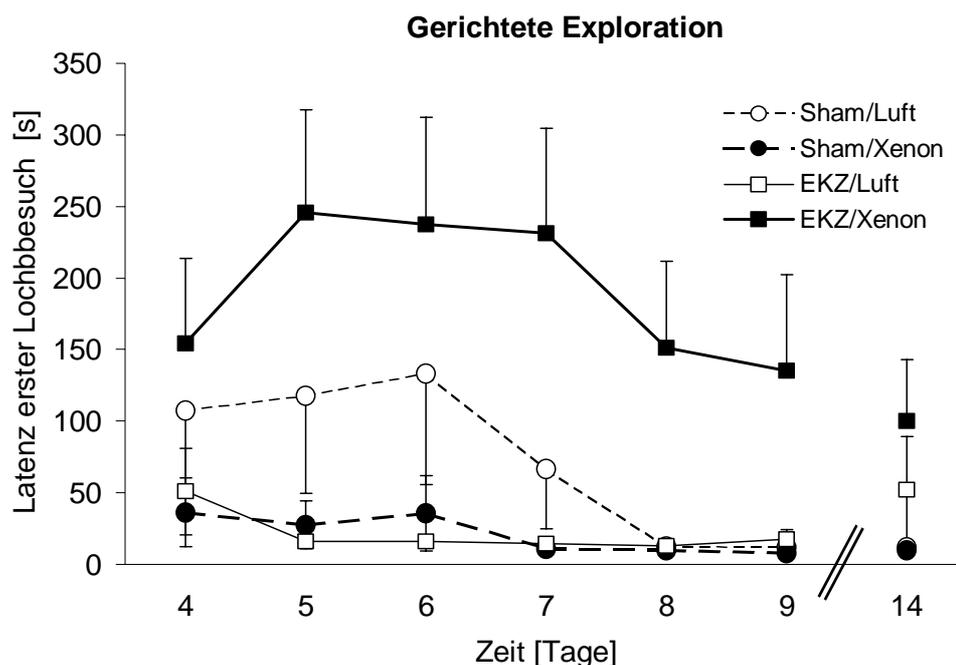
Latenz erster Lochbesuch

**Tabelle 25:** Latenz erster Lochbesuch im mHBT

	<b>Tag</b>	<b>Sham/Luft</b> (n = 10)	<b>Sham/Xenon</b> (n = 10)	<b>EKZ/Luft</b> (n = 10)	<b>EKZ/Xenon</b> (n = 10)
<b>Latenz erster Loch- besuch</b>	4	107,6 ± 193,2	36,3 ± 75,5	51,1 ± 95,5	154,2 ± 187,9
	5	117,7 ± 215,4	27,9 ± 53,2	16,2 ± 11,7	245,8 ± 227,1
	6	133,1 ± 244,8	35,7 ± 83,4	16,3 ± 12,6	237,5 ± 237,2
	7	66,4 ± 132,0	10,8 ± 14,4	14,5 ± 10,8	231,3 ± 232,2
	8	12,3 ± 11,1	9,8 ± 12,9	12,7 ± 8,2	151,5 ± 180,0
	9	12,1 ± 10,8	7,8 ± 4,5	17,4 ± 21,3	135,0 ± 212,2
	14	11,6 ± 7,4	10,0 ± 7,3	52,1 ± 117,6	100,2 ± 136,0

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Latenz erster Lochbesuch in Sekunden (s) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

Die Mittelwerte der Latenz des ersten Lochbesuches liegen in der Sham/Xenon- und in der EKZ/Luft-Gruppe vom ersten bis zum letzten Tag der Lernphase (Tag 9) in den gleichen Bereichen. Die Sham/Luft-Gruppe beginnt mit einer doppelt so hohen Latenzzeit, welche sich bis zum 6. postoperativen Tag noch steigert und dann bis zum Zeitpunkt des Wiederholungstestes am Tag 14 kontinuierlich abnimmt und ab Tag 8 das Niveau der beiden anderen Gruppen (Sham/Xenon und EKZ/Luft) erreicht. Die EKZ/Xenon-Gruppe weist initial im Vergleich zu allen anderen Gruppen die höchsten Mittelwerte auf, und steigert diese noch bis zum Tag 5. Dieses Niveau behält die EKZ/Xenon-Gruppe noch bis zum 7. Tag bei ( $p = 0,002$ ), um dann bis zum letzten Untersuchungstag abzusinken (Tabelle 25 und Abbildung 37).



**Abbildung 37:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Latenz des ersten Lochbesuches (s) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Anzahl der Männchen

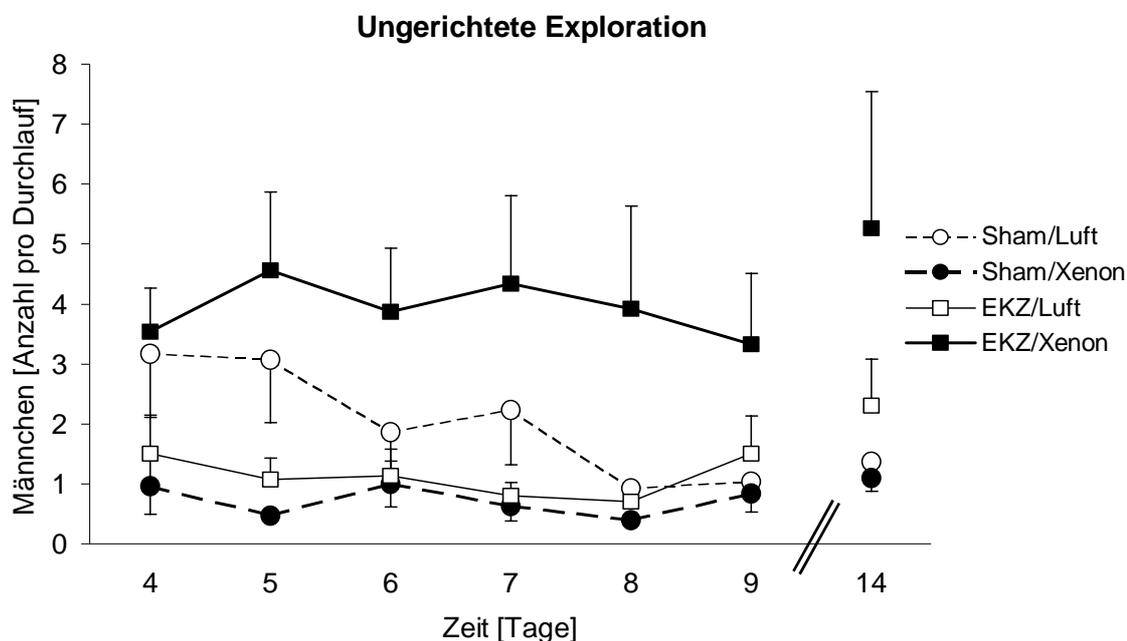
**Tabelle 26:** Anzahl der Männchen im mHBT

Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
4	3,2 ± 3,3	1,0 ± 1,5	1,5 ± 2,0	3,5 ± 2,3
5	3,1 ± 3,3	0,5 ± 0,3	1,1 ± 1,2	4,6 ± 4,1
6	1,9 ± 2,2	1,0 ± 1,2	1,1 ± 1,4	3,9 ± 3,4
7	2,2 ± 2,9	0,6 ± 0,8	0,8 ± 0,7	4,3 ± 4,7
8	0,9 ± 1,0	0,4 ± 0,4	0,7 ± 0,5	3,9 ± 5,1
9	1,0 ± 0,9	0,8 ± 1,0	1,5 ± 2,0	3,3 ± 3,7
14	1,4 ± 1,0	1,1 ± 0,7	2,3 ± 2,5	5,3 ± 7,2

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Anzahl der Männchen pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Sham/Luft-, die Sham/Xenon- und die EKZ/Luft-Gruppen weisen zu Beginn des mHBT ähnliche Mittelwerte auf. Diese sinken im Verlauf der Untersuchung nicht linear bis zum 8. Tag hin ab, und steigen dann bis zum 14. postoperativen auf Ausgangsniveau an. Die

EKZ/Xenon-Gruppe hingegen bleibt vom 4. bis zum 9. Untersuchungstag auf einem erhöhten Niveau ( $p = 0,003$ ). Die Mittelwerte aller Gruppen am letzten Untersuchungszeitpunkt ergeben keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 26 und Abbildung 38).



**Abbildung 38:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Anzahl der Männchen pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

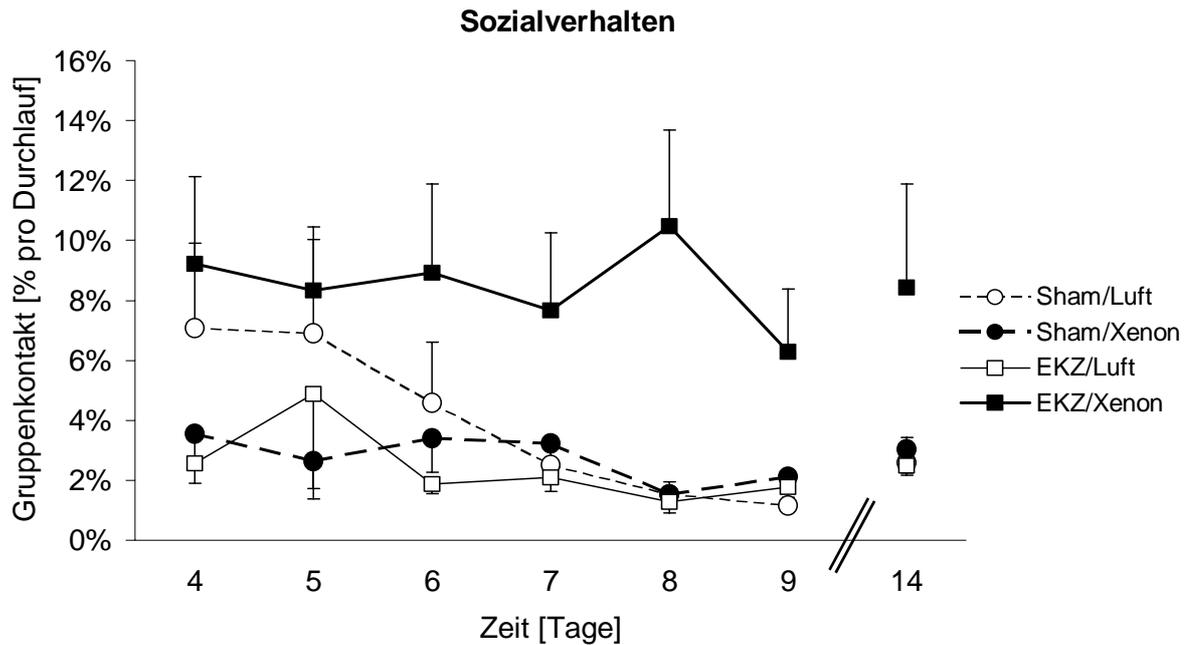
### Gruppenkontakt

**Tabelle 27:** Gruppenkontakte im mHBT

Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
4	7 ± 9	4 ± 4	3 ± 2	9 ± 9
5	7 ± 10	3 ± 3	5 ± 11	8 ± 7
6	5 ± 6	3 ± 4	2 ± 1	9 ± 9
7	3 ± 3	3 ± 4	2 ± 2	8 ± 8
8	2 ± 1	2 ± 2	1 ± 1	10 ± 10
9	1 ± 1	2 ± 2	2 ± 2	6 ± 7
14	3 ± 3	3 ± 3	2 ± 1	8 ± 11

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Dauer der Gruppenkontakte in Prozent (%) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Tendenziell nehmen die Werte in den Gruppen Sham/Luft, Sham/Xenon und EKZ/Luft bis zum 8. postoperativen Tag der Untersuchung hin ab, jedoch nicht in linearem Verlauf und steigen dann bis zum Wiederholungstest am Tag 14 etwa auf die initialen Werte wieder an. Die Mittelwerte der EKZ/Xenon-Gruppe liegen den gesamten Untersuchungszeitraum hindurch über den Werten der anderen Gruppen ( $p = 0,012$ ), wobei post hoc keine Signifikanzen am 14. postoperativen Tag bestehen (siehe Tabelle 27 und Abbildung 39).



**Abbildung 39:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Dauer des Gruppenkontaktes (%) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

### 3.4.3.3 Motorische Parameter

Die motorischen Fähigkeiten werden im mHBT anhand der pro Futterbelohnung benötigten Fresszeit und anhand der Anzahl frustrierender Lochbesuche beurteilt.

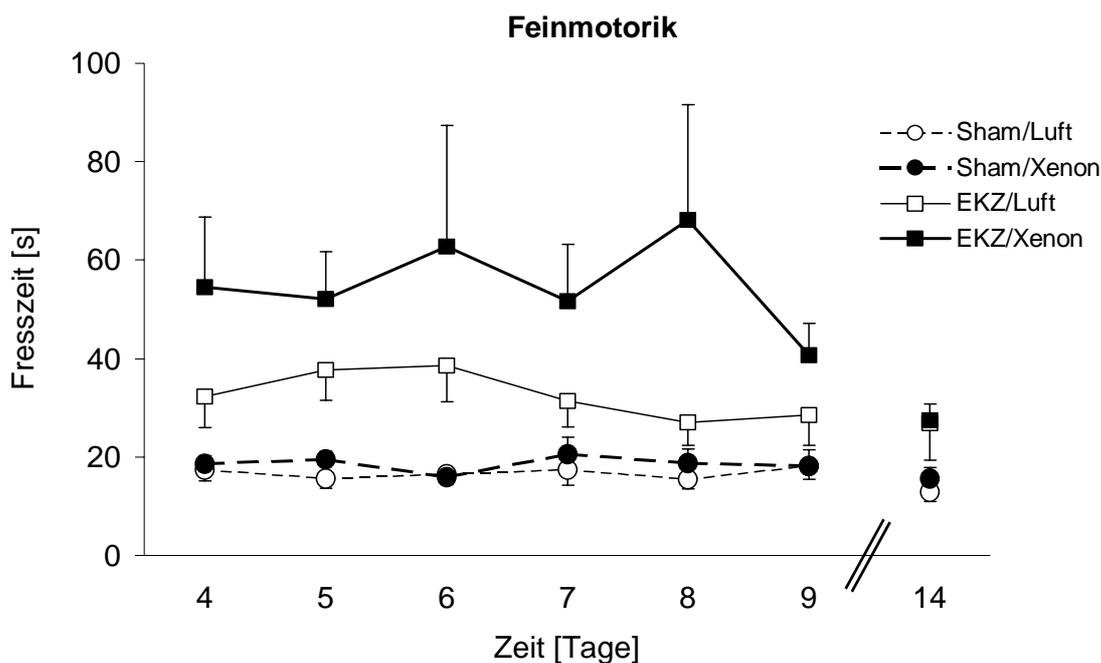
#### Fresszeit

**Tabelle 28:** *Fresszeit im mHBT*

	Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Fress- zeit</b>	4	17,5 ± 6,5	18,6 ± 5,2	32,3 ± 20,0	54,4 ± 40,5
	5	15,6 ± 5,3	19,5 ± 5,3	37,8 ± 19,8	52,2 ± 23,5
	6	16,5 ± 5,9	16,0 ± 3,6	38,5 ± 23,1	62,8 ± 60,5
	7	17,4 ± 9,1	20,6 ± 11,0	31,4 ± 16,5	51,6 ± 28,5
	8	15,5 ± 5,8	18,7 ± 9,2	27,1 ± 14,7	68,2 ± 57,6
	9	18,1 ± 8,0	18,1 ± 10,6	28,6 ± 19,5	40,8 ± 17,9
	14	13,0 ± 6,2	15,6 ± 7,3	26,8 ± 23,6	27,5 ± 10,1

*Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm$ SD) der Dauer Fresszeit pro Futterbelohnung in Sekunden (s) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.*

Die Mittelwerte der Gruppen Sham/Luft und Sham/Xenon halten sich mit kleineren Schwankungen vom ersten (Tag 4) bis zum letzten Untersuchungstag (Tag 14) im gleichen Bereich. Die EKZ/Luft-Gruppe beginnt mit höheren Werten, die bis zum 6. Tag noch weiterhin ansteigen und bis zum 14. postoperativen Testtag nicht linear auf Ausgangsniveau absinken. Eine deutlich längere Fresszeit benötigen die Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe am Tag 4, die noch bis zum 8. Tag mit wechselnden Werten ansteigt ( $p < 0,001$ ), um bis zum Untersuchungsende (Tag 14) deutlich unter den Anfangswert auf ein vergleichbares Niveau der drei übrigen Gruppen herabzufallen (siehe Tabelle 28 und Abbildung 40).



**Abbildung 40:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Dauer der Fresszeit pro Futterbelohnung (s) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Anzahl frustrierender Lochbesuche

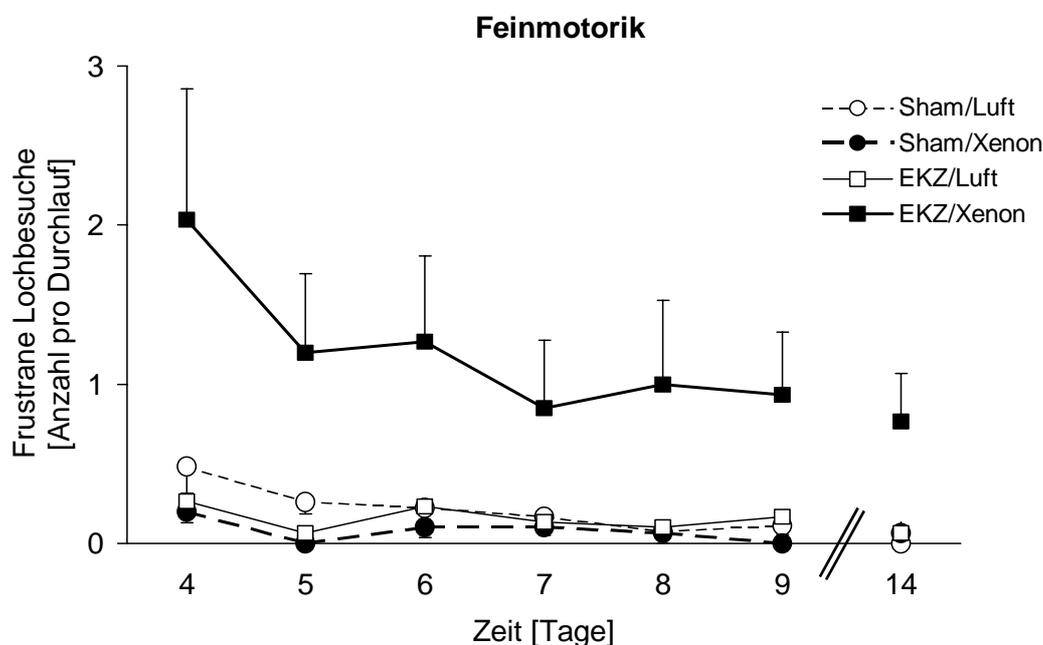
**Tabelle 29:** Frustrante Lochbesuche im mHBT

Tag	Sham/Luft (n = 10)	Sham/Xenon (n = 10)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)	
4	0,48 ± 0,50	0,20 ± 0,36	0,27 ± 0,44	2,03 ± 2,60	
5	0,26 ± 0,22	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,14	1,20 ± 1,57	
<b>Frustrane Lochbesuche</b>	6	0,22 ± 0,55	0,10 ± 0,22	0,23 ± 0,45	1,27 ± 1,71
7	0,17 ± 0,36	0,10 ± 0,16	0,13 ± 0,17	0,85 ± 1,27	
8	0,07 ± 0,22	0,07 ± 0,21	0,10 ± 0,22	1,00 ± 1,59	
9	0,11 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,42	0,93 ± 1,25	
14	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,21	0,07 ± 0,14	0,77 ± 0,96	

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Anzahl frustrierender Lochbesuche pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

Die Anzahl frustrierender Lochbesuche in den Gruppen Sham/Luft, Sham/Xenon und EKZ/Luft beginnen initial mit ähnlichen Mittelwerten, die im weiteren Untersuchungsverlauf bis zum 14. Tag weiterhin abnehmen. Die EKZ/Xenon-Gruppe weist am ersten Untersuchungstag im

Vergleich zu den anderen drei Gruppen eine vierfach erhöhte Anzahl frustrierender Lochbesuche auf ( $p = 0,001$ ), die im Verlauf der Untersuchung zwar abnimmt, am letzten Testtag aber immer noch signifikant über den Werten der restlichen Gruppen liegt ( $p = 0,024$ ) (siehe Tabelle 29 und Abbildung 41).



