

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung im
Walter-Brendel-Zentrum für Experimentelle Medizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Ulrich Pohl

**Neuroprotektion durch moderate Hypothermie (33 °C) nach
experimenteller Subarachnoidalblutung**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Elisabeth Török

aus Temeschburg

2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Berichterstatter: Prof. Dr. Nikolaus Plesnila

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Christoph Hamburger

Prof. Dr. Stefan Zausinger

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. Karsten Schöller

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Reiser,

FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 07.05.2015

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Epidemiologie und Ätiologie der Subarachnoidalblutung	5
1.2 Pathophysiologie der Subarachnoidalblutung	7
1.3 Therapieoptionen	9
1.4 Therapeutische Hypothermie	10
1.5 Ziel der Arbeit	12
2. Material und Methoden	13
2.1 Versuchstiere	13
2.2 Versuchsanordnung	13
2.2.1 Arbeitsplatz	13
2.2.2 Prämedikation und Narkose	13
2.2.3 Temperaturmessung	14
2.2.4 Chirurgische Präparation	14
2.2.5 Intrakranielle Druckmessung (ICP)	15
2.2.6 Messung des lokalen zerebralen Blutflusses mittels Laser-Doppler-Fluxmetrie (rCBF)	15
2.2.7 Messung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP)/Blutgasanalyse	16
2.2.8 Induktion der Subarachnoidalblutung	17
2.2.9 Abschluss der Operation	18
2.2.10 Datenerfassung	19
2.3 Versuchsgruppen	19
2.4 Gewicht	20
2.5 Quantifizierung der postoperativen neurologischen Defizite	20
2.6 Histologische Aufbereitung	23
2.7 Quantifizierung des Hirnwassergehaltes	23
2.8 Statistische Datenauswertung	24
3. Ergebnisse	25
3.1 Teil 1 (7 Tage Überlebensdauer)	25
3.1.1 Temperatur	25
3.1.2 Physiologische Parameter	26
3.1.3 Intrakranieller Druck (ICP)	28
3.1.4 Regionale zerebrale Durchblutung (rCBF)	31
3.1.5 Mortalität	32
3.1.6 Neurologische Funktion und Körpergewicht	33

3.1.7 Histologie	36
3.2 Teil 2 (24 Stunden Überlebensdauer)	36
3.2.1 Temperatur	36
3.2.2 Blutgase und Glukose/Laktat	38
3.2.3 Mittlerer arterielle Druck (MAP)	40
3.2.4 Intrakranieller Druck (ICP)	42
3.2.5 Zerebraler Perfusionsdruck (CPP)	42
3.2.6 Regionale zerebrale Durchblutung (rCBF)	44
3.2.7 Hirnwassergehalt	44
3.2.8 Neurologische Funktion	45
4. Diskussion	47
4.1. Methoden	47
4.1.1 Versuchstiere	47
4.1.2 Narkose	47
4.1.3 Modell der SAB.....	48
4.2. Ergebnisse	50
4.2.1 Temperatur	50
4.2.2 Physiologische Parameter	50
4.2.3 Intrakranieller Druck (ICP)	51
4.2.4 Mittlerer arterieller Druck (MAP).....	52
4.2.5 Zerebraler Perfusionsdruck (CPP)	52
4.2.6 Regionale zerebrale Durchblutung (rCBF)	53
4.2.7 Mortalität	54
4.2.8 Neurologische Erholung und Körpergewicht	54
4.2.9 Hirnwassergehalt	55
5. Zusammenfassung.....	57
6. Literatur	58
7. Abkürzungsverzeichnis	71
8. Danksagung.....	73

1. EINLEITUNG

1.1 Epidemiologie und Ätiologie der Subarachnoidalblutung

Die Subarachnoidalblutung (SAB) ist eine lebensbedrohliche Erkrankung, bei der es zu einer akuten Blutung in den Subarachnoidalraum, d. h. in den Raum zwischen der Arachnoidea und der Pia mater, kommt (siehe Schema unten).

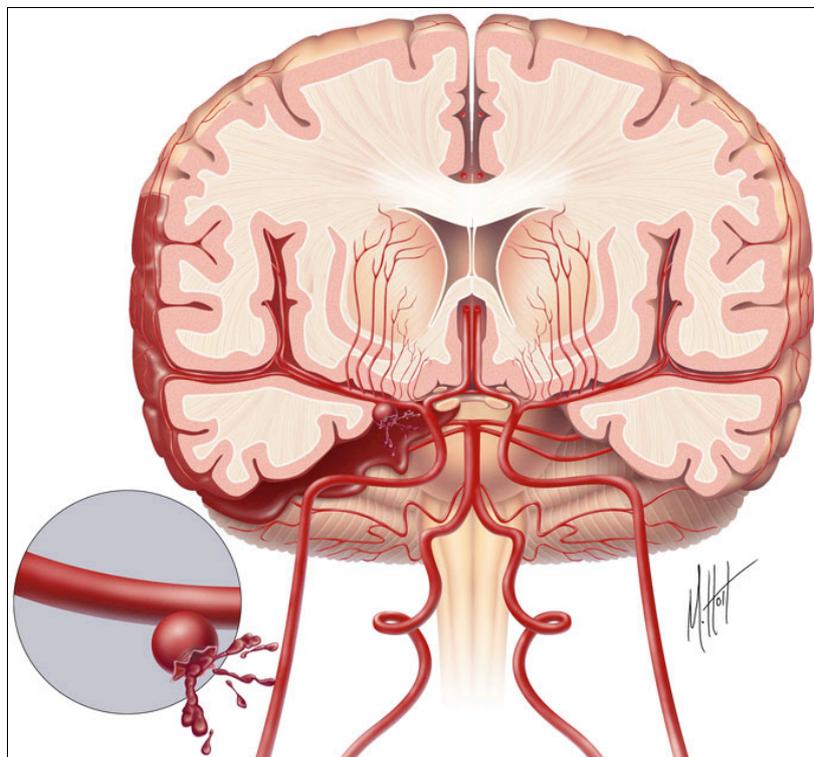


Abbildung 1: Koronarer Hirnschnitt mit Darstellung eines rupturierten Aneurysmas und Blutung in den Subarachnoidalraum (www.strokecenter.org)

Die Inzidenz ist seit mehr als 30 Jahren unverändert und liegt bei 10–15/100.000, abhängig von Geschlecht, Rasse und Region, mit deutlich erhöhter Inzidenz in Japan und Finnland (van Gijn und Rinkel, 2001, de Rooij et al., 2007). Auch wenn die Erkrankung nur ca. 3 % aller Schlaganfälle ausmacht (Sudlow und Warlow, 1997) stellt sie aufgrund der sehr hohen Mortalitätsrate von bis zu 50 % (Broderick et al., 1994) und des jungen Durchschnittsalters der Patienten von ca. 60 Jahren (Lanzino et al., 1996) eine Herausforderung für die Ärzte der beteiligten Disziplinen dar.

In 85 % der Fälle ist die Blutung aneurysmatisch bedingt, nur in 15 % der Fälle finden sich andere Ursachen für die SAB (perimesenzepale Blutung, arteriovenöse Malformation, durale AV-Fistel, Trauma usw.) (van Gijn und Rinkel, 2001). Bisher konnten nur wenige Risikofaktoren für eine SAB nachgewiesen werden, darunter die familiäre Disposition in 5–20 % der Fälle sowie die autosomal-dominant vererbte polyzystische Nierenerkrankung in 2 % der Fälle (Schievink et al., 1997). Zudem konnten der Nikotinkonsum, starker Alkoholabusus sowie die arterielle Hypertonie in einem Review von Teunissen et al. aus dem Jahr 1996 als Risikofaktoren für eine SAB herausgearbeitet werden.

Da die initialen Symptome sehr stark variieren können, wurden anhand der vorhandenen neurologischen Defizite Klassifizierungen der SAB etabliert. Dabei hat sich die Skala nach Hunt und Hess (Hunt et al., 1968) sowie die WFNS-Klassifizierung (Teasdale et al., 1988) weltweit durchgesetzt.

Grad	WFNS oder Hunt & Hess	GCS
I	Asymptomatisch, leichte Cephalgien, leichter Meningismus	15
II	Mäßige bis starke Cephalgien/Meningismus, Hirnnervenausfälle	13–14
III	Somnolenz/Verwirrtheit und/oder fokal-neurologische Defizite	13–14
IV	Sopor, schwere neurologische Defizite, vegetative Störungen	7–12
V	Koma, Einklemmungszeichen	3–6

Tabelle 1: Graduierung der SAB

Wie bereits oben erwähnt beträgt die Gesamtmortalität der SAB 50 %, wobei 18–24 % der Patienten innerhalb von 24 Stunden nach der Blutung versterben, nach 48 Stunden liegt die Mortalität bereits bei ca. 35 %. Somit sind die initiale Blutung, die Re-Blutung und der daraus resultierende Schaden in den ersten 48 Stunden die wichtigsten Parameter, die zur Gesamtmortalität beitragen (Broderick et al., 1994, Pobereskin et al., 2001).

1.2 Pathophysiologie der Subarachnoidalblutung

Der frühe Hirnschaden in den ersten 48 Stunden nach der Blutung ist charakterisiert durch einen Anstieg des intrakraniellen Druckes (ICP) mit nachfolgend Reduktion des zerebralen Perfusionsdruckes (CPP) und der zerebralen Durchblutung (CBF). Diese Mechanismen führen schließlich zu einer globalen zerebralen Ischämie (Bederson et al., 1998, Frykholm et al., 2004). Aufgrund der hohen initialen Mortalität liegen die meisten Erkenntnisse zu den pathophysiologischen Veränderungen nach einer SAB in der akuten Phase aus tierexperimentellen Untersuchungen vor.

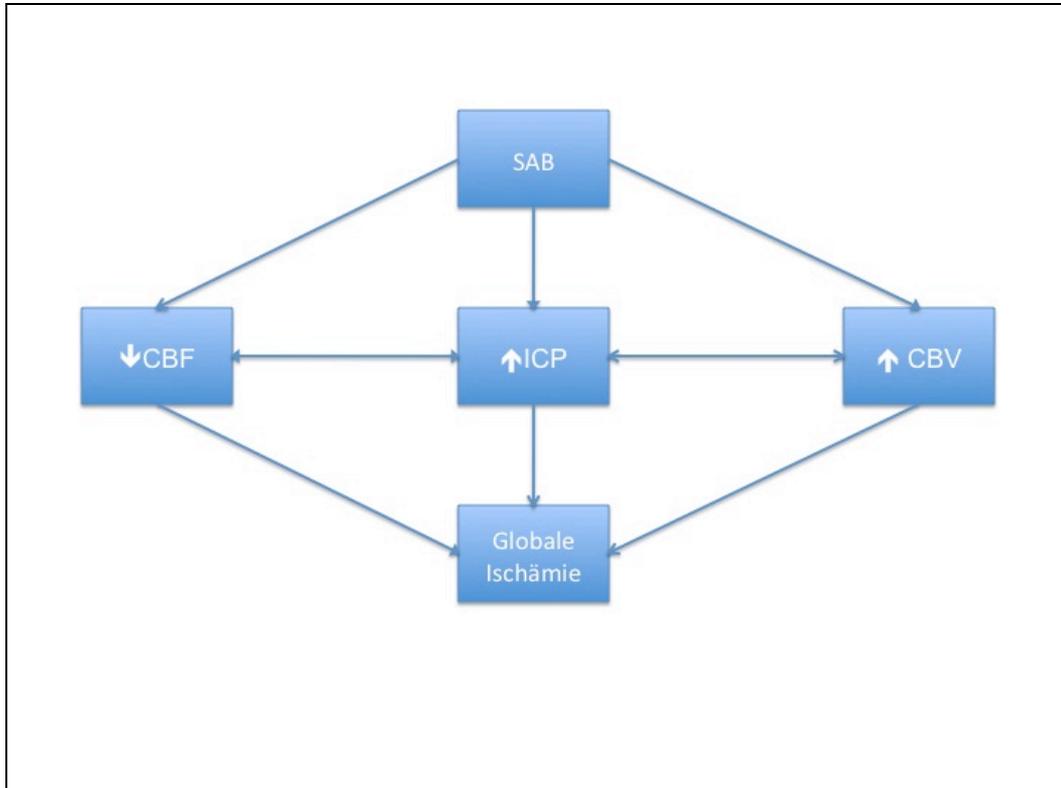


Abbildung 2: Pathophysiologische Veränderungen nach einer SAB

1.2.1 Intrakranieller Druck

Klinische Studien zeigen unmittelbar nach der Blutung einen sprunghaften Anstieg des intrakraniellen Druckes auf Werte bis zu 180 mmHg (Nornes, 1973, Nornes, 1978, Voldby, 1982, Bailes et al., 1990, Jakobsen et al., 1990). Dieser steile ICP-Anstieg zeigt sich auch in experimentellen Studien an Affen, Ratten oder Mäusen (Jakubowski et al., 1982, Kuyama et al., 1984, Bederson et al., 1995, Piepgras und Schmiedek, 1995, Feiler et al., 2010). Nach wenigen Minuten kommt es meist zu einem Abfall des intrakraniellen Druckes auf annähernd die Ausgangswerte (Voldby, 1988, Bederson et al., 1995), in manchen Fällen bleibt der ICP aufgrund des Hämatoms oder des sich entwickelnden Hydrocephalus erhöht (Kuyama et al., 1984, Voldby 1988). Im weiteren Verlauf kommt es zu einem sekundären Anstieg des intrakraniellen Druckes durch das sich entwickelnde Hirnödem (Doczi et al., 1986, Johshita et al., 1990, Claassen et al., 2002, Thal et al., 2009, Westermaier et al., 2012). Durch eine Vasoparalyse ist nach einer SAB das intrakranielle Blutvolumen erhöht (Grote und Hassler, 1988). Dies führt nach der Monro-Kellie-Doktrin in der „rigid box“, d. h. der starren Schädelhöhle, zu einem weiteren Anstieg des ICPs, was wiederum eine ernste Bedrohung darstellt.

Durch den Anstieg des ICPs bis auf Werte des mittleren arteriellen Druckes (MAP) kommt es zum Zeitpunkt der Blutung und kurz danach zu einem drastischen Abfall der zerebralen Perfusion ($CPP = MAP - ICP$) (Nornes 1973, 1978). Bedingt durch den Cushing-Reflex wird der MAP zum Teil kompensatorisch erhöht, sodass ein ausreichender zerebraler Perfusionsdruck gewährleistet wird (Barry et al., 2012). Jedoch wurde gezeigt, dass nicht nur der zerebrale Perfusionsdruck, sondern auch eine Störung der zerebralen Mikrozirkulation für den frühen ischämischen Hirnschaden verantwortlich ist (Bederson et al., 1995).

1.2.2 Zerebrale Durchblutung

Direkt nach der Blutung kommt es zu einem deutlichen Abfall der zerebralen Durchblutung. Die initial verminderte zerebrale Durchblutung scheint am ehesten durch die deutlich erniedrigte zerebrale Perfusion bedingt zu sein und konnte in vielen experimentellen Studien nachgewiesen werden (Bederson et al., 1995, 1998, Thome et al., 2001, Westermaier et al., 2009, Feiler et al., 2010, Marbacher et al., 2012). Die zerebrale Durchblutung bleibt im Tierversuch für mehrere Stunden nach

der SAB erniedrigt (Bederson et al., 1995, 1998, Thome et al., 2001), in klinischen Studien konnte eine erniedrigte zerebrale Durchblutung für mehrere Tage nachgewiesen werden, die zudem mit dem klinischen Zustand des Patienten korreliert (Grubb et al., 1977, Jakobsen et al., 1990, Matsuda et al., 1990, Schubert et al., 2009). Bisher sind die Ursachen für die Verminderung der zerebralen Durchblutung ungeklärt, es scheinen jedoch mehrere Mechanismen beteiligt zu sein, u. a. ein Anstieg von Endothelin, Thromboxan und Oxyhämoglobin, ein Abfall von NO, eine verminderte CO₂-Reaktivität der Gefäße, Spasmen der zerebralen Mikrozirkulation und die Bildung von Mikrothromben (Dernbach et al., 1988, Juvela et al., 1991, MacDonald und Weir, 1991, Wanebo et al., 1998, Sehba et al., 1999, Friedrich et al., 2012).

1.3 Therapieoptionen

In der Akutphase der SAB ist das primäre Ziel, den Patienten zu stabilisieren, den eventuell erhöhten intrakraniellen Druck zu senken (Anlage einer externen Ventrikeldrainage, Sedierung, Gabe von Mannitol oder HyperHaes) und die Blutungsursache so schnell wie möglich auszuschalten (Clipping, Coiling), um eine Re-Blutung zu verhindern.

Im weiteren Verlauf gilt es, die sekundäre zerebrale Ischämie zu verhindern. Hierfür gibt es verschiedene Strategien. Die Gabe von Calciumkanal-Antagonisten (z. B. Nimodipin) zur Reduzierung von Vasospasmen hat sich an manchen Zentren im klinischen Alltag etabliert (Pickard et al., 1989). Ebenfalls etabliert ist die sogenannte „triple-H therapy“ (Hämodilution, Hypertonie, Hypervolämie) zur Steigerung der zerebralen Durchblutung im Falle eines Vasospasmus (Origitano et al., 1990, Adamczyk et al., 2013).

Bisher existieren keine therapeutischen Ansätze, die in der frühen Phase der SAB eingreifen und damit eine eventuelle sekundäre Schädigung verhindern.

1.4 Therapeutische Hypothermie

Der therapeutische Effekt der Hypothermie wurde schon früh erkannt. So hat unter anderem Napoleons Leibarzt Dominique Jean Larrey bemerkt, dass verletzte Soldaten eher sterben, wenn sie einem wärmenden Feuer ausgesetzt werden, als wenn sie unterkühlt bleiben (Larrey, 1814, Thome et al., 2005).

Die ersten klinischen Erfahrungen mit der Hypothermie zur Neuroprotektion stammen aus den 1930er-Jahren (Fay, 1945). In den Folgejahren fand die Hypothermie in verschiedenen medizinischen Fachdisziplinen Anwendung, u. a. in der Herz- und Aneurysmachirurgie. Aufgrund von hohen Nebenwirkungsraten (Herzrhythmusstörungen, Thrombozytopenie, Immunsuppression u. a.) wurde das Konzept der Hypothermie zur Neuroprotektion aber verlassen. Erst in den 80er-Jahren des letzten Jahrhunderts wuchs erneut das wissenschaftliche und klinische Interesse an der Hypothermie, nachdem vielversprechende experimentelle Ergebnisse zur neuroprotektiven Wirkung der milden und moderaten Hypothermie bei der Ischämie veröffentlicht wurden (Busto et al., 1987). Die sogenannte milde Hypothermie (33 °C) erwies sich als ein Neuroprotektivum in der akuten Phase des Schädel-Hirn-Traumas (Clifton et al., 1993, Marion und White, 1996), aber auch nach globaler zerebraler Ischämie (Busto et al., 1987, Hypothermia after Cardiac Arrest Study Group, 2002).

Unsere Arbeitsgruppe konnte bereits in den Vorarbeiten den starken neuroprotektiven Effekt der milden Hypothermie in einem Rattenmodell der fokalen zerebralen Ischämie belegen (Schmid-Elsaesser et al., 1999, Zausinger et al., 2003, Schöller et al., 2004). Als Wirkmechanismen wurden u. a. ein erniedrigter zerebraler Stoffwechsel (Milde, 1992), die Stabilisierung der Blut-Hirn-Schranke (Karibe et al., 1994, Smith und Hall, 1996), eine Reduktion des Hirnödems (Karibe et al., 1994, Piepgras et al., 2001) sowie eine verminderte extrazelluläre Ansammlung freier Radikale (Busto et al., 1989, Globus et al., 1995) identifiziert.

Im Rahmen der SAB-Forschung wurde der Effekt der milden Hypothermie sowohl auf die akuten Veränderungen nach einer SAB als auch auf die chronischen Veränderungen in den ersten Tagen nach einer SAB untersucht.

In der akuten Phase konnte experimentell durch die Hypothermie zum einen eine Verbesserung der zerebralen Durchblutung erreicht werden (Thome et al., 2001), zum anderen wurde das früh entstandene Hirnödem reduziert (Piepgras et al., 2001). Relevante klinische Daten zur Hypothermie in der Akutphase der SAB existieren jedoch nicht.

In manchen Zentren wurde die Hypothermie intraoperativ z. B. während des temporären Clippings angewandt (Baker et al., 1994, Ogilvy et al., 1996, Hindman et al., 1999, Karibe et al., 2000). Die Ergebnisse hierzu waren vielversprechend, eine daraufhin durchgeführte prospektive Studie zur intraoperativ eingesetzten Hypothermie zeigte jedoch keinen positiven Effekt auf die neurologische Funktion (Todd et al., 2005).

In der chronischen Phase nach einer SAB wurde der Effekt der Hypothermie auf den intrakraniellen Druck untersucht (Inamasu et al., 2001, Gasser et al., 2003), zudem auch der Effekt auf den verzögerten Vasospasmus (Maekawa et al., 1994, Gasser et al., 2003, Nagao et al., 2003).

Bisher existieren nur wenige Daten zum Effekt und Wirkmechanismus der milden Hypothermie auf die frühen Mechanismen nach einer SAB.

1.5 Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Effekt der moderaten Hypothermie – zu klinisch relevanten Zeitpunkten eingesetzt, d. h. 60 Minuten und 180 Minuten nach der initialen Blutung – auf folgende Parameter zu untersuchen:

- frühe pathophysiologische Veränderungen (ICP, zerebrale Durchblutung, Hirnödem),
- morphologischer Hirnschaden,
- neurologische Funktion.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten (*Charles River, Deutschland*) mit einem Gewicht von 250–300 g verwendet. Die Tierhaltung erfolgte im klimatisierten Kleintierstall des Walter-Brendel-Zentrums für Experimentelle Medizin (Raumtemperatur 20 °C, relative Luftfeuchtigkeit ca. 65 %). Die Tiere hatten freien Zugang zu Futter und Wasser. 12 Stunden vor dem Versuch wurden die Tiere bei freiem Zugang zum Wasser nüchtern gelassen.

