

# **Neuroprotektion bei tiefem hypothermen Kreislaufstillstand am Schweinemodell**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der  
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Peter-Lukas Haldenwang  
geboren am 03. 05. 1977 in Sibiu

29. 03. 2005

Gutachter 1	Univ.-Prof. Dr. med. Thorsten Wahlers
Gutachter 2	Univ.-Prof. Dr. med. Uwe Mehlhorn
Gutachter 3	PD Dr. med. Klaus Pethig

Tag der öffentlichen Verteidigung      03.01.2006

## Abkürzungsverzeichnis

A.	-	Arteria
Aa.	-	Arteriae
AHA.SOC	-	American Heart Association ( <i>engl.</i> )
ANOVA	-	Analysis of Variance ( <i>engl.</i> )
ATP	-	Adenosintriphosphat
AV	-	Atrio-Ventrikulär
C3a	-	aktivierte 3. Komponente des Komplementsystems
Corp.	-	Corporation ( <i>engl.</i> )
CPB	-	Cardiopulmonary Bypass ( <i>engl.</i> )
CsA	-	Cyclosporin A
CT	-	Computergesteuerte Tomographie
CVP	-	Central Venous Pressure ( <i>engl.</i> )
DHCA	-	Deep Hypothermic Circulatory Arrest ( <i>engl.</i> )
DNA	-	Desoxyribonuclein Acid ( <i>engl.</i> = DNS)
ECS	-	Electrocerebral Silence ( <i>engl.</i> )
EEG	-	Elektroenzephalogramm
EKG	-	Elektrokardiogramm
engl.	-	englisch
et al.	-	et alii ( <i>lat.</i> )
F	-	French
h	-	Stunde(n)
HCA	-	Hypothermic Circulatory Arrest ( <i>engl.</i> )
Hkt	-	Hämatokrit
HLM	-	Herz-Lungen-Maschine
ICP	-	Intracranial Pressure ( <i>engl.</i> )
IE	-	Internationale Einheit
i. m.	-	intramuskulär
ISEL	-	In Situ End Labeling ( <i>engl.</i> )
i. v.	-	intravenös
IL	-	Interleukin
Inc.	-	Incorporation ( <i>engl.</i> )
lat.	-	lateinisch
MAP	-	Mean Arterial Pressure ( <i>engl.</i> )

MHC	-	Major Histocompatibility Complex ( <i>engl.</i> )
min	-	Minuten
MRT	-	Magnetresonanztomographie
n	-	Anzahl der Tiere
NOS	-	Stickstoffsynthetase
OP	-	Operation
p	-	p-Wert (Statistik)
paCO <sub>2</sub>	-	arterieller CO <sub>2</sub> -Teildruck
paO <sub>2</sub>	-	arterieller O <sub>2</sub> -Teildruck
PAP	-	Pulmonal Arterial Pressure ( <i>engl.</i> )
PBS	-	Phosphat Buffering Solution ( <i>engl.</i> )
POT 1	-	erster postoperativer Tag
POT 2	-	zweiter postoperativer Tag
POT 3	-	dritter postoperativer Tag
PTP	-	Permeability Transition Pore ( <i>engl.</i> )
pO <sub>2</sub>	-	O <sub>2</sub> -Teildruck
pCO <sub>2</sub>	-	CO <sub>2</sub> -Teildruck
POT	-	Postoperativer Tag
pvCO <sub>2</sub>	-	venöser CO <sub>2</sub> -Teildruck
RCP	-	Retrograd Cerebral Perfusion ( <i>engl.</i> )
s. c.	-	subcutan
SCP	-	Selective Cerebral Perfusion ( <i>engl.</i> )
SO <sub>2</sub> -Art	-	arterielle O <sub>2</sub> -Sättigung
SO <sub>2</sub> -SS	-	O <sub>2</sub> -Sättigung im Sinus Sagittalis
SS	-	Sinus Sagittalis
SSP	-	Sagittal Sinus Pressure ( <i>engl.</i> )
Stdv.	-	Standarddeviation
T	-	Temperatur
TEE	-	Transoesophageale Echokardiographie
TND	-	Temporäre Neurologische Dysfunktionen
TUNEL	-	Terminal dUTP Nick-End-Labeling ( <i>engl.</i> )
Tr.	-	Truncus
V.	-	Vena
VEP	-	Visuell Evozierte Potenziale
YOYO	-	Nukleinsäure-bindenden Cyanine-Färbung
ZNS	-	Zentrales Nervensystem

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	V
Zusammenfassung.....	VI
1 Einleitung .....	1
1.1 Einführung in die Thematik .....	1
1.2 Geschichtlicher Hintergrund.....	2
1.3 Indikationen zum chirurgischen Aortenbogensersatz.....	4
1.3.1 Akute Dissektion der thorakalen Aorta.....	4
1.3.2 Aneurysma der thorakalen Aorta .....	7
1.4 Prognose des chirurgischen Aortenbogensersatzes.....	8
1.5 Pathophysiologie der zerebralen Schädigung.....	10
1.6 Methoden der zerebralen Protektion .....	11
1.6.1 Vor- und Nachteile der Ganzkörperhypothermie.....	11
1.6.2 Hypothermer Kreislaufstillstand (HCA) .....	13
1.6.3 Klinische Routine des HCA.....	14
1.6.4 Neue Erkenntnisse.....	14
1.7 Pharmakologische Ansatzpunkte der Neuroprotektion .....	15
1.8 Kontrolle der Effektivität neuroprotektiver Maßnahmen .....	19
1.8.1 Metabolische Parameter .....	19
1.8.2 Intrakranielle Druckmessung.....	19
1.8.3 Neurophysiologische Messungen .....	20
1.8.4 Psychometrische Testverfahren.....	21
1.8.5 Histologie .....	22
2 Fragestellung und Ziele der Arbeit .....	23

3	Material und Methoden.....	24
3.1	Studienaufbau .....	24
3.2	Anästhesieprotokoll.....	25
3.3	Perioperatives Management .....	25
3.4	Neurophysiologisches Monitoring .....	26
3.5	Operative Technik.....	27
3.6	Anatomische Besonderheiten .....	30
3.7	Studienprotokoll .....	31
3.7.1	Perioperative Messungen .....	31
3.7.2	Bewertung des postoperativen neurologischen Status .....	32
3.7.3	Euthanasie und Hirnentnahme.....	33
3.8	Histologie .....	34
3.8.1	Histologische Aufarbeitung .....	34
3.8.2	Die ISEL- und YOYO- Färbung.....	35
3.8.3	Quantifizierung degenerativer neuronaler Veränderungen .....	35
3.9	Statistische Auswertung.....	36
4	Ergebnisse .....	37
4.1	Mortalität und Morbidität.....	37
4.2	Vergleichbarkeit der Gruppen .....	37
4.3	Temperaturverlauf.....	37
4.4	Hämodynamik .....	38
4.5	Blutgasanalyse und Hämatokritbestimmung .....	38
4.6	Elektrolyte .....	40
4.7	Zerebraler Metabolismus .....	41
4.7.1	Sauerstoff-Metabolismus .....	41
4.7.2	Venöser Kohlendioxidpartialdruck.....	42
4.7.3	Glukose.....	43

4.7.4	Laktat .....	43
4.8	Intrakranielle Druckmessung (ICP) .....	44
4.9	Druckmessung im Sinus sagittalis (SSP) .....	45
4.10	Elektroenzephalogramm (EEG) .....	46
4.11	Visuell evozierte Potentiale (VEP).....	47
4.12	Postoperativer neurologischer Status (Neurorecovery).....	48
4.13	Histologische Auswertung .....	49
4.13.1	Formen des Zelluntergangs – eine qualitative Differenzierung .....	49
4.13.2	Quantitative Zelltodbestimmung im Hippocampus .....	51
5	Diskussion .....	53
5.1	Temperaturmanagement und neuroprotektive Strategien.....	53
5.2	Hirnödem und intrakranieller Druckanstieg .....	55
5.2.1	ICP und SSP .....	55
5.2.2	Hämatokriteinstellung .....	58
5.3	Reduktion des zerebralen Metabolismus bei DHCA .....	59
5.3.1	Zerebraler Sauerstoffverbrauch .....	60
5.3.2	Laktatproduktion unter hypoxischen Bedingungen .....	60
5.4	Neurofunktionsdiagnostik.....	61
5.4.1	Elektrophysiologische Messungen.....	61
5.4.2	Das postoperative neurologische Verhalten .....	63
5.5	Histopathologie .....	64
6	Schlussfolgerungen.....	67
7	Literaturverzeichnis .....	69
	Lebenslauf.....	82
	Ehrenwörtliche Erklärung .....	83
	Danksagung .....	84

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Dissektion der thorakalen Aorta .....	4
Abb. 2: Aneurysma der thorakalen Aorta .....	4
Abb. 3: Klinische Einteilung der Aortendissektionen nach Stanford .....	5
Abb. 4: Apoptose eines Neurons .....	16
Abb. 5: Wirkung von CsA auf die T-Lymphozyten .....	18
Abb. 6: Schematische Darstellung des extrakorporalen Kreislaufs .....	28
Abb. 7: Kanülierung des Herzens und der Aorta (OP-Bild) .....	29
Abb. 8: Arcus aortae und supraaortale Äste beim Schwein (OP-Bild).....	31
Abb. 9: Versuchsablauf .....	32
Abb. 10: Anatomische Lokalisation der hippocampalen Formation .....	34
Abb. 11: Zeitliche Temperaturveränderung während des Versuchablaufs. ....	38
Abb. 12: Venöse Sauerstoffsättigung im Sinus sagittalis. ....	42
Abb. 13: Laktatspiegel im Sinus sagittalis .....	44
Abb. 14: Intrakranielle Druckmessung (ICP) .....	45
Abb. 15: Druckmessung im Sinus sagittalis (SSP) .....	46
Abb. 16 : Neurorecovery bei 20°C.....	48
Abb. 17: Neurorecovery bei 10°C/Plazebo .....	48
Abb. 18: Neurorecovery bei 10°C/CsA .....	48
Abb. 19: Apoptotischen Zelle in ISEL .....	50
Abb. 20: Apoptotischen Zelle in YOYO .....	50
Abb. 21: Typ 1-Zelluntergang in ISEL .....	50
Abb. 22: Typ 1-Zelluntergang in YOYO .....	50
Abb. 23: Typ 2-Zelluntergang in ISEL .....	51
Abb. 24: Typ 2-Zelluntergang in YOYO .....	51
Abb. 25: Neuronaler Zelluntergang im Hippocampus am POT 3.....	52

## **Tabellenverzeichnis**

Tab. 1: Behandlungsprotokoll der drei Studiengruppen .....	24
Tab. 2: Postoperativer Neurostatus - Neuroscore .....	33
Tab. 3: Physiologische Parameter.....	39
Tab. 4: Neurophysiologische Messdaten und Neuroscore .....	47
Tab. 5: Zelluntergang im Hippocampus.....	51

## Zusammenfassung

**Wissenschaftlicher Hintergrund:** Zerebrale Schädigungen in Form persistierender fokaler Defizite und/oder temporärer neurologischer Dysfunktionen (TND) stellen beim operativen Aortenbogensersatz infolge zerebraler Kurzzeitischämie ein bis heute nicht vollständig gelöstes klinisches Problem dar (Svensson et al. 1993, Ergin et al. 1994, Reich et al. 1999). Zwar konnte mit Einführung der Hypothermie und des hypothermen Kreislaufstillstandes (HCA) (Sealy et al. 1958, Barnard und Schrire 1963, Griep et al. 1975) die Ischämietoleranz des Gehirns verlängert (Greeley et al. 1993, Griep et al. 1997b) und das postoperative neurologische Ergebnis verbessert werden, dennoch bieten die angewandten neuroprotektiven Verfahren keinen sicheren zerebralen Schutz.

**Fragestellung:** Ziel der vorliegenden Arbeit war es, an einem chronischen Großtiermodell zu untersuchen, ob eine tiefe Hypothermie bei 10°C und/oder eine zusätzliche Behandlung mit Cyclosporin A (CsA) die zerebrale Schädigung nach hypothermem Kreislaufstillstand (HCA) weiter reduzieren kann.

**Methode:** Im Rahmen einer randomisierten Blindstudie wurden 24 juvenile Schweine (20 - 23 kg; 3 - 4 Monate) für 90 Minuten einem HCA bei 10°C mit 5 mg/kg CsA (n = 8), 10°C mit Plazebo (n = 8) und 20°C mit Plazebo (n = 8) unterzogen. CsA bzw. das Plazebo wurden vor dem HCA und an den ersten drei postoperativen Tagen (POT) i. v. verabreicht. Perioperativ wurden hämodynamische und neurophysiologische Daten (EEG, VEP) sowie der intrakranielle Druck (ICP) bis zu drei Stunden nach Abgang von der Herz-Lungen-Maschine (HLM) erfasst. An den ersten drei postoperativen Tagen wurde das neurologische Verhalten anhand eines Neuroscores bewertet. Geprüft wurden Mentalstatus, Koordination und Appetit (12 = normal, 0 = Koma/Exitus). Am dritten postoperativen Tag (POT 3) erfolgte nach Euthanasie eine selektive Perfusion des Gehirns zur Fixierung mit Formaldehydlösung und die Entnahme der linken Hippocampusformation. Sämtliche Hippocampi wurden auf apoptotische DNS-Fragmentierung und Chromatinkondensierung mittels *in situ end labeling* (ISEL) und Nukleinsäure-bindenden Cyanine-Färbung (YOYO) untersucht.

**Ergebnisse:** 83,3% der operierten Tiere erreichten das definierte Versuchsziel. Ein 20°C-, zwei 10°C/Plazebo- und ein 10°C/CsA-Tier verstarben vor Versuchsabschluss und wurden gemäß der Random-Route-Methode ersetzt. Die perioperativ gemessene Hämodynamik ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den

drei Gruppen. Hingegen war der ICP in den ersten drei Stunden nach HCA in der 20°C-Gruppe signifikant höher als in der 10°C/CsA- und 10°C/Plazebo-Gruppe ( $p = 0,003$ ). Die VEP-Messung ergab bei den Tieren der 10°C/CsA-Gruppe ein, zwei und drei Stunden nach HCA eine signifikant bessere Erholung von der isoelektrischen Null-Linie als bei den Tieren der 20°C-Gruppe ( $p_{1h} = 0,009$ ,  $p_{2h} = 0,028$ ,  $p_{3h} = 0,014$ ). Weitere signifikante Unterschiede erbrachte der postoperative neurologische Status ( $p = 0,03$ ): Eine gute neurologische Erholung nach HCA, mit einer Punktezahl  $> 9$  am POT 3, war bei 75% der 10°C/CsA ( $n = 6$ ), bei 62,5% der 10°C/Plazebo ( $n = 5$ ) aber bei nur 25% der 20°C-Tiere zu verzeichnen ( $p = 0,06$ ). Die histologische Untersuchung der Hippocampi ergab in der 10°C/CsA-Gruppe den geringsten Nachweis irreversibel geschädigter Zellen. Nur bei einem Tier der 10°C/CsA-Gruppe konnten nach der CsA-Behandlung nekrotische Zellen nachgewiesen werden. Die Apoptose-rate zeigte sich durch die CsA-Behandlung unbeeinflusst.

**Schlussfolgerung:** Die Zusammenfassung der erhobenen Messdaten ergab einen besseren neuroprotektiven Effekt bei der 10°C-Hypothermie im Vergleich zur 20°C-Hypothermie. Eine zellschädigende Wirkung im Sinne eines Kälteschadens mit resultierender Ödembildung und steigendem ICP wurde bei 10°C nicht beobachtet. Die medikamentöse Behandlung mit CsA zeigte sowohl in der postoperativen neurologischen Bewertung, als auch in der histologischen Auswertung eine verbesserte neuroprotektive Wirkung: CsA erwies sich als nekrosehemmend. Eine Beeinflussung der Apoptose, die als hauptverantwortlich für den Reperfusionsschaden nach HCA gilt, konnte unter CsA-Therapie jedoch nicht beobachtet werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, dass die 10°C-Hypothermie bei HCA-Zeiten von 90 min einer weniger aggressiven Kühlungsstrategie überlegen ist und folglich, nach Auffassung der Verfasser, auch unter klinischen Bedingungen bei langen HCA-Zeiten Anwendung finden sollte. Weiterhin erbrachten die Ergebnisse, dass trotz der nachgewiesenen nekrosehemmenden Wirkung von CsA keine Beeinflussung der apoptotischen Prozesse bei HCA zu verzeichnen ist und demnach keine klinische Indikation für eine zusätzliche CsA-Monotherapie bei HCA abgeleitet werden kann.

# 1 Einleitung

## 1.1 Einführung in die Thematik

Aufgrund der anatomischen Lage des Aortenbogens im Ursprungsgebiet der zerebralen Blutversorgung erfordert die Aortenbogenchirurgie besondere Maßnahmen zur zerebralen Protektion. Es handelt sich hierbei um Operationen wie proximaler oder totaler Aortenbogensersatz - mit oder ohne begleitendem Klappenersatz -, kombinierter Ersatz von Aortenbogen und thorakaler Aorta (Elephant-Trunk-Operation) sowie um Eingriffe an den abgangsnahen Abschnitten der supraaortalen Äste selbst. Die technische Schwierigkeit dieser Eingriffe besteht in der Sicherung des erforderlichen blutfreien Operationsfeldes, ohne dabei eine bleibende ischämische Schädigung des Gehirns zu verursachen.

In den 60er Jahren hat sich der kardiopulmonale Bypass (CPB) mit Herz-Lungen-Maschine (HLM) und systemischer Hypothermie als Methode der Wahl bei Aortenbogenoperationen etabliert. Dabei übernimmt die HLM die Pump- und Gasaustauschfunktion von Herz bzw. Lunge, während die Hypothermie den Metabolismus und damit den Gesamtsauerstoffverbrauch senkt.

Nach Anschluss der HLM erfolgt das Herabkühlen des Patienten über den Systemkreislauf. Bei Erreichen einer zerebroprotektiven Hypothermie wird der hypotherme Kreislaufstillstand (HCA) eingeleitet und die Aortenbogenanastomose offen - unter Sicht - im blutleeren Operationsfeld durchgeführt. Auf diesem Wege können thrombembolische Ereignisse vermieden bzw. eine Kontrolle und Anheftung der Dissektionsmembran bei Aortendissektionen durchgeführt werden. Das pathologisch veränderte Aortensegment wird chirurgisch entfernt und durch eine Kunststoffprothese ersetzt. Bis zur Fertigstellung der distalen Bogenanastomose (Distale Prothese - gesunde Aorta descendens) bleibt die zerebrale Blutzufuhr über die Aa. carotidae unterbunden. Die zerebralen Strukturen werden in diesem Intervall nicht durchblutet. Die Hypothermie bietet hierbei - durch Senkung des Sauerstoffverbrauchs im Gehirn - den einzigen temporären Ischämieschutz.

Die zerebrale Ischämietoleranz bestimmt somit das operative Geschehen und ist maßgebend für den postoperativen neurologischen Befund.

## 1.2 Geschichtlicher Hintergrund

Den ersten chirurgischen Aortenbogenersatz führte *DeBakey* 1957 unter Verwendung der HLM durch (De Bakey et al. 1957). Um eine zerebrale Ischämie zu verhindern, perfundierte er das Gehirn während des Kreislaufstillstandes selektiv über die Aa. carotidae. In weiteren Operationen erwies sich diese Methode als technisch schwierig und komplikationsreich. Gerade bei älteren Patienten mit fortgeschrittener Atherosklerose bestimmten zwei Hauptkomplikationen den Operationsausgang:

- Arterielle Embolien bei Kanülierung der A. carotis,
- ischämische Geschehen in ungenügend perfundierten zerebralen Regionen.

Arterielle Embolien waren häufig auf eine fortgeschrittene Atherosklerose im Bereich der supraaortalen Äste zurückzuführen und wurden iatrogen, durch Kanülierung der Aa. carotidae und Verschleppung von abgelöstem atherosklerotischem Material verursacht.

Trotz selektiver Hirnperfusion kam es unter normothermen Bedingungen (37°C) in zerebralen Gebieten mit Endstromversorgung zu einer Minderperfusion. Da die reflektorische Vasomotorik unter normothermen Bedingungen vollständig erhalten blieb, fanden trotz konstanten Blutflusses in den Aa. carotidae eine beachtliche Vasokonstriktion und Blutflussschwankungen in der zerebralen Gefäßperipherie statt. Diese wurden zusätzlich durch Anstieg der Katecholamine und Entzündungsparameter bei Einsatz des extrakorporalen CPB verstärkt. Die unzureichende Versorgung ischämiesensibler Hirnareale, insbesondere der Endstromgebiete, äußerte sich postoperativ klinisch in Form von neurologischen Dysfunktionen.

Als Schutzmechanismus vor zerebralen Schäden wurde 1958 der HCA in die Herzchirurgie eingeführt (Sealy et al. 1958). Bis heute dient er als Basismethode jeder Neuroprotektion. Das Prinzip der Hypothermie beruht auf der Senkung der zerebralen Temperatur unter die physiologische 37°C-Grenze mit Reduktion der Stoffwechselrate und des Sauerstoffverbrauchs in der Nervenzelle, bei gleichzeitiger Linksverschiebung der Sauerstoff-Hämoglobin-Sättigungskurve. Dadurch wird die Ischämietoleranz des Gehirns erhöht (Edmunds 1996).

In der Aortenchirurgie fanden Hypothermie und HCA erstmalig bei *Barnard* 1963 Anwendung (Barnard und Schrire 1963, Svensson et al. 1993). Die Technik wurde von *Griep* weiterentwickelt, der 1975 den tiefen hypothermen Kreislaufstillstand (DHCA) als Operationsmethode der Wahl bei Aneurysmen und Dissektionen des

Aortenbogens etablierte (Griep et al. 1975, Griep et al. 1997b). In den folgenden Jahren wurde der DHCA in zahlreichen herzchirurgischen Kliniken angewandt (Crawford und Saleh 1981, Cooley et al. 1981) und 1990 erstmalig zur Neuroprotektion des Rückenmarks bei thorako-abdominalem Aortenersatz eingesetzt (Kouchoukos et al. 1990).

Auch die von *DeBaKey* angewandte Methode der selektiven zerebralen Perfusion (SCP) entwickelte sich nach Einführung der Hypothermie zu einer weit verbreiteten Neuroprotektionstechnik (Frist et al. 1986). Dank Hypothermie kommt es heute seltener zur Hypoperfusion und einem deutlich besseren postoperativen neurologischen Status der Patienten. Dennoch bleibt das Embolierisiko bei der Kanülierung erhalten.

Als Alternative zu SCP und DHCA erprobten *Ueda et al.* 1990 die retrograde zerebrale Perfusion (RCP). Dabei wird die Hirnperfusion auf retrogradem Wege über die V. cava superior durchgeführt (Ueda et al. 1990). Über die Effektivität der RCP existiert bis heute keine einheitliche Sichtweise (Reich et al. 2001). Obwohl die RCP im Vergleich zum DHCA kürzere CPB-Zeiten benötigt, hat sich das postoperative Ergebnis gegenüber dem nach DHCA als nicht überlegen erwiesen (Griep et al. 1997a).

Keine der oben genannten Strategien bietet einen 100%igen Ischämieschutz. Schon der Anschluss an die Herz-Lungen-Maschine (HLM) setzt eine Kaskade von Pathomechanismen in Gange, die auch ohne HCA zu einer ausgeprägten Aktivierung des spezifischen und unspezifischen Abwehrsystems mit organischen Dysfunktionen führen. Längere HCA-Zeiten verstärken die Dysfunktionen und setzen - trotz thermischer Protektion - einen zusätzlichen zerebralen Schaden. Dabei wird vor allem die Phase der zerebralen Reperfusion als kritisch betrachtet.

In den letzten Jahren galt das Interesse vor allem der Erforschung pharmakologischer Eingriffsmöglichkeiten zur Unterbrechung dieser Pathomechanismen. Auch wenn einer Vielzahl von Pharmaka protektive, entzündungshemmende Effekte zugesprochen wurden, fanden nur wenige klinische Anwendung.

Es gibt bis heute keine einheitliche Meinung bezüglich der perfekten neuroprotektiven Strategie. Unterschiedliche Perfusionstechniken (retrograde versus antegrade), pharmakologisch-neuroprotektive Therapieansätze und ideales Temperatur-

management (HCA, DHCA) bleiben weiterhin Gegenstand kontroverser Diskussionen (Midulla et al. 1994, Juvonen et al. 1998b, Juvonen et al. 1998a).

### 1.3 Indikationen zum chirurgischen Aortenbogensersatz

Die beiden häufigsten Krankheitsbilder, bei denen ein operativer Eingriff am Aortenbogen durchgeführt werden muss, sind die akute Dissektion (Abb. 1) und das Aneurysma (Abb. 2). Zwischen den beiden Krankheitsbildern muss im Hinblick auf eine adäquate Therapie differenziert werden.

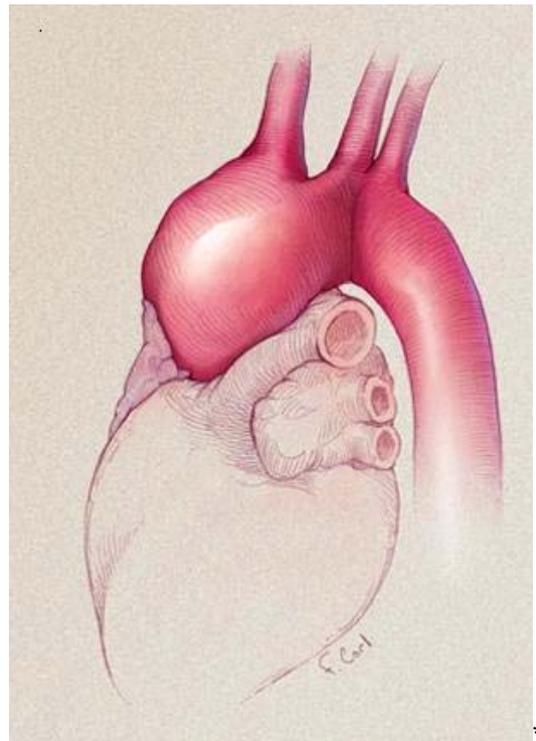
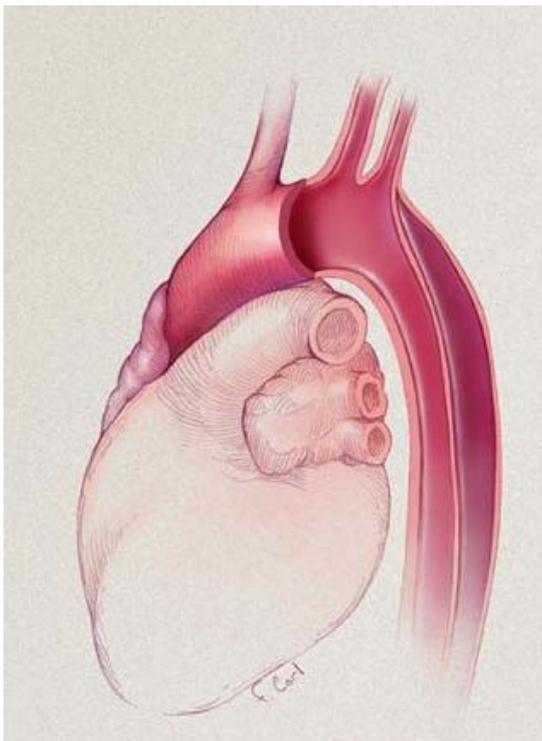


Abb. 1: Dissektion der thorakalen Aorta

Abb. 2: Aneurysma der thorakalen Aorta

\*Abb. aus: *Gallery of Medical Illustration by Frank Corl*, [http://www.ctisus.org/gallery/vascular\\_aortic\\_pathology](http://www.ctisus.org/gallery/vascular_aortic_pathology)

#### 1.3.1 Akute Dissektion der thorakalen Aorta

Als Dissektion bezeichnet man den Einriss der Aorteninnenwand (Tunica intima) mit Trennung der Wandschichten innerhalb der Tunica media und der Entwicklung eines „falschen Gefäßlumens“ (Abb.1). Die Gefäßwand wird dabei durch die perfundierende Blutsäule der Länge nach gespalten. Dieses akute Ereignis geht nicht mit der Bildung eines Aneurysmas einher. Die häufig verwendete Bezeichnung „Aneurysma dissecans“ ist daher unzutreffend und sollte in der Chirurgie vermieden werden.

Klassifikation: Aufgrund prognostischer und therapeutischer Kriterien wird die akute Aortendissektion nach der *Stanford University* Klassifikation (Abb. 3) hinsichtlich ihrer Lokalisation in eine proximale Typ A und eine distale Typ B Dissektion eingeteilt (Daily et al. 1970):

- Typ A: Dissektion der Aorta ascendens mit bzw. ohne Bogen- und Descendensbeteiligung
- Typ B: Dissektion der Aorta descendens, distal der linken Arteria subclavia

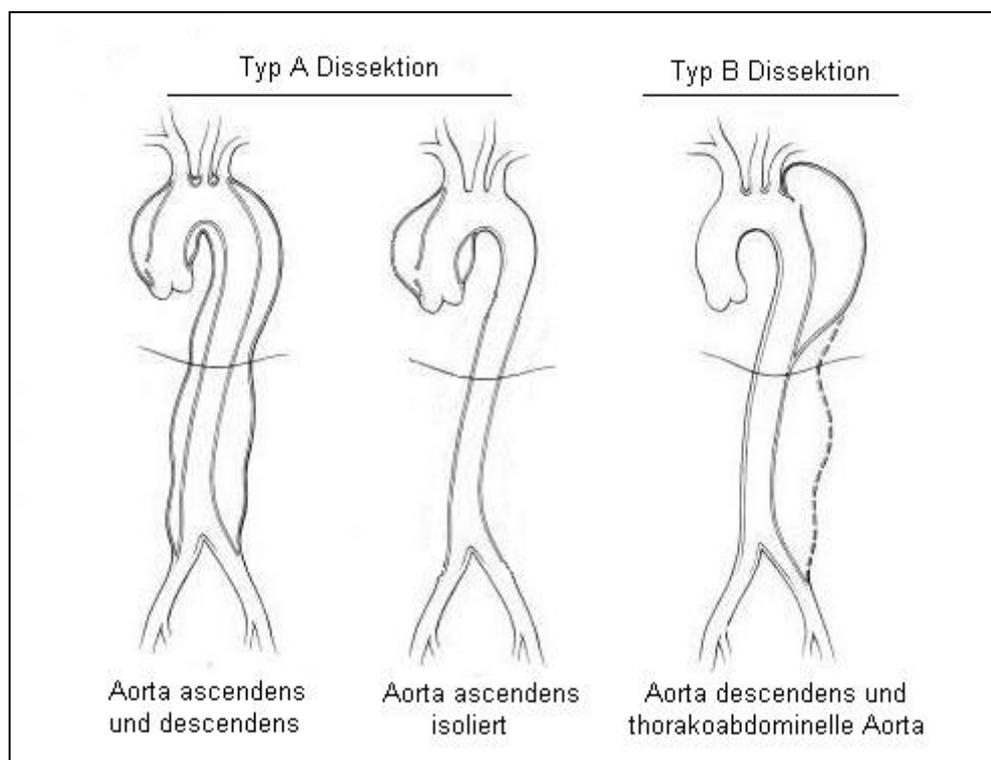


Abb. 3: Klinische Einteilung der Aortendissektionen nach Stanford

Ätiologie: Häufige Ursachen einer Aortendissektion sind Hypertonie, zystische Media-Nekrosen, das Marfan-Syndrom, bikuspidale Aortenklappen mit Aortenstenose, Aortenkoarktation, Atherosklerose, Lues, Schwangerschaft und iatrogene Traumata (Hirst et al. 1958, Miller et al. 1979, Guthaner et al. 1979, Larson und Edwards 1984).

Symptomatik: Typisch für eine akute Aortendissektion ist ein heftiges, anhaltendes thorakales Schmerzereignis. Bei der Typ A Dissektion wird dieses meist retrosternal empfunden, während bei der Typ B Dissektion der Schmerz eher in der linken Thoraxhälfte auftritt. Die von Beginn an maximale und im Verlauf anhaltende Schmerz-

tensität stellt eine wichtige Differentialdiagnose zu dem akuten Myokardinfarkt dar, bei dem der Schmerz einen eher ondulierenden Charakter aufweist.

Das klinische Bild wird durch transiente Synkopen, Dyspnoe, Hämoptysis, schwere Aortenklappeninsuffizienz (Stadium III – IV°), plötzliche Blutdruckveränderungen, periphere Pulsverluste, Blässe, Kaltschweißigkeit, Nausea und Vomitus vervollständigt.