**Abbildung 41:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der Anzahl frustrierender Lochbesuche pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.

### 3.4.4 Histologische Parameter

Die histologische Untersuchung der Gehirne der Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) ergab bei keinem der Tiere einen Befund. Aus diesem Grund dienen diese beiden Gruppen in der histologischen Auswertung als Kontrollgruppen. Die statistische Analyse erfolgte mit Hilfe eines t-Testes. Die errechneten Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der Infarkt volumina und der maximalen Infarktfläche sind anschließend zunächst in tabellarischer, dann in graphischer Form ( $MW \pm SEM$ ) aufgeführt, wobei bei der graphischen Darstellung die Kontrollgruppen nicht berücksichtigt wurden.

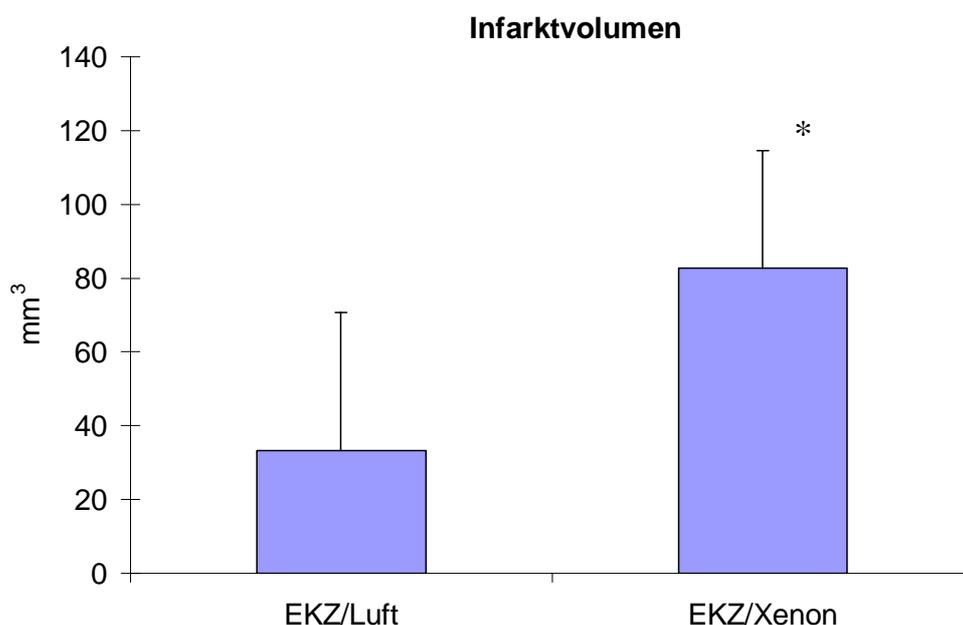
Infarktvolumen

**Tabelle 30:** *Infarktvolumen im Gehirn*

Parameter	Sham-Gruppen (n = 20)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
<b>Infarktvolumen</b>	0,0 ± 0,0	33,2 ± 60,4	82,7 ± 51,3 *

Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm$ SD) des histologisch ermittelten Parameters Infarktvolumen in Kubikmillimeter ( $\text{mm}^3$ ) pro Gehirn der Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon), der EKZ/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe am 14. postoperativen Tag (\* Signifikanz  $< 0,05$ ).

Die Mittelwerte (MW $\pm$ SD) der EKZ/Xenon-Gruppe weisen mit einem  $p = 0,031$  ein signifikant größeres Infarktvolumen im Vergleich zur EKZ/Luft-Gruppe auf (siehe Tabelle 30 und Abbildung 42).



**Abbildung 42:** *Graphische Darstellung der MW $\pm$ SEM des Infarktvolumens ( $\text{mm}^3$ ) im Gehirn der EKZ/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe am 14. postoperativen Tag (\* Signifikanz  $< 0,05$ ).*

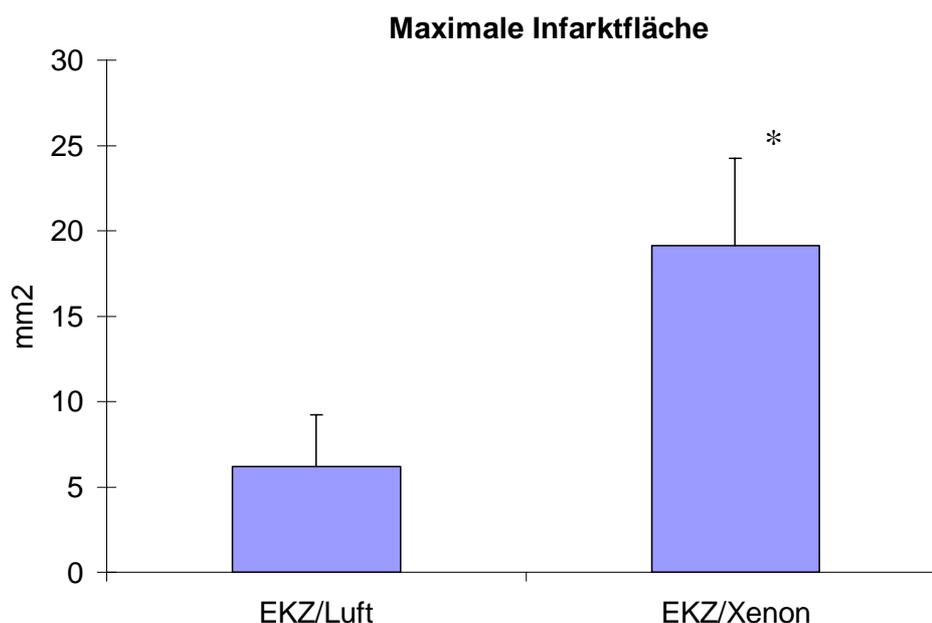
Maximale Infarktfläche

**Tabelle 31:** Maximale Infarktfläche im Gehirn

Parameter	Sham-Gruppen (n = 20)	EKZ/Luft (n = 10)	EKZ/Xenon (n = 10)
Maximale Infarktfläche	0,0 ± 0,0	6,2 ± 9,5	19,2 ± 16,1 *

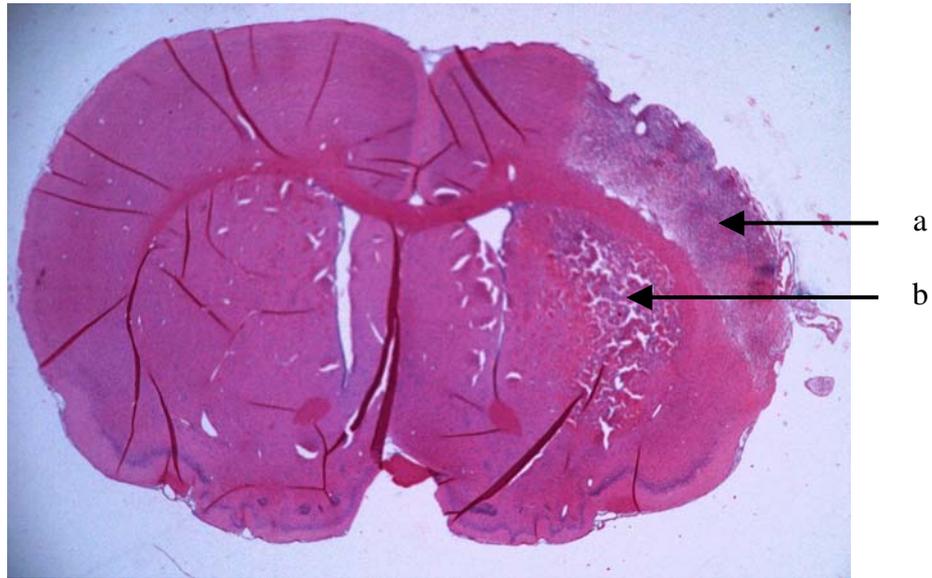
Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen ( $\pm SD$ ) der maximalen Infarktfläche in Quadratmillimeter ( $mm^2$ ) pro Gehirnschnitt der Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon), der EKZ/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe am 14. postoperativen Tag (\* Signifikanz  $< 0,05$ ).

Mit einem  $p = 0,021$  verzeichnet die EKZ/Xenon-Gruppe eine signifikant größere maximale Infarktfläche als die EKZ/Luft-Gruppe (siehe Tabelle 31 und Abbildung 43).

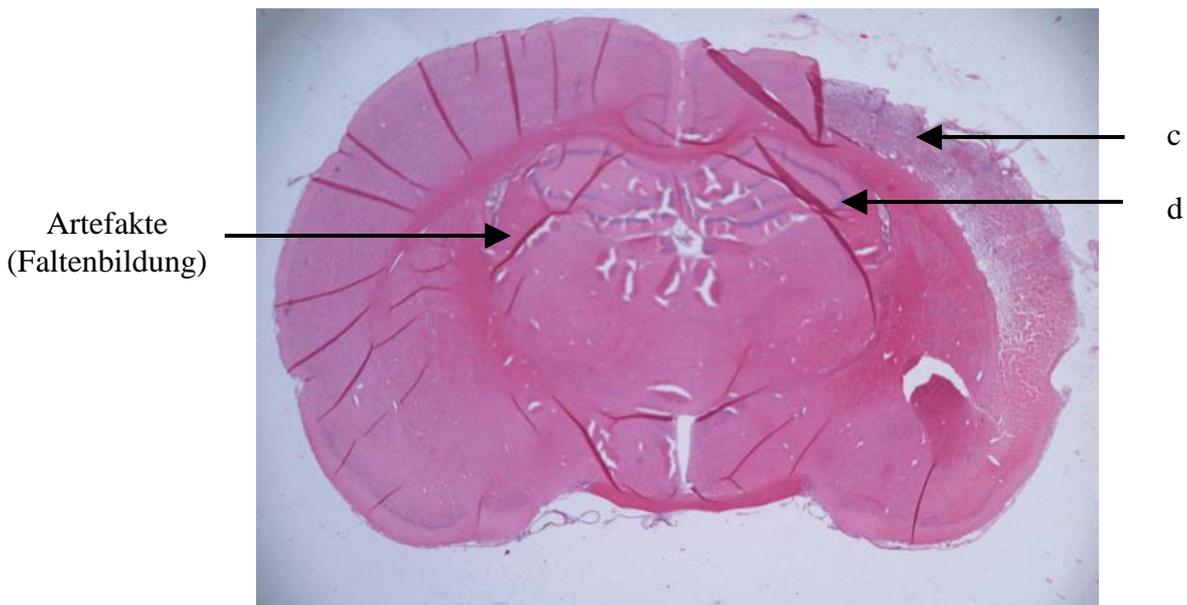


**Abbildung 43:** Graphische Darstellung der  $MW \pm SEM$  der maximalen Infarktfläche ( $mm^2$ ) im Gehirn der EKZ/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe am 14. postoperativen Tag (\* Signifikanz  $< 0,05$ ).

A)

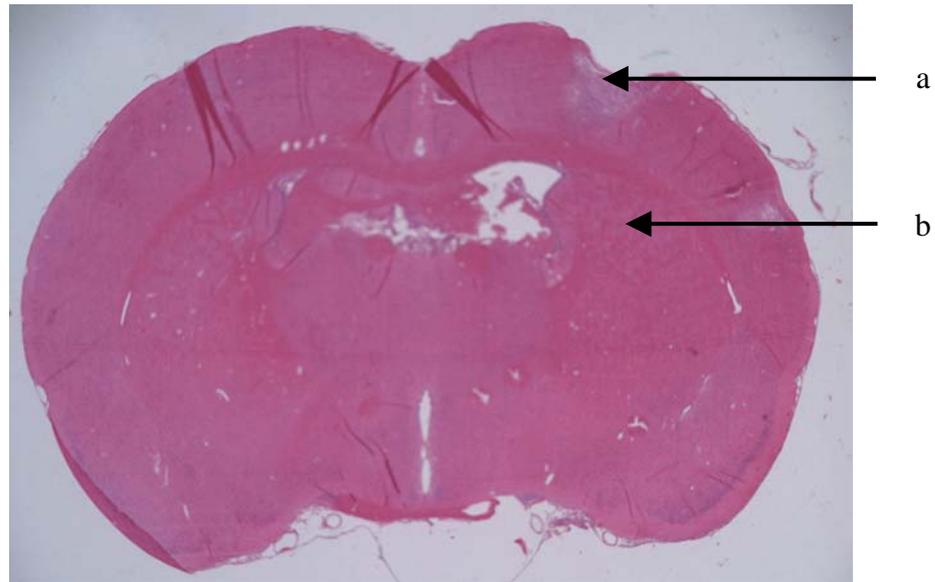


B)

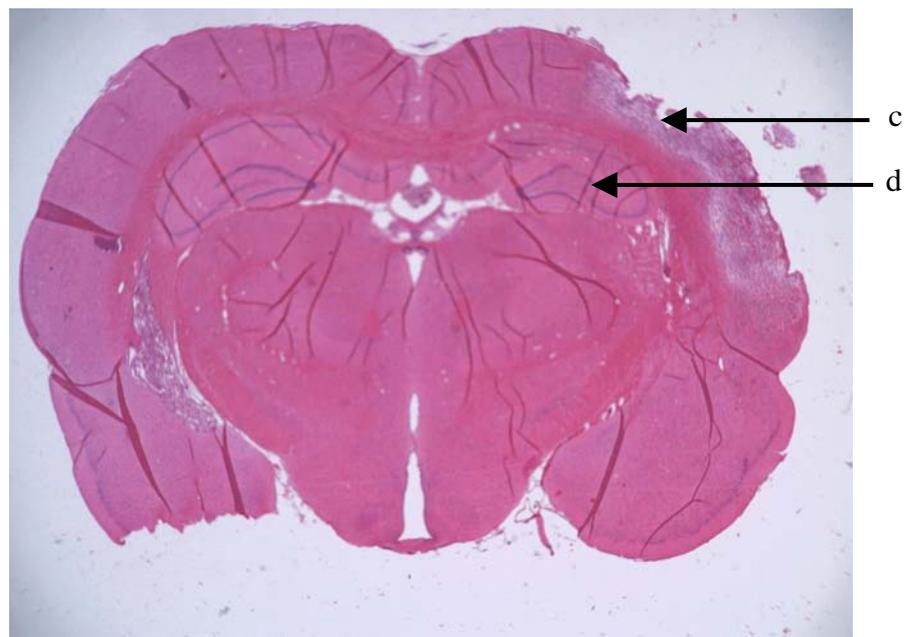


**Abbildung 44:** Paraffinschnitte (10  $\mu$ m, HE-Färbung) eines Tieres aus der EKZ/Xenon-Gruppe. Schnitt A wurde bei einem Bregma von  $-0,30$  mm, Schnitt B bei einem Bregma von  $-3,30$  mm entnommen. Deutlich sichtbar sind große, scharf demarkierte Infarktzone im motorischen Kortex (Pfeil a und c), die sich in Schnitt A auch noch bis ins Striatum (Pfeil b) ausdehnen. In der linken Gehirnhälfte und in der Hippokampus-Region (Pfeil d) sind keine Veränderungen sichtbar.

A)



B)



**Abbildung 45:** Paraffinschnitte (10  $\mu$ m, HE-Färbung) eines Tieres aus der EKZ/Luft-Gruppe. Schnitt A wurde bei einem Bregma von  $-0,30$  mm, Schnitt B bei einem Bregma von  $-3,30$  mm entnommen. Deutlich sichtbar sind kleinere Infarktzone im motorischen Kortex (Pfeil a und c) mit einer nicht so ausgeprägten Demarkationslinie. Das Striatum in Schnitt A ist von der Infarktzone nicht betroffen (Pfeil b). In der Hippokampus-Region (Pfeil d) sind keine Veränderungen sichtbar.

### 4 DISKUSSION

#### 4.1 Diskussion der Methoden

##### 4.1.1 Extrakorporale Zirkulation mit Herz-Lungen-Maschine

Postoperative kognitive Defizite (POCD) nach herzchirurgischen Eingriffen sind häufig und führen zu einer reduzierten Lebensqualität der Patienten (NEWMAN et al., 2001a). Trotz zahlreicher Studien in den letzten Jahren sind bisher keine zufriedenstellenden Präventions- oder Therapiemethoden etabliert worden. Dies kann unter anderem darauf zurückgeführt werden, dass bei der Durchführung klinischer Studien auf ein inhomogenes Patientenkollektiv zurückgegriffen werden musste. Mit der Anwendung eines idealen Tiermodells für die extrakorporale Zirkulation (EKZ) könnten diese Schwierigkeiten teilweise behoben werden (HINDMAN und TODD, 1999). Aber auch bei der Entwicklung eines optimalen Tiermodells für die EKZ sah man sich mehreren Problemen gegenübergestellt, die bis heute noch nicht vollständig gelöst sind. Die erste Herz-Lungen-Maschine (HLM) wurde von GIBBON 1937 entwickelt, und bei der Katze angewandt. Zunächst wurden experimentelle EKZ an größeren Tieren wie zum Beispiel beim Hund (FOLKERTH et al., 1975), Kaninchen (SCHUPBACH et al., 1978), Kalb (SASAKI et al., 1992), Schwein (MAULT et al., 1993) oder beim Schaf (BOKESCH et al., 1996) durchgeführt. Bei den kleineren Spezies erwies sich die Ratte als ideales Versuchstier. Die Ratte wird schon lange als Versuchstier gehalten und es existieren viele Daten über Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie, Hämodynamik und Verhalten während der Anästhesie. Das Herz der Ratte lässt sich bis auf eine Ausnahme, nämlich dass die Ratte drei Venae Cavae besitzt, mit dem des Menschen durchaus vergleichen (PRAKASH, 1954). Ein großer Unterschied besteht in der Herzfrequenz der Ratte von durchschnittlich 330 bis 360 pro Minute gegenüber der des Menschen mit 60 bis 80 pro Minute. Von Vorteil bei so einem kleinen im Vergleich zu einem größeren Tiermodell ist auch der geringere Kostenaufwand für Fütterung, Pflege, Platzbedarf und dass die gesamte Operation von nur einer Person durchgeführt werden kann (BALLAUX et al., 1999). Außerdem bestehen für die Ratte mehrere evaluierte Verhaltenstests (Radial-Arm-Maze, Morris-Water-Maze, modifizierter Hole-Board), die auch neurokognitive Defizite detektieren können. Die Entwicklung einer HLM für die Ratte durchlief mehrere Varianten und ist mit einigen technischen Schwierigkeiten verbunden. Zur Kanülierung des rechten Vorhofes wurde eine Sternotomie durchgeführt, womit zwar eine komplette EKZ gewährleistet war, aber ein Langzeit-

überleben der Tiere nicht gegeben war. Bei den Methoden der peripheren Kanülierung überlebten die Tiere, aber die Platzierung der venösen Kanüle führte nur zu einem ineffektiven venösen Rückfluss, so dass nur eine partielle EKZ simuliert wurde. Auch die verwendeten Oxygenatoren limitierten durch eine ungenügende Sauerstoffsättigung des Blutes die Dauer der EKZ. Dem Membranoxygenator wich der Blasenxygenator, der den Kreislauf mit einer großen Anzahl von Mikroemboli belastet (PADAYACHEE et al., 1987). Bei der Füllung des EKZ-Kreislaufes wurden oft große Mengen an Blut beziehungsweise Flüssigkeit benötigt, die ihrerseits ungünstig ins metabolische Gleichgewicht eingreifen. Erstmals gelang MACKENSEN et al. 2001 eine komplette EKZ mit peripherer Kanülierung. Sie plazierten die venöse Kanüle mit Hilfe der transösophagealen Echokardiographie (TEE) direkt im rechten Vorhof, so dass der venöse Rückfluss optimiert wurde. Durch die Verwendung eines Neugeborenenoxygenators, der circa 15-fach zu groß für die Ratte ist, benötigten sie aber ein Füllungsvolumen des Kreislaufes von 40 ml, wozu das Blut von zwei Spendertieren notwendig war (MACKENSEN et al., 2001). Mit der Entwicklung eines speziell an die Rattengröße adaptierten Membranoxygenators konnte dieses Füllungsvolumen auf 10 ml reduziert werden, so dass zum Priming kein Spendetier mehr notwendig war (JUNGWIRTH et al., 2003). Zur ausreichenden Sauerstoffsättigung benötigte dieser Membranoxygenator 80 % O<sub>2</sub>, womit er für die vorliegende Studie ungeeignet war. Denn für diesen Versuch wurde ein Membranoxygenator benötigt, welcher bei einer Beatmung mit 34 % O<sub>2</sub> eine ausreichende Sauerstoffsättigung gewährleistet, damit das restliche Volumen für die in diesem Versuch benötigte Menge an Xenon (56 %) zur Verfügung steht. Zu diesem Zweck wurde ein neuer Membranoxygenator mit einer größeren Gasaustauschfläche entwickelt, der diese Bedingungen erfüllt, und viel kleiner ist als der bei MACKENSEN et al. (2001) verwendete Neugeborenenoxygenator (CARLSEN, 2005). Trotz der technischen Fortschritte unterscheidet sich dieses Modell vom klinischem Standard noch immer in einigen Punkten. Es fehlen die Einflüsse der Thorakotomie und der Operation am offenen Herzen, zudem fehlt die Applikation von Kardioplegie-Lösungen mit Herzstillstand, und auch die retrograde Aortenperfusion entspricht nicht dem üblichen operativen Vorgehen.