Alle beschriebenen Prozeduren wurden von der Regierung von Oberbayern genehmigt (AZ 221-2531-09/05).

2.2 Versuchsanordnung

2.2.1 Arbeitsplatz

Die Versuche wurden an einem für die Rattenpräparation ausgerüsteten Arbeitsplatz im Institut für Chirurgische Forschung im Walter-Brendel-Zentrum für Experimentelle Medizin unter der Leitung von Prof. Dr. med. Nikolaus Plesnila durchgeführt.

2.2.2 Prämedikation und Narkose

Die Narkose wurde mit Äther (*Diethylether, Chinosolfabrik, Deutschland*) eingeleitet. Anschließend erfolgte die Prämedikation mit 0,5 mg/kg Körpergewicht Atropinsulfat (*B. Braun Melsungen AG, Deutschland*) s. c., um eine Verschleimung der Atemwege zu verhindern. Nach der Rasur der Operationsbereiche an Hals und Kopf wurde die orotracheale Intubation in 45 ° Schräglage unter Sicht (*OP-Mikroskop OPMI 6, Carl Zeiss, Deutschland*) durchgeführt. Als Tubus diente ein 16 G-Venenverweilkatheter (*Vasculon Plus, BOC Ohmeda AB, Schweden*), der mittels einer Silikonhülle (*RTV Silikon, Rhône-Poulenc, Frankreich*) so umgebaut wurde, dass ein Verschluss der Glottis gewährleistet war.

Die Tiere wurden, wie bereits in Vorversuchen beschrieben (Zausinger et al., 2002), an einen Kleintierrespirator (*Kent Scientific, USA*) angeschlossen und mit einem Gemisch aus 30 % Sauerstoff, 70 % Lachgas und 0,8–1,5 % Halothan bzw. 2 % Isofluran druckkontrolliert beatmet. In beiden Fällen wurde für die Verdunstung des flüssigen Narkosemittels ein Narkosemittelverdampfer (*Dräger Vapor, Dräger Medical, Deutschland*) verwendet. Im zweiten Teil des Versuchs musste ein anderer Kleintierrespirator (*Hugo Sachs Elektronik, Deutschland*) verwendet werden, da das ursprüngliche Gerät defekt war. Um eine Austrocknung der Augen während des Versuches zu verhindern, wurden die Augen mit Bepanthen Augen- und Nasensalbe (*Bayer Vital, Deutschland*) bestrichen.

2.2.3 Temperaturmessung

Die kontinuierlich rektal gemessene Körpertemperatur wurde mithilfe einer Heizplatte, die von einem Homöostasegerät (*Harvard Homeothermic Blanket Control Unit, Harvard Apparatus, Großbritannien*) gesteuert wurde, konstant bei 37 °C gehalten. Da die Gehirntemperatur besser mit der Temperatur unter dem M. temporalis korreliert als mit der rektal gemessenen Körpertemperatur, wurde eine Sonde (*Mantelthermoelement D40, Philips, Deutschland*) rechts unter dem M. temporalis platziert. Hierüber wurde die subtemporale Temperatur kontinuierlich gemessen und mittels einer Heizlampe (*R95 Infraphil 100 W, Philips, Deutschland*), die von einem Homöostasegerät (*K40, Philips, Deutschland*) gesteuert wurde, konstant bei 37 °C gehalten. Während der Hypothermiephasen wurde sowohl die rektale als auch die subtemporale Temperatur mittels Auflage von Kühlelementen auf 33 °C gesenkt und bei dieser Temperatur konstant gehalten.

2.2.4 Chirurgische Präparation

Nach der Positionierung des Tieres in einem stereotaktischen Rahmen in Bauchlage wurde eine ca. 1,5 cm lange, mediane Inzision der Kopfhaut durchgeführt. Der Schädelknochen wurde freigelegt und die Hautlappen wurden mittels Nahtmaterial (*Ethicon, Prolene 4–0, Deutschland*) an der Seite fixiert. Über dem Versorgungsgebiet der A. cerebri media wurde beidseits, ca. 5 mm lateral sowie ca. 1 mm okzipital vom Bregma, jeweils eine Bohrlochtrepanation von ca. 1,5 mm Durchmesser durchgeführt (*Miniaturfräse: Uni-Drive N, Paggen Werkzeugtechnik, Deutschland, Bohrer: Aesculap GD870R, 0,8 x 5,1 mm, B. Braun Melsungen AG,*

Deutschland). Die Dura mater wurde jeweils erhalten. Eine weitere Bohrlochtrepanation erfolgte ca. 1 mm lateral der Sutura sagittalis sowie ca. 1 mm rostral der Sutura lambdoidea (vgl. Abb. 3).

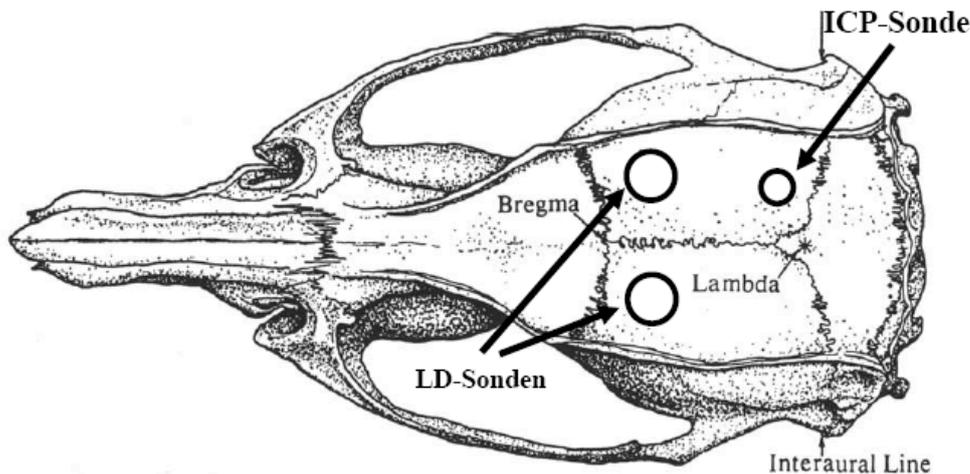


Abbildung 3: Schematische Zeichnung des Rattenschädels mit Darstellung der 3 Bohrlochtrepanationen (Dissertation S. Thal, 2005)

2.2.5 Intrakranielle Druckmessung (ICP)

Zur intrakraniellen Druckmessung wurde die Dura mater im Bereich der okzipitalen Trepanation mittels einer 20 G-Injektionskanüle vorsichtig inzidiert und anschließend eine ICP-Sonde (*Codman Microsensor Basic Parenchymsonde, Codman, Deutschland*) mithilfe eines Mikromanipulators (*David Kopf Instruments, USA*) ca. 2 mm tief in das parietale Marklager implantiert. Die Sonde wurde mittels Dentalzement (*Poly F Plus Bondex, Dentsply DeTrey, Deutschland*) am Schädelknochen befestigt. Die ICP-Messung erfolgte mit einem Codman ICP Express System (*Codman, Deutschland*). Der zerebrale Perfusionsdruck (CPP) wurde anhand der Formel $CPP = MAP - ICP$ berechnet.

2.2.6 Messung des lokalen zerebralen Blutflusses mittels Laser-Doppler-Fluxmetrie (rCBF)

Die Versuchstiere wurden auf dem Rücken gelagert und in einem stereotaktischen Rahmen (*Modell 900, David Kopf Instruments, USA*) fixiert. Zwei abgewinkelte Laser-

Doppler-Sonden (*Moor Sonden Typ P5bs, Moor Instruments, Großbritannien*) wurden mithilfe von Mikromanipulatoren unter Sicht auf die Dura mater, durch die bereits angelegten Bohrlöcher im Versorgungsgebiet der Aa. cerebri media, aufgesetzt (vgl. Abb. 3). Die Sonden wurden an ein 2-Kanal-Laser-Doppler-Gerät (*MBF3D, Moor Instruments, Großbritannien*) angeschlossen. Somit war eine kontinuierliche Messung (2 Hz) der lokalen zerebralen Durchblutung in beiden Hemisphären möglich. Um eine Verfälschung der Laser-Doppler-Werte durch die Raumbeleuchtung zu vermeiden, wurde der Kopfbereich der Tiere mit einem lichtundurchlässigen Tuch abgedeckt.

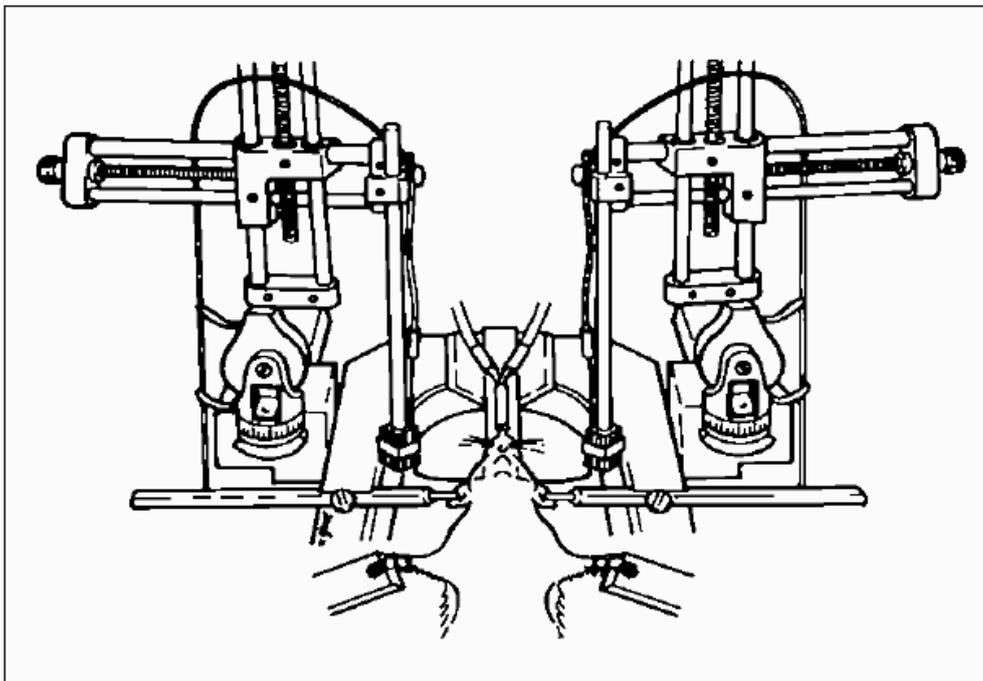


Abbildung 4: Auf dem Rücken gelagertes Versuchstier mit angelegten LD-Sonden (Dissertation K. Schöller, 2003)

2.2.7 Messung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP)/Blutgasanalyse

Der Schwanz der Versuchstiere wurde mit Leukoplast fixiert. Anschließend erfolgte eine ca. 1,5 cm lange mediane Hautinzision am proximalen Ende des Schwanzes mit Durchtrennung der Faszie. Die Schwanzarterie wurde freipräpariert und mit einem Katheter (*Polythene Katheter, OD 0,96 mm, SIMS Portex, Großbritannien*) punktiert. Die Blutdruckmessung erfolgte mittels eines Transducers (*DTX Plus DT-XX, Becton-Dickinson Medical, Deutschland*). Der Katheter wurde kontinuierlich mit 0,9 % Kochsalzlösung, mit einer Rate von 0,5 ml/h, gespült (*Infusionspumpe WPI SP100i*

Syringe Pump, World Precision Instruments, USA), um ein Thrombosieren des Katheters bzw. der Arterie zu verhindern. Während der Narkose wurde alle 30 Minuten mit einer heparinbeschichteten Kapillare (Chiron Diagnostics, Deutschland) Blut (60 µl Blut) aus dem Schwanzarterienkatheter entnommen und eine Blutgasanalyse durchgeführt (pO₂, pCO₂, pH, Laktat, Glucose, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺, Chiron Diagnostics 860, Deutschland). Je nach pCO₂ erfolgte daraufhin eine Anpassung der Beatmungseinstellungen mit dem Ziel, den pCO₂ im physiologischen Bereich zu halten.

2.2.8 Induktion der Subarachnoidalblutung

Die Subarachnoidalblutung (SAB) wurde mit einem intraluminalen Faden (Bederson et al., 1995, Schwartz et al., 2000) wie beschrieben (Bermueller et al., 2006, Schöller et al., 2007, Zausinger et al., 2004) induziert (vgl. Abb. 5).

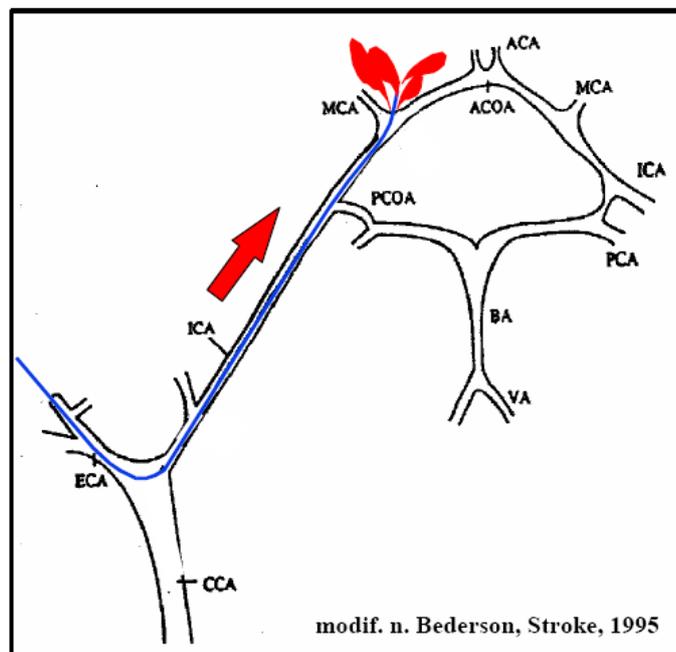


Abbildung 5: Schema der Fadenperforation (Dissertation S. Thal, 2005)

ECA: A. carotis externa, ICA: A. carotis interna, CCA: A. carotis comm., MCA: A. cerebri media, ACA: A. cerebri anterior, PCA: A. cerebri posterior, BA: A. basilaris, VA: A. vertebralis, ACOA: A. cerebri comm.. anterior, PCOA: A. cerebri comm.. posterior

Im rasierten Halsbereich rechts paramedian wurde ein Hautschnitt von ca. 1,5 cm Länge angelegt. Anschließend wurde das Platysma durchtrennt. Nach Abschieben

des Fettgewebes, der Gl. submandibularis sowie des M. sternocleidomastoideus nach lateral und der Zungenbeinmuskulatur nach medial, stellte sich die A. carotis communis dar. Die Karotisbifurkation wurde mikrochirurgisch unter Schonung des N. vagus freipräpariert. Die A. carotis externa wurde ca. 0,5 cm distal der Bifurkation ligiert sowie die Abgänge der Aa. occipitalis und thyroidea cranialis koaguliert. Die A. carotis communis sowie die A. carotis interna wurden mittels Aneurysmaclips temporär verschlossen. Anschließend wurde die A. carotis externa unmittelbar proximal der Fadenligatur durchtrennt. Ein monofiler Faden (*Prolene 3-0, Länge 2,5 cm, Ethicon, Deutschland*) wurde in den A. carotis externa-Stumpf eingeführt, danach wurde der Gefäßstumpf mittels Ligatur abgedichtet. Die Fadenstärke wurde entsprechend der Arbeit von Schwartz und seinen Mitautoren aus dem Jahr 2000 gewählt. Nach Entfernung der Clips über der A. carotis communis sowie der A. carotis interna wurde der monofile Faden vorsichtig unter Laser-Doppler-Kontrolle vorgeschoben. Beim Erreichen der A. cerebri media zeigte sich ipsilateral ein LD-Abfall um ca. 80 %. Daraufhin wurde der Faden weiter vorgeschoben, wodurch es zur Perforation des Gefäßes und somit zur Induktion der SAB kam. Es zeigte sich sofort ein beidseitiger Abfall des Laser-Doppler-Signals mit gleichzeitigem Anstieg der ICP-Werte (Schmid-Elsaesser et al., 1998). Der Faden wurde sofort zurückgezogen sowie der A. carotis externa-Stumpf mittels Fadenligatur verschlossen. Die gesamte Ischämiezeit betrug während der Prozedur maximal 5 Minuten.

2.2.9 Abschluss der Operation

Je nach Versuchsgruppe wurde spätestens 360 Minuten nach der SAB die Operation beendet. Zuerst wurde die Hautinzision am Hals vernäht. Anschließend wurde der arterielle Katheter entfernt, die Schwanzarterie ligiert und die Hautinzision vernäht. Nach dem Entfernen der LD-Sonden wurde das Versuchstier auf den Bauch gedreht, die ICP-Sonde und die Temperatursonden wurden entfernt sowie die Hautinzision am Schädel vernäht. Daraufhin wurde das Narkosegas ausgeschaltet, woraufhin das Tier nach wenigen Minuten spontan zu atmen begann, sodass das Beatmungsgerät ausgestellt werden konnte und die Ratte sofort extubiert wurde. Für den Rest des Versuches wurden die Tiere in Einzelkäfigen mit freiem Zugang zu Futter und Wasser gehalten.

2.2.10 Datenerfassung

Alle während der Narkose erfassten Daten, d. h. Temperatur, MAP, ICP, rCBF, wurden mittels PC und der Datenerfassungssoftware DasyLab 5.0 (*measX, Deutschland*) beginnend 30 Minuten vor Induktion bis zu 360 Minuten (je nach Versuchsgruppe) nach Induktion der SAB aufgezeichnet. Die Werte wurden mit dem Programm FlexPro 5.0 (*Weisang, Deutschland*) ausgewertet. Als Zeitpunkt der SAB wurde der gleichzeitige Abfall des beidseitigen LD-Signals und der ICP-Anstieg definiert. Die Basiswerte für den Laser-Doppler-Fluss wurden seitengetrennt durch die Mittelung der Werte zwischen 15 Minuten und 5 Minuten vor der SAB errechnet. Die weiteren LD-Werte wurden in 3-Minuten-Intervallen gemittelt und in Prozent des Basiswertes umgerechnet. Ebenfalls erfolgte die Mittelung aller anderen Werte (MAP, ICP, Temperatur) alle 3 Minuten, 12 Minuten vor der SAB und bis zu 360 Minuten nach der SAB. Die gespeicherten Daten wurden mittels SigmaPlot 2000 (*Systat Software, Deutschland*) grafisch dargestellt.

2.3 Versuchsgruppen

Im ersten Teil der Versuche wurden die Tiere einer der folgenden Gruppen zufällig zugeteilt:

- 1.) SAB unter normothermen Bedingungen (37 °C) („SAB“, n = 10)
- 2.) 120 Minuten Hypothermie (33 °C) beginnend 60 Minuten nach induzierter SAB („SAB + HT1“, n = 10)
- 3.) 120 Minuten Hypothermie (33 °C) beginnend 180 Minuten nach induzierter SAB („SAB + HT2“, n = 10)

Die Tiere wurden für einen Zeitraum von 7 Tagen nach der Operation bezüglich Mortalität, Gewichtszunahme und neurologischen Defiziten beobachtet und anschließend zur Quantifizierung des morphologischen Hirnschadens gekeult. Tiere, die während der Operation verstorben waren, wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

In einem zweiten Versuchsteil wurden Tiere ebenfalls zufällig einer der drei oben genannten Gruppen zugeteilt. Dabei wurden Tiere, die während der Operation oder während der 24-stündigen Beobachtungszeit gestorben waren, von der Auswertung ausgeschlossen und durch ein neues Versuchstier ersetzt, bis jeweils 7 Tiere pro Gruppe vorhanden waren. In diesem Versuchsteil wurden die neurologischen Defizite nach einer Überlebenszeit von 24 Stunden evaluiert, anschließend wurden die Tiere zur Messung des Hirnwassergehaltes gekeult.

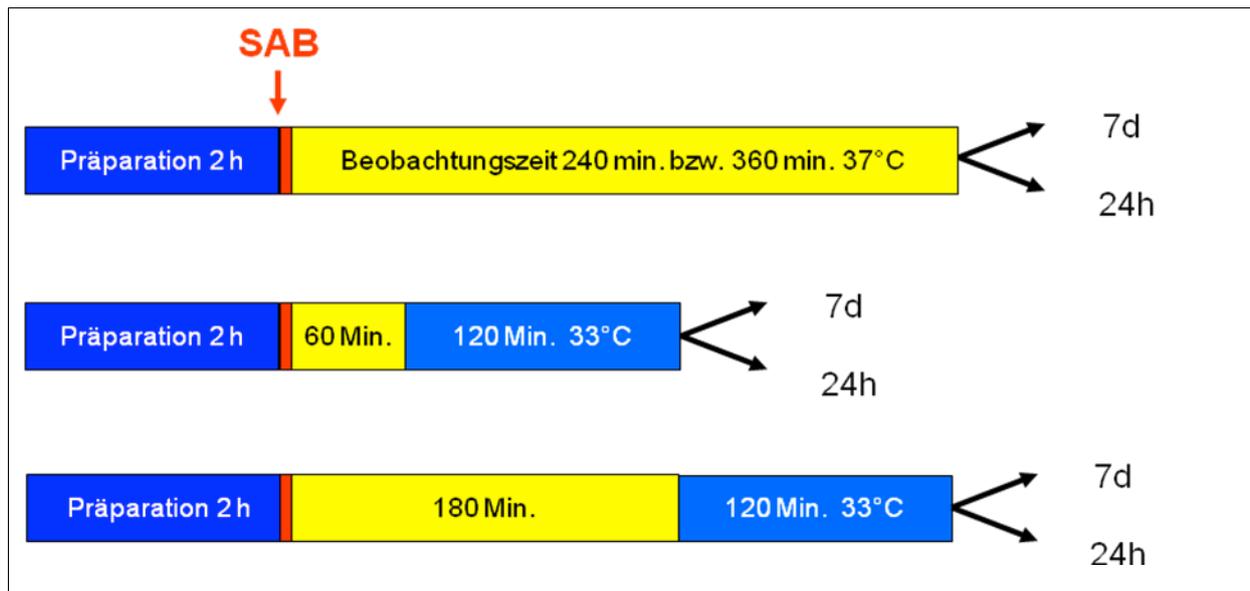


Abbildung 6: Darstellung der Versuchsgruppen

2.4 Gewicht

Als Parameter für den Allgemeinzustand wurde präoperativ und am 1., 2., 3., 5. und 7. postoperativen Tag das Körpergewicht der Tiere gemessen.