Verlauf und Komplikationen: Im Krankheitsverlauf kommt es zu dem sogenannten „Malperfusionssyndrom“ (Borst et al. 1991). Dabei wird der Blutfluss in den abgehenden aortalen Ästen bei externer Kompression durch das falsche Lumen, bzw. durch gänzlichem Abscheren der Arterienansätze unterbrochen. Dieses führt in Abhängigkeit von der Lokalisation zu akuten myokardialen (Aa. coronariae), zerebralen (Truncus brachiocephalicus, A. carotis sinister) und spinalen (Aa. radicales) Ischämien. Bei Befall der A. subclavia kommt es zur distalen Ischämie der oberen Extremitäten (Cambria et al. 1988, Fann et al. 1990, Laas et al. 1991).

Eine proximale Ausbreitung, welche die Klappenebene erreicht, kann durch Dilatation des Aortenklappenringes zu einer akuten Aortenklappeninsuffizienz führen. Weiteres Einwühlen der zirkulierenden Blutsäule in das falsche Lumen und zunehmender Druckanstieg an den bereits verdünnten Wänden können im späteren Verlauf zu einem zweiten, distalen Intimariss mit spontaner Strombahnwiederherstellung oder zu einer Ruptur nach außen führen. Eine Ruptur mit gleichzeitigem Einbruch in den Perikardbeutel und folgender Herzbeutelamponade stellt bei den Typ A Dissektionen mit 70% die häufigste Todesursache innerhalb der ersten 14 Tage dar. Seltener wird eine Ruptur mit Eröffnung des Pleuraspaltes beobachtet. Folge ist hier die Ausbildung eines Hämatothorax.

Mortalität und Prognose: Die akute Aortendissektion stellt ein lebensbedrohliches Krankheitsbild dar. Bei der Typ A Dissektion beträgt die Mortalitätsrate innerhalb der ersten 24 Stunden zwischen 30 und 40%. Weitere 30 - 40% der Patienten versterben in den folgenden Tagen bzw. Wochen. Nur 10 - 20% der Patienten überleben die ersten 14 Tage ohne Therapie (Brindley und Stenbridge 1956, Hirst et al. 1958, Masuda et al. 1991).

Bei der Typ B Dissektion ist die Prognose deutlich günstiger. Bei Vermeidung hypertensiver Krisen durch adäquate medikamentöse Blutdruckeinstellung endet das akute Ereignis in nur 10 - 20% der Fälle tödlich; dann meist infolge einer kritischen Ischämie vitaler Organe.

Durch Verbesserung der Diagnostik (Labor, EKG, bildgebende Verfahren: Röntgen, TEE, CT, MRT, Aortographie) und der medikamentösen Therapie konnte die Mortalitätsrate bei Typ B Dissektionen in den letzten vier Jahrzehnten auf 10% gesenkt werden.

Therapie: Unkomplizierte Typ B Dissektionen werden medikamentös behandelt. Ziele der medikamentösen Therapie sind Schmerzfreiheit und Blutdrucksenkung. Typ A und komplizierte Typ B Dissektionen erfordern aufgrund der hohen Rupturgefahr eine chirurgische Intervention. Hierbei wird der betroffene Gefäßabschnitt eröffnet und das erkrankte Aortensegment durch eine Kunststoffprothese ersetzt.

### **1.3.2 Aneurysma der thorakalen Aorta**

Als Aneurysma wird die umschriebene Erweiterung eines Gefäßes bezeichnet, die durch Wandschwäche und/oder -degeneration bedingt ist (Abb. 2). Unterschieden wird zwischen den echten Aneurysmen (Aneurysma verum), welche die gesamte Gefäßwand betreffen und den falschen Aneurysmen (Aneurysma spurium), die nach einer Gefäßverletzung entstehen und eigentlich ein bindegewebig begrenztes, perivaskuläres Hämatom darstellen. Aufgrund ihres Erscheinungsbildes unterscheidet man sackförmige (Aneurysma saccularis) und spindelförmige Aneurysmen (Aneurysma fusiforme).

Lokalisation: Aneurysmen der thorakalen Aorta treten insbesondere im Bereich der Aorta ascendens, des Aortenbogens, aber auch distal der linken A. subclavia auf.

Ätiologie: Im Unterschied zu der akuten Dissektion handelt es sich bei einem Aneurysma um einen allmählich fortschreitenden, chronischen Prozess, bei dem sich die geschädigte Aortenwand dem Gesetz von *La Place* folgend bei ansteigendem hämodynamischen Stress erweitert.

Während die arterielle Hypertonie die Hauptursache der akuten Aortendissektion darstellt, wird das Aneurysma der thorakalen Aorta hauptsächlich durch eine fortgeschrittene Atherosklerose bedingt. Weitere ätiologische Faktoren sind Strukturveränderungen der Gefäßwand (Marfan-Syndrom, Ehler-Danlos-Syndrom, Morgagni-

Turner-Albright-Syndrom), das Vorliegen einer bikuspiden Aortenklappe oder einer Isthmusstenose sowie altersbedingte Degeneration, Traumata und Entzündungen.

Symptomatik: Aneurysmen der thorakalen Aorta entwickeln sich oft asymptomatisch und werden als Zufallsbefund bei einer Thoraxaufnahme diagnostiziert. Bei der symptomatischen Verlaufsform können Schmerzen zwischen den Schulterblättern, Heiserkeit, Zwerchfellhochstand, Stridor und Dysphagie auftreten.

Diagnostik: Zur Diagnosestellung dienen Röntgenthoraxaufnahmen, CT und MRT. Die Standarddiagnostik bei aortalen Aneurysmen stellt die Angio-CT-Aufnahme mit Kontrastmittel dar. In vielen Fällen tritt aufgrund der aneurysmatischen Dilatation im Ascendenssegment ein Aortenklappenfehler auf, sodass eine Echokardiographie zur Abklärung dieses Befundes benötigt wird. Eine begleitende koronare Herzkrankheit sollte durch eine Linksherzkatheteruntersuchung ausgeschlossen werden.

Therapie: Alle symptomatischen Aneurysmen der thorakalen Aorta werden chirurgisch versorgt. Die kurative Therapie ist dabei der prothetische Ersatz des betroffenen Gefäßabschnittes. Relative Operationsindikation haben asymptomatische Aneurysmen mit rascher Größenprogredienz ( $> 0,5 - 1$  cm pro Jahr), bzw. asymptomatische Aneurysmen mit einem Durchmesser von  $\geq 5$  cm. Bei sackförmigen Aneurysmen des Aortenbogens sowie bei Übergreifen des aneurysmatischen Prozesses auf die Klappenebene, empfiehlt sich ein operativer Eingriff schon bei einem Aortendurchmesser zwischen 3 und 4 cm - unabhängig von dem Symptomauftritt. (Coselli und LeMaire 1999).

Komplikationen und Prognose: Die schwerwiegendste Komplikation des Aortenbogenaneurysmas ist die Ruptur. Unbehandelt überleben nur 50% der Patienten die ersten 48 Stunden, 80% versterben innerhalb von zwei Wochen (Herold 2004).

#### **1.4 Prognose des chirurgischen Aortenbogensersatzes**

Einen prognostisch wichtigen Faktor für das postoperative Ergebnis des Aortenbogensersatzes stellt die Effektivität des angewandten neuroprotektiven Verfahrens dar. Die Verbesserung der neuroprotektiven Techniken sowie der Einsatz neuer Perfusionsmethoden konnten die Auswirkung der hypoxischen Schädigung des zentralen Nervensystems (ZNS) nicht vollständig reduzieren (Svensson et al. 1993). Insbesondere bei HCA-Patienten die intraoperativ langen Kreislaufstillstandszeiten ausgesetzt sind, stellen neurologische Dysfunktionen - in ihrer permanenten oder temporären Ausprägung - weiterhin gefürchtete postoperative Komplikationen dar.

Erst die Einführung des tiefen hypothermen Kreislaufstillstandes (DHCA) bei Temperaturen  $< 15^{\circ}\text{C}$  konnte das zu erwartende Risiko mindern. Betrug die Mortalitätsrate bei Operationen ohne HCA in den 50er und 60er Jahren bis zu 25% - die meisten Patienten verstarben an schweren Hirnschäden - so lag diese Anfang der 90er Jahre unter 10% (Svensson et al. 1993).

Auch wenn das Zeitsicherheitsintervall der tolerierten zerebralen Ischämie noch nicht eindeutig bestimmt ist, sind die Rahmenbedingungen des zeitlichen Managements bekannt, welche die Effektivität der Hypothermie deutlich beeinflussen: Nach 40 Minuten HCA steigt die Häufigkeit postoperativer neurologischer Störungen und nach 65 Minuten die Mortalitätsrate signifikant (Svensson et al. 2001). Bewiesen ist auch, dass nicht allein die Ischämiezeit, sondern auch die Reperfusionphase (Aufwärmphase und die ersten postoperativen Stunden) Einfluss auf das neurologische Ergebnis nimmt.

Aus klinischer Sicht werden zwei Formen der postoperativen zerebralen Schädigung nach HCA unterschieden (Ergin et al. 1994):

- 1) Fokale Defizite - Hemiparese oder Hemiplegie, Aphasie, Dysarthrie, visuelle Defizite sowie ischämische Attacken bis hin zum Koma - stellen schwere, oft bleibende neurologische Schäden dar. Sie werden entweder durch lokale zerebrale Hypoperfusion oder durch arterielle Embolie (atherosklerotisch veränderte Aorta, Thrombenablösung, Luftembolie, CPB-bedingt) verursacht.
- 2) Als Temporäre Neurologische Dysfunktionen (TND) werden postoperative Verwirrtheit, Unruhe, Delirium, Enzephalopathie, Krampfanfälle und parkinsonartige Symptome (ohne im CT erkennbaren fokalen Herd) bezeichnet. Ihnen liegt eine zeitweilige, generalisierte Hypoxie des ZNS zugrunde - ein Ungleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot und Bedarf, das die gesamte Hirnsubstanz betrifft.

Beide Typen unterscheiden sich in ihrer Schwere und Häufigkeit: Für die Patienten sind die unter Punkt 1 angeführten embolischen Ereignisse drastischer. Diese treten nach HCA jedoch seltener auf. Eine mildere Schädigung stellen die TND dar. Obwohl diese in der Häufigkeit überwiegen, sind sie unmittelbar postoperativ meist nur anhand spezifischer psychometrischer Tests diagnostizierbar. Entgegen der ursprünglichen Meinung, dass es sich hier um passagere, vollständig reversible Störungen handelt, zeigten TND anhand entsprechender Tests eine Persistenz von

mehreren Wochen post operationem (Reich et al. 1999). Obwohl die genaue Pathogenese der TND bis heute nicht eindeutig geklärt ist, steht fest, dass sie wichtige Indikatoren einer unzulänglichen zerebralen Protektion darstellen (Hagl et al. 2002).

Das Auftreten der TND wurde unabhängig von der Art der jeweiligen Neuroprotektionsmethode in mehreren Arbeiten als schwerwiegende postoperative Komplikation beschrieben (Hilgenberg und Logan 2001, Kazui et al. 2001, Schepens et al. 2002).

Eine retrospektive Studie mit 1131 Patienten, die im Zeitraum von 15 Jahren an einem Aortenbogenaneurysma operiert wurden, ermittelte eine Gesamtmortalität von 9,9%. Dabei stellten neurologische Dysfunktionen die Hauptursache der postoperativen Morbidität dar: 21,7% der Patienten erlitten zerebrale Embolien, wobei 6,5% permanente fokale Defizite aufwiesen. Die höchste Morbiditäts- und Mortalitätsrate fand man bei älteren Patienten (Alter > 70 Jahre) mit kombiniertem Bogen- und Descendensaneurysma und Atherosklerose. TND hatten in dieser Risikogruppe eine Inzidenz von 31%, fokale Defizite wurden in 12,5% der Fälle verzeichnet (Spielvogel et al. 2003).

Untersuchungen von *Kazui et al.* erbrachten bei einem Kollektiv von 50 Patienten mit totalem Aortenbogensersatz unter Anwendung einer verbesserten OP-Technik eine Mortalitätsrate von nur 2% und eine TND-Inzidenz von 4%. Dabei stellte die CPB-Dauer in einer Multivarianzanalyse den einzigen unbeeinflussbaren Risikofaktor für TND dar (Kazui et al. 2001).

## **1.5 Pathophysiologie der zerebralen Schädigung**

Die zerebrale Schädigung durch HCA beruht auf zwei biochemischen Pathomechanismen: Dem Hirnödem und dem postischämischen Nervenzelluntergang.

Das Hirnödem wird durch entzündliche Reaktionen bedingt, die bereits vor HCA einsetzen können. Intraoperativ wird ein Interleukin-Anstieg beobachtet, dessen Ausmaß direkt mit der Dauer des CPB proportional ist. Der Oberflächenkontakt mit den synthetisch hergestellten Komponenten des Bypass-Kreislaufes (vom körpereigenen Immunsystem als ‚non-self‘ erkannt) bewirkt die Aktivierung von Entzündungsmediatoren sowie des Komplement-Systems. Insbesondere die aktivierte Komplement-3-Komponente (C3a) stimuliert dabei die Plättchenaggregation und induziert die Histaminfreisetzung aus Mastzellen und Basophilen.

Durch Histaminausschüttung sowie Anhäufung und Sequestration neutrophiler Leukozyten in der zerebralen Mikrozirkulation steigt die kapillare Permeabilität im Hirngewebe (engl.: *immunologically-induced capillary leak syndrome*). Plasma verlässt aufgrund des osmotischen Druckgefälles das Gefäßlumen und tritt in den extravasalen Raum, in das Nervengewebe ein (engl.: *cell swelling*). Es kommt zu Hämokonzentration und Hirnödem. Das mit Flüssigkeit überflutete Gewebe kann sich jedoch in der Schädelkalotte nur bedingt ausdehnen und komprimiert dadurch die noch durchbluteten Kapillaren, der intrakranielle Druck (ICP) steigt an. Als weiterer Faktor beeinflusst die steigende Blutviskosität die normale Blutzirkulation negativ: das dickflüssigere Blut verstopft die schon verengten Kapillaren, einzelne Gehirnareale werden nicht mehr ausreichend versorgt und werden nekrotisch (Guyton und Hall 2000). Dabei sind Hippocampus, Neocortex, Basalganglien und Cerebellum die Areale, die am empfindlichsten auf die temporäre Ischämie reagieren (Ye et al. 1996, Kurth et al. 1999).

## **1.6 Methoden der zerebralen Protektion**

### **1.6.1 Vor- und Nachteile der Ganzkörperhypothermie**

Um den Folgen der Ischämie entgegenzuwirken, wurde die Hypothermie mit systemischer und lokal-zerebraler Senkung der Körpertemperatur als Schutzmechanismus des Gehirns eingeführt. Der Vorteil dieser Technik besteht in der Reduktion von Stoffwechselrate und Sauerstoffverbrauch in der Nervenzelle (Davies 1993) bei gleichzeitiger Linksverschiebung der Sauerstoff-Hämoglobin-Sättigungskurve, mit höherer Affinität des Sauerstoffs für Hämoglobin. Somit bleibt das Hämoglobin auch bei geringen Sauerstoffpartialdrücken hochgradig gesättigt, sodass der Zellstoffwechsel vorrangig auf den im Blut gelösten Sauerstoff angewiesen ist, dessen Anteil bei zunehmender Kälte steigt (Edmunds 1996).

Neben neuroprotektiven Eigenschaften weist die Ganzkörperhypothermie aus klinischer Sicht auch eine Reihe von Nebenwirkungen auf: Störungen des kardialen Erregungsleitungsystems bis hin zum Kammerflimmern, Gerinnungsstörungen, Einschränkung des Gasaustausches (Schädigung des Lungengewebes), Nierenfunktionsstörungen, Einschränkung der Darmmotilität.

Auf zellulärer Ebene bewirken Temperaturen unter 8°C eine Kälteschädigung. Während eine milde Hypothermie eine suppressive Wirkung auf den Verbrauch endogener Antioxydantien hat (Karibe et al. 1994), kommt es bei tiefen Temperaturen

( $T < 8^{\circ}\text{C}$ ) zu der vermehrten Bildung freier Sauerstoffradikale und freiere Eisenionen ( $\text{Fe}^{++}$ ). Die freien Eisenionen erhöhen die Konzentration der Hydroxylradikale. Dieses führt bei einer gleichzeitig verminderten Superoxyd-Dismutase-Aktivität zu einer potenzierten zellschädigenden Wirkung (DeLeon et al. 1998).

Zerebrale Durchblutung: Bei erhaltener Autoregulation ist die zerebrale Blutflussrate überwiegend vom arteriellen Mitteldruck abhängig (Schwartz et al. 1995). Der zerebrale Blutfluss bleibt bei arteriellen Blutdruckwerte von 50 bis 120 mmHg beinahe unverändert. Jenseits dieses Intervalls, bzw. bei kälteren Temperaturen ist die Wirksamkeit dieses physiologischen Regulationsmechanismus reduziert und der zerebrale Blutfluss wird druckpassiv (Taylor 1998).

Der allgemeine vasomotorische Effekt einer Hypothermie ist eine anfängliche reflektorische Vasokonstriktion mit Erhöhung des peripheren Widerstandes. *Strauch et al.* fanden anhand der Bestimmung des zerebralen Blutflusses und der Metabolismusrate bei  $20^{\circ}\text{C}$  eine noch vorhandene vaskuläre Autoregulation (Strauch et al. 2003a). Bis zu  $18^{\circ}\text{C}$  steigt der zerebrale vaskuläre Widerstand kontinuierlich an und der zerebrale Blutfluss nimmt gegenläufig ab. Bei Temperaturen unter  $18^{\circ}\text{C}$  fällt die vaskuläre Autoregulation weg und das zerebrale Gefäßbett stellt sich weit. Eine weitere Temperatursenkung von  $18^{\circ}\text{C}$  auf  $8^{\circ}\text{C}$  hat im Tiermodell sogar eine Zunahme des zerebralen Blutflusses ergeben. (Ehrlich et al. 2002)

Grund einer lokal auftretenden Verminderung der zerebralen Blutversorgung kann ein ungleichmäßiges Absenken der Temperatur in verschiedenen Hirnarealen sein. Bei einer zu schnellen Kühlung können zerebrale arterio-venöse *Shunt*-Mechanismen auftreten, die unter normothermen Bedingungen funktionslos sind und sich erst bei tiefen Temperaturen öffnen. Dadurch kommt es in Endstromversorgungsarealen zu einer relativen Minderperfusion (Davies 1993).

Kardiale und pulmonale Veränderungen: Nach anfänglicher sympathischer Stimulation mit Anstieg von Herzzeitvolumen und Herzfrequenz nehmen beide Parameter proportional zur Temperatursenkung ab. Durch Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandes kommt es zur Zentralisierung des Blutvolumens. Dies kann bei Risikopatienten zu einem kongestiven Herzversagen führen.

Des weiteren treten bei tiefen Temperaturen Störungen des Erregungsleitungssystems auf. Diese können sich in Form von Bradykardien und AV-Blöcken äußern, aber auch zur Hemmung der physiologischen Sinusknotenaktivität und zum Über-

gang auf ektope Reizzentren führen. Im Extremfall kommt es zu ventrikulären Tachykardien bzw. Vorhof- und/oder Kammerflimmern.

Mit zunehmender Kühlung wird eine Abnahme der pulmonalen Ventilation verzeichnet. Der physiologische und anatomische Todraum nimmt aufgrund der kältebedingten Bronchodilatation zu. Der Gasaustausch bleibt dabei unbeeinflusst.

Renale Veränderungen: Mit fallender Gesamtkörpertemperatur nimmt auch der renale Blutfluss direkt proportional ab. Hypothermie erhöht den renalen Gefäßwiderstand, was einen geringeren kortikalen Blutfluss und eine unzureichende Sauerstoffzufuhr zur Folge hat. Oft tritt eine Glukosurie als Zeichen eines renalen Filtrationsverlustes auf. Der tubuläre Natrium-, Chlor- und Wasser-Transport ist herabgesetzt. Die renale Konzentrationskapazität wird unzulänglich, die tubuläre Rückresorption nimmt ab. Hierbei dient die Hämodilution (im Rahmen des CPB) als protektive Gegenmaßnahme. Sie erhöht den renalen Blutfluss und hält postoperativ die tubuläre Funktionalität aufrecht.

Hepatische Auswirkungen: Signifikante hepatische Schäden infolge eines HCA sind selten. Zwar nimmt der arteriell-hepatische Blutfluss als Folge des verringerten Herzzeitvolumens proportional mit diesem ab, jedoch besteht die größte Veränderung in der Senkung der metabolischen und exkretorischen Leberfunktionen. Demnach haben Medikamente, die über die Leber metabolisiert und ausgeschieden werden, eine verlängerte Halbwertszeit und einen länger anhaltenden Wirkspiegel. Dieses ist in der Wahl der anästhesiologischen oder sonstigen perioperativen Medikation zu berücksichtigen. Nach Wiedererwärmen und Erreichen der Normothermie kehren diese Funktionen ohne bleibende Schäden in physiologische Bereiche zurück.

### **1.6.2 Hypothermer Kreislaufstillstand (HCA)**

Unter HCA versteht man das temporäre Abschalten der HLM nach Erreichen der zerebroprotektiven Zieltemperatur. Bei Operationen an dem Aortenbogen wird die Aorta ascendens distal der Koronarabgänge geklemmt (engl.: *Cross-Clamping*) und die Koronarien mit einer Kardioplegielösung perfundiert. Der Ersatz des pathologisch veränderten Abschnittes wird im blutleeren Feld durchgeführt. Dabei sind Gehirn und Myokard thermisch bzw. medikamentös (Kardioplegielösung) geschützt.

Systemische Temperaturen zwischen 15°C und 20°C werden für Kreislaufstillstandzeiten bis zu 30 min selbst von älteren Patienten sowie Patienten mit zerebralen Ge-

fäßerkrankungen meist ohne spätere Organschäden toleriert. Das Kühlen wird durch kalte Perfusion über die HLM erreicht. Optional kann auch eine topische Oberflächenkühlung von extern durchgeführt werden. Ist ein HCA von > 20 min zu erwarten, wird der Kopf des Patienten zusätzlich in Eisbeutel gepackt (Edmunds 1996).

Ab 40 min und insbesondere nach 60 min Kreislaufstillstand nimmt das Risiko einer dauerhaften ischämischen Schädigung selbst bei Temperaturen unter 15°C signifikant zu (Greeley et al. 1993).

### **1.6.3 Klinische Routine des HCA**

An den meisten herzchirurgischen Kliniken wird der HCA bei einer Nasopharyngeal-Temperatur von 18°C eingeleitet. Bei Eingriffen, die längere Kreislaufstillstandzeiten (> 30 min) benötigen, wird weiter auf 13 - 15°C gekühlt. Obwohl bei diesen Temperaturen in einzelnen Fällen schon Kreislaufstillstände bis zu zwei Stunden, ohne bleibende neurologische Schäden durchgeführt wurden (Griep et al. 1991, Svensson et al. 1993), steigt mit zunehmender Ischämiezeit das Risiko für TND sowie die Inzidenz von Entwicklungsstörungen bei Kindern (Newburger et al. 1993, Bellinger et al. 1995, Oates et al. 1995). Kreislaufstillstandzeiten von über 40 Minuten sollten auch bei 13 - 15°C vermieden werden (Edmunds 1996).

### **1.6.4 Neue Erkenntnisse**

Die Bestimmung der Sauerstoffsättigung in der Vena jugularis bei intraoperativen klinischen Messungen ergab selbst bei 18° bzw. 15°C eine noch beachtliche Sauerstoffausschöpfung. Es musste davon ausgegangen werden, dass selbst bei diesen Temperaturen ein noch vorhandener zerebraler Residualmetabolismus existiert (Griep et al. 1997b). In der tierexperimentellen Forschung quantifizierten *Griep et al.* diesen Restmetabolismus bei jungen Beagle-Hunden. Sie fanden bei einer Hypothermie von 18°C eine noch vorhandene Metabolismusrate von 40% der normothermen Ausgangsmessung. Die Hirntemperatur musste im Tiermodell unter die 10°C-Grenze gesenkt werden, um die zerebrale Stoffwechselrate auf 10% des Ausgangswertes zu reduzieren.

Weitere klinische Messungen bei HCA Patienten ergaben bei 15°C eine Stoffwechselrate von 25 - 30% des Normalwertes (Griep et al. 1997b). Postoperative Messungen der jugular-venösen O<sub>2</sub>-Sättigung wiesen selbst sechs Stunden nach Auf-

wärmung auf einen gesteigerten zerebralen Metabolismus hin, insbesondere nach längeren HCA-Zeiten (> 60 min).

Somit ist nicht allein das eigentliche Ischämieintervall durch hohe Sensibilität gekennzeichnet, sondern auch der postischämische Zeitraum, in dem die Hirntemperatur zu normothermen Werten zurückgekehrt ist. Unter normothermen Bedingungen nehmen die Zellen ihre aerobe metabolische Aktivität wieder auf. Nach der vorausgegangenen Ischämie und dem akuten postischämischen Energiebedarf weisen sie einen extrem hohen Sauerstoffverbrauch auf.

Das Kühlen auf 10°C wird in der Herzchirurgie bis zu dem jetzigen Zeitpunkt nicht angewandt. Hauptgrund ist die verlängerte Kühl- und Wärmzeit (verlängerte HLM-Zeit) und der noch nicht eingehend erforschte Kälteschaden. Theoretisch wäre bei Temperaturen unter 10°C eine zerebrale und myokardiale Protektion ideal, doch besteht ein erhöhtes Risiko für Veränderung der rheologischen Bluteigenschaften mit steigender Blutviskosität, Ausbildung von Mykrokristallen und irreversiblen Membranschäden auf Zellniveau (Davies 1993).

## **1.7 Pharmakologische Ansatzpunkte der Neuroprotektion**

Studien von *Maier*, *Kin* und *Mehmet* zeigen, dass nicht Nekrose allein, sondern auch apoptotische Veränderungen an dem postischämischen Zelluntergang nach HCA beteiligt sein können (Maier et al. 1998, Mehmet et al. 1998, Kin et al. 1999).

Auf zellulärer Ebene besteht ein ischämiebedingtes Ungleichgewicht zwischen pro- und antiapoptotischen Faktoren, das während der Reperusionsphase sowie nach Abgang von der HLM eine fortschreitende Gewebeschädigung zur Folge hat (Ashkenazi und Dixit 1998).

Das apoptotische Programm einer Zelle beginnt mit der Reaktion der Mitochondrien auf Hypoxie oder freie O<sub>2</sub>-Radikale und der Freisetzung von Cytochrom C (Abb. 4). Letztere bewirkt die Aktivierung von Caspasen und Proteasen mit Veränderungen an der Zellmembran, im Zytoplasma und im Zellkern. Neurone sind für die durch Caspasen induzierte Apoptose besonders anfällig. Im Zellkern spalten sie DNS-Ketten sowie das DNS-Reparaturenzyme. (Siegenthaler 2001).

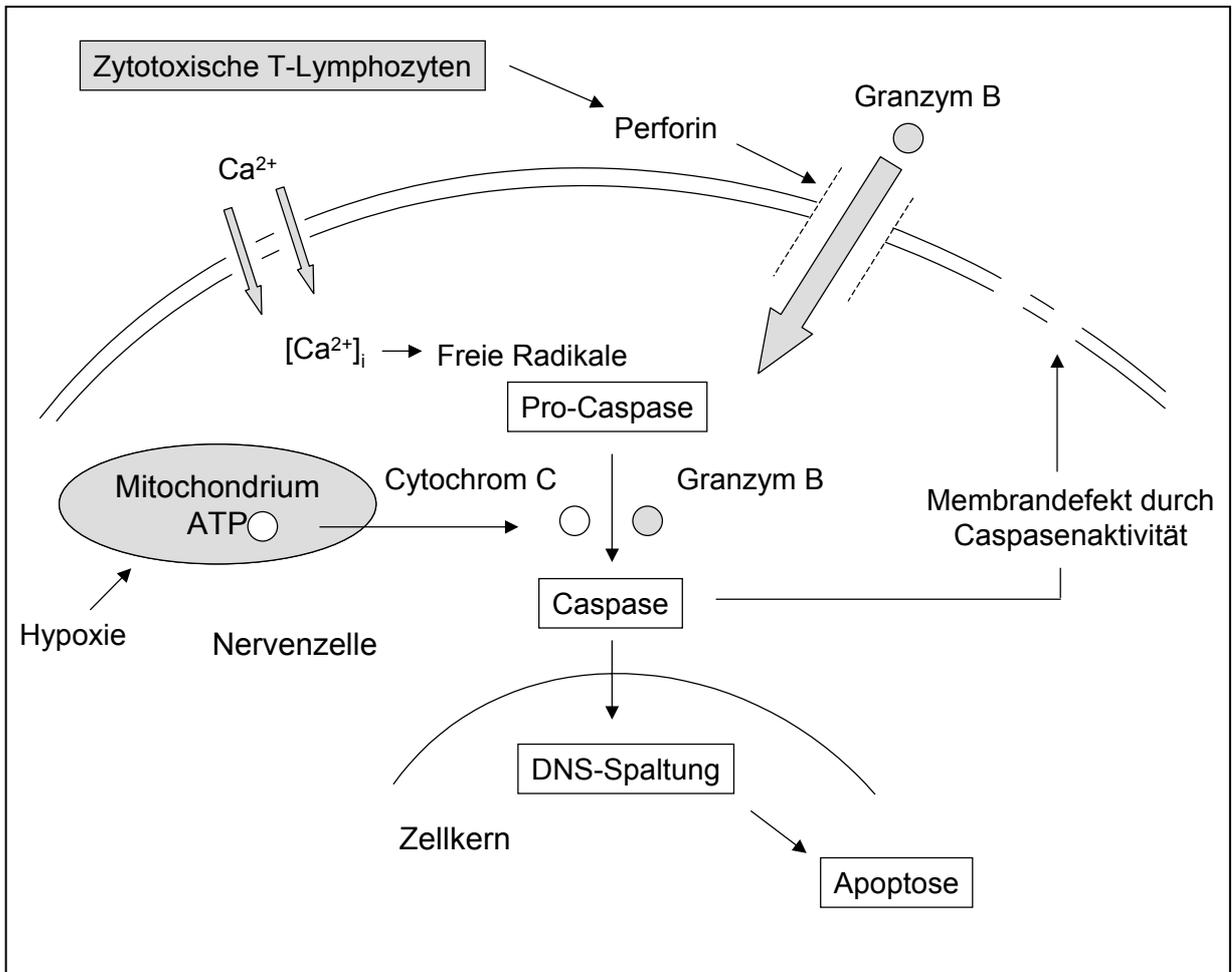


Abb. nach Böcker et al. 2001

Abb. 4: Apoptose eines Neurons

**Legende:** Bei HCA wird Apoptose durch Hypoxie in der Ischämiephase bzw. durch Bildung freier Sauerstoffradikale in der Reperfusionphase ausgelöst. Mitochondrien reagieren auf diese Veränderungen, indem sie Cytochrom C freisetzen. Cytochrom C aktiviert wiederum Caspasen (Proteasen), die Veränderungen der Zellmembran und des Zellkerns bewirken. An der Zellmembran bilden sie durch Proteinspaltung Poren, durch die  $Ca^{2+}$  in die Zelle einströmen kann.  $Ca^{2+}$ -abhängige Enzyme werden aktiviert, die wiederum eine Vernetzung von Proteinen bewirken und zur freien Radikalbildung beitragen. In dem Zellkern spalten Caspasen die DNA an spezifischen Stellen und führen so zur Apoptose. Einen weiteren Weg der Apoptoseinduktion stellt die Aktivierung zytotoxischer T-Zellen dar: Über Perforin bilden sie Poren in der Zellmembran und aktivieren über Granzym B ebenfalls die Caspasen.

Es folgt eine Caspasen-bedingte Membranschädigung mit massivem Einstrom von  $Ca^{2+}$ -Ionen. Die erhöhte intrazelluläre Calciumkonzentration ( $[Ca^{2+}]_i \uparrow$ ) setzt eine Reihe von zytoplasmatischen und nukleären Prozessen in Gang, welche die Entstehung eines Gewebeschadens erheblich beeinflussen. Die  $Ca^{2+}$ -bedingte Aktivierung von Phospholipase  $A_2$  und Cyclooxygenase führt zur Produktion freier Radikale. Das  $Ca^{2+}$ -abhängige Enzym neuronale Stickstoffsynthetase (NOS) koppelt Stickoxid (NO) mit dem Superoxyd-Anion ( $O_2^-$ ) und ein hochreaktives Radikal entsteht: Peroxynitrit ( $NOO^-$ ) (Böcker 2001).

Freie Sauerstoffradikale reagieren mit nahezu jedem Molekül der Hirnzellen. Entscheidend ist ihr Anstieg in den Mitochondrien, deren Membran sie schädigen, indem sie „*permeability transition pores*“ (PTP) öffnen. Die Mitochondrien schwellen an, die ATP-Produktion kommt zum Erliegen und der pH-Wert fällt.