### 4.1.2 Injektion von Luftemboli

In dieser Untersuchung soll der Einfluss von dem Narkosegas Xenon auf zerebrale Luftemboli, die im Verlaufe einer EKZ meist iatrogen entstehen, untersucht werden. Eigentlich gelangen in der Klinik diese Luftbläschen entweder über den EKZ-Kreislauf selbst oder über die geöffneten Herzkammern in den Körperkreislauf. Da in dem hier verwendeten EKZ-Modell

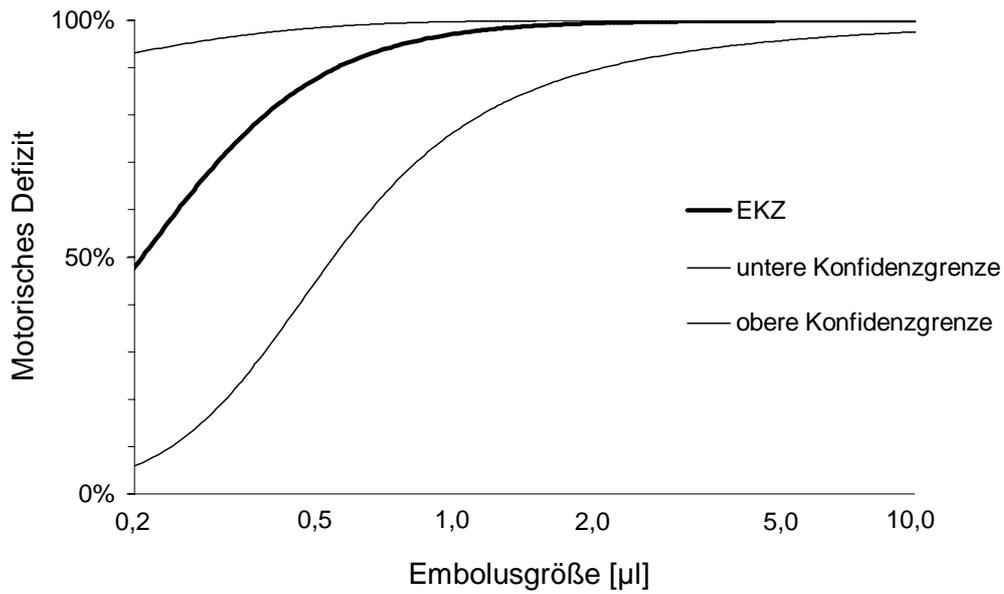
## DISKUSSION

---

bei der Ratte peripher, zu Gunsten des Überlebens der Tiere, kanüliert wurde, konnten die Luftboli nicht direkt über die Herzkammern appliziert werden. Aufgrund der retrograden Perfusion über die Schwanzarterie erschien es auch nicht sinnvoll, die Luftemboli direkt über den EKZ-Kreislauf zu injizieren, da somit nicht gewährleistet werden konnte, dass das gesamte Volumen an injizierter Luft im Gehirn ankommt. In mehreren Studien am Tiermodell wurden bereits die Auswirkungen einer EKZ in Kombination mit zerebralen Luftemboli untersucht. HINDMAN et al. (1998) injizierten während EKZ 50  $\mu$ l/kg Luft über die A. carotis interna beim Kaninchen und provozierten damit ein schlechteres neurologisches Ergebnis, als bei Tieren die nur an die EKZ angeschlossen waren. Die EKZ wurde über eine Sternotomie zentral kanüliert, und die Luftboli wurden über einen Katheter, der über die A. facialis in die A. carotis externa und von dort in die A. carotis interna geschoben wurde, verabreicht (HINDMAN et al., 1998). Bei dieser Methode wurde vor der Luftinjektion die A. carotis communis mit Gefäßklemmen unterbrochen, was zu einem veränderten Blutfluss mit einem abfallenden Druck führt. Außerdem ist es bei dieser Technik nicht auszuschließen, dass Luftbläschen über die A. carotis externa auch in extrazerebrale Gefäße gelangen. FURLOW (1982) gelang es mit seiner Technik, dass das gesamte injizierte Volumen an Luft das Gehirn erreicht und gleichzeitig die Hämodynamik zwischen den angrenzenden Arterien nicht beeinflusst wurde. Für die Luftinjektion präparierte er die A. carotis interna dextra mit einem speziellen feinen Polyethylenkatheter, der über einen Stumpf der A. occipitalis posterior vorgeschoben wird. Um zu verhindern, dass Luft in extrazerebrale Gefäße gelangt, wird die A. pterygopalatina ligiert. Die gewünschte Luftmenge wird über einen Perfusor mit konstantem Druck und gleichmäßig injiziert (FURLOW, 1982). Aus verschiedenen Gründen wird in dieser Untersuchung eine modifizierte Form der von FURLOW (1982) beschriebenen Technik angewandt. Die Präparation der haarfeinen A. occipitalis gestaltet sich schwierig und ist mit einer höheren Ausfallquote an Tieren verbunden. Deshalb wurde für die Luftinjektion die A. carotis externa präpariert und ligiert, über die der Katheter in die A. carotis interna vorgeschoben wurde. Zusätzlich wurde die A. thyroidea superior zur besseren Darstellung des Präparationsgebietes und zum Schutz vor einem Abriss ligiert und durchtrennt.

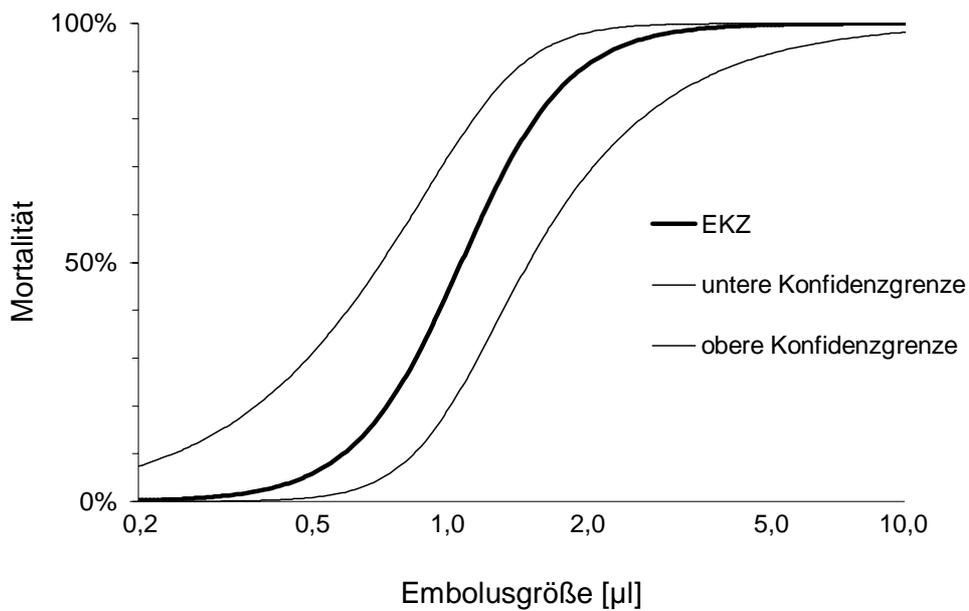
Welchen Schaden die Luftbläschen, die im Gehirn ankommen anrichten, ist abhängig von deren Größe und Menge (HOSSMANN, 1998). Mikroemboli verursachen meist nur eine kurze mechanische Irritation des Gefäßendothels und führen nur zu einer kurzzeitigen Unterbrechung des Blutflusses (NILSSON et al., 1999), bevor sie vom Organismus resorbiert werden, wohingegen große Luftbläschen zu einer längerfristigen Obstruktion des Blutflusses mit nachfolgender Ischämie führen (MUTH und SHANK, 2000). In bisherigen Studien wurden meis-

tens einmalige Boli unterschiedlicher Mengen an Luft injiziert. Bei der Observation von Luftbläschen in den pialen Gefäßen nach intraarterieller Injektion beim Kaninchen wurden folgende Zusammenhänge beobachtet. 25 µl Luft führten zu einer schnellen Passage der Bläschen und nachfolgender Minderung der Gehirnfunktion und des zerebralen Blutflusses. Ein Einzelbolus von 400 µl Luft (160 bis 190 µl/kg) war notwendig, um ein vorübergehendes „air trapping“ mit bleibenden Gehirnfunktionsstörungen zu provozieren. Beide Volumina dilatierten die Gefäße und reduzierten den Blutfluss (HELPS et al., 1990). Nach Gabe einer Einzeldosis von 200 µl/kg Luft über die A. carotis wurde eine starke Beeinträchtigung der neurologischen Funktion (SSEP) und histologisch ein Zellschaden von bis zu 96,8 % des Gehirns beim Kaninchen festgestellt (HINDMAN et al., 1999). Bei der Ratte hatte ein Einzelbolus von 5 µl Luft einen plötzlichen Stillstand oder einen deutlichen Rückgang des zerebralen Blutflusses zufolge, welcher sich nach wenigen Minuten wieder normalisierte (FURLOW, 1982). Bei all diesen Studien wurden nur kurzfristige Einflüsse der Emboli dargestellt. Untersuchungen über langfristige Auswirkungen einer zerebralen Embolie fehlen. Zur Ermittlung eines geeigneten Luftvolumens, welches einen neurologischen Schaden hervorruft und dabei mit dem Überleben der Tiere vereinbar ist, wurde in einer Dosis-Findungs-Studie (CARLSEN, 2005) der Einfluss verschieden großer applizierter zerebraler Emboli auf die neurologische Funktion untersucht. Nach 10-maliger Verabreichung von 0,3 µl großen Luftboli, die via A. carotis interna während EKZ über einen Zeitraum von 60 Minuten injiziert wurden, konnten bei 85,8 % der Tiere eindeutige motorische Defizite festgestellt werden (Konfidenzintervall von 40,7 bis 98,2 %) (siehe Abbildung 46).



**Abbildung 46:** Anzahl der Tiere (%) mit motorischem Defizit nach unterschiedlich großen Luftboli während EKZ (modifiziert nach CARLSEN, 2005).

Gleichzeitig überlebten 99 % der Tiere, die repetitiv 0,3 µl große Luftboli erhalten hatten (Konfidenzintervall 0,1 bis 14,5 %) (siehe Abbildung 47).



**Abbildung 47:** Mortalität (%) nach unterschiedlich großen Luftboli während EKZ (modifiziert nach CARLSEN, 2005).

Um die in der Klinik während einer EKZ auftretenden rezidivierenden Mikroembolien zu simulieren, wurde die ermittelte Luftmenge von 0,3 µl repetitiv im Abstand von sechs Minuten zehn mal verabreicht. Wie sich diese nacheinander verabreichten Luftbläschen in den zerebralen Gefäßen verhalten, ist unklar und muss in weiteren Untersuchungen abgeklärt werden. Es könnte sein, dass die Bläschen sich gegenseitig nicht beeinflussen und jedes Bläschen in einer bestimmten Gehirnregion nur einen kleineren Schaden anrichten, oder aber die Einzelbläschen akkumulieren zu einer größeren Luftblase, die ein größeres Gefäß verlegt und somit auch ein größeres Gebiet von der Blutversorgung abschneidet.

### 4.1.3 Xenon

Xenon besitzt beim Menschen ein MAC-Wert von 71 Vol % (CULLEN et al., 1969) und bei der Ratte einen Wert von 161 Vol % (KOBLEN et al., 1998). In neuronalen Zellkulturen, die mit NMDA, Glutamat oder Sauerstoffdeprivation geschädigt wurden, konnte ein von der Konzentration abhängiger neuroprotektiver Effekt von Xenon nachgewiesen werden. Bereits eine Begasung mit 20 bis 30 Vol % Xenon führte zu einer Verringerung der LDH-Ausschüttung um 50 %. Auch nach induzierter neuronaler Degeneration durch subkutane Injektion von NMDA bei der Ratte konnte eine signifikante Reduktion des Zellunterganges im Nucleus arcuatus des Hippokampus bei Xenonkonzentrationen ab 40 Vol % festgestellt werden (WILHELM et al., 2002). Bei einem weiteren neuronalen Schädigungsmodell wurde die neuroprotektive Wirkung von Xenon ebenfalls ab einer Konzentration von 40 Vol % nachgewiesen (MA et al., 2002). Diese Untersuchungen zeigen, dass Xenon im Vergleich zu anderen Anästhetika selbst in sub-anästhetischen Konzentrationen seine neuroprotektiven Eigenschaften vermittelt. In der vorliegenden Studie liegt die verabreichte Xenonkonzentration bei 56 Vol %, so dass mit einem neuroprotektiven Effekt gerechnet werden kann.

Der besondere Aufbau des Narkosesystems (siehe 3.2.3.1) in dieser Arbeit bringt gegenüber anderen Untersuchungen (MA et al., 2003) den Vorteil, dass Xenon sowohl über den Ventilator als auch über den Oxygenator der EKZ verabreicht werden kann. Somit war es möglich, Xenon auch vor und nach der EKZ-Phase zu verabreichen, um seine neuroprotektiven Fähigkeiten auch zur Präkonditionierung und während der risikoreichen Reperfusionphase nutzen zu können. Auch mit anderen Anästhetika konnten mehrfach positive Ergebnisse mit einer Präkonditionierung erzielt werden. Eine wiederholte Präkonditionierung mit Isofluran führte bei Ratten nach induzierter fokaler Ischämie (MCAO) zu einem Dosis-abhängigen positiven Effekt auf die ischämische Toleranz. Diese Protektion wurde über eine Aktivierung von Ade-

nosintriphosphat-regulierten Kaliumkanälen vermittelt (XIONG et al., 2003). Nach Vorbehandlung mit entweder Isofluran oder Halothan konnte das Infarktvolume nach MCAO bei der Ratte signifikant verringert werden, auch in vitro konnte in dieser Arbeit bei durch Sauerstoff- und Glukose-deprivierten kortikalen Zellen eine verminderte Ausschüttung von LDH aufgezeigt werden. Bei diesen Prozessen scheint die induzierbare Stickstoffsynthese (iNOS) involviert zu sein (KAPINYA et al., 2002). In einer In-Vitro-Untersuchung am Rattenhippokampus, welcher einer 13-minütigen Hypoxie ausgesetzt wurde, konnte durch eine Präkonditionierung mit Sevofluran die neuronale Funktionalität signifikant verbessert werden (KEHL et al., 2004). Nach Präkonditionierung mit Sevofluran wurde in einer Patientenstudie ein Jahr nach herzchirurgischem Eingriff eine signifikante Verbesserung des kardiovaskulären Outcomes im Vergleich zu einer Placebo-Gruppe nachgewiesen (GARCIA et al., 2005). Auch über Xenon und seinen präkonditionierten Einsatz existieren Daten. Nach okkludierter Koronararterie bei der Ratte führte eine Präkonditionierung mit Xenon zu einer Reduktion der Infarktgröße. Als zentrale molekulare Mechanismen wurde eine Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) und einer mitogen aktivierten Proteinkinase (p38 MAPK) angegeben (WEBER et al., 2005). Auch während der post-ischämischen Reperfusion könnte die Verwendung eines Neuroprotektivums von großem Nutzen sein. Als Reperfusionsschaden wird der pathologische Mechanismus bezeichnet, der zu Beginn der Reperfusion entsteht. Vor der Reoxygenierung des Gewebes befindet sich dieses in einem kritischen Zustand. Die Zellhomöostase ist gestört und mit dem reperfundierten Blut gelangen schädigende Stoffe wie Laktat und freie Radikale in das sensible Gebiet. Im Tierversuch konnte nach induzierter Myokardischämie mit Xenon eine Reduzierung des Infarktgebietes erreicht werden (PRECKEL et al., 2000). Die Ursachen für diesen neuroprotektiven Effekt von Xenon während der Reperfusionsphase werden in einer Beeinflussung des Kalziumstoffwechsels vermutet (PETZELT et al., 2001). Ein weiterer Vorteil des in der vorliegenden Studie verwendeten Narkosesystems ist, dass die Xenonkonzentration zu jedem Zeitpunkt über einen zweiten Atemgasmonitor überwacht werden konnte. In vergleichbaren Studien erfolgte die Messung der Xenonkonzentration nur indirekt über den Sauerstoffgehalt, und birgt somit einige Ungenauigkeiten (MA et al., 2003). Um einen zusätzlichen Einfluss von Isofluran, der das Ergebnis eventuell verfälschen könnte, auszuschließen, wurde Isofluran nur während der Präparationsphase der Gefäße verabreicht und anschließend auf eine intravenös verabreichte Basisnarkose umgestellt. Xenon wurde on top mit einem Drittel MAC-Wert zur Basisnarkose verabreicht, wobei eine äquipotente Dosierung sicherlich idealer gewesen wäre. Die Ermittlung dieser Dosis wäre aber mit einer zu großen zusätzlichen Untersuchung verbunden gewesen.

Um neuroprotektiv wirken zu können, muss Xenon NMDA-Rezeptorstellen belegen. Diese befinden sich in unterschiedlichen Konzentrationen regional im Gehirn verteilt. Auch bezüglich der stöchiometrischen Anordnung der Bindungsstellen scheint es regionale Unterschiede zu geben. Die höchste Konzentration an NMDA-Rezeptoren wurden bei der Ratte im frontalen Kortex und Hippokampus festgestellt, gefolgt von Striatum, Rückenmark und Kleinhirn (MATSUNAGA et al., 1996). Der Kortex wird von zahlreichen kollateralen Arterien versorgt, so dass Xenon über kollaterale Gefäße zu den Rezeptoren gelangen kann, falls das hauptversorgende Gefäß durch einen Embolus verschlossen ist. Anders sieht es bei den subkortikalen Gebieten aus, die nur von einer Arterie, der A. lenticulostriata versorgt werden. Wird diese durch einen Embolus obstruiert, kann Xenon nicht zu den dort liegenden Rezeptoren gelangen und seine neuroprotektive Wirkung entfalten. Zu den Funktionsbereichen des Subkortex zählen vor allem motorische (Basalganglien, Kleinhirn, Hirnstamm), emotionale (Limbische System) und sensorische Bereiche (Thalamus), so dass im Schadensfall vor allem Störungen in diesen Bereichen auftreten.