2.5 Quantifizierung der postoperativen neurologischen Defizite

Zur Quantifizierung der neurologischen Defizite nach der SAB wurden die Tiere postoperativ verschiedenen Tests unterzogen. Die Beurteilung der Tiere erfolgte verblindet. Hierfür wurde ein modifizierter Score nach Katz und seinen Mitautoren (1995) benutzt, in dem Vigilanz/Atmung, Hirnnerven, Motorik, Sensorik und Koordination berücksichtigt werden. Nach diesem Neuroscore erhielten Ratten ohne

jegliches Defizit 0 Punkte, die maximal erreichbare Punktzahl entsprechend dem größten neurologischen Defizit waren 175 Punkte.

1.) Generelles Verhalten		
a.) Vigilanz	erkundet Umgebung spontan	0
	wach, jedoch passiv	10
	komatös	20
b.) Atmung	normal	0
	abnormal	20
2.) Hirnnerven		
a.) Geruchssinn	vorhanden	0
	nicht vorhanden	4
b.) Visus	vorhanden	0
	nicht vorhanden	4
c.) Kornealreflex	vorhanden	0
	nicht vorhanden	4
d.) Bewegung der Barthaare	vorhanden	0
	nicht vorhanden	4
e.) Gehör	vorhanden	0
	nicht vorhanden	4
3.) Motorische Leistung		
a.) Schwanzbewegung	normal	0
	steif/unkoordiniert	5
	gelähmt	10
b.) Bewegung Extremitäten (jeweils einzeln bewertet)	normal	0
	steif/unkoordiniert	5
	gelähmt	10
4.) Sensorik		
a.) Schwanz	vorhanden	0
	nicht vorhanden	10
b.) Extremitäten (jeweils einzeln bewertet)	vorhanden	0
	nicht vorhanden	10
5.) Koordination		
a.) Aufrichtreflex	vorhanden	0
	nicht vorhanden	5
b.) Bodengreifreflex	vorhanden	0
	nicht vorhanden	5
c.) Stehenbleiben am Ende eines Tisches	vorhanden	0
	nicht vorhanden	5
Insgesamt		175

Tabelle 2: Neuroscore

2.6 Histologische Aufbereitung

Die Tiere des ersten Versuchsteils wurden am 7. postoperativen Tag in tiefer Äthernarkose (*Diethylether, Chinosolfabrik, Deutschland*) transkardial perfundiert. Die Perfusion erfolgte über eine im linken Ventrikel liegende Kanüle für 15 Minuten nach Eröffnung des Herzohres mit 100 ml kalter Kochsalzlösung, bovinem Serumalbumin (10 g/l) und Heparin (10 IE/l). Das entnommene Gehirn wurde eingebettet (*Tissue-Tek®*, *Sakura Finetek Europe, Niederlande*) und bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Mit einem Kryostat (*CryoStar HM 560, Microm, Deutschland*) wurden je sechs $10\text{ }\mu\text{m}$ dicke koronare Hirnschnitte im Bereich Bregma +0,48 mm sowie Bregma -3,14 mm angefertigt (Paxinos und Watson, 1998). Nach Färbung mit Cresylviolett nach Nissl wurden die Gehirnschnitte planimetrisch im Bereich des Cortex (M1/M2), des Caudoputamens (CP) und des Hippocampus (CA1–3) durch Zählung der intakten Neurone ausgewertet (*OPTIMAS 6. 51, BioScan Inc., USA*).

2.7 Quantifizierung des Hirnwassergehaltes

Bei den Tieren des zweiten Versuchsteils, die die Operation 24 Stunden überlebt haben, wurde der Hirnwassergehalt anhand der Feucht-Trocken-Methode bestimmt.

Hierfür wurden die Tiere mit Äther (*Diethylether, Chinosolfabrik, Deutschland*) narkotisiert und anschließend dekapitiert. Nach Eröffnen der Schädelkalotte wurde das Gehirn von den Hirnhäuten befreit und als Ganzes entnommen. Die Bulbi olfactorii und das Kleinhirn wurden durch einen senkrechten Schnitt vom Großhirn abgetrennt; anschließend wurden die Hirnhemisphären entlang der Mittellinie getrennt.

Zur Ermittlung des Feuchtgewichtes wurden dicht verschließbare Wägeschälchen aus Glas verwendet (*Fa. Memmert, Deutschland*). Diese wurden für 24 Stunden bei $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ getrocknet, in einem Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und anschließend gewogen (*Fa. Mettler, Deutschland*). Die Wägeschälchen wurden mit je einer frisch entnommenen Hirnhemisphäre befüllt, luftdicht verschlossen und erneut gewogen. Der erzielte Wert abzüglich des Gewichtes des leeren Wägeschälchens entsprach dem Feuchtgewicht des Hirngewebes.

Danach wurde das Wägeschälchen geöffnet und das Hirngewebe für 24 Stunden bei 110 °C vollständig getrocknet. Der Wassergehalt der Hemisphären in % wurde mittels folgender Formel ermittelt:

$$\text{Wassergehalt} = (\text{Gewicht des feuchten Gewebes} - \text{Gewicht des trockenen Gewebes} / \text{Gewicht des trockenen Gewebes}) * 100$$

Zur Ermittlung des physiologischen Hirnwassergehaltes der Ratte wurde der Hirnwassergehalt bei fünf Tieren mit der genannten Methode ermittelt.

2.8 Statistische Datenauswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Auswertesoftware SigmaStat 3.1 (SPSS Inc., USA). Die Daten wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test analysiert. Der Dunn's Test diente als Post-hoc-Test. Vergleiche innerhalb einer Gruppe wurden mit dem Signed-rank Test durchgeführt. Bei Mehrfachvergleichen wurde der Student-Newman-Keuls-Test angewendet. Die Mortalität zwischen den Gruppen wurde mit dem survival log-rank Test verglichen.

Unterschiede wurden ab einem Wert von $p < 0,05$ als signifikant angesehen. Die Daten wurden, soweit nicht anders erwähnt, als Mittelwert (MW) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) angegeben.

3. ERGEBNISSE

3.1 Teil 1 (7 Tage Überlebensdauer)

3.1.1 Temperatur

Die subtemporal gemessene Temperatur lag vor Beginn der Hypothermie bei 36,5 °C (Abb. 7) ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Bereits 6 Minuten nach Beginn der Kühlung zeigte sich eine signifikant niedrigere Temperatur ($p < 0,001$) in den Hypothermiegruppen im Vergleich zur Kontrolle. Die gewünschte Temperatur von ca. 33 °C wurde in allen Gruppen nach 30 Minuten erreicht und für 120 Minuten aufrechterhalten. Die Aufwärmphase dauerte 30 Minuten. Anschließend wurde erneut die Normothermie ohne signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe erreicht.

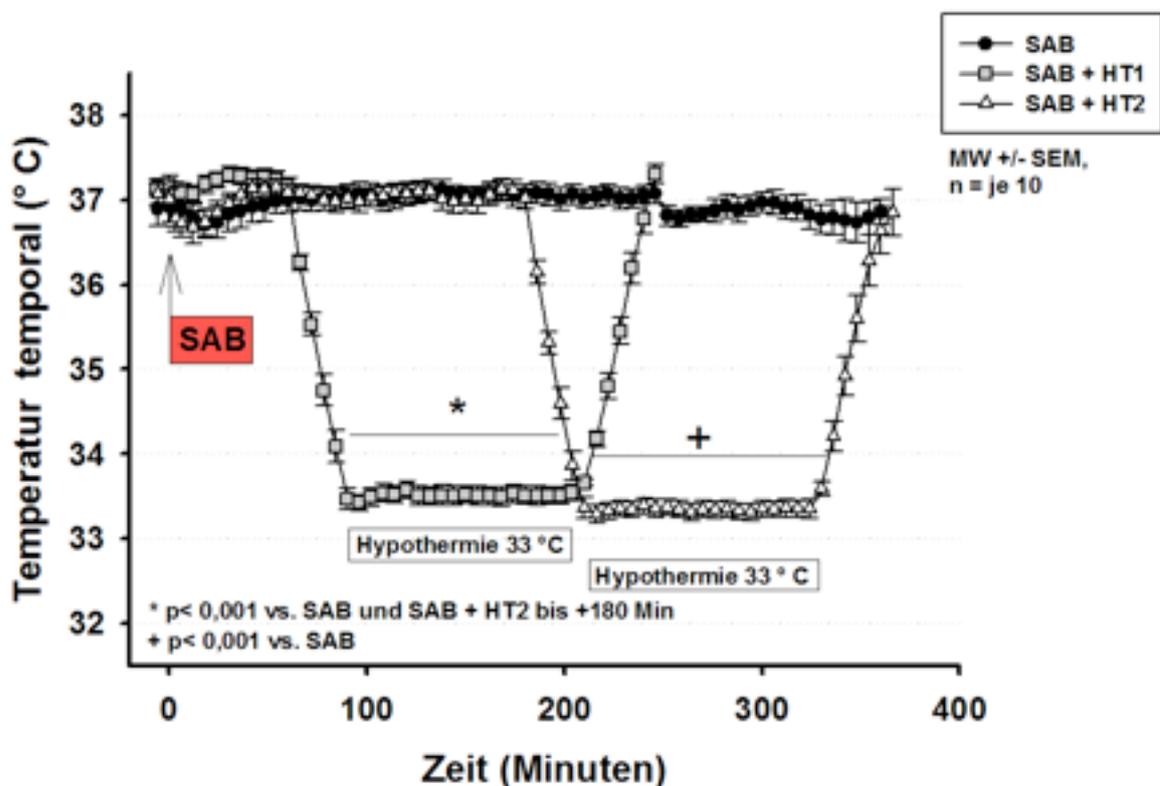


Abbildung 7: Verlauf der subtemporal gemessenen Temperatur. Aufgetragen sind über 3 Minuten gemittelte Werte gegen die Zeit

Die rektal gemessene Temperatur lag vor der Hypothermie um die 37 °C (Abb. 8) ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Während der

Hypothermiephasen erreichte die Körperkerntemperatur in den Behandlungsgruppen $33,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$; $p < 0,001$ im Vergleich zur Kontrollgruppe. Nach Beendigung der Kühlphase wurde innerhalb von 30 Minuten die Normothermie erreicht.

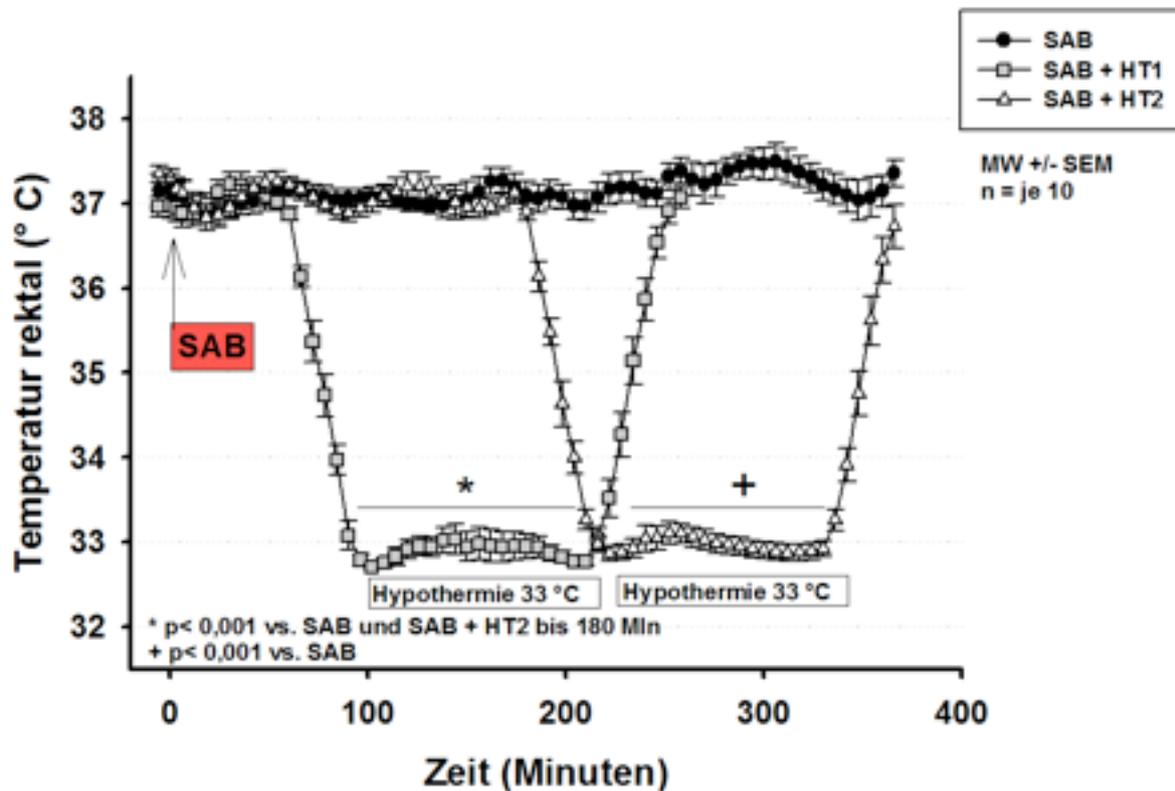


Abbildung 8: Verlauf der rektal gemessenen Temperatur. Aufgetragen sind über 3 Minuten gemittelte Werte gegen die Zeit

3.1.2 Physiologische Parameter

Während der gesamten Operation lag der pH-Wert im Normbereich mit ca. $7,37 \pm 0,04$ ohne Unterschiede zwischen den Gruppen (Tab. 3). Tendenziell zeigte sich im Verlauf der Operation ein leichter statistisch nicht signifikanter Abfall des pH-Wertes. Am deutlichsten zeigte sich dieser Verlauf in der SAB + HT2-Gruppe ($7,39 \pm 0,04$ präoperativ vs. $7,32 \pm 0,04$ zum Zeitpunkt +15 Minuten nach Induktion der Blutung).

In allen Gruppen bestand während der Operation eine konstante Normokapnie mit ca. $39,8 \pm 3,5 \text{ mmHg}$.

Der PaO₂ war zu allen Zeitpunkten und in allen Gruppen leicht erhöht. Insgesamt gab es keine signifikanten Unterschiede bis auf ein signifikant erhöhtes PaO₂ in der Kontrollgruppe vs. der 2. Hypothermiegruppe am Ende der Operation (109,8 ± 103 mmHg vs. 92,4 ± 10,5 mmHg). Ebenfalls in der 2. Hypothermiegruppe war das PaO₂ zum Zeitpunkt +240 Minuten nach der SAB, d. h. während der Hypothermiephase, signifikant höher als zu allen anderen Zeitpunkten. Ansonsten gab es keine relevanten Veränderungen des PaO₂ innerhalb einer Gruppe.

Der mittlere arterielle Blutdruck war während der gesamten Operation in allen Gruppen konstant bei ca. 80 mmHg ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. In der SAB + HT2-Gruppe ist der MAP zum Zeitpunkt +60 Minuten signifikant höher mit ca. 90 mmHg als 5 Minuten vor und 15 Minuten nach Induktion der Blutung.

		Zeitpunkt (Minuten)				
	Gruppe	-5	+15	+60	+240	+360
pH	SAB	7,38 ± 0,04	7,36 ± 0,04	7,38 ± 0,05	7,36 ± 0,03	7,36 ± 0,02
	SAB + HT1	7,39 ± 0,1	7,37 ± 0,1	7,38 ± 0,0	7,34 ± 0,0	-
	SAB + HT2	7,39 ± 0,04	7,32 ± 0,04	7,36 ± 0,02	7,36 ± 0,04	7,38 ± 0,04
PaO ₂ (mmHg)	SAB	95,0 ± 15	92,5 ± 15,7	100,4 ± 18,8	102,0 ± 17,5	109,8 ± 10,3
	SAB + HT1	94,8 ± 16,0	93,6 ± 18,6	104,4 ± 17,5	101,3 ± 15,3	-
	SAB + HT2	94,3 ± 10,4	92,9 ± 12,8	95,5 ± 9,7	111,5 ± 11,7	92,4 ± 10,5
PaCO ₂ (mmHg)	SAB	40,1 ± 2,7	41,4 ± 3,2	38,9 ± 3,6	40,4 ± 4,5	39,4 ± 1,5
	SAB + HT1	37,7 ± 3,2	40,4 ± 4,2	39,7 ± 3,6	40,6 ± 3,2	-
	SAB + HT2	37,3 ± 3,1	38,8 ± 2,8	41,4 ± 2,3	40,1 ± 5,2	40,1 ± 3,0
MAP (mmHg)	SAB	79,0 ± 12,0	77,6 ± 12,3	80,2 ± 11,7	78,9 ± 13,4	88,4 ± 22,8
	SAB + HT1	79,1 ± 14,6	82,7 ± 12,4	83,7 ± 14,4	75,7 ± 15,1	-
	SAB + HT2	78,1 ± 11,1	78,0 ± 10,7	89,2 ± 11,6	86,8 ± 16,5	85,2 ± 10,2

Tabelle 3: Arterielle Blutgase und mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) zu verschiedenen Zeitpunkten vor und nach Induktion der SAB dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung, n = 10 pro Gruppe

Über die gesamte Operationsdauer waren die Blutglukosewerte leicht erhöht (103,8 ± 13,8 mg/dl – 128,4 ± 34,5 mg/dl). Es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Glukose (mg/dl)	SAB	SAB + HT1	SAB + HT2
-5 Min.	128,4 ± 34,5	115,1 ± 26,8	102,8 ± 13,8
+15 Min.	121,4 ± 31,8	117,2 ± 31,4	103,4 ± 11,5
+60 Min.	117,2 ± 26,6	125,8 ± 35,2	110,0 ± 15,9
+240 Min.	114,9 ± 23,7	125,6 ± 43,1	110,1 ± 13,1
+360 Min.	106,2 ± 21,8	-	114,2 ± 17,8

Die Konzentration von Laktat im Blut war im Normbereich und während der Operation konstant ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

Laktat (mmol/l)	SAB	SAB + HT1	SAB + HT2
-5 Min.	1,11 ± 0,53	0,78 ± 0,10	0,79 ± 0,20
+15 Min.	0,95 ± 0,36	0,84 ± 0,20	0,84 ± 0,18
+60 Min.	0,91 ± 0,38	0,82 ± 0,20	0,64 ± 0,15
+240 Min.	0,89 ± 0,26	1,01 ± 0,30	0,81 ± 0,18
+360 Min.	1,00 ± 0,26	-	0,80 ± 0,17

3.1.3 Intrakranieller Druck (ICP)

Vor der Blutung lag der ICP aller Tiere bei ca. 7 mmHg. Unmittelbar nach Induktion der Blutung kam es in allen Gruppen innerhalb von wenigen Sekunden zu einem steilen Anstieg des ICPs auf Werte von ca. 40 mmHg (Abb. 9). Dieser Anstieg war hoch signifikant im Vergleich zu den Ausgangswerten vor der SAB. Innerhalb von 20 Minuten fiel der ICP auf ein Niveau von ca. 20 mmHg und verblieb dort für die gesamte OP-Dauer. In der SAB + HT2-Gruppe fiel ein leicht höherer ICP im Vergleich zu den anderen zwei Gruppen mit Werten von ca. 26 mmHg in der Plateauphase auf. Zu einigen wenigen Zeitpunkten (+90 bzw. +96 Minuten nach Induktion der SAB) war der ICP in dieser Gruppe signifikant höher als in der 1. Hypothermiegruppe (26,8 ± 7 mmHg vs. 17,6 ± 5,6 mmHg bzw. 26,8 ± 7 mmHg vs. 16,4 ± 5,3 mmHg).

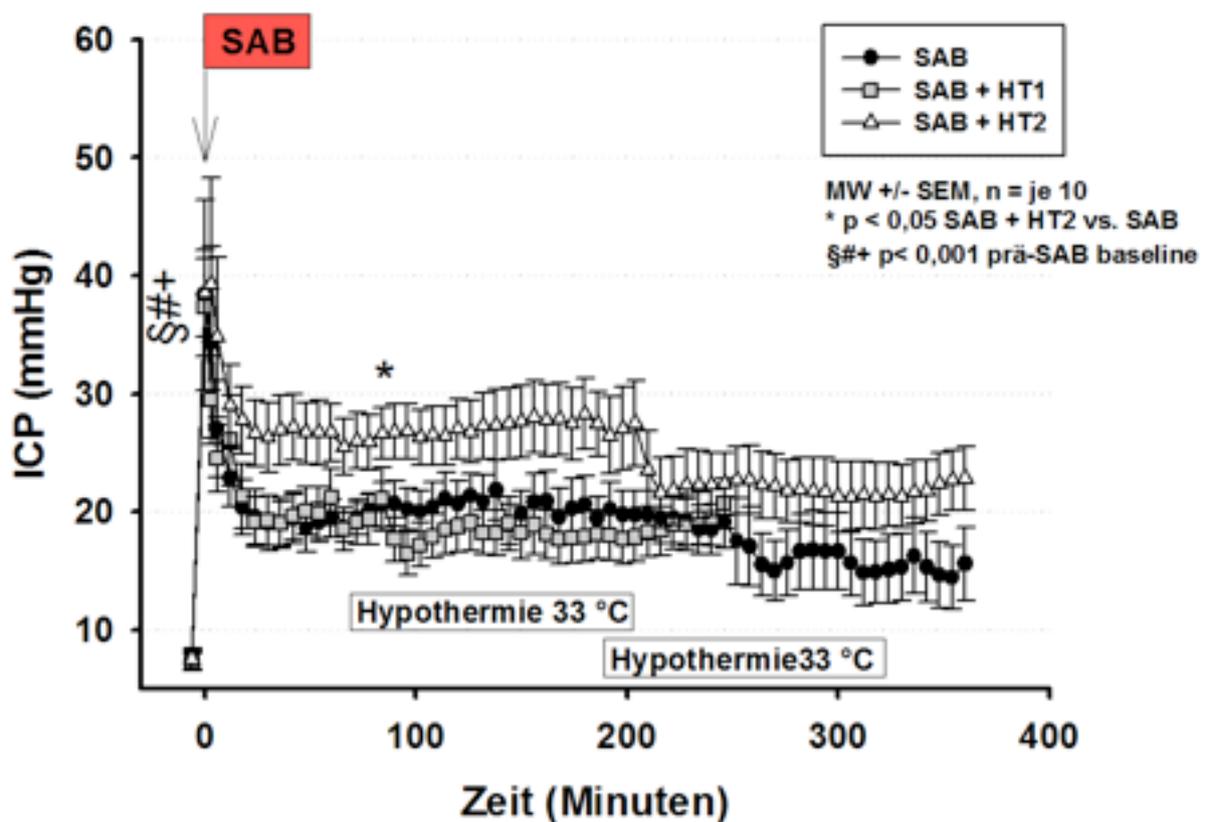


Abbildung 9: Verlauf des intrakraniellen Druckes (ICP) in den verschiedenen Gruppen

Während in der Kontrollgruppe der ICP konstant hoch blieb, zeigte sich in der SAB + HT1-Gruppe ein statistisch signifikanter Abfall des ICP um ca. 20 % 30 Minuten nach Induktion der Hypothermie im Vergleich zu Baseline-Werten vor Beginn der Kühlung (Abb. 10). Nach Beendigung der Hypothermiephase stieg der ICP erneut an, erreichte jedoch nicht ganz die Werte vor der Hypothermie.