Die beschriebenen Prozesse laufen kaskadenförmig ab und führen in einem zeitlichen Intervall von sechs Stunden bis zu einigen Tage zur Desintegration der Zelle (Lipton 1999). Es handelt sich um einen kontinuierlich fortschreitenden Prozess, der nicht nach Reoxygenierung des Gehirns stoppt, sondern postoperativ bis zu 72 Stunden mit einem Maximum bei 6 Stunden post CPB beobachtet werden kann (Hagl et al. 2001b).

Diese Erkenntnisse eröffnen aus pharmakotherapeutischer Sicht neue Perspektiven, um die zerebrale Ischämietoleranz während des HCA zu steigern. Eine präischämische Therapie mit Pharmaka, die der kaskadenförmig ablaufenden Apoptose schon in deren Anfangsphase entgegenwirken sollen, wurde bereits in vorhergehenden Tierversuchen angewandt.

*Hagl et al.* wiesen bei einem Experiment an Schweinen, die einem neunzigminütigen HCA bei 20°C unterzogen wurden, auf die neuroprotektiven Eigenschaften von Cyclosporin A (CsA) hin. Dieser Ansatz eines neuen, neuroprotektiven Verfahrens bei temporärer zerebraler Ischämie ist auf experimentelle Arbeiten von *Shiga, Uchino* und *Yoshimoto* zurückzuführen (Uchino et al. 1995, Uchino et al. 1998, Shiga et al. 1992, Yoshimoto et al. 2001).

Cyclosporin A ist ein zyklisches, aus elf Aminosäuren bestehendes Peptid, das aus dem Pilz *Beauveria nivea* entnommen wird. Die größte klinische Anwendung findet CsA derzeit in der Transplantationsmedizin, um Abstoßreaktionen nach Nieren-, Leber- und Herztransplantationen zu verhindern. Weitere Indikationen sind Autoimmunerkrankungen (Rheumatoide Arthritis), schwere endogene Uveitis mit Retina-Beteiligung, schwerste Formen der Psoriasis und bestimmte Formen des nephrotischen Syndroms.

CsA wirkt immunsuppressiv, indem es in die Signalübermittlung zwischen den Lymphozyten eingreift. CsA hemmt die antigen-getriggerte Signaltransduktion in den T-Lymphozyten nach Fremdkörperkontakt (Abb. 5). Gegenüber den Glucocorticoiden hat es den Vorteil, dass der immunsuppressive Effekt nicht an andere Stoffwechselwirkungen gekoppelt ist.

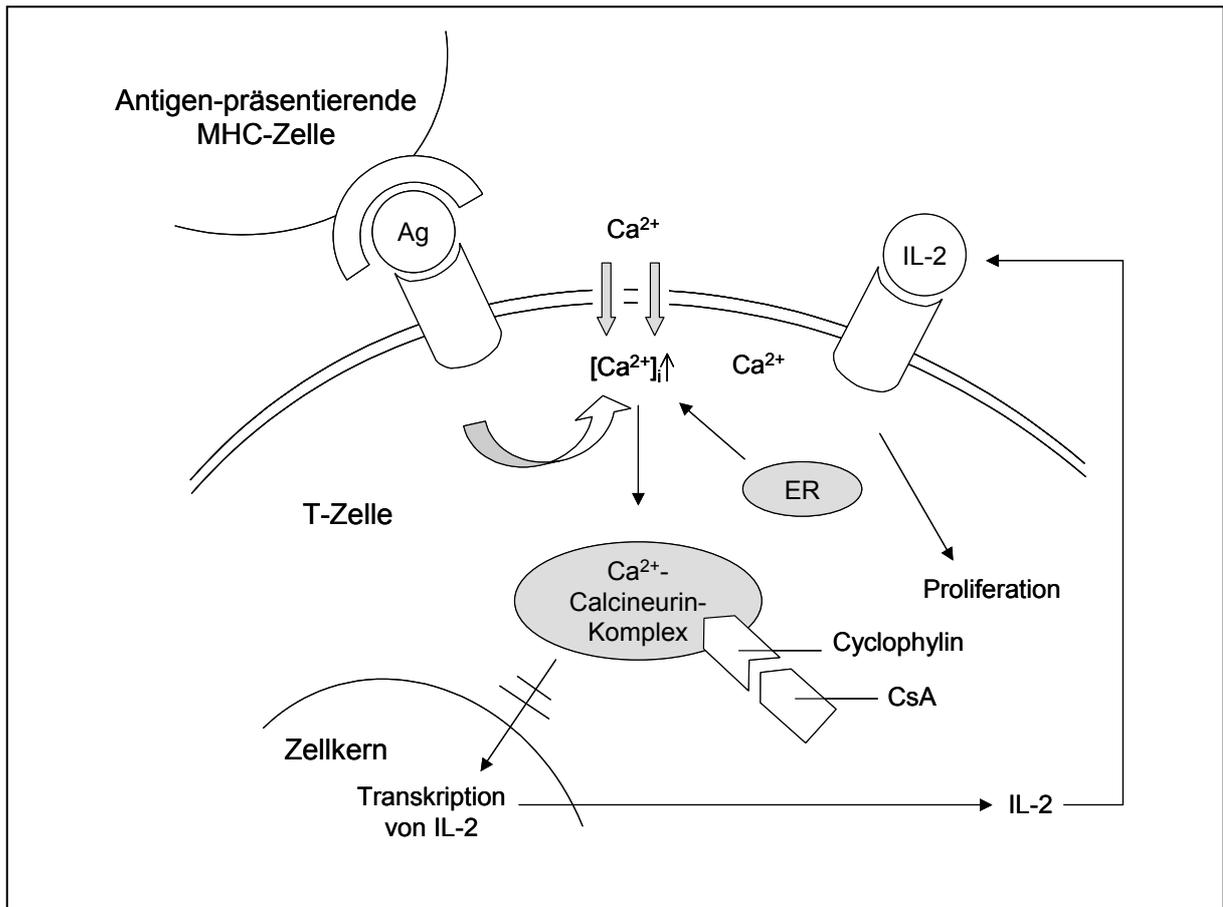


Abb. nach Lison 2000

Abb. 5: Wirkung von CsA auf die T-Lymphozyten

**Legende:** Bei Antigenkontakt (Ag) kommt es zu einem vermehrten  $Ca^{2+}$ -Einstrom in die T-Zelle. Es bildet sich ein  $Ca^{2+}$ -Calcineurin-Komplex, der wiederum die Interleukintranskription im Zellkern anregt und über die Lymphozytenproliferation die Immunantwort verstärkt. Durch Anlagerung an Cyclophilin hemmt CsA die Transkription von Interleukin 2 (IL-2). Bei fehlendem IL-2 können Antigen-aktivierte T-Lymphozyten nicht proliferieren, was zu einer reversiblen Hemmung des Immunsystems führt.

Des Weiteren könnte CsA durch Blockade apoptotischer Prozesse die Überlebenschancen der Ischämie-geschädigten Neurone steigern: CsA bindet das mitochondriale Cyclophilin D der Nervenzelle und hemmt dadurch das Öffnen der PTP, das als Anfangsschritt der Apoptoseinduktion gesehen wird (Yoshimoto und Siesjö 1999).

Hagl *et al.* erzielten bei Versuchen mit CsA und HCA am Schweinemodell positive Ergebnisse. Die von ihnen operierten CsA-Tiere wiesen perioperativ einen signifikant niedrigeren intrakraniellen Druck (ICP) und ein besseres postoperatives neurologisches Ergebnis im Vergleich zu der Kontrollgruppe (Plazebopräparat) auf (Hagl *et al.* 2001a).

## **1.8 Kontrolle der Effektivität neuroprotektiver Maßnahmen**

Während eine schnelle postoperative neurologische Erholung den klinischen Beweis einer guten Neuroprotektion bei HCA bietet, kann die qualitative Unterscheidung zwischen apoptotischen und nekrotischen Prozessen und deren Anteil am globalen Zelluntergang allein durch histologische Aufarbeitung erbracht werden.

Beide Untersuchungen - neurologische Erholung und histologische Aufarbeitung - bieten jedoch lediglich den postoperativen Nachweis einer bereits stattgefundenen neurologischen Schädigung, wobei die letztere nur post mortem möglich ist.

Eine Reihe klinischer Parameter können hingegen bei allen Patienten bestimmt werden und geben bereits perioperativ Auskunft über die Effektivität der Neuroprotektion: Sauerstoffsättigung, Laktat-Spiegel, intrakranieller Druck, Druck in den Hirnventrikeln bzw. Sinus sagittalis sowie neurophysiologische Methoden, wie EEG und visuell evozierte Potentiale.

### **1.8.1 Metabolische Parameter**

Venöse Sauerstoffsättigung: Die Differenz zwischen arterieller und venöser Sauerstoffsättigung gibt zu jedem Zeitpunkt über den Sauerstoffverbrauch und gemeinsam mit der zerebralen Blutfluss-Rate über die aktuelle Metabolismusrate im Gehirn Auskunft. Eine perioperativ hohe Sauerstoffsättigung im Sinus sagittalis deutet auf einen geringen Verbrauch und eine ausreichende Suppression des zerebralen Metabolismus hin.

Laktat und ph-Wert: Der Laktatspiegel zeigt an, ob der Stoffwechsel im aeroben oder anaeroben Bereich stattfindet. Während des HCA stellt die anaerobe Glukolyse die einzige Form der Energiegewinnung dar. Dabei entstehen große Mengen Laktat, die nur mit Hilfe von Sauerstoff in der Reperusionsphase wieder abgebaut werden können.

### **1.8.2 Intrakranielle Druckmessung**

Die ICP-Messung wird hauptsächlich in der Neurochirurgie eingesetzt (Rossi et al. 1998). Des Weiteren wurden bei Schlaganfallpatienten kurz nach einem apoplektischen Insult erhöhte ICP-Werte nachgewiesen (Schneweis et al. 2001). Dennoch gibt es keine randomisierten, prospektiven Studien, die eine signifikante prognostische Aussagekraft der ICP-Messung belegen und diese invasive Messung statistisch rechtfertigen (Lane et al. 2000).

Erste klinische Berichte über einen ICP-Anstieg während der Reperfusion nach HCA liegen von *Burrows et al.* vor (Burrows et al. 1990). *Jonassen et al.* zeigten, dass der zerebrale Blutfluss nach dem HCA-Intervall reduziert ist und es ödembedingt zu einem ICP-Anstieg kommt (Jonassen et al. 1995).

In den meisten tierexperimentellen Neuroprotektionsstudien der letzten Jahre wurde der ICP als Indikationsparameter der Ödementstehung mitbestimmt (Sekaran et al. 2001, Moro et al. 1994, Ehrlich et al. 2001). Aufgrund der Datenlage wurde beim Schwein der ICP-Normalbereich zwischen 0 und 12 mmHg festgelegt. Werte über 15 mmHg gelten als gefährlich und korrelieren mit einem schlechten postoperativen neurologischen Ergebnis (Ehrlich et al. 2001).

### **1.8.3 Neurophysiologische Messungen**

EEG: Das Elektroenzephalogramm ist bei Operationen mit CPB und Kreislaufstillstand ein wesentlicher Bestandteil der intraoperativen Funktionsdiagnostik. Es dient dem Nachweis herdförmiger oder diffuser Störungen die - im Falle des CPB - durch Ischämie und/oder Embolie verursacht werden können (Masuhr und Neumann 1998). Das EEG misst die hirneigenen Elektrizitätsströme, die als kortikale Potentialdifferenz zwischen zwei Elektroden erfasst, verstärkt und graphisch aufgezeichnet werden.

Eine EEG-Suppression kann bei Allgemeinanästhesie, Hypothermie, ischämischem Hirnschaden sowie nach epileptischen Anfällen beobachtet werden. Bei der Induktion einer Hypothermie über den CPB fällt die EEG-Amplitude. Bei DHCA kommt es zur kompletten EEG-Suppression, die bei allmählicher Erwärmung in langsame Wellen, dann in eine „*Burst-Suppression*“ und schließlich in ein normales EEG übergehen (Stecker et al. 2001b). Des Weiteren ist eine enge Korrelation zwischen rascher intraoperativer EEG-Erholung nach HCA und einem guten postoperativen neurologischen Status bekannt (Witoszka et al. 1973).

VEP: Visuell evozierte Potentiale stellen eine weitere Diagnosemethode einer ischämiebedingten zerebralen Schädigung dar. Sie testen die Leitfähigkeit der Nervenbahnen sowie die Funktionalität der Rezeptoren und zerebralen Integrationszentren. Die kortikale Potentialdifferenz wird hier durch einen externen Stimulus erzeugt. Im Gegensatz zum EEG handelt es sich bei VEP demnach nicht um hirneigene Potentiale.

Ein Ausbleiben der VEP bei intermittierender Retinastimulation kann sowohl durch ein ischämisch-embolisches Ereignis im Okzipitallappen (Projektionszentrum), ein Hirnödem mit Kompression des Sehnervs (Leiter), als auch durch einen postoperativ erhöhten Augeninnendruck mit daraus folgender Kompression der Sehpapille (Rezeptor) verursacht werden.

*Coles et al.* setzten das Monitoring evozierter Potentiale erstmalig zur Evaluation der Neuroprotektionseffektivität bei HCA erfolgreich ein (*Coles et al. 1984*). Später etablierten *Stecker et al.* die evozierten Potentiale zur intraoperativen Schlaganfalldiagnostik bei Herzoperationen (*Stecker et al. 1996*). Heute finden VEP-Messungen trotz ihrer relativ einfachen Durchführbarkeit im klinischen Alltag geringe Anwendung.

Eine kürzlich veröffentlichte klinische Arbeit von *Stecker et al.* belegt die völlige Unabhängigkeit der neurophysiologischen Parameter (EEG und evozierte Potentiale) von den bekannten Risikofaktoren: Präoperativer apoplektischer Insult, Karotisstenose, Alter, Hämoglobinkonzentration während des HCA, etc. (*Stecker et al. 2001b*).

Beide Messungen, EEG und VEP, stellen somit von der individuellen Krankenvorgeschichte weitaus unabhängige Methoden der intraoperativen Neurofunktionsdiagnostik dar.

#### **1.8.4 Psychometrische Testverfahren**

Eine präzise und schnelle neurologische Diagnostik ist bei HCA-Patienten postoperativ immer erforderlich (*Maier et al. 1998*). Die *American Heart Association* schlägt dazu eine klinische Bewertung vor, die der bei Schlaganfallpatienten nach apoplektischem Insult entspricht - „*Stroke Outcome Classifikation*“ (AHA.SOC). Durch komplette neurologische Untersuchung werden dabei Motorik, Sensorik, Visus, Sprache, kognitive Funktionen (Kurz- und Langzeitgedächtnis, Aufmerksamkeit, Orientierung, Rechenvermögen, etc.) sowie der Affekt (Depressionen, Appetit, Schlaf etc.) überprüft und dokumentiert (*American Heart Association, 1998*).

Im Tierversuch ist das Erheben eines genauen Neurostatus nur bedingt möglich. In der Literatur wird auf diverse Evaluationsbögen (*Neuroscores*) verwiesen, welche die Bereiche Motorik, Vigilanz, Orientierung und Appetit umfassen und eine objektive Bewertung des postoperativen Verhaltens ermöglichen (*Midulla et al. 1994, Yerioglu et al. 1995, Hagl et al. 2001a, Juvonen et al. 1998a*).

Sämtlichen *Neuroscores* liegt der von *Tarlov* 1972 im *Journal of Neurosurgery* publizierte „*motor function score*“ zugrunde (Tarlov 1972). Dessen ursprüngliche Fassung wurde für ein chronisches Rückenmarks-Kompressionsmodell erstellt und bewertete lediglich die motorischen Fähigkeiten der Versuchstiere nach erfolgtem Trauma. Rückschlüsse über den Vigilanzstatus sowie vegetative Störungen konnten damit nicht gemacht werden. Aus diesem Grunde wurde der Tarlov-Score bei späteren chronischen zerebralen Ischämie-Modellen um diese Bereiche erweitert (Yerlioglu et al. 1995, Hagl et al. 2001a) und auch in der vorliegenden Arbeit in einer modifizierten Form angewandt.

### **1.8.5 Histologie**

Die histopathologische Analyse des ZNS nach HCA stellt bei akuten wie chronischen Tierversuchen den Abschluss einer kompletten postoperativen Neurodiagnostik dar. Untersucht werden besonders empfindliche Hirnareale wie Hippocampus, Thalamus, Putamen, Pons und Endversorgungsgebiete im Cortex. Dabei verwendet man je nach Zielsetzung unterschiedliche Aufbereitungsmethoden und Färbungen: Klassische Hematoxylin-Eosin-Färbung bei rein quantitativem Zelltod-Nachweis und grober morphologischer Beurteilung des geschädigten Gewebes (Ye et al. 1996), bis hin zu Spezialfärbungen wie ISEL oder TUNEL zur Unterscheidung von Apoptose und Nekrose bei der qualitativen Analyse (Tatton et al. 2001).

## 2 Fragestellung und Ziele der Arbeit

In der Chirurgie der thorakalen Aorta gelten Hypothermie und HCA seit den 60er Jahren als neuroprotektive Standardverfahren. Trotz der Weiterentwicklung dieser Verfahren konnte in den letzten 40 Jahren das Zeitsicherheitsintervall bei HCA kaum über 30 - 45 min hinaus erweitert werden, ohne gleichzeitig das Risiko postoperativer neurologischer Störungen zu erhöhen (Hilgenberg und Logan 2001, Kazui et al. 2001, Schepens et al. 2002).

Die Hauptthemen der heutigen Hypothermieforschung zur Optimierung des postoperativen Ergebnisses lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Ideales Temperaturmanagement zur Vergrößerung der zerebralen Ischämietoleranz,
- Pharmakologische Ansätze zur Apoptose- und Nekrosehemmung bzw. zur Verhinderung einer zerebralen Ödembildung,
- CPB-Blutgas-Management und pH-Strategie.

Ziel dieser Forschungstätigkeit war es, am chronischen Schweinemodell das ideale Temperaturmanagement sowie neue pharmakologische Therapieansätze für ein verbessertes postoperatives neurologisches Ergebnis nach Langzeit-HCA zu finden. Vorversuchen und klinischen Studien folgend (Griep et al. 1997b) wurde die Effektivität der tiefen systemischen Hypothermie bei 10°C im Vergleich zu der klinisch gängigen Form der Hypothermie (20°C) untersucht. Bis zu Versuchsbeginn gab es in der Literatur kein Großtierforschungsmodell mit statistisch relevanter Fallzahl bei dem eine 90-minütigen HCA bei 10°C mit dreitägiger postoperativer Beobachtung durchgeführt wurde.

Als pharmakologischer Ansatz wurde Cyclosporin A (CsA) aufgrund seiner immunsuppressiven und entzündungshemmenden Eigenschaften auf seine potenzielle apoptose- bzw. nekrosehemmende Wirkung getestet.

Im klinischen Alltag fand Cyclosporin A bei HCA-assistierten Herzoperationen keine Anwendung. Aufgrund des nachgewiesenen Anstiegs der zerebralen Apoptose- und Nekroserate bei HCA stellte sich allerdings die Frage, ob CsA in Kombination mit einer tiefen Hypothermie (10°C) nicht eine optimale Neuroprotektion bei Langzeit-HCA bieten könnte.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Studienaufbau

Nach Prüfung und Zustimmung der Ethikkommission “*Mount Sinai Institutional Animal Care and Use Committee*” wurden 24 weibliche, 3 - 4 Monat alte und 18 - 21 kg schwere Yorkshire-Schweine (Th. D. Morris, Inc., Reisterstown, NY, USA) im *Department of Cardiothoracic-Surgery* des *Mount Sinai Medical Center*, New York untersucht. Dem Charakter einer randomisierten Blindstudie folgend, wurden die Tiere in drei Gruppen eingeteilt (Tab. 1):

Tab. 1: Behandlungsprotokoll der drei Studiengruppen

Gruppe	Anzahl der Tiere	HCA -Temperatur	Verabreichtes Pharmakon
I	8	10°C	Cyclosporin A (CsA)
II	8	10°C	Plazebo: Castor Oil
III	8	20°C	Plazebo: Castor Oil

Die Tiere der Gruppe I (10°C/CsA) erhielten präoperativ 125 mg Cyclosporin A (Sandimmune® Novartis Pharmaceuticals Co., East Hannover, NJ, USA) und wurden an der HLM in 45 Minuten auf 10°C Hirntemperatur herabgekühlt. Nach 90-minütigem hypothermen Kreislaufstillstand erfolgte die Wiedererwärmung bis zur physiologischen Körpertemperatur und nach sechs Stunden die Extubation bei stabilen Kreislaufparametern. An den beiden ersten postoperativen Tagen POT 1 und POT 2 erhielten die Tiere zur exakt gleichen Uhrzeit je 125 mg Cyclosporin subkutan.

Die Tiere der Gruppe II (10°C/Plazebo) wurden präoperativ mit 5 ml eines Plazebopräparates (Castor Oil) behandelt, auf 10°C gekühlt und postoperativ an den Tagen POT 1 und POT 2 zur gleichen Uhrzeit mit dem Plazebopräparat (je 5 ml) subkutan versorgt.

In Gruppe III (20°C) wurde prä- und postoperativ das Plazebopräparat zu denselben Zeitpunkten und in gleicher Verabreichungsform wie in Gruppe II injiziert (präoperativ: i. v.; postoperativ: s. c.). Der hypotherme Kreislaufstillstand erfolgte nach einer 30-minütigen Kühlphase, bei einer Hirntemperatur von 20°C, für eine Zeitspanne von 90 Minuten.

### **3.2 Anästhesieprotokoll**

Zur Prämedikation erhielt jedes Tier intramuskulär Ketamin (Ketanest® 10 mg/kgKG, i. m.) und Atropin (0,1 g/kgKG, i. m.). Das prämedizierte Tier wurde gewogen und dann in Rückenlage gebracht. Am linken Ohr des Tieres wurde ein venöser Zugang (Angiocath®, Becton Dickinson, Sandy, Utah, USA) gelegt. Die Einleitung der Narkose erfolgte mit Thiopentobarbital (20 mg/kgKG i. v.). Als Analgetikum wurde Fentanyl in Form eines transdermalen therapeutischen Systems (Duragesic® 5 mg mit einer Dosierung von 50 µg/h und Wirkungsdauer von 72 h) am Nacken des Tieres angebracht.

Zur endotrachealen Intubation wurde das Tier in die sogenannte „Schnüffelposition“ (Streckung des Atlantookzipitalgelenkes) gebracht. Die Intubation erfolgte unter laryngoskopischer Sicht. Eine korrekte Tubuslage wurde durch Auskultation beider Lungen gesichert und das intubierte Tier an die Beatmungsmaschine (Electronic Anesthesia Ventilator Ohio 7000, Ohio Medical Products, Wisconsin, USA) angeschlossen.

Die maschinelle Beatmung erfolgte mit einem FiO<sub>2</sub> von 0,5 unter Beimischung des Narkosegases Isofluran 1 - 2% (Forane®, Baxter Healthcare Co., Deerfield, USA). Zur Muskelrelaxation wurde Pancuronium (0,1 mg/kgKG) i. v. verabreicht. Über die Modulation der Beatmungsfrequenz und des Tidal-Volumens wurde ein arterieller CO<sub>2</sub>-Teildruck (paCO<sub>2</sub>) von 35 - 40 mmHg konstant gehalten. Die endtidale CO<sub>2</sub>-Konzentration sowie inspiratorische und expiratorische Zusammensetzung des Gasgemisches wurden kontinuierlich über einen Monitor (PPG Biomedical Systems, Model 2010 - 200 R, Lenexa, KS, USA) erfasst. Die antibiotische Prophylaxe erfolgte mit je 1 g Cefazolin® zu Versuchsbeginn bzw. nach Wundverschluss in Form einer Kurzinfusion (1 g in 50 ml NaCl-Lösung).

### **3.3 Perioperatives Management**

Die Überwachung der Diurese wurde durch das Einbringen eines transurethralen Blasenkatheters (Foley®, 8 - 10 F) gewährleistet. Temperatursonden (Mon-a-therm 6500, Mallinckrodt Medical, St. Louis, USA) wurden rektal, oesophageal und intrazerebral (in der grauen Hirnsubstanz) angebracht. Zur kontinuierlichen kardialen Funktionsdiagnostik wurde ein Drei-Kanal-EKG über beide Vorderläufe und den rechten Hinterlauf des Tieres abgeleitet. Nach Rechtsseitenlagerung wurde die Hautdesin-

fektion mit 10% Polividon-Iodine<sup>®</sup> Lösung durchgeführt und das OP-Feld steril abgedeckt.

Über einen ca. 5 cm langen Hautschnitt erfolgte die Präparation des Gefäß-Nerven-Bündels in der rechten Leiste. Über die in die Arteria femoralis eingebrachte arterielle Linie wurden Blutgasanalysen (Blood Gas Analyser, Ciba Corning 865, Chiron Diagnostics, Norwood, MA, USA) sowie die kontinuierliche invasive Druckmessung durchgeführt.

Die Vena femoralis communis wurde freigelegt und nach distal legiert. Nach Eröffnung des Gefäßes erfolgte die Einschwemmung eines *Swan-Ganz* Thermodilutionskatheters (Baxter Healthcare Corp., Irvine, CA, USA) zur kontinuierlichen Messung des zentralen Venendruckes (CVP) und im Bedarfsfall zur intraoperativen zentralvenösen Gabe von Medikamenten. Der pulmonal-arterielle Druck (PAP) wurde kontinuierlich intraoperativ erfasst.

Nach vorausgegangener Rasur und Desinfektion wurde die Kopfhaut mit einem medianen 5 cm langen Schnitt durchtrennt, das Periost mit Hilfe eines Spatels entfernt und die Schädeldecke an dem Schnittpunkt zwischen sagittaler und koronarer Suture eröffnet (Bohrloch:  $\varnothing = 0,6$  cm). Das intrakranielle Druckmonitoring erfolgte über eine epidurale Drucksonde mit digitalem Druckumwandler (Codman ICP Express, Johnson and Johnson Inc., Raynham, MA, USA). Subdural wurde eine venöse Messlinie in den Sinus sagittalis (SS) eingebracht, um darüber den angegebenen Messzeitpunkten entsprechend Blutproben für die venöse Blutgasanalyse zu entnehmen.

### **3.4 Neurophysiologisches Monitoring**

Elektroenzephalogramm (EEG): Die Ableitung der bioelektrischen Hirnströme erfolgte über sechs Oberflächenelektroden. Schraubelektroden wurden hierfür frontal und parietal, beidseits der Sagittalnaht in die Kalotte eingebracht. Als Referenzelektrode diente eine weitere, über dem linken frontalen Sinus sitzende Schraube. Das elektrische Signal wurde über ein EEG-Gerät (Spectrum 32, Cadwell Laboratories Inc., Kennewick, WA, USA) erfasst und zur späteren Analyse auf einer optischen Diskette (DC - 502A Laser Memory Optical Disk, Pioneer Electronic Corp., Tokyo, Japan) gespeichert. Zur Vermeidung von Artefakten wurden Frequenz und Amplitude der hirnelektrischen Signale über einen Zeitraum von fünf Minuten bestimmt. Jede Messung wurde unter gleichen Narkosebedingungen (Isofluran bei 1%) durchgeführt.

Visuell evozierte Potentiale (VEP): Visuell evozierte Potentiale wurden durch intermittierende Flickerlichtreizung über dem geschlossenen rechten Auge hervorgerufen. Der visuelle Stimulus erzeugte sowohl an der Retina als auch an dem visuellen Kortex eine Potenzialdifferenz. Zur Ableitung der visuellen Potentiale auf Kortexebene wurden zwei Oberflächenelektroden fünf Zentimeter oberhalb des Inions (Protuberantia occipitalis externa) angebracht. Die von der Retina ausgehenden Potentiale wurden über dem Oberlid abgeleitet (Elektroretinogramm). Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines elektronischen Mittelwertrechners nach 64 bis 128 Reizdurchgängen. Gemessen wurden Latenz und Amplitude.

### **3.5 Operative Technik**

Vor Operationsbeginn wurde die HLM, bestehend aus einer Rollerpumpe (Roller Blood Pump, SARNs Inc., Ann Arbor, Michigan, USA) und einem Membran-Oxygenator (VPCML Plus, Cobe Cardiovascular Inc., Arvada, CO, USA), mit 750 ml einer 0,9% NaCl-Lösung, 1 mg/kg Furosemid (Lasix<sup>®</sup>), 0,1 mg/kg Pancuronium und 5000 IE Heparin aufgefüllt (engl.: *priming*).

Es erfolgte eine linksseitige laterale Thorakotomie im vierten Interkostalraum. Das längs aufgeschnittene Perikard wurde mit zwei Haltenähten (2 - 0 Silk<sup>®</sup>) an der dorsalen Thoraxwand fixiert.

Nach systemischer Antikoagulation durch i. v. Administration von Heparin (300 IE/kgKG) erfolgte die Kanülierung des Arcus aortae mit einer 16 F Kanüle sowie des rechten Vorhofs mit einer 26 - 28 F venösen Kanüle (Abb. 7). Nach sorgfältiger Entlüftung des Systems wurde der extrakorporale Kreislauf mit einem nonpulsatilen Fluss von 100 ml/kg/min gestartet. Zur perioperativen Entlastung des linken Ventrikels wurde eine Vent-Kanüle über den linken Vorhof in den Ventrikel vorgeschoben und mit einem an die HLM angeschlossenen Sauger konnektiert.

Über eine Angleichung der Flussrate wurde der arterielle Mitteldruck im Bereich von 40 - 50 mmHg eingestellt. Perioperativ wurde über die Modulation der Gaszusammensetzung im Gasaustauscher (Sechrist Industries, Anaheim, California, USA) ein arterieller  $\text{paCO}_2$  von 35 - 40 mmHg gehalten. Gemäß der Alpha-stat-Strategie wurde der pH-Wert perioperativ ohne Temperaturkorrektur bei  $7,40 \pm 0,05$  adjustiert. Der Ausgleich der sauren Valenzen erfolgte durch Natriumbikarbonatgabe.

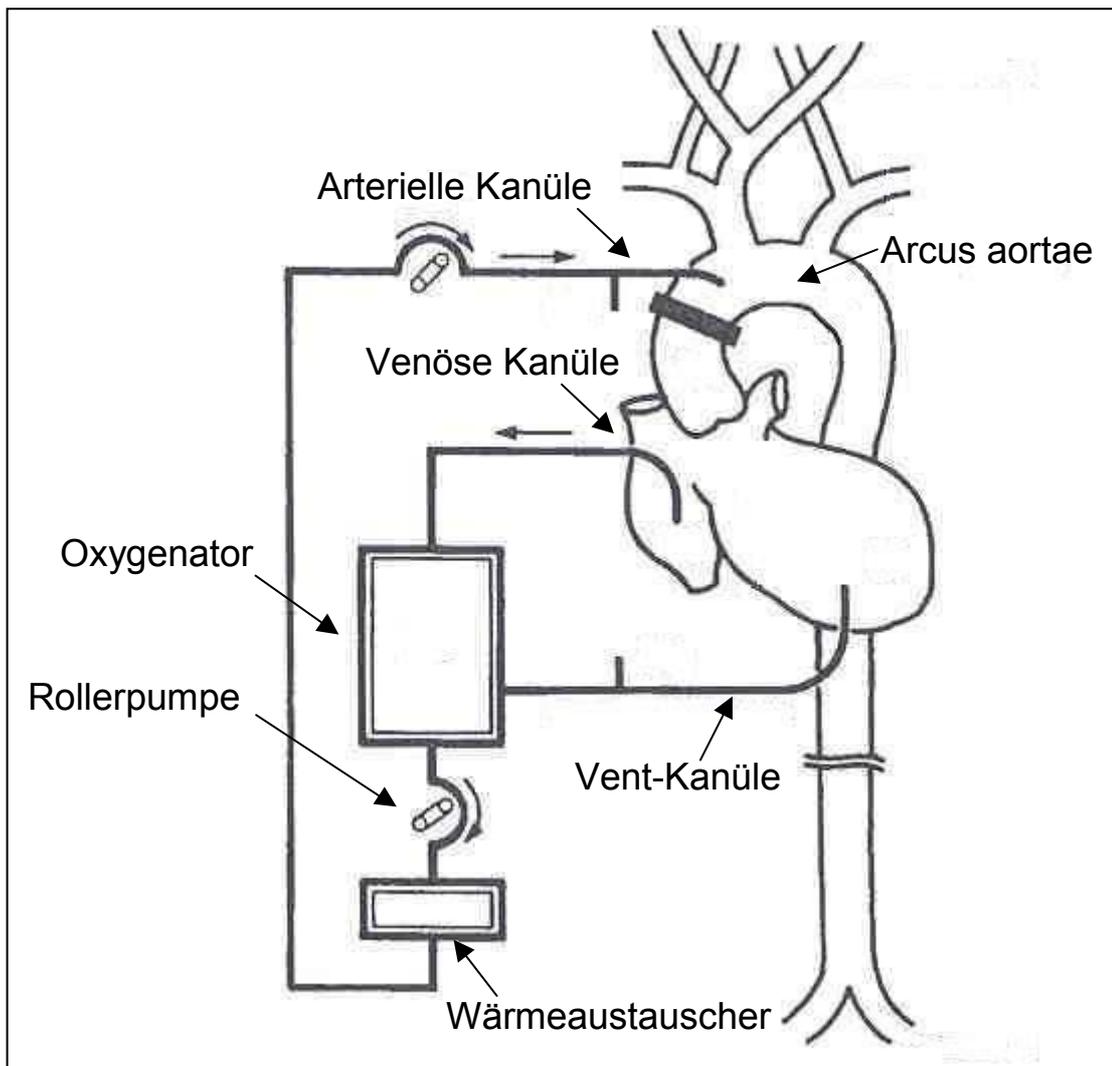


Abb. 6: Schematische Darstellung des extrakorporalen Kreislaufs

Das Kühlen des Tieres erfolgte über den extrakorporalen Kreislauf (Abb. 6) mit Hilfe eines in den CPB-Kreislauf integrierten Wärmeaustauschers (Hemotherm esz, Cincinnati, Ohio, USA). Als Referenzwert wurde die Hirntemperatur berücksichtigt. Während die Tiere der 20°C-Gruppe die Zielhirntemperatur in 30 Minuten erreichten, erforderte die Kühlung auf 10°C bei den Tieren der 10°C/Plazebo- und 10°C/CsA-Gruppe 45 Minuten. In dem Bereich 36 - 30°C betrug die Kühlungsrate 0,7 - 1,5°C/min und nahm bei tieferen Temperaturen deutlich ab. Ein Temperaturgefälle von mehr als 8 - 10°C zwischen Perfusat und Hirntemperatur wurde vermieden.