### **4.1.4 Neurologische Untersuchung**

Mit der neurologischen Untersuchung sollen vor allem grobmotorische Defizite, die kurz nach dem Eingriff (Tag 1 bis 3 und Tag 12) auftreten, detektiert und in ihrem Verlauf beschrieben werden. Hierzu werden verschiedene Tests mit sensorischen und motorischen Schwerpunkten angewandt, um möglichst alle neurologischen Veränderungen erfassen zu können. Später auftretende oder noch vorhandene Defizite können mit im mHBT (Tag 4 bis 9 und Tag 14) erhobenen feinmotorischen Parametern beschrieben werden (siehe 3.4.3.3), womit eine fast lückenlose Beurteilung des neurologischen Status vom ersten bis zum 14. postoperativen Tag möglich ist. Mit dem hier eingesetzten Tiermodell werden zumeist auf eine Hemisphäre beschränkte Schädigungen erwartet, womit eine besondere Aufmerksamkeit denjenigen Tests erteilt wird, die sich eignen, seitenbetonte neurologische Störungen nachzuweisen. Vor der Operation werden die Tiere an den Ablauf der einzelnen Untersuchungen habituiert, um zum einen einen stabilen neurologischen Status und zum anderen Vergleichswerte für die postoperativ erhobenen Daten zu bekommen. Gleichzeitig können Tiere, die vor dem Eingriff schon neurologisch auffällig sind, von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen werden. Die Untersuchungen werden immer in der gleichen Reihenfolge unternommen, und auch der Abstand zwischen zwei Untersuchungen ist immer identisch. Mit dieser Maßnahme sollen unterschiedliche Wechselwirkungen der einzelnen Tests untereinander standardisiert werden. Die sensorischen Testmethoden zur Beurteilung des Seh- und Hörvermögens und der Propri-

## DISKUSSION

---

option entsprechen dem klinischen Standard (siehe 3.2.4.2). Als Grundlage für die motorischen Tests dienen in anderen Studien beschriebene Methoden, die jedoch häufig und noch immer modifiziert werden, so dass bisher eine einheitliche Standardisierung der neurologischen Untersuchung noch fehlt. Oft unterscheiden sich die einzelnen Maße für die im Test benötigten Instrumente, wie zum Beispiel die Länge oder die Breite der verwendeten Holzbalken, aber auch die Beobachtungszeit, die Anzahl der Durchläufe und das Bewertungssystem variieren beträchtlich. Der Balken-Gleichgewicht-Test (siehe 3.2.4.2) wird häufig verwendet, um motorische, vor allem vestibuläre Störungen zu untersuchen (MARKGRAF et al., 2001). Verliert ein Tier das Gleichgewicht und rutscht bevorzugt zu einer Seite des Balkens hin ab, kann dies als Hinweis für eine seitenbetonte Störung betrachtet werden. Zu einer fehlerhaften Interpretation kann es bei diesem Test kommen, wenn zu geschwächte Tiere nicht in der Lage sind, sich aufgrund fehlender Muskelkraft auf dem Balken zu halten, was jedoch nicht mit einem gestörten Gleichgewichtssinn gleichzusetzen ist. Auch der Balken-Geh-Test (siehe 3.2.4.2) ist eine oft beschriebene Testmethode, um kortexbedingte Störungen in der Koordination der Vorder- und der Hintergliedmaße zu identifizieren (FEENEY et al., 1982). Im Gehirn einseitig geschädigte Tiere fallen mit Fehlritten auf der kontralateralen Seite auf (SOBLOSKY et al., 1996). Schwierig gestaltet es sich bei diesem Test, wenn sich die Tiere auf dem Balken nicht vorwärtsbewegen. Ob sie aus fehlender Motivation, aus Angst oder aufgrund koordinativer Störungen nicht dazu in der Lage sind, ist meist schwer zu beurteilen. Beim Greif-Zug-Test (siehe 3.2.4.2) werden die Muskelkraft der Vordergliedmaßen und auch der Greifvorgang beurteilt (COMBS und D'ALECY, 1987). Die Ausgangswerte für diesen Test sind nicht immer ganz auf einem Niveau gelegen. In diesem Versuchsaufbau hängen die Ratten an einem Seil, gleichzeitig berührt jedoch ihr Schwanz die untergelegte Polsterung, so dass die Tiere den geringen Abstand zwischen Seil und Boden eventuell abschätzen können und einige sich daraufhin unbedacht fallen lassen. Um dieses Phänomen in Zukunft zu verhindern, sollte der Abstand zwischen Seil und Polsterung in folgenden Untersuchungen vergrößert werden.

Viele Untersucher verwenden bei der Bewertung ein Punktesystem mit dem man sich einen Überblick über den neurologischen Status der Ratten verschaffen kann (SAATMAN et al., 1996). Da sich die Beurteilung der sensorischen Tests schwierig gestaltet, wurden die sensorischen Ergebnisse mit einem Punktesystem beurteilt, bei den motorischen Tests wurde aber, um auch feinste Unterschiede zu erfassen, auf deren Absolutwerte eingegangen.

Mit den hier in dieser Studie angewandten neurologischen Untersuchungen konnten kurzfristige und mit einer Testmethode auch langfristige (Tag 12) Veränderungen der grobmotorischen und sensorischen Funktionalität nach EKZ erfasst werden. Auch die linke Seitenbetonung der auftretenden Schäden konnte eindeutig identifiziert werden.

### **4.1.5 Modifizierter Hole-Board-Test**

Der modifizierte Hole-Board-Test (mHBT) nach Ohl wurde ursprünglich für Tupaias (Spitzmäuse) entwickelt (OHL et al., 1998) und später für Ratten modifiziert (OHL et al., 2001a). Der mHBT macht sich das natürliche Erkundungs- und Futtersuchverhalten von Nagetieren zu Nutzen, ohne dass dabei die Tiere durch Futterentzug zur Absolvierung des Testes stimuliert werden müssen. Gleichzeitig können die Tiere bei dieser Testanordnung in Gruppen gehalten werden und durch die integrierte Versuchsarena ist es nicht notwendig, die Tiere für die Versuchsdurchführung komplett von den Gruppenmitgliedern zu isolieren und zu einer entfernt gelegenen Testvorrichtung zu transportieren. Während des Verhaltenstest wird es den Ratten durch die spezielle Versuchsanordnung jederzeit ermöglicht, mit den Gruppenmitgliedern Kontakt aufzunehmen. All diese Faktoren führen im Vergleich zu anderen Verhaltenstests zu einer geringeren Belastung der Tiere, und somit zu einem standardisierten Verfahren, welches eine objektivere Beurteilung der gewonnenen Ergebnisse erlaubt. Wichtig ist die Reduzierung von zusätzlichem, durch die Ausführung des Verhaltenstests bedingtem Stress für die Tiere, was mit dem mHBT im Gegensatz zu anderen Verhaltenstests durch oben genannte Maßnahmen gut gelingt. Stress wirkt sich negativ auf Hippokampus-vermittelte Gedächtnisprozesse aus, so dass es hier zu verfälschten Ergebnissen kommen würde (OHL und FUCHS, 1998). Ebenso ist zu erwähnen, dass mit dem mHBT gleichzeitig mehrere Parameter (kognitive, emotionale, motivationale und motorische) untersucht werden können, wozu sonst ganze Testbatterien notwendig wären. Hieraus ergibt sich ein tierschutzrelevanter Aspekt, da sich mit diesem Test die für einen Tierversuch benötigte Tieranzahl deutlich verringern lässt.

Nagetiere sind die am häufigsten verwendete Spezies bei der Entwicklung von Modellen menschlicher Gedächtnisstörungen. Ebenso existieren eine Menge an Informationen über die möglichen zugrundeliegenden neurobiologischen Mechanismen kognitiver Defizite. In der Tat wird jedoch kontrovers diskutiert, inwieweit eine speziesübergreifende Generalisierung bezüglich neuronaler Strukturen und deren vermittelten Gedächtnisleistungen möglich ist. Bei der Aussagekraft von in Verhaltenstests ermittelten Informationen über das Gedächtnis müssen verschiedene Punkte kritisch betrachtet werden. Wie ähnlich sollte ein kognitiver Test

aufgebaut sein, um die Ergebnisse zwischen den Spezies Ratte und Mensch vergleichen zu können? Ist es wahrscheinlich, dass unterschiedliche psychologische Prozesse vergleichbare Testanordnungen beeinflussen, und letztendlich welche signifikante Auswirkung birgt die fehlende Sprachentwicklung der Spezies Tier? Bei der vergleichenden Betrachtung von kognitiven Prozessen, muss auch an die unterschiedlichen Verhaltensmuster zwischen den Spezies gedacht werden. So besitzt die Ratte eine deutlich schlechtere Sehschärfe, aber einen ausgezeichneten Geruchssinn, der ihr in manchen Versuchsanordnungen einen Vorteil verschaffen könnte und nicht direkt ihre kognitive Leistungsfähigkeit widerspiegelt. Auch die prozessuale Variabilität der Spezies untereinander könnte zu einer Fehlinterpretation führen (STECKLER und MUIR, 1996). Inwieweit sich nun die in einem Verhaltenstest ermittelten Daten auf den Menschen übertragen lassen, ist unklar. Tatsächlich hängt die Reproduzierbarkeit auf den Menschen von den physiologischen und psychologischen Parallelen, die zwischen Mensch und Tier gezogen werden können, ab. Grundlegende Prozesse wie zum Beispiel die synaptische Transmission sind wohl evolutionsbedingt ähnlich, so dass einfache Lernprozesse wie Habituation und Konditionierung durchaus im Tiermodell dargestellt und verglichen werden können (MACPHAIL, 1996). Gründe für speziesbedingte Unterschiede des Lernverhaltens lassen sich vermutlich nicht auf ein unterschiedlich ausgeprägtes kognitives Vermögen zurückführen, sondern sind vielmehr mit der Spezies-abhängigen spezifischen Morphologie, der Physiologie und der Verhaltenscharakteristika zu erklären (D'MELLO und STECKLER, 1996).

Häufig werden in Verhaltenstests Gedächtnisprozesse in Form des deklarativen und des nicht-deklarativen Arbeitsgedächtnisses untersucht. Dabei existieren unterschiedliche Angaben über die zeitliche Speicherkapazität des Arbeitsgedächtnisses. Viele Patientenstudien beziehen sich auf die von BADDELEY (1998) geprägte Definition des Arbeitsgedächtnisses, welches aus unterschiedlichen Subsystemen für die kurzzeitige Speicherung von Informationen im Rahmen von Sekunden bis Minuten zusammengesetzt wird. Von dieser Betrachtung ist jenes von OLTON et al. (1979) beschriebene Arbeitsgedächtnis abzugrenzen, welches Vorgänge während der gesamten Dauer eines Testdurchlaufes speichert, und sich somit über Minuten, in einigen Studien sogar über Stunden erstreckt. Bei diesem Gedächtnissystem handelt es sich wohl eher um ein Langzeitgedächtnis und es unterscheidet sich eindeutig von der Definition BADDELEYS (1998). In den meisten Tierstudien wird auf die Definition des Arbeitsgedächtnisses von OLTON et al. (1979) Bezug genommen, so dass dies beim Vergleich von Studien über menschliche und nicht-menschliche Funktion des Arbeitsgedächtnisses beachtet werden muss (STECKLER und MUIR, 1996). In dieser Arbeit wird das Arbeitsgedächtnis

## **DISKUSSION**

---

anhand der Anzahl der Wiederholer, die ein Tier während eines Durchlaufes macht, beurteilt. Dabei benötigen die Ratten, je nach Schädigungsgrad, einige Sekunden bis maximal zehn Minuten, um einen Durchlauf zu absolvieren.

### 4.2 Diskussion der Ergebnisse

#### 4.2.1 Physiologische Parameter

##### 4.2.1.1 Überlebensrate

Ein Tier der Sham/Luft-, eines der Sham/Xenon-, vier der EKZ/Luft- und drei Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe, also insgesamt neun Tiere, sind während des Versuches infolge von Präparationsfehlern gestorben beziehungsweise wurden euthanasiert und mussten ersetzt werden (siehe 3.4.1). Somit ergibt sich für die anderen 40 Tiere eine Überlebensrate von nahezu 100 %. Dieses Ergebnis stimmt mit den von CARLSEN (2005) erhobenen Daten der Dosis-Findungs-Studie bezüglich der Letalitätsrate nach EKZ mit repetitiv verabreichten zerebralen Luftboli mit einer Größe von 0,3 µl überein.

##### 4.2.1.2 Erhobene Messparameter während der Operation

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wurde in allen vier Gruppen zu jedem Messzeitpunkt über 70 mmHg im Normbereich gehalten. Zum Zeitpunkt prä EKZ liegt er in der Sham/Xenon-Gruppe signifikant unter den Werten der Sham/Luft-Gruppe. Vermutlich sind hierfür die stärkere Narkosetiefe durch das zusätzlich verabreichte Xenon verantwortlich. In den EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) sinken die MAP-Werte während der EKZ-Phase deutlich unter die Werte der Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon), was aber auch in der Klinik zu beobachten ist.

Der Hämoglobingehalt (Hb) der EKZ/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe sinkt während der Durchführung der EKZ. Zu Beginn der EKZ wird das Kreissystem mit Hydroxyethylstärke (HAES) und Blut aufgefüllt, woraufhin die Hb-Konzentration abfällt. Diese Hämodilution während EKZ wird in der Klinik standardmäßig zur Verringerung der Blutviskosität angewendet, um eine verbesserte Mikrozirkulation zu erreichen. 60 Minuten post EKZ sind die Hb-Konzentrationen deshalb auch noch nicht wieder bis auf den Ausgangswert angestiegen. Alle Gruppen besitzen zu jedem Zeitpunkt der Messung Hb-Konzentrationen über 10 mg/dl.

In der Sham/Xenon-Gruppe ist der arterielle Kohlendioxidpartialdruck (PaCO<sub>2</sub>) bei der ersten Messung (prä EKZ) im Vergleich zur Sham/Luft-Gruppe in signifikantem Verhältnis erhöht, weicht aber nicht vom Normwert ab. Wodurch diese Abweichung zu erklären ist, ist schwierig zu beantworten. Bei diesem Wert handelt es sich um den ersten Messwert, der sofort kor-

rigiert wurde. Wichtig ist ein konstanter PaCO<sub>2</sub> vor allem während der EKZ-Phase, da die PaCO<sub>2</sub>-Konzentration die Gefäßdilatation- beziehungsweise –konstriktion im Gehirn beeinflusst (LIEBMANN, 1993). Es wurde während der EKZ-Phase der PaCO<sub>2</sub> alle fünf Minuten überwacht, um in den beiden EKZ-Gruppen ähnliche Werte zu erzielen.

Die beiden EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) fallen während der EKZ-Phase durch einen erhöhten arteriellen Sauerstoffpartialdruck (PaO<sub>2</sub>) auf. Ursächlich ist hierfür wohl eine bessere Oxygenierung durch den Membranoxygenator verantwortlich. Zum Zeitpunkt der letzten Messung (60 Minuten post EKZ) sind in diesen beiden Gruppen die Werte für PaO<sub>2</sub> im Vergleich zu den Sham-Tieren (Sham/Luft und Sham/Xenon) deutlich erniedrigt. Durch die 90-minütige Apnoe während der EKZ bilden sich in der Lunge vermehrt Atelektasen und auch pulmonale Ödeme, die zu einem gestörten Gasaustausch führen und die erniedrigten PaO<sub>2</sub>-Werte zu diesem Zeitpunkt erklären.

Die Basenabweichung (BE), der pH-Wert und Standardbikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) wurden während der gesamten Operation kontrolliert und mit Natriumhydrogenkarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) im physiologischen Bereich gehalten. In den EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) entsteht während der Reperfusion eine Ischämie-bedingte Azidose, die bei drei Tieren der EKZ/Luft-Gruppe mit einer Menge von  $0,4 \pm 0,3$  mmol/l (MW $\pm$ SD) Natriumbikarbonat und bei einem Tier der EKZ/Xenon-Gruppe mit  $0,3 \pm 0,0$  mmol/l (MW $\pm$ SD) ausgeglichen wurde. Die beiden Sham-Gruppen benötigten keine Natriumbikarbonatinfusionen.

### 4.2.1.3 Körpergewicht

Die Erstellung einer Gewichtskurve ist eine einfache Methode, um nähere Auskünfte über das Allgemeinbefinden der Tiere zu erlangen. Das Wachstum wird neben unterschiedlichem Nahrungsangebot auch vom Alter der Tiere beeinflusst. Ebenso kann sich auch das Verhalten der Artgenossen auf das Körpergewicht auswirken, so sind untergeordnete Tiere gewöhnlich kleiner als ihre dominanten Gruppenmitglieder. Weitere Gründe für ein unterschiedliches Körpergewicht können bei einer Mangelernährung, bei Überfütterung, bei Entwicklungsstörungen oder bei jeglicher Art von peripheren oder zentralnervösen Störungen liegen (WISHAW et al., 1997). Alle Tiere dieser Untersuchung sind in etwa im gleichen Alter und weisen am Operativtag (Tag 0) ein ähnliches Ausgangsgewicht auf. Die beiden Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) verlieren rund 12 % ihres Körpergewichtes in den ersten drei Tagen nach der Operation, bevor sie wieder eine stetige Gewichtszunahme von durchschnittlich fünf Gramm pro Tag verzeichnen und am Ende der Untersuchung (Tag 14) ihr Anfangsgewicht sogar über-

schreiten. Die Tiere der EKZ-Gruppen hingegen verzeichnen eine Gewichtsreduktion von durchschnittlich 16 % in der ersten sechs Tagen nach dem Eingriff und nehmen anschließend bis zum postoperativen 14. Tag nur rund 4 Gramm täglich zu, und erreichen so ihr vorheriges Ausgangsgewicht nicht mehr. Eine Operation unter Vollnarkose ist für den Organismus eine Belastung mit Stress und ist mit einem Flüssigkeitsverlust verbunden, außerdem dauert der Eingriff mehrere Stunden, in denen die Tiere vom Fressen und Trinken abgehalten werden. Auch nach der Operation wird den Tieren zwar Futter und Wasser angeboten, jedoch vergehen teilweise bis zu 24 Stunden, bis die Tiere wieder das erstmal Futter und Wasser zu sich nehmen. Aus diesen Gründen kommt es zu einer Gewichtsabnahme nach einem operativen Eingriff. Die Tiere der EKZ-Gruppen scheinen durch die EKZ mehr geschwächt zu sein und benötigen signifikant mehr Zeit, um sich von der Operation zu erholen.

### **4.2.2 Neurologische Untersuchung**

Zur Untersuchung der sensorisch-motorischen Funktion werden postoperativ vom Tag 1 bis 3 und am Tag 12 mehrere neurologische Untersuchungen durchgeführt (siehe 3.2.4).

#### **4.2.2.1 Sensorik**

Bei den sensorischen Untersuchungen werden zum einen aktive Tests (Wattebauschttest, Hörtest, Propriozeption Körper und Vibrissen) zum anderen das Bewusstsein mit Allgemeinbefinden subjektiv bewertet. Gerade beim Bewusstsein kommt es auf die individuelle Beobachtung des Untersuchers an, der feinste Veränderungen erfassen muss. Die Beurteilung der aktiven sensorischen Tests gestaltet sich problematisch, da es schwierig ist zu beurteilen, ob sich das Fehlen einer Antwort auf die Unfähigkeit, einen Stimulus zu detektieren, bezieht, oder ob es dem Tier nicht möglich ist, auf einen detektierten Stimulus zu reagieren (WISHAW et al., 1997). Aufgrund dieser Problematik wurden die sensorischen Fähigkeiten der Tiere mit einem Punktesystem erfasst. Alle Tiere besitzen vor dem operativen Eingriff ein ungestörtes Sensorium. In den Gruppen der Tiere, die einer EKZ unterzogen wurden, fallen signifikante kurzfristige Einschränkungen der sensorischen Fähigkeiten bis zum Tag 3 nach der Operation auf. Diese Defizite korrelieren gut mit den histologischen Ergebnissen, und zudem kann ein negativer Einfluss von Xenon auf die Sensorik festgestellt werden (siehe 3.4.2.1).

### 4.2.2.2 Motorik

Neurologisch-grobmotorische Defizite können in dieser Arbeit sowohl in der EKZ/Luft- als auch in der EKZ/Xenon-Gruppe detektiert werden. Vor allem bei Untersuchungen mit dem Schwerpunkt Gleichgewicht, Koordination und Greif- und Haltevermögen kann eine Beeinträchtigung festgestellt werden (siehe 3.4.2.2). Die Tiere der Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) zeigen in keiner der Untersuchungen ein neurologisch auffälliges Verhalten. Die neurologischen Beeinträchtigungen bezüglich des Gleichgewichtes, der Koordination und des Greif- und Haltevermögens im Greif-Zug-Test bestehen bei den beiden EKZ-Gruppen einheitlich kurzfristig bis zum 2. oder 3. postoperativen Tag, wohingegen das Greif- und Haltevermögen der EKZ/Xenon-Gruppe im Drahtgitter-Test auch noch bis zum 12. Untersuchungstag längerfristig geschwächt ist. Ähnliche Ergebnisse gibt es bei klinischen Patientenstudien, bei denen nach herzchirurgischen Eingriffen oft kurzfristige, aber offensichtliche neurologisch-motorische Probleme beobachtet werden (MACKENSEN und GELB, 2004).

In einer ähnlich wie die vorliegende aufgebauten Studie von MA et al. (2003) schnitt die EKZ/Xenon-Gruppe im Vergleich zur EKZ/Luft-Gruppe bei der postoperativen neurologischen Untersuchung am Tag 1 und am Tag 3 mit einem besseren Ergebnis ab. Auch das neurokognitive Ergebnis im Morris-Water-Maze wurde durch Xenon günstig beeinflusst. Jedoch wurde in dieser Arbeit auf die zusätzliche Injektion von Luft während der EKZ verzichtet, sodass der positive beziehungsweise negative Einfluss von Xenon eventuell von der Menge an Luft, die in die zerebralen Gefäße gelangt, abhängig ist. Dies würde bedeuten, dass bei großen Luftmengen, wie in vorliegender Studie die negative Eigenschaft von Xenon, diese zu vergrößern, die vorhandenen neurologischen Schäden zusätzlich verschlechtern, wohingegen bei kleineren Luftbläschen in den zerebralen Gefäßen die positive neuroprotektive Komponente von Xenon als NMDA-Rezeptor-Antagonist überwiegt (MA et al., 2003).