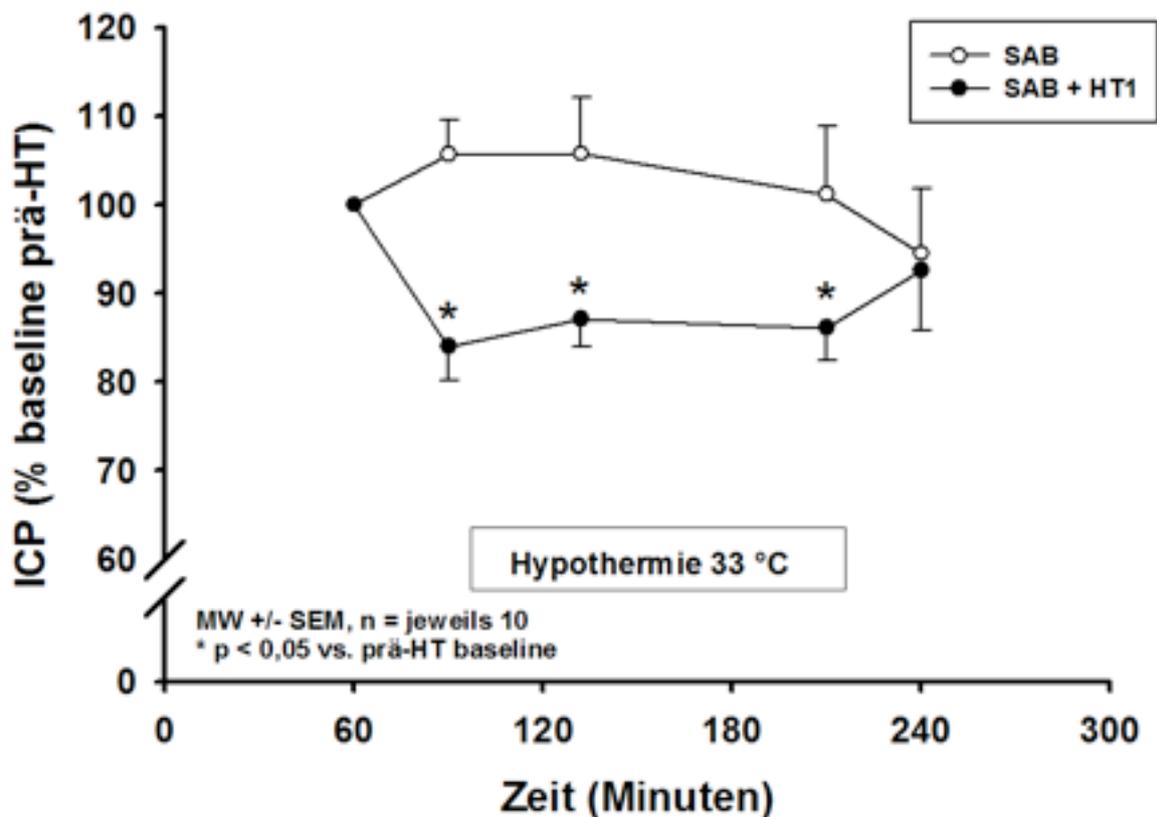


Abbildung 10: Relative Änderung des intrakraniellen Druckes nach Einleitung der Hypothermie 60 Minuten nach der SAB

Auch in der 2. Hypothermiegruppe zeigte sich ein statistisch signifikanter Abfall des ICPs um 20–30 % im Vergleich zu der vorangehenden normothermen Phase. In dieser Gruppe blieb der ICP-Abfall auch nach Wiedererwärmen auf 37 °C signifikant geringer als vor der Hypothermie (Abb. 11).

Bei der Kontrollgruppe zeigte sich kurzzeitig auch ein signifikanter Abfall des ICPs zum Zeitpunkt +210 Minuten nach der SAB vs. +180 Minuten. Dieser Abfall war jedoch weniger stark ausgeprägt als in der Hypothermiegruppe (5 im Vergleich zu 25 %). Zu den Zeitpunkten +330 Minuten bzw. +360 Minuten war ein deutlich stärkerer Abfall des ICPs in der Kontrollgruppe zu verzeichnen (–15–20 %). Dies ist durch das Versterben der Tiere mit einer schweren SAB zu erklären.

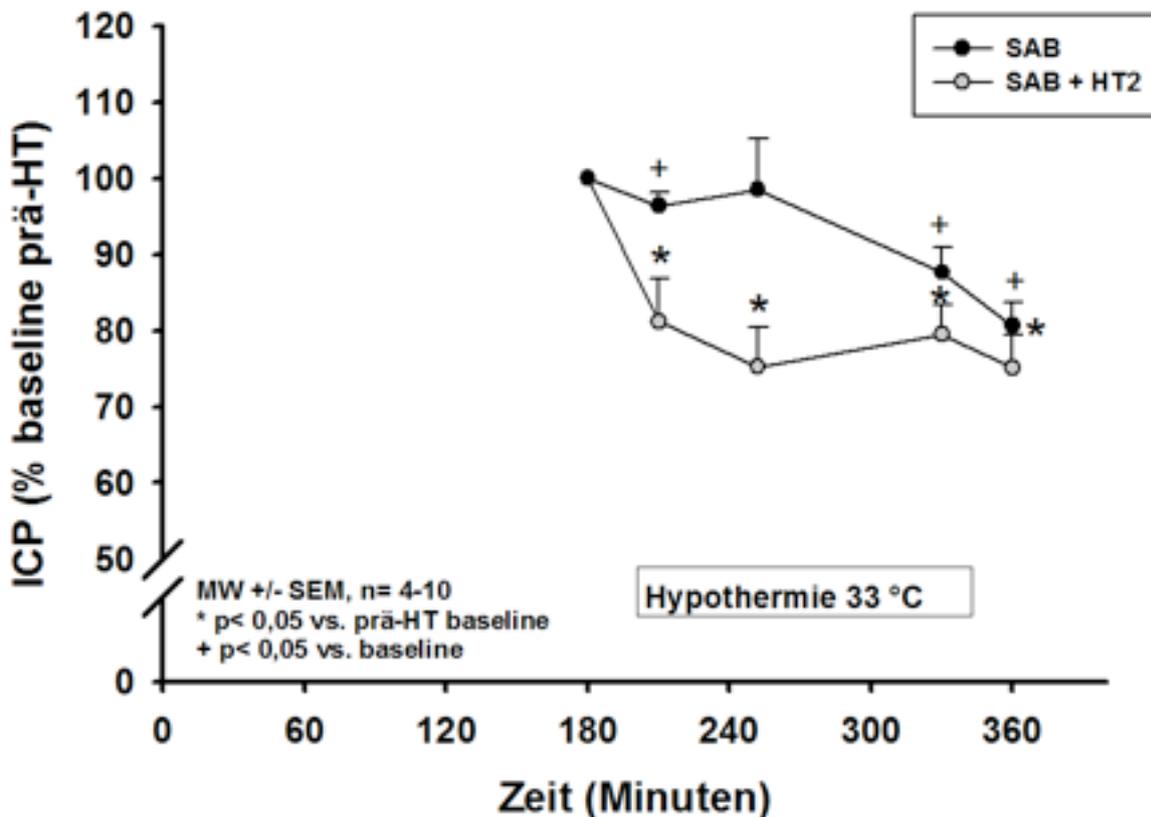


Abbildung 11: Relative Änderung des intrakraniellen Druckes nach Einleitung der Hypothermie 180 Minuten nach der SAB

3.1.4 Regionale zerebrale Durchblutung (rCBF)

Nach Induktion der SAB kam es zu einem signifikanten Abfall des ipsilateralen rCBF auf ca. 15 % des Ausgangswertes (Abb. 12). Innerhalb von 30 Minuten erholte sich die Durchblutung auf 60 %, nach etwa 120 Minuten wurden 80 % des Ausgangswertes erreicht. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrollgruppe und 1. Hypothermiegruppe. Die 2. Hypothermiegruppe zeigte jedoch bereits früh nach Induktion der SAB eine schlechtere Erholung der Durchblutung. Dies war zunächst nur punktuell ab der 100. Minute durchgehend statistisch signifikant. Die Hypothermie hatte keine Effekte auf die Erholung der Durchblutung.

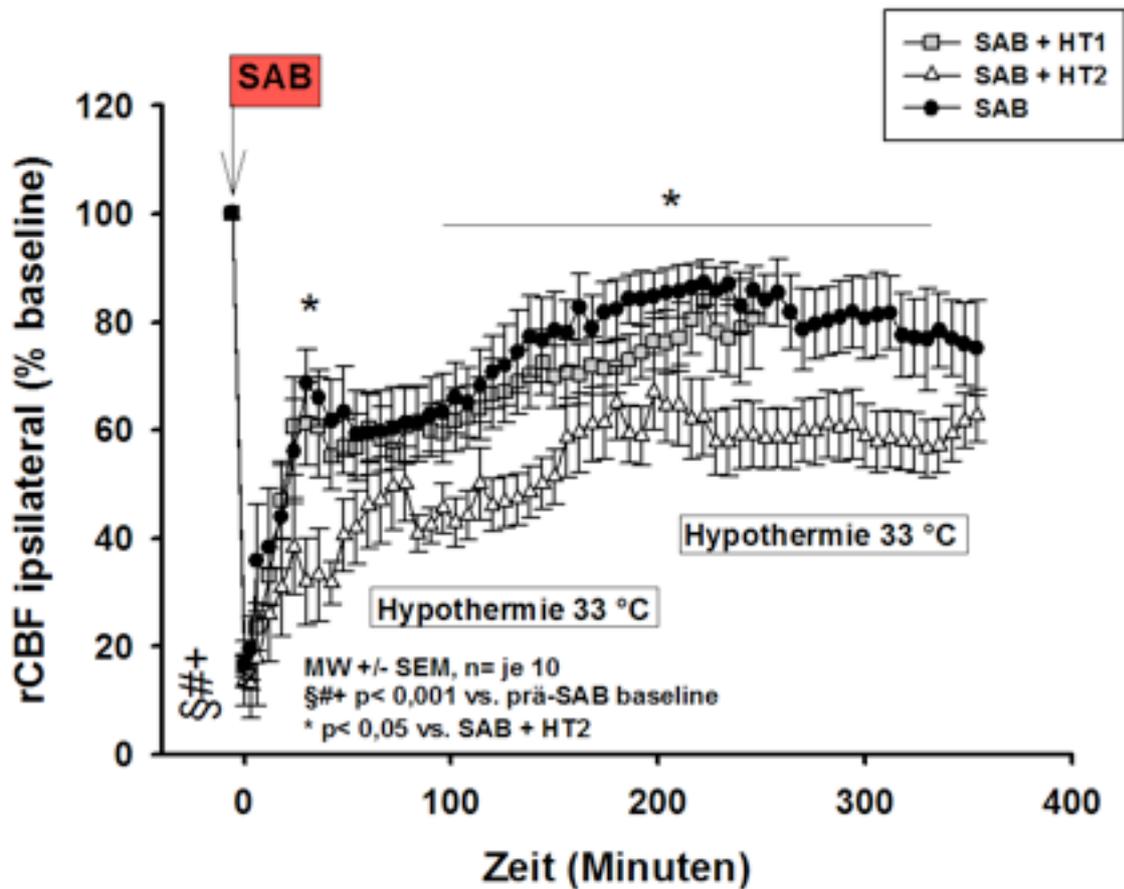


Abbildung 12: Verlauf der rechtshemisphärischen (ipsilateralen) regionalen Hirndurchblutung in den verschiedenen Gruppen

3.1.5 Mortalität

In allen Gruppen betrug die Mortalität 40 % ohne signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. In der Kontrollgruppe ist ein Tier noch am Tag der OP gestorben. Am 2. postoperativen Tag sind zwei Tiere und am 6. postoperativen Tag ein Tier gestorben. In der 1. Hypothermiegruppe verstarb je ein Tier am 1., 2., 3. und 5. Tag nach der SAB und in der 2. Hypothermiegruppe am 1., 3., 4. und 6. Tag.

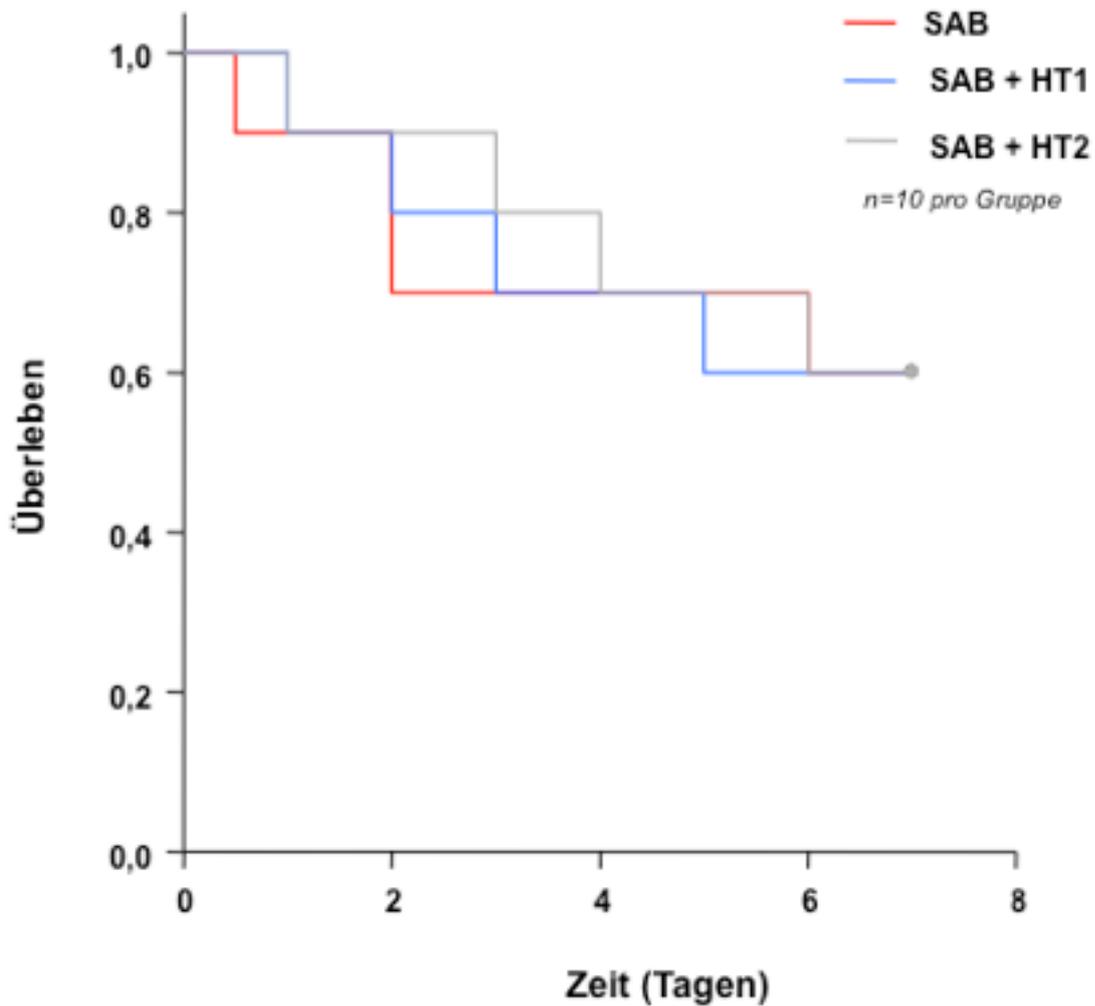


Abbildung 13: Kumulierte Überlebensrate

3.1.6 Neurologische Funktion und Körpergewicht

Am 1. postoperativen Tag zeigten alle Tiere unabhängig von der Behandlungsgruppe die schlechteste neurologische Funktion (SAB 6/175 Pkte. \pm 10, SAB + HT1 3/175 Pkte. \pm 7, SAB + HT2 14/175 Pkte. \pm 13). Es fiel allerdings auf, dass die Tiere insgesamt sehr geringe neurologische Defizite aufwiesen (maximal erreichte Punktzahl in einem Tier lag bei 35 von 175 möglichen Punkten). Im Verlauf der Beobachtungswoche verbesserte sich die neurologische Funktion in allen Gruppen zunehmend. Am Ende der Beobachtungszeit wurde in allen Gruppen das Ausgangsniveau erreicht.

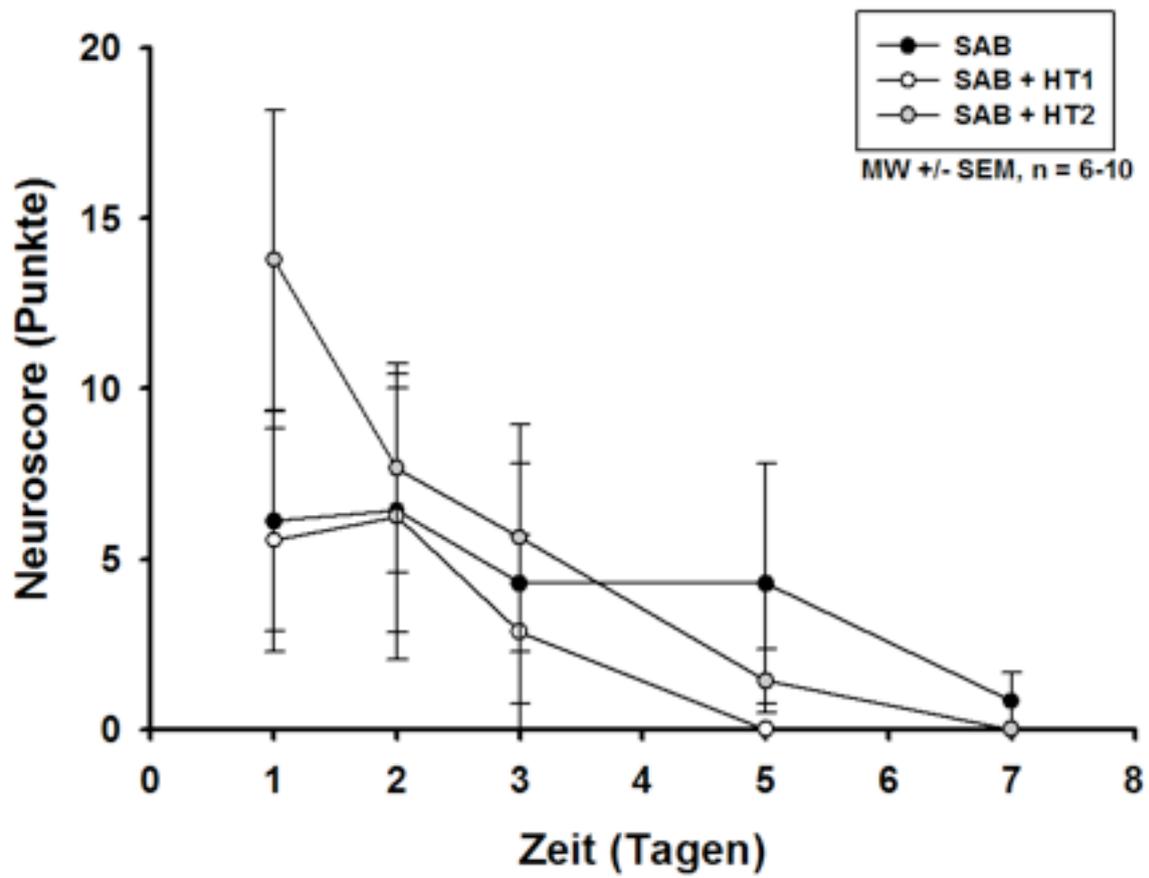


Abbildung 14: Verlauf der funktionellen Einschränkung

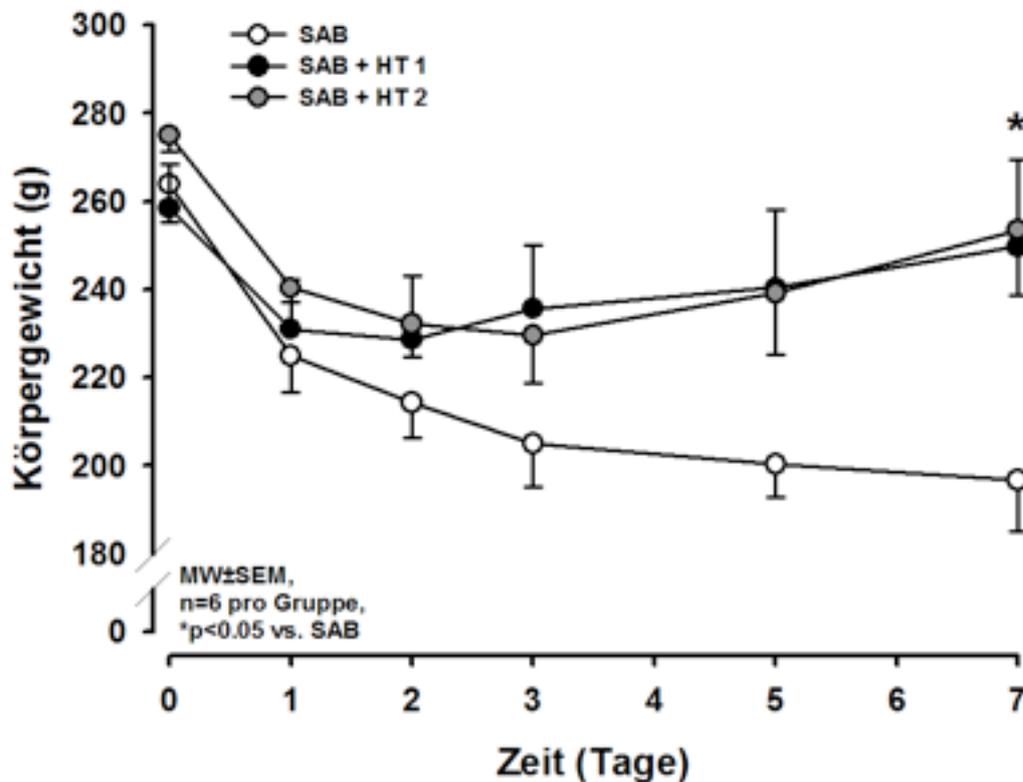


Abbildung 15: Körpergewicht im Verlauf

Präoperativ lag das Körpergewicht der Tiere durchschnittlich bei ca. 265 g ohne Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Am 1. postoperativen Tag kam es in allen Gruppen zu einem Abfall des Körpergewichtes auf 230 g. Im Verlauf der nächsten Tage zeigten die Tiere der Hypothermiegruppe eine Zunahme des Körpergewichtes, die Tiere der Kontrollgruppe wiesen dagegen weiterhin eine Gewichtsabnahme auf. Am 7. postoperativen Tag war das Körpergewicht der Hypothermientiere signifikant höher als das der Kontrolltiere (249,7 g ± 19,7 g in der SAB + HT1-Gruppe bzw. 253,5 g ± 14,8 g in der SAB + HT2-Gruppe vs. 196,7 g ± 11,6 g in der Kontrollgruppe).