Der Herzstillstand wurde mit einer Bolusgabe von KCl (1 mEq/kg) über die arterielle Kanüle eingeleitet, die HLM nach Erreichen der Zieltemperatur abgeschaltet und eine Eiswasserspülung des Perikards durchgeführt. Die Oberflächenkühlung erfolgte über eine auf dem OP-Tisch liegende Kühlmatte. Der Kopf des Tieres wurde zusätzlich in Eis gelagert.

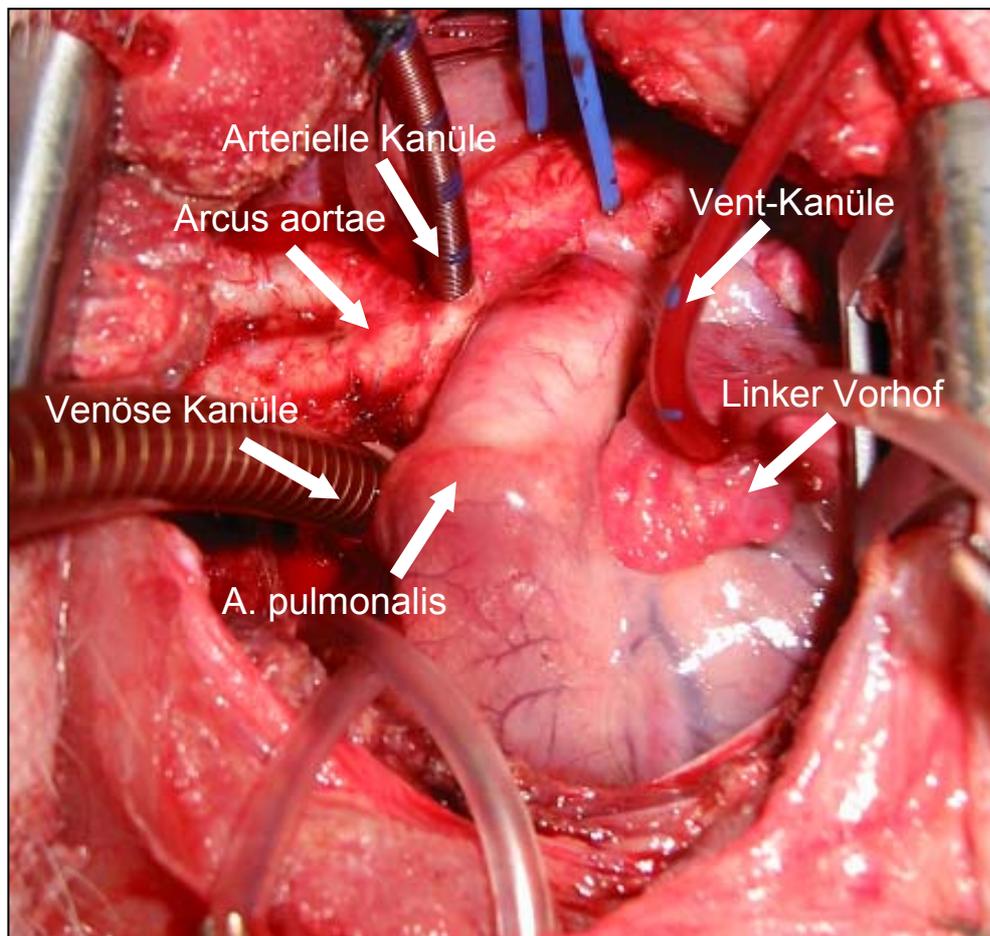


Abb. 7: Kanülierung des Herzens und der Aorta (OP-Bild)

Nach dem 90-minütigem HCA wurde die HLM wieder gestartet und das im Thorax befindliche Eiswasser abgesaugt. Das Tier wurde mit einer Rate von 0,2 - 0,5°C/min bis zu Temperaturen im Bereich des Ausgangswertes von 36°C erwärmt. Nach Erreichen einer suffizienten kardialen Auswurfleistung wurde die Flussrate allmählich reduziert, der CPB gänzlich ausgeschlichen, der rechte Vorhof dekanüliert und die Vent-Kanüle entfernt. Der Verschluss der Kanülierungsstellen erfolgte mit 4 - 0 Prolene<sup>®</sup>-Nähten. Während des Ausschleichens der HLM wurde die Heparinwirkung durch i. v. Gabe von Protamin antagonisiert (1 mg für jede 100 IE Heparin).

Bei einem arteriellen Mitteldruck (MAP) von 40 - 45 mmHg wurde arteriell dekanüliert und die verbliebene Aorteninzision mit zwei 4 - 0 Prolene<sup>®</sup>-Nähten verschlossen. Das restliche in der HLM befindliche Blut erhielten die Tiere postoperativ als i. v. Infusion. Die Perikardhaltenähte wurden nach Stabilisierung der Hämodynamik entfernt und die Lungen mechanisch gebläht, um atelektatische Lungenareale wieder zu belüften. Eine Bülau-Thoraxdrainage wurde über den linken fünften Interkostalraum in den Herzbeutel gelegt und der Brustkorb nach ausgiebiger Blutstillung verschlossen

(2 - 0 Coated Vicryl®). Die Hautränder wurden zusätzlich mit einer Klammernaht (1 Proximate® Plus MD, Ethicon Endo-Surgery) gesichert und mit Polyvidon-Lösung desinfiziert.

Nach der Erfassung aller Messdaten wurde der *Swan-Ganz* Katheter sowie der arterielle Zugang aus der rechten Leiste des Tieres entfernt und die A. und V. femoralis proximal der Kanülierungsstelle verschlossen. Der Verschluss der Leiste erfolgte mit einer fortlaufenden Intrakutannaht ( 2 - 0 Coated Vicryl®).

Zur Entlastung der dystelektatischen rechten Lunge wurden die Tiere nach Wundverschluss in eine linke Seitenlage gebracht. Sämtliche Tiere wurden 4 - 6 Stunden nachbeatmet. Die Extubation erfolgte bei konstantem endexpiratorischen CO<sub>2</sub> - Wert ( etCO<sub>2</sub> = 28 - 35 mmHg) und einer Atemfrequenz von weniger als 40 Zügen/min. Anschließend wurde die Thoraxdrainage unter Sog entfernt. Zur postoperativen Schmerzprophylaxe erhielt jedes Tier 0,1 mg/kg Buprenorphin i. m.

In den ersten 12 postoperativen Stunden wurde eine Dauerinfusion mit 100 mg Lidocain und 40 mg Furosemid in 1000 ml 0,9% NaCl - Lösung über einen venösen Zugang angeschlossen. Die Tiere wurden bis zur vollständigen Erholung in Einzelkäfigen gehalten und von Tierpflegern nach Richtlinien des „*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*“ (National Institute of Health, Publication No. 88 - 23, revised 1985) betreut.

### **3.6 Anatomische Besonderheiten**

Einen anatomischen Unterschied zum Menschen stellt beim Schwein die Aufteilung der supraaortalen Äste dar. Das Schwein besitzt nur zwei Aortenbogenabgänge (Abb. 8): Die Arteria brachiocephalica (Truncus bicaroticus) und die Arteria subclavia sinister. Die Arteria brachiocephalica teilt sich nach Abgang aus dem Aortenbogen in die A. subclavia dexter, Aa. carotis communis dexter et sinister und versorgt den gesamten Kopf sowie den rechten Vorderlauf. Die Arteria subclavia sinister, als zweiter Abgang aus dem Aortenbogen, gibt einen subscapulären Ast ab und versorgt dann die linke vordere Extremität des Tieres.

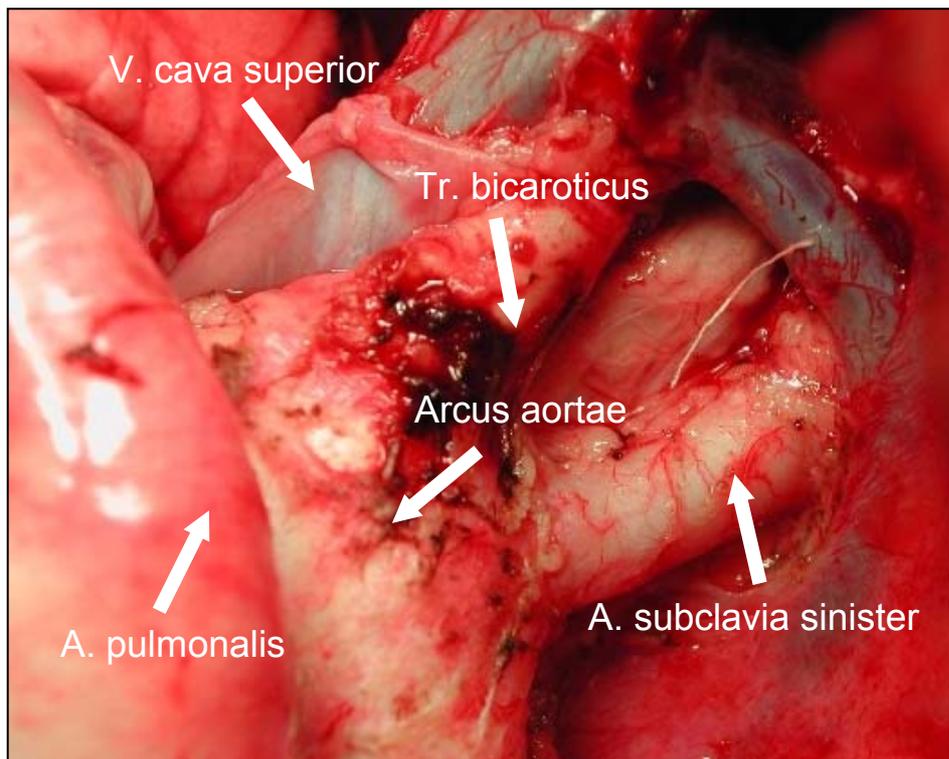


Abb. 8: Arcus aortae und supraaortale Äste beim Schwein (OP-Bild)

### 3.7 Studienprotokoll

#### 3.7.1 Perioperative Messungen

Im Studienprotokoll wurden perioperativ zu folgenden Zeitpunkten Temperatur, hämodynamische Parameter, Blutgas-Parameter, intrakranielle Druckwerte, EEG und VEP erfasst (Abb. 9):

- Baseline-Messung bei 37°C, vor CPB;
- Während CPB: In der Kühlphase - 15 min, 30 min, 45 min nach HLM-Start;
- Während CPB: In der Erwärmungsphase - 5 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min;
- 1 h, 2 h und 3 h nach Abgang von der HLM.

Zur Blutgasanalyse wurde jeweils 1 ml arterielles Blut aus dem Leistenzugang und 1 ml venöses Blut aus dem Sinus sagittalis entnommen. Als hämodynamische Parameter wurden Herzfrequenz, mittlerer arterieller Blutdruck, zentral-venöser und intrakranieller Druck erfasst. Die Blutgasanalyse beinhaltete: pH- und Hämatokritwert, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> - und CO<sub>2</sub> - Sättigung. Von den Elektrolyt- und Stoffwechselfparametern erfassten wir Na<sup>-</sup>, K<sup>-</sup>, und Ca<sup>-</sup> Werte sowie Glukose- und Laktatspiegel.

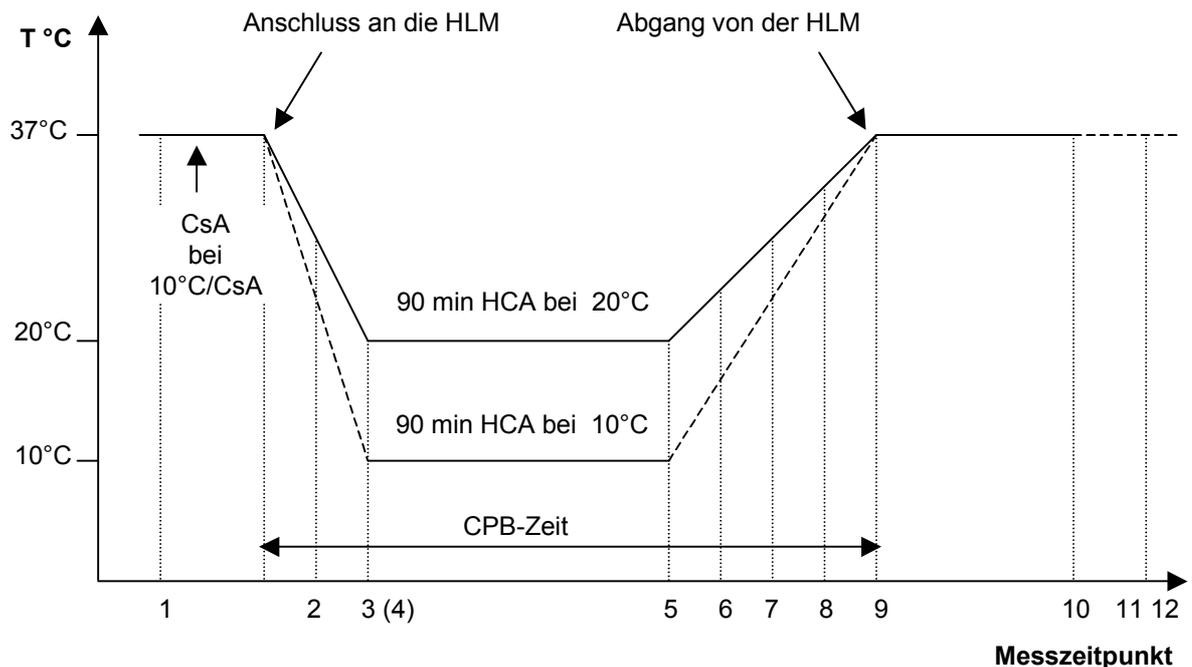


Abb. 9: Versuchsablauf

*Legende:* Die kontinuierliche Linie markiert den zeitlichen Temperaturverlauf bei den zwei unterschiedlichen HCA-Strategien. Kühlung und Wärmung dauerten bei 10°C-HCA länger als bei 20°C-HCA (15 min). Da dies der zeitlichen Achse nicht entspricht, steht für das Kühl- und Wärmintervall eine unterbrochene Linie. Die Zahlen von 1 - 12 markieren die jeweiligen Messzeitpunkte und sind für jede der folgenden Graphiken zutreffend: 1 = Baseline, 2 = 15 min Kühlen, 3 = 30 min Kühlen, (4) = 45 min Kühlen (nur bei der 10°C-HCA), 5 = 5 min Wärmen, 6 = 15 min Wärmen, 7 = 30 min Wärmen, 8 = 45 min Wärmen, 9 = 60 min Wärmen, 10 = 1 h nach HLM-Abgang, 11 = 2 h nach HLM-Abgang und 12 = 3 h nach HLM-Abgang.

### 3.7.2 Bewertung des postoperativen neurologischen Status

Die an den ersten drei postoperativen Tagen (POT 1, POT 2, POT 3) durchgeführte neurologische Untersuchung und Bewertung der Tiere erfolgte in Anlehnung an den Tarlov-Score (Tarlov 1972). Diesem wurden neben dem motorischen Status und der Koordinationsbeurteilung zwei weitere Wertungsbereiche für Appetit und Vigilanz beigefügt (Tab. 2).

In jedem Bereich wurde das Verhalten des Tieres mit einer Punktzahl zwischen 0 und 4 bewertet. Die Gesamtnote von 12 zeigte ein völlig normales Verhalten an, während 0 für Koma oder Exitus stand. Als gutes neurologisches Ergebnis wurde eine Punktzahl > 9 definiert.

Tab. 2: Postoperativer Neurostatus - Neuroscore

Punkte	Vigilanz	Koordination/Motorik	Appetit
0	Komatös	Kein Stehvermögen	Flüssigkeitsverweigerung
1	Stuporös	Stehvermögen mit Hilfe- stellung	Flüssigkeitsaufnahme mit Trink- hilfe
2	Verlangsamte, inadä- quate Reaktionen	Stehvermögen ohne Hil- festellung (instabil)	Selbstständige Flüssigkeitsauf- nahme
3	Verlangsamte, adäqua- te Reaktionen	Gehvermögen (instabil)	Selbstständige Flüssigkeit- und Nahrungsaufnahme
4	Normal	Normales Steh- und Gehvermögen.	Normaler Appetit

### 3.7.3 Euthanasie und Hirnentnahme

Nach Abschluss des Beobachtungszeitraumes wurden die Tiere am dritten postoperativen Tag (POT 3) betäubt (Ketamin, 10 mg/kg KG, i. m.), intubiert und in Linksseitenlage gebracht. Die Narkose erfolgte nach dem obig beschriebenen Anästhesieprotokoll.

Nach Eröffnung des Brustkorbs über eine rechtsseitige Thorakothomie im vierten Interkostalraum wurde der Aortenbogen mit den supraaortalen Ästen freipräpariert und das Tier vollheparinisiert (300 IE/kg Heparin). Es erfolgte die Kanülierung der Aorta ascendens (18 F), das Abklemmen von Aorta ascendens und descendens und das Eröffnen der A. pulmonalis. Die Euthanasie fand durch i. v. Gabe von Pentobarbital (Euthanasia - 5 Solution II<sup>®</sup>, Veterinary Lab., Lenexa, Kansas, USA) statt. Das Gehirn wurde antegrad über die Aortenkanüle mit 500 ml kalter (4°C) Kochsalzlösung perfundiert. Der Perfusionsdruck betrug zwischen 120 und 150 cmH<sub>2</sub>O. Anschließend wurde die NaCl-Lösung durch eisgekühltes 10% Formaldehyd ersetzt (Fisher Chemicals, Fair Lawn, NJ, USA). Drei Liter dieser Flüssigkeit wurden innerhalb von drei Stunden intraarteriell verabreicht, um eine Fixierung des Hirngewebes zu gewährleisten. Das Klemmen der deszendierenden Aorta distal der Perfusionskanüle verhinderte das Abfließen des Perfusats in die unteren Körperregionen. Der Kopf der Tiere wurde während dieser Zeit in Eis gelagert.

Nach der Formaldehyd-Perfusion erfolgte das Öffnen der Schädeldecke, das Entfernen des fixierten Gehirns und dessen Einlagerung bei 4°C in 10% Formaldehyd-Lösung.

### 3.8 Histologie

#### 3.8.1 Histologische Aufarbeitung

Die fixierten Gehirne der Tiere wurden entlang der Sagittallinie in beide Hemisphären getrennt und jeweils der linke Hippocampus *en bloc* reseziert (Abb. 10).

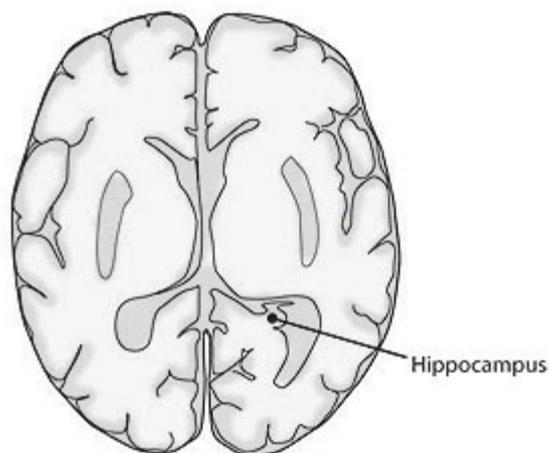


Abb. 10: Anatomische Lokalisation der hippocampalen Formation

Das entnommene Präparat wurde in kalter 0,1 M Phosphat-Kochsalz-Pufferlösung (PBS = 9 g NaCl + 3,20 g monobasisches Natrium-Phosphat + 21,80 g dibasisches Natrium-Phosphat/Liter; pH = 7,20) für 5 Stunden bei 4°C gelagert. Der Pufferlösung wurde für 12 Stunden 10% Sucrose zugeführt und die gesamte Lösung am darauffolgenden Tag durch 20% Sucrose/PBS ersetzt. Während der nächsten fünf Tage wurde die 20% Sucrose-Pufferlösung dreimal erneuert, um eine ausreichende Kryoprotektion des Gewebes zu gewährleisten. Danach erfolgte das Spülen des Präparats mit Isopentan (2-Methylbutan), weiteres Kühlen auf minus 50°C und die Lagerung für einen Tag in Isopentan bei einer Temperatur von minus 80°C.

Der tiefgefrorene Gewebekblock wurde mit einem Kryotom von kaudal nach rostral in 10 µm dicke Scheiben geschnitten (80 Schnitte) und über die gesamte Länge des Hippocampus jede zehnte Sektion mikroskopisch untersucht – insgesamt acht Sektionen pro Tier.

### 3.8.2 Die ISEL- und YOYO- Färbung

Die zu untersuchenden Sektionen wurden auf Zimmertemperatur gebracht, mit PBS-Pufferlösung ab gespült und fünf Minuten in Methanol bei 20°C gelagert. Jede Sektion wurde 20 min lang mit dem Enzym RNase A (100 µg/ ml) in 2 x SSC (8,82 g Na-Zitrat, 17,53 g NaCl/l) bei 37°C behandelt und mit einem Exzess-Volumen von 2 x SSC gewaschen. Es folgte eine kurze Behandlung (2 min bei 37°C) mit der verdauenden Proteinase K (20 µg/ml in TE- Pufferlösung, pH = 8,00) und unmittelbar danach das Stoppen des Verdauungsprozesses durch Lagerung in kalte 0,10 M Glyzin- und 0,10 M Tris-Lösung (10 min). Nach einer weiteren Inkubation in Ausgleich-Pufferlösung (Intergen, S7106 - 20 min bei 18°C) erfolgte die eigentliche „Labeling“-Reaktion:

Als Reaktant wurde ein Terminal-Transferase-Enzym-Gemisch (TdT) (Boehringer Mannheim/ Roche) - bestehend aus 2,50 mM Kobalt-Chlorid, 35 Einheiten (1,40 µl/ 100 µl Lösung) TdT und 0,70 mM (1,40 µl/ 100 µl Lösung) Bodipy-TR-14-dUTP (Molecular Probes, C7618) - aufgetragen und die Präparate mit je einem Parafilm-Streifen für 1h (37°C) bedeckt. Jedes Präparat wurde dreimal mit einem Exzess-Volumen bei 37°C gewaschen (10 min) und danach mit PBS-Pufferlösung gespült.

Schließlich wurden die Sektionen in der Dunkelkammer mit YOYO-1 (1 : 500 in PBS, Molecular Probes, Y-3601) für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert, mit PBS gespült und in Aquamount (BDH-Gurr) eingebettet.

Alle Präparate wurden von einem auf dem Gebiet der Hippocampus-Forschung erfahrenen Histologen des Mount Sinai Medical Center unter dem Epifluoreszenz-Mikroskop (Olympus AX-70, U-MFI/TRITC Filter) auf apoptotische und nekrotische Veränderungen untersucht. Danach wurden unter einem konfokalen Lasermikroskop (Leica, TCS 4D) hochauflösende digitale Aufnahmen der unterschiedlich veränderten Zellkerne gemacht. Es wurden zwei unterschiedliche Fluoreszenzkanäle verwendet, um spezifisch die ISEL - (Bodipy-TR-14-dUTP hat ein Emissionsmaximum bei 625 nm) und YOYO- (Emissionsmaximum bei 509 nm) Fluoreszenz individuell zu erfassen.

### 3.8.3 Quantifizierung degenerativer neuronaler Veränderungen

Unter Verwendung einer 40-fachen Vergrößerung wurde das optische Raster des Epifluoreszenz-Mikroskops auf den CA1 - 3 Hippocampusregionen fixiert und alle apoptotisch und nicht-apoptotisch degenerativ veränderten Zellkerne innerhalb des

Rastermusters ausgezählt. Das Raster wurde bei jedem Präparat über die gesamte Hippocampuslänge von CA1 bis CA3 geschoben und schließlich die Summe der degenerativ veränderten Neuronen berechnet. Diese wurde mit dem Konversionsfaktor sowie der Schnittdicke des Präparats multipliziert, um einen Volumenwert von degenerierten Zellen/mm<sup>3</sup> Gewebe zu erhalten. Die Endsumme wurde als Mittelwert der acht Präparate pro Hippocampus bestimmt.

### **3.9 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Rechenzentrum des *Mount Sinai Medical Center* (C. Bodian, DrPh; *Department for Biostatistics*). Alle Daten wurden als Mittelwerte und/oder Medianwerte  $\pm$  der Standardabweichung angegeben.

Bei dem Vergleich der drei Studiengruppen zu bestimmten Zeitpunkten wurden die Signifikanzen in Änderung von der betreffenden Ausgangsmessung mit Hilfe der Varianzanalyse für wiederholte Messungen (ANOVA-Methode) durchgeführt. Falls hier ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen verzeichnet wurde, erfolgte der paarweise Vergleich im T-Test zwischen je zwei Gruppen mit Alpha-Adjustierung nach Bonferroni-Methode. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

Als non-parametrische Tests wurden der Kruskal Wallis Test für EEG- und VEP-Werte sowie der Mann-Whitney-U-Test mit einer Bonferroni-Adjustierung mit  $p < 0,025$  ( $0,05/2$ ) bei paarweisen Vergleichen zwischen je zwei Gruppen für Laktat und ICP angewandt.

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Mortalität und Morbidität**

83,3% der untersuchten Tiere erreichten den definierten Studienabschluss. Zwei der 10°C/Plazebo-Tiere verstarben am ersten postoperativen Tag. Als Todesursache fand man bei einem Tier ein Lungenödem, bei einem weiteren Tier erbrachte die Nekropsie eine großflächige Einblutung in die rechte Lunge. Ebenfalls am ersten postoperativen Tag verstarb ein Tier aus der 20°C-Gruppe infolge einer akuten respiratorischen Insuffizienz. Ein Tier der 10°C/CsA-Gruppe verstarb intraoperativ infolge einer nicht beherrschbaren, malignen Rhythmusstörung. Die Tiere wurden randomisiert ersetzt.

### **4.2 Vergleichbarkeit der Gruppen**

Die Tiere des Studienkollektives waren drei bis vier Monate alt und weiblichen Geschlechts. Zwischen den drei Studiengruppen gab es keine signifikanten Gewichtsunterschiede. Die Mittelwerte betragen:  $20,25 \pm 2,19$  kg in der 10°C/CsA-Gruppe,  $23,75 \pm 3,2$  kg in der 10°C/Plazebo-Gruppe und  $21,38 \pm 2,5$  kg in der 20°C-Gruppe.

### **4.3 Temperaturverlauf**

Wie in Abb. 11 dargestellt, zeigte der Temperaturverlauf in der Kühlungs- und Aufwärmphase keine wesentliche Abweichung von dem Versuchsprotokoll (Abb. 3). Während der Kühlung betrug die maximale Standardabweichung innerhalb der Gruppen  $\pm 2,94^\circ\text{C}$  (10°C/CsA);  $\pm 1,84^\circ\text{C}$  (10°C/Plazebo);  $\pm 1,13^\circ\text{C}$  (20°C). Die Zieltemperatur erreichten die 20°C-Tiere nach 30 min (Messpunkt 3), die 10°C-Tiere erst nach 45 min Kühlung (Messpunkt 4).

Das Aufwärmen erfolgte ebenfalls uniform, wobei der größte Temperaturunterschied (Stdv.:  $\pm 3,96^\circ\text{C}$ ) nach 30 min Wärmen (Messpunkt 7) bei den Tieren der 10°C/CsA-Gruppe beobachtet wurde. Nach 60 min Wärmen hatten die Tiere, unabhängig von ihrer ursprünglichen HCA-Zieltemperatur, die Marke von  $34^\circ\text{C}$  überschritten:  $34,43 \pm 0,81^\circ\text{C}$  (10°C/CsA);  $34,75 \pm 1,52^\circ\text{C}$  (10°C/Plazebo);  $35,03 \pm 0,79^\circ\text{C}$  (20°C). In den ersten zwei Stunden nach HLM-Abgang erfolgte ein geringer Temperaturabfall.

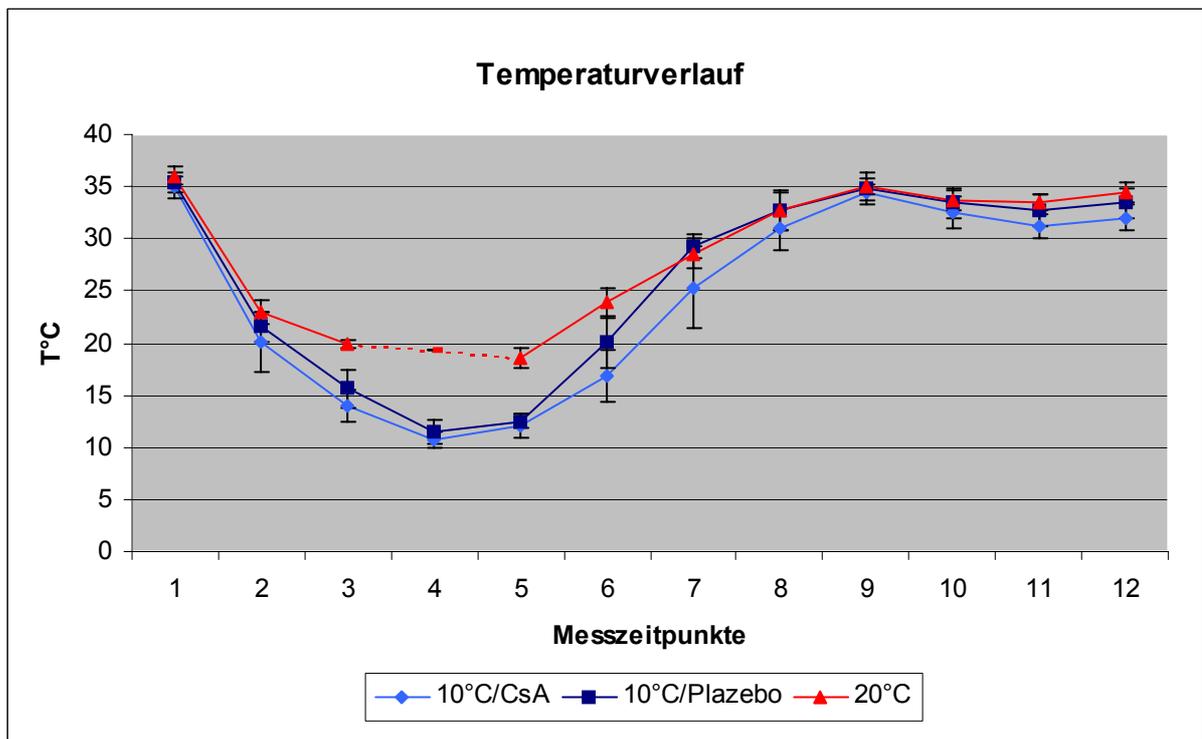


Abb. 11: Zeitliche Temperaturveränderung während des Versuchablaufs.