In der neurologischen Untersuchung fallen beide EKZ-Gruppen (EKZ/Luft und EKZ/Xenon) durch schlechtere kurzfristige Ergebnisse im Vergleich zu den Sham-Tieren auf. Ein negativer oder positiver Effekt von Xenon ist hier nicht zu beobachten. Dieses Ergebnis korreliert mit den von CARLSEN (2005) in der vorangegangenen Dosis-Findungs-Studie ermittelten Daten, bei der eine wiederholte zerebrale Applikation von 0,3 µl großen Luftboli bei fast allen Tieren zu grobmotorischen Defiziten führte, aber Xenon dieses Ergebnis nicht signifikant positiv oder negativ beeinflusste.

Klinisch fällt ein Unterschied vor allem in den Untersuchungen des mHBT auf, die eine eher feinmotorische Komponente beinhalten. So schneidet die EKZ/Xenon-Gruppe bei den Parametern Immobilität, Fresszeit und Anzahl frustraner Lochbesuche am schlechtesten ab. Scheinbar sind diese Störungen in der Motorik nur mit komplexeren Abläufen des mHBT zu dedektieren, und nicht mit der neurologischen Untersuchung, was für eine sensitivere Beurteilung mit dem mHBT sprechen würde. Eventuell treten die schädigenden Auswirkungen von Xenon aber auch erst zu einem späteren Zeitpunkt auf, da die neurologische Untersuchung am Tage 1 bis 3 nach der Operation und der mHBT vom 4. bis zum 9. postoperativen Tage durchgeführt wird.

### **4.2.3 Modifizierter Hole-Board-Test**

#### **4.2.3.1 Kognitive Parameter**

Gedächtnisdefizite können während des modifizierten Hole-Board-Testes (mHBT) mit den Parametern Gesamtfehler, Wiederholer und benötigte Gesamtzeit erfasst werden (siehe 3.4.3.1).

#### Deklaratives Gedächtnis

Die Gesamtfehler ergeben sich aus der Addition der Anzahl der Fehler (Besuch eines nicht markierten Loches) und der Anzahl der Unlassungsfehler (fehlender Besuch eines markierten Loches), welche beide die Funktionalität des deklarativen Gedächtnisses beschreiben (OHL et al., 1998). Das deklarative Gedächtnis ist Hippokampus-abhängig und verantwortlich für die bewusste Erinnerung an Fakten und Ereignisse (SQUIRE, 1998). In diesem Verhaltenstest müssen sich die Tiere bewusst an den markierten Deckeln orientieren, um eine Futterbelohnung zu bekommen und lernen, dass nicht markierte Löcher nicht zu einer erfolgreichen Belohnung führen. Um einen automatisierten und damit nicht mit kognitiven Lernprozessen zusammenhängenden Ablauf zu verhindern, wird die Position der markierten Löcher täglich, anhand einer randomisierten Lochkombinationsliste, gewechselt. Zu bedenken ist aber, dass die Anzahl der Gesamtfehler davon abhängt, ob ein Tier überhaupt das Board betritt und Löcher besucht, oder ob es durch andere Faktoren, wie Angst oder einer eingeschränkten Motorik das Board nicht betreten und somit auch keine Fehler begehen kann, was nicht mit einem ungestörten deklarativen Gedächtnis interpretiert werden darf.

## **DISKUSSION**

---

Bei der vergleichenden Betrachtung der beiden Sham-Gruppen fällt auf, dass die Sham/Xenon-Gruppe im Gegensatz zur Sham/Luft-Gruppe an den ersten beiden Untersuchungstagen (Tag 4 und 5) weniger Gesamtfehler im mHBT aufweist. Das Protokoll dieser beiden Gruppen unterscheidet sich hinsichtlich der Behandlung mit Xenon, womit sich das unterschiedliche Ergebnis an den ersten beiden Tagen eventuell auch erklären lässt. Die Tiere der Sham/Xenon-Gruppe erhalten während der Operation zusätzlich zur intravenösen Basisnarkose eine Xenonanästhesie, womit sie womöglich tiefer anästhesiert sind als die Sham/Luft-Gruppe und somit nach der Narkose weniger ängstlich und besser im mHBT bei der Anzahl der Gesamtfehler abschneiden. Im Vergleich zur EKZ/Luft-Gruppe hat die EKZ/Xenon-Gruppe während der Lernphase ein kurzfristig beeinträchtigtes deklaratives Gedächtnis, was vermutlich auf den negativen Effekt von Xenon, Luftbläschen zu vergrößern (REINELT et al., 2001), zurückzuführen ist. Interessanterweise sind bei einer längerfristigen Betrachtung der Leistung des deklarativen Gedächtnisses am Tag 14 nach dem Eingriff keine Unterschiede in den vier Gruppen untereinander mehr festzustellen.

### Arbeitsgedächtnis

Durch die Anzahl der Wiederholer (wiederholter Besuch eines markierten, bereits erfolgreich besuchten Loches) wird das Arbeitsgedächtnis näher beschrieben. Während eines Durchlaufes muss sich die Ratte über einen kurzen Zeitraum hinweg merken, welches markierte Loch von ihr bereits erfolgreich aufgesucht wurde. Diese kurzzeitige Speicherung von Information wird dem Arbeitsgedächtnis zugeschrieben und ist im präfrontalen Kortex lokalisiert (BADDELEY, 1998). Defizite dieses Speichers spiegeln sich anhand einer erhöhten Anzahl von Wiederholern wieder (OHL et al., 1998). Alle vier Gruppen weisen eine ähnliche Anzahl von Wiederholern auf, wobei diejenigen Tiere, die keines der markierten Löcher besuchen (Unterlassungsfehler), von der Auswertung ausgeschlossen werden, da sie definitionsgemäß keine Wiederholer machen können.

### Kognitive Leistungsfähigkeit

Die für einen Durchlauf benötigte Gesamtzeit ist auf maximal 600 Sekunden beschränkt, beziehungsweise beendet, wenn ein Tier alle drei Futterbelohnungen gefressen hat. Sie ist Ausdruck der allgemeinen kognitiven Leistungsfähigkeit. Die Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe benötigen im Vergleich zu den anderen drei Gruppen die gesamte Untersuchung hindurch (Tag 4 bis 9 und Tag 14) signifikant länger, um den Test zu bewältigen.

Zusammenfassend kann in der vorliegenden Untersuchung ein kurzfristiger negativer Einfluss von Xenon auf das deklarative Gedächtnis, zu keinem Zeitpunkt eine Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses, aber eine deutliche langfristige negative Auswirkung der Behandlung mit Xenon während EKZ auf die allgemeine kognitive Leistungsfähigkeit festgestellt werden. Dabei ist jedoch zu beachten, dass der Parameter „Gesamtzeit“ für die kognitive Leistung von anderen nicht-kognitiven Faktoren beeinflusst wird, und somit vielleicht ein falsches Ergebnis widerspiegelt. Bei diesen Faktoren handelt es sich um Verhaltensparameter wie Immobilität und allgemeine motorische Parameter, von denen die Dauer der Gesamtzeit ganz entscheidend abhängen, die aber keine kognitive Beurteilung zulassen. Die Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe weisen sowohl in der neurologischen Untersuchung im Balken-Geh-Test, im Greif-Zug-Test und im Drahtgitter-Test, als auch bei den die Motorik betreffenden Parametern im mHBT Defizite auf, mit welcher die verlängerte Gesamtzeit interpretiert werden kann, ohne dass eine kognitive Beeinträchtigung vorliegen muss. Betrachtet man jedoch gleichzeitig die histologischen Untersuchungsergebnisse (siehe 3.4.4), ist wohl anzunehmen, dass die EKZ/Xenon-Gruppe nicht nur motorisch sondern auch kognitiv eingeschränkt ist.

Im Vorversuch von CARLSEN (2005) konnte kein Einfluss von Xenon auf die kognitive Leistung festgestellt werden. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass aufgrund einer anderen Zielsetzung (Dosis-Wirkungsbeziehung) die Bewertung der kognitiven Funktion nur am letzten Untersuchungstag (7. postoperativer Tag) vorgenommen wurde, und dass in diesem Vorversuch zu Gunsten der benötigten Tieranzahl beim statistischen Verfahren eine Regressions-Analyse ohne Gruppenbildung gewählt wurde.

### **4.2.3.2 Verhaltensparameter**

Verschiedene Verhaltensdimensionen können mit im mHBT erhobenen Parametern näher beschrieben werden (siehe 3.4.3.2)

#### Angstverhalten

Unabhängig von der Testanordnung gibt es spezifische Verhaltensweisen von Ratten, Angst auszudrücken. Ratten meiden ungeschützte Bereiche einer neuen Umgebung (BELZUNG und LE PAPE, 1994). Die neue Umgebung der Versuchsarena wird von der Ratte gewöhnlich zuerst an der Wand entlang exploriert (Thigmotaxis) und das Tier wird das offene ungeschützte Feld in der Mitte der Arena, in welcher das Board liegt, zunächst meiden. Die Anzahl der Boardbesuche und auch die Latenz des ersten Boardbesuches sind daher Parameter, die es

ermöglichen das Angstverhalten von Ratten zu beurteilen. Bei der Konfrontation mit einer neuen Umgebung befinden sich die Ratten in dem Konflikt, die neue Situation zu erkunden, oder aber einer potentiellen Gefahr aus dem Wege zu gehen. Dieses Erkundungsverhalten kann durch Angstzustände inhibiert werden und zählt daher zu einer indirekten Beurteilungsmethode von Angstverhalten (CRAWLEY und GOOGWIN, 1980). Im mHBT wird daher die gesamt auf dem Board verbrachte Zeit, die das Tier mit dem Explorieren des Boards beschäftigt ist, als Parameter für die Angstbeurteilung genutzt. Die Untersuchung des Angstverhaltens ist deshalb so wichtig, da Angst die kognitive Funktion ungünstig beeinflusst, und somit eventuell kognitive Defizite vorgetäuscht werden könnten (BEUZEN und BELZUNG, 1995).

Nachdem die motorischen Ergebnisse vorlagen, wurde auf eine statistische Berechnung der Angstparameter verzichtet, da diese stark von der Motorik abhängig sind. Daher sind vermutlich auch die Parameter Anzahl der Boardbesuche und Latenz erster Boardbesuch bei der EKZ/Xenon-Gruppe erhöht, da die Tiere durch ihre stärkere Beeinträchtigung länger Zeit benötigen um auf das Board zu gelangen und auch mehrere Boardbesuche notwendig sind, um an die Futterbelohnung zu gelangen. Die Werte für die auf dem Board verbrachte Zeit unterscheiden sich von den übrigen Gruppen nicht, das bedeutet, dass alle Tiere in etwa gleich viel Zeit der Exploration des Boardes und der Futtersuche widmen.

### Angst/Lokomotion/Allgemeinbefinden

Wie schon mehrfach angesprochen, wird der Parameter Immobilität von mehreren anderen Faktoren beeinflusst, und spiegelt somit auch mehrere Verhaltensmuster wieder. Eine Inaktivität ist entweder auf einen Angstzustand, eine motorische Einschränkung, fehlende Motivation, oder auf ein stark gestörtes Allgemeinbefinden zurückzuführen (WISHAW et al., 1997). Die EKZ/Xenon-Gruppe zeigt längere Phasen einer Immobilität verglichen mit den drei anderen Gruppen. Allerdings weist keines der Tiere eine inaktive Phase über 30 % auf, was aufgrund einer zu starken Beeinträchtigung zum Ausschluss des jeweiligen Tieres geführt hätte. Diese längeren Immobilitätsphasen sind vermutlich ebenfalls auf die motorischen Defizite oder auch auf ein stärker beeinträchtigtes Allgemeinbefinden zurückzuführen.

### Erkundungsverhalten

Wie schon erwähnt wird das Erkundungsverhalten sehr stark vom Angstverhalten beeinflusst. Vermehrt ängstliche Tiere werden ihr Umfeld weniger explorieren, als eher mutigere Tiere. Der mHBT eignet sich sehr gut, um das Erkundungsverhalten von Ratten zu untersuchen. Von

einer gerichteten Exploration spricht man im mHBT, wenn das Tier zielgerichtet eines der 15 auf dem Board befindlichen Löcher besucht, so dass die Anzahl der besuchten Löcher als Indikator für direktes Erkundungsverhalten spricht. Gleichzeitig wird auch die Latenz des ersten Lochbesuches mit direkter Exploration gleichgesetzt. Ungerichtetes oder generelles exploratives Verhalten zeigt die Ratte, wenn sie ihre gesamte Umgebung, also nicht zielgerichtet, erkundet, indem sie sich auf die Hinterbeine erhebt und Männchen macht (OHL et al., 2002).

Die Tiere der Sham/Luft-, Sham/Xenon- und EKZ/Luft zeigen ein ähnliches gerichtetes und ungerichtetes exploratives Verhalten im mHBT. Lediglich die Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe benötigen mehr Zeit, um das erste Loch zu besuchen, was aber wahrscheinlich wiederum auf eine eingeschränkte Mobilität zurückzuführen ist, da sie bei den beiden anderen die Exploration betreffenden Parametern, wie die anderen Gruppen oder im Bezug auf die Anzahl der Männchen sogar mit einem gesteigerten Erkundungsverhalten abschneiden.

### Sozialverhalten

Die soziale Affinität wird im mHBT über die Dauer der Gruppenkontakte beschrieben. Auch das Sozialverhalten steht unter dem Einfluss von anderen Parametern, wobei vor allem Angstzustände zu einer gesteigerten sozialen Affinität führen, indem die Tiere natürlicherweise versuchen, Schutz bei den Gruppenmitgliedern zu suchen (FILE und HYDE, 1978). Normalerweise nehmen die Gruppenkontakte im Laufe der Lernphase durch eine vermehrte Habituation an die Testsituation ab. Dieses Verhalten ist auch bei den Sham-Gruppen (Sham/Luft und Sham/Xenon) und der EKZ/Luft-Gruppe zu beobachten. Die EKZ/Xenon-Gruppe hingegen zeigt kurzfristig eine verlängerte Dauer der Gruppenkontakte im Vergleich zu den anderen Gruppen, die sich jedoch am Tag 14 nicht mehr unterscheiden. Eventuell ist diese gesteigerte Affinität zu den Gruppenmitgliedern, auf ein stärker eingeschränktes Allgemeinbefinden der mit Xenon behandelten Tiere zurückzuführen (siehe Angst/Lokomotion/Allgemeinbefinden).

### **4.2.3.3 Motorische Parameter**

Neben Kognition und Verhalten können im mHBT auch motorische Fähigkeiten untersucht werden (siehe 3.4.3.3).

### Feinmotorik

Die Zeit, die ein Tier zum Fressen einer Futterbelohnung benötigt, gibt Auskunft über die allgemeine motorische Leistung. Beim Fressvorgang sind koordinative Vorgänge wie Festhalten der Futterbelohnung, das Führen dieser zum Maul, Loslassen und Ergreifen des Futterstückes mit Maul und letztendlich beidseitige Kaubewegungen nötig. Bei einer Störung dieser nacheinander ablaufenden Vorgängen äußert sich dies in einer verlängerten Fresszeit.

Die Tiere der EKZ/Xenon-Gruppe benötigen signifikant länger zum Fressen einer Futterbelohnung als die drei anderen Gruppen.

Der Parameter Anzahl frustrierter Lochbesuche ist wohl der sensitivste motorische Parameter des mHBT. Ähnlich der Fresszeit beschreibt er einen komplexen koordinativen und auch relativ Kraft-aufwändigen Ablauf, bei dem die Tiere zunächst den Deckel zur Seite schieben, ihn gegen die Zugkraft der Stellfeder mit einer Extremität offenhalten und gleichzeitig mit der anderen Extremität beziehungsweise mit dem Maul die Futterbelohnung aus der Mulde entnehmen müssen. Gelingt dies nicht, spricht man von einem frustrierten Lochbesuch.

Die EKZ/Xenon-Gruppe zeigt signifikant mehr frustrierte Lochbesuche als die drei übrigen Gruppen. Dieses Problem der motorischen Geschicklichkeit bleibt bis zum 14. postoperativen Tag bestehen.

Im Vergleich zur neurologischen Untersuchung scheint der mHBT motorische Störungen sensitiver zu erfassen. Während in der neurologischen Untersuchung die Defizite nur kurzfristig (1. bis 3. postoperativer Tag) festzustellen sind und am Tag 12 bis auf einen Parameter keine Defizite mehr nachzuweisen sind, können mit dem mHBT diese sogar bis zum Tag 14 nach der Operation noch detektiert werden. So werden mit der neurologischen Untersuchung eher grobmotorische Einschränkungen und mit dem mHBT eher die feinmotorischen Defizite erfasst.

#### **4.2.4 Histologische Untersuchung**

Bei der in dieser Studie angewandten Technik der intraarteriellen Luftinjektion über die rechte A. carotis interna werden vor allem Schäden im lateralen und auch medialen Kortexbereich der linken Hemisphäre erwartet (FURLOW, 1982). Zu diesen Bereichen zählen die motorischen, sensorischen und auch assoziativen Rindengebiete. In einer anderen Studie mit kardio-pulmonalem Bypass bei der Ratte wurden vor allem Schäden in der CA1-, CA2- und CA3-

Region des Hippokampus und im Gyrus dentatus nachgewiesen (MA et al., 2003). Neben diesen Regionen reagieren auch Neokortex, Striatum, Amygdala, Thalamus und Zerebellum besonders empfindlich gegenüber einem Sauerstoff- und Substratmangel (BOTTIGER et al., 1998). Die Tiere der Sham-Gruppen wiesen keinerlei histologisch sichtbare neuronale Schädigungen auf, so dass der Schaden auf die Auswirkungen der EKZ mit den assoziierten Luftemboli zurückzuführen ist und nicht im Zusammenhang mit der Präparation entstanden ist. Wie erwartet, konnte bei allen Tieren der EKZ-Gruppen meistens ein auf die rechte Gehirnhälfte beschränkter Zelluntergang festgestellt werden, die linken Gehirnhälften waren größtenteils unverändert. Bei den Tieren der EKZ/Luft-Gruppe waren vor allem die Bereiche des senso-motorischen Kortex betroffen, wie auch bei der EKZ/Xenon-Gruppe, wobei diese Gruppe insgesamt signifikant größere Infarktvolumina aufwies, die sich teilweise bis auf das Striatum und auf hippocampale Strukturen ausdehnten. Neben diesen großen Randinfarkten wurden bei beiden Gruppen auch zahlreiche Mikroinfarkte dedektiert. Auch die maximale Infarktfläche pro Gehirnschnitt war bei den Tieren der EKZ/Xenon-Gruppe im Vergleich zur EKZ/Luft-Gruppe deutlich vergrößert. Dieses histologische Ergebnis korreliert mit den senso-motorischen Defiziten der beiden EKZ-Gruppen, als auch mit der Beeinträchtigung der kognitiven Funktion der EKZ/Xenon-Gruppe. Denn die kognitive Leistung hängt von der synaptischen Integrität des Hippokampus ab (MORRIS et al., 1982; JARRARD, 1995). Keine Infarkte wurden im präfrontalen Kortextbereich gefunden, was auch mit einer ungestörten Funktion des Arbeitsgedächtnisses im mHBT korreliert.

Anhand der histologischen Ergebnisse würde man jedoch in der EKZ/Xenon-Gruppe eine deutlichere Beeinträchtigung der kognitiven Funktion erwarten. Nach fokaler zerebraler Ischämie ist mit einem vermehrten Untergang von Nervenzellen durch Nekrose oder aber auch mit apoptotischen Vorgängen zu rechnen. Neuronale Nekrose tritt dabei vermutlich schneller auf, wohingegen die Zellen durch Apoptose über einen längeren Zeitraum zugrunde gehen (KIRINO et al., 1984; CHOI, 1996). Dies würde bedeuten, dass zum Zeitpunkt der histologischen Untersuchung (Tag 14), eventuell noch nicht alle Vorgänge des Zellunterganges abgeschlossen sind, womit zu einem späteren Zeitpunkt sowohl die histologischen als auch die kognitiven Ergebnisse vielleicht noch stärker beeinträchtigt sein könnten. Gleichzeitig muss aber auch erwähnt werden, dass im Randbereich einer ischämischen Zone (Penumbra), Zellen durch Reparaturmechanismen in ihrem apoptotischen Verlauf gehemmt werden können, und damit nicht absterben. So könnten zu einem späteren Zeitpunkt die neurokognitiven Untersuchungen nicht unbedingt schlechter, sondern sogar eventuell besser ausfallen.