3.1.7 Histologie

Die Nissl-gefärbten Hirnschnitte zeigten weder im Kortex noch im Caudoputamen oder im Hippocampus einen morphologischen Schaden. Daher wurde auf eine morphometrische Auswertung verzichtet.

3.2 Teil 2 (24 Stunden Überlebensdauer)

3.2.1 Temperatur

Die subtemporal gemessene Temperatur lag vor der Hypothermie bei 36,6 °C. Bereits 6 Minuten nach Beginn der Kühlung zeigte sich eine signifikant niedrigere Temperatur ($p < 0,001$) in den Hypothermiegruppen im Vergleich zur Kontrolle. Die gewünschte Temperatur von 33,0 °C wurde jeweils nach 30 Minuten erreicht und für 120 Minuten aufrechterhalten (Abb. 16). Die Aufwärmphase dauerte 30 Minuten, anschließend wurde erneut eine Normothermie erreicht.

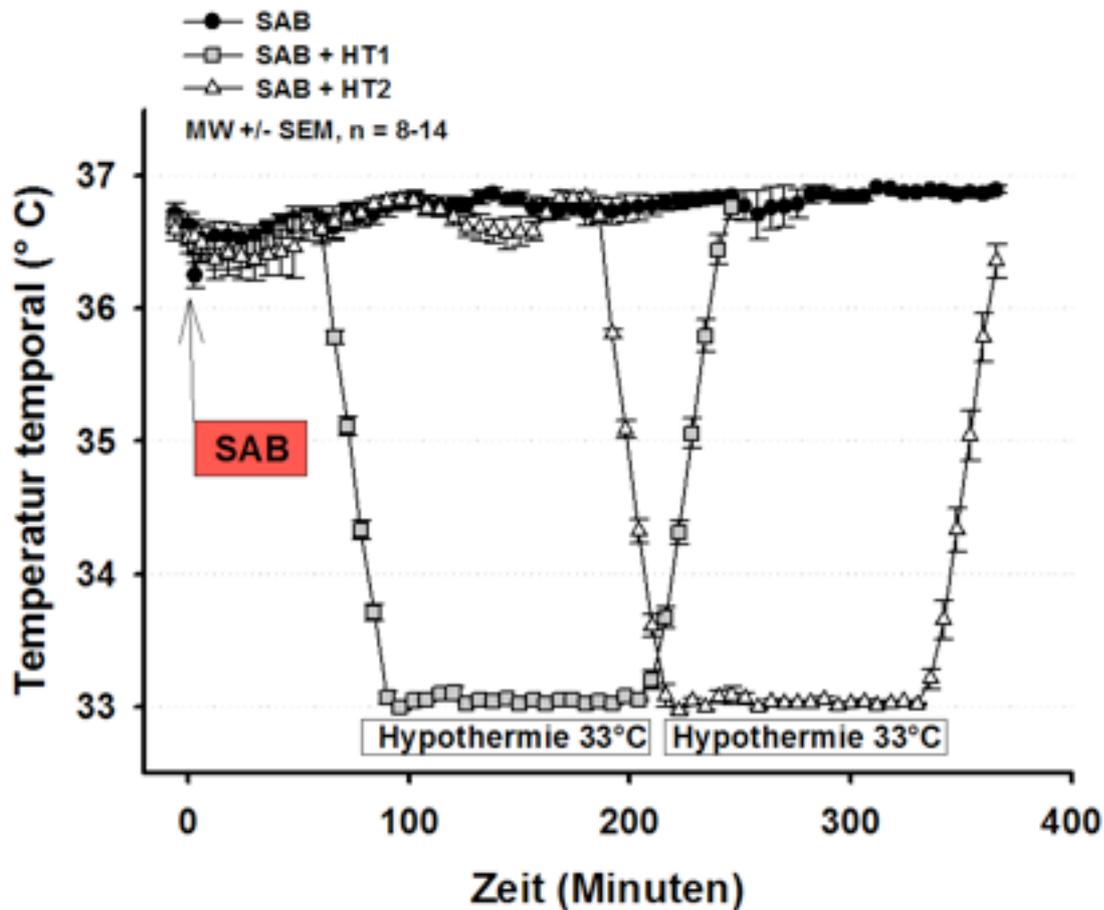


Abbildung 16: Verlauf der subtemporal gemessenen Temperatur. Aufgetragen sind über 3 Minuten gemittelte Werte gegen die Zeit

Auch die rektal gemessene Temperatur war außerhalb der Hypothermiephasen konstant zwischen $36,9 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ und $37,6 \pm 0,6 \text{ } ^\circ\text{C}$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Während der Hypothermiephasen (ca. $33,5 \pm 0,3 \text{ } ^\circ\text{C}$) zeigte sich ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe ($p < 0,001$).

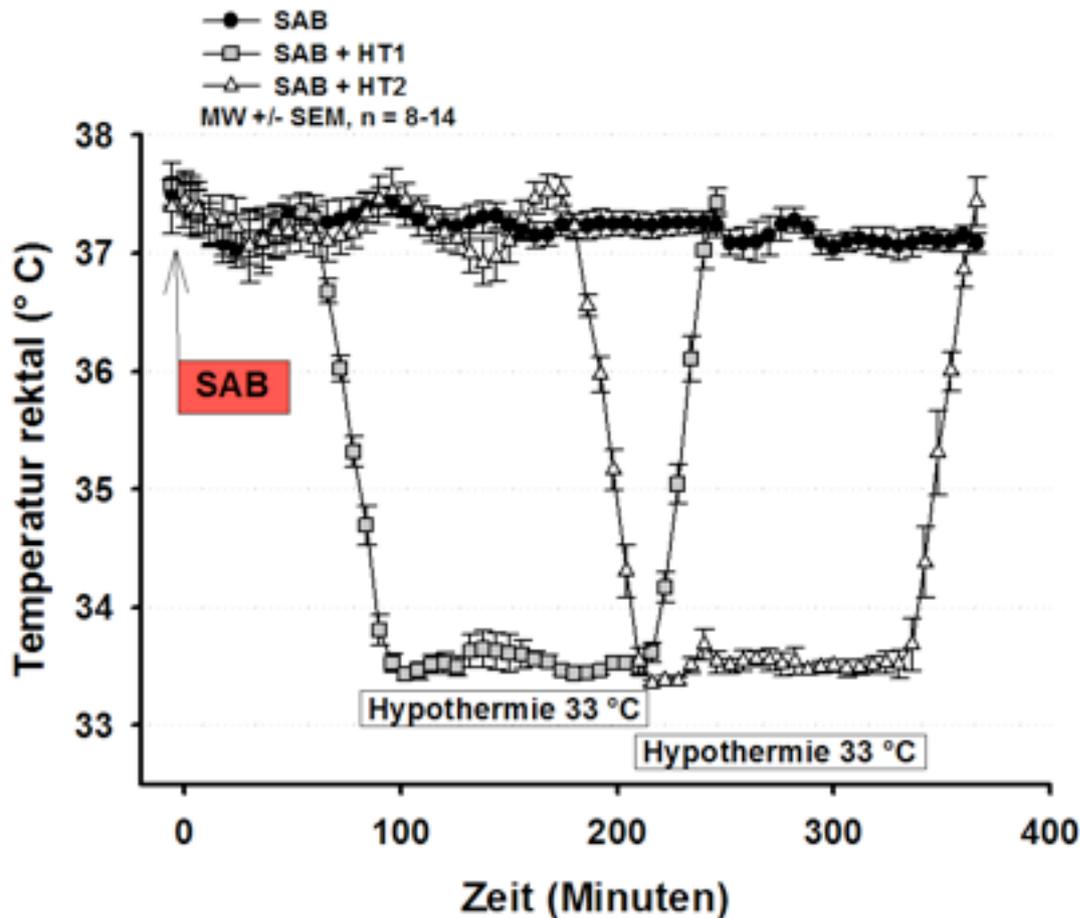


Abbildung 17: Verlauf der rektal gemessenen Temperatur. Aufgetragen sind über 3 Minuten gemittelte Werte gegen die Zeit

3.2.2 Blutgase und Glukose/Laktat

Während der gesamten Operation waren – bis auf eine Ausnahme (s. unten) – die Blutgase im Normbereich und ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

Es zeigte sich in allen Gruppen eine Abnahme des pH-Wertes im Verlauf der Operation von 7,42 vor Induktion der SAB auf 7,35 gegen Ende der Operation (240 bzw. 360 Minuten nach Induktion der SAB). Diese Abnahme ist in der Kontrollgruppe („SAB“) sowie in der 2. Hypothermiegruppe („SAB + HT2“) statistisch signifikant ($p < 0,05$). In der 1. Hypothermiegruppe wird kein signifikantes Niveau erreicht. Die Gruppen untereinander unterscheiden sich nicht signifikant bezüglich des pH-Wertes zu den verschiedenen Zeitpunkten.

In allen Gruppen zeigte sich zudem eine Zunahme des PaCO₂ im Laufe der Operation ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen, jedoch mit einer signifikanten Erhöhung in den beiden Hypothermiegruppen (Tab. 4).

Nur bezüglich des PaO₂ zeigte sich zum Zeitpunkt +240 Minuten nach der SAB ein signifikanter Unterschied mit erhöhtem PaO₂ in der 2. Hypothermiegruppe (SAB + HT2, ca. 120 mmHg) vs. der Kontrolle bzw. der 1. Hypothermiegruppe (ca. 90–100 mmHg). Im Verlauf war in allen Gruppen eher eine Abnahme des PaO₂ zu verzeichnen (statistisch signifikant jedoch nur in der SAB + HT1-Gruppe zum Zeitpunkt +240 vs. -5 bzw. +60 Minuten). Trotz dieser Unterschiede waren alle Werte stets im Normbereich.

		Zeitpunkt (Minuten)				
Parameter	Gruppe	-5	+15	+60	+240	+360
pH	SAB	7,42 ± 0,03	7,40 ± 0,03	7,37 ± 0,03	7,37 ± 0,04	7,36 ± 0,05
	SAB + HT1	7,42 ± 0,05	7,39 ± 0,04	7,38 ± 0,05	7,35 ± 0,10	-
	SAB + HT2	7,42 ± 0,03	7,41 ± 0,04	7,40 ± 0,03	7,36 ± 0,05	7,35 ± 0,04
PaO ₂ (mmHg)	SAB	109,1 ± 7,7	110,3 ± 11,1	104,7 ± 13,3	99,3 ± 10,9	100,2 ± 12,9
	SAB + HT1	106,3 ± 10,4	103,1 ± 11,9	112,1 ± 13,7	90,8 ± 8,0	-
	SAB + HT2	107,2 ± 16,3	105,5 ± 17,0	108,3 ± 16,6	120,2 ± 10,3	96,1 ± 9,8
PaCO ₂ (mmHg)	SAB	38,5 ± 5,0	39,0 ± 4,4	40,8 ± 4,3	40,4 ± 4,7	39,9 ± 3,8
	SAB + HT1	36,8 ± 4,4	39,1 ± 4,1	41,2 ± 3,6	42,9 ± 6,2	-
	SAB + HT2	36,1 ± 2,7	38,6 ± 4,0	38,7 ± 4,6	40,9 ± 5,4	39,8 ± 2,5

Tabelle 4: Arterielle Blutgase zu verschiedenen Zeitpunkten vor und nach Induktion der SAB, dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung, n = 8–14

Der pH-Wert und der PaCO₂ waren zu allen Zeitpunkten im Normbereich. Während der gesamten Operationsdauer war die Konzentration der Glukose im Blut im Vergleich zum Normbereich leicht erhöht. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen außer zum Zeitpunkt +360 Minuten. Zu diesem Zeitpunkt war in der SAB-Gruppe die Glukose signifikant niedriger als in der SAB + HT2-Gruppe. Zudem zeigte sich in der Kontrollgruppe ein statistisch signifikanter Abfall der Glukose im Verlauf der Operation (Zeitpunkt -5 Minuten vs. Zeitpunkt +360 Minuten).

Glukose (mg/dl)	SAB	SAB + HT1	SAB + HT2
-5 Min.	179,9 ± 73,5	159,7 ± 29,4	154,9 ± 34,1
+15 Min.	160,2 ± 55,2	149,1 ± 19,6	149,1 ± 29,5
+60 Min.	137,7 ± 18,7	135,0 ± 14,8	138,9 ± 27,9
+240 Min.	128,0 ± 19,3	135,3 ± 24,4	148,6 ± 24,3
+360 Min.	121,3 ± 17,0	-	174,0 ± 59,4

Die Konzentration von Laktat im Blut zeigte während der gesamten Operation keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es kam im Lauf der Operation zu einem leichten Anstieg des Laktates, ohne jedoch ein signifikantes Niveau zu erreichen.

Laktat (mmol/l)	SAB	SAB + HT1	SAB + HT2
-5 Min.	1,94 ± 0,53	1,63 ± 0,54	1,37 ± 0,28
+15 Min.	2,12 ± 0,62	1,61 ± 0,48	1,34 ± 0,25
+60 Min.	1,92 ± 0,62	1,41 ± 0,48	1,12 ± 0,20
+240 Min.	2,23 ± 0,94	1,78 ± 0,59	1,19 ± 0,33
+360 Min.	2,29 ± 1,00	-	1,41 ± 0,35

3.2.3 Mittlerer arterielle Druck (MAP)

Der mittlere arterielle Druck war vor Induktion der Blutung in allen Gruppen bei ca. 75 mmHg. Nach der Blutung kam es zu einem kurzzeitigen Anstieg des MAP um ca. 5 mmHg, anschließend fiel der MAP für etwa 15 Minuten auf 65 mmHg, um sich dann spontan in allen Gruppen auf 70 mmHg einzupendeln. Während des restlichen Versuches blieb der MAP konstant ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (bis auf den Zeitpunkt +300 Minuten mit einem signifikant höheren MAP in der 2. Hypothermiegruppe).

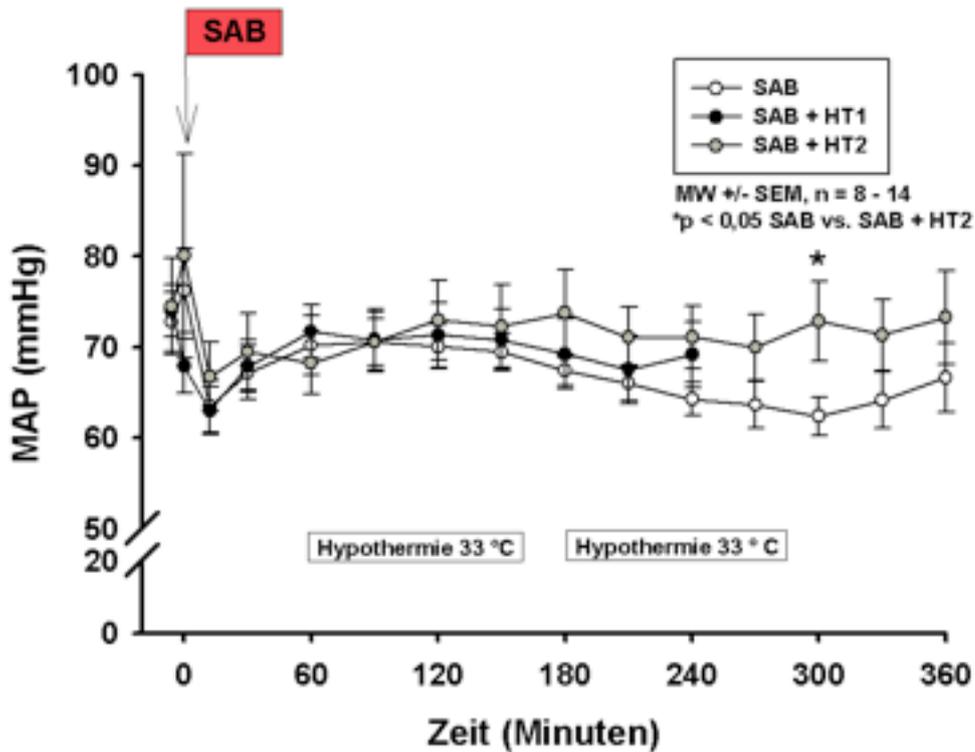


Abbildung 18: Verlauf des mittleren arteriellen Druckes (MAP)

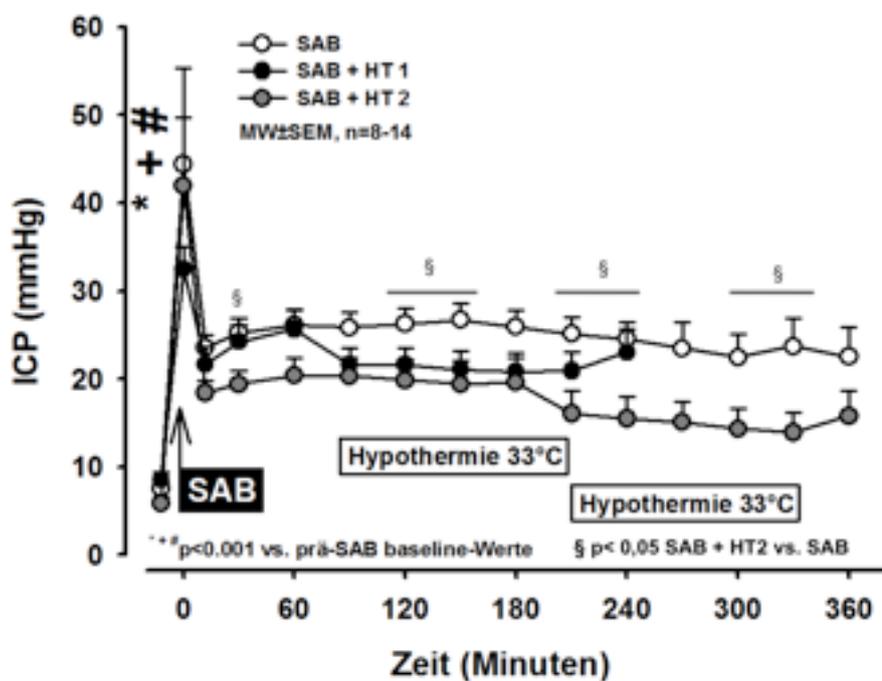
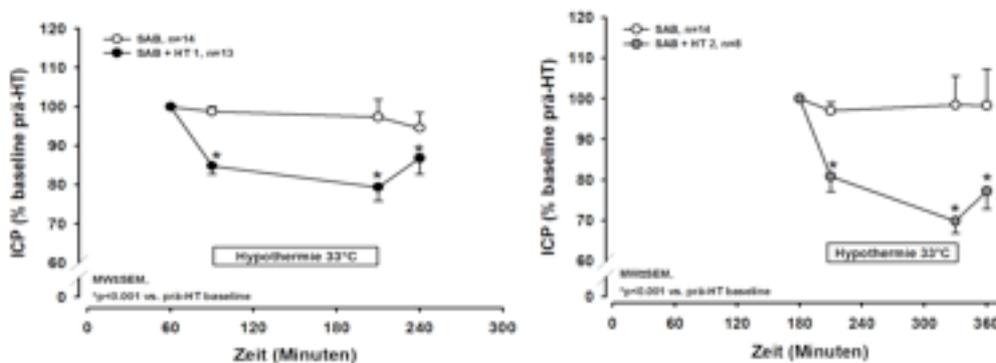


Abbildung 19: Verlauf des intrakraniellen Druckes

3.2.4 Intrakranieller Druck (ICP)

Mit Induktion der SAB kam es in allen Gruppen zu einem steilen und statistisch signifikanten Anstieg des intrakraniellen Druckes auf ca. 40 mmHg, anschließend wurde nach 15 Minuten eine Plateauphase von 20–25 mmHg erreicht, die in der Kontrollgruppe aufrechterhalten wurde.