*Legende:* Die Zahlen von 1 - 12 markieren die jeweiligen Messzeitpunkte: 1 = Baseline, 2 = 15 min Kühlen, 3 = 30 min Kühlen, (4) = 45 min Kühlen (nur bei der 10°C-HCA), 5 = 5 min Wärmen, 6 = 15 min Wärmen, 7 = 30 min Wärmen, 8 = 45 min Wärmen, 9 = 60 min Wärmen, 10 = 1 h nach HLM-Abgang, 11 = 2 h nach HLM-Abgang und 12 = 3 h nach HLM-Abgang.

#### 4.4 Hämodynamik

Nach 90-minütigem HCA erreichten die Tiere in allen drei Gruppen stabile Mitteldruckwerte (MAP um 55 mmHg). Falls notwendig wurde die Herzleistung durch positiv inotrop wirkende Pharmaka (Dobutamin, Adrenalin) unterstützt bzw. der Kreislauf durch Noradrenalingabe zentralisiert.

#### 4.5 Blutgasanalyse und Hämatokritbestimmung

Im Rahmen des CPB-Blutgas-Managements wurde der pH-Wert, den Alpha-Stat Prinzipien folgend, ohne Temperaturkorrektur zwischen 7,35 und 7,45 reguliert. Dabei wurde nach dem 90-minütigen hypothermen Kreislaufstillstand die aufkommende Azidose durch Gabe von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bei Wiederaufnahme des CPB kompensiert.

Nach Kühlung auf die jeweilige Zieltemperatur von 10°C bzw. 20°C betrug der pH-Wert jeweils 7,40 in der 10°C/Plazebo- und 10°C/CsA-Gruppe bzw. 7,45 bei den Tieren der 20°C-Gruppe.

Nach dem Wiederaufwärmen und dem Abgang von der HLM befand sich der pH-Wert sämtlicher Tiere im physiologischen Bereich zwischen 7,35 und 7,45.

Tab. 3: Physiologische Parameter

Messwert (Maßeinheit)	Gruppe	Ausgangs- messung	HLM 10°/20°C	1 h	2 h	3 h
pH-Wert (-)	10°C/CsA	7,50	7,41	7,38	7,39	7,42
	10°C/Plazebo	7,54	7,40	7,44	7,41	7,42
	20°C	7,55	7,45	7,42	7,43	7,48
Hämatokrit (%)	10°C/CsA	29,13	18,13	26,75	27,63	29,00
	10°C/Plazebo	29,00	19,63	28,13	30,50	31,50
	20°C	28,36	19,50	25,88	25,88	27,25
SO <sub>2</sub> -SS (%)	10°C/CsA	74,11	96,80	63,85	62,80	59,40
	10°C/Plazebo	65,06	96,19	65,25	60,24	61,29
	20°C	73,89	86,85*	75,54	67,26	60,40
pvCO <sub>2</sub> -SS (mmHg)	10°C/CsA	49,21	43,50	50,55	52,51	54,99
	10°C/Plazebo	46,89	42,18	46,34	55,11	51,73
	20°C	45,21	45,13	45,66	52,05	51,75
Glukose - SS (mg/dl)	10°C/CsA	115,63	88,13	172,5	163,75	168,50
	10°C/Plazebo	70,75	55,38	81,75	84,75	99,88
	20°C	69,25	58,13	67,63	70,88	87,50
Laktat - SS (mmol/l)	10°C/CsA	1,32	1,94	4,17	4,05	3,41
	10°C/Plazebo	0,96	1,50	2,82	2,78	2,80
	20°C	1,08	1,41	5,89**	5,80**	4,74**
ICP (mmHg)	10°C/CsA	7,00	3,88	7,38	5,88	4,50
	10°C/Plazebo	6,75	4,25	5,75	4,88	4,50
	20°C	6,75	5,25	10,13	9,75***	9,38***
SSP (mmHg)	10°C/CsA	6,50	2,75	5,13	4,25	4,25
	10°C/Plazebo	6,00	3,75	5,63	4,75	4,00
	20°C	5,63	3,00	5,25	5,13	5,38

Legende: Ausgangsmessung = Messung vor HLM-Anschluss; HLM 10°/20°C = Messung bei Erreichen der jeweiligen Zieltemperatur (10° bzw. 20°C); 1 h, 2 h, 3 h nach Abgang = Messungen zu den betreffenden Zeitpunkten nach Abgang von der HLM. Standardabweichungen werden im Text angegeben. Statistische Signifikanz im Gruppenvergleich: SO<sub>2</sub>-SS \* $p_{10°/20°C} = 0,0039$ ; Laktat-SS \*\* $p_{1h} = 0,005$ ; \*\* $p_{2h} = 0,003$ ; \*\* $p_{3h} = 0,015$ ; ICP \*\*\* $p_{2h} = 0,0103$ ; \*\*\* $p_{3h} = 0,010$ .

Intraoperativ fiel der Hämatokritwert (Hkt) aufgrund der Hämodilution mit 750 ml Priminglösung (HLM-Anschluss, siehe Material und Methode) deutlich ab (Tab. 3).

Wurden präoperativ in allen drei Gruppen vergleichbare Hämatokritmittelwerte gemessen (10°C/CsA: 29,13 ± 3,2%; 10°C/Plazebo: 29 ± 2,9%; 20°C: 28,36 ± 2%), so

betragen diese nach HLM-Anschluss und Kühlen  $18,13 \pm 1\%$  in der  $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ -Gruppe,  $19,63 \pm 0,9\%$  in der  $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ -Gruppe und  $19,5 \pm 0,76\%$  in der  $20^{\circ}\text{C}$ -Gruppe.

Während der Wiedererwärmung stieg der Hkt-Wert an. Drei Stunden nach HLM-Abgang ergab die Hkt-Messung bei den Tieren, die intraoperativ auf  $10^{\circ}\text{C}$  gekühlt wurden, Werte, die der Ausgangsmessung bei  $37^{\circ}\text{C}$  entsprachen ( $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ :  $29 \pm 4\%$  und  $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ :  $31,5 \pm 3,4\%$ ). Bei den  $20^{\circ}\text{C}$ -Tieren lag der Hkt-Mittelwert zu Versuchsende unter dem Wert der Ausgangsmessung ( $20^{\circ}\text{C}$ :  $27,25 \pm 1,75\%$ ).

#### **4.6 Elektrolyte**

Die perioperative Kontrolle der Elektrolyt-Werte ergab keine Unterschiede zwischen den drei Studiengruppen.

Natrium: Bei allen 24 Tieren befanden sich die Natrium-Werte im physiologischen Bereich zwischen 133 mmol/l und 148 mmol/l. Man konnte über die gesamte OP-Dauer einen kontinuierlichen, leichten Anstieg der Natrium-Werte mit dem Maximum in der Drei-Stunden-Messung beobachten, ohne jedoch signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) zwischen den drei Gruppen zu finden ( $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ : von  $134 \pm 3$  mmol/l auf  $142 \pm 4$  mmol/l;  $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ : von  $135 \pm 2$  mmol/l auf  $144 \pm 2$  mmol/l;  $20^{\circ}\text{C}$ : von  $135 \pm 2$  mmol/l auf  $142 \pm 1$  mmol/l).

Kalium: In der Ausgangsmessung lagen die Kalium-Werte bei allen drei Gruppen im Normalbereich ( $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ :  $3,50 \pm 0,23$  mmol/l,  $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ :  $3,42 \pm 0,33$  mmol/l,  $20^{\circ}\text{C}$ :  $3,53 \pm 0,50$  mmol/l). Der Kalium-Wert stieg, wie erwartet, bei Einleitung des Herzstillstandes durch Gabe von 1 mEq/kg Potassium-Chloride auf das drei- bis vierfache des Ausgangwertes ( $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ :  $9,10 \pm 0,61$  mmol/l,  $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ :  $11,48 \pm 1,54$  mmol/l,  $20^{\circ}\text{C}$ :  $11,32 \pm 1,26$  mmol/l). Während der Erwärmung fiel er durch Wiederaufnahme der Nierenfunktion und vermehrte Urinausscheidung, bis er schließlich nach 45 Minuten erneut physiologische Werte ( $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ :  $3,77 \pm 0,36$  mmol/l,  $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ :  $3,88 \pm 0,49$  mmol/l,  $20^{\circ}\text{C}$ :  $4,74 \pm 1,11$  mmol/l) erreichte. Signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen gab es keine ( $p < 0,05$ ).

Kalzium: Die Kalzium-Werte blieben über die gesamte Versuchsdauer bei sämtlichen Tieren im physiologischen Bereich mit einer leicht abfallenden Tendenz gegen Versuchsende ( $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ : von  $1,17 \pm 0,05$  mmol/l auf  $0,94 \pm 0,01$  mmol/l;  $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ : von  $1,2 \pm 0,05$  mmol/l auf  $0,90 \pm 0,12$  mmol/l und  $20^{\circ}\text{C}$ : von  $1,18 \pm 0,06$  mmol/l auf

0,85 ± 0,12 mmol/l). Auch hier erreichten die Unterschiede kein Signifikanzniveau ( $p < 0,05$ ).

## **4.7 Zerebraler Metabolismus**

Zur Quantifizierung der zerebralen Stoffwechselrate diente die arterio-venösen Sauerstoff- bzw. Glukosedifferenz. Außerdem wurden die Abfallprodukte des aeroben (pvCO<sub>2</sub>) und anaeroben Metabolismus (Laktat) im venösen Blut nach zerebraler Passage (Sinus sagittalis) bestimmt.

### **4.7.1 Sauerstoff-Metabolismus**

Bei einer über den gesamten Versuchsverlauf konstant bleibenden, arteriellen Sauerstoffsättigung (optimale Oxygenierung über Beatmung und HLM) konnte auf die Auswertung dieses Parameters verzichtet werden. Als Indikator der zerebralen Metabolismusrate diente die Sauerstoffsättigung im venösen Blut des Sinus sagittalis (SO<sub>2</sub>-SS).

Während der Kühlung war ein deutlicher Anstieg der SO<sub>2</sub>-SS-Werte in allen drei Gruppen zu beobachten (Abb. 12). Bei 20°C wiesen die Tiere der 20°C-Gruppe eine mittlere SO<sub>2</sub>-SS von 86,9 ± 7,7% auf. Bei 10°C zeigten sowohl die Tiere der 10°C/Plazebo-Gruppe (96,2 ± 3,9%) als auch die der 10°C/CsA-Gruppe (96,8 ± 2,3%) signifikant höhere SO<sub>2</sub>-SS-Werte ( $p = 0,039$ ).

Während der Reperfusion konnte bei sämtlichen Tieren eine Zunahme des zerebralen Sauerstoffverbrauches verzeichnet werden. Dennoch verhielten sich die drei Studiengruppen unterschiedlich: In den ersten 45 Minuten der Reperfusion fiel die SO<sub>2</sub>-SS in den beiden 10°C-Gruppen nur gering: 83,5 ± 8,5% in der 10°C/Plazebo- und 83,7 ± 7,1% in der 10°C/CsA-Gruppe. Der größte Anstieg des Sauerstoffverbrauchs erfolgte bei beiden Gruppen erst in den folgenden 15 min: In der 60 min-Messung betrug die SO<sub>2</sub>-SS nur noch 68,9 ± 12,4% in der 10°C/Plazebo- und 71,1 ± 9,6% in der 10°C/CsA-Gruppe. In den folgenden Stunden veränderte sich der zerebrale Sauerstoffverbrauch nur geringfügig. Drei Stunden nach Maschinenabgang betrug die SO<sub>2</sub>-SS 61,3 ± 16,5% in der 10°C/Plazebo- und 59,4 ± 10,6% in der 10°C/CsA-Gruppe.

Anders verhielt sich der zerebrale Sauerstoffverbrauch nach HCA bei den Tieren der 20°C-Gruppe. Während der Erwärmung veränderte sich die SO<sub>2</sub>-SS der 20°C-Gruppe nur geringfügig: von 73,9 ± 7,4% nach HCA (5 Minuten-Messung) auf 76,9 ±

6,1% in der 60 Minuten-Messung. Erst nach HLM-Abgang kam es in den folgenden drei Stunden zu einer deutlichen Abnahme der  $SO_2$ -SS ( $60,4 \pm 6,2\%$ ).

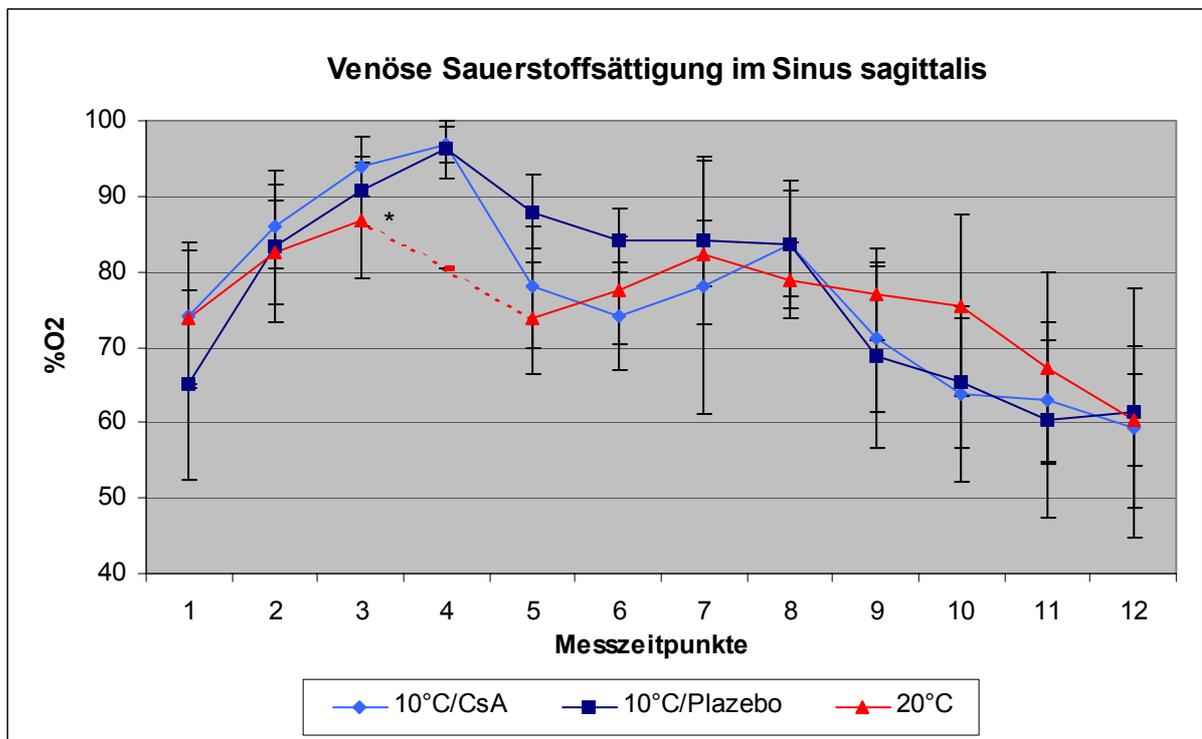


Abb. 12: Venöse Sauerstoffsättigung im Sinus sagittalis.

*Legende:* 1 = Ausgangsmessung, 2 = 15 min Kühlen, 3 = 30 min Kühlen, 4 = 45 min Kühlen, 5 = 5 min Wärmen, 6 = 15 min Wärmen, 7 = 30 min Wärmen, 8 = 45 min Wärmen, 9 = 60 min Wärmen, 10 = 1 h nach HLM-Abgang, 11 = 2 h nach HLM-Abgang, 12 = 3 h nach HLM-Abgang. (Bei der 20°C-Gruppe wurde nur 30 min gekühlt, Messzeitpunkt 4 entfällt.) Signifikanter  $SO_2$ -SS Unterschied (\* $p = 0,039$ ) am jeweils kältesten Punkt: 10°C (Messpunkt 4) bzw. 20°C Messpunkt 3).

#### 4.7.2 Venöser Kohlendioxidpartialdruck

Der Ausgangswert des im Sinus sagittalis gemessenen venösen Kohlendioxidpartialdrucks ( $pvCO_2$ -SS) lag in allen drei Gruppen auf gleichem Niveau:  $49,2 \pm 8,9$  mmHg (10°C/CsA),  $46,9 \pm 3,6$  mmHg (10°C/Plazebo) und  $45,2 \pm 4,7$  mmHg (20°C).

Nach Erreichen der tiefsten Temperatur fiel der  $pvCO_2$ -SS-Mittelwert der beiden 10°C-Gruppen um jeweils 5,7 mmHg (10°C/CsA:  $43,5 \pm 2,4$  mmHg) bzw. 4,7 mmHg (10°C/Plazebo:  $42,2 \pm 1,2$  mmHg). Der  $pvCO_2$ -SS der 20°C-Gruppe veränderte sich hingegen nicht (20°C:  $45,1 \pm 3,3$  mmHg). Statistisch erreichte der Unterschied keine Signifikanz ( $p = 0,09$ ).

### 4.7.3 Glukose

Die Ausgangsmessung der arteriellen Glukosewerte ergab beachtliche Unterschiede sowohl zwischen den drei Gruppen als auch innerhalb der Gruppen selbst. So betrug der arteriell gemessene Ausgangsglukosewert in der 10°C/CsA-Gruppe  $140,38 \pm 35,15$  mg/dl, in der 10°C/Plazebo-Gruppe  $87,88 \pm 42,35$  mg/dl bzw.  $83,00 \pm 24,76$  mg/dl in der 20°C-Gruppe. Dementsprechend verhielten sich auch die venösen Messergebnisse (Tab. 3). Aufgrund dieser hohen Schwankungen wurde auf eine weitere Datenanalyse der Blutzuckerwerte und eine statistische Auswertung der Ergebnisse verzichtet.

### 4.7.4 Laktat

Während der Ausgangsmessung befand sich der venöse Laktatwert aller Tiere im physiologischen Rahmen von 0,5 - 2 mmol/l (10°C/CsA:  $1,32 \pm 0,56$  mmol/l, 10°C/Plazebo:  $0,96 \pm 0,24$  mmol/l und 20°C:  $1,08 \pm 0,42$  mmol/l). Während der Temperatursenkung auf 10°C bzw. 20°C stieg er in allen drei Gruppen leicht an, ohne jedoch den physiologischen Höchstwert von 2 mmol/l zu überschreiten (Abb. 13). Nach 90 Minuten Kreislaufstillstand wurde bei den 10°C-Tieren ein Anstieg auf das Dreifache der Ausgangsmessung ermittelt (10°C/CsA:  $3,87 \pm 0,97$  mmol/l; 10°C/Plazebo:  $3,49 \pm 0,80$  mmol/l), während der Laktat-SS-Wert bei den 20°C-Tieren auf das Sechsfache ( $6,01 \pm 0,6$  mmol/l) des Ausgangswertes anstieg.

In der ersten, zweiten und dritten Stunde nach HLM-Abgang wurden signifikante Unterschiede ( $*p_{1h, 2h, 3h} = 0,008$ ) zwischen den drei Gruppen verzeichnet: Bei dem paarweise durchgeführten Vergleich (10°C/CsA mit 20°C; 10°C/Plazebo mit 20°C; 10°C/CsA mit 10°C/Plazebo) zeigten die 20°C-Tiere zu allen drei Messzeitpunkten signifikant höhere Laktatmittelwerte als die Tiere der 10°C/Plazebo-Gruppe (Laktat-SS  $**p_{1h} = 0,005$ ;  $**p_{2h} = 0,003$ ;  $**p_{3h} = 0,015$ ). Die Drei-Stunden-Messung erbrachte bei der 20°C-Gruppe einen deutlichen Laktatüberschuss ( $4,74 \pm 1,02$  mmol/l), während die 10°C/CsA-Tiere mit  $3,41 \pm 1,83$  mmol/l zwar noch außerhalb des Normalwertebereiches lagen, dennoch eine relativ geringere Laktatproduktion aufwiesen. Die 10°C/Plazebo-Tiere zeigten drei Stunden nach Maschinenabgang mit einem Laktat-SS von  $2,80 \pm 1,23$  mmol/l einen nahezu physiologischen Wert (2 mmol/l).

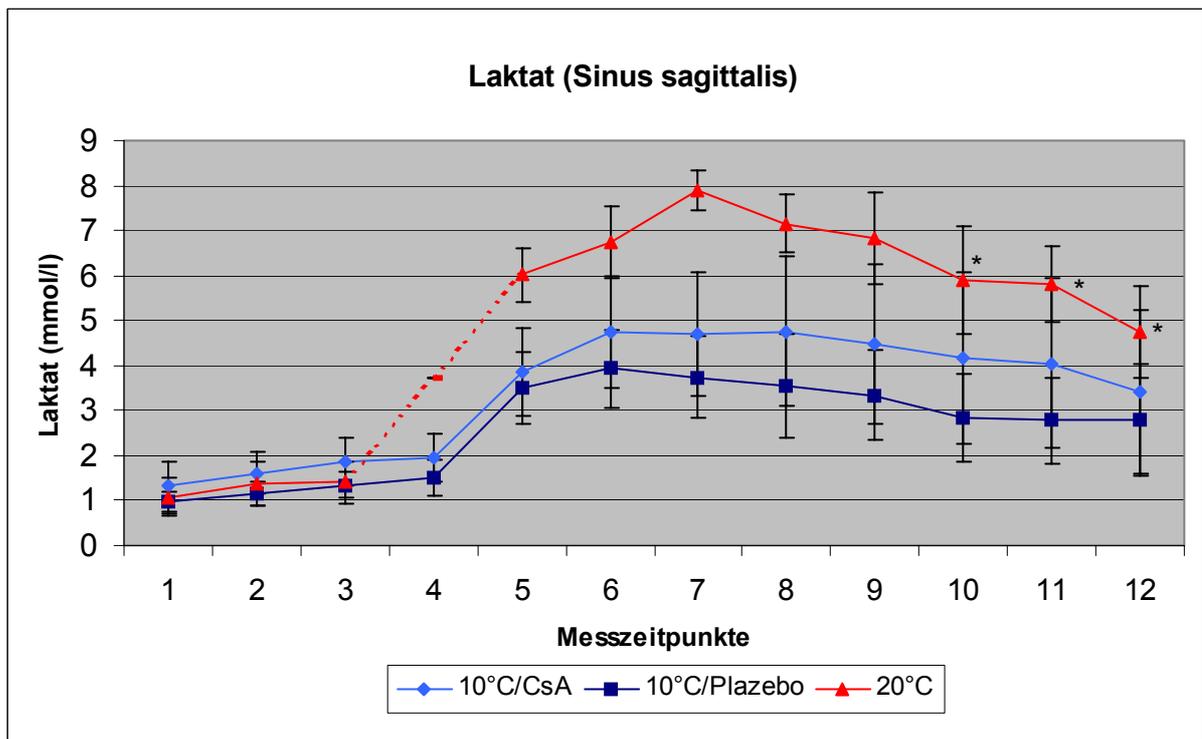


Abb. 13: Laktatspiegel im Sinus sagittalis

*Legende:* 1= Ausgangsmessung, 2 = 15 min Kühlen, 3 = 30 min Kühlen, 4 = 45 min Kühlen, 5 = 5 min Wärmen, 6 = 15 min Wärmen, 7 = 30 min Wärmen, 8 = 45 min Wärmen, 9 = 60 min Wärmen, 10 = 1 h nach HLM-Abgang, 11 = 2 h nach HLM-Abgang, 12 = 3 h nach HLM-Abgang. Bei der 20°C-Gruppe wurde nur 30 min gekühlt, Messzeitpunkt 4 entfällt. In den ersten 3 h post CPB verzeichneten wir signifikante Unterschiede \*( $p_{1h, 2h, 3h} = 0,008$ ) zwischen den drei Gruppen.

#### 4.8 Intrakranielle Druckmessung (ICP)

Die Ausgangsmessung ergab keinen Unterschied zwischen den drei Studiengruppen:  $7 \pm 1,7$  mmHg (10°C/CsA);  $6,7 \pm 3,2$  mmHg (10°C/Plazebo);  $6,7 \pm 2,3$  mmHg (20°C).

Während der Kühlung auf 20°C bzw. 10°C fielen die ICP-Werte in allen drei Gruppen unter die Werte der Ausgangsmessung. Die niedrigsten Werte fand man bei den Tieren der zwei 10°C-Gruppen:  $4,3 \pm 1,0$  mmHg bei 10°C/Plazebo und  $3,9 \pm 1,6$  mmHg in der 10°C/CsA-Gruppe. Bei den Tieren der 20°C-Gruppe wurde unmittelbar vor HCA ein höherer ICP gemessen (20°C:  $5,3 \pm 2,3$  mmHg). Dennoch befand sich auch dieser Wert unter dem der Ausgangsmessung.

Während der Reperfusion stieg der intrakranielle Druck in allen drei Gruppen, am höchsten jedoch in der 20°C-Gruppe (Abb. 14). Der statistische Vergleich der ICP-Veränderungen von der jeweiligen Ausgangsmessung ergab im Gruppenvergleich in

der Ein-, Zwei- und Drei-Stundenmessung nach HLM-Abgang signifikante Unterschiede ( $p = 0,01$ ).

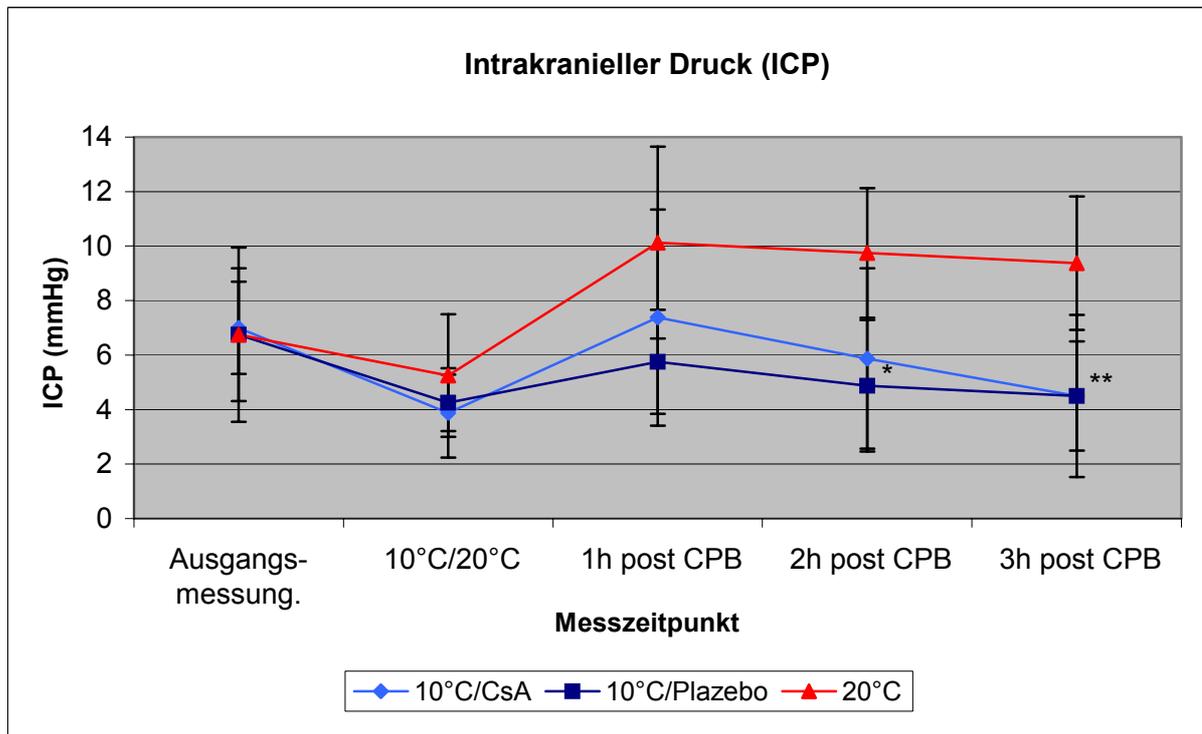


Abb. 14: Intrakranielle Druckmessung (ICP)

*Legende:* Dargestellt sind nur die klinisch relevanten Messzeitpunkte: Ausgangsmessung; Erreichen der tiefsten Temperatur (10°C bzw. 20°C); eins, zwei und drei Stunden nach CPB. Signifikante Unterschiede 10°C/Plazebo versus 20°C: 2 h post CPB (\* $p = 0,01$ ) und 3 h post CPB (\*\* $p = 0,001$ ).

Paarweise durchgeführte Vergleiche erbrachten zwei (\* $p = 0,01$ ) und drei Stunden (\*\* $p = 0,001$ ) nach HLM-Abgang signifikant niedrigere ICP-Werte in der 10°C/Plazebo-Gruppe als in der 20°C-Gruppe.

#### 4.9 Druckmessung im Sinus sagittalis (SSP)

Während des Kühlens fiel der Druck im Sinus sagittalis (SSP) in allen drei Studien- gruppen: Von  $6,50 \pm 1,51$  mmHg auf  $2,75 \pm 1,28$  mmHg in der 10°C/CsA-, von  $6,00 \pm 1,85$  mmHg auf  $3,75 \pm 1,91$  mmHg in der 10°C/Plazebo-, bzw. von  $5,63 \pm 1,92$  mmHg auf  $3,00 \pm 2,20$  mmHg in der 20°C-Gruppe (siehe Abb. 15). Statistische Signifikanz erreichten die Unterschiede nicht ( $p_{10^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}} = 0,32$ ).

In der ersten Stunde nach HLM-Abgang erreichte der SSP in allen drei Gruppen Werte nahe des jeweiligen Ausgangswertes (10°C/CsA:  $5,13 \pm 2,80$  mmHg; 10°C/Plazebo:  $5,63 \pm 2,00$  mmHg; 20°C:  $5,25 \pm 1,91$  mmHg). In den folgenden beiden Stunden fiel der SSP bei den Tieren der 10°C/CsA- und 10°C/Plazebo-Gruppe

weiter auf  $4,25 \pm 2,66$  mmHg ( $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ ) bzw.  $4,00 \pm 1,77$  mmHg ( $10^{\circ}\text{C}/\text{Plazebo}$ ), während er bei den  $20^{\circ}\text{C}$ -Tieren anstieg ( $5,38 \pm 1,77$  mmHg). Der Gruppenunterschied zeigte keine statistische Signifikanz ( $p_{1\text{h},2\text{h},3\text{h}} = 0,19$ ).

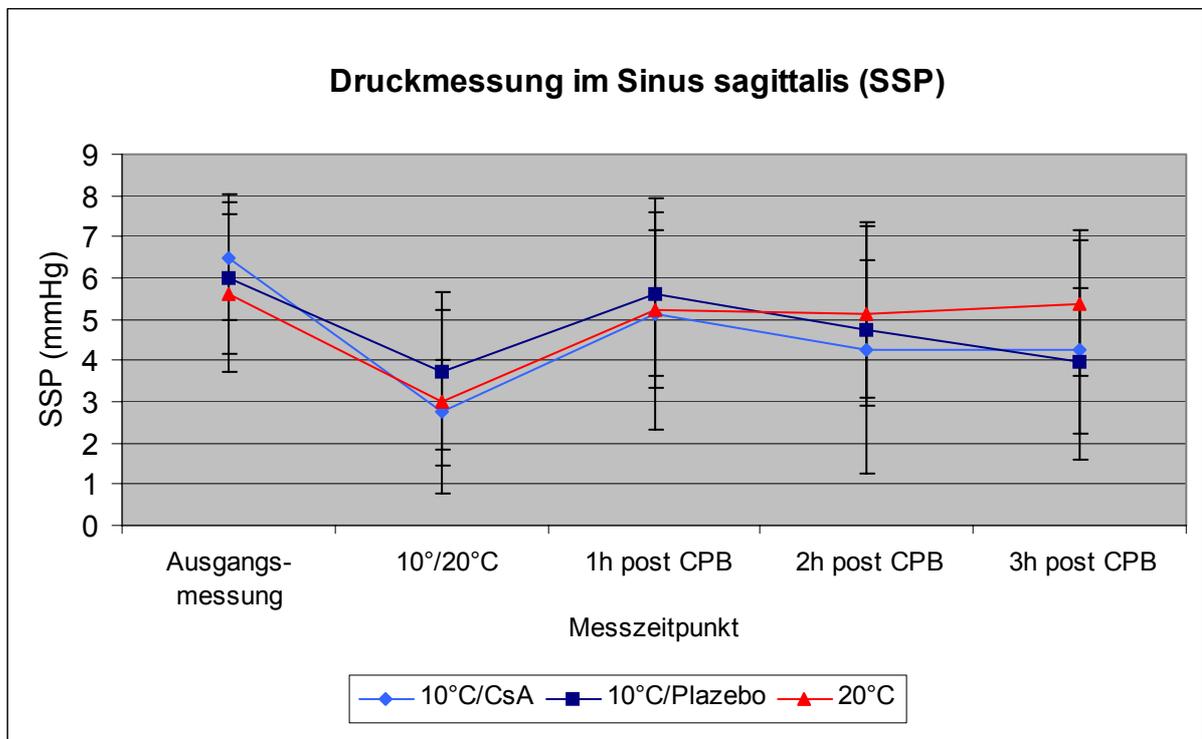


Abb. 15: Druckmessung im Sinus sagittalis (SSP)

*Legende:* Dargestellt sind fünf Messzeitpunkte: Ausgangsmessung; Erreichen der tiefsten Temperatur ( $10^{\circ}$  bzw.  $20^{\circ}\text{C}$ ); 1, 2 und 3 h post CPB. Die Gruppenunterschiede erwiesen sich als nicht signifikant.