Insgesamt betrachtet, äußern sich die hochgradigen histologischen Schäden in dieser Studie vor allem in kurzfristigen sensorischen und grobmotorischen und in längerfristigen feinmotorischen Defiziten (siehe 4.2.2 und 4.2.3.3), wohingegen die kognitive Leistung nicht in diesem Ausmaß beeinträchtigt wurde.

### **4.2.5 Abschließende Betrachtung und Ausblick**

Mit dieser Studie (Vor- und Hauptversuch) gelang erstmals eine In-Vivo-Untersuchung über die Auswirkung von Xenon auf die zentralnervöse Leistung nach EKZ mit Beteiligung von Luftemboli bei der Ratte. Mit anschließenden sensorisch-motorischen Tests wurde der neurologische Status und mit dem modifizierten Hole-Board-Test die kognitive Leistungsfähigkeit bestimmt. Bei der Auswertung wurden neurologische Defizite der EKZ-Gruppen dedektiert und eine Xenon-bedingte kognitive Beeinträchtigung, die sich nicht auf Verhaltensänderungen zurückführen lässt. Die Ergebnisse der abschließenden histologischen Untersuchung der Gehirne (siehe 3.4.4) korrelieren mit den klinisch erhobenen Daten. Dies ist eine Studie, um den viel diskutierten Sicherheitsaspekt von Xenon während EKZ mit zerebralen Luftemboli zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigen, dass man mit dem Einsatz von Xenon während Phasen, in denen zerebrale Luftemboli auftreten können, vorsichtig sein soll. Allerdings untersuchte diese Studie nicht die alleinige Anwendung von Xenon zur Prä- und Postkonditionierung während operativer herzchirurgischer Phasen, in denen wahrscheinlich keine Luftemboli auftreten.

### 5 ZUSAMMENFASSUNG

#### **„Einfluss von Xenon auf zentralnervöse Leistungen nach extrakorporaler Zirkulation mit zerebralen Luftembolien bei der Ratte“**

Zentralnervöse Defizite nach herzchirurgischen Operationen mit extrakorporaler Zirkulation (EKZ) sind häufig und mindern die Lebensqualität der Patienten. Neben möglichen neuroprotektiven Eigenschaften spricht auch die mit Xenon verbundene hämodynamische Stabilität für dessen Einsatz bei herzchirurgischen Patienten. Ein möglicher Nachteil von Xenon besteht in der Eigenschaft Luftbläschen zu vergrößern, die während EKZ als zerebrale Luftemboli nachweisbar sind. Diese Studie wurde geplant, um den Sicherheitsaspekt einer Xenonapplikation während EKZ mit zerebralen Luftemboli in einem Rattenmodell zu untersuchen.

40 männliche Sprague-Dawley Ratten (330 bis 390 g KGW) wurden mit Isofluran anästhesiert, intubiert und mit 2,0 bis 2,5 Vol% Isofluran in 50 % O<sub>2</sub> beatmet. Zur arteriellen Blutdruckmessung, Blutentnahme, Medikamentenapplikation und Anschluss an die EKZ erfolgte die Kanülierung der rechten A. und V. epigastrica superficialis, der V. jugularis externa sowie der A. sacralis mediana. Für die Injektion der Luftboli wurde ein Katheter in die A. carotis interna vorgeschoben. Nach Beendigung der chirurgischen Präparation anästhesierte man die Tiere mit einer intravenösen Basisnarkose bestehend aus Midazolam, Fentanyl und Atracurium, die man bis zum Ende der Operation beibehielt. Die Tiere wurden randomisiert einer von vier Gruppen zugeteilt. Während man die EKZ-Gruppen für 90 Minuten einer EKZ unterzog und in dieser Phase repetitiv zehn Luftemboli zu je 0,3 µl applizierte, präparierte man die Sham-Gruppen identisch mit dem selben Narkoseprotokoll, aber ohne diese an die EKZ anzuschließen, noch Luftemboli zu verabreichen. Die Gruppen wurden weiter unterteilt in je eine Xenon- und eine Luft-Gruppe. Die Xenon-Gruppen erhielt 20 Minuten vor, während und 30 Minuten nach EKZ, beziehungsweise zu analogen Zeitpunkten in der Sham-Gruppe 56 % Xenon. Die Beatmung der Luft-Gruppen erfolgte anstelle von Xenon mit Luft. Nach Beendigung der EKZ blieben die Tiere weitere 60 Minuten in Narkose. Anschließend erwachten sie in einer mit Sauerstoff angereicherten Box und ab dem ersten postoperativen Tag führte man eine neurologische Untersuchung durch. Die Testung der kognitiven Leistungsfähigkeit sowie des Verhaltens bestimmte man bis zum 14. postoperativen Tag mit dem modifizierten Hole-Board-Test. Anschließend wurden die Tiere in tiefer Isoflurannarkose entblutet, mit Formalin fixiert und die Gehirne zur histologischen Auswertung entnommen. In HE-gefärbten Schnitten erfolgte die Bestimmung des Infarkt volumens und der maximalen Infarktfläche für jedes Tier.

## ZUSAMMENFASSUNG

---

In dieser Studie gelang es erstmalig den Einfluss von Xenon während EKZ in Verbindung mit zerebralen Luftemboli in vivo zu untersuchen. Hierbei traten sowohl senso-motorische als auch kognitive Defizite bis zum 14. postoperativen Tag auf, die mit den histopathologischen Ergebnissen korrelierten. Das deutlich schlechtere Abschneiden der Tiere, die während der EKZ mit Xenon behandelt wurden, ist für die Sicherheitsdiskussion der Xenonapplikation während EKZ von hoher Relevanz. Es bleibt aber zu untersuchen, ob Xenon zu einem verbesserten neurologischen und neurokognitiven Ergebnis führt, wenn es bei herzchirurgischen Eingriffen eingesetzt wird, in denen das Auftreten von zerebralen Luftemboli unwahrscheinlich ist.

### 6 SUMMARY

#### **“Effects of Xenon on cerebral outcome following cardiopulmonary bypass with cerebral air embolism in the rat”**

Neurocognitive deficits following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass (CPB) are common and alleviate quality of life in these patients. Aside from possible neuroprotective properties, its hemodynamic stability propagate the use of xenon for cardiac surgery. A possible disadvantage of xenon is the fact that air bubbles, which can be detected during CPB are enlarged. This study was designed to evaluate the safety aspect of xenon application during CPB with cerebral air emboli in a rat model.

40 male Sprague-Dawley rats (BW: 330 – 390 g) were anesthetized with isoflurane, intubated and ventilated with 2.0 – 2.5 Vol % isoflurane in 50 % oxygen. The right superficial epigastric artery and vein, the external jugular vein, and the sacral artery were cannulated for invasive arterial blood pressure monitoring, blood sampling, application of drugs and connection to CPB. A catheter was inserted into the internal carotid artery to inject the air emboli. After the surgical preparation, anesthesia was switched to intravenous midazolam, fentanyl and atracurium. The rats were randomly allocated to one of four groups: The 2 CPB groups were connected to CPB for 90 minutes and received 10 air emboli of 0.3 µl each during this period. The sham groups were operated in an identical fashion but received neither CPB nor the air emboli. The groups were further subdivided into a xenon and an air group. The xenon groups received 54 to 58 Vol % xenon 20 minutes before, during, and 30 minutes after CPB or the equivalent time in the sham group. The 2 air subgroups were ventilated with air instead of xenon. Following these interventions, all rats emerged from anesthesia in an oxygen enriched chamber and were neurologically tested from the first post-operative day on. Cognitive performance as well as behaviour were tested up to the 14<sup>th</sup> post-operative day using the modified hole-board test. Afterwards the animals were killed by exsanguination in deep isoflurane anesthesia, perfused with formaline and the brains removed for histological evaluation. The infarction volume was determined in brain slices stained with H&E.

This study was first evaluating the effect of xenon during CPB in combination with cerebral air emboli. In this setting, sensomotoric as well as cognitive deficits occurred up to the 14<sup>th</sup> post-operative day, which correlated with the histopathological results. The significant worse outcome of animals that received xenon during CPB is of profound relevance in the discussion about safety of xenon during CPB. It remains to be investigated if xenon results in an

## SUMMARY

---

improved neurological result, if it is used in cardiac surgery procedures, with a low probability of air embolism.

### 7 LITERATURVERZEICHNIS

ALBERTS M, GRAFFAGNINO C, MCCLENNY C, DELONG D, STRITTMATTER W, SAUNDERS A, ROSES A

ApoE genotype and survival from intracerebral haemorrhage  
Lancet 1995; 346:575

AOKI M, NOMURA F, STROMSKI ME, TSUJI MK, FACKLER JC, HICKEY PR, HOLTZMAN D, JONAS RA

Effects of MK-801 and NBQX on acute recovery of piglet cerebral metabolism after hypothermic circulatory arrest  
J Cereb Blood Flow Metab 1994; 14:156-65

ARENS J.F.

Extracorporeal circulation: practical considerations in the use of the heart pump  
ASA Anesth 1976; 4:13-24

ARROWSMITH J, GROCOTT H, NEWMAN M

Neurologic risk assessment, monitoring and outcome in cardiac surgery  
J Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 13:736-43

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

Neuroprotection of the brain during cardiopulmonary bypass: a randomized trial of remacemide during coronary artery bypass in 171 patients  
Stroke 1998; 29:2357-62

ASIMAKOPOULOS G, TAYLOR K

Effects of cardiopulmonary bypass on leucocyte and endothelial adhesion molecules  
Ann Thorac Surg 1998; 66:2135-44

ATKINSON RC, SHIFFRIN RM

The control of short-term memory  
Sci Am 1971; 225:82-90

Abbildung: Online im Internet (Abfrage 01.09.2004)

URL: <<http://arbeitsblaetter.stangl-taller.at/Gedaechtnis/ModelleSpeicher.shtml>>

BADDELEY A

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

BADDELEY A

Working memory and language: an overview  
J Commun Dis 2003; 36:189-208

BAKER AJ, NASER B, BENAROIA M, MAZER CD

Cerebral microemboli during coronary artery bypass using different cardioplegia techniques  
Ann Thorac Surg 1995; 1995:1187-91

BALLAUX P, GOURLAY T, RATNATUNGA CP, TAYLOR KM

## LITERATURVERZEICHNIS

---

A literature review of cardiopulmonary bypass models for rats  
Perfusion 1999; 14:411-17

BARBUT D, LO Y, HARTMAN G, YAO F, TRIFILETTI R, HAGER D, HINTON R,  
GOLD J, ISOM O  
Aortic atheroma is related to outcome but not numbers of emboli during coronary bypass  
Ann Thorac Surg 1997; 64:454-9

BEHNKE AR, YARBOROUGH OD  
Physiologic studies of helium  
U. S. nav. med. Bull 1938; 36:542-548

BELZUNG C, LE PAPE G  
Comparison of different behavioral test situations used in psychopharmacology for  
measurement of anxiety  
Physiol Behav 1994; 56:623-8

BEUZEN A, BELZUNG C  
Link between emotional memory and anxiety states: a study by principal component analysis  
Physiol Behav 1995; 58:111-8

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

BOKESCH PM, MARCHAND J, SEIRAFI PA, DEISS JM, WARNER KG, BRONSON RT,  
KREAM RM  
Immediate-early gene expression in ovine brain after cardiopulmonary bypass and  
hypothermic circulatory arrest  
Anesthesiology 1996; 85:1439-46

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

BORGER MA, PENISTON CM, WEISEL RD, VASILIOU M, GREEN RE, FEINDEL CM  
Neuropsychologic impairment after coronary bypass surgery: effect of gaseous microemboli  
during perfusionist interventions  
J Thorac Cardiovasc Surg 2001; 121:743-9

BOTTIGER BW, SCHMITZ B, WIESSNER C, VOGEL P, HOSSMANN KA  
Neuronal stress response and neuronal cell damage after cardiocirculatory arrest in rats  
J Cereb Blood Flow Metab 1998; 18:1077-87

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

## LITERATURVERZEICHNIS

---

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

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

BUTTERWORTH J, LEGAULT C, STUMP DA, COKER L, HAMMON JW, JR., TROOST BT, ROYSTER RL, PROUGH DS  
A randomized, blinded trial of the antioxidant pergotein: no reduction in neuropsychological deficits, inotropic drug support, or myocardial ischemia after coronary artery bypass surgery  
J Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 13:690-4

CARLSEN JM  
Etablierung eines neuen Modells an der Ratte mit extrakorporaler Zirkulation und zerebralen Luftembolien, wobei der Einfluss von Xenon auf neuropsychologische Leistungsfähigkeit und Mortalität untersucht werden soll  
Vet med Diss, (2005)

CHOI D  
Ischemia-induced neuronal apoptosis  
Curr Opin Neurobiol 1996; 6:667-72

COMBS DJ, D'ALECY LG  
Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-Butendiol  
Stroke 1987; 18:503-511

CRAWLEY LN, GOODWIN FK  
Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines  
Pharmacol Biochem Behav 1980; 13:167-170

CROUGHWELL N, LYTH M, QUILL TJ, NEWMAN M, GREELEY WJ, SMITH LR, REVES JG  
Diabetic patients have abnormal cerebral autoregulation during cardiopulmonary bypass  
Circulation 1990; 82:407-12

CULLEN SC, EGER EI, 2ND, CULLEN BF, GREGORY P  
Observations on the anesthetic effect of the combination of xenon and halothane  
Anesthesiology 1969; 31:305-9

CULLEN SC, GROSS EG  
The anesthetic properties of xenon in animals and human beings, with additional observations on krypton  
Science 1951; 113:580-2

DENNIS C, SPRENG DJ, NELSON G

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Development of a pump-oxygenator to replace the heart and lungs; an apparatus applicable to human patients and application to one case  
Ann Thorac Surg 1951; 134:709-21

DIETRICH W, ALONSO O, BUSTO R  
Moderate hyperglycemia worsens acute blood brain barrier injury after forebrain ischemia in rats  
Stroke 1993; 24:111-5

DINGLEY J, KING R, HUGHES L, TERBLANCHE C, MAHON S, HEPP M, YOUHANA A, WATKINS A  
Exploration of xenon as a potential cardiostable sedative: a comparison with propofol after cardiac surgery  
Anaesthesia 2001; 56:829-35

D'MELLO GD, STECKLER T  
Animal models in cognitive behavioural pharmacology: an overview  
Brain Res Cogn Brain Res 1996; 3:345-52

DUTKA AJ  
A review of the pathophysiology and potential application of experimental therapies for cerebral ischemia to the treatment of cerebral arterial gas embolism  
Undersea Biomed Res 1985; 12:403-21

DYER CB, ASHTON CM, TEASDALE TA  
Postoperative delirium. A review of 80 primary data-collection studies  
Arch Intern Med 1995; 155:461-5

FEENEY DM, GONZALEZ A, LAW WA  
Amphetamine, haloperidol, and experience interact to affect rate of recovery after motor cortex injury  
Science 1982; 217:855-7

FEERICK A, JOHNSTON W, JENKINS L, LIN C, MACKAY J, PROUGH D  
Hyperglycemia during hypothermic canine cardiopulmonary bypass increases cerebral lactate  
Anesthesiology 1995; 82:512-20

FILE SE, HYDE JR  
Can social interaction be used to measure anxiety?  
Br J Pharmacol 1978; 62:19-24

FILE SE, WARDILL AG  
The reliability of the hole-board apparatus  
Psychopharmacologia 1975a; 44:47-51

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

## LITERATURVERZEICHNIS

---

FITCH JC, ROLLINS S, MATIS L, ALFORD B, ARANKI S, COLLARD CD, DEWAR M, ELEFTERIADES J, HINES R, KOPF G, KRAKER P, LI L, O'HARA R, RINDER C, RINDER H, SHAW R, SMITH B, STAHL G, SHERNAN SK

Pharmacology and biological efficacy of a recombinant, humanized, single-chain antibody C5 complement inhibitor in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass

Circulation 1999; 100:2499-506

FOLKERTH TL, ANGELL WW, FOSBURG RG, OURY JH

Effect of deep hypothermia, limited cardiopulmonary bypass, and total arrest on growing puppies

Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab 1975; 10:411-21

FRANKS JJ, HORN JL, JANICKI PK, SINGH G

Halothane, isoflurane, xenon, and nitrous oxide inhibit calcium ATPase pump activity in rat brain synaptic plasma membranes

Anesthesiology 1995; 82:108-17

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

How does xenon produce anaesthesia?

Nature 1998; 396:324

FRIETSCH T, BOGDANSKI R, BLOBNER M, WERNER C, KUSCHINSKY W, WASCHKE KF

Effects of xenon on cerebral blood flow and cerebral glucose utilization in rats

Anesthesiology 2001; 94:290-7

FURLOW TW, JR.

Experimental air embolism of the brain: an analysis of the technique in the rat

Stroke 1982; 13:847-52

GARCIA C, JULIER K, BESTMANN L, ZOLLINGER A, VON SEGESSER LK, PASCH T, SPAHN DR, ZAUGG M

Preconditioning with sevoflurane decreases PECAM-1 expression and improves one-year cardiovascular outcome in coronary artery bypass graft surgery

Br J Anaesth 2005; 94:159-65

GARCIA JH, LIU K, YOSHIDA Y, LIAN J, CHEN S

Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct (Wistar rat)

Am J Pathol 1994; 144:188-99

GIBBON JHJ

Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of the pulmonary artery

Archives of Surgery 1937; 34:1105-31

GILMAN S

Cerebral disorders after open heart operations

N Engl J Med 1965; 272:489-98

GLASS PS, DOHERTY M, JACOBS JR, GOODMAN D, SMITH LR

Plasma concentration of fentanyl, with 70% nitrous oxide, to prevent movement at skin incision

Anesthesiology 1993; 78:842-7

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

J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 110:1302-14

GOTO T, SAITO H, SHINKAI M, NAKATA Y, ICHINOSE F, MORITA S

Xenon provides faster emergence from anesthesia than does nitrous oxide-sevoflurane or nitrous oxide-isoflurane

Anesthesiology 1997; 86:1273-8

GOTO T, SUWA K, UEZONO S, ICHINOSE F, UCHIYAMA M, MORITA S

The blood-gas partition coefficient of xenon may be lower than generally accepted

Br J Anaesth 1998; 80:255-6

GRIGORE AM, GROCOTT HP, MATHEW JP, PHILLIPS-BUTE B, STANLEY TO, BUTLER A, LANDOLFO KP, REVES JG, BLUMENTHAL JA, NEWMAN MF

The rewarming rate and increased peak temperature alter neurocognitive outcome after cardiac surgery

Anesth Analg 2002; 94:4-10

GROCOTT HP, MACKENSEN GB, GRIGORE AM, MATHEW J, REVES JG, PHILLIPS-BUTE B, SMITH PK, NEWMAN MF

Postoperative hyperthermia is associated with cognitive dysfunction after coronary artery bypass graft surgery

Stroke 2002; 33:537-41

GROCOTT HP, MACKENSEN GB, NEWMAN MF

Perioperative neuroprotection in cardiac surgery: current strategies and future directions

*In:* NEWMAN MF

Perioperative organ protection

Lippincott Williams & Wilkins Verlag, 2003:47-75

HALL C

Emotional behavior in the rat. I. Defaecation and urination as measures of individual differences in emotionality

J Comp Physiol Psychol 1934; 18:385-403

HALL R, STAFFORD SMITH M, ROCKER G

The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations

Anesth Analg 1997; 85:766-82

HARRIS DN, OATRIDGE A, DOB D, SMITH PL, TAYLOR KM, BYDDER GM

Cerebral swelling after normothermic cardiopulmonary bypass

Anesthesiology 1998; 88:340-5

HARTMANN A, DETTMERS C, SCHUIER F, WASSMANN H, SCHUMACHER H  
Effect of stable xenon on regional cerebral blood flow and the electroencephalogram in normal volunteers  
Stroke 1991; 22:182-9

HARTMANN G, YAO F-S, BRUEFACH M, BARBUT D, PETERSON J, PURCELL M, CHARLSON M, GOLD J, THOMAS S, SZATROWSKI T  
Severity of aortic atheromatous disease diagnosed by transesophageal echocardiography predicts stroke and other outcomes associated with coronary artery surgery: A prospective study  
Anesth Analg 1996; 83:701-8

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

HETRICK DA, PAGEL PS, KERSTEN JR, TESSMER JP, BOSNJAK ZJ, GEORGIEFF M, WARLTIER DC  
Cardiovascular effects of xenon in isoflurane-anesthetized dogs with dilated cardiomyopathy  
Anesthesiology 1998; 89:1166-73

HINDMAN BJ, DEXTER F, ENOMOTO S, SUBIETA A, SMITH T, CUTKOMP J  
Recovery of evoked potential amplitude after cerebral arterial air embolism in the rabbit: a comparison of the effect of cardiopulmonary bypass with normal circulation  
Anesthesiology 1998; 88:696-707

HINDMAN BJ, DEXTER F, SUBIETA A, SMITH T, CUTKOMP J  
Brain injury after cerebral arterial air embolism in the rabbit as determined by triphenyltetrazolium staining  
Anesthesiology 1999; 90:1462-73

HINDMAN BJ, TODD MM  
Improving neurologic outcome after cardiac surgery  
Anesthesiology 1999; 90:1243-7

HOMI HM, YOKOO N, MA D, WARNER DS, FRANKS NP, MAZE M, GROCOTT HP  
The neuroprotective effect of xenon administration during transient middle cerebral artery occlusion in mice  
Anesthesiology 2003; 99:876-81

HOSSMANN KA  
Experimental models for the investigation of brain ischemia  
Cardiovasc Res 1998; 39:106-20

HUI D, HARMONY J, INNERARITY T, MAHLEY R  
Immunoregulatory plasma lipoproteins. Role of apoprotein E and apoprotein B  
J Biol Chem 1980; 255:1175-81

INVESTIGATORS TWH  
Randomized trial of normothermic versus hypothermic coronary bypass surgery

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Lancet 1994; 343:559-63

ISHIGURO Y, GOTO T, NAKATA Y, TERUI K, NIIMI Y, MORITA S

Effect of xenon on autonomic cardiovascular control - comparison with isoflurane and nitrous oxide

J Clin Anesth 2000; 12:196-201

JANSEN NJ, VAN OEVEREN W, VAN DEN BROEK L, OUDEMANS-VAN STRAATEN HM, STOUTENBEEK CP, JOEN MC, ROOZENDAAL KJ, EYSMAN L, WILDEVUUR CR

Inhibition by dexamethasone of the reperfusion phenomena in cardiopulmonary bypass

J Thorac Cardiovasc Surg 1991; 102:515-25

JARRARD LE

What does the hippocampus really do?