In den Hypothermiegruppen kam es 30 Minuten nach Beginn der Kühlung zu einem statistisch signifikanten Abfall des ICPs um 15 % (SAB + HT1) bzw. 20 % (SAB + HT2) im Vergleich zu den Baseline-Werten während der Normothermie. Das Maximum des ICP-Abfalles (bis 30 %) wurde am Ende der Hypothermiephase erreicht. Trotz Wiederaufwärmens wurden in beiden Hypothermiegruppen die vorbestehenden ICP-Werte nicht mehr erreicht.



3.2.5 Zerebraler Perfusionsdruck (CPP)

Der zerebrale Perfusionsdruck ist ein errechneter Wert nach der Formel:

$$\text{CPP} = \text{MAP} - \text{ICP}$$

Passend zum Verlauf des intrakraniellen Druckes kam es zum Zeitpunkt der Blutung in allen Gruppen zu einem plötzlichen und statistisch signifikanten Abfall des CPP von etwa 70 mmHg auf 35–40 mmHg. Dieser Abfall war nur kurzfristig zu beobachten; in allen Gruppen zeigte sich bereits nach wenigen Minuten ein Anstieg

des CPP auf 40–60 mmHg. Diese Plateauphase wurde bis zum OP-Ende aufrechterhalten. Durch die Hypothermie kam es nicht zu einer signifikanten Änderung des zerebralen Perfusionsdruckes im Verlauf der Operation.

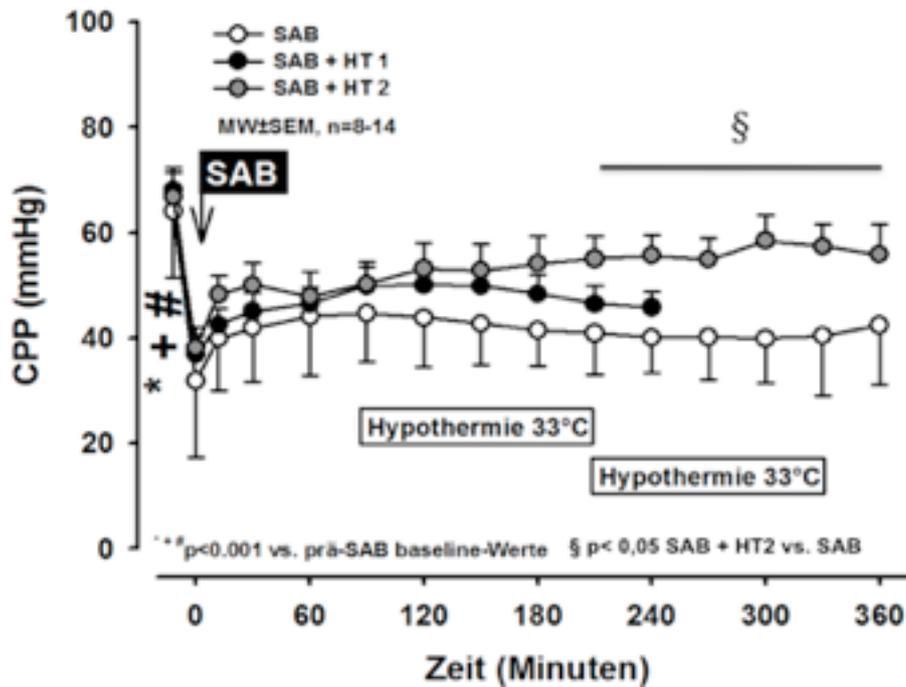


Abbildung 20: Verlauf des intrakraniellen Perfusionsdruckes

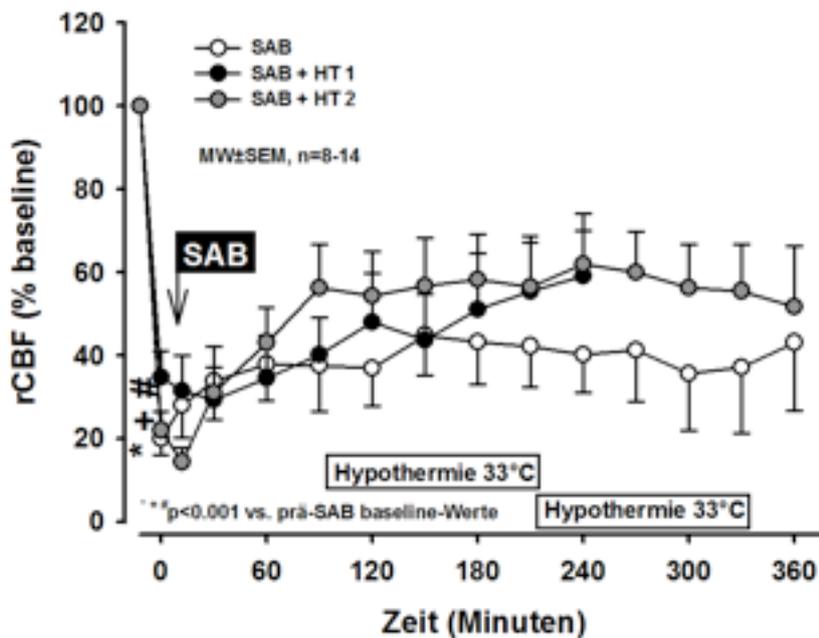


Abbildung 21: Verlauf der ipsilateralen regionalen zerebralen Durchblutung

3.2.6 Regionale zerebrale Durchblutung (rCBF)

Mit Induktion der SAB kam es in allen Gruppen zu einem steilen und signifikanten Abfall der regionalen zerebralen Durchblutung ipsilateral auf 20–30 % vom Ausgangswert. Im Verlauf erholte sich die Durchblutung auf 40–60 % vom Baseline-Wert und blieb auf dieser Plateauphase in allen Gruppen. Die Hypothermie führte nicht zu signifikanten Änderungen der zerebralen Durchblutung.

3.2.7 Hirnwassergehalt

Tiere, die nicht operiert wurden, hatten einen Hirnwassergehalt von $79,3 \% \pm 0,3 \%$ (Abb. 22). Im Vergleich dazu hatten Tiere 24 Stunden nach der SAB als Zeichen eines Hirnödems signifikant erhöhte Werte [$81,3 \% \pm 1,0 \%$ (SAB), $81,6 \% \pm 0,7 \%$ (SAB + HT1) bzw. $81,2 \% \pm 0,4 \%$ (SAB + HT2)]. Die Hypothermie hatte keinen Einfluss auf den Hirnwassergehalt nach der SAB.

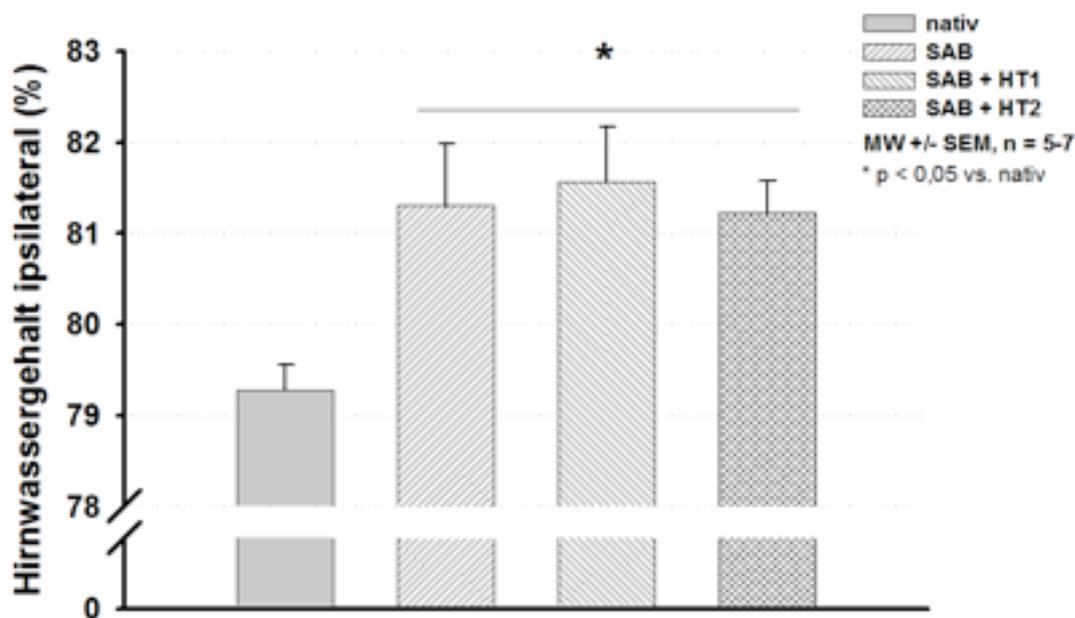


Abbildung 22: Prozentualer rechtshemisphärischer (ipsilateraler) Hirnwassergehalt

Auf der kontralateralen Seite führte eine SAB zu keiner Zunahme des Hirnwassergehaltes. Tiere mit Hypothermie zeigten einen tendenziell höheren Hirnwassergehalt, der allerdings nicht statistisch signifikant war.

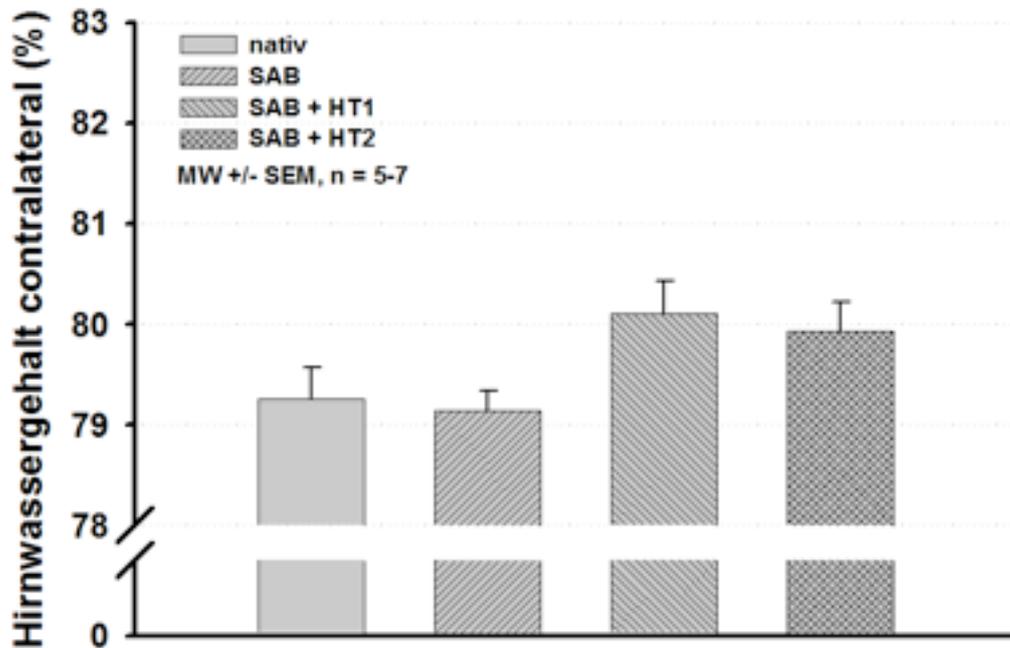


Abbildung 23: Prozentualer linkshemisphärischer (kontralateraler) Hirnwassergehalt

3.2.8 Neurologische Funktion

Am 1. postoperativen Tag zeigten Kontrolltiere eine signifikant schlechtere neurologische Funktion mit $33 \pm 7/175$ Punkten im Vergleich zu Tieren der Hypothermiegruppen (7 ± 5 Punkte in SAB + HT1 bzw. 14 ± 7 Punkte in SAB + HT2).

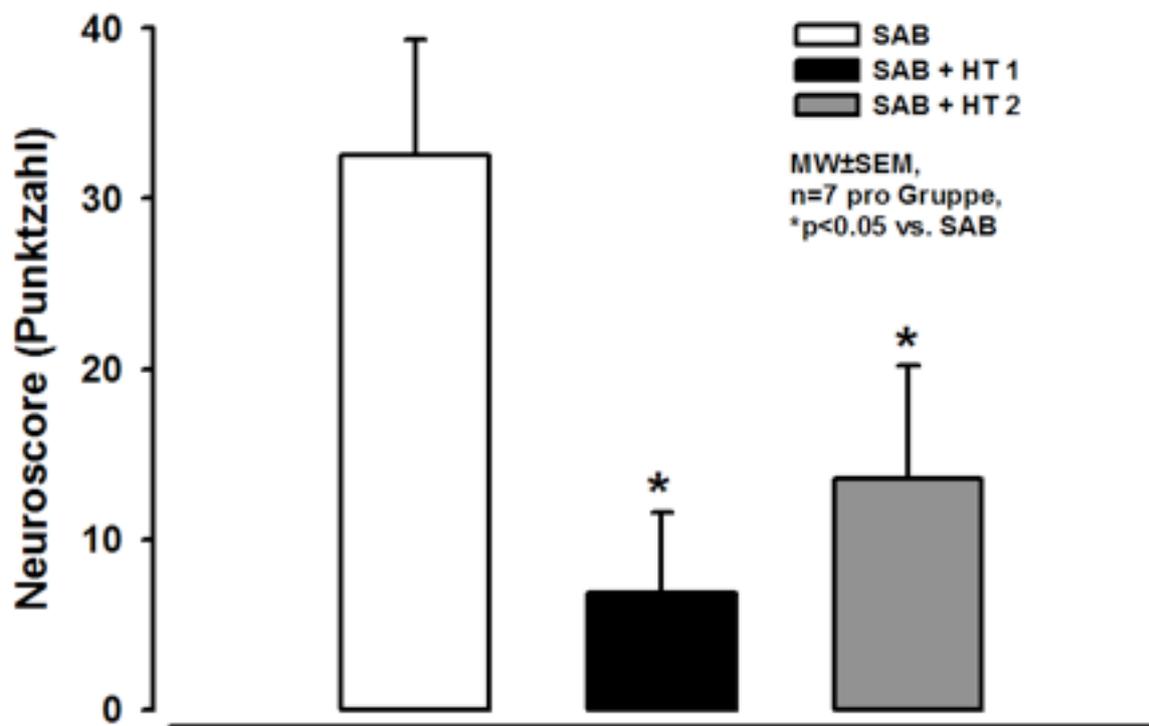


Abbildung 24: Neuroscore zur Quantifizierung der funktionellen Beeinträchtigung

4. DISKUSSION

4.1. Methoden

4.1.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden Sprague-Dawley-Ratten verwendet. Ratten wurden bereits von vielen Arbeitsgruppen als Versuchstiere bei der SAB-Forschung verwendet (Bederson et al., 1995, Prunell et al., 2002). Auch in unserer Arbeitsgruppe ist das Modell der SAB an der Ratte etabliert (Zausinger et al., 2004, Bermueller et al., 2006). Somit ist die Reproduzierbarkeit und Fehlerminimierung der Versuche gewährleistet. Durch Inzucht besteht nur eine geringe genetische Variabilität der Tiere. Die Zucht und Haltung der Tiere ist günstig, zudem ist die ethische Akzeptanz der Nutzung von Ratten als Versuchstiere deutlich höher als bei anderen Tieren.

4.1.2 Narkose

Die Versuche erforderten eine angemessene Sedierung und Analgesie der Tiere. Grundsätzlich wird zwischen einer Injektions- und einer Inhalationsnarkose unterschieden. In der Literatur sind verschiedene Anästhetika bei der experimentellen SAB beschrieben, z. B. Halothan oder Isofluran (alleine oder in Kombination mit N₂O) (Bederson et al., 1995, Schwartz et al., 2000, Scholler et al., 2007). Oft verwendete Injektionsnarkotika sind Ketamin/Xylazin oder eine Kombination aus Midazolam, Medetomidin und Fentanyl (MMF) (Miyagi et al., 2000, Scholler et al., 2011).

Eine bekannte Nebenwirkung der Kombination aus Ketamin und Xylazin ist die Hypothermie (Wixson et al., 1987), sodass diese Anästhesieform für die Fragestellung der Arbeit nicht infrage kam.

Die Versuche wurden daher mit Halothan/N₂O gestartet. Effekte des Halothans wie Neuroprotektion, Vasodilatation oder verminderter zerebraler Metabolismus (Michenfelder et al., 1975, Koenig et al., 1993) konnten aufgrund der Randomisierung der Tiere vernachlässigt werden. Aufgrund eines Lieferstopps von Halothan musste die Narkose zwischen der ersten und der zweiten Gruppe auf Isofluran/N₂O umgestellt werden. Isofluran ist wie Halothan ein halogeniertes

volatiles Anästhetikum mit ähnlichen, jedoch nicht identischen Eigenschaften. Unter anderem ist die minimale alveoläre Konzentration (MAC) von Isofluran höher als die von Halothan (1,15 % vs. 0,75 %), zum anderen ist ein geringerer Effekt auf die zerebrale Durchblutung zu verzeichnen (Eger, 1984).

Insgesamt konnte mit den verwendeten volatilen Anästhetika eine konstante, ausreichend tiefe Narkose erzielt werden. In einer Vorarbeit aus unserem Labor wurde gezeigt, dass zum Erhalt physiologischer Parameter eine mechanische Ventilation erforderlich ist (Zausinger et al., 2002). Effekte der Inhalationsanästhetika auf das $p\text{CO}_2$ konnten durch die mechanische Ventilation korrigiert werden.

Später durchgeführte Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Narkose mit MMF deutlich konstantere $p\text{O}_2$ - und $p\text{CO}_2$ -Werte aufweist, sodass weniger Korrekturen der Beatmungsparameter notwendig waren. Zudem war bei Tieren mit MMF-Narkose die Re-Blutungsrate nach der SAB höher als bei Tieren, die eine Isofluran-Narkose erhalten hatten (Hockel et al., 2012).

4.1.3 Modell der SAB

Das erste bekannte Tiermodell der SAB wurde 1979 von Barry beschrieben (Barry et al., 1979). Dabei wurde bei der Ratte eine SAB durch Punktion der A. basilaris über den Clivus induziert. In den Folgejahren wurden verschiedene Modelle entwickelt; grundsätzlich werden drei Modelltypen unterschieden:

1. Injektion von autologem Blut in den Subarachnoidalraum (Solomon et al., 1985, Ram et al., 1991, Piepgras et al., 1995, Meguro et al., 2001)
2. Darstellung einer Arterie und Exposition in autologem Blut (Kapp et al., 1968)
3. Punktion eines intrakraniellen Gefäßes (A. basilaris oder A. carotis interna), offen oder via Fadenmodell (Bederson et al., 1995, Veelken et al., 1995, Alkan et al., 2002)

Jedes der drei Modelle hat Vor- und Nachteile und eignet sich jeweils besonders gut für bestimmte Fragestellungen.

Das Injektionsmodell hat den Vorteil, dass die injizierte Blutmenge kontrolliert werden und dadurch eine in der Ausprägung reproduzierbare SAB induziert werden kann.

Dieses Modell wird v. a. zur Erforschung des Vasospasmus herangezogen. Der Hauptnachteil des Modells liegt darin, dass die Pathophysiologie der SAB nicht nachgebildet wird; es liegt kein Endothelschaden vor, die Mortalität liegt mit 0–15 % deutlich unter der Mortalität der SAB beim Menschen und die verminderte zerebrale Durchblutung erholt sich bereits nach kurzer Zeit.

Das Punktionsmodell hat den Vorteil, dass es am ehesten die Pathophysiologie der SAB nachbildet; wie beim Menschen kommt es auch hier zu einem plötzlichen Anstieg des ICPs mit Abfall der zerebralen Durchblutung, die Mortalität liegt bei ca. 30–50 % (dies entspricht der aus der Literatur bekannten Mortalität beim Menschen). Beim Punktionsmodell wird unterschieden zwischen der offenen Punktion eines Gefäßes, wofür eine Kraniotomie notwendig ist, und jenem Punktionsmodell, bei dem eine Gefäßpunktion von intraluminal erfolgt. Mögliche Fehlerquellen des intraluminalen Fadenmodells sind, dass es durch einen zu spitzen Faden bereits vor der gewünschten Perforation zu einer Gefäßverletzung kommen kann, zum anderen führt ein zu verzögertes Herausziehen des Fadens zu einer zweiten Blutung. Eine zu lange Präparationszeit könnte zu einer zerebralen Ischämie führen, außerdem besteht die Gefahr, dass es beim Herausziehen des Fadens zu einem großen Blutverlust kommt. Ein anderer Nachteil des Modells ist, dass die Menge des aus der Perforationsstelle austretenden Blutes nicht kontrolliert werden kann. Durch eine standardisierte Durchführung können die meisten Fehlerquellen dieses Modells allerdings vermieden bzw. gemeistert werden.

Ziel dieser Arbeit war es, akute Veränderungen der SAB zu untersuchen. Daher haben wir uns wegen der oben genannten Vorteile für das endovaskuläre Punktionsmodell entschieden. Verwendet wurde ein modifiziertes Modell nach Bederson und seinen Mitautoren aus dem Jahr 1995, bei dem die A. carotis interna unter kontinuierlicher Messung des ICPs und der zerebralen Durchblutung punktiert wird. Es wurde ein Prolene 3/0-Faden verwendet, da man aus den Untersuchungen von Schwartz und seinen Koautoren aus dem Jahr 2000 weiß, dass es dabei zu einem höheren ICP-Anstieg kommt als bei einem Prolene 4/0-Faden. Die Spitze des Fadens wurde unter einem Mikroskop orthograd geschnitten, um eine frühzeitige Gefäßperforation zu vermeiden. Die Präparations- und somit Ischämiezeit betrug maximal fünf Minuten. Nur Versuche, bei denen es zu einem steilen ICP-Anstieg mit

gleichzeitig beidseitigem Abfall der zerebralen Durchblutung kam, wurden als valide gezählt.