#### 4.10 Elektroenzephalogramm (EEG)

Bei der Ausgangsmessung wurde zu Versuchsbeginn die maximale EEG-Amplitude für jedes einzelne Tier bestimmt und als 100% angenommen. Bei der darauffolgenden Kühlung auf  $20^{\circ}\text{C}$  bzw.  $10^{\circ}\text{C}$  nahm die EEG-Amplitude bei sämtlichen Tieren ab und ergab über die gesamte Dauer des Kreislaufstillstandes eine konstante isoelektrische EEG-Null-Linie (0%).

Die Auswertung der postoperativen EEG-Erholung (engl.: *recovery*) von der EEG-Null-Linie erfolgte drei Stunden nach HLM-Abgang als Prozent-Angabe bezüglich der ursprünglichen Ausgangsamplitude (% EEG-Rec in Tab. 4).

Bei allen acht Tieren der  $10^{\circ}/\text{Plazebo}$ -Gruppe (100%) sowie bei sechs Tieren der  $10^{\circ}\text{C}/\text{CsA}$ -Gruppe (75%) war eine von Null verschiedene EEG-Erholung zu verzeichnen. Bei den  $20^{\circ}\text{C}$ -Tieren erholten sich nur vier von acht Tieren (50%).

Tab. 4: Neurophysiologische Messdaten und Neuroscore

Gruppe	% EEG-Rec		% VEP-Rec		Neuroscore		
	Rec% 3h	% Rec 1h	% Rec 2h	% Rec 3h	POT 1	POT2	POT 3
10°C/CsA							
Mittel	4,34	19,98*	22,67*	40,19*	5,38	8,75	10,63**
Median	4,68	16,79	10,32	34,73	5,50	10,00	12,00
Stdv.	3,95	26,21	33,70	39,56	2,92	3,06	2,50
10°C/Plazebo							
Mittel	10,62	1,64	19,00	21,63	5,75	8,00	8,75
Median	10,49	0,00	0,00	11,30	4,50	8,00	10,00
Stdv.	4,30	4,35	31,58	33,37	3,37	3,42	3,96
20°C							
Mittel	3,95	0,00	0,00	0,00	5,38	6,75	8,50
Median	0,56	0,00	0,00	0,00	4,50	7,00	8,00
Stdv.	6,32	0,00	0,00	0,00	3,81	3,09	1,77

Legende: Rec% = prozentuelle Erholung der betreffenden Messung von der Null-Linie. Statistische Signifikanz im Gruppenvergleich: VEP \*  $p_{1h} = 0,009$ , \*  $p_{2h} = 0,028$ , \*  $p_{3h} = 0,014$ ; Neuroscore \*\*  $p_{POT 3} = 0,03$ .

#### 4.11 Visuell evozierte Potentiale (VEP)

Die visuell evozierten Potentiale (VEP) wurden ebenfalls als prozentuelle Erholung von der jeweiligen Ausgangsmessung (Ausgangsamplitude) bestimmt. Bei der statistischen Datenanalyse (Kruskal Wallis Test für drei Gruppen) fand man ein, zwei und drei Stunden nach HLM-Abgang signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen (1 h post CPB:  $p_1 = 0,009$ ; 2 h post CPB:  $p_2 = 0,028$ ; 3 h post CPB:  $p_3 = 0,014$ ).

In der ersten Stunde verzeichneten vier Tiere der 10°C/CsA-Gruppe eine Erholung von der isoelektrischen Null-Linie ( $\%Rec1h_{10^\circ C/CsA} = 19,98 \pm 26,61\%$ ). In der 10°C/Plazebo-Gruppe zeigte zum gleichen Zeitpunkt nur ein Tier eine von null verschiedene VEP-Messung ( $\%Rec1h_{10^\circ C/Plazebo} = 1,64 \pm 4,35\%$ ). Bei den Tieren der 20°C-Gruppe waren nach einer Stunde keine VEP auslösbar (Tab. 4).

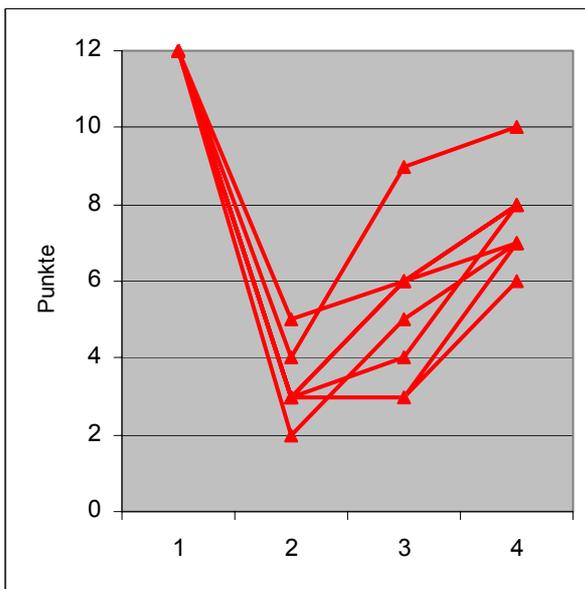
Die Zwei-Stunden-Messung ergab eine Steigerung der Mittelamplitude auf  $22,67 \pm 33,70\%$  in der 10°C/CsA-Gruppe bzw.  $19,00 \pm 31,78\%$  in der 10°C/Plazebo-Gruppe. Auch zu diesem Zeitpunkt zeigte keines der 20°C-Tiere eine VEP-Reaktion.

Drei Stunden nach Abgang von der HLM erreichten die 10°C/CsA-Tiere eine mittlere Amplitude von  $40,19 \pm 29,82\%$  der Baseline-Messung. Die 10°C/Plazebo-Tiere verzeichneten einen Mittelwert von  $21,63 \pm 27,13\%$ . Selbst drei Stunden nach Aus-

schleichen der Herz-Lungen-Maschine und fast physiologischer Hirntemperatur zeigte die VEP-Messung bei den 20°C-Tieren eine absolute Null-Linie.

#### 4.12 Postoperativer neurologischer Status (Neurorecovery)

Die Nachbeatmungszeiten nach HLM-Abgang bis zur Narkoseausleitung ergaben keine relevanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen:  $268 \pm 18$  min (10°C/CsA) versus  $256 \pm 31$  min (10°C/Plazebo) versus  $288 \pm 41$  min (20°C).



*Legende:* Postoperative neurologische Erholung (Neurorecovery) der einzelnen Tiere einer Gruppe während der ersten drei Tage nach HCA.

Messzeitpunkte (Abb. 16, 17 und 18):

- 1 = präoperativ
- 2 = erster postoperativer Tag (POT 1)
- 3 = zweiter postoperativer Tag (POT 2)
- 4 = dritter postoperativer Tag (POT 3)

Abb. 16 : Neurorecovery bei 20°C

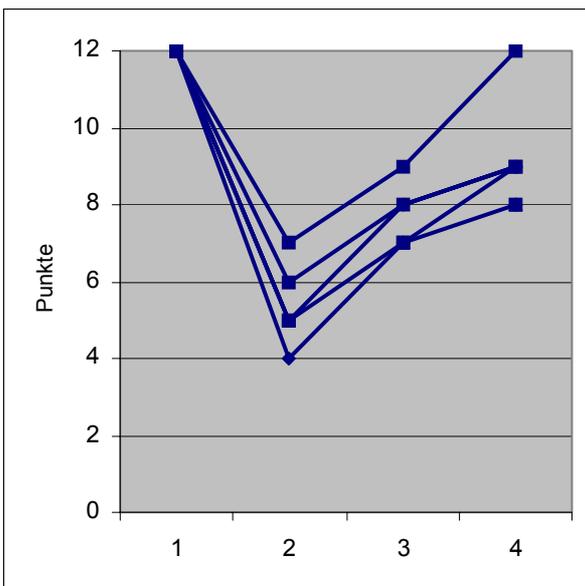


Abb. 17: Neurorecovery bei 10°C/Plazebo

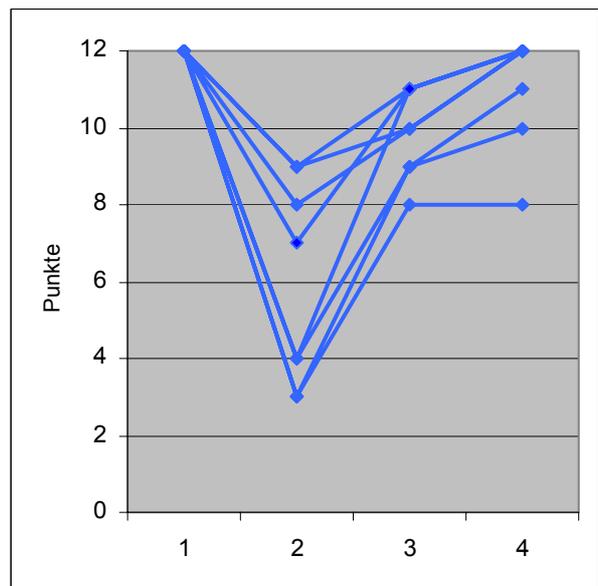


Abb. 18: Neurorecovery bei 10°C/CsA

Der erste postoperative Tag (POT 1) ergab bezüglich der neurologischen Erholung (engl.: *neurorecovery*) keine relevanten Unterschiede zwischen den drei Studien- gruppen (10°C/CsA: 5,50 ± 2,92 Punkte versus 10°C/Plazebo: 4,50 ± 3,37 Punkte versus 20°C: 4,50 ± 3,81 Punkte).

Am zweiten postoperativen Tag (POT 2) zeigten die Tiere der beiden 10°C-Gruppen (10°C/CsA und 10°C/Plazebo) ein deutlich besseres neurologisches Verhalten als die Tiere der 20°C-Gruppe. Sie erreichten einen Median-Punktwert von 10 Punkten in der 10°C/CsA-Gruppe bzw. 8 Punkte in der 10°C/Plazebo-Gruppe, während die Tiere der 20°C-Gruppe einen Neurostatus von nur 7 Punkten erzielten.

Am dritten postoperativen Tag (POT 3) gab es signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen ( $p = 0,03$ ). Die beste neurologische Erholung erzielten die 10°C/CsA-Tiere mit 12 Punkten, gefolgt von den 10°C/Plazebo- mit 10 und den 20°C-Tieren mit 8 Punkten (Abb. 16 - 18).

Als gute neurologische Erholung wurde ein Neurostatus mit einer Punktzahl  $> 9$  definiert. Dieser war bei 75% der 10°C/CsA- ( $n = 6$ ) und 62,5% der 10°C/Plazebo- ( $n = 5$ ) aber nur bei 25% der 20°C-Tiere ( $n = 2$ ) zu verzeichnen ( $p = 0,06$ ).

#### **4.13 Histologische Auswertung**

##### **4.13.1 Formen des Zelluntergangs – eine qualitative Differenzierung**

Anhand der DNS-Fragmentation und Kondensation des Chromatins wurden drei unterschiedliche Formen des neuronalen Zelltodes in den hippocampalen Regionen CA 1, 2 und 3 definiert:

- Degenerativ veränderte Zellen mit einem kleinem, runden, in ISEL- und YOYO-Färbung hoch kondensiert erscheinenden Nucleus stellten die klassische Apoptose dar (Abb. 19 und Abb. 20). Das morphologische Bild apoptotischer Veränderungen zeigte pyknisch geschrumpfte Zellen, mit wenig und hoch kondensiertem Zytoplasma, mit jedoch intakter Zellmembran.

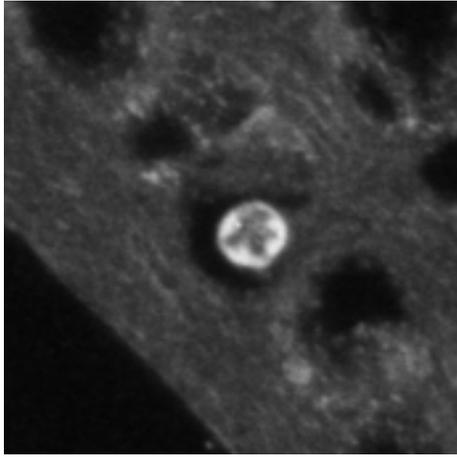


Abb. 19: Apoptotischen Zelle in ISEL

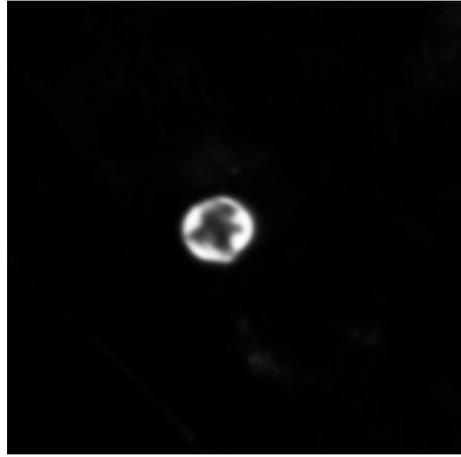


Abb. 20: Apoptotischen Zelle in YOYO

- Eine weitere Form neurodegenerativer Vorgänge wurde als Typ 1 bezeichnet und war durch Zellen mit regelrechtem oder leicht vergrößertem Nucleus, mit intakter Kernmembran und fast unverändertem Zytoplasma gekennzeichnet. Im Inneren des Nucleus fielen in der YOYO-Färbung hell-kondensiert erscheinende, glatt begrenzte „*condensed bodies*“ auf (Abb. 22). In der ISEL-Färbung wies die nur selten lokalisierbare Fluoreszenz auf geringe DNS-Fragmentation hin (Abb. 21).

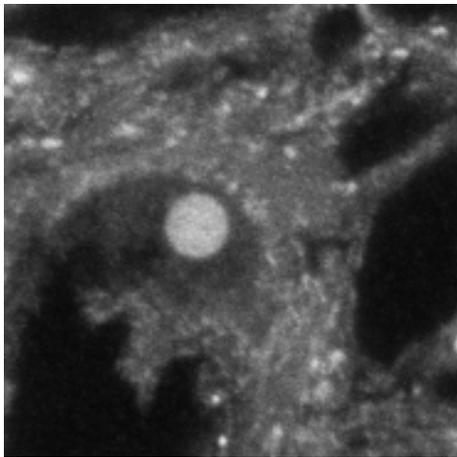


Abb. 21: Typ 1-Zelluntergang in ISEL

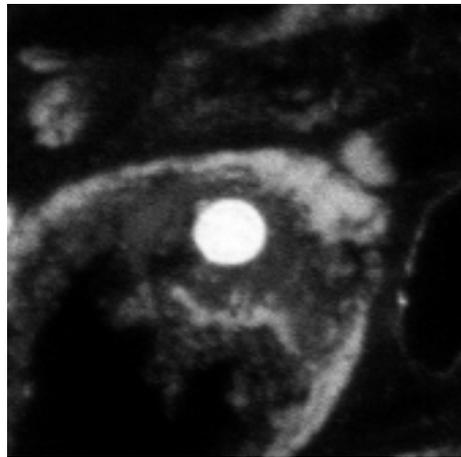


Abb. 22: Typ 1-Zelluntergang in YOYO

- Schließlich wurde als Typ 2 eine Form des Zelluntergangs definiert, die sich ebenfalls durch helle „*condensed bodies*“ in der YOYO-Färbung kennzeichnete (Abb. 24). Im Unterschied zu denen beim Typ 1 beobachteten „*condensed bodies*“ wiesen diese jedoch ungleichmäßige, raue Grenzen und kein ISEL-Signal auf (Abb. 23). Die „*condensed bodies*“ des Typ 2 befanden sich in ehemaliger Nucleus-Lokalisation und ersetzten diesen. Sie füllten einen Groß-

teil des Zellkörpers aus. Eine intakte Zellkernmembran war nicht mehr zu beobachten. Die Veränderungen vom Typ 2 kamen der klassischen Nekrose morphologisch am nächsten.

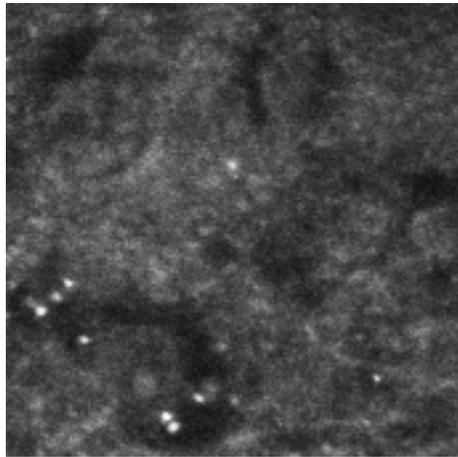


Abb. 23: Typ 2-Zelluntergang in ISEL  
(Klassische Nekrose)

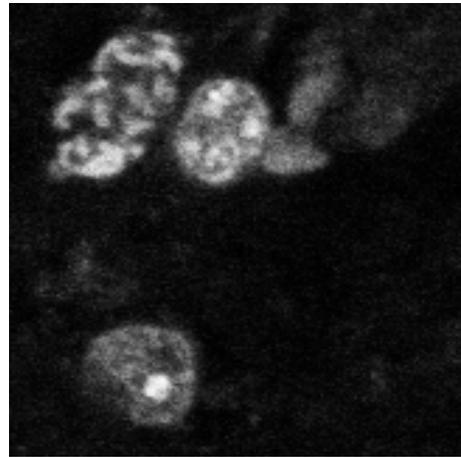


Abb. 24: Typ 2-Zelluntergang in YOYO  
(Klassische Nekrose)

#### 4.13.2 Quantitative Zelltodbestimmung im Hippocampus

Die Zahl der irreversibel geschädigten Neurone pro Volumeneinheit ( $\text{mm}^3$ ) Hippocampusgewebe ist in Tab. 5 angeführt. Drei Tage nach HCA machte die klassische Apoptose mit 57% den größten quantitativen Anteil der pathologischen Zellveränderung aus, gefolgt von den Typ 1-Veränderungen mit 29% und den Typ 2-Veränderungen mit 14%.

Tab. 5: Zelluntergang im Hippocampus

Schädigungstyp	Geschädigte Zellen/ $\text{mm}^3$ Hippocampus		
	10°C/CsA	10°C/Plazebo	20°C
Apoptose	0,97 ± 0,81	0,99 ± 1,30	1,19 ± 0,72
Typ 1	0,46 ± 0,65	0,54 ± 0,85	0,63 ± 0,67
Typ 2 (Nekrose)	0,03 ± 0,09	0,46 ± 0,75	0,30 ± 0,59

Im Unterschied zu den verschiedenen HCA-Temperaturen (10°C versus 20°C) zeigte die zusätzliche CsA-Behandlung keine Auswirkung auf die Apoptoserate nach HCA: Die Tiere der beiden 10°C-Gruppen wiesen unabhängig von CsA oder Plazebo ein geringeres Ausmaß an apoptotischen Veränderungen auf als die Tiere der 20°C-

Gruppe. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bestand jedoch nicht ( $p > 0,05$ ).

Typ 1-Veränderungen traten am häufigsten bei den Tieren der 20°C-Gruppe auf, zeigten bei 10°C/Plazebo eine geringere Ausprägung und wurden bei den Tieren der 10°C/CsA-Gruppe nur selten beobachtet (Tab. 5).

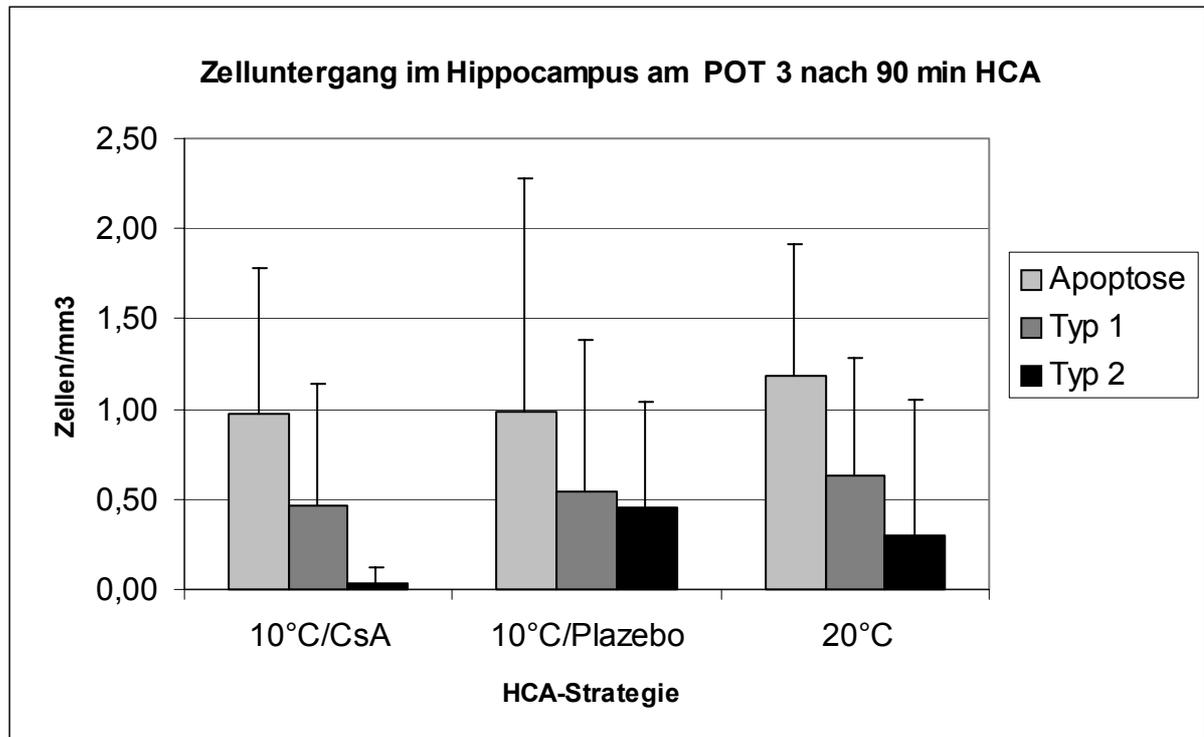


Abb. 25: Neuronaler Zelluntergang im Hippocampus am POT 3

*Legende:* Darstellung der Gruppenmittelwerte apoptotischer, Typ 1- und Typ 2- veränderter Zellen/Volumeneinheit  $\pm$  der Standardabweichung. Die Unterschiede zwischen den drei Gruppen wiesen keine statistische Signifikanz auf.

Die quantitative Bestimmung der Typ 2-Veränderungen, der klassischen Nekrose, zeigte einen nekrosehemmenden CsA-Effekt (Abb. 25), jedoch ohne statistische Signifikanz ( $p = 0,316$ ): Durch Kombination von tiefer Hypothermie (10°C) und CsA-Behandlung kam es in der 10°C/CsA-Gruppe kaum zu nekrotischen Veränderungen. Nur bei einem der insgesamt acht Tiere der 10°C/CsA-Gruppe konnte ein Nekrosevorkommen von durchschnittlich 0,26 Zellen/mm<sup>3</sup> Hippocampusgewebe nachgewiesen werden. Die Hippocampuspräparate der übrigen sieben 10°C/CsA-Tiere waren nekrosefrei.

## 5 Diskussion

### 5.1 Temperaturmanagement und neuroprotektive Strategien

Das Protokoll der vorliegenden Arbeit beruht auf der langjährigen Erfahrung von *Griep et al.*, die 1975 den tiefen hypothermen Kreislaufstillstand (DHCA) als neuroprotektive Strategie in die klinische Routine einführten. Das Tiermodell an dem das Experiment durchgeführt wurde, ist am *Mount Sinai Medical Center* seit 1994 etabliert. Experimentelle und klinische Forschung ergaben bisher folgendes:

- SCP kann ohne tiefe Hypothermie angewandt werden und bietet längere zerebrale Protektion als der DHCA. Die SCP birgt jedoch ein erhöhtes Embolierisiko, ist technisch aufwändig und in manchen Situationen nicht durchführbar.
- Die RCP ist technisch einfacher, benötigt jedoch stets tief hypotherme Temperaturbedingungen. Klinische Daten (Ergin et al. 1994) sowie tierexperimentelle Studien (Sakurada et al. 1996) wiesen bisher keine signifikanten Vorteile gegenüber des einfachen DHCA nach.

Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschließlich mit dem Thema DHCA als neuroprotektive Maßnahme und testet ein in der Aorten Chirurgie bisher nicht angewandtes Medikament, Cyclosporin A, auf seine apoptose- und nekrosehemmende Wirkung.

Die Hauptproblematik der Erforschung neuroprotektiver Maßnahmen bei Herzkreislaufstillstand kann auf folgende Themen beschränkt werden: Temperaturmanagement, Zeitsicherheitsintervall bzw. Möglichkeiten dieses zu erweitern (pharmakologische Ansätze), CPB-Blutgas-Management und pH-Strategie.

Temperaturmanagement: Vorversuchen folgend (Griep et al. 1997b) untersucht die vorliegende Arbeit die Effektivität der tiefen systemischen Hypothermie bei 10°C im Vergleich zu der gängigen Form der Hypothermie (20°C) die routinemäßig bei Aortenbogenoperationen Anwendung findet. Bei sämtlichen Tieren wurde sowohl eine topische Myokardprotektion mit externer Eiswasserspülung sowie eine lokale Kühlung des Kopfes mit Eisbeuteln vorgenommen. Beide Techniken - systemische und lokale Kühlung - werden im klinischen OP-Alltag angewandt und sind ab Kreislaufstillstandzeiten (HCA-Zeiten) von  $\geq 20$  min indiziert.

Zeitsicherheitsintervall: Aufgrund klinischer Erfahrungen werden HCA-Zeiten  $\leq 45$  min bei 18°C allgemein als „sicher“ angenommen. Retrospektive Studien an herzchi-

rurgischen Kliniken mit Aortenbogenchirurgie ergaben mittlere HCA-Zeiten zwischen 38 min (Kouchoukos et al. 2001) und 53 min (Strauch et al. 2004). Bei älteren Patienten mit vermehrten Begleiterkrankungen (Atherosklerose, Hypertonie bzw. Schlaganfallpatienten) und intraoperativen Komplikationen betrug die HCA-Zeit in Einzelfällen jedoch bis zu 85 min (Kouchoukos et al. 2001) bzw. 109 min (Coselli 1996). In diesen Fällen wurde das Zeitsicherheitsintervall deutlich überschritten - postoperativ traten vermehrt fokale Defizite und TND auf.

Das in der vorliegenden Versuchsreihe gewählte HCA-Intervall von 90 min stellt eine für die Klinik nur unter schweren intraoperativen Komplikationen realistisch erscheinende Grenzsituation dar. Bezüglich der experimentellen Fragestellung, ob eine neuroprotektive Methode wirksam ist oder nicht, bietet das 90-minütige HCA-Intervall jedoch die Sicherheit, eine neurologische Schädigung in voller Ausprägung erscheinen zu lassen und ist damit für die neuropathologische Forschung gut geeignet

Medikamentöse Neuroprotektion: Neben der Verbesserung der Perfusionstechnik und Kühlungsstrategie wurden auch neue medikamentöse Eingriffsmöglichkeiten als Ergänzung der intra- und postoperativen Neuroprotektion hinzugezogen. An Tiermodellen mit fokaler und globaler Ischämie wurden bereits entzündungshemmende Pharmaka auf deren apoptosehemmende Wirkung getestet (Yoshimoto und Siesjo 1999). Aufgrund früherer Arbeiten wurde die Hypothese aufgestellt, dass auch Cyclosporin A neben der bekannten immunsuppressiven Wirkung ein neuroprotektives Potenzial bei HCA bedingter Ischämie besitzen könnte (Hagl et al. 2001a).

In der vorliegenden Arbeit wurde den Tieren in definierter Form, Dosierung und zu identischen Zeitpunkten CsA verabreicht (siehe Material und Methoden). Der HCA wurde bei den medikamentös behandelten Tieren bei 10°C und nicht bei 20°C eingeleitet. Die Autoren erhofften sich eine verbesserte Neuroprotektion, da thermische und medikamentöse Effekte additiv angewandt wurden.

CPB-Blutgas-Management und pH-Strategie: Es ist bekannt, dass CPB-Strategien, welche die physiologische Autoregulation des zerebralen Blutflusses bewahren, eine bessere Neuroprotektion bieten (Ergin et al. 1994). In der vorliegenden Arbeit wurde eine CPB-Strategie gewählt, die nach Alpha-stat Prinzipien den pH-Wert ohne Temperaturkorrektur durch Gabe von Natriumbikarbonat im physiologischen Bereich hält. Vorteil dieses Blutgasmanagements gegenüber der pH-stat Strategie, bei der ein pH-Ausgleich durch CO<sub>2</sub>-Administration temperaturkontrolliert erfolgt, ist das Verhindern einer CO<sub>2</sub>-bedingten zerebralen Vasodilatation. Diese verringert zwar den peripheren

Widerstand und steigert den zerebralen Blutfluss bei der pH-stat Strategie, doch wächst gleichzeitig auch das Risiko von Mikroembolien und einer postischämischen Überflutung des Gehirns mit freien Sauerstoffradikalen (Taylor 1998). Freie Sauerstoffradikale gelten als Induktoren der Apoptose und sind nachweislich für den Reperfusionsschaden nach HCA verantwortlich (Mackey et al. 1997).

## **5.2 Hirnödem und intrakranieller Druckanstieg**

Obwohl sich zerebrale Ödeme unter Einsatz der HLM bei Herzoperationen sowohl mit als auch ohne Anwendung des HCA entwickeln, findet dieses Thema in der Literatur nur geringe Erwähnung. Insbesondere bei Ischämiezeiten > 40 min stellt das Hirnödem eine der Hauptkomplikationen nach HCA dar (Smith und O'Kelly 1993).

Selbst bei kardialen Eingriffen ohne HCA treten zerebrale Ödeme auf: Eine Studie von *Harris et al.* zeigte eine signifikante zerebrale Ödembildung unmittelbar nach koronarer Bypass-Operation (Harris et al. 1993). Desgleichen fanden *Herczeg et al.* bei sämtlichen Patienten, die nach offenen kardialen Eingriffen verstorben waren, ein postoperatives Hirnödem als Mitursache des Exitus (Herczeg et al. 1996).

Pathologisch sind bei der Ödementstehung drei unterschiedliche Wege von Bedeutung:

- Anstieg des hydrostatischen Druckes in den Kapillaren – bei Hypervolämie oder venöser Stauung,
- Abfallen des kolloid-osmotischen Druckes des Plasmas – bei Hypoproteinämie,
- Schädigung der Gefäßwand mit Steigerung der kapillaren Permeabilität.

Im Falle des durch HLM und HCA verursachten Ödems treffen die drei oben genannten Faktoren zusammen. Von allen Organen reagiert das Gehirn am empfindlichsten auf ödematöse Veränderungen, da es sich aufgrund seiner anatomischen Lokalisation nicht beliebig weit ausdehnen kann. Ziel jeder Neuroprotektion ist es, ein zerebrales Ödem zu verhindern.

### **5.2.1 ICP und SSP**

Eine Möglichkeit, ein sich anbahnendes Hirnödem bereits intraoperativ zu diagnostizieren, stellt die kontinuierliche Messung des intrakraniellen Druckes (ICP) dar. Die Zunahme des intrakraniellen Volumens führt jedoch nicht primär zu einem Anstieg

des ICP. Erst wenn die Kompensationsmöglichkeiten der Liquorräume erschöpft sind, steigt der ICP an. Die Druckmessung im Sinus sagittalis (SSP) stellt neben der ICP-Messung einen wichtigen Parameter der zerebralen Ödemdiagnose dar.

In der Literatur (Schulte am Esch et al. 2000) werden ICP-Werte zwischen 0 und 12 mmHg als physiologisch betrachtet; erst Werte über 20 mmHg gelten als kritisch. Es ist aber nicht auszuschließen, dass bereits niedrigere intrakranielle Drücke in sensiblen Gehirnregionen mit einer schwächer ausgeprägten Mikrozirkulation, folgenschwere Schäden verursachen können (Hagl et al. 2002). Bei Operationen mit CPB und HCA ist die Entwicklung der zerebralen ICP-Kurve vor allem in der Kühl- und Reperfusionphase bzw. den ersten Stunden nach HLM-Abgang von besonderer Wichtigkeit.