Behav Brain Res 1995; 71:1-10

JUNGWIRTH B, KOCHS E, MACKENSEN G

Development of a small volume oxygenator: an essential improvement to a model of cardiopulmonary bypass in the rat (2003)

Klinik für Anästhesiologie, Technische Universität München, Munich, Germany

KAPINYA KJ, LOWL D, FUTTERER C, MAURER M, WASCHKE KF, ISAEV NK, DIRNAGL U

Tolerance against ischemic neuronal injury can be induced by volatile anesthetics and is inducible NO synthase dependent

Stroke 2002; 33:1889-98

KAWAHARA F, KADOI Y, SAITO S, YOSHIKAWA D, GOTO F, FUJITA N

Balloon pump-induced pulsatile perfusion during cardiopulmonary bypass does not improve brain oxygenation

J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 118:361-6

KAWAMURA T, WAKUSAWA R, OKADA K, INADA S

Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin-8 and 6 in reperfusion injury

Can J Anesth 1993; 40:1016-21

KEHL F, PAYNE RS, ROEWER N, SCHURR A

Sevoflurane-induced preconditioning of rat brain in vitro and the role of KATP channels

Brain Res 2004; 1021:76-81

KHARAZMI A, ANDERSEN LW, BAEK L, VALERIUS NH, LAUB M, RASMUSSEN JP

Endotoxemia and enhanced generation of oxygen radicals by neutrophils from patients undergoing cardiopulmonary bypass

J Thorac Cardiovasc Surg 1989; 98:381-5

KIRINO T, TAMURA A, SANO K

Delayed neuronal death in the rat hippocampus following transient forebrain ischemia

Acta Neuropathol 1984; 64:139-47

## LITERATURVERZEICHNIS

---

KIRKLIN JK, WESTABY S, BLACKSTONE EH, KIRKLIN JW, CHENOWETH DE, PACIFICO AD

Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass

J Thorac Cardiovasc Surg 1983; 86:845-57

KOBLIN DD, FANG Z, EGER EI, 2ND, LASTER MJ, GONG D, IONESCU P, HALSEY MJ, TRUDELL JR

Minimum alveolar concentrations of noble gases, nitrogen, and sulfur hexafluoride in rats: helium and neon as nonimmobilizers (nonanesthetics)

Anesth Analg 1998; 87:419-24

KOGURE K, YAMASAKI Y, MATSUO Y, KATO H, ONODERA H

Inflammation of the brain after ischemia

Acta Neurochir Suppl 1996; 66:40-3

LACHMANN B, ARMBRUSTER S, SCHAIRER W, LANDSTRA M, TROUWBORST A, VAN DAAL GJ, KUSUMA A, ERDMANN W

Safety and efficacy of xenon in routine use as an inhalational anaesthetic

Lancet 1990; 335:1413-5

LANE GA, NAHRWOLD ML, TAIT AR, TAYLOR-BUSCH M, COHEN PJ, BEAUDOIN AR

Anesthetics as teratogens: nitrous oxide is fetotoxic, xenon is not

Science 1980; 210:899-901

LANIER WL

Glucose management during cardiopulmonary bypass: cardiovascular and neurologic implications

Anesth Analg 1991; 72:423-7

LAWRENCE JH, LOOMIS WF, TOBIAS CA, TURPIN FH

Preliminary observations on the narcotic effect of xenon with a review of values for solubilities of gases in water and oils

J Physiol 1946; 105:197-204

LECLERC J, NIEUVIARTS R, TAVERNIER B, VALLET B, SCHERPEREEL P

Anesthésie au xénon: du mythe à la réalité

Ann Fr Anesth Reanim 2000; 20:70-6

LEGAULT C, FURBERG C, WAGENKNECHT L, ROGERS A, STUMP D, COKER L, TROOST B, HAMMON J

Nimodipine neuroprotection in cardiac valve replacement: Report of an early terminated trial

Stroke 1996; 27:593-8

LIEBMAN, M

Blutversorgung des Gehirns

*In:* Schünke M, Schünke G

Basiswissen Neuroanatomie

George Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1993; 113-117

LOCKWOOD G

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Expansion of air bubbles in aqueous solutions of nitrous oxide or xenon  
Br J Anaesth 2002; 89:282-6

LUTTROPPE HH, ROMNER B, PERHAG L, ESKILSSON J, FREDRIKSEN S, WERNER O  
Left ventricular performance and cerebral haemodynamics during xenon anaesthesia. A  
transoesophageal echocardiography and transcranial Doppler sonography study  
Anaesthesia 1993; 48:1045-9

LUTTROPPE HH, RYDGREN G, THOMASSON R, WERNER O  
A minimal-flow system for xenon anesthesia  
Anesthesiology 1991; 75:896-902

MA D, WILHELM S, MAZE M, FRANKS NP  
Neuroprotective and neurotoxic properties of the 'inert' gas xenon  
Br J Anaesth 2002; 89:739-46

MA D, YANG H, LYNCH J, FRANKS NP, MAZE M, GROCOTT HP  
Xenon attenuates cardiopulmonary bypass-induced neurologic and neurocognitive  
dysfunction in the rat  
Anesthesiology 2003; 98:690-8

MACKENSEN GB, GELB AW  
Postoperative cognitive deficits: more questions than answers  
Eur J Anaesthesiol 2004; 21:85-8

MACKENSEN GB, SATO Y, NELLGARD B, PINEDA J, NEWMAN MF, WARNER DS,  
GROCOTT HP  
Cardiopulmonary bypass induces neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat  
Anesthesiology 2001; 95:1485-91.

MACPHAIL EM  
Cognitive function in mammals: the evolutionary perspective  
Cognitive Brain Research 1996; 3:279-290

MACY M, OKANO Y, CARDIN A  
Suppression of lymphocyte activation by plasma lipoproteins  
Cancer Res 1983; 43:2496-502

MALHOTRA AK, PINALS DA, WEINGARTNER H, SIROCCO K, MISSAR CD, PICKAR  
D, BREIER A  
NMDA receptor function and human cognition: the effects of ketamine in healthy volunteers  
Neuropsychopharmacology 1996; 14:301-7

MANGANO D  
Effects of acadesine on the incidence of myocardial infarction and adverse cardiac outcomes  
after coronary artery bypass graft surgery  
Anesthesiology 1995; 83:658-73

MARCANTONIO E, JUAREZ G, GOLDMAN L, MANGIONE C, LUDWIG L, LIND L,  
KATZ N, COOK E, ORAV J, LEE T  
The relationship of postoperative delirium with psychoactive medications

## LITERATURVERZEICHNIS

---

JAMA 1994; 272:1518-22

MARCANTONIO ER, FLACKER JM, WRIGHT RJ, RESNICK NM  
Reducing delirium after hip fracture: a randomized trial  
J Am Geriatr Soc 2001; 49:516-22

MARKGRAF CG, CLIFTON GL, AGUIRRE M, CHANEY SF, KNOX-DU BOIS C,  
KENNON K, VERMA N  
Injury severity and sensitivity to treatment after controlled cortical impact in rats  
J Neurotrauma 2001; 18:175-86

MARTIN TD, CRAVER JM, GOTT JP, WEINTRAUB WS, RAMSAY J, MORA CT,  
GUYTON RA  
Prospective, randomized trial of retrograde warm blood cardioplegia: myocardial benefit and  
neurologic threat  
Ann Thorac Surg 1994; 57:298-302

MATSUNAGA T, MUKHIN AG, LONDON ED  
Regionally distinct stoichiometry for N-methyl-D-aspartate receptor domains in brain  
Neuroreport 1996; 7:833-7

MAULT JR, OHTAKE S, KLINGENSMITH ME, HEINLE JS, GREELEY WJ,  
UNGERLEIDER RM  
Cerebral metabolism and circulatory arrest: effects of duration and strategies for protection  
Ann Thorac Surg 1993; 55:57-63

MITCHELL S, PELLET O, GORMAN D  
Cerebral protection by lidocaine during cardiac operations  
Ann Thorac Surg 1999; 67:1117-24

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

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

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

MORRIS RG, GARRUD P, RAWLINS JN, O'KEEFE J  
Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions  
Nature 1982; 297:681-3

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- MURAKAWA M, ADACHI T, NAKAO S, SEO N, SHINGU K, MORI K  
Activation of the cortical and medullary dopaminergic systems by nitrous oxide in rats: a possible neurochemical basis for psychotropic effects and postanesthetic nausea and vomiting  
*Anesth Analg* 1994; 78:376-81
- MURKIN JM, BOYD WD, GANAPATHY S, ADAMS SJ, PETERSON RC  
Beating heart surgery: why expect less central nervous system morbidity?  
*Ann Thorac Surg* 1999; 68:1498-501
- MURKIN JM, MARTZKE JS, BUCHAN AM, BENTLEY C, WONG CJ  
A randomized study of the influence of perfusion technique and pH management strategy in 316 patients undergoing coronary artery bypass surgery. I. Mortality and cardiovascular morbidity  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 1995a; 110:340-8
- MURKIN JM, MARTZKE JS, BUCHAN AM, BENTLEY C, WONG CJ  
A randomized study of the influence of perfusion technique and pH management strategy in 316 patients undergoing coronary artery bypass surgery. II. Neurologic and cognitive outcomes  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 1995b; 110:349-62
- MUTCH W, LEFEVRE G, THIESSEN D, GIRLING L, WARRIAN R  
Computer-controlled cardiopulmonary bypass increases jugular venous oxygen saturation during rewarming  
*Ann Thoracic Surg* 1998; 65:59-65
- MUTH C, SHANK E  
Primary Care: Gas Embolism  
*N Engl J Med* 2000; 342:476-82
- NAKATA Y, GOTO T, SAITO H, ISHIGURO Y, TERUI K, KAWAKAMI H, TSURUTA Y, NIIMI Y, MORITA S  
Plasma concentration of fentanyl with xenon to block somatic and hemodynamic responses to surgical incision  
*Anesthesiology* 2000; 92:1043-8
- NEWMAN MF, CROUHWELL ND, BLUMENTHAL JA, WHITE WD, LEWIS JB, SMITH LR, FRASCO P, TOWNER EA, SCHELL RM, HURWITZ BJ, ET AL.  
Effect of aging on cerebral autoregulation during cardiopulmonary bypass. Association with postoperative cognitive dysfunction  
*Circulation* 1994; 90:II243-9
- NEWMAN MF, GROCOTT HP, MATHEW JP, WHITE WD, LANDOLFO K, REVES JG, LASKOWITZ DT, MARK DB, BLUMENTHAL JA  
Report of the substudy assessing the impact of neurocognitive function on quality of life 5 years after cardiac surgery  
*Stroke* 2001a; 32:2874-81.
- NEWMAN MF, KIRCHNER JL, PHILLIPS-BUTE B, GAVER V, GROCOTT H, JONES RH, MARK DB, REVES JG, BLUMENTHAL JA

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Longitudinal Assessment of Neurocognitive Function after Coronary-Artery Bypass Surgery  
N Engl J Med 2001b; 344:395-402

NEWMAN MF, KRAMER D, CROUGHWELL ND, SANDERSON I, BLUMENTHAL JA, WHITE WD, SMITH LR, TOWNER EA, REVES JG  
Differential age effects of mean arterial pressure and rewarming on cognitive dysfunction after cardiac surgery  
Anesth Analg 1995a; 81:236-42

NEWMAN MF, LASKOWITZ DT, SAUNDERS AF, GRIGORE AM, GROCOTT HP  
Genetic predictors of perioperative neurologic and neuropsychological injury and recovery  
Sem Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 3:34-46

NEWMAN MF, MURKIN JM, ROACH G, CROUGHWELL ND, WHITE WD, CLEMENTS FM, REVES JG  
Cerebral physiologic effects of burst suppression doses of propofol during nonpulsatile cardiopulmonary bypass. CNS Subgroup of McSPI  
Anesth Analg 1995b; 81:452-7

NEWMAN MF, WOLMAN R, KANCHUGER M, MARSCHALL K, MORA-MANGANO C, ROACH G, SMITH LR, AGGARWAL A, NUSSMEIER N, HERSKOWITZ A, MANGANO DT  
Multicenter preoperative stroke risk index for patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group  
Circulation 1996; 94:II74-80

NILSSON OG, BRANDT L, UNGERSTEDT U, SAVELAND H  
Bedside detection of brain ischemia using intracerebral microdialysis: subarachnoid hemorrhage and delayed ischemic deterioration  
Neurosurgery 1999; 45:1176-84

NUSSMEIER NA, ARLUND C, SLOGOFF S  
Neuropsychiatric complications after cardiopulmonary bypass: Cerebral protection by a barbiturate  
Anesthesiology 1986; 64:165-70

OHL F, FUCHS E  
Memory performance in tree shrews: effects of stressful experiences  
Neurosci Biobehav Rev 1998; 23:319-23

OHL F, HOLSBOER F, LANDGRAF R  
The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents  
Behav Res Methods Instrum Comput 2001a; 33:392-7

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

OHL F, ROEDEL A, STORCH C, HOLSBOER F, LANDGRAF R  
Cognitive performance in rats differing in their inborn anxiety

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Behav Neurosci 2002; 116:464-71

OHL F, TOSCHI N, WIGGER A, HENNIGER MS, LANDGRAF R  
Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety  
Behav Neurosci 2001b; 115:429-36

O'KEEFE J, CONWAY DH  
Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire  
Exp Brain Res 1978; 31:573-90

OLNEY J, LABRUYERE J, PRICE M  
Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs  
Science 1989; 244:1360-2

OLNEY JW  
Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate  
Science 1969; 164:719-21

OLTON DS, BECKER JT, HANDELMANN GE  
Hippocampus, space and memory  
Behav Brain Sci 1979; 2:313-65

OLTON DS, SAMUELSON RJ  
Remembrance of places passed spatial memory in rats  
J Exp Psychol 1976; 2:97-116

PADAYACHEE T, PARSON S, THEOBOLD R, LINLEY J, GOSLING R, DEVERALL P  
The detection of microemboli in the middle cerebral artery during cardiopulmonary bypass:  
A transcranial Doppler ultrasound investigation using membrane and bubble oxygenators  
Ann Thorac Surg 1987; 44:298-302

PETZELT CP, BLOM P, SCHMEHL W, MULLER J, KOX WJ  
Xenon prevents cellular damage in differentiated PC-12 cells exposed to hypoxia  
BMC Neurosci. 2004; 5:55

PETZELT CP, KODIROV S, TASCHENBERGER G, KOX WJ  
Participation of the Ca(2+)-calmodulin-activated Kinase II in the control of metaphase-  
anaphase transition in human cells  
Cell Biol Int 2001; 25:403-9

PRAKASH R.  
The rat heart with special reference to the conducting system  
Am Heart J 1954; 47:241-251

PRECKEL B, MULLENHEIM J, MOLOSCHAVIJ A, THAMER V, SCHLACK W  
Xenon administration during early reperfusion reduces infarct size after regional ischemia in  
the rabbit heart in vivo  
Anesth Analg 2000; 91:1327-32

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

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Microemboli and cerebral impairment during cardiac surgery  
Vasc Surg 1990; 24:34-43

PUGSLEY W, KLINGER L, PASCHALIS C, TREASURE T, HARRISON M, NEWMAN S  
The impact of microemboli during cardiopulmonary bypass on neuropsychological  
functioning  
Stroke 1994; 25:1393-9

RASMUSSEN LS  
Perioperative cognitive decline: the extent of the problem  
Acta Anaesthesiol Belg 1999; 50:199-204

REASONER D, HINDMAN B, DEXTER F, SUBIETA A, CUTKOMP J, SMITH T  
Doxycycline Reduces Early Neurologic Impairment after Cerebral Arterial Air Embolism in  
the Rabbit  
Anesthesiology 1997; 87:569-76

REICHENSPURNER H, NAVIA J, BERRY G, ROBBINS R, BARBUT D, GOLD JP,  
REICHART B  
Particulate emboli capture by an intra-aortic filter device during cardiac surgery  
J Thorac Cardiovasc Surg 2000; 119:233-41

REINELT H, SCHIRMER U, MARX T, TOPALIDIS P, SCHMIDT M  
Diffusion of xenon and nitrous oxide into the bowel  
Anesthesiology 2001; 94:475-7

REYLE-HAHN M, ROSSAINT R  
Xenon - a new anesthetic  
Anaesthesist 2000; 49:869-74

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

ROGERS M, LIANG M, DALTROY L, EATON H, PETEET J, WRIGHT E, ALBERT M  
Delirium after elective orthopedic surgery: risk factors and natural history  
International Journal of Psychiatry in Medicine 1989; 19:109-21

SAATMAN KE, MURAI H, BARTUS RT, SMITH DH, HAYWARD NJ, PERRI BR,  
MCINTOSH TK  
Calpain inhibitor AK295 attenuates motor and cognitive deficits following experimental brain  
injury in the rat  
Proc Nat Acad Sci U S A 1996; 93:3428-33

SASAKI T, JIKUYA T, AIZAWA T, SHIONO M, SAKUMA I, TAKATANI S, GLUECK J,  
NOON GP, NOSE Y, DEBAKEY ME  
A compact centrifugal pump for cardiopulmonary bypass  
Artif Organs 1992; 16:592-8

## LITERATURVERZEICHNIS

---

SAUNDERS AM, STRITTMATTER WJ, SCHMECHEL D, ST. GEORGE-HYSLOP PH, PERICAK-VANCE MA, JOO SH, ROSI BL, GUSELLA JF, CRAPPER-MACLACHLAN DR, ALBERTS MJ, HULETTE C, CRAIN B, GOLDGABER D, ROSES AD

Association of apolipoprotein E allele  $\epsilon$ 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease

Neurology 1993; 43:1467-72

SAVITZ SI, ERHARDT JA, ANTHONY JV, GUPTA G, LI X, BARONE FC, ROSENBAUM DM

The novel beta-blocker, carvedilol, provides neuroprotection in transient focal stroke

J Cereb Blood Flow Metab 2000; 20:1197-204

SHELL RM, KERN FH, GREELEY WJ, SCHULMAN SR, FRASCO PE, CROUGHWELL ND, NEWMAN M, REVES JG

Cerebral blood flow and metabolism during cardiopulmonary bypass

Anesth Analg 1993; 76:849-65

SCHUPBACH P, PAPPOVA E, SCHILT W, KOLLAR J, KOLLAR M, SIPOS P, VUCIC D  
Perfusate oncotic pressure during cardiopulmonary bypass. Optimum level as determined by metabolic acidosis, tissue edema, and renal function

Vox Sang 1978; 35:332-44

SHENG H, LASKOWITZ DT, MACKENSEN GB, KUDO M, PEARLSTEIN RD, WARNER DS

Apolipoprotein E deficiency worsens outcome from global cerebral ischemia in the mouse

Stroke 1999; 30:1118-24

SLOOTER AJ, TANG MX, VAN DUIJN CM, STERN Y, OTT A, BELL K, BRETELER MM, VAN BROECKHOVEN C, TATEMICHKI TK, TYCKO B, HOFMAN A, MAYEUX R

Apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 and risk of dementia with stroke, a population based investigation

JAMA 1997; 227:818-21

SOBLOSKY JS, MATTHEWS MA, DAVIDSON JF, TABOR SL, CAREY ME

Traumatic brain injury of the forelimb and hindlimb sensorimotor areas in the rat: physiological, histological and behavioral correlates

Behav Brain Res 1996; 79:79-92

SOUBRIE P, KULKARNI S, SIMON P, BOISSIER JR

Effets des anxiolytiques sur la prise de nourriture des rats et des souris placés en situation nouvelle ou familière

Psychopharmacologia 1975; 45:203-210

SQUIRE LR

Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans

Psychol Rev 1992; 99:195-231

SQUIRE LR

Memory systems

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

SQUIRE LR, ZOLA SM

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems  
Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:13515-22

SQUIRE LR, ZOLA SM  
Episodic memory, semantic memory, and amnesia  
Hippocampus 1998; 8:205-11

STAHL W, HANDSCHUH TA, CALZIA E, MARX T, RADERMACHER P, GEORGIEFF M  
Arterial oxygen pressures during nitrous oxide and xenon elimination  
Crit Care 1998;108:187-99

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

STOWE DF, REHMERT GC, KWOK WM, WEIGT HU, GEORGIEFF M, BOSNJAK ZJ  
Xenon does not alter cardiac function or major cation currents in isolated guinea pig hearts or myocytes  
Anesthesiology 2000; 92:516-22

STUMP D, LEVY J, MURKIN J  
The relationship between reinfusion of shed blood and stroke in coronary artery bypass grafting patients  
Ann Thorac Surg 2000; 70:1787

STUMP DA, ROGERS AT, HAMMON JW, NEWMAN SP  
Cerebral emboli and cognitive outcome after cardiac surgery  
J Cardiothorac Vasc Anesth 1996; 10:113-8

SYLIVRIS S, CALAFIORE P, MATALANIS G, ROSALION A, YUEN H, BUXTON B, TONKIN A  
The intraoperative assessment of ascending aortic atheroma: Epiaortic imaging is superior to both transesophageal echocardiography and direct palpation  
J Cardiothorac Vasc Anesth 1997; 11:704-11

SYLIVRIS S, LEVI C, MATALANIS G, ROSALION A, BUXTON BF, MITCHELL A, FITT G, HARBERTS DB, SALING MM, TONKIN AM  
Pattern and significance of cerebral microemboli during coronary artery bypass grafting  
Ann Thorac Surg 1998; 66:1674-8

TARDIFF BE, NEWMAN MF, SAUNDERS AM, STRITTMATTER WJ, BLUMENTHAL JA, WHITE WD, CROUGHWELL ND, DAVIS RD, JR., ROSES AD, REVES JG  
Preliminary report of a genetic basis for cognitive decline after cardiac operations. The Neurologic Outcome Research Group of the Duke Heart Center  
Ann Thorac Surg 1997; 64:715-20

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

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- TULVING E, SCHACTER DL, MCLACHLAN DR, MOSCOVITCH M  
Priming of semantic autobiographical knowledge: a case study of retrograde amnesia  
Brain Cogn 1988; 8:3-20
- UNDAR A, MASAI T, YANG SQ, GODDARD-FINEGOLD J, FRAZIER OH, FRASER CD, JR.  
Effects of perfusion mode on regional and global organ blood flow in a neonatal piglet model  
Ann Thorac Surg 1999; 68:1336-42
- VAN DIJK D, KEIZER AM, DIEPHUIS JC, DURAND C, VOS LJ, HIJMAN R  
Neurocognitive dysfunction after coronary artery bypass surgery: A systematic review  
J Thorac Cardiovasc Surg 2000; 120:632-9
- VAN WERMESKERKEN G, LARDENOYE J, HILL S, GROCOTT H, PHILLIPS-BUTE B, SMITH P, REVES J, NEWMAN M  
Intraoperative physiologic variables and outcome in cardiac surgery: Part II. Neurologic outcome  
Ann Thorac Surg 2000; 69:1077-83
- WATTERS MP, COHEN AM, MONK CR, ANGELINI GD, RYDER IG  
Reduced cerebral embolic signals in beating heart coronary surgery detected by transcranial Doppler ultrasound  
Br J Anaesth 2000; 84:629-31
- WAUGH NC, NORMAN DA  
Primary Memory  
Psychol Rev 1965; 72:89-104
- WEBB WR, HARRISON LH, JR., HELMCKE FR, CAMINO-LOPEZ A, MUNFAKH NA, HECK HA, JR., MOULDER PV  
Carbon dioxide field flooding minimizes residual intracardiac air after open heart operations  
Ann Thorac Surg 1997; 64:1489-91
- WEBER NC, TOMA O, WOLTER JI, OBAL D, MULLENHEIM J, PRECKEL B, SCHLACK W  
The noble gas xenon induces pharmacological preconditioning in the rat heart in vivo via induction of PKC- $\epsilon$  and p38 MAPK  
Br J Pharmacol 2005; 144:123-32
- WILHELM S, MA D, MAZE M, FRANKS NP  
Effects of xenon on in vitro and in vivo models of neuronal injury  
Anesthesiology 2002; 96:1485-91
- WHISHAW I, HAUN F, KOLB B  
Analysis of behavior in laboratory rodents  
*In: Windhorst U, Johansson H*  
Modern Techniques in Neuroscience  
Springer-Verlag, Berlin, 1997:1243-75

## LITERATURVERZEICHNIS

---

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

Cerebral injury after cardiac surgery: identification of a group at extraordinary risk  
Stroke 1999; 30:514-22

XIONG L, ZHENG Y, WU M, HOU L, ZHU Z, ZHANG X, LU Z

Preconditioning with isoflurane produces dose-dependent neuroprotection via activation of adenosine triphosphate-regulated potassium channels after focal cerebral ischemia in rats  
Anesth Analg 2003; 96:233-7

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

Pulmonary resistance in dogs: a comparison of xenon with nitrous oxide  
Can J Anaesth 1995; 42:547-53

**8 TABELLENVERZEICHNIS**

***Tabelle 1:** Wichtige physikalische Parameter einiger volatiler Anästhetika für den Menschen und für die Ratte (modifiziert nach KOBLIN et al., 1998; LECLERC et al., 2000)..... 28*

***Tabelle 2:** Randomisierte Lochkombinationen für den modifizierten Hole-Board-Test..... 58*

***Tabelle 3:** Zusammenfassende Darstellung der einzelnen Phasen des modifizierten Hole-Board-Testes im zeitlichen Verlauf..... 59*

***Tabelle 4:** Tastenbefehle und ihre Bedeutung im mHBT..... 60*

***Tabelle 5:** Kognitive Parameter des mHBT mit den assoziierten Gehirnbereichen und den beteiligten Gedächtnissystemen (modifiziert nach OHL, 2000)..... 61*

***Tabelle 6:** Verhaltensparameter im mHBT mit den assoziierten Verhaltensdimensionen (modifiziert nach OHL, 2000)..... 63*

***Tabelle 7:** Motorische Parameter im mHBT mit den assoziierten motorischen Leistungen (modifiziert nach OHL, 2000)..... 64*

***Tabelle 8:** Ebenen und Schnitte eines zwei mm dicken Paraffinblockes..... 65*

***Tabelle 9:** Gruppeneinteilung mit Präparation und Behandlung..... 68*

***Tabelle 10:** Physiologische Parameter aller vier Gruppen während der operativen Phase... 70*

***Tabelle 11:** Körpergewicht aller vier Gruppen ..... 72*

***Tabelle 12:** Punktesumme der sensorischen Untersuchungen..... 74*

***Tabelle 13:** Balance-Zeit im Balken-Gleichgewicht-Test ..... 75*

***Tabelle 14:** Anzahl der Fehlritte im Balken-Geh-Test..... 77*

***Tabelle 15:** Haltezeit im Greif-Zug-Test..... 78*

***Tabelle 16:** Haltezeit im Drahtgitter-Test..... 79*

***Tabelle 17:** Anzahl der Gesamtfehler im mHBT..... 81*

***Tabelle 18:** Anzahl der Wiederholer im mHBT ..... 82*

***Tabelle 19:** Gesamtzeit im mHBT ..... 83*

***Tabelle 20:** Anzahl der Boardbesuche im mHBT..... 85*

***Tabelle 21:** Latenz erster Boardbesuch im mHBT..... 86*

***Tabelle 22:** Insgesamt auf dem Board verbrachte Zeit im mHBT ..... 88*

***Tabelle 23:** Immobilität im mHBT ..... 89*

***Tabelle 24:** Anzahl der Lochbesuche im mHBT..... 91*

***Tabelle 25:** Latenz erster Lochbesuch im mHBT..... 92*

***Tabelle 26:** Anzahl der Männchen im mHBT..... 93*

***Tabelle 27:** Gruppenkontakte im mHBT ..... 94*

***Tabelle 28:** Fresszeit im mHBT ..... 96*

***Tabelle 29:** Frustrane Lochbesuche im mHBT ..... 97*

***Tabelle 30:** Infarktvolumen im Gehirn..... 99*

***Tabelle 31:** Maximale Infarktfläche im Gehirn ..... 100*

**9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

**Abbildung 1:** Rolle des Ultrakurzzeitgedächtnisses (Sensorisches Register) im Gedächtnismodell modifiziert nach ATKINSON und SHIFFRIN, 1971..... 3

**Abbildung 2:** Multikomponenten-Modell des Arbeitsgedächtnisses (modifiziert nach BADDELEY, 2003). ..... 4

**Abbildung 3:** Gliederung des Langzeitgedächtnisses mit assoziierten neuronalen Korrelaten (modifiziert nach SQUIRE, 1998)..... 5

**Abbildung 4:** Schematische Darstellung des Morris-Water-Maze-Tests mit Einteilung in die verschiedenen Quadranten und Zonen (modifiziert nach MORRIS et al., 1982). ..... 9

**Abbildung 5:** Schematischer Versuchsaufbau des modifizierten Hole-Board-Testes (modifiziert nach OHL et al., 2001b)..... 10

**Abbildung 6:** Einteilung der postoperativ auftretenden neurologischen und neurokognitiven Defizite nach extrakorporaler Zirkulation (modifiziert nach MACKENSEN und GELB, 2004). ..... 12

**Abbildung 7:** Obstruktion einer zerebralen Endarterie durch ein Luftbläschen und deren Auswirkungen auf das umliegende Gewebe (modifiziert nach MUTH und SHANK, 2000). ..... 16

**Abbildung 8:** Gruppeneinteilung ..... 34

**Abbildung 9:** Zusammenfassende Darstellung der Operation, der neurologischen Untersuchung und des modifizierten Hole-Board-Testes im zeitlichen Verlauf..... 36

**Abbildung 10:** Zusammenfassende Darstellung der einzelnen operativen Phasen, der jeweiligen Narkose und der Messzeitpunkte im zeitlichen Verlauf aller vier Gruppen.. 37

**Abbildung 11:** Vereinfachte schematische Darstellung des Narkosesystems mit wählbarer Isofluran- oder Xenonzufuhr..... 38

**Abbildung 12:** Schematische Darstellung der Gefäßaufzweigung der A. carotis communis und der Lage des Katheters für die Verabreichung der Luftemboli..... 41

**Abbildung 13:** Herz-Lungen-Maschine mit venösem Reservoir, Rollerpumpe und Membranoxygenator (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)..... 42

**Abbildung 14:** Membranoxygenator mit einer gesamten Gasaustauschfläche von 1256,8 cm<sup>2</sup> (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München)..... 43

**Abbildung 15:** Harvard-Pumpe mit Hamilton-Spritze (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 44

**Abbildung 16:** Ratte während Balken-Gleichgewicht-Test (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 49

**Abbildung 17:** Beispiel einer Ratte beim Balken-Geh-Test (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 50

**Abbildung 18:** Drahtgitter-Test bei vertikaler (A) und um 180° gedrehter Position (B) (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 51

**Abbildung 19:** Beispiel einer Ratte beim Greif-Zug-Test (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 52

**Abbildung 20:** Abgetrenntes Tierabteil (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 54

**Abbildung 21:** Aufbau eines modifizierten Hole-Boards mit Deckel, Klötzchen, Schraube und Feder (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 55

**Abbildung 22:** Versuchskäfig ohne Abtrennung (Aufnahme: Arbeitsgruppe „Experimentelle Anaesthesiologie“, Klinikum rechts der Isar, München). ..... 56

<b>Abbildung 23:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM des Körpergewichtes (g) der Tiere aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	73
<b>Abbildung 24:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Punktesumme der sensorischen Untersuchungen aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.....	75
<b>Abbildung 25:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Balance-Zeit (s) im Balken-Gleichgewicht-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	76
<b>Abbildung 26:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Anzahl der Fehlritte pro Distanz im Balken-Geh-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	78
<b>Abbildung 27:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Haltezeit (s) im Greif-Zug-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	79
<b>Abbildung 28:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Haltezeit (s) im Drahtgitter-Test aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	80
<b>Abbildung 29:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Anzahl der Gesamtfehler pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	82
<b>Abbildung 30:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Anzahl der Wiederholer pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	83
<b>Abbildung 31:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Gesamtzeit (s) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten.....	84
<b>Abbildung 32:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Anzahl der Boardbesuche pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	86
<b>Abbildung 33:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Latenz des ersten Boardbesuches (s) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	87
<b>Abbildung 34:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der auf dem Board verbrachten Zeit (%) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	89
<b>Abbildung 35:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Dauer der Immobilität (%) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	90
<b>Abbildung 36:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Anzahl der Lochbesuche pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	91
<b>Abbildung 37:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Latenz des ersten Lochbesuches (s) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	93
<b>Abbildung 38:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Anzahl der Männchen pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	94
<b>Abbildung 39:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Dauer des Gruppenkontaktes (%) pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	95
<b>Abbildung 40:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Dauer der Fresszeit pro Futterbelohnung (s) pro Durchlauf aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	97
<b>Abbildung 41:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der Anzahl frustrierender Lochbesuche pro Durchlauf im mHBT aller vier Gruppen zu definierten Untersuchungszeitpunkten. ....	98
<b>Abbildung 42:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM des Infarktvolumens (mm <sup>3</sup> ) im Gehirn der EKZ/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe am 14. postoperativen Tag (* Signifikanz < 0,05). ....	99
<b>Abbildung 43:</b> Graphische Darstellung der MW±SEM der maximalen Infarktfläche (mm <sup>2</sup> ) im Gehirn der EKZ/Luft- und der EKZ/Xenon-Gruppe am 14. postoperativen Tag (* Signifikanz < 0,05). ....	100

- Abbildung 44:** Paraffinschnitte (10 µm, HE-Färbung) eines Tieres aus der EKZ/Xenon-Gruppe. Schnitt A wurde bei einem Bregma von -0,30 mm, Schnitt B bei einem Bregma von -3,30 mm entnommen. Deutlich sichtbar sind große, scharf demarkierte Infarktzone(n) im motorischen Kortex (Pfeil a und c), die sich in Schnitt A auch noch bis ins Striatum (Pfeil b) ausdehnen. In der linken Gehirnhälfte und in der Hippokampus-Region (Pfeil d) sind keine Veränderungen sichtbar..... 101
- Abbildung 45:** Paraffinschnitte (10 µm, HE-Färbung) eines Tieres aus der EKZ/Luft-Gruppe. Schnitt A wurde bei einem Bregma von -0,30 mm, Schnitt B bei einem Bregma von -3,30 mm entnommen. Deutlich sichtbar sind kleinere Infarktzone(n) im motorischen Kortex (Pfeil a und c) mit einer nicht so ausgeprägten Demarkationslinie. Das Striatum in Schnitt A ist von der Infarktzone nicht betroffen (Pfeil b). In der Hippokampus-Region (Pfeil d) sind keine Veränderungen sichtbar..... 102
- Abbildung 46:** Anzahl der Tiere (%) mit motorischem Defizit nach unterschiedlich großen Luftboli während EKZ (modifiziert nach CARLSEN, 2005)..... 107
- Abbildung 47:** Mortalität (%) nach unterschiedlich großen Luftboli während EKZ (modifiziert nach CARLSEN, 2005)..... 107

### 10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.	Arteria
cm	Zentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
∅	Durchmesser
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
Fa.	Firma
FiO <sub>2</sub>	inspiratorische Sauerstoff Konzentration
G	Gauge
g	Gramm
°C	Grad Celsius
h	Stunde
HE-Färbung	Hämatoxylin- und Eosin-Färbung
HLM	Herz-Lungen-Maschine
IE	Internationale Einheit
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
LDH	Laktat-Dehydrogenase
MAC	Minimale alveoläre Konzentration
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
MCAO	Karotisokklusion
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
mg	Milligramm
mHB	modifiziertes Hole-Board
mHBT	modifizierter Hole-Board-Test

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
min	Minute
MW	Mittelwert
M.	Musculus
NMDA-Rezeptor	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PaCO <sub>2</sub>	arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PE	Polyethylen
pH-Wert	Wasserstoffionen-Wert
Vol %	Volumen Prozent
vs.	versus
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
TCD	Transkranielle Doppler-Sonographie
TEE	Transösophageale Echokardiographie
ZNS	Zentrales Nervensystem

## 11 DANKSAGUNG

Nach Abschluss dieser Doktorarbeit möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. H. Erhard für die Übernahme der Arbeit an die Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München bedanken.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. B. Gänsbacher möchte ich für die Möglichkeit danken, die tierexperimentellen Studien an seinem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapiefor- schung der Technischen Universität München durchführen zu können.

Mein großer Dank für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. phys. E. Kochs, Direktor des Instituts für Anaesthesiologie der TU München und Herrn Prof. Dr. med. M. Blobner, Oberarzt der Klinik für Anaesthesiologie der TU München für die Überlassung des Themas, die Betreuung und die statistische Bearbeitung.

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt für die Vermittlung der Dissertation, die stets freundliche und hilfsbereite Unterstützung und die detaillierte Korrek- tur.

Frau Dr. med. B. Jungwirth danke ich für die fachliche Kritik, den permanenten Rückhalt in allen Fragen und die schnelle Erstkorrektur.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Dr. med. H. Feuer für die sorgfältige Durchsicht dieser Arbeit bedanken.

Dank auch an Frau Dr. med. H. Fink und Frau Dr. med. M. Richtsfeld für die Korrektur der englischen Zusammenfassung und an Frau Dr. med. L. Gordan und Dr. med. B. Eckel für den permanenten Rückhalt bei allen anfallenden Fragen.

Meinen Kolleginnen Frau Dr. med. vet. K. Kellermann, Frau L. Starker, Frau S. Swirczek, Frau S. Ruf und Frau J. Carlsen bin ich für ihre jederzeit zur Verfügung stehende Hilfsbereit- schaft dankbar.

Dankbar bin ich auch Frau D. Droese und Frau A. Frye für die freundliche Unterstützung im Labor.

Zudem bedanke ich mich bei allen Tierpflegern und Tierpflegerinnen für die problemlose und stets erfolgreiche Zusammenarbeit.

Ein besonderer Dank gilt Herrn G. Gürtner für die nette Zusammenarbeit bei der Herstellung der Versuchskäfige und deren Zubehör.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. med. vet. H. Enz für seine Motivation zur Bewerbung um eine Doktorarbeit bedanken.

Meiner Familie, Oliver, Nicki und Thomas und meinen Freunden möchte ich besonderen Dank für die liebevolle Unterstützung und Geduld aussprechen.

Zuletzt möchte ich mich bei meinem Vater bedanken, der mir das Studium der Tiermedizin und somit auch diese Doktorarbeit erst ermöglicht hat.