4.2. Ergebnisse

4.2.1 Temperatur

Alle Tiere waren vor Beginn der Hypothermie normotherm. Die Einhaltung der Normothermie war ein sehr wichtiger Teil der Versuche, da sonst der gewünschte Therapieeffekt nicht mehr zu untersuchen gewesen wäre. Insgesamt war die rektal gemessene Temperatur leicht höher als die subtemporale Temperatur. Aus der Literatur ist bekannt, dass die rektale Temperatur, die die Körperkerntemperatur wiedergibt, durchschnittlich höher ist als peripher gemessene Werte, wie z. B. sublingual, subaxillär oder temporal (Craig et al., 2000). Nach Induktion der Hypothermie wurde die gewünschte Temperatur schnell erreicht und die Hypothermie konnte anhand der Coolpacks verlässlich über die gesamte geplante Dauer der Versuche eingehalten werden. Diese Methode der Kühlung ist sehr günstig und effektiv. Auch die Erwärmungsphase war in allen Gruppen gleich lang, sodass in keiner Gruppe eine prolongierte Hypothermie vorkam. Zwischen dem ersten und dem zweiten Versuchsteil gab es zum Teil signifikante Unterschiede bezüglich der Durchschnittstemperatur, jedoch nicht innerhalb eines Versuchsteils. Somit ist dies kein relevanter Unterschied.

4.2.2 Physiologische Parameter

Insgesamt gab es bezüglich der physiologischen Parameter keine relevanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Dabei muss besonders der PaCO_2 erwähnt werden, da CO_2 ein selektiver zerebraler Vasodilatator ist, und eine Hypo- oder Hyperkapnie einen entscheidenden Einfluss auf den intrakraniellen Druck haben könnte. Da alle Tiere eine Normokapnie aufwiesen, kann ein Einfluss des PaCO_2 auf die aktuellen Versuchsergebnisse ausgeschlossen werden.

Auffällig waren im zweiten Versuchsteil signifikant höhere Laktatwerte in allen Gruppen im Vergleich zum ersten Versuchsteil, wobei der Durchschnittswert

trotzdem meist im Normbereich war oder die oberste Grenze nur leicht überstieg (Normwerte Laktat im Blut 0,5 – 2,0 mmol/l).

Laktat ist ein Stoffwechselprodukt und entsteht aus Glukose im Rahmen der anaeroben Glykolyse. Die höheren Laktatwerte im zweiten Versuchsteil sind am ehesten auf den Wechsel des Anästhetikums von Halothan auf Isofluran zurückzuführen (Schwarzkopf et al., 2013).

Bei allen Tieren war während der gesamten Operation die Konzentration von Glukose im Blut leicht erhöht. Dies kann einerseits als Stressreaktion gewertet werden. Andererseits ist die Hyperglykämie eine bekannte Nebenwirkung volatiler Anästhetika wie Halothan oder Isofluran (Biebuyck und Lund, 1974, Schwarzkopf et al., 2013).

4.2.3 Intrakranieller Druck (ICP)

Der akute Anstieg des ICPs nach der SAB war in Bezug auf Höhe und Kinetik in beiden Versuchsteilen gleich und entspricht anderen publizierten Daten (Schwartz et al., 2000, Zausinger et al., 2004). Er entspricht auch dem Wert nach der SAB bei Menschen (Grote und Hassler, 1988, Broderick et al., 1994).

Der ICP in der Kontrollgruppe war im zweiten Versuchsteil etwas höher als im ersten. Dies könnte durch den Wechsel der Narkose zwischen den beiden Versuchsgruppen verursacht worden sein. Obwohl in der Literatur berichtet wird, dass Halothan und Isofluran unter physiologischen Bedingungen einen ähnlichen Einfluss auf den ICP haben (Todd und Drummond, 1984), könnte unter pathologischen Bedingungen, in denen der ICP sehr rasch ansteigt, die unterschiedliche vasodilatative Wirkung von Halothan und Isofluran auf periphere und zerebrale Gefäße über einen leicht unterschiedlichen systemischen Blutdruck und eine leicht veränderte Blutungskinetik sehr wohl zu unterschiedlichen ICP-Werten nach der SAB führen. In jedem Fall muss festgestellt werden, dass aufgrund der Notwendigkeit der Umstellung von Halothan auf Isofluran die Stärke der SAB zwischen erstem und zweitem Versuchsteil unterschiedlich war und dies bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden muss.

In beiden Versuchsteilen konnte durch die Hypothermie eine Senkung des ICPs um etwa 20 % erreicht werden, hypothermiebedingte Reduzierungen des ICPs wurden

bereits in der Literatur beschrieben (Marion und White, 1996, Schwab et al., 1998, Clausen und Bullock, 2001, Bardutzky und Schwab, 2007). Allerdings sind die Mechanismen, die dazu führen, noch unklar. Ein möglicher Mechanismus ist, dass das vasogene Hirnödem durch eine Stabilisierung der Blut-Hirn-Schranke reduziert wird (Dietrich et al., 1990). Eine Reduktion des zytotoxischen Hirnödems durch eine Verminderung der Phosphatdepletion wird ebenfalls diskutiert (Ginsberg et al., 1992). In unseren Versuchen zeigte sich jedoch kein Effekt der Hypothermie auf das Hirnödem bis 24 Stunden nach der SAB. Auch die Tatsache, dass die ICP-Veränderungen sehr schnell nach Temperaturwechseln zu verzeichnen waren, spricht eher dafür, dass es durch die Hypothermie zu einer akuten Abnahme der zerebralen Durchblutung und des intrakraniellen Blutvolumens kommt (Ginsberg et al., 1992, Van Bel et al., 1996). Prinzipiell wäre auch eine direkte Wirkung der Hypothermie auf den Durchmesser zerebraler Gefäße möglich. Diese Möglichkeit ist aber eher unwahrscheinlich, da die Hypothermie keinen Einfluss auf den Blutdruck hat und somit eine direkte vaskuläre Wirkung nicht anzunehmen ist.

4.2.4 Mittlerer arterieller Druck (MAP)

Der MAP war in allen Versuchen konstant. Lediglich nach der SAB gab es einen kurzen Anstieg, gefolgt von einem Abfall um ca. 10 mmHg und einer anschließenden Stabilisierung. Der Anstieg des MAP nach der SAB ist durch den Anstieg des ICPs zu erklären und wird als Cushing-Reflex bezeichnet. Im zweiten Versuchsteil war insbesondere nach Induktion der SAB der MAP durchschnittlich um 10–20 mmHg niedriger als im ersten Versuchsteil. Dies könnte ebenfalls durch den Wechsel der Narkose von Halothan auf Isofluran und der unterschiedlichen vaskulären Wirkung beider Narkotika (s. o.) bedingt sein.

4.2.5 Zerebraler Perfusionsdruck (CPP)

Mit Anstieg des ICPs kam es in beiden Versuchsteilen bei konstantem MAP zu einem Abfall des zerebralen Perfusionsdruckes, der sich jedoch bereits nach kurzer Zeit auf mindestens 40 mmHg erholte. Ein ähnlicher Verlauf des CPPs ist aus der Literatur bekannt (Jackowski et al., 1990, Bederson et al., 1997, Hockel et al., 2012). Ein erniedrigter CPP kann zur zerebralen Ischämie nach der SAB führen, ist jedoch nicht der einzige wichtige Faktor. In der frühen Phase nach der SAB scheint eine akute CPP-unabhängige Vasokonstriktion auf mikrovaskulärer Ebene stattzufinden

(Bederson et al., 1998, Friedrich et al., 2012), was wiederum einen prognostischen Wert bezüglich eines ischämischen Hirnschadens hat.

Die Kombination aus etwas höherem ICP und etwas geringerem MAP führte zu einem deutlich niedrigeren CPP im zweiten Versuchsteil in allen Gruppen im Vergleich zum ersten Versuchsteil.

Es zeigte sich kein positiver Effekt der Hypothermie auf den CPP. Dies entspricht den Ergebnissen von Thome und seinen Mitautoren aus dem Jahr 2001.

4.2.6 Regionale zerebrale Durchblutung (rCBF)

Durch die SAB kommt es zu einem plötzlichen Anstieg des intrakraniellen Druckes. Bedingt durch den Cushing-Reflex steigt kompensatorisch auch der MAP, sodass bis zu einem gewissen Punkt die zerebrale Perfusion aufrechterhalten wird. Bei sehr hohen ICP-Werten kommt es jedoch fast zu einem Erliegen der zerebralen Perfusion. In unseren Versuchen zeigte sich ein Abfall der regionalen zerebralen Durchblutung auf der ipsilateralen Seite auf 20–30 % des Ausgangswertes. Auch kontralateral kommt es zu einem Abfall, der jedoch etwas geringer ausgeprägt ist. Mit Abfall des ICPs und gleichzeitigem Anstieg des CPPs zeigt sich auch eine Erholung der Durchblutung, die jedoch nicht mehr das Ausgangsniveau erreicht (bei gleichzeitig auch weiter erhöhtem ICP).

Im zweiten Versuchsteil war der CPP niedriger als im ersten Teil und dieser Unterschied spiegelte sich auch in der zerebralen Durchblutung wider.

Im ersten Versuchsteil ist aufgefallen, dass die 2. Hypothermiegruppe eine schlechtere Erholung der Durchblutung aufwies. In dieser Gruppe hatte sich bereits ein höherer ICP als in den anderen Gruppen gezeigt, sodass hier von einer CPP-abhängigen schlechten Erholung auszugehen ist.

Insgesamt zeigte die Hypothermie keinen positiven Einfluss auf die Erholung der zerebralen Durchblutung.

Thome und dessen Koautoren sowie Schubert und seine Mitautoren haben in ihren Versuchen eine hypothermiebedingte Erholung der akuten Hypoperfusion nach der SAB gezeigt, ohne dass es zu einer ICP-Reduktion kam (Thome et al. 2001, 2005, Schubert et al., 2008). Mögliche Wirkmechanismen sind dabei die Reduktion des

akuten Vasospasmus, eine weniger gestörte zerebrale Autoregulation oder eine Vasodilatation.

Die Hypothermie wurde jedoch bereits vor oder unmittelbar nach der SAB eingeleitet. In unseren Versuchen wurde die Hypothermie 60 bzw. 180 Minuten nach der SAB gestartet, zu einem Zeitpunkt, zu dem sich die zerebrale Perfusion bereits zum Teil erholt hatte. Die Effekte der Hypothermie auf die zerebrale Durchblutung und den Gefäßwiderstand werden in der Literatur kontrovers diskutiert, mit teils einem erhöhten Gefäßwiderstand (Giannotta et al., 1978), teils einer Vasodilatation mit erhöhter zerebraler Durchblutung (Ogura et al., 1991, Kuluz et al., 1993).

4.2.7 Mortalität

Im ersten Versuchsteil betrug die 24-Stunden-Mortalität 10 % und erhöhte sich bis zum Versuchsende am 7. postoperativen Tag auf 40 %. Die 24-Stunden-Mortalität im zweiten Versuchsteil variierte zwischen 12,5 % in der 2. Hypothermiegruppe und 42–50 % in den anderen zwei Gruppen. Die insgesamt höhere Mortalität im zweiten Versuchsteil lässt sich mit der stärker ausgeprägten SAB in diesem Versuchsteil mit höherem ICP und schlechterer Erholung der zerebralen Durchblutung in diesem Versuchsteil erklären.

4.2.8 Neurologische Erholung und Körpergewicht

Bisher gab es keinen standardisierten Test zur Messung der neurologischen Defizite nach einer SAB bei der Ratte. Wir haben einen Test nach Katz und seinen Mitautoren verwendet und ihn so modifiziert, dass er sowohl frühe als auch späte Defizite sensitiv wiedergab (Thal et al., 2008).

Im ersten Versuchsteil hatten alle Tiere mit durchschnittlich ca. 10–15/175 Punkten am 1. postoperativen Tag verhältnismäßig geringe neurologische Defizite. Bei Tieren, die die gesamte Beobachtungsperiode überlebt haben, war am 7. postoperativen Tag mit den verwendeten Tests unabhängig von der Gruppe keine neurologische Einschränkung mehr nachweisbar. Daher konnte kein Effekt der Hypothermie auf die neurologische Erholung gezeigt werden.

Bei den Kontrolltieren des zweiten Versuchsteils war die neurologische Dysfunktion 24 Stunden nach SAB mit 30/175 immer noch mild, aber deutlich stärker ausgeprägt

als im ersten Versuchsteil. Damit wurde es prinzipiell möglich, einen therapeutischen Effekt der Hypothermie zu detektieren.

In der Tat waren die neurologischen Defizite bei den Hypothermietieren der zweiten Versuchsgruppe signifikant weniger ausgeprägt als bei der entsprechenden Kontrollgruppe. Dieser Effekt könnte durch die vorübergehende Verringerung des ICPs, durch eine Reduktion des zerebralen Metabolismus (Ginsberg et al., 1992), durch eine niedrigere Produktion freier Radikaler (Chan et al., 1984) oder einer geringeren Freisetzung exzitatorischer Aminosäuren (Schubert et al., 2008) erklärt werden. Die genauen Mechanismen müssten in nachfolgenden Untersuchungen geklärt werden.

Als allgemeiner Parameter für das Wohlbefinden der Tiere wurde im ersten Versuchsteil täglich das Körpergewicht dokumentiert. Am 1. Tag nach der SAB kam es in allen Gruppen zu einem Abfall des Körpergewichtes um mehr als 10 %. Im Verlauf nahmen die Kontrolltiere weiter ab, während die Hypothermietiere wieder zunahmen und am 7. postoperativen Tag signifikant schwerer waren als die Kontrolltiere. Diese Ergebnisse zeigen, dass auch im ersten Versuchsteil ein positiver Effekt der Hypothermie zu verzeichnen war, dieser sich nur nicht im Neuroscore widerspiegelt.

4.2.9 Hirnwassergehalt

24 Stunden nach der SAB kam es in der Hemisphäre ipsilateral der Blutung zu einem signifikanten Anstieg des Hirnwassergehaltes im Vergleich zu nicht operierten Tieren (native Tiere). Dies ist im Einklang mit den Ergebnissen von Shigeno und seinen Koautoren (Shigeno et al., 1982) und mit früheren Ergebnissen aus unseren eigenen Arbeitsgruppen (Thal et al., 2009). Wie in diesen Arbeiten kam es auch in der aktuellen Studie 24 Stunden nach der SAB zu einem signifikanten Anstieg des Hirnwassergehaltes im Vergleich zu nativen und sham-operierten Tieren. Auf der kontralateralen Seite der Blutung war dieser Effekt nicht zu sehen. Die moderate Hypothermie hatte keinen Einfluss auf den Hirnwassergehalt nach der SAB.

Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit während oder nach Abschluss der aktuellen Versuche durchgeführten Untersuchungen zur Wirkung der milden Hypothermie auf die Hirnödembildung nach der SAB. So haben Thome und dessen

Mitautoren und andere gezeigt, dass eine moderate Hypothermie durchaus die posthämorrhagische Hirnödembildung reduzieren kann, allerdings nur, wenn diese vor der SAB eingeleitet wurde (Thome et al., 2001, 2005, Piepgras et al., 2001, Schubert et al., 2008). Auch bei der zerebralen Ischämie ist das Zeitfenster, in dem die Hypothermie einen Einfluss auf den Hirnwassergehalt hat, sehr kurz (Ginsberg et al., 1992, Preston und Webster, 2004). Dies kann dadurch erklärt werden, dass eine milde Hypothermie hauptsächlich die Bildung eines Hirnödems verhindert, die in der ersten Stunde nach der SAB erfolgt, und eine bereits bestehende Hirnschwellung nicht mehr beeinflussen kann. Folglich kann eine zu spät einsetzende Hypothermie keine Wirkung auf den Hirnwassergehalt haben (Laszlo et al., 1995).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Subarachnoidalblutung ist eine lebensgefährliche Erkrankung mit einer Mortalität von ca. 50 %. Die initiale Blutung, die Re-Blutung und ihre Folgen tragen in den ersten 48 Stunden zur hohen Mortalität bei. Die genauen Pathomechanismen sind noch nicht ausreichend untersucht, sodass aktuell nur wenige Therapieansätze für diese frühe Phase der Erkrankung vorliegen.

Die moderate Hypothermie hat sich als starkes Neuroprotektivum bei der zerebralen Ischämie und beim Schädel-Hirn-Trauma erwiesen. Ziel dieser Arbeit war es, die akuten und chronischen Effekte der Hypothermie nach der SAB zu untersuchen.

Hierfür wurden Sprague-Dawley-Ratten narkotisiert, intubiert und kontrolliert beatmet. Anschließend wurde endovaskulär eine SAB induziert. Dieses Modell wurde ausgewählt, da es die pathophysiologischen Veränderungen nach der SAB beim Menschen am ehesten nachahmt. Die Ratten wurden randomisiert und einer der folgenden Gruppen zugeteilt: Kontrolltiere, zweistündige moderate Hypothermie eine Stunde nach der SAB, zweistündige moderate Hypothermie drei Stunden nach der SAB. Es wurden zum einen akute Effekte der Hypothermie auf den intrakraniellen Druck, die zerebrale Perfusion und den mittleren arteriellen Druck untersucht, zum anderen wurde der chronische Effekt der Hypothermie auf das Hirnödem, die Mortalität, die neurologische Erholung und das Gewicht der Tiere bis zu sieben Tage nach der SAB erfasst.

Insgesamt führte die Hypothermie zu einer signifikanten Reduktion des intrakraniellen Druckes und zu einer signifikant besseren neurologischen Erholung der Tiere nach der SAB. Ebenfalls zeigte sich bei den Hypothermiegruppen eine signifikant schnellere Gewichtszunahme als Zeichen der besseren Erholung der Tiere. Auf die anderen gemessenen Parameter konnte kein statistisch signifikanter Effekt der Hypothermie nachgewiesen werden.

Die aktuellen Versuche legen nahe, dass eine nach der SAB begonnene moderate Hypothermie eine potente neuroprotektive Wirkung entfaltet. Somit könnte eine moderate Hypothermie nach weiterer, sorgfältiger Prüfung als Therapieoption beim Menschen in Betracht gezogen werden.

6. LITERATUR

1. Unruptured intracranial aneurysms-risk of rupture and risks of surgical intervention. International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators. *N Engl J Med* 1998;339(24):1725–33.
2. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N Engl J Med* 2002;346(8):549–56.
3. Adamczyk P, He S, Amar AP, Mack WJ. Medical Management of Cerebral Vasospasm following Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Review of Current and Emerging Therapeutic Interventions. *Neurol Res Int* 2013;2013:462491.
4. Alkan T, Korfali E, Kahveci N. Experimental subarachnoid haemorrhage models in rats. *Acta Neurochir Suppl* 2002;83:61–9.
5. Bailes JE, Spetzler RF, Hadley MN, Baldwin HZ. Management morbidity and mortality of poor-grade aneurysm patients. *J Neurosurg* 1990;72(4):559–66.
6. Baker KZ, Young WL, Stone JG, Kader A, Baker CJ, Solomon RA. Deliberate mild intraoperative hypothermia for craniotomy. *Anesthesiology* 1994;81(2):361–7.
7. Bardutzky J, Schwab S. Antiedema therapy in ischemic stroke. *Stroke* 2007;38(11):3084–94.
8. Barry CM, van den Heuvel C, Helps S, Vink R. Cushing's mechanism maintains cerebral perfusion pressure in experimental subarachnoid haemorrhage. *Neurosci Lett* 2012;529(1):92–6.
9. Barry KJ, Gogjian MA, Stein BM. Small animal model for investigation of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. *Stroke* 1979;10(5):538–41.
10. Bederson JB, Germano IM, Guarino L. Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat. *Stroke* 1995;26(6):1086–91.

11. Bederson JB, Levy AL, Ding WH, Kahn R, DiPerna CA, Jenkins AL, 3rd, et al. Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1998;42(2):352–60.
12. Bermueller C, Thal SC, Plesnila N, Schmid-Elsaesser R, Kreimeier U, Zausinger S. Hypertonic fluid resuscitation from subarachnoid hemorrhage in rats: a comparison between small volume resuscitation and mannitol. *J Neurol Sci* 2006;241(1-2):73–82.
13. Biebuyck JF, Lund P. Effects of halothane and other anesthetic agents on the concentrations of rat liver metabolites in vivo. *Mol Pharmacol* 1974;10(3):474–83.
14. Broderick JP, Brott TG, Duldner JE, Tomsick T, Leach A. Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1994;25(7):1342–7.
15. Busto R, Dietrich WD, Globus MY, Valdes I, Scheinberg P, Ginsberg MD. Small differences in intras ischemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1987;7(6):729–38.
16. Busto R, Globus MY, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 1989;20(7):904–10.
17. Chan PH, Schmidley JW, Fishman RA, Longar SM. Brain injury, edema, and vascular permeability changes induced by oxygen-derived free radicals. *Neurology* 1984;34(3):315–20.
18. Claassen J, Carhuapoma JR, Kreiter KT, Du EY, Connolly ES, Mayer SA. Global cerebral edema after subarachnoid hemorrhage: frequency, predictors, and impact on outcome. *Stroke* 2002;33(5):1225–32.
19. Clausen T, Bullock R. Medical treatment and neuroprotection in traumatic brain injury. *Curr Pharm Des* 2001;7(15):1517–32.
20. Clifton GL, Allen S, Barrodale P, Plenger P, Berry J, Koch S, et al. A phase II study of moderate hypothermia in severe brain injury. *J Neurotrauma* 1993;10(3):263–71.