Wie bereits von *Mezrow* (Mezrow et al. 1994) und *Strauch* (Strauch et al. 2003b) gezeigt wurde, fällt der Blutfluss bei tiefem HCA während der Kühlung in allen Hirnregionen. Der Gefäßwiderstand steigt an. Allein der Einsatz des extrakorporalen Kreislaufs - durch seine endothelschädigende Wirkung - als auch eine für den zerebralen Gefäßstatus zu hohe Pumpflussrate können eine Flüssigkeitsverschiebung von intravasal nach extravasal induzieren (Cooper et al. 2000). Während der Kühlung ist der zeitliche Rahmen von 30 bzw. 45 Minuten zu klein, um ein messbares Hirnödem entstehen zu lassen. Hinzu kommen die protektiven Eigenschaften der zunehmenden Hypothermie, die sich hemmend auf die Wirkung inflammatorischer Zytokine (IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$ ) sowie den Kalzium-Einstrom in die Zelle auswirken (Goss et al. 1995).

Während des Versuchs zeigten sämtliche Tiere bei Absenken der Hirntemperatur einen ICP- und SSP-Abfall. Am deutlichsten war der ICP-Abfall in der 10°C/Plazebo-Gruppe. Es ließ sich jedoch keine Korrelation zwischen präoperativ niedrigen ICP-Werten und einem verbesserten postoperativen Neuroscore feststellen.

Reperfusion: Während der Reperfusion verliert die thermische Protektion zunehmend an Bedeutung. Das Nervengewebe steigert seinen Metabolismus und benötigt verstärkt Sauerstoff. Die endothelschädigende Wirkung des CPB erlangt nun klinische Relevanz (engl.: *capillary leak syndrom*) und führt zu einem zerebralen Ödem (Cooper et al. 2000).

Beim durchgeführten Versuch wurde die Pumpenflussrate in Abhängigkeit von dem venösen Rückfluss über die beiden Venae cava eingestellt. Eine genaue Flussanpassung an den zerebralen Gefäßstatus ist jedoch auch bei sorgfältigster Flussmo-

dulation nur bedingt möglich. Die relative Hyperperfusion einzelner zerebraler Areale mit warmem Blut kann in diesem Fall eine Ödementstehung sogar begünstigen.

Solange das Gehirn noch über die HLM mit oxygeniertem Blut versorgt wurde, war trotz des erhöhten zerebralen Gefäßtonus eine suffiziente Blutversorgung gewährleistet. Nach Abgang von der HLM änderte sich dieses: Noch eins bis zwei Stunden nach HLM-Abgang zeigten die Tiere ein verringertes Herzzeitvolumen, einen niedrigen MAP-Wert sowie gesteigerte zentral-venöse Druckwerte - Bedingungen die schon bei ICP > 10 mmHg zu einer unzureichenden Durchblutung der sensiblen Areale führen können.

Erste klinische Berichte über erhöhte ICP während der Reperfusion nach HCA gibt es von *Burrows* (Burrows et al. 1990). Diese und andere Studien (Jonassen et al. 1995) belegen eine Verlangsamung des zerebralen Blutflusses nach HCA mit Steigerung des intrakraniellen Hirndrucks.

In der vorliegenden Arbeit zeigten die ersten drei Stunden nach HLM-Abgang signifikant höhere ICP-Werte in der 20°C-Gruppe ( $p = 0,01$ ) als bei den 10°C-Tieren (10°C/Plazebo; 10°C/CsA).

Mit einer einzigen Ausnahme (6%) lagen sämtliche ICP-Werte der 10°C-Tiere drei Stunden nach HLM-Abgang unter 10 mmHg, zum Teil sogar unter der anfänglichen Ausgangsmessung zu Versuchsbeginn. Ein Hirnödem konnte dadurch ausgeschlossen werden. In der 20°C-Gruppe hingegen, wiesen vier der insgesamt acht Tiere (50%) zu demselben Zeitpunkt ICP-Werte über 10 mmHg auf. Die Wahrscheinlichkeit einer postoperativen Ödementwicklung war hier erhöht.

Zwischen 10°C/Plazebo und 10°C/CsA gab es bei Versuchsabschluss keinen signifikanten Unterschied – in beiden Gruppen lag der ICP-Mittelwert unterhalb der jeweiligen Ausgangsmessung. Ein zusätzlich ödemmindernder Effekt von CsA konnte nicht nachgewiesen werden. Diese Schlussfolgerung widerspricht den Ergebnissen der HCA-Studie von *Hagl et al.* (Hagl et al. 2001a), die unter ähnlichen Bedingungen mit gleichen HCA-Zeiten aber verschiedenen Temperaturen (20°C in allen Studiengruppen) durchgeführt wurde. Auch in dieser Arbeit wurde CsA auf seine neuroprotektiven Eigenschaften untersucht. Sowohl in der Reperfusionsphase als auch in den ersten drei postoperativen Stunden ergab die ICP-Messung bei *Hagl* signifikant tiefere ICP-Werte unter CsA-Therapie.

Dass die vorliegende Studie keine Vorteile der CsA-Behandlung hinsichtlich einer Ödemprophylaxe ergab, könnte an den insgesamt geringen postoperativen ICP-Werten bei der 10°C-HCA-Strategie liegen. Unabhängig ob mit oder ohne zusätzlicher CsA-Behandlung, lagen diese zum größten Teil unter denen der Ausgangsmessung, sodass eine weitere Senkung der ICP-Werte selbst durch CsA nicht zu erzielen war.

Die Verlaufskurven der ICP- und SSP-Veränderungen wiesen den gleichen Trend auf: Abfall der Werte während der Kühlung, Anstieg während der Reperfusion. Der SSP ist jedoch multifaktoriell beeinflussbar und reagiert sensibler als der ICP auf den Füllungsdruck der Vena cava superior. Er gibt eher Auskunft über den venösen Rückfluss und die Liquordrainage als über den zerebralen Ödemstatus.

Die SSP-Mittelwerte aller drei Versuchsgruppen lagen in der kritischen Reperfusionsphase unter der jeweiligen Ausgangsmessung, was auf eine schonende HCA- und CPB-Strategie schließen lässt. Der SSP-Vergleich zwischen den drei Gruppen ergab zwar drei Stunden nach HLM-Abgang einen leicht höheren Wert bei den 20°C-Tieren, dennoch war der Unterschied zu den SSP-Werten der 10°C-Gruppen (10°C/CsA, 10°C/Plazebo) statistisch nicht signifikant.

### **5.2.2 Hämatokriteinstellung**

Unter hypothermen Bedingungen ändern sich die rheologischen Eigenschaften des Blutes. Während der Kühlung und dem HCA wird eine ausreichende Hämodilution benötigt, um einem potentiellen *Sludging*-Phänomen (engl. = Schlamm) entgegenzuwirken.

Bei der warmen Reperfusion nach HCA ist eine exzessive Hämodilution hingegen unnötig und schädlich. Ein niedriger Hämatokrit kann den erhöhten Sauerstoffbedarf zu diesem Zeitpunkt nicht mehr decken. Eine hohe Ultrafiltrationsrate der Niere (Skaryak et al. 1995) und ein Hämatokritwert > 30% nach HCA (Shin'oka et al. 1996) zeigten bereits in früheren Tierversuchen ihre neuroprotektiven Eigenschaften nach Operationen mit CPB. Der neuroprotektive Effekt wurde hier nicht auf die zerebrale Ödemreduktion durch die osmotische Aktivität zurückgeführt (Shin'oka et al. 1998), sondern vielmehr den Puffereigenschaften als Redox-Reagenz und der Neutralisierung freier Radikale zugeordnet (Anderson et al. 1992).

Der physiologische Hämatokrit liegt beim Schwein tiefer als beim Menschen. Er beträgt zwischen 30% und 40%. Nach anfänglicher Hämodilution bei HLM-Anschluss

(750 ml Priming-Lösung senkten den Hkt auf 20%) erfolgte während der Reperfusion und den ersten Stunden nach HLM-Abgang eine Normalisierung des Hkt durch Erhöhung der renalen Filtrationsrate.

Die 10°C/Plazebo-Tiere mit dem höchsten Hämatokrit wiesen gleichzeitig die niedrigsten postoperativen ICP-Werte auf. Die 20°C-Tiere, bei denen der postoperative Hämatokrit am niedrigsten ausfiel, zeigten deutliche Zeichen eines zerebralen Ödems bzw. einer neurologischen Schädigung (hoher ICP, geringe EEG- und VEP-Erholung von der Nulllinie, mangelhafter Neuroscore, Histologie). Es bestätigte sich die Korrelation: hoher postoperativer Hämatokrit - geringes zerebrales Ödem und der Hämatokritwert als ein früher prädiktiver Parameter für ein gutes postoperatives neurologisches Ergebnis.

### **5.3 Reduktion des zerebralen Metabolismus bei DHCA**

Der zerebrale Metabolismus unterscheidet sich von dem anderer Organe durch eine relativ hohe Stoffwechselrate: Im Ruhezustand macht der zerebrale Metabolismus 15% des Gesamtkörperstoffwechsels aus - obwohl die Hirnmasse nur 2% der Gesamtkörpermasse beträgt (Guyton und Hall 2000). Trotz seines geringen Gewichtes beansprucht das Gehirn 15-20% des Herzzeitvolumens. Der größte Energieanteil kommt dabei den Neuronen und nicht den Gliazellen zu. Die Energie wird intrazellulär zur Betätigung der Ionenpumpen verwendet, die das Membranpotential und damit die elektrische Leitfähigkeit der Nervenzelle aufrecht erhalten.

Die Anzahl der perfundierten zerebralen Gefäße kann im Unterschied zur Muskulatur unter kritischen Versorgungsbedingungen nicht wesentlich gesteigert werden, da bereits sämtliche Kapillaren pro Volumeneinheit schon im Normalzustand eröffnet sind.

Einen weiteren Unterschied zu anderen Geweben stellt der zerebrale Glukosestoffwechsel dar. Im Falle einer andauernden Hypoxie sind die meisten Gewebe in der Lage durch anaerobe metabolische Prozesse - anaerober Abbau von Glukose und Glykogen zu Pyruvat und Laktat - bis zu 30 Minuten ohne bleibende Schäden zu überleben.

Das Hirngewebe ist zu diesem Prozess in einem nur sehr geringen Maße fähig. Einer der Gründe ist seine hohe Stoffwechselrate, der diese Form der Energieproduktion nicht gerecht wird: Von jedem anaerob verbrauchten Glukosemolekül werden nur knapp über 3% seiner Energieressourcen als anaerobe Energie verwertet. Ein weite-

rer Faktor ist die geringe Glykogenspeicherkapazität der Nervenzelle. Dadurch ist die Möglichkeit eines anaeroben Glykogenabbaus schnell erschöpft.

Die Vitalität und normale Funktionalität der Nervenzelle bleibt auch während einer Ischämie von dem aeroben Stoffwechsel bestimmt. Ist dieser erschöpft, geht die Nervenzelle unter.

### **5.3.1 Zerebraler Sauerstoffverbrauch**

Das Ausmaß der zerebralen Metabolismusrate korreliert indirekt proportional mit der Sauerstoffsättigung im Blut des Sinus sagittalis nach Hirnpassage: Je höher die venöse Sättigung ist, desto geringer ist der metabolische Verbrauch im Gehirn.

Die vorliegende Untersuchung ergab nach Kühlung, unmittelbar vor Einleitung des Kreislaufstillstandes, eine signifikant höhere zerebrale Sauerstoffsättigung bei den 10°C/CsA-Tieren als in der 20°C-Kontrollgruppe ( $p=0,0039$ ). Der geringere zerebrale Sauerstoffverbrauch ließ auf einen stärker reduzierten zerebralen Metabolismus und eine effektivere Neuroprotektion bei 10°C schließen.

Von Interesse, wenn auch nicht statistisch signifikant, bleibt der unterschiedlich ansteigende Sauerstoffverbrauch bei Reperfusion: Zeigten die Tiere der 10°C/CsA- und 10°C/Plazebo-Gruppe trotz tieferer HCA-Temperatur eine frühzeitige Abnahme (nach 45 min Reperfusion) der venösen Sauerstoffkonzentration im Sinus sagittalis als Zeichen der Wiederaufnahme des aeroben Metabolismus, setzte die aerob metabolische Aktivität in der 20°C-Gruppe erst eine Stunde nach Maschinenabgang ein.

In der Reperfusionsphase ist aufgrund des hohen Gefäßwiderstandes ein nur geringerer zerebraler Blutfluss möglich (Mezrow et al. 1992). Dieses führt zu einer gesteigerten Sauerstoffaufnahme des Gewebes, das den relativen Sauerstoffmangel zu kompensieren versucht. Ein gesteigerter Sauerstoffverbrauch nach Maschinenabgang ist ein Zeichen für aktives, energiebedürftiges Nervengewebe und hat nach Langzeitschämie seine physiologische Berechtigung.

### **5.3.2 Laktatproduktion unter hypoxischen Bedingungen**

Unter aeroben Bedingungen stellt die Zelle aus Glukose ATP, CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O her. Aus einem mol Glukose entstehen 6 mol ATP. Fehlt der dazu benötigte Sauerstoff, ist die Zelle gezwungen auf anaerobe Glukolyse umzuschalten und Glykogen anaerob abzubauen. Dabei entstehen aus einem mol Glukose lediglich 2 mol ATP und Pyruvat, das schließlich zu Laktat reduziert wird. Der physiologische Laktatspiegel liegt in ei-

nem Bereich zwischen 0,5 - 2 mmol/l, bei guter Oxygenierung unter 1,2 mmol/l. Das vermehrt anfallende Laktat bei überwiegend anaerober Stoffwechsellage führt zu einer Senkung des pH-Wertes, zu einer metabolischen Azidose.

Aufgrund ihrer geringen Glukose- und Glykogenspeicherkapazität ist die Nervenzelle in einem nur geringen Maße fähig auf diese Form des anaeroben Energiegewinns umzuschalten. Dementsprechend fällt unter anaeroben Bedingungen im Gehirn nur eine geringe Laktatmenge an. Der ansteigende Laktatspiegel im Sinus sagittalis nach HCA ist durch die Beimischung des Blutes aus der unteren Körperhälfte (Muskeln, abdominelle Organe) über den extrakorporalen Kreislauf und weniger durch die Laktatproduktion des Gehirns bedingt. Dabei ist zu beachten, dass laktatreiches Blut und saure Metaboliten (freie Radikale) aus der unteren Körperhälfte in der kritischen Phase der Reperfusion zusätzliche Gefahren für den zerebralen Reperfusionsschaden darstellen.

In dem durchgeführten Versuch stieg der Laktatwert bei den Tieren der 10°C/CsA- und 10°C/Plazebo-Gruppe nach 90-minütiger Ischämie auf das Dreifache der jeweiligen Ausgangsmessung, bei den 20°C-Tieren auf das Sechsfache. Der doppelte Laktatanstieg vor HCA sowie die signifikant höheren Laktatwerte bei den Tieren der 20°C-Gruppe (\* $p_{1h, 2h, 3h} = 0,008$ ) zeigen eindrücklich, dass die 20°C-Hypothermie im Gegensatz zur tiefen 10°C-Hypothermie den Gesamtstoffwechsel bei Langzeitischämie nicht ausreichend reduziert.

## **5.4 Neurofunktionsdiagnostik**

### **5.4.1 Elektrophysiologische Messungen**

Die perioperative Neurofunktionsdiagnostik stützte sich auf zwei Parameter: Das Elektroenzephalogramm (EEG) und die visuell evozierten Potenziale (VEP).

EEG: Aus der klinischen Praxis ist bekannt, dass während der Kühlungsphase ein kontinuierliches EEG bis zu einer Temperatur zwischen 22°C und 20°C zu beobachten ist. Bei weiterer Temperatursenkung tritt die isoelektrische Null-Linie ein (engl.: *electrocerebral silence*, ECS). Während des Erwärmens beginnt das EEG die isoelektrische Linie bei Temperaturen ab 21,2°C ± 5°C zu verlassen. Ein kontinuierliches EEG wird frühestens bei 30,1°C ± 5°C verzeichnet (Stecker et al. 2001b).

In der vorliegenden Studie wurde keine kontinuierliche EEG- und VEP-Messung durchgeführt. Die Daten wurden intermittierend, zu festgelegten Messzeitpunkten erfasst: Präoperativ sowie eins, zwei und drei Stunden nach Maschinenabgang ( $34,6^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Aus der klinischen Erfahrung (Stecker et al. 2001a) war bekannt, dass frühestens eine Stunde nach HLM-Abgang eine Erholung von der ECS zu erwarten ist. Stecker beschrieb des weiteren eine Assoziation zwischen tieferen HCA-Temperaturen und schnellerer EEG-Erholung nach HCA sowie ein signifikant längeres Anhalten der ECS bei langen HCA-Zeiten.

Die vorliegende Studie ergab eine deutlich schnellere EEG-Erholung bei den  $10^{\circ}\text{C}$ -Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $20^{\circ}\text{C}$ ). Bei statistischer Analyse zeigten sich die  $10^{\circ}\text{C}$ /Plazebo-Tiere den  $20^{\circ}\text{C}$ -Tieren grenzwertig signifikant überlegen ( $p = 0,06$ ).

Im Unterschied zu einer früheren Arbeit von Hagl et al. (Hagl et al. 2001a), bei der CsA-behandelte Tiere eine schnellere EEG-Erholung nach  $20^{\circ}\text{C}$ -Hypothermie aufwiesen, erbrachte die prä- und postoperative CsA-Gabe keine Verbesserung der elektrischen Hirnaktivität drei Stunden nach HCA bei  $10^{\circ}\text{C}$ .

VEP: Die VEP-Messungen zeigten ein, zwei und drei Stunden nach HCA eine signifikant bessere Erholung der CsA-behandelten Tiere ( $10^{\circ}\text{C}$ /CsA-Gruppe) gegenüber den Plazebo-behandelten Tieren ( $10^{\circ}\text{C}$ /Plazebo;  $20^{\circ}\text{C}$ ). Dieses spricht für einen neuroprotektiven Effekt der CsA-Therapie. Ein deutlicher Unterschied zwischen den  $10^{\circ}\text{C}$ /Plazebo und  $20^{\circ}\text{C}$ -Tieren (letztere zeigten keine VEP-Erholung) bewies, ebenso wie das EEG, die Überlegenheit des  $10^{\circ}\text{C}$ - gegenüber des  $20^{\circ}\text{C}$ -Temperaturmanagements.

Von Interesse waren die gegensätzlichen Ergebnisse der EEG- bzw. VEP-Messung bezüglich des neuroprotektiven Potenzials von CsA: Zeigte die präoperative CsA-Behandlung bei  $10^{\circ}\text{C}$  eine bessere VEP-Erholung ( $10^{\circ}\text{C}$ /CsA) und somit neuroprotektive Eigenschaften, so erbrachte das EEG drei Stunden nach HLM-Abgang eine höhere zerebral-elektrische Eigenaktivität ohne CsA-Behandlung ( $10^{\circ}\text{C}$ /Plazebo). Zu erklären war dieses anhand der unterschiedlichen Hirnregionen, denen die beiden Parameter (EEG und VEP) entsprechen. Das EEG ist hauptsächlich von der Aktivität des Thalamus bzw. Kortex abhängig, während die evozierten Potenziale eher auf der Leitfähigkeit des Nervus opticus, der Integrität des hinteren Anteils der Capsula interna sowie der Sehrinde (Area 17) basieren. Phylogenetisch jüngere Anteile wie der Kortex sind aufgrund des höheren Sauerstoffbedarfs ischämieanfälliger als entwicklungs geschichtlich ältere Strukturen (z. B. Hirnstamm).

Gleichzeitig ist bekannt, dass sich nicht alle Hirnareale homogen kühlen und erwärmen lassen. Bei geringerem Gefäßwiderstand und größerem Fluss finden die Temperaturveränderungen schneller statt. Unterschiedlich tiefes Kühlen und schnelles Erwärmen der Strukturen kann unterschiedliche zerebral-elektrische Erholungsmuster verursachen. So wird der Hirnstamm und die schädelbasisnahen Strukturen im Vergleich zu Thalamus und Kortex schneller gekühlt und erwärmt (Stecker et al. 2002).

Somit konnte die VEP-Erholung zu Messzeitpunkten erklärt werden, an denen im EEG noch eine isoelektrische Null-Linie verzeichnet wurde.

#### **5.4.2 Das postoperative neurologische Verhalten**

Studien von *Coles* (Coles et al. 1984) und *Stecker* (Stecker et al. 1996) zeigten eine enge Korrelation zwischen der frühen Auslösbarkeit evozierter Potentiale nach Hypothermie und einem guten neurologischen postoperativen Ergebnis.

Die vorliegende Studie bestätigte diese Beobachtung: Eine frühe VEP-Erholung korrelierte bei den meisten Tieren der beiden 10°C-Gruppen mit einem Neuroscore > 9 an den drei ersten postoperativen Tagen. Doch gab es sowohl in der 10°C/CsA- als auch in der 10°C/Plazebo-Gruppe je ein Tier, das trotz isoelektrischer VEP-Linie in der Drei-Stunden-Messung eine gute Neurorecovery (Neuroscore > 9) am dritten postoperativen Tag aufwies. Die zerebrale Schädigung wurde in diesen Fällen offensichtlich nach den ersten drei postoperativen Stunden funktionell kompensiert.

Bei sämtlichen 20°C-Tieren waren in den ersten drei Stunden nach HLM-Abgang keine VEP-Ableitungen möglich. Deutlich langsamer war auch deren neurologische Erholung an den ersten drei postoperativen Tagen (Neuroscore:  $p_{\text{POT 3}} = 0,03$ ). Dennoch waren zwei Ausnahmen zu vermerken: Trotz fehlender VEP wurde von zwei 20°C-Tieren ein Neuroscore > 9 am POT 1 erzielt. In diesen Fällen muss die anfängliche zerebrale Funktionsstörung innerhalb der ersten 24 postoperativen Stunden behoben worden sein.

Die schnelle neurologische Erholung der 10°C Tiere (10°C/CsA- und 10°C/Plazebo-Gruppe) an den POT 2 und POT 3 korreliert mit den Werten der  $\text{SO}_2$ -SS-, Laktat-, ICP-, EEG- und VEP-Messungen. Wie bereits bei der Auswertung der VEP wurde anhand des täglichen Neurostatus (Neuroscore) ein neuroprotektiver Effekt der CsA-Therapie nachgewiesen. Da es sich bei dem Neuroscore um den im postoperativen Verlauf am spätesten in vivo erfassten Messparameter eines fortschreitenden Pro-

zesses handelt (Zelluntergänge wurden bis zu sieben Tage nach Langzeit-HCA beobachtet (Hagl et al. 2001b)), gilt er - bis auf die histologische Auswertung der Gewebsschädigung - als aussagekräftigstes Argument.

## 5.5 Histopathologie

Der Zelltod stellt das irreversible Endstadium einer geschädigten Zelle dar. Selbst wenn alle zur Zerstörung führenden Prozesse pharmakologisch gestoppt werden, ist sie an diesem Punkt nicht mehr in der Lage ihre ursprüngliche Morphologie und Funktion zurückzuerlangen (engl.: „*point of no return*“) (Lipton 1999).

In der Literatur werden zwei grundlegende Formen des neuronalen Zelltodes unterschieden: Die Apoptose und die Nekrose (Bredesen 1995). Beide Formen treten nach 90-minütigem HCA im hypoxiegeschädigten Gehirn zu unterschiedlichen Zeitpunkten und in unterschiedlicher Ausprägung auf (Baumgartner et al. 1999, Kin et al. 1999, Kurth et al. 1999).

Die Auswirkungen von Ischämie und Reperfusion auf den zerebralen Zelltod sind komplex und noch nicht ausreichend erforscht. Während eine frühe Reperfusion der ischämischen Areale das Ausmaß der Nekrose verringert, kann sie nach langem HCA durch das Einschwemmen freier Radikale und NO (Tseng et al. 1997) einen Reperfusionsschaden verursachen (Mackey et al. 1997). Dieser tritt meist nach einem zeitlichen Intervall in den darauffolgenden Stunden bis Tagen ein. Es sind vor allem apoptotische Zellveränderungen, die den verzögerten Zelltod nach Reperfusion verursachen (Kirino 1982, Li et al. 1995b).

Desgleichen besteht die Hypothese, dass manche Zellen erst apoptotische Veränderungen erfahren und später, durch vermehrte Anhäufung toxischer Metabolite (freie Sauerstoffradikale, NO) in die klassische Nekrose übergehen (Li et al. 1995a).

Andererseits könnte die Apoptose - zumindest zum Teil - eine Folgeerscheinung der umgebenden Nekrose benachbarter Zellen sein. Es ist durchaus möglich, dass ischämisch geschädigte Zellen von selbst pro-apoptotische Faktoren ausschütten und somit in die Apoptose übergehen. Diese stellt für das umliegende Gewebe den weniger schädlichen Zelltod dar, da sie im Unterschied zur Nekrose ohne begleitende Entzündungsreaktion einhergeht (Mackey et al. 1997).

Diese Überlegungen basieren auf der Erkenntnis, dass ischämiegeschädigtes Gewebe neben der typischen Apoptose und Nekrose auch Zwischenstadien der Zell-

veränderungen aufweist. Anhand der DNS-Fragmentierung und des Chromatinkondensationsmusters wurde in der vorliegenden Arbeit neben der klassischen Apoptose und Nekrose (Typ 2) eine weitere Form sterbender Zellen nachgewiesen und zusammenfassend als Typ 1-Veränderung bezeichnet. Im Unterschied zu den nekrotischen Zellen war der Zellkern hier noch erhalten. Zellen mit Typ 1-Veränderung zeigten im noch vorhandenen Nukleus in der YOYO-Färbung hell aufleuchtende, glatt begrenzte Chromatinkondensationsmuster (engl.: „*condensed bodies*“). Der Zellkern erschien leicht vergrößert und das Zellsoma unverändert.

Bei der klassischen Apoptose blieb die Kernmembran zwar auch erhalten, doch kam es im Kerninneren zu einer ausgeprägten DNS-Fragmentierung. Diese war mit der ISEL-Methode unter dem Elektronenmikroskop als intens fluoreszierendes ISEL-Signal erkennbar. Zellen mit Typ 1-Veränderungen zeigten ein nur schwaches ISEL-Signal (geringe DNS-Fragmentierung), dafür aber ein intensives YOYO-Signal (vermehrte Chromatinkondensation). Ob es sich dabei um eine eigene Form des Zelltods handelte oder die Typ 1-Veränderungen lediglich ein Zwischenstadium im Übergang vom nekrotischen zu apoptotischen Zelltod darstellten, konnte anhand des histologischen Bildes nicht festgelegt werden (Tatton et al. 2001).

Aus früheren Studien ist bekannt, dass der postischämische Zelltod im Hippocampus sein Maximum am dritten postoperativen Tag erreicht (Hagl et al. 2001b). Dieser Information folgend, erbrachte die histologische Untersuchung am POT 3 einen Apoptoseanteil von 57% aller irreversibel geschädigten Zellen, wobei sich die tiefe Hypothermie bei 10°C gegenüber der 20°C-Strategie als apoptoseprotektiv erwies. Eine zusätzliche CsA-Behandlung zeigte keinen Einfluss auf das Ausmaß der apoptotischen Prozesse.

Die Typ 1-Veränderungen stellten mit 29% die zweithäufigste Todesursache der hippocampalen Neurone dar. Obwohl auch hier die Ausprägung in der 10°C/CsA-Gruppe am geringsten war und die 10°C/Plazebo-Tiere ein besseres Ergebnis lieferten, erreichten die Unterschiede keine statistische Signifikanz.

Anders verhielt es sich bei den Typ 2-Veränderungen - der klassischen Nekrose - die global gesehen nur 14% aller Zelltöde ausmachte. Wenn auch der Nekroseanteil am gesamten Zelltod in der 10°C/Plazebo-Gruppe am höchsten ausfiel, so nahm der Zelltod insgesamt (Apoptose, Typ1, Typ 2) bei den 10°C/Plazebo-Tieren dennoch ein geringeres Ausmaß an als bei den 20°C-Tieren.

Bemerkenswert ist die fast fehlende Nekrose nach CsA-Behandlung - von einem Tier abgesehen, war die gesamte 10°C/CsA-Gruppe "nekrosefrei." Ähnliche Ergebnisse erzielten auch *Hagl et al.* am Schweinmodell nach 90-minütigem HCA bei 20°C (*Hagl et al.* 2001b). Auch hier konnte ein geringeres Nekrosevorkommen bei den CsA-behandelten Tieren nachgewiesen werden. Aufgrund der geringen Tierzahl/Gruppe (n = 3) erreichte diese Beobachtung allerdings keine statistische Signifikanz.

Die fehlende Wirkung der CsA-Behandlung auf die klassische Apoptose sowie der protektive Effekt gegen neuronale Nekrose standen mit den Studienergebnisse von *Tatton* und *Hagl* im Einklang. Es bestätigte sich der insgesamt neuroprotektive Effekt der 10°C-Kühlungsstrategie, sowohl mit als auch ohne CsA-Behandlung.

Dennoch blieb ungeklärt, weshalb es innerhalb der 10°C/Plazebo-Gruppe eine Umverteilung des Nekrose/Apoptose Verhältnisses zugunsten der Nekrose gab. Zwar ist bekannt, dass bereits im apoptotischen Untergang befindliche Nervenzellen bei zusätzlicher Schädigung in eine Nekrose übergehen können (*Hartley et al.* 1994) (*Jackson-Lewis et al.* 1995, *Tatton und Kish* 1997), doch wiesen die restlichen Ergebnisse eindeutig auf eine bessere Neuroprotektion bei 10°C und keine zusätzliche Schädigung gegenüber der 20°C-Hypothermie hin.

## 6 Schlussfolgerungen

Aufgrund der geringeren Emboliegefahr und der einfachen Durchführbarkeit ist der HCA mit kurzen zerebralen Ischämiezeiten eine sichere Neuroprotektionsstrategie bei komplexen chirurgischen Eingriffen am Aortenbogen. Dennoch bleibt ein Restriktio für postischämische Hirnschäden in Form fokal-embolischer Ereignisse und temporär-neurologischer Dysfunktionen.

Trotz großer Verbreitung des HCA als Neuroprotektionsverfahren gibt es hinsichtlich des Temperaturmanagements bis heute keine einheitliche Lehrmeinung. Uneinigkeit besteht bezüglich der Zieltemperatur. Diese sollte eine adäquate Suppression des zerebralen Metabolismus bewirken, ohne dabei eine Kälteschädigung mit Zelluntergang und Hirnödemen zu verursachen.

An vielen herzchirurgischen Kliniken wird der HCA bei 18 - 20°C durchgeführt. Neuere experimentelle Studien und klinische Messungen zeigen allerdings, dass selbst bei 15°C eine beachtliche metabolische Restaktivität (25 - 30%) besteht. Die Leitlinien der *Deutschen Gesellschaft für Thorax- Herz- und Gefäßchirurgie* geben daher eine tiefere Zieltemperatur von 12 - 14°C vor. Da eine signifikante Kälteschädigung in Form von Membranschäden, Zellödem und kälteinduzierter Apoptose erst bei Temperaturen unter 8°C und eine Kristallisierung zwischen 0 - 4°C stattfinden, schlagen *Griep et al.* eine HCA-Zieltemperatur von bis zu 10°C vor, um weitgehende Neuroprotektion zu gewährleisten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie (SO<sub>2</sub>-SS vor HCA, Laktat, ICP, VEP, Neuroscore) bestätigten den besseren neuroprotektiven Effekt der 10°C-Hypothermie. Eine zellschädigende Wirkung im Sinne eines Kälteschadens bei 10°C wurde nicht beobachtet. Die zusätzliche CsA-Behandlung erbrachte eine bessere neurologische Erholung bei 10°C/CsA im Vergleich zu 10°C/Plazebo. Auf zellulärer Ebene verringerte CsA, wenn auch ohne statistische Signifikanz, den globalen Zelluntergang indem sie die ischämiebedingte Nekrose fast vollständig unterdrückte. Die Apoptose, als Hauptursache des postischämischen Reperfusionsschadens, blieb durch die CsA-Behandlung jedoch unbeeinflusst.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass bei Langzeitischämie ein DHCA bei 10°C am Schweinmodell neuroprotektiv wirkt und trotz tiefer Temperatur und längerer HLM-Zeit kein erhöhtes Risiko darstellt.

Für die klinische Routine ergibt sich daraus, in Verbindung mit den bekannten neurologischen Komplikationen bei gängigem Temperaturmanagement, die Indikation zu einer deutlich aggressiveren Temperaturstrategie (DHCA). Bei Eingriffen am Aortenbogen mit einer zerebralen Ischämiezeit von mehr als 20 Minuten sollte bis auf Temperaturen gekühlt werden, bei denen die Sauerstoffkonzentration in der Vena jugularis > 95% beträgt. Bei längeren Eingriffen erzielt man durch Lagerung des Schädels in Eis eine zusätzliche Protektion.

Bezüglich des pH-Managements ist bei DHCA mit Langzeitschämie der Alpha-stat pH-Strategie - aufgrund der erhaltenen zerebralen Autoregulation und der geringeren Übersättigung mit freien Radikalen während der Reperfusion - der Vorzug zu geben. Während der gesamten OP-Dauer sollte neben den hämodynamischen Parametern auch der ICP als früher Indikator eines auftretenden zerebralen Ödems erfasst werden. Die kontinuierliche Ableitung von EEG und evozierten Potenzialen (VEP) vervollständigt die perioperative Neurodiagnostik und sollten bei längerem DHCA nicht fehlen.

Ein schnell ansteigender Hämatokritwert hat sich während der Reperfusion nach DHCA wegen seiner Eigenschaft als Redox-Puffer und Fänger freier Radikale als neuroprotektiv erwiesen (Duebener et al. 2001). Postoperativ sollte ein hoher Hämatokrit angestrebt werden, da er mit einer guten postoperativen Neurorecovery korreliert.

Da sowohl nekrotische als auch apoptotische Prozesse an der intra- und postischämischen zerebralen Schädigung beteiligt sind, ist eine zusätzliche medikamentöse Neuroprotektion mit selektiven Apoptose- und Entzündungshemmern indiziert. Obwohl sich die CsA-Therapie am tierexperimentellen Modell als neuroprotektiv erwiesen hat, konnte der apoptosehemmende Effekt nicht nachgewiesen werden. Aus Sicht der Verfasser kann demzufolge die klinische Indikation für eine CsA-Monotherapie zur Minderung des Reperfusionsschadens bei DHCA nicht abgeleitet werden. Die Kombination des nekrose- und entzündungshemmenden Cyclosporin A mit anderen Pharmaka, die aktiv in die Apoptosemechanismen eingreifen und somit den Reperfusionsschaden verringern, wäre jedoch sinnvoll und ein interessanter Ansatzpunkt für weitere experimentelle Studien.

## 7 Literaturverzeichnis

- Anderson RV, Siegman MG, Balaban RS, Ceckler TL, Swain JA. 1992. Hyperglycemia increases cerebral intracellular acidosis during circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*, 54 (6):1126-1130.
- Ashkenazi A, Dixit VM. 1998. Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 281 (5381):1305-1308.
- Barnard CN, Schrire V. 1963. The surgical treatment of acquired aneurysm of the thoracic aorta. *Thorax*, 18:101-115.
- Baumgartner WA, Walinsky PL, Salazar JD, Tseng EE, Brock MV, Doty JR, Redmond JM, Blue ME, Goldsborough MA, Troncoso JC, Johnston MV. 1999. Assessing the impact of cerebral injury after cardiac surgery: will determining the mechanism reduce this injury? *Ann Thorac Surg*, 67 (6):1871-1873; discussion 1891-1874.
- Bellinger DC, Jonas RA, Rappaport LA, Wypij D, Wernovsky G, Kuban KC, Barnes PD, Holmes GL, Hickey PR, Strand RD, et al. 1995. Developmental and neurologic status of children after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass. *N Engl J Med*, 332 (9):549-555.
- Böcker W. 2001. Adaption, Zellschädigung, Zelltod. In: Heitz U, Hrsg. *Pathologie*. Zweite Aufl. München, Jena: Urban & Fischer, 56-60.
- Borst HG, Laas J, Heinemann M. 1991. Type A aortic dissection: diagnosis and management of malperfusion phenomena. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 3 (3):238-241.
- Bredesen DE. 1995. Neural apoptosis. *Ann Neurol*, 38 (6):839-851.
- Brindley P, Stembridge VA. 1956. Aneurysms of the aorta; a clinicopathologic study of 369 necropsy cases. *Am J Pathol*, 32 (1):67-82.

- Burrows FA, Hillier SC, McLeod ME, Iron KS, Taylor MJ. 1990. Anterior fontanel pressure and visual evoked potentials in neonates and infants undergoing profound hypothermic circulatory arrest. *Anesthesiology*, 73 (4):632-636.
- Cambria RP, Brewster DC, Gertler J, Moncure AC, Gusberg R, Tilson MD, Darling RC, Hammond G, Mergerman J, Abbott WM. 1988. Vascular complications associated with spontaneous aortic dissection. *J Vasc Surg*, 7 (2):199-209.
- Coles JG, Taylor MJ, Pearce JM, Lowry NJ, Stewart DJ, Trusler GA, Williams WG. 1984. Cerebral monitoring of somatosensory evoked potentials during profoundly hypothermic circulatory arrest. *Circulation*, 70 (3 Pt 2):196-102.
- Cooley DA, Ott DA, Frazier OH, Walker WE. 1981. Surgical treatment of aneurysms of the transverse aortic arch: experience with 25 patients using hypothermic techniques. *Ann Thorac Surg*, 32 (3):260-272.
- Cooper WA, Duarte IG, Thourani VH, Nakamura M, Wang NP, Brown WM, Gott JP, Vinten-Johansen J, Guyton RA. 2000. Hypothermic circulatory arrest causes multisystem vascular endothelial dysfunction and apoptosis. *Ann Thorac Surg*, 69 (3):696-702; discussion 703.
- Coselli J. 1996. Aneurysms of the Transverse Aortic Arch. In: Baue A, Geha A, Hammond G, Laks H, Naunheim K, Editors. *Glenn's Thoracic and Cardiovascular Surgery*. Sixth Edition. Stamford: Appleton & Lange, 2239-2253.
- Coselli JS, LeMaire SA. 1999. Surgical techniques. Thoracoabdominal aorta. *Cardiol Clin*, 17 (4):751-765.
- Crawford ES, Saleh SA. 1981. Transverse aortic arch aneurysm: improved results of treatment employing new modifications of aortic reconstruction and hypothermic cerebral circulatory arrest. *Ann Surg*, 194 (2):180-188.
- Daily PO, Trueblood HW, Stinson EB, Wuerflein RD, Shumway NE. 1970. Management of acute aortic dissections. *Ann Thorac Surg*, 10 (3):237-247.
- Davies L. 1993. Hypothermia: Physiology and clinical use. In: Utley J, Editor. *Cardiopulmonary Bypass Principles and Practice*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 140-154.

- De Bakey ME, Crawford ES, Cooley DA, Morris GC, Jr. 1957. Successful resection of fusiform aneurysm of aortic arch with replacement by homograft. *Surg Gynecol Obstet*, 105 (6):657-664.
- DeLeon SY, Thomas C, Roughneen PT, King N, Lehne R, DeLeon AM, Walenga J, Pifarre R. 1998. Experimental evidence of cerebral injury from profound hypothermia during cardiopulmonary bypass. *Pediatr Cardiol*, 19 (5):398-403.
- Duebener LF, Sakamoto T, Hatsuoka S, Stamm C, Zurakowski D, Vollmar B, Menger MD, Schafers HJ, Jonas RA. 2001. Effects of hematocrit on cerebral microcirculation and tissue oxygenation during deep hypothermic bypass. *Circulation*, 104 (12 Suppl 1):I260-264.
- Edmunds H. 1996. *Cardiopulmonary Bypass for Open Heart Surgery*. Baue A, Geha A, Hammond G, Laks H, Naunheim K, Editors. Glenn's thoracic and cardiovascular surgery. Sixth Edition. Stamford: Appleton & Lange, 1631-1649.
- Ehrlich MP, McCullough JN, Zhang N, Weisz DJ, Juvonen T, Bodian CA, Griep RB. 2002. Effect of hypothermia on cerebral blood flow and metabolism in the pig. *Ann Thorac Surg*, 73 (1):191-197.
- Ehrlich MP, McCullough J, Wolfe D, Zhang N, Shiang H, Weisz D, Bodian C, Griep RB. 2001. Cerebral effects of cold reperfusion after hypothermic circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 121 (5):923-931.
- Ergin MA, Galla JD, Lansman L, Quintana C, Bodian C, Griep RB. 1994. Hypothermic circulatory arrest in operations on the thoracic aorta. Determinants of operative mortality and neurologic outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 107 (3):788-797; discussion 797-789.
- Fann JI, Sarris GE, Mitchell RS, Shumway NE, Stinson EB, Oyer PE, Miller DC. 1990. Treatment of patients with aortic dissection presenting with peripheral vascular complications. *Ann Surg*, 212 (6):705-713.

- Frist WH, Baldwin JC, Starnes VA, Stinson EB, Oyer PE, Miller DC, Jamieson SW, Mitchell RS, Shumway NE. 1986. A reconsideration of cerebral perfusion in aortic arch replacement. *Ann Thorac Surg*, 42 (3):273-281.
- Goss JR, Styren SD, Miller PD, Kochanek PM, Palmer AM, Marion DW, DeKosky ST. 1995. Hypothermia attenuates the normal increase in interleukin 1 beta RNA and nerve growth factor following traumatic brain injury in the rat. *J Neurotrauma*, 12 (2):159-167.
- Greeley WJ, Kern FH, Meliones JN, Ungerleider RM. 1993. Effect of deep hypothermia and circulatory arrest on cerebral blood flow and metabolism. *Ann Thorac Surg*, 56 (6):1464-1466.
- Griep RB, Stinson EB, Hollingsworth JF, Buehler D. 1975. Prosthetic replacement of the aortic arch. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 70 (6):1051-1063.
- Griep RB, Ergin MA, Lansman SL, Galla JD, Pogo G. 1991. The physiology of hypothermic circulatory arrest. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 3 (3):188-193.
- Griep RB, Juvonen T, Griep EB, McCollough JN, Ergin MA. 1997a. Is retrograde cerebral perfusion an effective means of neural support during deep hypothermic circulatory arrest? *Ann Thorac Surg*, 64 (3):913-916.
- Griep RB, Ergin MA, McCullough JN, Nguyen KH, Juvonen T, Chang N, Griep EB. 1997b. Use of hypothermic circulatory arrest for cerebral protection during aortic surgery. *J Card Surg*, 12 (2 Suppl):312-321.
- Guthaner DF, Miller DC, Silverman JF, Stinson EB, Wexler L. 1979. Fate of the false lumen following surgical repair of aortic dissections: an angiographic study. *Radiology*, 133 (1):1-8.
- Guyton AC, Hall JE. 2000. *Textbook of Medical Physiology*. Tenth Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company,
- Hagl C, Tatton NA, Weisz DJ, Zhang N, Spielvogel D, Shiang HH, Bodian CA, Griep RB. 2001a. Cyclosporine A as a potential neuroprotective agent: a study of prolonged hypothermic circulatory arrest in a chronic porcine model. *Eur J Cardiothorac Surg*, 19 (6):756-764.

- Hagl C, Khaladj N, Weisz DJ, Zhang N, Guo LJ, Bodian CA, Spielvogel D, Griep RB. 2002. Impact of high intracranial pressure on neurophysiological recovery and behavior in a chronic porcine model of hypothermic circulatory arrest. *Eur J Cardiothorac Surg*, 22 (4):510-516.
- Hagl C, Tatton NA, Khaladj N, Zhang N, Nandor S, Insolia S, Weisz DJ, Spielvogel D, Griep RB. 2001b. Involvement of apoptosis in neurological injury after hypothermic circulatory arrest: a new target for therapeutic intervention? *Ann Thorac Surg*, 72 (5):1457-1464.
- Harris DN, Bailey SM, Smith PL, Taylor KM, Oatridge A, Bydder GM. 1993. Brain swelling in first hour after coronary artery bypass surgery. *Lancet*, 342 (8871):586-587.
- Hartley A, Stone JM, Heron C, Cooper JM, Schapira AH. 1994. Complex I inhibitors induce dose-dependent apoptosis in PC12 cells: relevance to Parkinson's disease. *J Neurochem*, 63 (5):1987-1990.
- Herczeg L, Gorombey S, Vaszily M. 1996. Morphological damage to the central nervous system (CNS) following open heart surgery. *Forensic Sci Int*, 79 (2):103-111.
- Herold G, Hrsg. 2004. *Innere Medizin*.
- Hilgenberg AD, Logan DL. 2001. Results of aortic arch repair with hypothermic circulatory arrest and retrograde cerebral perfusion. *J Card Surg*, 16 (3):246-251.
- Hirst AE, Jr., Johns VJ, Jr., Kime SW, Jr. 1958. Dissecting aneurysm of the aorta: a review of 505 cases. *Medicine (Baltimore)*, 37 (3):217-279.
- Jackson-Lewis V, Jakowec M, Burke RE, Przedborski S. 1995. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neurodegeneration*, 4 (3):257-269.
- Jonassen AE, Quaegebeur JM, Young WL. 1995. Cerebral blood flow velocity in pediatric patients is reduced after cardiopulmonary bypass with profound hypothermia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 110 (4 Pt 1):934-943.

- Juvonen T, Zhang N, Wolfe D, Weisz DJ, Bodian CA, Shiang HH, McCullough JN, Griep RB. 1998a. Retrograde cerebral perfusion enhances cerebral protection during prolonged hypothermic circulatory arrest: a study in a chronic porcine model. *Ann Thorac Surg*, 66 (1):38-50.
- Juvonen T, Weisz DJ, Wolfe D, Zhang N, Bodian CA, McCullough JN, Mezrow CK, Griep RB. 1998b. Can retrograde perfusion mitigate cerebral injury after particulate embolization? A study in a chronic porcine model. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 115 (5):1142-1159.
- Karibe H, Chen SF, Zarow GJ, Gafni J, Graham SH, Chan PH, Weinstein PR. 1994. Mild intras ischemic hypothermia suppresses consumption of endogenous antioxidants after temporary focal ischemia in rats. *Brain Res*, 649 (1-2):12-18.
- Kazui T, Washiyama N, Muhammad BA, Terada H, Yamashita K, Takinami M. 2001. Improved results of atherosclerotic arch aneurysm operations with a refined technique. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 121 (3):491-499.
- Kin H, Ishibashi K, Nitatori T, Kawazoe K. 1999. Hippocampal neuronal death following deep hypothermic circulatory arrest in dogs: involvement of apoptosis. *Cardiovasc Surg*, 7 (5):558-564.
- Kirino T. 1982. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res*, 239 (1):57-69.
- Kouchoukos NT, Wareing TH, Izumoto H, Klausning W, Abboud N. 1990. Elective hypothermic cardiopulmonary bypass and circulatory arrest for spinal cord protection during operations on the thoracoabdominal aorta. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 99 (4):659-664.
- Kouchoukos NT, Masetti P, Rokkas CK, Murphy SF, Blackstone EH. 2001. Safety and efficacy of hypothermic cardiopulmonary bypass and circulatory arrest for operations on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *Ann Thorac Surg*, 72 (3):699-707; discussion 707-698.
- Kurth CD, Priestley M, Golden J, McCann J, Raghupathi R. 1999. Regional patterns of neuronal death after deep hypothermic circulatory arrest in newborn pigs. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 118 (6):1068-1077.

- Laas J, Heinemann M, Schaefers HJ, Daniel W, Borst HG. 1991. Management of thoracoabdominal malperfusion in aortic dissection. *Circulation*, 84 (5 Suppl):III20-24.
- Lane PL, Skoretz TG, Doig G, Girotti MJ. 2000. Intracranial pressure monitoring and outcomes after traumatic brain injury. *Can J Surg*, 43 (6):442-448.
- Larson EW, Edwards WD. 1984. Risk factors for aortic dissection: a necropsy study of 161 cases. *Am J Cardiol*, 53 (6):849-855.
- Li Y, Chopp M, Jiang N, Zaloga C. 1995a. In situ detection of DNA fragmentation after focal cerebral ischemia in mice. *Brain Res Mol Brain Res*, 28 (1):164-168.
- Li Y, Chopp M, Jiang N, Zhang ZG, Zaloga C. 1995b. Induction of DNA fragmentation after 10 to 120 minutes of focal cerebral ischemia in rats. *Stroke*, 26 (7):1252-1257; discussion 1257-1258.
- Lipton P. 1999. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev*, 79 (4):1431-1568.
- Lison AE, Hrsg. 2000. Cyclosporin: Standard in der Basis-Immunsuppression. Novartis Sonderdruck. Nürnberg: Novartis Pharma Verlag
- Mackey ME, Wu Y, Hu R, DeMaro JA, Jacquin MF, Kanellopoulos GK, Hsu CY, Kouchoukos NT. 1997. Cell death suggestive of apoptosis after spinal cord ischemia in rabbits. *Stroke*, 28 (10):2012-2017.
- Maier CM, Ahern K, Cheng ML, Lee JE, Yenari MA, Steinberg GK. 1998. Optimal depth and duration of mild hypothermia in a focal model of transient cerebral ischemia: effects on neurologic outcome, infarct size, apoptosis, and inflammation. *Stroke*, 29 (10):2171-2180.
- Masuda Y, Yamada Z, Morooka N, Watanabe S, Inagaki Y. 1991. Prognosis of patients with medically treated aortic dissections. *Circulation*, 84 (5 Suppl):III7-13.
- Masuhr KF, Neumann M. 1998. Neurophysiologische Verfahren. In: Neumann M, Hrsg. *Neurologie*. Vierte Aufl. Stuttgart: Hippokrates Verlag, 131-133.

- Mehmet H, Yue X, Penrice J, Cady E, Wyatt JC, Sarraf C, Squier M, Edwards AD. 1998. Relation of impaired energy metabolism to apoptosis and necrosis following transient cerebral hypoxia-ischaemia. *Cell Death Differ*, 5 (4):321-329.
- Mezrow CK, Sadeghi AM, Gandsas A, Dapunt OE, Shiang HH, Zappulla RA, Griep RB. 1994. Cerebral effects of low-flow cardiopulmonary bypass and hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*, 57 (3):532-539; discussion 539.
- Mezrow CK, Sadeghi AM, Gandsas A, Shiang HH, Levy D, Green R, Holzman IR, Griep RB. 1992. Cerebral blood flow and metabolism in hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*, 54 (4):609-615; discussion 615-606.
- Midulla PS, Gandsas A, Sadeghi AM, Mezrow CK, Yerlioglu ME, Wang W, Wolfe D, Ergin MA, Griep RB. 1994. Comparison of retrograde cerebral perfusion to antegrade cerebral perfusion and hypothermic circulatory arrest in a chronic porcine model. *J Card Surg*, 9 (5):560-574; discussion 575.
- Miller DC, Stinson EB, Oyer PE, Rossiter SJ, Reitz BA, Griep RB, Shumway NE. 1979. Operative treatment of aortic dissections. Experience with 125 patients over a sixteen-year period. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 78 (3):365-382.
- Moro H, Okazaki H, Ozeki H, Ueno M, Hanzawa K, Hayashi J, Miyamura H, Eguchi S. 1994. The study on cerebral hemodynamics during selective cerebral perfusion. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*, 42 (2):206-211.
- Newburger JW, Jonas RA, Wernovsky G, Wypij D, Hickey PR, Kuban KC, Farrell DM, Holmes GL, Helmers SL, Constantinou J, et al. 1993. A comparison of the perioperative neurologic effects of hypothermic circulatory arrest versus low-flow cardiopulmonary bypass in infant heart surgery. *N Engl J Med*, 329 (15):1057-1064.
- Oates RK, Simpson JM, Turnbull JA, Cartmill TB. 1995. The relationship between intelligence and duration of circulatory arrest with deep hypothermia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 110 (3):786-792.

- Reich DL, Uysal S, Ergin MA, Bodian CA, Hossain S, Griep RB. 2001. Retrograde cerebral perfusion during thoracic aortic surgery and late neuropsychological dysfunction. *Eur J Cardiothorac Surg*, 19 (5):594-600.
- Reich DL, Uysal S, Sliwinski M, Ergin MA, Kahn RA, Konstadt SN, McCullough J, Hibbard MR, Gordon WA, Griep RB. 1999. Neuropsychologic outcome after deep hypothermic circulatory arrest in adults. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 117 (1):156-163.
- Rossi S, Buzzi F, Paparella A, Mainini P, Stocchetti N. 1998. Complications and safety associated with ICP monitoring: a study of 542 patients. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*, 71:91-93.
- Sakurada T, Kazui T, Tanaka H, Komatsu S. 1996. Comparative experimental study of cerebral protection during aortic arch reconstruction. *Ann Thorac Surg*, 61 (5):1348-1354.
- Schepens MA, Dossche KM, Morshuis WJ, van den Barselaar PJ, Heijmen RH, Vermeulen FE. 2002. The elephant trunk technique: operative results in 100 consecutive patients. *Eur J Cardiothorac Surg*, 21 (2):276-281.
- Schneeweis S, Grond M, Staub F, Brinker G, Neveling M, Dohmen C, Graf R, Heiss WD. 2001. Predictive value of neurochemical monitoring in large middle cerebral artery infarction. *Stroke*, 32 (8):1863-1867.
- Schulte am Esch J, Kochs E, Bause H. 2000. *Anästhesiologie und Intensivmedizin*. Erste Aufl. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Schwartz AE, Sandhu AA, Kaplon RJ, Young WL, Jonassen AE, Adams DC, Edwards NM, Sistino JJ, Kwiatkowski P, Michler RE. 1995. Cerebral blood flow is determined by arterial pressure and not cardiopulmonary bypass flow rate. *Ann Thorac Surg*, 60 (1):165-169; discussion 169-170.
- Sealy WC, Brown IW, Jr., Young WG, Jr. 1958. A report on the use of both extracorporeal circulation and hypothermia for open heart surgery. *Ann Surg*, 147 (5):603-613.
- Sekaran P, Ehrlich MP, Hagl C, Leavitt ML, Jacobs R, McCullough JN, Bennett-Guerrero E, Ehrlich M. 2001. A comparison of complete blood replace-

ment with varying hematocrit levels on neurological recovery in a porcine model of profound hypothermic (<5 degrees C) circulatory arrest. *Anesth Analg*, 92 (2):329-334.

- Shiga Y, Onodera H, Matsuo Y, Kogure K. 1992. Cyclosporin A protects against ischemia-reperfusion injury in the brain. *Brain Res*, 595 (1):145-148.
- Shin'oka T, Shum-Tim D, Jonas RA, Lidov HG, Laussen PC, Miura T, du Plessis A. 1996. Higher hematocrit improves cerebral outcome after deep hypothermic circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 112 (6):1610-1620; discussion 1620-1611.
- Shin'oka T, Shum-Tim D, Laussen PC, Zinkovsky SM, Lidov HG, du Plessis A, Jonas RA. 1998. Effects of oncotic pressure and hematocrit on outcome after hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*, 65 (1):155-164.
- Siegenthaler W. 2001. *Nervensystem*. Achte Aufl. Stuttgart, New York: Thieme Verlag.
- Skaryak LA, Kirshbom PM, DiBernardo LR, Kern FH, Greeley WJ, Ungerleider RM, Gaynor JW. 1995. Modified ultrafiltration improves cerebral metabolic recovery after circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 109 (4):744-751; discussion 751-742.
- Smith JH, O'Kelly SW. 1993. Brain swelling after coronary artery surgery. *Lancet*, 342 (8883):1370-1371.
- Spielvogel D, Mathur MN, Griep RB. 2003. Aneurysm of the Aortic Arch. In: Cohn LH, Edmunds LH Jr, Editors. *Cardiac Surgery in the Adult*. New York: McGraw-Hill
- Stecker MM, Escherich A, Patterson T, Bavaria JE, Cheung AT. 2002. Effects of acute hypoxemia/ischemia on EEG and evoked responses at normothermia and hypothermia in humans. *Med Sci Monit*, 8 (4):CR223-228.
- Stecker MM, Cheung AT, Pochettino A, Kent GP, Patterson T, Weiss SJ, Bavaria JE. 2001a. Deep hypothermic circulatory arrest: II. Changes in electroencephalogram and evoked potentials during rewarming. *Ann Thorac Surg*, 71 (1):22-28.

- Stecker MM, Cheung AT, Pochettino A, Kent GP, Patterson T, Weiss SJ, Bavaria JE. 2001b. Deep hypothermic circulatory arrest: I. Effects of cooling on electroencephalogram and evoked potentials. *Ann Thorac Surg*, 71 (1):14-21.
- Stecker MM, Cheung AT, Patterson T, Savino JS, Weiss SJ, Richards RM, Bavaria JE, Gardner TJ. 1996. Detection of stroke during cardiac operations with somatosensory evoked responses. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 112 (4):962-972.
- Strauch JT, Spielvogel D, Haldenwang PL, Zhang N, Weisz D, Bodian CA, Griep RB. 2003a. Impact of hypothermic selective cerebral perfusion compared with hypothermic cardiopulmonary bypass on cerebral hemodynamics and metabolism. *Eur J Cardiothorac Surg*, 24 (5):807-816.
- Strauch JT, Spielvogel D, Lauten A, Galla JD, Lansman SL, McMurtry K, Griep RB. 2004. Technical advances in total aortic arch replacement. *Ann Thorac Surg*, 77 (2):581-589; discussion 589-590.
- Strauch JT, Spielvogel D, Haldenwang PL, Lauten A, Zhang N, Weisz D, Bodian CA, Griep RB. 2003b. Cerebral physiology and outcome after hypothermic circulatory arrest followed by selective cerebral perfusion. *Ann Thorac Surg*, 76 (6):1972-1981.
- Svensson LG, Crawford ES, Hess KR, Coselli JS, Raskin S, Shenaq SA, Safi HJ. 1993. Deep hypothermia with circulatory arrest. Determinants of stroke and early mortality in 656 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 106 (1):19-28; discussion 28-31.
- Svensson LG, Nadolny EM, Penney DL, Jacobson J, Kimmel WA, Entrup MH, D'Agostino RS. 2001. Prospective randomized neurocognitive and S-100 study of hypothermic circulatory arrest, retrograde brain perfusion, and antegrade brain perfusion for aortic arch operations. *Ann Thorac Surg*, 71 (6):1905-1912.
- Tarlov IM. 1972. Acute spinal cord compression paralysis. *J Neurosurg*, 36 (1):10-20.

- Tatton NA, Kish SJ. 1997. In situ detection of apoptotic nuclei in the substantia nigra compacta of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice using terminal deoxynucleotidyl transferase labelling and acridine orange staining. *Neuroscience*, 77 (4):1037-1048.
- Tatton NA, Hagl C, Nandor S, Insolia S, Spielvogel D, Griep RB. 2001. Apoptotic cell death in the hippocampus due to prolonged hypothermic circulatory arrest: comparison of cyclosporine A and cycloheximide on neuron survival. *Eur J Cardiothorac Surg*, 19 (6):746-755.
- Taylor KM. 1998. Central nervous system effects of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg*, 66 (5 Suppl):S20-24; discussion S25-28.
- Tseng EE, Brock MV, Lange MS, Blue ME, Troncoso JC, Kwon CC, Lowenstein CJ, Johnston MV, Baumgartner WA. 1997. Neuronal nitric oxide synthase inhibition reduces neuronal apoptosis after hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg*, 64 (6):1639-1647.
- Uchino H, Elmer E, Uchino K, Lindvall O, Siesjo BK. 1995. Cyclosporin A dramatically ameliorates CA1 hippocampal damage following transient forebrain ischaemia in the rat. *Acta Physiol Scand*, 155 (4):469-471.
- Uchino H, Elmer E, Uchino K, Li PA, He QP, Smith ML, Siesjo BK. 1998. Amelioration by cyclosporin A of brain damage in transient forebrain ischemia in the rat. *Brain Res*, 812 (1-2):216-226.
- Ueda Y, Miki S, Kusuhara K, Okita Y, Tahata T, Yamanaka K. 1990. Surgical treatment of aneurysm or dissection involving the ascending aorta and aortic arch, utilizing circulatory arrest and retrograde cerebral perfusion. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, 31 (5):553-558.
- Witoszka MM, Tamura H, Indeglia R, Hopkins RW, Simeone FA. 1973. Electroencephalographic changes and cerebral complications in open-heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 66 (6):855-864.
- Ye J, Yang L, Del Bigio MR, Filgueiras CL, Ede M, Summers R, Salerno TA, Deslauriers R. 1996. Neuronal damage after hypothermic circulatory arrest

and retrograde cerebral perfusion in the pig. *Ann Thorac Surg*, 61 (5):1316-1322.

- Yerlioglu ME, Wolfe D, Mezrow CK, Weisz DJ, Midulla PS, Zhang N, Shiang HH, Bodian C, Griep RB. 1995. The effect of retrograde cerebral perfusion after particulate embolization to the brain. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 110 (5):1470-1484; discussion 1484-1475.
- Yoshimoto T, Siesjo BK. 1999. Posttreatment with the immunosuppressant cyclosporin A in transient focal ischemia. *Brain Res*, 839 (2):283-291.
- Yoshimoto T, Uchino H, He QP, Li PA, Siesjo BK. 2001. Cyclosporin A, but not FK506, prevents the downregulation of phosphorylated Akt after transient focal ischemia in the rat. *Brain Res*, 899 (1-2):148-158.

## **Lebenslauf**

### Persönliche Daten

Name: Peter-Lukas Haldenwang  
Geburtsdatum: 03.05.1977  
Geburtsort: Sibiu / Rumänien

### Schulbildung und Hochschulausbildung

1983-1987 Deutschsprachige Grundschule in Sibiu / Rumänien  
1987-1995 Brukenthal-Gymnasium Sibiu / Rumänien,  
Abschluss allgemeine Hochschulreife  
1995-1996 Zivildienst  
1996-1999 Medizinstudium an der Iuliu-Hatieganu Universität  
Cluj-Napoca / Rumänien (Vorklinische Ausbildung)  
1999-2004 Medizinstudium an der Friedrich-Schiller-Universität  
Jena (Klinische Ausbildung)  
09/2000 I. Staatsexamen  
09/2003 II. Staatsexamen  
10/2004 III. Staatsexamen

### Forschungsjahr im Rahmen der Promotion

2001-2002 Department of Cardiothoracic Surgery  
des Mount Sinai Hospital in New York, NY, USA  
Chairman: Prof. Dr. Randall B. Griepp

### Berufliche Tätigkeit

seit 12/2004 Assistenzarzt in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäß-  
chirurgie der FSU, Jena  
Direktor: Prof. Dr. Thorsten Wahlers

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist, ich diese Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind.

Folgende Personen haben mich bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt: Prof. Dr. Thorsten Wahlers, Prof. Dr. Randall B. Griepp, Prof. Dr. Robert S. Litwak, Dr. Justus Strauch, DrPh Carol Bodian.

Die Hilfe eines Promotionsberaters wurde nicht in Anspruch genommen. Dritte haben weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Dissertation wurde noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht. Ich habe weder diese Arbeit, noch eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht.

Jena, 29. 03. 2005

Peter-Lukas Haldenwang

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich denjenigen danken, ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Mein Dank gilt vor allem meinem Betreuer und Mentor, Herrn Dr. Justus Strauch, der mein Interesse am Fach Chirurgie, an der Forschung und der wissenschaftlichen Arbeit geweckt hat. Er hat mir die ersten chirurgische Handgriffe beigebracht, mich gelehrt die eigenen Grenzen zu erkennen und mich motiviert diese zu überwinden.

Des weiteren danke ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Thorsten Wahlers, Direktor der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie in Jena für die Annahme als Doktorand in seiner Klinik und das Forschungsjahr am *Mount Sinai Medical Center*.

Ohne die großzügige Unterstützung und den wertvollen wissenschaftlichen Beirat von Prof. Dr. Randall B. Griepp, Chairman des *Department of Cardiothoracic Surgery* des *Mount Sinai Medical Center* wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Sein komplexes Wissen und Denken sowie seine langjährige Erfahrung auf dem Gebiet der Herzchirurgie haben es ermöglicht theoretische Erkenntnisse in praktische Erfahrungen umzusetzen.

Für die vielen Anregungen und die hilfreichen Literaturhinweise möchte ich Herrn Prof. Robert S. Litwak danken.

Für die histologische Aufarbeitung und histopathologische Auswertung danke ich Frau PhD Nadine Tatton, die trotz ihres vollen Terminplanes für die vorliegende Studie die nötige Zeit aufgebracht hat.

Ebenfalls von großer Hilfe war die Zusammenarbeit mit Herrn PhD Donald Weisz, auf dessen neurophysiologischen Beirat ich mich stets verlassen konnte.

Frau DrPh Carol Bodian aus dem *Department for Biomathematics* gebührt mein Dank für die zuvorkommende und schnelle Bearbeitung von Fragen zur statistischen Aufarbeitung der Daten.

Nicht zuletzt möchte ich der gesamten Arbeitsgruppe des *Animal Research Lab* des *Mount Sinai Medical Center*, insbesondere Dr. Howard Chang, Dr. Ning Zhang, Russel Jenkins und Richard Henry danken, die mich in ihr Team integriert haben und mir mit „Rat und Tat“ zur Seite standen.