21. Craig JV, Lancaster GA, Williamson PR, Smyth RL. Temperature measured at the axilla compared with rectum in children and young people: systematic review. *BMJ* 2000;320(7243):1174–8.
22. De Rooij NK, Linn FH, van der Plas JA, Algra A, Rinkel GJ. Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78(12):1365–72.
23. Dernbach PD, Little JR, Jones SC, Ebrahim ZY. Altered cerebral autoregulation and CO₂ reactivity after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1988;22(5):822–6.
24. Dietrich WD, Busto R, Halley M, Valdes I. The importance of brain temperature in alterations of the blood-brain barrier following cerebral ischemia. *J Neuropathol Exp Neurol* 1990;49(5):486–97.
25. Doczi T, Joo F, Adam G, Bozoky B, Szerdahelyi P. Blood-brain barrier damage during the acute stage of subarachnoid hemorrhage, as exemplified by a new animal model. *Neurosurgery* 1986;18(6):733–9.
26. Eger EI, 2nd. The pharmacology of isoflurane. *Br J Anaesth* 1984;56 Suppl 1:71S–99S.
27. Fay FR, Susman E. On the prickly heat. *Med J Aust* 1945;2:453–6.
28. Feiler S, Friedrich B, Scholler K, Thal SC, Plesnila N. Standardized induction of subarachnoid hemorrhage in mice by intracranial pressure monitoring. *J Neurosci Methods* 2010;190(2):164–70.
29. Friedrich B, Muller F, Feiler S, Scholler K, Plesnila N. Experimental subarachnoid hemorrhage causes early and long-lasting microarterial constriction and microthrombosis: an in-vivo microscopy study. *J Cereb Blood Flow Metab* 2012;32(3):447–55.
30. Friedrich V, Flores R, Sehba FA. Cell death starts early after subarachnoid hemorrhage. *Neurosci Lett* 2012;512(1):6–11.

31. Frykholm P, Andersson JL, Langstrom B, Persson L, Enblad P. Haemodynamic and metabolic disturbances in the acute stage of subarachnoid haemorrhage demonstrated by PET. *Acta Neurol Scand* 2004;109(1):25–32.
32. Gasser S, Khan N, Yonekawa Y, Imhof HG, Keller E. Long-term hypothermia in patients with severe brain edema after poor-grade subarachnoid hemorrhage: feasibility and intensive care complications. *J Neurosurg Anesthesiol* 2003;15(3):240–8.
33. Giannotta SL, Raisons JE, McGillicuddy JE, Kindt GW. The effect of temperature on cerebrovascular resistance and cerebral metabolism in the primate. *J Surg Res* 1978;25(2):105–10.
34. Ginsberg MD, Sternau LL, Globus MY, Dietrich WD, Busto R. Therapeutic modulation of brain temperature: relevance to ischemic brain injury. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1992;4(3):189–225.
35. Globus MY, Alonso O, Dietrich WD, Busto R, Ginsberg MD. Glutamate release and free radical production following brain injury: effects of posttraumatic hypothermia. *J Neurochem* 1995;65(4):1704–11.
36. Grote E, Hassler W. The critical first minutes after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1988;22(4):654–61.
37. Grubb RL, Jr., Raichle ME, Eichling JO, Gado MH. Effects of subarachnoid hemorrhage on cerebral blood volume, blood flow, and oxygen utilization in humans. *J Neurosurg* 1977;46(4):446–53.
38. Hindman BJ, Todd MM, Gelb AW, Loftus CM, Craen RA, Schubert A, et al. Mild hypothermia as a protective therapy during intracranial aneurysm surgery: a randomized prospective pilot trial. *Neurosurgery* 1999;44(1):23–32.
39. Hockel K, Trabold R, Scholler K, Torok E, Plesnila N. Impact of anesthesia on pathophysiology and mortality following subarachnoid hemorrhage in rats. *Exp Transl Stroke Med* 2012;4(1):5.
40. Hunt WE, Hess RM. Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 1968;28(1):14–20.

41. Inamasu J, Saito R, Nakamura Y, Ichikizaki K, Suga S, Kawase T, et al. Survival of a subarachnoid hemorrhage patient who presented with prehospital cardiopulmonary arrest: case report and review of the literature. *Resuscitation* 2001;51(2):207–11.
42. Jackowski A, Crockard A, Burnstock G, Russell RR, Kristek F. The time course of intracranial pathophysiological changes following experimental subarachnoid haemorrhage in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990;10(6):835–49.
43. Jakobsen M, Enevoldsen E, Bjerre P. Cerebral blood flow and metabolism following subarachnoid haemorrhage: cerebral oxygen uptake and global blood flow during the acute period in patients with SAH. *Acta Neurol Scand* 1990;82(3):174–82.
44. Jakubowski J, Bell BA, Symon L, Zawirski MB, Francis DM. A primate model of subarachnoid hemorrhage: change in regional cerebral blood flow, autoregulation carbon dioxide reactivity, and central conduction time. *Stroke* 1982;13(5):601–11.
45. Johshita H, Kassell NF, Sasaki T, Ogawa H. Impaired capillary perfusion and brain edema following experimental subarachnoid hemorrhage: a morphometric study. *J Neurosurg* 1990;73(3):410–7.
46. Juvela S, Hillbom M, Kaste M. Platelet thromboxane release and delayed cerebral ischemia in patients with subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1991;74(3):386–92.
47. Kapp J, Mahaley MS, Jr., Odom GL. Cerebral arterial spasm. 1. Evaluation of experimental variables affecting the diameter of the exposed basilar artery. *J Neurosurg* 1968;29(4):331–8.
48. Karibe H, Sato K, Shimizu H, Tominaga T, Kosu K, Yoshimoto T. Intraoperative mild hypothermia ameliorates postoperative cerebral blood flow impairment in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 2000;47(3):594–9.
49. Karibe H, Zarow GJ, Graham SH, Weinstein PR. Mild intraischemic hypothermia reduces postischemic hyperperfusion, delayed postischemic

- hypoperfusion, blood-brain barrier disruption, brain edema, and neuronal damage volume after temporary focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994;14(4):620–7.
50. Katz L, Ebmeyer U, Safar P, Radovsky A, Neumar R. Outcome model of asphyxial cardiac arrest in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995;15(6):1032–9.
 51. Koenig HM, Pellegrino DA, Albrecht RF. Halothane vasodilation and nitric oxide in rat pial vessels. *J Neurosurg Anesthesiol* 1993;5(4):264–71.
 52. Kuluz JW, Prado R, Chang J, Ginsberg MD, Schleien CL, Busto R. Selective brain cooling increases cortical cerebral blood flow in rats. *Am J Physiol* 1993;265(3 Pt 2):H824–7.
 53. Kuyama H, Ladds A, Branston NM, Nitta M, Symon L. An experimental study of acute subarachnoid haemorrhage in baboons: changes in cerebral blood volume, blood flow, electrical activity and water content. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984;47(4):354–64.
 54. Lanzino G, Kassell NF, Germanson TP, Kongable GL, Truskowski LL, Torner JC, et al. Age and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: why do older patients fare worse? *J Neurosurg* 1996;85(3):410–8.
 55. Laszlo FA, Varga C, Doczi T. Cerebral oedema after subarachnoid haemorrhage. Pathogenetic significance of vasopressin. *Acta Neurochir (Wien)* 1995;133(3-4):122–33.
 56. Macdonald RL, Weir BK. A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke* 1991;22(8):971–82.
 57. Maekawa T, Tateishi A, Sadamitsu D, Kuroda Y, Soejima Y, Kashiwagi S, et al. Clinical application of mild hypothermia in neurological disorders. *Minerva Anesthesiol* 1994;60(10):537–40.
 58. Marbacher S, Anderegg L, Neuschmelting V, Widmer HR, von Gunten M, Takala J, et al. A new rabbit model for the study of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosci Methods* 2012;208(2):138–45.

59. Marion DW, White MJ. Treatment of experimental brain injury with moderate hypothermia and 21-aminosteroids. *J Neurotrauma* 1996;13(3):139–47.
60. Matsuda M, Shiino A, Handa J. Sequential changes of cerebral blood flow after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 1990;105(3-4):98–106.
61. Meguro T, Clower BR, Carpenter R, Parent AD, Zhang JH. Improved rat model for cerebral vasospasm studies. *Neurol Res* 2001;23(7):761–6.
62. Michenfelder JD, Milde JH. Influence of anesthetics on metabolic, functional and pathological responses to regional cerebral ischemia. *Stroke* 1975;6(4):405–10.
63. Milde LN. Clinical use of mild hypothermia for brain protection: a dream revisited. *J Neurosurg Anesthesiol* 1992;4(3):211–5.
64. Miyagi Y, Carpenter RC, Meguro T, Parent AD, Zhang JH. Upregulation of rho A and rho kinase messenger RNAs in the basilar artery of a rat model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 2000;93(3):471–6.
65. Nagao S, Irie K, Kawai N, Nakamura T, Kunishio K, Matsumoto Y. The use of mild hypothermia for patients with severe vasospasm: a preliminary report. *J Clin Neurosci* 2003;10(2):208–12.
66. Nornes H. The role of intracranial pressure in the arrest of hemorrhage in patients with ruptured intracranial aneurysm. *J Neurosurg* 1973;39(2):226–34.
67. Nornes H. Cerebral arterial flow dynamics during aneurysm haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 1978;41(1-3):39–48.
68. Ogilvy CS, Carter BS, Kaplan S, Rich C, Crowell RM. Temporary vessel occlusion for aneurysm surgery: risk factors for stroke in patients protected by induced hypothermia and hypertension and intravenous mannitol administration. *J Neurosurg* 1996;84(5):785–91.
69. Ogura K, Takayasu M, Dacey RG, Jr. Effects of hypothermia and hyperthermia on the reactivity of rat intracerebral arterioles in vitro. *J Neurosurg* 1991;75(3):433–9.

70. Origitano TC, Wascher TM, Reichman OH, Anderson DE. Sustained increased cerebral blood flow with prophylactic hypertensive hypervolemic hemodilution („triple-H“ therapy) after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1990;27(5):729–39.
71. Pickard JD, Murray GD, Illingworth R, Shaw MD, Teasdale GM, Foy PM, et al. Effect of oral nimodipine on cerebral infarction and outcome after subarachnoid haemorrhage: British aneurysm nimodipine trial. *BMJ* 1989;298(6674):636–42.
72. Piepgras A, Elste V, Frietsch T, Schmiedek P, Reith W, Schilling L. Effect of moderate hypothermia on experimental severe subarachnoid hemorrhage, as evaluated by apparent diffusion coefficient changes. *Neurosurgery* 2001;48(5):1128–34.
73. Piepgras A, Thome C, Schmiedek P. Characterization of an anterior circulation rat subarachnoid hemorrhage model. *Stroke* 1995;26(12):2347–52.
74. Pobereskin LH. Incidence and outcome of subarachnoid haemorrhage: a retrospective population based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70(3):340–3.
75. Preston E, Webster J. A two-hour window for hypothermic modulation of early events that impact delayed opening of the rat blood-brain barrier after ischemia. *Acta Neuropathol* 2004;108(5):406–12.
76. Prunell GF, Mathiesen T, Svendgaard NA. A new experimental model in rats for study of the pathophysiology of subarachnoid hemorrhage. *Neuroreport* 2002;13(18):2553–6.
77. Ram Z, Sahar A, Hadani M. Vasospasm due to massive subarachnoid haemorrhage – a rat model. *Acta Neurochir (Wien)* 1991;110(3-4):181–4.
78. Schievink WI, Parisi JE, Piepgras DG. Familial intracranial aneurysms: an autopsy study. *Neurosurgery* 1997;41(6):1247–51.
79. Schmid-Elsaesser R, Hungerhuber E, Zausinger S, Baethmann A, Reulen HJ. Combination drug therapy and mild hypothermia: a promising treatment strategy for reversible, focal cerebral ischemia. *Stroke* 1999;30(9):1891–9.

80. Schmid-Elsaesser R, Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, Reulen HJ. A critical reevaluation of the intraluminal thread model of focal cerebral ischemia: evidence of inadvertent premature reperfusion and subarachnoid hemorrhage in rats by laser-Doppler flowmetry. *Stroke* 1998;29(10):2162–70.
81. Scholler K, Feiler S, Anetsberger S, Kim SW, Plesnila N. Contribution of bradykinin receptors to the development of secondary brain damage after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 2011;68(4):1118–23.
82. Scholler K, Trinkl A, Klopotoski M, Thal SC, Plesnila N, Trabold R, et al. Characterization of microvascular basal lamina damage and blood-brain barrier dysfunction following subarachnoid hemorrhage in rats. *Brain Res* 2007;1142:237–46.
83. Scholler K, Zausinger S, Baethmann A, Schmid-Elsaesser R. Neuroprotection in ischemic stroke--combination drug therapy and mild hypothermia in a rat model of permanent focal cerebral ischemia. *Brain Res* 2004;1023(2):272–8.
84. Schubert GA, Poli S, Mendelowitsch A, Schilling L, Thome C. Hypothermia reduces early hypoperfusion and metabolic alterations during the acute phase of massive subarachnoid hemorrhage: a laser-Doppler-flowmetry and microdialysis study in rats. *J Neurotrauma* 2008;25(5):539–48.
85. Schubert GA, Poli S, Schilling L, Heiland S, Thome C. Hypothermia reduces cytotoxic edema and metabolic alterations during the acute phase of massive SAH: a diffusion-weighted imaging and spectroscopy study in rats. *J Neurotrauma* 2008;25(7):841–52.
86. Schubert GA, Seiz M, Hegewald AA, Manville J, Thome C. Acute hypoperfusion immediately after subarachnoid hemorrhage: a xenon contrast-enhanced CT study. *J Neurotrauma* 2009;26(12):2225–31.
87. Schwab S, Schwarz S, Spranger M, Keller E, Bertram M, Hacke W. Moderate hypothermia in the treatment of patients with severe middle cerebral artery infarction. *Stroke* 1998;29(12):2461–6.

88. Schwartz AY, Masago A, Sehba FA, Bederson JB. Experimental models of subarachnoid hemorrhage in the rat: a refinement of the endovascular filament model. *J Neurosci Methods* 2000;96(2):161–7.
89. Schwarzkopf TM, Horn T, Lang D, Klein J. Blood gases and energy metabolites in mouse blood before and after cerebral ischemia: the effects of anesthetics. *Exp Biol Med (Maywood)* 2013;238(1):84–9.
90. Schwarzkopf TM, Horn T, Lang D, Klein J. Blood gases and energy metabolites in mouse blood before and after cerebral ischemia: the effects of anesthetics. *Exp Biol Med (Maywood)* 2013;238(1):84–9.
91. Sehba FA, Ding WH, Chereshev I, Bederson JB. Effects of S-nitrosoglutathione on acute vasoconstriction and glutamate release after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1999;30(9):1955–61.
92. Shigeno T, Fritschka E, Brock M, Schramm J, Shigeno S, Cervos-Navarro J. Cerebral edema following experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1982;13(3):368–79.
93. Smith SL, Hall ED. Mild pre- and posttraumatic hypothermia attenuates blood-brain barrier damage following controlled cortical impact injury in the rat. *J Neurotrauma* 1996;13(1):1–9.
94. Solomon RA, Antunes JL, Chen RY, Bland L, Chien S. Decrease in cerebral blood flow in rats after experimental subarachnoid hemorrhage: a new animal model. *Stroke* 1985;16(1):58–64.
95. Sudlow CL, Warlow CP. Comparable studies of the incidence of stroke and its pathological types: results from an international collaboration. International Stroke Incidence Collaboration. *Stroke* 1997;28(3):491–9.
96. Teasdale GM, Drake CG, Hunt W, Kassell N, Sano K, Pertuiset B, et al. A universal subarachnoid hemorrhage scale: report of a committee of the World Federation of Neurosurgical Societies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51(11):1457.
97. Teunissen LL, Rinkel GJ, Algra A, van Gijn J. Risk factors for subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Stroke* 1996;27(3):544–9.

98. Thal SC, Mebmer K, Schmid-Elsaesser R, Zausinger S. Neurological impairment in rats after subarachnoid hemorrhage—a comparison of functional tests. *J Neurol Sci* 2008;268(1-2):150–9.
99. Thal SC, Sporer S, Schmid-Elsaesser R, Plesnila N, Zausinger S. Inhibition of bradykinin B2 receptors before, not after onset of experimental subarachnoid hemorrhage prevents brain edema formation and improves functional outcome. *Crit Care Med* 2009;37(7):2228–34.
100. Thome C, Schubert G, Piepgras A, Elste V, Schilling L, Schmiedek P. Hypothermia reduces acute vasospasm following SAH in rats. *Acta Neurochir Suppl* 2001;77:255–8.
101. Thome C, Schubert GA, Schilling L. Hypothermia as a neuroprotective strategy in subarachnoid hemorrhage: a pathophysiological review focusing on the acute phase. *Neurol Res* 2005;27(3):229–37.
102. Todd MM, Drummond JC. A comparison of the cerebrovascular and metabolic effects of halothane and isoflurane in the cat. *Anesthesiology* 1984;60(4):276–82.
103. Todd MM, Hindman BJ, Clarke WR, Torner JC. Mild intraoperative hypothermia during surgery for intracranial aneurysm. *N Engl J Med* 2005;352(2):135–45.
104. Van Bel F, Zeeuwe PE, Dorrepaal CA, Benders MJ, Van de Bor M, Hardjowijono R. Changes in cerebral hemodynamics and oxygenation during hypothermic cardiopulmonary bypass in neonates and infants. *Biol Neonate* 1996;70(3):141–54.
105. Van Gijn J, Rinkel GJ. Subarachnoid haemorrhage: diagnosis, causes and management. *Brain* 2001;124(Pt 2):249–78.
106. Veelken JA, Laing RJ, Jakubowski J. The Sheffield model of subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke* 1995;26(7):1279–83.
107. Voldby B. Pathophysiology of subarachnoid haemorrhage. Experimental and clinical data. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1988;45:1–6.

108. Voldby B, Enevoldsen EM. Intracranial pressure changes following aneurysm rupture. Part 3: Recurrent hemorrhage. *J Neurosurg* 1982;56(6):784–9.
109. Voldby B, Enevoldsen EM. Intracranial pressure changes following aneurysm rupture. Part 2: associated cerebrospinal fluid lactacidosis. *J Neurosurg* 1982;56(2):197–204.
110. Voldby B, Enevoldsen EM. Intracranial pressure changes following aneurysm rupture. Part 1: clinical and angiographic correlations. *J Neurosurg* 1982;56(2):186–96.
111. Wanebo JE, Arthur AS, Louis HG, West K, Kassell NF, Lee KS, et al. Systemic administration of the endothelin-A receptor antagonist TBC 11251 attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage: dose study and review of endothelin-based therapies in the literature on cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 1998;43(6):1409–17.
112. Westermaier T, Jauss A, Eriskat J, Kunze E, Roosen K. Time-course of cerebral perfusion and tissue oxygenation in the first 6 h after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009;29(4):771–9.
113. Westermaier T, Stetter C, Raslan F, Vince GH, Ernestus RI. Brain edema formation correlates with perfusion deficit during the first six hours after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *Exp Transl Stroke Med* 2012;4(1):8.
114. Wixson SK, White WJ, Hughes HC, Jr., Lang CM, Marshall WK. The effects of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam on core and surface body temperature regulation in adult male rats. *Lab Anim Sci* 1987;37(6):743–9.
115. Zausinger S, Baethmann A, Schmid-Elsaesser R. Anesthetic methods in rats determine outcome after experimental focal cerebral ischemia: mechanical ventilation is required to obtain controlled experimental conditions. *Brain Res Brain Res Protoc* 2002;9(2):112–21.

116. Zausinger S, Scholler K, Plesnila N, Schmid-Elsaesser R. Combination drug therapy and mild hypothermia after transient focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2003;34(9):2246–51.
117. Zausinger S, Thal SC, Kreimeier U, Messmer K, Schmid-Elsaesser R. Hypertonic fluid resuscitation from subarachnoid hemorrhage in rats. *Neurosurgery* 2004;55(3):679–86.

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.	Arterie
Aa.	Arteriae
AV-Fistel	arterio-venöse Fistel
CBV	zerebrales Blutvolumen (cerebral blood volume)
CBF	zerebraler Blutfluss (cerebral blood flow)
CPP	zerebraler Perfusionsdruck (cerebral perfusion pressure)
GCS	Glasgow Coma Scale
Gl.	Glandula
HT	Hypothermie
Hz	Hertz
ICP	intrakranieller Druck (intracranial pressure)
LD	Laser-Doppler
KG	Körpergewicht
M.	Musculus
MAC	minimale alveoläre Konzentration
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck (middle arterial pressure)
MW	Mittelwert
N.	Nervus
rCBF	regionaler zerebraler Blutfluss (regional cerebral blood flow)
PaCO ₂	CO ₂ Partialdruck
PaO ₂	O ₂ Partialdruck
SAB	Subarachnoidalblutung

s. c. subkutan
SEM standard error of mean

8. DANKSAGUNG

In erster Linie möchte ich mich bei Herrn Professor Nikolaus Plesnila für die Überlassung der Arbeit und für die hervorragende Betreuung bedanken. Ich danke ihm aber auch für die stetige Motivation, seine unglaubliche Geduld und für die sehr lustige Zeit, die wir miteinander verbracht haben.

Des Weiteren danke ich Herrn Professor Alexander Baethmann zum einen für die Aufnahme in das Institut für Chirurgische Forschung und die Arbeitsgruppe, zum anderen für die vielen unterhaltsamen Stunden im Rahmen der „Happy Hour“ und der Ethikseminare.

Herrn PD Dr. Karsten Schöller danke ich für die Betreuung der Versuche und seine stets freundliche Unterstützung trotz Vollzeittätigkeit in der Neurochirurgischen Klinik. Mittlerweile weiß ich den Einsatz umso mehr zu schätzen!

Einen herzlichen Dank an Susi Schwarzmeier, die seit 2004 mit mir durch dick und dünn gegangen ist!

Vielen Dank an alle Kollegen, die mich entweder praktisch oder moralisch während dieser Zeit unterstützt haben: Dr. Mariusz Klopotoski, PD Dr. Serge Thal, Dr. Nicole Terpolilli, Dr. Raimund Trabold, Dr. Doortje Engel, Dr. Sebastian Sonanini, PD Dr. Sandro Krieg, Sergej Feiler, Dr. Benjamin Friedrich, Dr. Seong Woong Kim, Dr. James Meiring, Stephanie Anetsberger, Dr. Konstantin Hockel.

Ich danke auch allen „guten Seelen“ des Institutes, die mit ihrem Einsatz zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben: Dr. Jürgen Peters, Herr Müller, Uta Mamrak und Alke Schropp.

Der allergrößte Dank gilt allerdings meiner Familie, die immer an mich geglaubt hat!

Eidesstattliche Versicherung

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand