

Aus der Neurochirurgischen Klinik und Poliklinik

der Universität Würzburg

Direktor : Prof. Dr. K. Roosen

Auswirkungen einer moderaten Hypothermie auf :

- **das neurologische Outcome**
- **das histologische und kernspintomographische Schädigungsausmaß**

nach Induktion einer epiduralen fokalen Raumforderung im Tiermodell

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Bayerischen Julius – Maximilians – Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Mark Züchner

aus Leipzig

Würzburg, November 2003

Referent: Prof. Dr. K. Roosen
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. W. Müllges
Dekan: Prof. Dr. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 05. 2004

Der Promovend ist Arzt.

Meiner lieben Frau
und meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.	Einführung und Problemstellung	
1.1.	Historischer Überblick und klinische Anwendungen von Hypothermie in der Medizin	1
1.2.	Zerebrale Wirkmechanismen der Hypothermie	3
1.3.	Die Pathophysiologie des epiduralen Hämatoms	4
1.4.	Fragestellung und Zielsetzung der eigenen Untersuchung	6
2.	Material und Methoden	
2.1.	Untersuchungsmaterial	8
2.1.1.	Versuchsgenehmigung und Versuchstiere	8
2.1.2.	Geräte	9
2.1.2.1.	Chirurgische Präparation	9
2.1.2.2.	Trepanationsanordnung	11
2.1.2.3.	Metallthermoelement	11
2.1.2.4.	Elektroenzephalographie	11
2.2.	Methoden	
2.2.1.	Traumainduktion und Onlinemonitoring	13
2.2.2.	Neuropsychologische Testbatterie zur Testung des Outcomes in der Langzeitbeobachtung	15
2.2.2.1.	Posturaler Reflex	15
2.2.2.2.	Beam Balance	16
2.2.2.3.	Beam Walking	17
2.2.2.4.	Open Field Activity	19

2.2.2.5.	Morris Water Maze	20
2.2.3	Kernspintomographische Aufnahmen in der Langzeitbeobachtung	21
2.2.4	Histologie	23
2.2.4.1.	Perfusionsfixation und Hirnentnahme	23
2.2.4.2.	Histologische Untersuchungen	23
2.2.4.2.1.	Einbettung und Schnittfertigung	24
2.2.4.2.2.	Färbeprotokoll	24
2.2.4.2.3.	Morphometrische Erfassung des ischämischen Hirnareals	25
2.2.4.2.4.	Quantitative Erfassung des geschädigten Hirnareals	26
2.2.5.	Statistische Analyse der Versuchsergebnisse	28
3.	Ergebnisse	
3.1.	Ergebnisse des Onlinemonitoring	29
3.1.1.	Der Verlauf des mittleren arteriellen Blutdrucks	30
3.1.2.	Die Auswertung der Blutgasparameter	31
3.1.3.	Die Auswertung der zerebralen und rektalen Temperatur	33
3.1.4.	Die Auswertung des Elektroenzephalogramms	34
3.1.5.	Der Gewichtsverlauf der Tiere in der Langzeitbeobachtung	35
3.2.	Auswertung der neuropsychologischen Testverfahren	36
3.2.1.	Posturaler Reflex	36
3.2.2.	Beam Balance	37
3.2.3.	Beam Walking	38
3.2.4.	Open Field Activity	39
3.2.5.	Morris Water Maze	41
3.3.	Auswertung der in „Vivo“ kernspintomographischen Aufnahmen	44
3.4.	Studienausschluss, Mortalität und Komplikationen	46

3.4.1.	Studienausschluss	46
3.4.2.	Mortalität und Komplikationen	47
3.5.	Ergebnisse der histologischen Untersuchungen	50
3.6.	Posttraumatischer Hydrozephalus	55
4.	Diskussion	
4.1.	Das Tiermodell	57
4.2.	Die Narkose	59
4.3.	Methode zur Hypothermieinduktion	61
4.4.	Die Erfassung der zerebralen und rektalen Temperatur	63
4.5.	Das MRT in der Langzeitbeobachtung	64
4.6.	Histologische Methoden	65
4.7.	Die neuropsychologische Testbatterie	66
4.8.	Das Onlinemonitoring	67
4.9.	Das neurologische Outcome nach Langzeitbeobachtung	69
4.9.1.	Der Gewichtsverlauf	74
5.	Zusammenfassung und Ausblick	75
6.	Literaturverzeichnis	78
	Danksagung	
	Lebenslauf	

1. Einführung und Problemstellung

1.1 Historischer Überblick und klinische Anwendung von Hypothermie

Die protektiven Effekte einer Hypothermie auf gestörte zerebrale Funktionsabläufe, ausgelöst durch ischämische oder traumatische Ereignisse, sind bereits seit vielen Jahren bekannt. Jedoch wurde über erste medizinische Anwendungen der Hypothermie bereits im 16. Jahrhundert außerhalb neurologischer und neurochirurgischer Krankheitsbilder im Rahmen einer regionalen Kälteanästhesie durch Severino berichtet. So konnte Larrey der Feldarzt Napoleons im Februar 1807 schmerzlose Gliedmaßenamputationen bei Außentemperaturen von -19°C durchführen. Des Weiteren wurde in der Folgezeit über Fälle vollständiger Erholung von Patienten nach Unterkühlung mit Rektaltemperaturen von $24 - 26^{\circ}\text{C}$ berichtet und damit das Interesse an der Hypothermieforschung, im Speziellen der tierexperimentellen Forschung, geweckt. Velten der 1880 Experimente an Tieren im Winterschlaf durchführte, konnte einen deutlich verminderten Sauerstoffverbrauch unter generalisierter Hypothermie beobachten (Friebs G, 1969). Die erste geplante klinische Anwendung wurde durch Fay vorgenommen, der unter systemischer Hypothermie von $31 - 32^{\circ}\text{C}$ eine Verlangsamung des Tumorwachstum eines Mammakarzinoms beobachten konnte (Fay T, 1940). In der Folge wurde daher die Hypothermie auch in der Behandlung anderer Malignome eingesetzt. In den frühen 50er Jahren konnte Bigelow experimentell nachweisen, dass ein Herz – Kreislaufstillstand unter Hypothermie deutlich länger toleriert wird, als dies unter normothermen Bedingungen möglich ist (Bigelow et al., 1950). Diese Versuche zogen ein vermehrtes Interesse in Bezug auf klinische Anwendungsmöglichkeiten zur zerebralen Ischämieprotektion nach sich. Bis 1955 wurden daher bereits 100 kardiochirurgische Eingriffe unter tiefer Hypothermie (Temp. $17 - 20^{\circ}\text{C}$) durchgeführt (Mohri und Merendino, 1969). Technische Innovationen führten zu einer Verbesserung der Herz – Lungenmaschinen und damit zu einer suffizienteren Oxygenierung des Gehirns, so dass die Anwendung von einer tiefen Hypothermie bei gleichzeitigem Zirkulationsstillstand in der Erwachsenenkardiochirurgie seltener wurde (Crawford und Saleh, 1981). In der pädiatrischen Kardiochirurgie wurden jedoch immer wieder Umstände angetroffen, die eine routinemäßige Anwendung eines Herz – Kreislaufstillstandes unter tiefer Hypothermie notwendig machten. Darunter konnten zerebrale Ischämiezeiten bis zu 60 min toleriert werden (Rittenhouse et al., 1974). Nachdem die beschriebene Anwendung der Hypothermie in der Kardiochirurgie zu generell zufriedenstellenden Ergebnissen führte (Brunberg et al., 1973; Wright et al., 1979) konnten die Hoffnungen, die in diese Therapieform auf dem Gebiet der Neurochirurgie gesetzt wurde, zunächst nicht erfüllt werden. Erste neurochirurgische Anwendungen erfolgten bei Schädel – Hirn – Traumen (Sedzimir, 1959;

Lazorthes et al., 1964). Auch intraoperativ, während dem Ausschalten von zerebralen Aneurysmen, wurde versucht durch tiefe Hypothermie, teilweise mit Temperaturen bis zu 10 - 15°C unter Zirkulationsstillstand, die Ischämietoleranz und das postoperative Outcome zu verbessern (Botterell et al., 1956; Drake et al., 1964; Uihlein et al., 1966). Diese Technik musste allerdings wieder verlassen werden, nachdem es postoperativ zu einer deutlich erhöhten Mortalitätsrate, vor allem aufgrund einer verstärkten Blutungsneigung während der Phase der Wiedererwärmung, gekommen war (Drake et al., 1964; Uihlein et al., 1966). Zusätzlich konnten bei längerer Anwendung von tiefer Hypothermie Nebenwirkungen auf das Myokard (Gunton RW et al., 1956; Sedzimir, 1959) und das Knochenmark, verbunden mit einer erhöhten Infektionsgefahr (Biggar et al., 1983) beobachtet werden.

Das Interesse am Einsatz einer Hypothermie im Gebiet der Neurologie und Neurochirurgie wurde Ende der 80 er und Anfang der 90 er Jahre erneut entfacht, nachdem bekannt wurde, dass auch unter moderater bzw. milder Hypothermie mit Temperaturen zwischen 30 - 35°C eine zerebrale Ischämieprotektion möglich ist (Busto et al., 1987; Clifton et al., 1991). Große Hoffnungen wurden darin gesetzt, dass die geringere Abkühlung nicht die gleichen massiven Nebenwirkungen provoziert, die zu einem Verlassen der Methode geführt hatten. In der klinischen Anwendung und Erforschung von milder bzw. moderater Hypothermie bei Patienten mit Schädel – Hirn – Trauma taten sich vor allem Marion et al. (1993 , 1997) , Shiozaki et al. (1993, 1998, 2001) und nicht zuletzt Clifton et al. (1992, 1993, 1995, 2001¹) hervor. Nachdem zunächst alle Ergebnisse auf eine Besserung der Mortalität und des neurologischen Outcomes hindeuteten, konnte Shiozaki in einer japanischen Studie und Clifton in der bisher größten, in Nordamerika durchgeführten Multicenterstudie keinen, bzw. im Falle von Clifton nur bei Patienten unter 45 Jahren, die zum Zeitpunkt der Aufnahme bereits hypotherm waren, einen positiven Effekt einer hypothermen Behandlung nachweisen (Shiozaki et al., 2001; Clifton et al., 2001¹). Wiederum neuere Untersuchungen an Patienten mit zerebraler Ischämie nach Herz- und Kreislaufstillstand, erfolgreicher kardio-pulmonaler Reanimation und daraufhin induzierter moderater Hypothermie zeigten eine signifikante Verbesserung des neurologischen Outcomes (Holzer et al., 2002; Bernard et al., 2002). Die klinische Datenlage über die Anwendung milder bzw. moderater Hypothermie zur zerebralen Ischämieprotektion erscheint damit insgesamt noch widersprüchlich und bedarf sicherlich weiterer intensiver klinischer Forschung. Auf die einzelnen Ergebnisse der Studien wird in dieser Arbeit im Rahmen der Diskussion noch näher eingegangen.

Tierexperimentell wurde die Wirksamkeit der Hypothermie bisher hauptsächlich bei Ratten in Ischämie modellen (global bzw. fokal) untersucht und in der Regel ein signifikant geringerer Nervenzellverlust, sowie eine deutliche Reduktion des Infarkt volumens gefunden (Goto et al., 1993; Hoffman und Thomas, 1996; Yanamoto et al., 2001). In geringerem Ausmaß erfolgte die Untersuchung auch an Traumamodellen. Dabei kamen hauptsächlich das „fluid

percussion“ Modell (Clifton et al., 1991; Bramlett et al., 1997) und das „cortical impact“ Modell (Dixon et al., 1998; Markgraf et al., 2001) zum Einsatz. In diesen Untersuchungen konnte simultan zu den Ischämie-Modellen in der Regel eine Verringerung des Schädigungsausmaßes bzw. eine Verbesserung des neurologischen Outcomes gefunden werden. Zusammengefasst liegen damit eine Vielzahl von Daten vor, die auf einen neuroprotektiven Effekt einer milden und moderaten Hypothermie hindeuten. Bezüglich des in dieser Arbeit angewandten epiduralen Ballonkompressionsmodells überprüfte bisher lediglich eine Arbeitsgruppe die Wirksamkeit der Hypothermie nach epiduraler Ballonexpansion am Kaninchen. Hierbei wurde der Einfluss auf den intrakraniellen Druckverlauf untersucht (Pomeranz et al., 1993; Ebmeyer et al., 1998). Im Rahmen unserer Arbeit wurde erstmals der Einfluss einer Hypothermie auf das histologische und kernspintomographische Schädigungsausmaß und auf die Langzeitprognose nach epiduraler Ballonexpansion untersucht.

1.2. Zerebrale Wirkmechanismen einer Hypothermie

Die neuroprotektive Wirkung einer Hypothermie wurde, wie bereits angeführt, vielfach experimentell sowie klinisch untersucht. Die Ergebnisse deuten dabei auf das Zusammenspiel verschiedenster Mechanismen hin. Nach Hitchcock lässt sich klinisch eine Einteilung der Hypothermie in folgende Temperaturgrade vornehmen

- 36,5°C - 34°C milde Hypothermie
- 33,5°C - 28°C moderate Hypothermie
- 27,5°C - 17°C tiefe Hypothermie
- 16,5°C - 4°C profunde Hypothermie

Es wird bereits seit längerem angenommen, dass die Hypothermie in allen genannten Ausprägungen den zerebralen Metabolismus senkt. Bering konnte bereits 1956 zeigen, dass unter Hypothermie die zerebrale arteriovenöse Sauerstoffdifferenz abnimmt und damit eine verminderte Sauerstoffausschöpfung vorliegen muss (Bering et al., 1956). In den Experimenten von Chopp ließ sich unter milder und moderater Hypothermie nach zerebraler Ischämie, die intrazelluläre Azidose im Vergleich zu normothermen Bedingungen verringern und eine signifikant schnellere Rückkehr von energiereichen Phosphaten in die Zelle erreichen (Chopp et al., 1989). Auf zellulärer Ebene scheint offenbar die Abnahme der Temperatur des Hirngewebes noch zu einer Reihe weiterer zytoprotektiver Stoffwechselveränderungen zu führen. So wird davon ausgegangen, dass Hypothermie die posttraumatische, intrazerebrale entzündliche Reaktion über eine verminderte Ausschüttung von Myeloperoxidase und damit verbundener Akkumulation neutrophiler Granulozyten positiv beeinflusst (Toyoda et al., 1996). Goss konnte zudem eine Verminderung des post-

traumatischen Anstiegs von Interleukin 1 β finden (Goss et al., 1995). Als ebenfalls zellprotektiv sollte sich auswirken, dass die freien Radikalfänger Superoxiddismutase und Glutathionperoxidase unter Hypothermie in höherer Konzentration als unter Normothermie nachweisbar sind (Baker et al., 1992). Des weiteren verringert Hypothermie offenbar die posttraumatische bzw. postischämische Ausschüttung von exzitatorischen Aminosäuretransmittern (Globus et al., 1995; Baker et al., 1995; Berger et al., 2002). Im Falle einer zerebralen Hypoxie bzw. Ischämie werden exzessive Mengen solcher exzitatorischer Transmitter freigesetzt, in deren Folge es akut durch Kalzium –, sowie Natrium –, und folglich Wassereinstrom zu einer Schwellung bis hin zur Lyse der Zelle bzw. des Neurons kommt (Choi und Rothman, 1990). Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass es unter hypothermen Bedingungen zu einer Stabilisierung der Blut – Hirschanke kommt und damit ebenfalls zu einer Verminderung des vasogenen Hirnödems beiträgt (Dietrich et al., 1990 ; Jiang et al., 1992 ; Smith und Hall, 1996). Ebenso konnte nachgewiesen werden, dass in der postischämischen Phase die Expression typischer sogenannter Stressproteine („heat-shock“) vermindert ist (Nakamura et al., 1995). Auch beim diffus axonalen Trauma konnte tierexperimentell unter Hypothermie eine Protektion der Axone erreicht werden (Koizumi et al., 1998). Auch der Einfluss auf den intrakraniellen Druck (ICP) und den zerebralen Blutfluss wurde bereits vielfach untersucht. Die Ergebnisse (experimentell und klinisch) zeigten weitestgehend übereinstimmend, dass unter hypothermen Bedingungen eine signifikante Reduktion der ICP-Werte möglich ist (Metz et al., 1996; Burger et al., 1998²; Ebmayer et al., 1998). Insbesondere bei Ischämie modellen kann eine Hypothermie zu einer Verringerung der postischämischen Hyperperfusion, der verzögerten postischämischen Hypoperfusion und damit verbunden einer geringeren Ausbildung des zytotoxischen und vasogenen Hirnödems (Karibe et al., 1994) führen. Interessanterweise wurden auch positive Effekte von Hypothermie auf das neurologische Outcome nachgewiesen, ohne dass dafür morphopathologische Korrelate gefunden werden konnten (Dixon et al., 1998). Daher wird auch über sogenannte „subletale“ Schäden im neuronalen Zytoskelett des Hippocampus spekuliert, welche durch Hypothermie reduziert werden können (Taft et al., 1993).

Trotz der Vielzahl an genannten und mögliche Mechanismen ist das Verständnis und das Wissen über die zerebrale Protektion durch Hypothermie, sicherlich nur als unvollständig zu bezeichnen und bedarf weiterer intensiver Anstrengungen zum besseren Verständnis.

1.3. Die Pathophysiologie des epiduralen Hämatoms

Das in dieser Arbeit angewandte Ballonkompressionsmodell zur Induktion einer epiduralen extraaxialen Raumforderung kann im klinischen Alltag am ehesten mit einem, im Rahmen

eines Schädel – Hirn – Traumas erworbenen, epiduralen Hämatoms und dessen pathophysiologischen Konsequenzen, verglichen werden.

Das epidurale Hämatom wird mit einer Inzidenz. von 1-6% (Steiger et al., 1999; Greenberg et al., 2001) aller Schädel – Hirn – Traumen angetroffen. Als Blutungsursache werden dabei in 60 – 70% der Fälle Einrisse in der Arteria meningea media gefunden. Die restlichen Fälle lassen sich auf Blutungen aus anderen duralen Gefäßen inklusive der Duralsinus und Blutungen aus Frakturspalten zurückführen. Intraoperativ werden in ca. 80 – 90% der Fälle begleitende Schädelfrakturen gefunden. Häufigste Lokalisation ist temporal, sie können aber auch frontal, in der hinteren Schädelgrube und am Vertex auftreten. Aber auch bilaterale Hämatome können in ca. 5% der Fälle diagnostiziert werden. Die Gesamtmortalitätsrate wird mit etwa 15% angegeben (Steiger et al., 1999). Dabei steht die Mortalität und das Outcome in direkter Korrelation zur Bewusstseinslage des Patienten zu Beginn der operativen Hämatomentleerung. Bei komatösen Patienten kann die Mortalität durchaus bis über 40 % ansteigen. Damit geniest in der Therapie des epiduralen Hämatoms natürlich die prompte Diagnostik (CT) und die operative Intervention absolute Priorität. Klinisch existiert kein typisches Bild. Das häufig angeführte freie Intervall nach initialer Bewusstlosigkeit und sekundärer Verschlechterung wird nur in weniger als 1/3 der Fälle angetroffen (Steiger et al., 1999). Prinzipiell sollte bei allen Schädel – Hirn – Traumen mit Bewusstlosigkeit an das Vorliegen eines epiduralen Hämatoms gedacht werden. Im CT erscheint es in ca. 85% der Fälle in typischer Konfiguration (hyperdens und bikonvex) in den oben beschriebenen Lokalisationen (Greenberg et al., 2001). In den restlichen Fällen kann die Abgrenzung zu einem akuten subduralen Hämatom durchaus schwierig sein. Außerdem können bei ca. 20% (nach Autopsie oder intraoperativ) auch begleitende subdurale Hämatome gefunden werden. Wird ein epidurales Hämatom nicht frühzeitig genug diagnostiziert, kann dies fatale Folgen haben. Da es sich, wie beschrieben, in den meisten Fällen um eine arterielle Blutung handelt, kommt es zu einer permanenten Zunahme des raumfordernden Effekts. Aufgrund der anatomisch bedingten knöchernen Einbettung des Gehirn in den starren Schädelknochen können schon relativ geringe Volumenverschiebungen einen massiven Anstieg des intrakraniellen Druckes hervorrufen. Dies kann eine zerebrale Ischämie nach sich ziehen und fatal mit der Herniation des Hirnstammes in den Tentoriumschlitz enden. (Abb.1)

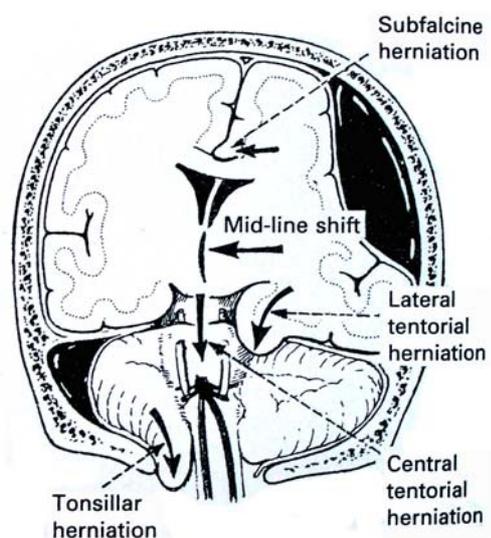


Abb. 1. Schematische Darstellung einer supra- und infratentoriellen epiduralen Raumforderung (aus: Lindsay et al., 1997)

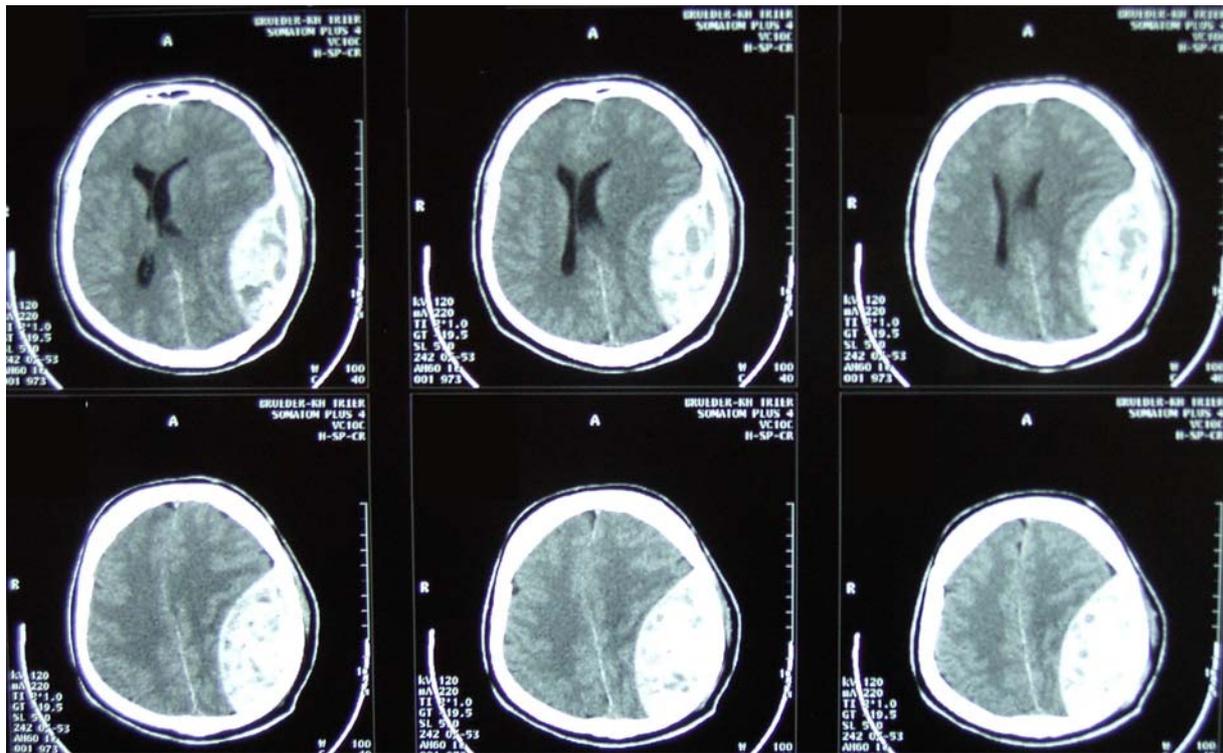


Abb. 2. Kranielle Computertomographie eines 45 Jahre alten männlichen Patienten mit traumatischem, akuten epiduralen Hämatom mit typischer Konfiguration. Initial bei Aufnahme Glasgow Coma Scale von 6 Punkten.

1.4. Fragestellung und Zielsetzung der eigenen Untersuchung

In dieser Arbeit sollten die Auswirkungen einer moderaten Hypothermie nach Induktion einer extraaxialen epiduralen Raumforderung im Tiermodell untersucht werden. Dabei waren folgende Fragestellungen von besonderem Interesse.

- Beeinträchtigt das applizierte Trauma im Rahmen einer posttraumatischen, 4 wöchigen Langzeitbeobachtung das Verhalten der Tiere und wird die Langzeitprognose der Tiere durch die Anwendung einer moderaten, systemischen Hypothermie verbessert ?
- Beeinflusst eine intraschämische, moderate, systemische Hypothermie das kernspintomographisch und histologisch verifizierte Schädigungsausmaß positiv ?
- Lassen sich kernspintomographische, gruppenspezifische Unterschiede in Bezug auf den Schädigungscharakter 4 Wochen nach Trauma identifizieren?

- Eignen sich die verwandten neuropsychologischen Tests zur Verlaufsuntersuchung und Bestimmung des neurologischen Outcomes?
- Können in der 4 wöchigen Verlaufsuntersuchung eventuelle Nebenwirkungen der hypothermen Behandlung beobachtet werden?

2. Material und Methoden

2.1. Untersuchungsmaterial

2.1.1. Versuchsgenehmigung und Versuchstiere

Versuchsgenehmigung

Die Genehmigung des Versuchsvorhaben zur Durchführung einer Langzeituntersuchung zur Auswirkung einer moderaten Hypothermie nach Induktion einer epiduralen, fokalen Raumforderung mit Hilfe eines Ballonexpansionsmodell im Tierversuch wurde auf der Grundlage des § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Unterfranken mit den Schreiben vom 25.6.1997 (Az. 621-2531.01-7/97) erteilt. Die Durchführung der Versuche und die Verlaufsbeobachtung der Tiere erfolgte in den Räumen des Tier - OP im Kopfklinikum der Julius-Maximilians Universität Würzburg. Die Überwachung und Beurteilung des Gesundheitszustandes der Tiere oblag dem stellvertretenden Versuchsleiter Dr. R. Burger sowie einer tierexperimentell erfahrenen medizinisch technischen Assistentin der neurologischen Abteilung und einer zur Überwachung des Tierschutzgesetzes vom Tierschutzbeauftragten der Universität autorisierten Tierärztin der Neurologischen Klinik.

Versuchstiere

Während der Versuche kamen ausschließlich männliche Sprague - Dawley Ratten zum Einsatz. Aufgrund der neuropsychologischen Testungen in der Langzeituntersuchung und der dabei angewandten Testverfahren, die eine große Geschicklichkeit der Tiere voraussetzten, wurden nur kleinere Tiere mit einem Gewicht zwischen 200-250 g verwendet. Alle für diese Untersuchung eingesetzten Tiere wurden von der Firma Charles River, Sulzfeld, bezogen. Die Haltung der Tiere erfolgte jeweils paarweise in Macrolon Käfigen Typ 4. Die Ratten erhielten Futter und Flüssigkeit ad libidum.

Insgesamt nahmen 59 Tiere an der Studie teil. Diese wurden nach dem Zufallsprinzip drei verschiedenen Gruppen zugeordnet. Die Einteilung der Gruppen erfolgte abhängig von den unterschiedlichen Versuchsabläufen. Die Tiere bei denen die Traumainduktion unter normothermen Bedingungen erfolgte, wurden unter Ballongruppe I zusammengefasst (n = 24). Die Tiere, die hypothermen Verhältnissen ausgesetzt waren, zählten zur Ballongruppe II (n= 25). Als weitere Gruppe wurde eine Kontrollgruppe (n=10), die nur den Narkose- und Operationsbedingungen ohne Traumainduktion ausgesetzt waren, geführt.

2.1.2. Geräte und Onlinemonitoring

2.1.2.1. Chirurgische Präparation

Zur Einleitung der Narkose wurden die Tiere zunächst in der Ätherglocke sediert und anschließend endotracheal intubiert. Die maschinelle Beatmung wurde während des gesamten Versuchsablaufes mit einem Gemisch aus 66 % Stickstoffdioxid, 33% Sauerstoff und 1-2% Isofluran aufrechterhalten. Nach Erreichen einer entsprechenden Narkosetiefe wurde die Schwanzarterie der Ratte, zur Einlage eines Katheters für ein invasives Blutdruckmonitoring und der regelmäßigen Kontrolle der Blutgasparameter präpariert und der Katheter eingeführt. Als nächster Schritt erfolgte die Lagerung des Tieres im stereotaktischen Rahmen und die Fixierung des Kopfes in der Halterung. Nach Enthaarung des Kopfes (Pilcamed, Asid Bonz GmbH, Böblingen, BRD) und sorgfältiger Desinfektion mittels jodhaltiger Lösung wurde eine mediane, circa. 2,5 cm lange, von frontal bis occipital reichende Inzision der Haut und des Periosts, vorgenommen. Nach Darstellung des Schädelknochens und damit möglicher Orientierung an den anatomischen Landmarken s.u. (Bregma) erfolgte mit Hilfe eines Drillbohrers (EWL, Elektrisches Werk, Typ 450, Leutkirch, BRD) die rechts fronto-parietale Bohrung für die Anlage der intrazerebralen Temperatursonde. Der Bohrkopf des Drillbohrers wurde in einen stereotaktischen Mikromanipulator eingespannt und konnte damit exakt in Millimeterschritten fortbewegt werden. Die links-parietale Trepanation zur Anlage der Balloninduktionseinheit erfolgte mit zahnmedizinischen Biopsietrepanen (Anton Kern GmbH, Würzburg, BRD) unter ständiger Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung. Hierbei wurde besonders darauf geachtet, bei keiner der Trepanationen, die Dura zu verletzen.

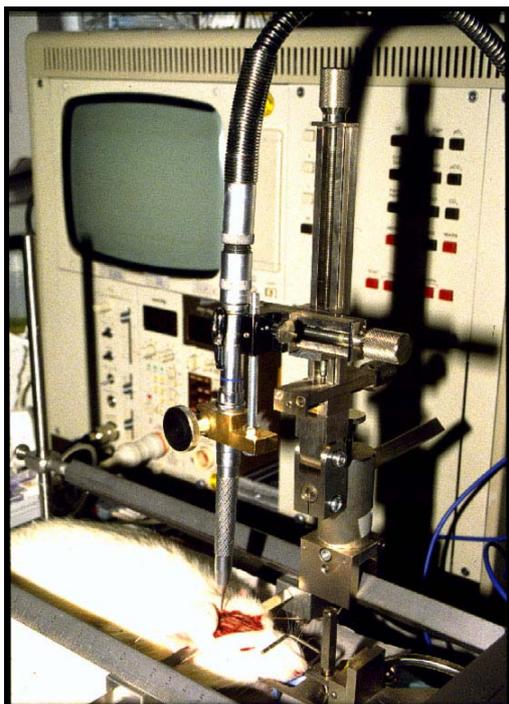


Abb. 3 : Stereotaktischer Rahmen mit Mikromanipulator und Drillbohrer

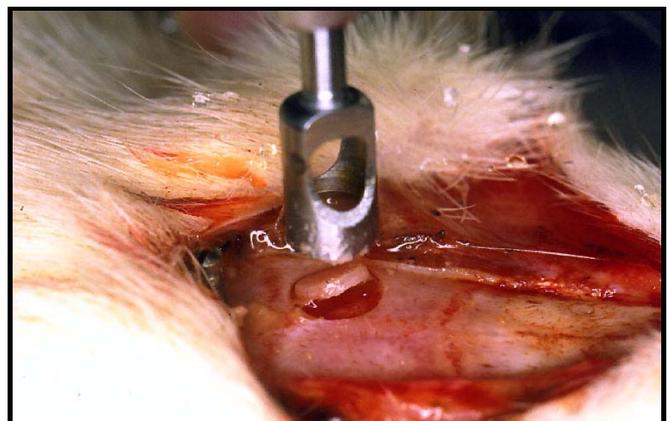


Abb.4 : Zahnbiopischer Trepan

2.1.2.2. Trepanationsanordnung mit Balloninduktionseinheit und Temperatursonde

Die Versuche wurden mit folgender Trepanationsanordnung durchgeführt. Für die Anlage der Balloninduktionseinheit wurde links-parietal mit einem Durchmesser von 5mm und den Koordinaten Bregma (-1,0) – (-6,0) mit Lage direkt über der Zentralregion des Rattenhirns, siehe auch Abbildung 5 , trepaniert. Die Ableitung der zerebralen Temperatur erfolgte rechts fronto-parietal , Durchmesser 1,5 mm , Bregma 0, in einer Tiefe von 4mm.

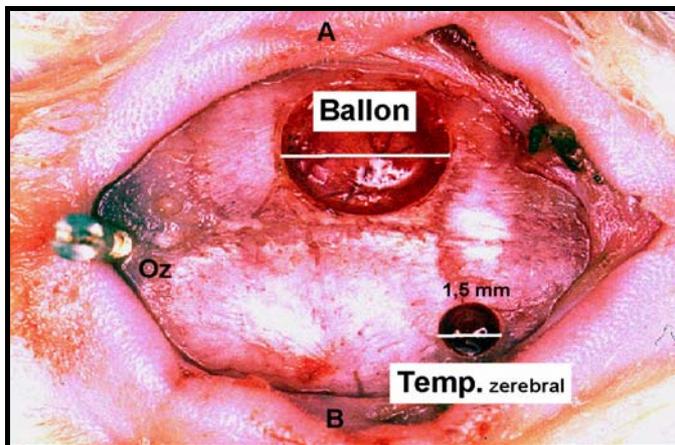


Abb. 5 : Anordnung der Trepanationen
Oz = Okziput (EEG Referenzelektrode);
A+B = EEG 2 Punkt Ableitung epikranial unter
Temporalismuskel

Für die Induktion einer epiduralen, fokalen Raumforderung wurde unten gezeigte Ballonvorrichtung verwendet, welche über einen Perfusorschlauch mit einem Perfusor verbunden war. Mit diesem konnte die Infusionsgeschwindigkeit der verwendeten NaCl - Lösung und damit die Ballonexpansion gesteuert werden. Die Fixierung der Ballonvorrichtung an der Schädeldecke erfolgte mit Zahnzement.



Abb.6 : Balloninduktionseinheit

2.1.2.3. Metallthermoelement

Die Hirntemperatur wurde mittels einem Metallthermoelement C10 (Licox, GMS) abgeleitet. Dabei handelt es sich um ein mit einer temperatursensitiven Spitze ausgestattetes Element. Diese Temperatursonde wurde in einer G26 Braunüle geschient und über 4 mm in das Hirngewebe eingeführt. Die Fixierung erfolgte mit Hilfe des Mikromanipulators. Die Analogsignale der Hirntemperatursonde wurden an den AD Wandler (Maclab device Corp. AD Instruments, Milford, MA, USA) übertragen und digitalisiert. Damit konnten die Daten, genau wie die der Blutdruckmessung (MAP) und des EEG online im Rechner registriert und später ausgewertet werden. Parallel dazu erfolgte ebenfalls die Erfassung der Körperkerntemperatur mit Hilfe einer rektalen Temperatursonde. Diese Sonde wurde tiefer als 6 cm eingeführt, um eventuell verfälschte, weil zu niedrige Temperaturmessungen, zu vermeiden (Miyazawa et al., 1992).

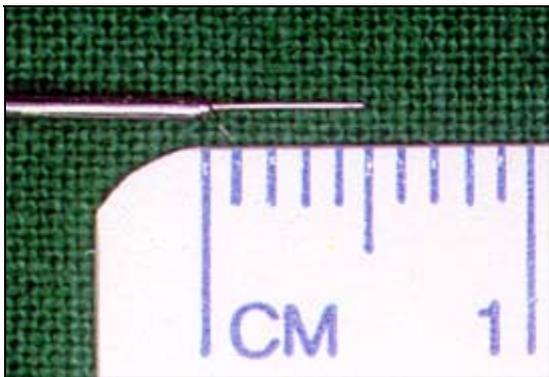


Abb. 7: Metallthermoelement C10 (Licox, GMS)
Die Sonde wird 4mm in das
Hirnparenchym vorgeschoben

2.1.2.4. Die Elektroenzephalographie

Während des gesamten Versuchsablaufes erfolgte die Ableitung einer 3 Punkte Elektroenzephalographie zur Registrierung der elektrischen Hirnaktivität. Die beiden Stichelektroden wurden bds. vom äußeren Gehörgang unter dem Temporalmuskel platziert und gegen die Referenzelektrode am Occiput (Oz) (siehe auch Abb.8) abgeleitet.

Als konstante Parametereinstellungen wurden gewählt: Eingangssignal 0,64V; 50 Hz Filter; Grenzfrequenz der Signalübertragung, f_0 30 Hz, Zeitkonstante τ 0,3, die in allen Versuchsgruppen beibehalten wurden. Im Rahmen des Versuchsmanagements wurde der Verlust der EEG Aktivität während der Balloninsufflation als Endpunkt der Traumainduktion definiert. Damit konnte eine vergleichbare, funktionell traumabedingte Schädigung in den

beiden verschiedenen Therapiegruppen hervorgerufen werden. Das Monitoring des EEG erfolgte mit einer „Servomed“ EEG Einheit (Fa. Dräger, Lübeck, Deutschland).

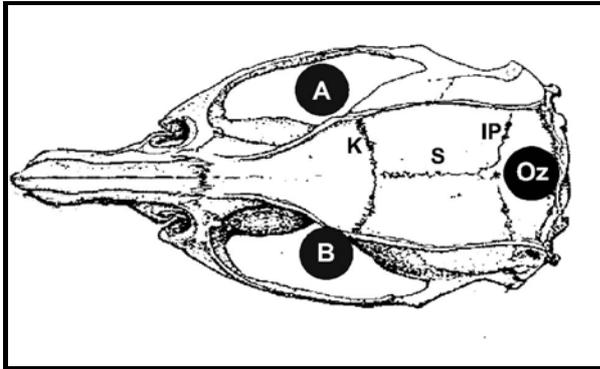


Abb.8: Ableitung von Elektroden A und B gegen Oz(Okziput) , K- Koronarnaht (Bregma) , S- Sagittalnaht

Die Veränderungen des EEG im Zeitverlauf der Kontrollgruppe, der normothermen Ballongruppe I und der hypothermen Ballongruppe II wurden mit Hilfe einer Beurteilungsskala, der sogenannten „Visual inspection scale“ bewertet.

Visuelle Beurteilungsskala des EEG	
5	normales, unauffälliges alpha - EEG
4	- Amplitudenminderung um mindestens 25 % des Ausgangswertes - keine vorübergehende elektrische Stille (burst suppression)
3	EEG Verlangsamung; kurze, kleiner als 3 Sekunden andauernde elektrische Stille (burst suppression) oder Reduktion der Amplitude um mindestens 50 % des Ausgangswertes.
2	Langandauernde elektrische Stille (burst suppression, > 3 Sekunden) mit kurzen Episoden elektrischer Hirnaktivität
1	isoelektrisches EEG

Tab.1: Beurteilungsskala nach de Witt (De Witt et al., 1992)

2.2. Methoden

2.2.1. Traumainduktion und Versuchsgruppeneinteilung

Gegenstand der 4 wöchigen Verlaufsuntersuchung waren die Auswirkungen einer intraintrischämischen, moderaten Hypothermie auf das Verhaltensmuster der Tiere. Dafür wurde mit Hilfe des bereits beschriebenen Ballonexpansionsmodell eine epidurale, fokale Hirnschädigung induziert. Die Balloninsufflation wurde abgebrochen, sobald ein isoelektrisches EEG nachweisbar war. Das EEG als funktioneller Parameter der Hirnaktivität wurde für die Definition der Traumastärke deshalb gewählt, um in den späteren funktionellen neuropsychologischen Testungen vergleichbare Grade der neurologischen Schädigung zu erhalten. Die Untersuchung wurde an insgesamt 59 Sprague – Dawley Ratten durchgeführt. Dabei wurden die Tiere nach dem Zufallsprinzip drei verschiedenen Gruppen zugeteilt. Die Tiere, die nur den Operationsbedingungen und der Narkose ohne Trauma ausgesetzt waren, wurden unter der Kontrollgruppe (n=10, 230 ± 19 g) zusammengefasst. Die Tiere, die während der Traumainduktion normothermen Verhältnissen ausgesetzt waren, zählten zu Ballongruppe I (n = 24, 219 ± 15 g). Die hypotherm behandelten Tiere bildeten die Ballongruppe II (n = 25, 235 ± 23 g). Nach Narkoseeinleitung und chirurgischer Präparation erfolgte eine 30 minütige Baselinemessung der neurophysiologischen Parameter. Dazu zählten die zerebrale und rektale Temperatur, EEG, arterieller Blutdruck und die Blutgasparameter. Anschließend wurde in beiden Traumagruppen mit der Ballonexpansion mit einer Geschwindigkeit von 0,5 ml/h NaCl Lösung begonnen. Die Expansion wurde sofort beendet, sobald am Monitor ein isoelektrisches EEG zu beobachten war. Die Ballonkompression wurde daraufhin noch für weitere 30 min beibehalten und erst dann durch eine schnelle (10 sec) Entleerung des Ballons beendet und damit die Reperfusionphase eingeleitet. Während der Reperfusion wurden alle genannten neurophysiologischen Parameter für weitere 3 Stunden erfasst und aufgezeichnet. Für die bessere statistische Auswertung wurden die Veränderungen der zerebralen und der rektalen Temperatur, sowie die visuelle Beurteilung des EEG jeweils zu Beginn und Ende der Baselinemessung, zum Zeitpunkt der maximalen Ballonexpansion, zum Ende der Kompressionphase und während der Reperfusion (Minute 1, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150,180) evaluiert. In Ballongruppe II wurde die moderate Hypothermie während des Maximums der Ballonexpansion eingeleitet. Die Tiere wurden während der Kompressionsphase bis zum Beginn der Reperfusion kontinuierlich auf eine Temperatur von 32° C abgekühlt und für die verbleibenden 180 min Reperfusionphase konstant auf diesen Temperaturniveau gehalten. Technisch erfolgte die Abkühlung mit einem eigens konstruierten Schlauchsystem, welches unter der Ratte positioniert war und durch welches Eiswasser geleitet wurde. Um einer zu starken Auskühlung der Tiere entgegenzuwirken konnte ein unter dem Schlauchsystem

positioniertes Kissen ebenfalls als Heizkissen verwendet werden. Des Weiteren stand jederzeit eine Wärmelampe zur Verfügung, welche ebenfalls in der normothermen Gruppe zum Einsatz kam, um eine narkosebedingte Auskühlung der Tiere zu vermeiden und die Temperatur streng im normothermen Bereich zu halten. Zum Ende der 3-stündigen Reperfusionphase wurde der Ballon und die Temperatursonde entfernt, das Operationsfeld gründlich desinfiziert und der Defekt mit dem nach der Trepanation aufbewahrten Knochenendeckel gedeckt. Die Fixierung des Deckels erfolgte mit Kunststoffolie (Parafilm „M“, Laboratory Film, Corp. American National Can™, Greenwich, ct, USA) die mit Kleber an der Schädeldecke fixiert wurde. Anschließend erfolgte das maschinelle „Weaning“ und die Extubation der Tiere. Die hypotherm behandelten Tiere wurden dafür natürlich vorher wiederaufgewärmt. Nach Extubation wurden die Ratten mit freiem Zugang zu Wasser und Futter zurück in ihre Käfige verbracht.

2.2.2. Neuropsychologische Testbatterie

Um eine Aussage über die Auswirkungen einer moderaten Hypothermie zu erhalten, kamen Testverfahren zum Einsatz, die bereits in früheren Versuchen auf ihre Validität überprüft worden sind und auch in der entsprechenden Fachliteratur zur Veröffentlichung kamen. Es wurde eine Testbatterie zur Beurteilung der sensomotorischen Integrationsleistung der Vorder- und Hinterläufe, der Aktivität, sowie zur Beurteilung der Gedächtnisleistung zusammengestellt. Die sensomotorische Leistung wurde mit Hilfe des „Posturalen Reflexes“, des „Beam Balance“ Test und des „Beam Walking“ Test ermittelt. Die Aktivität konnte mittels „Open Field“ Testung und die Gedächtnisleistung durch den „Morris Water Maze Test“ beurteilt werden. Zusätzlich wurden die Gewichtsveränderungen im Verlauf des Langzeitversuches gemessen und die Mortalität und deren Ursachen beurteilt. Da es sich bei Ratten um nachtaktive Tiere handelt wurde darauf geachtet, die Testverfahren abends zwischen 17.00 Uhr und 22.00 Uhr durchzuführen. Abhängig vom Testverfahren wurden die Tiere einem ein - bis dreitägigen Training unterzogen und nach Traumainduktion ab dem ersten posttraumatischen Tag sofort der Testbatterie zugeführt. Als Ausnahme ist der „Morris Water Maze Test“ zu nennen. Dort erfolgte die Testung erst zwischen dem 11. und 31. posttraumatischen Tag, wobei zwischen Tag 11 und 15 eine tägliche, anschließend eine Überprüfung im viertägigen Abstand, vorgenommen wurde. Der verzögerte Beginn erschien sinnvoll, um den Tieren die Möglichkeit zu geben sich zu erholen. Damit wurde eine zu starke Beeinträchtigung des Schwimmvermögens vermieden und die Latenzzeitmessung konnte die eigentliche Gedächtnisleistung der Tiere widerspiegeln. Die Durchführung der übrigen Testverfahren erfolgte in den ersten 7 Tagen täglich, vom 8. - 15. Tag im achtundvierzigstündigen Rhythmus und zwischen dem 15. und 31.Tag nach Trauma im Abstand von 4 Tagen.

2.2.2.1. Posturaler Reflex

Dabei handelt es sich um einen Test, der für Schädigungen im Bereich des Cortex und Striatums sensitiv ist. Die Testung erfolgt indem man eine am Schwanz gefaßte Ratte aus 1m Höhe in Richtung Tisch herabläßt und unter gleichzeitiger Beobachtung der Vorderläufe deren Bewegungsmuster beurteilt. Ein gesundes Tier streckt automatisch beide Vorderläufe beim Herablassen in Richtung der Unterlage aus. Liegt eine Schädigung vor, so beobachtet man ein oder beidseitig eine Flexionsbewegungen der Vorderläufe. Bei sehr starker Schädigung im Bereich o.g. Areale ist das Tier nicht mehr in der Lage, einer einseitig, im Schulterbereich applizierten Kraft, Widerstand entgegenzusetzen und erhält nach der unten aufgeführten Performanceskala von Bederson (Bederson et al., 1986) die Maximalpunktzahl.



Abb.9 : Das Tier wird am Schwanz aus 1 m Höhe langsam zur Unterlage bewegt und die Reaktion der Vorderläufe überprüft. In der Abbildung ein Tier ohne Flexionsbewegungen.

Punktzahl in Abhängigkeit der beobachteten Bewegungsmuster

0	Die Ratte streckt beide Vorderläufe in Richtung Unterlage aus
1	Flexionsbewegung einer oder beider Vorderläufe
2	Ratten mit ein- oder beidseitiger Flexionsbewegung, die nach Aufsetzen auf einen plastikbeschichteten Papierbogen einer manuellen, seitlich applizierten Kraftwirkung hinter der Schulter, ausgesetzt werden und dieser Kraft nicht widerstehen können.

2.2.2.2. Beam Balance Test

Wie in Abbildung 10 zu erkennen wird die Ratte hierbei auf einem Balken gesetzt und muss mit allen 4 Läufen für 60 Sek. das Gleichgewicht auf dem Stab halten. Als Parameter zur Beurteilung der Performance wird zum einen die Latenzzeit, d.h. wie lange sich das Tier auf dem Balken halten kann, herangezogen. Zum anderen erfolgte die qualitative Beurteilung des Balancierens mit Hilfe einer von Clifton etablierten Skala (Clifton et al., 1991). Ein Tag vor Traumainduktion werden die Tiere solange beübt, bis sie in drei aufeinanderfolgenden Durchläufen die Punktzahl erreichen, die einer vollständig stabilen Position mit allen 4 Läufen am Stab entspricht. Mit Hilfe des Beam Balance Testes können Schädigungen im Bereich des motorischen Cortex und der vestibulomotorischen Bahnen erfasst werden (Feeney et al., 1982 ; Goldstein et al., 1990).



Abb.10 : Beam Balance Testbalken

Punktskala bezüglich der Qualität des Balancierens

1	Balanciert mit stabiler Position, alle 4 Pfoten liegen auf dem Balken
2	Seitliches Greifen des Balkens und/ oder wackelige, schwankende Bewegung
3	Eine oder mehrere Pfoten rutschen vom Balken ab
4	Versuch das Gleichgewicht auf der Stange zu halten, fällt jedoch herunter
5	Hängt über dem Balken und / oder am Balken und fällt herunter
6	Fällt ohne Versuch das Gleichgewicht zu halten oder sich an der Stange festzuhalten runter

2.2.2.3. Beam Walking Test

Hierbei werden die Tiere mit Hilfe von gleichzeitiger, plötzlicher Geräuschapplikation (90dB) und heller Lichtapplikation auf der einen Seite des Balkens, dazu animiert, diesen in der Gegenrichtung zu überqueren, um in das Rattenhaus zu gelangen. Erschwerend für die Tiere kommt hinzu, dass sie während des Überquerens noch zusätzlich auf dem Balken in regelmäßigen Abständen angebrachte Stäbe in einer Art Slalomlauf umgehen müssen. Die negative Motivation bleibt bestehen, bis das Tier in der Zielbox verschwunden ist. Vor Durchführung der einzelnen Tests wird die Ratte 30 sek. in das Rattenhaus gesetzt und

zwischen den Tests für 30 sek. dort belassen. Als Voraussetzung für die Aufnahme eines Tieres in die Serie muss die Ratte 3 Tage vor Traumainduktion innerhalb von 15 Versuchen dreimal hintereinander die volle Punktzahl erreichen und pro Überquerung nicht länger als 8 s benötigen. Dann konnte mit dem Training der Tiere in den folgenden 2 Tagen vor Applikation der Läsion fortgefahren werden. Überquert eine Ratte den Balken in den Verlaufsuntersuchungen nach Läsion nicht, so werden 80 s und die minimale Punktzahl angegeben. Somit wird ähnlich wie im vorgestellten Beam Balance Test (s. o.) auf der einen Seite die Latenzzeit für die Balkenüberquerung und auf der anderen Seite die Qualität der Überquerung, insbesondere das Bewegungsmuster der Hinterläufe des Tieres, mit Hilfe einer Performanceskala beurteilt (Feeney et al., 1982). Somit eignet sich der Test hervorragend zur Beurteilung sensomotorischer Integrationsleistungen der Hinterläufe von Versuchstieren.

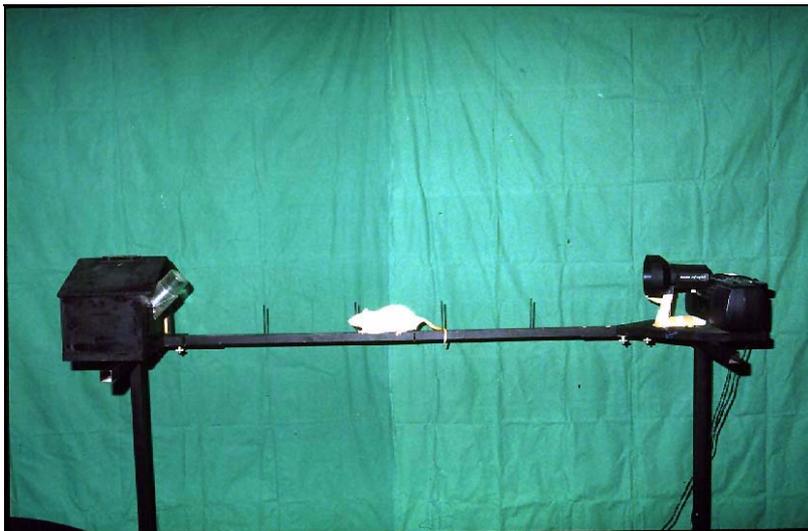


Abb11: Beam Walking Testverfahren mit Lichtapplikation und Geräuschapplikation mit Radio re. Links Rattenhaus mit Futter und Wasser

Vergabe von Score je nach Performance im Beam Walking Test:

- 1 Unfähig den Stab innerhalb von 80 Sekunden zu überqueren und die Hinterpfote horizontal auf dem Balken aufzusetzen.
- 2 Unfähig den Stab innerhalb von 80 Sekunden zu überqueren aber fähig die Hinterpfote horizontal aufzusetzen und das Gleichgewicht zu halten.
- 3 Vollständiges Überqueren des Balkens innerhalb von 80 Sekunden, wobei die betroffene Hinterpfote hinterhergezogen wird.
- 4 Vollständiges Überqueren des Balkens innerhalb von 80 Sekunden, wobei die betroffene Hinterpfote zumindest einmal horizontal auf der Balkenfläche aufgesetzt wird.
- 5 Vollständiges Überqueren des Balkens innerhalb von 80 Sekunden, wobei weniger als 50% der notwendigen Schritte durch die in Folge der Schädigung beeinträchtigten Glieder erfolgt.
- 6 Vollständiges Überqueren des Balkens innerhalb von 80 Sekunden, wobei mehr als 50% der notwendigen Schritte durch die in Folge der Schädigung beeinträchtigten Glieder erfolgt.
- 7 Normales Gehen auf dem Balken mit maximal zweimaligem Ausrutschen der Pfoten.

2.2.2.4. Open Field Activity

Als weiterer Test im Rahmen der Verlaufsuntersuchungen wurde die Aktivität im „Open Field“ überprüft. Dabei wird das Tier zu Beginn der Testung in die Mitte eines durch schwarze Querstreifen in symmetrische Quadranten geteilte Holzplatte gesetzt. Danach wird registriert wie oft die Ratte innerhalb von 5 Minuten eine der schwarzen Linien überquert. Da es sich bei Ratten um nachtaktive Tiere handelt ist darauf zu achten, dass die Aktivitätstestung immer zur selben Tageszeit erfolgt. „Open Field Activity“ gilt als sensibler Test bei Zustand nach Schädigung im Bereich des Cortex und Striatums (Robinson et al., 1979) und des Hippocampus (Colbourne et. al., 1994; Jarrard , 1973; Kimble et al., 1963; Mileson et al., 1991).

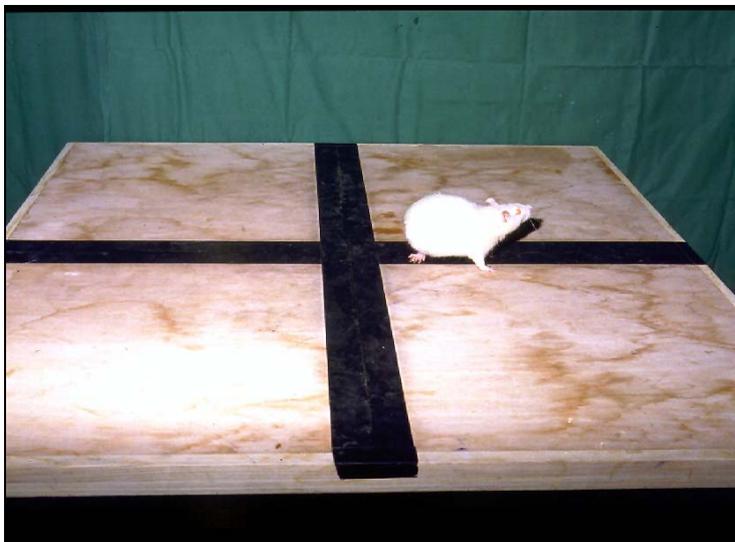


Abb. 12: Open Field mit schwarzen Markierungsstreifen

2.2.2.5. Morris Water Maze Test

Dieser Test ist ein sensitives Verfahren zur Überprüfung einer anterograden Amnesie, einer Lernschwäche und von Gedächtnisstörungen (Morris et al, 1982, 1986; Hamm et al., 1992; Alexis et al., 1995; Dixon et al., 1998). Als Grundlage dient ein rundes Wasserbecken, Durchmesser 180 cm, lichte Wasserhöhe 28cm. Darin wird eine durchsichtige, für die Ratten visuell nicht zu erkennende, Plexiglasplattform 2cm unterhalb der Wasseroberfläche positioniert. Die Positionierung erfolgt unter Zuhilfenahme der Himmelsrichtungen jeweils an den Punkten SW,NW,NO,SO in der Mitte zwischen dem Mittelpunkt des Beckens und dem äußeren Beckenrand. Jeder Ratte der jeweiligen Untersuchungsgruppe wird nach dem Zufallsprinzip eine bestimmte wie o.g. Positionierung der Plattform zugeordnet und für jeden Untersuchungstag beibehalten. Um eine etwaige Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse durch mögliche Paresen nach Traumainduktion und damit natürlich verbundener Beeinträchtigung des Schwimmvermögens der Tiere zu vermeiden, wurde mit der Testung erst am 11. postoperativen Tag begonnen. An den jeweiligen Untersuchungstagen werden die Tiere 4 Durchgängen von 4 unterschiedlichen Positionen (N,O,S,W) unterzogen. Hinzuzufügen ist, dass allen Himmelsrichtungen eindeutige Wandmarkierungen bzw. die Lichtquelle zugeordnet wurden (Siehe auch Abb.13).Die Abfolge der Positionen wird täglich nach dem Zufallsprinzip mit dem Würfel bestimmt. Die Positionierung der Plattform erfolgt wie o.g. in Abhängigkeit von der, der jeweiligen Ratte zugeordneten Position (SW, NW, NO, SO). Das Tier wird nun mit dem Gesicht zur Wand vorsichtig in das Wasser gesetzt und die Zeit bestimmt, bis die Ratte die Plattform findet. Wenn innerhalb von 120 sek. die Plattform nicht gefunden wird, setzt man das Tier für 30 sek. auf diese und anschließend für 4 min unter eine Heizlampe . Findet die Ratte die Plattform vor Ablauf der Zeit, so wird die Ratte ebenso für 30 sek. auf der Plattform belassen und danach für 4 min unter der Heizlampe aufgewärmt. Dokumentiert und ausgewertet werden neben der Latenzzeit auch die Einstiegsabfolge und Positionierung der Plattform. Die Wassertemperatur beträgt 21°C und wird bei drohender Abkühlung mittels Tauchsieder in diesem Bereich gehalten.



Abb.13 : Dargestellt sind das Wasserbecken mit 180 cm Durchmesser, Wassertemperatur 21 °C. Die lichte Höhe des Wasserspiegels liegt bei 28 cm, die Plattform 10 cm Durchmesser ist in gezeigter Abbildung nur schemenhaft in Position SW 2cm unterhalb des Wasserspiegels zu erkennen. Für die Tiere ist sie visuell nicht wahrnehmbar. An 3 Seiten eindeutige Wandmarkierungen und auf der vierten Seite indirekte Lichtquelle.

2.2.3. Kernspintomographische Aufnahmen in der Langzeitbeobachtung

Zusätzlich zu den oben beschriebenen neuropsychologischen Testungen wurden die Tiere im Rahmen der Verlaufsuntersuchung, um ebenfalls einen Bezug zum klinischen Alltag herzustellen, einer kraniellen kernspintomographischen Untersuchung unterzogen. Die Tiere, die sich in einem guten Allgemeinzustand befanden, wurden in der ersten Woche nach Trauma, sowie am Schluss der Beobachtungszeit nach 4 Wochen kernspintomographisch untersucht. Hierbei wurde die Art der Schädigung erfasst und graduiert. Während der Untersuchungen wurden die Tiere mit intramuskulärer Gabe von Rompun® und Ketanest® sediert. Anschließend erfolgte der Scan in einem handelsüblichen 1,5 Tesla Gerät der Fa. Siemens (Siemens, Vision, München) in Bauchlage und mittels einer 4 cm im Durchmesser betragender Oberflächenspule. Um Unterkühlungen vorzubeugen wurde das Tier auf einer Heizmatte gelagert. Während der Untersuchung wurden T-2 gewichtete Sequenzen in coronarer Schichtführung und Schichtdicke von 1mm (TE 4000ms, TR 96 ms, field of view 60 mm) erhoben und nach der auf S. 22 aufgeführten Graduierung bewertet.

- Grad 1:** Oberflächliche kortikale Schädigung
- Grad 2:** Kortikaler Defekt ohne Einbeziehung der Stammganglien
- Grad 3:** Kortikaler Defekt unter Einbeziehung der Stammganglien
- Grad 4:** Subkortikaler und subkallosaler, liquorintenser Defekt bei fast komplett erhaltenen kortikalen Strukturen.

2.2.4. Histologie

2.2.4.1. Perfusionsfixation und Hirnentnahme

Neben den oben beschriebenen neuropsychologischen Testungen und bildgebenden Verfahren wurden als weiteres Kriterium zur Überprüfung der Auswirkungen einer hypothermen Behandlung histologische Untersuchungen an den Versuchstierhirnen vorgenommen. Um das Gewebe für die nachfolgende histologische Begutachtung zu konservieren, wurden die Tiere perfusionsfixiert. Dafür wurden die Tiere am Ende der Verlaufsbeobachtung zunächst mit Äther sediert und über eine Thorakotomie transcardial perfundiert. Dazu wird der Herzbeutel eröffnet, der linke Ventrikel mit einer Braunüle punktiert, zuerst sechsprozentiges HAES und nach Entfärbung der Leber, phosphatgepuffertes vierprozentiges Paraformaldehyd infundiert. Im Anschluss an die durch die Perfusion bedingte komplette Starre erfolgt die Dekapitierung. Vor Entnahme der Hirne wurden die Köpfe zunächst in vierprozentiger Paraformaldehydlösung im Kühlschrank bei 4-6° C gelagert. Die Entnahme selbst erfolgte über eine Resektion der Wirbelbögen von HWK 1 und 2. Bei zusätzlicher occipitaler Dekompression gelingt eine gute Darstellung der Medulla oblongata. Anschließend wird komplett bifrontal kraniektomiert, das Halsmark, die Bulbi olfactorii und die restlichen Hirnnerven durchtrennt und zum Abschluss das Gehirn stumpf entnommen. Vor der Einbettung in Parafin wurden die Rattenhirne über Nacht in vierprozentiger Paraformaldehydlösung immersionfixiert.

2.2.4.2. Histologische Untersuchungen

Nach Ende der vierwöchigen Verlaufsuntersuchungen und der oben beschriebenen Perfusionsfixation und Hirnentnahme erfolgten für die normotherme Ballongruppe I und die hypotherme Ballongruppe II die histologischen Untersuchungen im Sinne von morphometrischen Erfassungen des Schädigungsbezirkes nach Morikawa (Morikawa et al., 1992). Zusätzlich wurden quantitative Untersuchungen (Ausählung der Neuronenzahl) zur Bestimmung hypoxischer Schäden im Bereich des ipsilateralen Hippocampus CA1 – CA4 vorgenommen. Des Weiteren erfolgte die Untersuchung der nicht geschädigten Kontrolltiere. Hierbei wurde die Neuronenzahl im Hippocampus erfasst und für die spätere statistische Auswertung als Vergleichsangabe herangezogen.

2.2.4.2.1. Einbettung und Schnitthanfertigung

Nach erfolgter, kombinierter Perfusions- und Immersionsfixation mit Paraformaldehyd wurden die Hirne in Paraffin eingebettet. Damit kann eine optimale Konservierung der anatomischen Verhältnisse erreicht werden. Hierzu wurden die Hirne in 5 Blöcke aufgeteilt (1 Frontal bis zum Sondenstichkanal, 2 Bis Bregma, 3 Bregma bis Mittelhirn, 4 Mittelhirn und Kleinhirn, 5 Medulla Oblongata) und in histologische Einbettkassetten überführt. Nach Entwässerung über Nacht (Citadel 1000, Shandon Inc., Pittsburgh, U.S.A.) wurden die fixierten Blöcke an der Workbench (Tissue Block System, TBS 88, Medite, Burgdorf, Germany) in gereinigtes Paraffin- und Polymergemisch (Leica Histowax, Leica Microsystems, Nussloch, Germany) übertragen. Nach erfolgreicher Einbettung wurden anschließend am Schlitten- und Rotationsmikrotom (Leitz 1208, Germany, Reichert-Jung 2050, Germany) 8µm Schnitte angefertigt. Zum Entfalten wurden sie in warmes Wasser eingebracht und anschließend auf Poly-1-lysin beschichtete Objektträger aufgenommen. Zum Trocknen erfolgte die Aufbewahrung über Nacht im Wärmeschrank.

2.2.4.2.2. Färbeprotokoll

Die Objektträger wurden zunächst 5 min in Xylol entparaffiniert. Danach erfolgte die Einbringung der Träger für jeweils 2 min in eine absteigende Alkoholreihe (100%, 95%, 80% Alkohol), mit zuletzt Rehydrierung in Leitungswasser. Anschließend Färbung durch Bad in Kresylviolett für 10 min (Chroma 1A396, Chroma Gesellschaft, Stuttgart, Germany). Nachfolgend bläuen der Präparate in fließendem Wasser. Als nächster Schritt Einbringung der Objektträger diesmal in eine aufsteigende Alkoholreihe für jeweils 2 min (80%, 95%, 100% Alkohol) und Xylol. Zum Abschluß erfolgt das Eindecken der Schnitte mit Einschlussmittel (Vitro-Clud, Langenbrinck, Emmerdingen, Germany) und Deckgläsern. Die fertiggestellten Präparate wurden vor Beginn der histologischen Untersuchungen im Dunkeln über Nacht luftgetrocknet.

2.2.4.2.3. Morphometrische Erfassung des ischämisch veränderten Hirnareals

Bezüglich der Platzierung des Ballons zur Schädel- bzw. Gehirnoberfläche wurden für die morphometrische Erfassung 4 aufeinanderfolgende Areale, die sich an anatomischen Kriterien des Rattenhirns orientierten ausgewählt. Diese waren Bregma +3mm, Bregma, Bregma -3mm und Bregma -9mm.

Die genannten Areale wurden anschließend mit einer Morphometrieinheit (Mikroskop: Zeiss Axiophot2; Sony XC003P CCD Camera, Image Pro Plus 4.0, PC basiert) digitalisiert und vermessen (Morikawa et al., 1992).



Abb14.: Histologische Morphometrieinheit mit Mikroskop, CCD Kamera und PC

2.2.4.2.4. Quantitative Erfassung des geschädigten Hippocampusareals

Für die quantitative Erfassung wurden zuvor nach oben beschriebenem Färbeprotokoll gefärbte Schnitte zwischen Bregma -3 und 3,5 mm ausgewählt. In diesem Bereich findet man typischerweise die neuronalen Veränderungen in den hippocampalen CA1 - 4 Feldern.

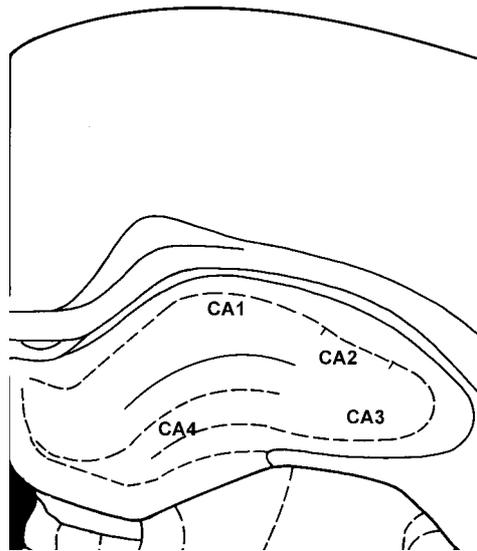


Abb15.: Schematische Darstellung der CA1-4 Neuronenfelder des Hippocampus

Die Auswertung der Schnitte wurde unter einem Lichtmikroskop mit Zählkular durchgeführt. Dabei wurden für jede Region alle Neurone, d.h. vitale und geschädigte, in einem Messfeld der Größe 0,05 mm² ausgezählt und getrennt erfasst. Damit lässt sich der prozentuale Anteil der vitalen Neurone an der Gesamtneuronenzahl ermitteln und ermöglicht damit den Erhalt von statistisch vergleichbaren Werten innerhalb der Untersuchungsgruppen.

Folgende Meßfelder wurden gewählt:

- CA1 oberhalb der Branche des Gyrus dentatus
- CA2 lateraler Punkt des Neuronenbandes
- CA3 zwischen Konvexität des lateralen Neuronenbandes und der Branche des Gyrus dentatus
- CA4 innerhalb der Branchen des Gyrus dentatus

Kriterien für Beurteilung der Zellvitalität waren:

- ▶ Scharf begrenzter, heller Zellkern mit gut erkennbarem Nucleolus
- ▶ Abgrenzbarkeit des neuronalen Zytoplasmas vom Neurophil
- ▶ konfluierende Vakuole um Neuron herum (pericellular halo)

(Herguido et al., 1999)

2.2.5. Statistische Analyse der Versuchsergebnisse

Für den Vergleich der Messwerte der zerebralen und der rektalen Temperatur und für den Vergleich der histologisch morphometrisch erfassten Daten zwischen der normotherm bzw. hypotherm behandelten Gruppe wurde als standardisierter Test der „unpaired t-Test“ angewandt. Um die ermittelten Daten für den mittleren arteriellen Blutdruck (MAP), der Blutgasparameter, des Hämatokrit, des EEG und nicht zuletzt der neuropsychologischen Testbatterie vergleichen zu können wurde im Rahmen dieser Arbeit die statistische Auswertung mit Hilfe des „One Way ANOVA“ Testes durchgeführt. Zur Überprüfung der Daten auf Normalität wurde der „Kolmogorov-Smirnov“ Test eingesetzt. Statistische Signifikanz war bei $p < 0,05$ erreicht.

Sämtliche statistische Analysen wurden mit der Software SigmaStat 2.0 durchgeführt (Jandel Scientific®, SPSS inc., Chicago, IL, USA).

3. Ergebnisse

Gegenstand der 4 wöchigen Langzeituntersuchung nach Induktion einer epiduralen, fokalen Raumforderung war, die Auswirkungen einer moderaten Hypothermie auf die Schädigungsstärke und das Verhaltensmuster der Tiere im Vergleich zu normotherm geschädigten Tieren darzustellen. Der eigentlichen Untersuchung vorausgehend wurde im Rahmen eines Pilotprojekts bei 5 Tieren getestet, welche Ballonkompressionszeit (10 - 30 min) nach Auftreten eines isoelektrischen EEG's am besten geeignet war, um vergleichbare funktionell neurologische Defizite zu erhalten und gleichzeitig zu vermeiden, die Tiere dabei so stark zu schädigen, dass diese den Testverfahren nicht mehr zu unterziehen gewesen wären. Den Testserien mit Schädigung wurde eine sham - operierte Gruppe gegenübergestellt (Kontrollgruppe).

3.1. Ergebnisse des Onlinemonitoring

Die Gesamtanzahl der Tiere betrug 59 , welche durch Zufallsprinzip den 3 Untersuchungsgruppen zugeordnet wurden. Dabei dienten 10 Tiere (239 ± 19 g) als Kontrollgruppe. 24 Tiere (219 ± 15 g), die normothermen Verhältnissen während Traumainduktion und Onlinemonitoring ausgesetzt waren, wurden unter Ballongruppe I zusammengefasst. Dabei konnten allerdings 6 von 24 Tieren nicht in die Ergebnisanalysen einbezogen werden. Dies galt sowohl für die Onlineauswertung als auch für die neuropsychologische Testung. Ballongruppe II, welche die Tiere beinhaltete, die einer intraschämischen, moderaten Hypothermie ausgesetzt waren, umfasste insgesamt 25 Tiere (235 ± 23 g). Davon konnten erneut 4 von 25 nicht in die Onlineauswertung und zusätzlich ein Tier nicht in die neuropsychologische Testung einbezogen werden.

Die Auswertung der für den Versuchsablauf benötigten Zeiten erbrachte für die Präparation der Kontrollgruppe eine Dauer von 83 ± 33 min, die Präparationszeit der Ballongruppe I betrug 81 ± 17 min und die der Ballongruppe II 78 ± 15 min. Die geringfügige Abnahme der Zeiten ohne statistische Signifikanz und geringere Schwankungsbreite sind sicherlich als Lerneffekt zu deuten. In der Kontrollgruppe erfolgte nach abgeschlossener Präparation eine Verlaufsbeobachtung über 180 ± 17 min. Im Gegensatz dazu wurde in der Ballongruppe I nach Ende der Präparation der Ballon über einen Zeitraum von 27 ± 4 min mit einem Volumen von $0,22 \pm 0,05$ ml bis zum Nachweis eines isoelektrischen EEG expandiert. Anschließend wurde die Kompression über 30 ± 1 min beibehalten, bevor eine Verlaufsbeobachtung über 182 ± 7 min erfolgte. In Ballongruppe II, also den hypotherm behandelten Tieren, betrug die Ballonexpansionsphase 28 ± 6 min mit einem Volumen von $0,22 \pm 0,09$ ml bis zum Erscheinen eines isoelektrischen EEG's. Die Abkühlung erfolgte während der Kompressionsphase innerhalb von 27 ± 7 min auf eine zerebrale Temperatur

von 32 °C . Während der Reperfusion wurde die Hypothermie über einem Zeitraum von 178 ± 10 min beibehalten. Anschließend wurden die Versuchstiere innerhalb von 18 ± 6 min zügig wiedererwärmt. Die Zeiten für Präparation ($p = 0,829$), Verlaufsbeobachtungszeit ($p = 0,408$) aller Gruppen und die Ballonexpansionszeit ($p = 0,619$) der Normo- und Hypothermiegruppe zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied. Des weiteren konnte ebenfalls statistisch kein signifikanter Unterschied ($p = 0,159$) in der Füllungsmenge der Ballons in beiden Gruppen ermittelt werden.

3.1.1. Der Verlauf des mittleren arteriellen Blutdruckes

Als ein Parameter des Monitorings wurden die Veränderungen des mittleren, arteriellen Blutdruckes(MAP) während der Versuchsabläufe erfasst. Für den MAP in der Kontrollgruppe konnten Werte zwischen 74 ± 3 mmHg und 79 ± 3 mmHg ermittelt werden und unterlag während der gesamten Untersuchungsperiode statistisch keinen signifikanten Schwankungen.

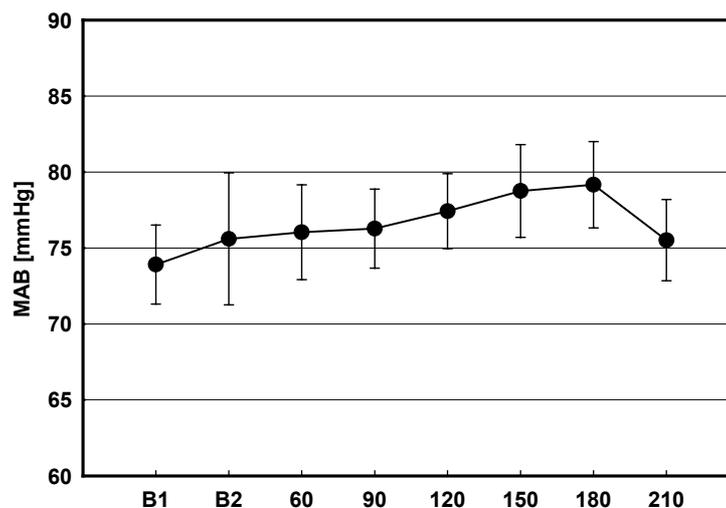


Abb.16 : Verlauf des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) der Kontrollgruppe. B1, Beginn Baseline; B2, Ende Baseline; 60, 90, 120, 150, 180, 210 Minuten. MW \pm Stabw.

Während der Expansionsphase der Ballongruppe I (normotherm) zeigte sich ein Anstieg des Blutdruckes auf 79 ± 4 mmHg. Während der 30 minütigen Kompressionsphase konnte ein milder, nicht signifikanter Abfall des MAP auf 67 ± 1 mmHg ($p > 0,05$) beobachtet werden. Danach befanden sich die Werte zwischen 75 und 80 mmHg. In der hypotherm behandelten Ballongruppe II kam es während der Kompressionphase und der frühen Reperfusionphase zu einem Blutdruckanstieg auf Werte von 84 ± 2 mmHg, der sich allerdings in der statistischen Auswertung als nicht signifikant herausstellte ($p > 0,05$) und der sich bis zum Ende der Verlaufsuntersuchung auf mittlere Werte um 75 mmHg einpendelte.

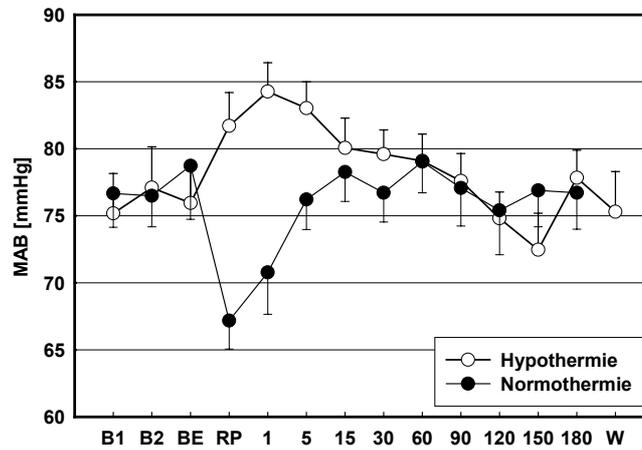


Abb.17 : Verlauf des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAB) der Ballongruppe I, II. B1, Beginn Baseline; B2, Ende Baseline; BE, maximale Ballonexpansion; RP, Reperfusion; 1, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 Minuten; W, Wiedererwärmung. MW \pm Stabw.

3.1.2. Die Blutgasparameter

Die Auswertung der Blutgasparameter ergab in Bezug auf den Sauerstoffpartialdruck, abgesehen von Unterschieden zwischen Kontrollgruppe und Ballongruppe II am Ende der Baselinemessung und zwischen Ballongruppe I und Ballongruppe II am Ende der Reperfusion ($p < 0,05$), keinen statistischen Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Die Analyse des Verlaufes der $paCO_2$ Werte zeigte, bis auf eine Messung 60 Minuten nach Reperfusion zwischen Kontroll - und Ballongruppe II ($p < 0,05$), ebenso keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen ($p > 0,05$). Für den pH Wert ergab sich kein Unterschied und für die Sauerstoffsättigung ein Unterschied am Ende der Baselinemessung und am Versuchsende zwischen Kontroll - und Hypothermiegruppe ($p < 0,05$). Die Auswertung des gemessenen Hämatokrits erbrachte zu Beginn der Versuche Werte zwischen $34,9 \pm 2,4 \%$ und $36,8 \pm 3,3 \%$ und am Ende des Monitorings zwischen $33,6 \pm 2,0 \%$ und $34,8 \pm 4,2 \%$, ohne dabei aber signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen zu zeigen.

MW \pm Stabw (mmHg)	paO_2 (mmHg)	$paCO_2$ (mmHg)	pH	paO_2 Sättg (%)
Beginn Baseline	$106,8 \pm 21,7$	$37,9 \pm 8,9$	$7,39 \pm 0,11$	$97,5 \pm 1,3$
Ende Baseline , 30 min	114 ± 48	$35,7 \pm 7,9$	$7,41 \pm 0,09$	$97,5 \pm 1,3$
90 Minuten nach Beginn	140 ± 49	$38,7 \pm 7,4$	$7,37 \pm 0,09$	$98,1 \pm 1,1$
120 min nach Beginn	$128 \pm 38,7$	$41,3,2 \pm 4,1$	$7,35 \pm 0,07$	$98,1 \pm 0,7$
180 min nach Beginn	$117,2 \pm 32,3$	$36,9 \pm 5,9$	$7,42 \pm 0,04$	$98,0 \pm 0,8$
Mittelwert über gesamte Zeitdauer	$120,5 \pm 33,8$	$37,8 \pm 6,3$	$7,38 \pm 0,07$	$97,8 \pm 1,5$

Tab. 2: Blutgasanalysen über den Zeitverlauf in der Kontrollgruppe

Tab. 3 Blutgasanalysen über den Zeitverlauf bei Ballongruppe I

MW ± Stabw (mmHg)	paO ₂ (mmHg)	paCO ₂ (mmHg)	ph	paO ₂ Sättg. (%)
Beginn Baseline Messung	132, 3 ± 40	33,4 ± 9,0	7,45 ± 0,1	98,3 ± 1,0
Ende Baseline Messung	138,5 ± 34,6	36,1 ± 7,5	7,41 ± 0,07	98,5 ± 0,7
Ende der Kompression/ Reperfusion	132,5 ± 17	33,3 ± 6,0	7,43 ± 0,06	98,6 ± 0,5
60 min nach Reperfusion	134 ± 22	35,2 ± 4,5	7,39 ± 0,05	98,5 ± 0,9
120 min nach Reperfusion	141,1 ± 30,1	36,7 ± 7,0	7,38 ± 0,07	98,6 ± 0,7
180 min n. Reperfusion Ende des Monitorings	141,1 ± 22,7	34,2 ± 5,0	7,39 ± 0,06	98,7 ± 0,4
Mittelwert über gesamte Zeitdauer	137,4 ± 28	34,8 ± 6,5	7,41 ± 0,06	98,5 ± 0,7

Tab. 4 Blutgasanalysen über den Zeitverlauf bei Ballongruppe II

MW ± Stabw (mmHg)	paO ₂ (mmHg)	paCO ₂ (mmHg)	ph	paO ₂ Sättg. (%)
Beginn Baseline Messung	135, 1 ± 47,5	32,5 ± 8,2	7,47 ± 0,09	98,4 ± 1,1
Ende Baseline Messung	147,5 ± 38,8	35,2 ± 7,0	7,42 ± 0,1	98,8 ± 0,6
Ende der Kompression/ Reperfusion	144,8 ± 45,5	35,5 ± 6,3	7,41 ± 0,1	98,8 ± 0,6
60 min nach Reperfusion	129,9 ± 46,7	34,5 ± 6,0	7,38 ± 0,07	98,3 ± 1,3
120 min nach Reperfusion	128,7 ± 38	35,04 ± 6,8	7,39 ± 0,06	98,5 ± 0,7
180 min n. Reperfusion Ende des Monitorings	118 ± 31,2	35,3 ± 6,4	7,39 ± 0,07	98,3 ± 0,9
Nach Wiedererwärmen / Ende des Monitorings	147,9 ± 30	36,5 ± 6,4	7,39 ± 0,04	98,7 ± 0,5
Mittelwert über gesamte Zeitdauer	136 ± 40	34,9 ± 6,7	7,41 ± 0,07	98,5 ± 0,5

3.1.3. Das Monitoring der rektalen und der zerebralen Temperatur

In der Kontrollgruppe konnte während der gesamten Untersuchungszeit kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der zerebralen und rektalen Temperatur gefunden werden ($p > 0,05$). Die mittlere Hirntemperatur lag während der Baselinemessung $0,25\text{ °C}$ unter der rektalen Temperatur, um dann auf Werte von $0,02 - 0,14\text{ °C}$ über der rektalen Temperatur anzusteigen. Im Gegensatz dazu zeigte das Monitoring für die Ballongruppe I Hirntemperaturen vor Ballonexpansion, die sich im Schnitt $0,06\text{ °C}$ unter der rektalen Temperatur befanden, dann im Mittel bis zum Ende der Ballonexpansion um $0,18\text{ °C}$ abfielen und am Ende der Kompressionsphase $0,97\text{ °C}$ unterhalb der rektalen Temperatur lagen. Die statistische Auswertung ergab für die Ballonexpansionsphase, die Kompressionsphase und für 15 Minuten nach Beginn der Reperfusion einen statistisch signifikanten Unterschied beider Temperaturen ($p < 0,05$). Für die restliche Reperfusionsphase bis zum Ende der Verlaufsbeobachtung konnten keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden.

Für die hypotherm behandelte Ballongruppe II konnten am Ende der Baselinemessung annähernd identische zerebrale bzw. rektale Temperaturen gemessen werden. Die Hirntemperatur sank dann aber bis zum Zeitpunkt der maximalen Ballonexpansion im Mittel um $0,3\text{ °C}$ ($p = 0,025$) unter die rektale Temperatur. Im Gegensatz zu den normotherm behandelten Tieren in Ballongruppe I blieb die zerebrale Temperatur nach Abkühlung über die gesamte Zeitperiode der Hypothermie signifikant ($p < 0,05$) zwischen $0,58 - 0,85\text{ °C}$ oberhalb der rektalen Temperatur.

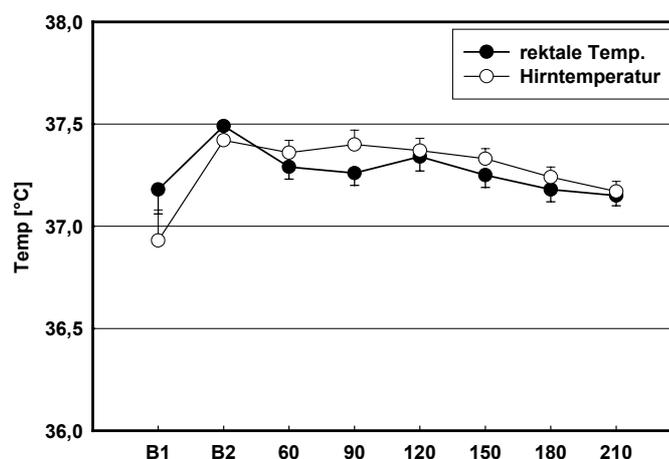


Abb.18: Verlauf der rektalen und zerebralen Temperatur der Kontrollgruppe B1: Beginn Baseline; B2: Ende Baseline;

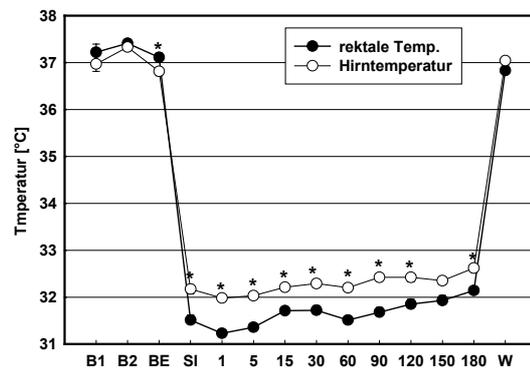
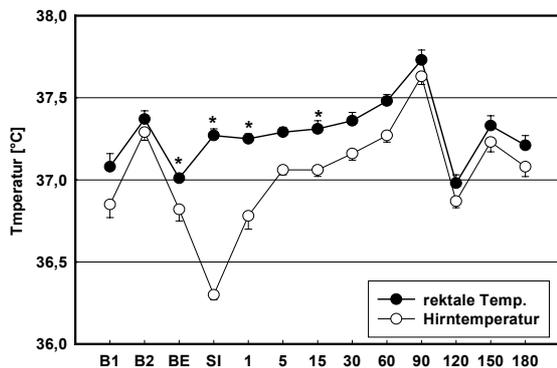


Abb 19 u. 20: Verlauf der rektalen und zerebralen Temperatur, Ballongruppe I (links) und Ballongruppe II (rechts). B1, Beginn Baseline; B2, Ende Baseline; BE, maximale Ballonexpansion; SI, Ende Kompressionsphase; 1, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 Minuten; W, Wiedererwärmung. MW \pm Stabw.

3.1.4. Die Ergebnisse der Elektroenzephalographie

Wie bereits erwähnt wurde die Elektroenzephalographie als Messparameter für die Vergleichbarkeit der zu erwartenden funktionellen neurologischen Schäden herangezogen und diente zur Definition des Endpunktes der Ballonexpansion.

Erwartungsgemäß fand sich in der Kontrollgruppe ein normales EEG (Skalenwerte zwischen 5 ± 0 und $4,71 \pm 0,46$). Die Expansion des Ballons wurde wie beschrieben mit Ausbleiben des EEG in Ballongruppe I sowie Ballongruppe II gestoppt. Die Skalenwerte der visuellen Beurteilungsskala nach de Witt (de Witt et al., 1992) betragen für die Ballongruppe I bei maximaler Ballonexpansion $1,58 \pm 0,9$. Nach 30 Minuten, d.h. zum Ende der Kompressionsphase, zeigten sich Skalenwerte von $2,26 \pm 1,63$, welche auf eine leicht gebesserte EEG – Aktivität hindeuteten. Eine vollständige Erholung konnte aber auch nach Reperfusion bis zum Ende der Verlaufsbeobachtung mit Skalenwerten von $3,79 \pm 1,27$ nicht beobachtet werden. In der hypotherm behandelten Ballongruppe II wurden Skalenwerte bei maximaler Ballonexpansion von $1,08 \pm 0,28$ erhoben, um dann während der Kompressionsphase auf Werte von $2,54 \pm 1,28$ anzusteigen. Am Ende der Hypothermie betragen die Skalenwerte $4,79 \pm 0,59$ und bewegten sich nach Wiedererwärmung sogar vollständig im Normbereich. Statistisch zeigte sich die EEG – Aktivität erstmals 120 Minuten nach Reperfusion in Ballongruppe II signifikant besser als in Gruppe I ($p < 0,05$).

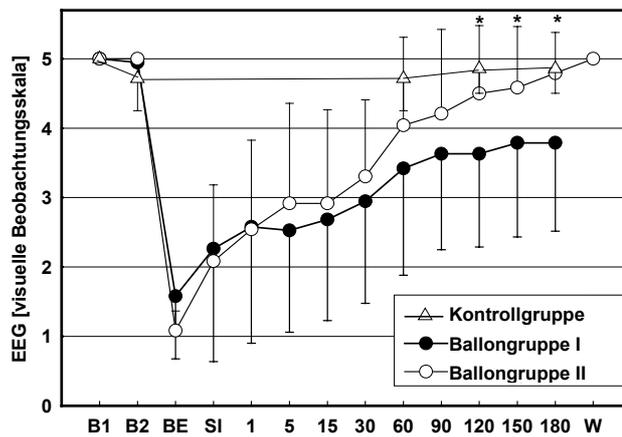


Abb.21 : Verlaufsbeurteilung der EEG Aktivität mittels visueller Beurteilungsskala der Kontrollgruppe, Ballongruppe I und Ballongruppe II. B1: Beginn Baseline; B2: Ende Baseline; BE: maximale Ballonexpansion; SI: Ende Kompressionsphase; 1, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 Minuten; W, Wiedererwärmung. MW \pm Stabw.

3.1.5. Gewichtsverlauf während der Langzeituntersuchung

Als weiterer Parameter für die Studie wurde der Verlauf des Körpergewichtes untersucht. Damit war es auch möglich, eventuelle Antriebsstörungen und eine damit verbundene verminderte Nahrungsaufnahme zu erfassen. Dafür wurden die Versuchstiere täglich gewogen.

Statistisch zeigte sich das Körpergewicht zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen 24 Stunden vor Trauma nicht signifikant unterschiedlich ($p < 0,05$). Im weiteren Verlauf kam es mit 16% des ursprünglichen Körpergewichtes allerdings zwischen dem 2. – 4. postoperativen Tag zu einer deutlichen Gewichtsabnahme der Ballongruppe I gegenüber der Kontrollgruppe. Dies stellte sich auch in der statistischen Auswertung als signifikant heraus ($p < 0,05$). Auf der anderen Seite zeigte sich wiederum nur ein geringer Gewichtsverlust in Ballongruppe II. Ab dem 6. Tag ließ sich eine kontinuierliche Gewichtszunahme in allen Gruppen beobachten s.u..

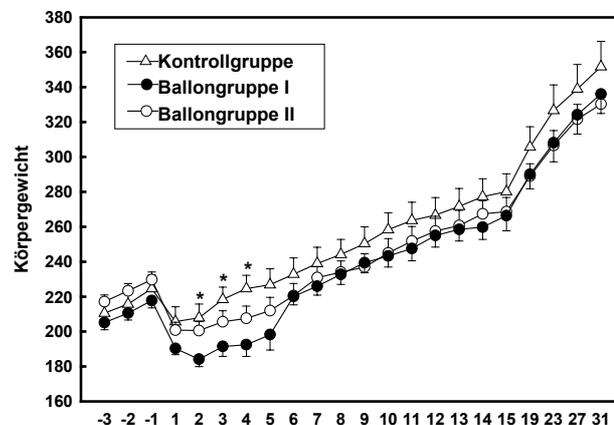


Abb.22 : Gewichtsverlauf der Kontrollgruppe, Ballongruppe I und Ballongruppe II. Tage vor [(-3)-(-1)] und nach Trauma [1 – 31]. MW \pm SE

3.2. Auswertung der Neuropsychologische Testverfahren

11 der insgesamt 59 eingesetzten Tiere mussten aus den unten aufgeführten Gründen von der Studie ausgeschlossen werden. Deswegen konnte die regelmäßige Testung der neuropsychologischen Funktionen nur bei 48 Tieren erfolgen. Im weiteren Verlauf kam es allerdings durch die Schädigung selbst, durch postoperative Komplikationen (fatale Infektionen etc.) und der technisch bedingten Mortalität zu weiteren Verlusten, sodass sich die Anzahl der zu testenden Tiere bis zuletzt auf 28 reduzierte (Kontrollgruppe, n = 9; Ballongruppe I, n = 8; Ballongruppe II, n = 11).

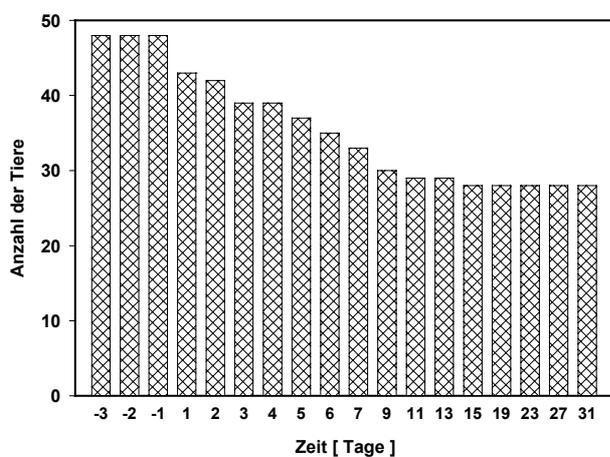


Abb.23 : Anzahl der zur Testung zur Verfügung stehenden Tiere in Abhängigkeit vom Tag nach Trauma

3.2.1. Posturaler Reflex

Wie bereits in der Methodik beschrieben, wurde der posturale Reflex als ein Baustein der neuropsychologischen Testbatterie zur Testung der Versuchstiere herangezogen. Dabei erfolgte die Erfassung nach Protokoll regelmäßig vom ersten posttraumatischen Tag bis zum Ende der 4 wöchigen Beobachtungsphase.

Die Auswertung der Daten erbrachte zum einen, dass in der Kontrollgruppe über den gesamten Zeitraum der vierwöchigen Nachuntersuchung durchgehend kein posturaler Reflex auslösbar war. Im Gegensatz dazu konnte der Reflex in der Ballongruppe I in 4 von 8 Tieren bis zum Ende der Verlaufsbeobachtung ausgelöst werden. Dagegen fand sich in der Ballongruppe II mit Hypothermie nur in den ersten drei posttraumatischen Tagen inkonstant ein posturaler Reflex. Statistisch ausgewertet bestand somit über den Gesamtverlauf betrachtet ein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe I und II ($p < 0,05$).

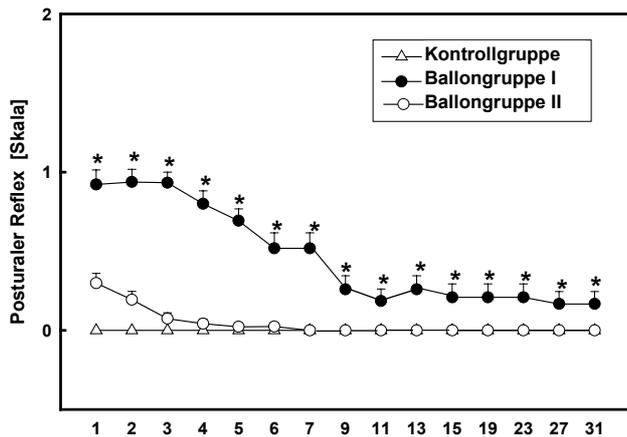


Abb.24 : Verlaufsbeurteilung des posturalen Reflexes der Kontrollgruppe IV, Ballongruppe V und Ballongruppe VI. [1. Tag bis 31. Tag nach Trauma]. MW ± SE.

3.2.2. Open Field Activity

Zur Aktivitätstestung wurden die Versuchstiere bereits 24 Stunden vor Applikation des Traumas herangezogen. Dabei zeigten die Tiere der Ballongruppe I überraschenderweise eine signifikant ($p < 0,05$) höhere Aktivität mit 17 ± 4 Balkenüberquerungen als die Kontrolltiere (13 ± 3) und Tiere der Ballongruppe II. Am 1. posttraumatischen Tag erschienen die Tiere der beiden Ballongruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant antriebsgemindert, die Tiere der Gruppe I mit 5 ± 4 und Gruppe II mit 5 ± 2 Überquerungen, wogegen die Kontrolltiere unveränderte Werte 24 h nach Traumainduktion aufwiesen. Der Vergleich beider Traumagruppen erbrachte allerdings keinen signifikanten Unterschied. Im weiteren posttraumatischen Verlauf kam es allerdings zu einer Annäherung der traumatisierten Gruppen an die Kontrollgruppe, sodass zwischen dem 3. bis 11. Tag kein signifikanter Unterschied in der „Open Field Aktivität“ zwischen den Gruppen bestand ($p = 0,275$). Am 11. bis 13. Tag nach Trauma waren die traumatisierten Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe wieder inaktiver ($p < 0,05$), während am 15. Tag wiederum kein Unterscheid zwischen den Gruppen bestand ($p = 0,059$). Im weiteren Verlauf konnte aber ab dem 19. Tag eine erneute und auch signifikante Antriebsminderung ($p < 0,05$) der Tiere der Ballongruppe I gegenüber den Kontrolltieren und erstmals auch gegenüber den hypotherm behandelten Tieren beobachtet werden. Diese hielt auch bis zum Abschluss der Verlaufsuntersuchung an. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe und Ballongruppe II unterschieden sich jedoch am Ende der Beobachtungszeit nicht mehr ($p < 0,01$).

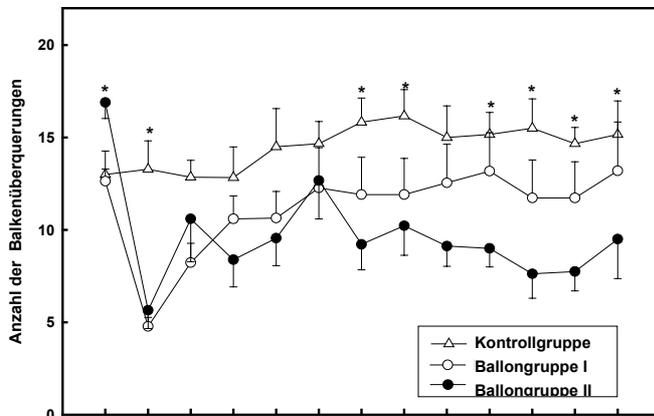


Abb.25 : Verlaufsbeurteilung der Open Field Aktivität der Kontrollgruppe IV, Ballongruppe V und Ballongruppe VI. Tage vor (-1) und nach Trauma (1 - 31). MW ± SE.

3.2.3. Beam Balance Test

Bei diesem Test mussten die Tiere einen Tag vor Applikation des Traumas beübt werden, und zwar solange bis das Tier in drei aufeinanderfolgenden Versuchen sicher für 60 s auf dem Balken stand und damit nach der Bewertungsskala von Clifton s.o. (Clifton et al., 1991) mit der Punktzahl von 1 bewertet wurde. Neben genannter Skala wurde ebenfalls die Latenzzeit, d.h. die Zeit, welche die Tiere sich auf dem Balken halten konnten, zur Auswertung der Testergebnisse herangezogen.

Die statistische Auswertung ergab, dass einen Tag vor dem Trauma die Tiere aller Gruppen eine Punktzahl von 1 ± 0 erreichten und damit problemlos in der Lage waren, stabil für 60 s auf dem Balken zu verbleiben ($p = 1,0$). In der Kontrollgruppe zeigte sich am ersten postoperativen Tag ein nahezu unveränderter Score mit $1,1 \pm 0,7$. Dagegen konnte man in der Ballongruppe I ein Abrutschen, zum Teil sogar Herunterfallen der Tiere vom Balken beobachten, welches einem Score von $3,7 \pm 0,2$ entsprach. Im Vergleich dazu zeigten sich die Tiere der hypotherm behandelten Ballongruppe II mit einer Punktzahl von $2,8 \pm 0,2$ weniger unsicher. Im Verlauf zeigten die Tiere der Ballongruppe I bis zum Abschluss der Untersuchungen am 28. postoperativen Tag signifikant schlechtere Werte ($p < 0,05$), während für die Tiere der Kontrollgruppe und der Ballongruppe II bereits ab dem 6. posttraumatischen Tag keine signifikanten Unterschiede mehr nachgewiesen werden konnten (Kontrollgruppe IV 1 ± 0 ; Ballongruppe VI $1,07 \pm 0,4$). Die zusätzliche Auswertung der Latenzzeit erbrachte, dass am ersten postoperativen Tag alle Kontrolltiere über 60 Sekunden auf dem Balken verblieben und im Vergleich dazu in Ballongruppe I 11 von 19

und in der hypotherm behandelten Ballongruppe II nur ein Tier die drei Durchgänge nicht überstand. Das bedeutete in der näheren Betrachtung, dass die Tiere in der Kontrollgruppe, verglichen mit denen der Ballongruppe II, während der gesamten Verlaufsuntersuchung keine statistisch signifikant unterschiedlichen Ergebnisse aufwiesen. Im Gegensatz dazu wurden bei den normotherm behandelten Tieren in den ersten 4 Tagen, mit durchschnittlichen Latenzzeiten zwischen $35,8 \pm 4$ und $57,9 \pm 1$, Werte gefunden ($p < 0,05$), die auf eine im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen höhergradige neurologische Schädigung hindeuteten.

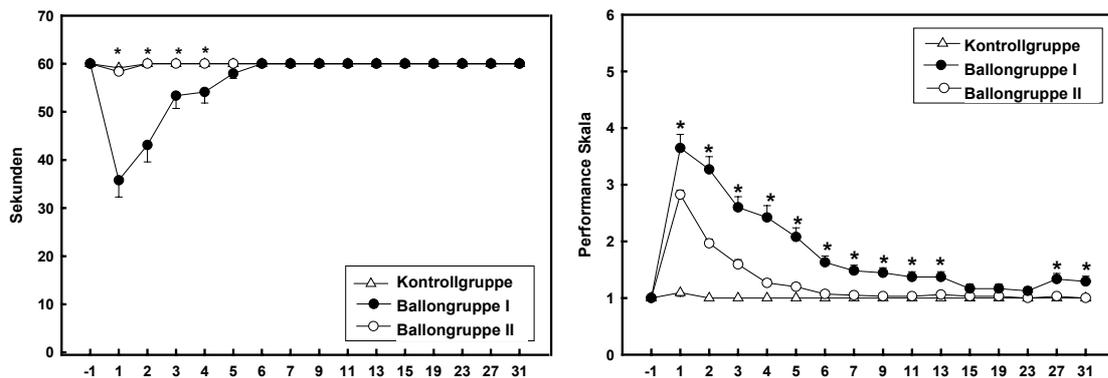


Abb.26 u. 27 : Verlaufsbeurteilung des Beam Balance Test von Kontrollgruppe, Ballongruppe I und Ballongruppe II. Tage vor (-1) und nach Trauma (1 - 31) $W \pm SE$.

3.2.4. Beam Walking Test

Für den „Beam Walking Test“, als Testung der sensomotorischen Integrationfähigkeit vor allem der Hinterläufe, mussten die Tiere 3 Tage vor Traumainduktion trainiert werden. Dabei wurden die Tiere solange geübt, bis sie fähig waren, den Parcours bei 3 aufeinanderfolgenden Durchgängen innerhalb von 8 s zu überqueren und dabei die volle Punktzahl nach genannter Performanceskala zu erreichen. Zur statistischen Auswertung wurden aus 3 Durchgängen die mittlere Latenzzeit zur Überquerung des Balkens und die im Mittel erreichte Punktzahl erfasst. Im Falle einer so starken Schädigung, dass das Tier nicht in der Lage war den Balken zu überqueren, wurden 80 s als Latenzzeit angenommen.

Die Auswertung ergab, dass in den 3 Tagen vor Trauma von allen Gruppen die volle Punktzahl erreicht wurde. Bezüglich der Latenzzeit konnte eine Verbesserung der Kontrollgruppe von $6,6 \pm 0,3$ s auf $5,4 \pm 1,3$ s, der Ballongruppe I von $6,6 \pm 0,3$ s auf $5,6 \pm 0,15$ s und der Ballongruppe II von $7,2 \pm 0,12$ s auf $6,2 \pm 0,2$ s beobachtet werden. Für die Kontrollgruppe zeigten sich auch nach Traumainduktion für die gesamte Verlaufsuntersuchung keine Abweichung von den Normalwerten für Latenzzeit und Performance. Im Gegensatz dazu zeigten beide Ballongruppen am ersten posttraumatischen

Tag deutlich schlechtere Ergebnisse mit Punktwerten von $3,1 \pm 0,4$ für die normotherm behandelte Ballongruppe I und $3,5 \pm 0,2$ für die hypotherm behandelte Ballongruppe II. Dabei konnten sogar 11 von 19 Tieren der Gruppe I und 7 der 23 Tiere der Ballongruppe II den Balken an diesem Tag nicht überqueren, weil die Folgen der Schädigung noch zu groß waren. Die Analyse des weiteren Verlaufes erbrachte, dass die Tiere der Hypothermiegruppe eine deutlich schnellere Erholung ihrer sensomotorischen Integrationsleistung zeigten und damit bereits am 3. Tag nach Trauma induktion ein signifikanter Unterschied zu der Normothermiegruppe anzutreffen war (Ballongruppe I $4,44 \pm 0,3$; Ballongruppe II $6,11 \pm 0,2$; $p < 0,05$). Verglichen mit den Kontrolltieren (7 ± 0) konnte für die Ballongruppe II ($6,78 \pm 0,07$) ab dem 4. posttraumatischen Tag bis zum Ende der Verlaufsbeobachtung kein signifikanter Unterschied mehr beobachtet werden. Für die Ballongruppe I hingegen wurden durchgehend bis zum 13. postoperativen Tag und erneut ab dem 27. Tag nach Trauma signifikant schlechtere Punktwerte erhoben ($p < 0,05$).

Simultan zu den für die Kontrollgruppe ermittelten Performancewerten zeigten sich auch für die Latenzzeiten posttraumatisch keine signifikanten Änderungen. Die Tiere benötigten über die gesamte Verlaufsuntersuchung für die Überquerung des Balkens weniger als 8 s. Die weitere Auswertung ergab für den 1. postoperativen Tag für die Ballongruppe I Latenzzeiten von im Mittel 56 ± 5 s gegenüber 43 ± 4 s in Ballongruppe II ($p > 0,05$). Wie bereits bei den Punktwerten zu erkennen, zeigten die Tiere der Gruppe II auch für die Latenzzeiten wesentlich schnellere Erholungstendenzen und verzeichneten bereits ab dem 3. posttraumatischen Tag mit 14 ± 2 s keine signifikanten Unterschiede mehr zur Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Im Gegensatz dazu betrug zum selben Zeitpunkt die Latenzzeit in Ballongruppe I mit 38 ± 4 s im Vergleich zu den hypotherm behandelten Tiere noch fast das Dreifache. Auch nach 4 Wochen stellte sich keine vollständige Erholung der in Ballongruppe I geschädigten Tiere ein. Am Ende der Verlaufsbeobachtung benötigten diese Tiere noch doppelt so lange zur Balkenüberquerung im Vergleich zu den Kontroll - oder hypotherm behandelten Tieren der Gruppe II ($p < 0,05$).

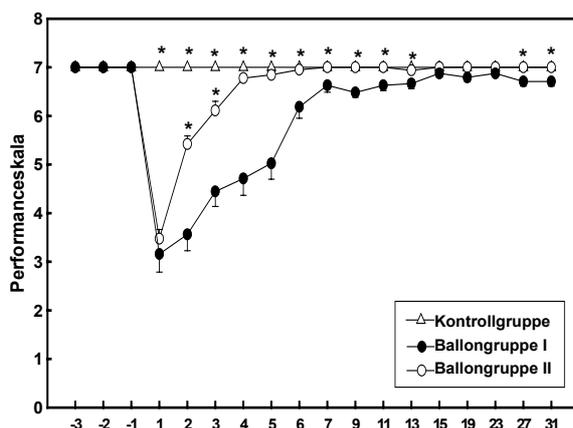


Abb.28 : Punktwerte und deren Verlauf des Beam Walking Test von Kontrollgruppe, Ballongruppe I und Ballongruppe II. Tage vor [(-3)-(-1)] und nach Trauma [1 - 31]. MW \pm SE.

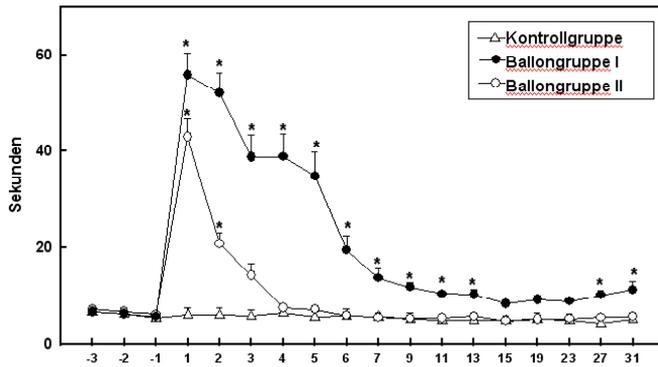


Abb.29: Latenzzeiten des Beam Walking Test von Kontrollgruppe, Ballongruppe I und Ballongruppe II. Tage vor [(-3)-(-1)] und nach Trauma [1 - 31]. MW ± SE.

3.2.5. Morris Water Maze Test

Dieser Test dient der Erfassung von Störungen im Bereich hippocampaler Strukturen und damit der Überprüfung der Gedächtnis- und Lernfunktionen. Für diesen Test war eine Beübung der Tiere im Vorfeld der Traumaapplikation nicht notwendig (siehe 2.2. Methoden). Pro Untersuchungstag wurden die Tiere vier Durchgängen unterzogen und für die statistische Auswertung das Mittel dieser vier Durchgänge bestimmt.

Die Analyse der Daten ergab für die Kontrollgruppe bereits eine deutliche Verringerung der Latenzzeiten bis zum Auffinden der Plattform vom ersten auf den zweiten Untersuchungstag (von 47 ± 9 s auf 13 ± 3 s). Dies entsprach schon annähernd den Werten, welche die gesunden Tiere im weiteren Verlauf der Untersuchung erreichten. Isoliert für sich betrachtet konnte am 1. Untersuchungstag (11. postoperativer Tag) für die Kontrollgruppe von Durchgang 1 bis Durchgang 4 bereits eine signifikante Abnahme ($p= 0,03$) der Latenzzeiten bis auf Werte von 14 ± 6 s beobachtet werden, welches somit für eine intakte Lernfähigkeit bzw. Gedächtnisfunktion bei diesen Tieren sprach. Nachdem sich die Latenzzeiten in den darauffolgenden Tagen bei unter 10 Sekunden eingependelt hatten, konnten auch keine weiteren signifikanten Unterschiede von Durchgang zu Durchgang des selben Tages ermittelt werden ($p>0,05$).

Für die hypotherm behandelte Ballongruppe II wurden für die ersten beiden Testtage Latenzzeiten von 82 ± 6 s und 41 ± 6 s ermittelt. Diese waren damit statistisch signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe verlängert ($p < 0,05$). Ab dem 3. Untersuchungstag (13. postoperativer Tag) erfolgte jedoch eine Angleichung an die Werte der Kontrollgruppe, sodass im weiteren Verlauf der Untersuchung keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe bestanden. Interessanterweise konnte aber bei dem Vergleich der Latenzzeiten von Durchgang 1 zu Durchgang 4 des selben Tages, im Gegensatz zu der Kontrollgruppe, beobachtet werden, dass alle Tiere dieser Gruppe beim 4. Durchgang kürzere Zeiten als beim ersten Durchgang aufwiesen. Eine statistische Signifikanz konnte für

den ersten Tag ($p = 0,03$) sowie die Tage 6 ($p = 0,002$) und 7 ($p = 0,36$) der Testung nachgewiesen werden.

Bezüglich der normotherm behandelten Ballongruppe I ergaben sich für alle getesteten Tage signifikant längere Latenzzeiten im Vergleich zur Kontrollgruppe und auch der Ballongruppe II ($p < 0,05$). Im Mittel benötigten sie zum Auffinden der Plattform am ersten Tag nach Trauma 107 ± 4 s und am zweiten Tag 82 ± 8 Sekunden. Da wie bereits erwähnt die Latenzzeitverlängerung über den gesamten Zeitraum der Verlaufsuntersuchung anhielt, benötigten die Tiere auch nach 4 Wochen und Abschluss der Untersuchung noch 29 ± 6 s zum Auffinden der Plattform. Im Vergleich dazu erreichten die Tiere der Kontrollgruppe und der Ballongruppe II im Mittel in 7 Sekunden das Ziel. Die Überprüfung der Lernfähigkeit von Durchgang zu Durchgang des selben Tages zeigte keinen eindeutigen Trend zu einer Latenzverkürzung zwischen Durchgang 1 und Durchgang 4 innerhalb aller Versuchstiergruppen.

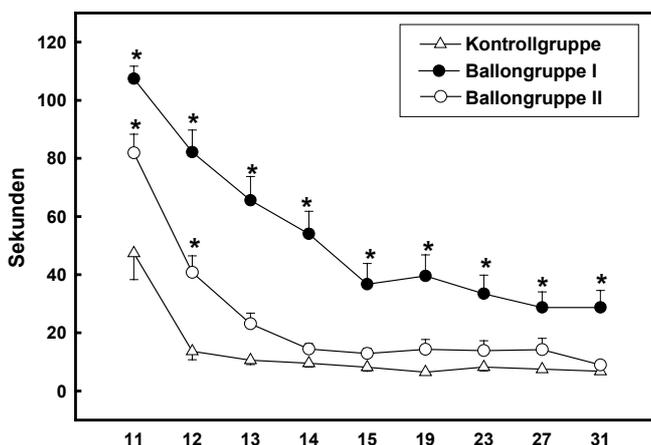


Abb.30 : Verlaufsbeurteilung der Latenzzeiten (Sekunden) des Water Maze Tests von Kontrollgruppe , Ballongruppe I und Ballongruppe II zwischen Tag 11 und 31 nach Trauma; MW \pm SE .

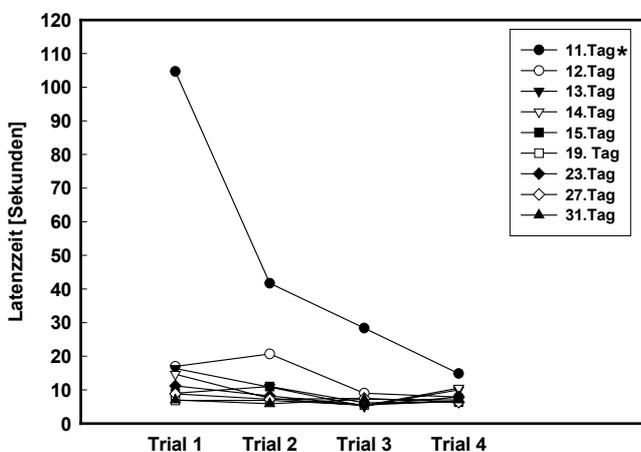


Abb.31: Darstellung von Gedächtnisleistung und Lernfähigkeit der Kontrollgruppe im Water Maze Test in Abhängigkeit von Tag nach Trauma und Anzahl der absolvierten Trials. MW, auf SE Darstellung wegen Übersichtlichkeit verzichtet. (*) = $p < 0,05$ Latenzzeit zwischen Trial 1 und Trial 4.

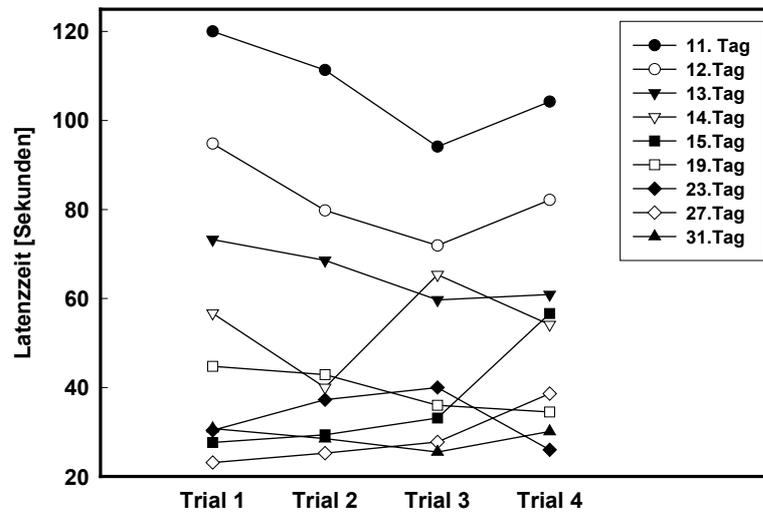


Abb.32 : Darstellung von Gedächtnisleistung und Lernfähigkeit von Ballongruppe I im Water Maze Test in Abhängigkeit von Tag nach Trauma und Anzahl der absolvierten Durchgänge. (*) = $p < 0,05$ Latenzzeit zwischen Trial 1 und Trial 4.

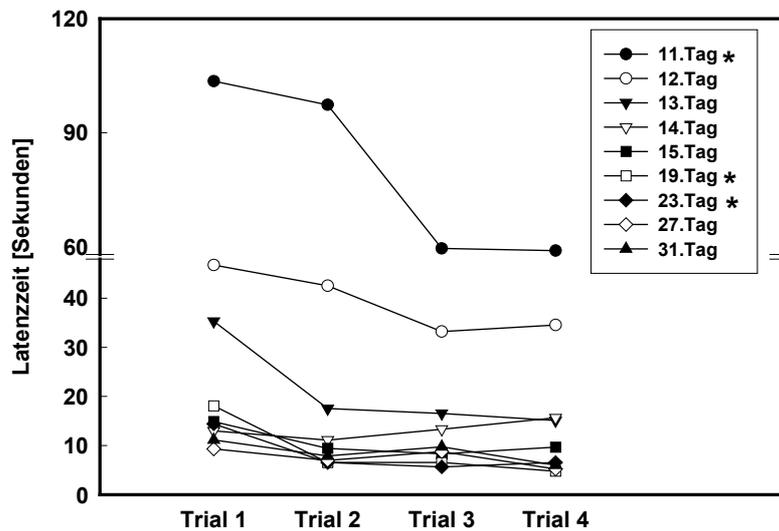


Abb.33: Darstellung von Gedächtnisleistung und Lernfähigkeit von Ballongruppe II im Water Maze Test in Abhängigkeit von Tag nach Trauma und Anzahl der absolvierten Durchgänge. (*) = $p < 0,05$ Latenzzeit zwischen Trial 1 und Trial 4.

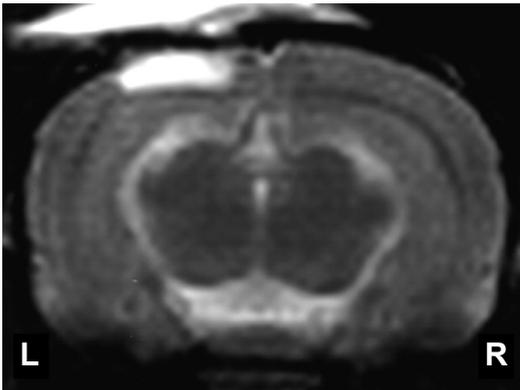
3.3. Auswertung der in „Vivo“ Kernspintomographie im Langzeitversuch

Zur Überprüfung eventuell allein durch die Präparation verursachter intrakranieller Verletzungen wurden auch bei 3 Tieren der Kontrollgruppe kernspintomographische Untersuchungen vorgenommen (Kontrollgruppe/ 1, 3, 5). Die kraniellen Kernspintomogramme zeigten bei allen 3 Tieren Normalbefunde, so dass bei parallel dazu gefundenen Normwerten in den neuropsychologischen Testverfahren auch bei den restlichen Tieren der Kontrollgruppe auf weitere kernspintomographische Untersuchungen in dieser Gruppe aus logistischen Gründen verzichtet wurde.

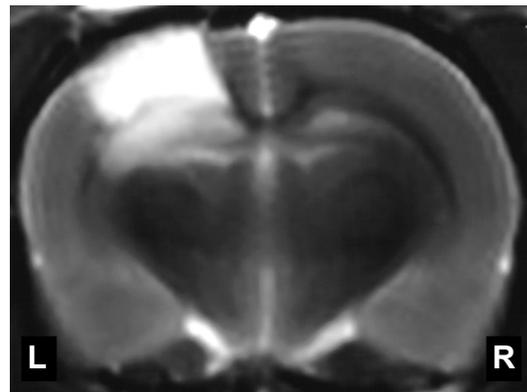
Es zeigte sich, dass gerade in der Frühphase, d.h. bis 7 Tage, nach Trauma viele Tiere beider Ballongruppen in der Narkoseeinleitung für die MRT-Untersuchung verstarben (Tab.:7). Deshalb wurde von der Ableitung weiterer früher kernspintomographischer Aufnahmen abgesehen. Damit sollte einer zu starken Reduktion der über 4 Wochen zu testenden Tieranzahl vorgebeugt werden, da die neuropsychologische Testung im Rahmen dieser Arbeit im Vordergrund stand. Insgesamt lagen nur bei 4 Tieren in Ballongruppe I und einem Tier in Ballongruppe II ein frühes MRT vor. Diese Aufnahmen wurden nicht in die Auswertung einbezogen. Im Gegensatz dazu war es aber möglich, ohne erhöhte Narkosemortalität, zwischen den 26. und 30. postoperativen Tag bei insgesamt 8 Tieren der Ballongruppe I und 10 Tieren der Ballongruppe II, MRT Aufnahmen durchzuführen. Anschließend erfolgte die Auswertung gemäß der in der Methodik geschilderten Gradeinteilung. In der normotherm behandelten Ballongruppe konnten 2 Tiere mit einer Grad 1, 3 Tiere mit einer Grad 2 und 3 Tiere mit einer Grad 3 Schädigung gefunden werden. Typischerweise zeigten vor allen Tiere mit einer Grad 2 und 3 Schädigung, ischämische, hyperintense Areale im Bereich des Kortex. Die Analyse der Aufnahmen, welche für die hypotherm behandelten Tiere durchgeführt wurden, ergab ein Tier mit einer Grad 1 Schädigung sowie 9 Tiere mit einer Grad 4 Schädigung. Anders als bei den Tieren der Ballongruppe I zeigten sich in der Hypothermiegruppe Schädigungen, welche unter Erhaltung des Cortex eher subcortical zu finden waren und als liquorintense Bezirke in den T2 gewichteten Aufnahmen teils unterhalb des Cingulum und des Corpus callosum imponierten und kernspintomographisch am ehesten einer Gewebeerreißung entsprachen. Für die Ballongruppe II findet sich in der beschreibenden Auswertung der kernspintomographischen Aufnahmen ein deutlich ausgeprägter Schaden im Bereich des Cortex . Insgesamt lassen sich daher am ehesten 2 unterschiedliche Schädigungsmuster differenzieren. Auf der einen Seite eine kortikale Schädigung verbunden mit einer Schädigung im Bereich der Stammganglien als stärkste Ausbreitungsform in Ballongruppe I und auf der anderen Seite ein eher subkortikaler, unterhalb des Cingulums oder des Corpus

callosum , meist sichelförmig angeordneter Schädigungstyp, der bei gleichzeitiger Erhaltung des Kortex hauptsächlich in Ballongruppe II zu finden war.

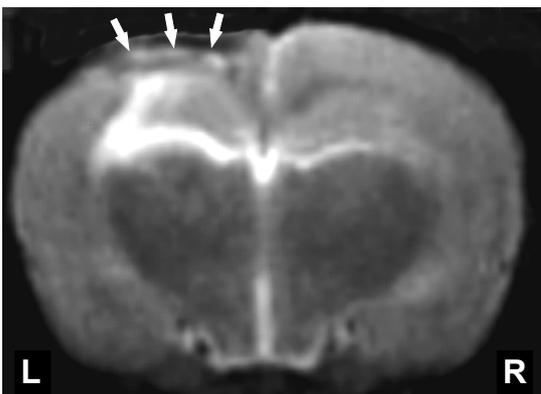
Normothermie
- leichte Schädigung -



Normothermie
- starke Schädigung -



Hypothermie
- leichte Schädigung -



Hypothermie
- starke Schädigung -

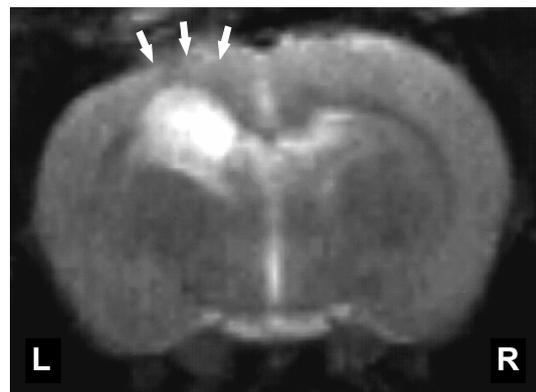


Abb.34-37: Darstellung der im Text beschriebenen unterschiedlichen Schädigungsmuster zwischen Ballongruppe I (Normothermie; oben) und Ballongruppe II (Hypothermie, unten) 4 Wochen nach Trauma-induktion. In Normothermie deutlich größere, kortikale Defekte (ausgestanzte, kortikale Hyperintensität) als unter Hypothermie. Unter Hypothermie weitgehend erhaltener Kortex (weiße Pfeile) und liquorintense, subkortikale Kompartimente und Ventrikeldilatation durch Gewebeerreißungen im Bereich des Cingulum und des Balkens.

3.4. Studienausschluss, Mortalität und Komplikationen

3.4.1. Studienausschluss

Darunter wurden die Tiere zusammengefasst, die aufgrund versuchstechnischer Schwierigkeiten bereits vor bzw. während der Onlinedatenerfassung verstarben oder so stark geschädigt waren, dass sie der neuropsychologischen Testung nicht mehr zu unterziehen waren.

Seitens der Kontrollgruppe musste kein einziges Tier aus der Studie ausgeschlossen werden. In Ballongruppe I verstarben während des Versuchablaufes 4 Tiere. Davon erlagen bereits 2 Tiere bei der Narkoseeinleitung in der Ätherglocke. Die beiden anderen verstarben während der maschinellen Beatmung an den Folgen einer respiratorischen Insuffizienz. Des Weiteren wurde 1 Tier wegen einer zu starken Schädigung und damit Unmöglichkeit der neuropsychologischen Testung und ein weiteres wegen einer zu geringen, nicht standardisierten Ballonexpansion von der Onlineauswertung und den neuropsychologischen Testverfahren ausgeschlossen.

In der Ballongruppe II verstarb ein Tier in der Ätherglocke. 2 Tiere entwickelten ebenfalls, wie in der normotherm behandelten Gruppe, während der maschinellen Beatmung eine respiratorische Insuffizienz. Außerdem musste ein Tier ausgeschlossen werden, nachdem es passager im Rahmen eines hypoxischen Geschehens beidseits weite und lichtstarre Pupillen entwickelt hatte. Zusätzlich wurde ein Tier mit einer Vestibularisstörung ausgeschlossen, bei dem eine sinnvolle Testung unmöglich war.

Tab.5 Ursachen für Studienausschluss, VT= Versuchstier

Tiergruppe	Studienausschluss
Ball I - VT 5	Bei Narkoseeinleitung in Ätherglocke verstorben
Ball I - VT 6	Bei Narkoseeinleitung in Ätherglocke verstorben
Ball I - VT 8	zu starke Schädigung, keine Extubation möglich
Ball I - VT 17	respiratorische Insuffizienz, V.a. Lungenödem
Ball I - VT 18	respiratorische Insuffizienz
Ball I - VT 20	nicht standardisierte Ballonexpansion
Ball II - VT 3	Vestibularisstörung
Ball II - VT 10	respiratorische Insuffizienz unklarer Genese
Ball II - VT 18	respiratorische Insuffizienz d. Lungenödem
Ball II - VT 20	Unklare Hypoxie bei Trauma, passagere Pupillomotorikstörung
Ball II - VT 22	Bei Narkoseeinleitung in Ätherglocke verstorben

3.4.2. Mortalität und Komplikationen

Im Zeitraum der Verlaufsuntersuchungen ist innerhalb der Kontrollgruppe bei einem Tier eine massive Wundinfektion mit sekundärer Abzedierung aufgetreten, welche zum Tode des Tieres führte. Bei den restlichen Tieren der Kontrollgruppe kam es zu keinerlei perioperativen, bzw. während der neuropsychologischen Testung aufgetretenen Komplikationen. Die Ballongruppe II verzeichnete eine Gesamtmortalität von 60 % bis zum Ende der Verlaufsuntersuchung. Davon waren beinahe $\frac{3}{4}$ (70 %) der Todesfälle unmittelbar als Folge des Traumas anzusehen. Klinisch ließ sich dies anhand der ausgeprägten neurologischen Störungen in Verbindung mit starker Gewichtsreduktion beobachten, wobei die Tiere bis zum 6. Tag verstarben. Die nachträgliche Begutachtung der Online erfassten Daten erbrachte, dass bei 3 dieser Tiere ein Cushing Syndrom aufgetreten war. 2 weitere Tiere dieser Gruppe verstarben narkosebedingt im Rahmen der Vorbereitung für die Kernspintomographie. Bei einem Tier konnte die Todesursache nicht eindeutig eruiert werden. Des weiteren entwickelte ein Tier am 15. Tag nach Trauma eine Wundheilungsstörung.

In der hypotherm behandelten Ballongruppe II verstarben narkosebedingt 3 Tiere im NMR und ein Tier bei einer nach Wundinfektion notwendig gewordenen Wundrevision. Ein weiteres Tier konnte aufgrund einer massiven Augeninfektion nicht gerettet werden. Zusätzlich verstarben 3 weitere Tiere durch eine letal endende Pneumonie, einer systemischen Entzündung unklarer Genese und einer Darmperforation, hervorgerufen durch die rektal angelegte Temperatursonde. Damit war die Zahl der fatalen Infektionen in der hypotherm behandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe und den normothermen Tieren um 15% erhöht. Dieser Unterschied erreichte jedoch keine statistische Signifikanz ($p=0,268$). Zusätzlich traten, neben den letalen Verläufen, beherrschbare Komplikationen im Sinne von Wundheilungsstörungen und einer Augeninfektion auf (s.a. Tab. 6). Die Auswertung ergab eine signifikant höhere Rate an Wundheilungsstörungen unter den hypotherm behandelten Tieren im Vergleich zu denen der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Der Vergleich innerhalb beider Ballongruppen erbrachte, aufgrund der geringen Fallzahlen, trotz sechsfach höherer Anzahl an Wundheilungsstörungen in Ballongruppe II ($n = 6$) verglichen mit Ballongruppe I ($n=1$), kein statistisch signifikantes Ergebnis ($p > 0,05$). Diese beherrschbaren Komplikationen hatten zudem keinen Einfluss auf die Durchführung der neuropsychologischen Testverfahren.

Tab. 6 Ursachen für Komplikationen

Tiergruppe	Komplikationen	Tag n. Trauma
Ball I- VT 7	Wundheilungsstörung	15
Ball II-VT 15	Augeninfektion	4
Ball II-VT 17	Wundheilungsstörung	6
Ball II-VT 19	Wundheilungsstörung	10
Ball II-VT 21	Wundheilungsstörung	6
Ball II-VT 22	Wundheilungsstörung	13
Ball II-VT 23	Wundheilungsstörung	9

Tab.7 Mortalität während Testung

Tiergruppe	Mortalität	Tg.n SHT
Kont - VT 5	Fatale Wundheilungsstörung (Abzeß)	11
Ball I- VT 1	Narkosebedingte Mortalität bei Vorbereitung auf NMR	5
Ball I- VT 2	Schädigungsbedingte Mortalität	6
Ball I- VT 5	Unklare Mortalität, Allgemeinverschlechterung	8
Ball I- VT 6	Schädigungsbedingte Mortalität, Cushing Syndrom	1
Ball I- VT 8	Narkosebedingte Mortalität bei Vorbereitung auf NMR	14
Ball I- VT 9	Schädigungsbedingte Mortalität, Cushing Syndrom	3
Ball I- VT 11	Schädigungsbedingte Mortalität, Cushing Syndrom	1
Ball I- VT 15	Schädigungsbedingte Mortalität	5
Ball I- VT 16	Schädigungsbedingte Mortalität	2
Ball I- VT 19	Schädigungsbedingte Mortalität	6
Ball II- VT4	Ileus (bedingt durch Temperatursonde)	6
Ball II- VT 5	Fatale Augeninfektion	3
Ball II - VT 6	Fatale Infektion	7
Ball II - VT 7	Narkosebedingte Mortalität bei Vorbereitung auf NMR	8
Ball II - VT 8	Schädigungsbedingte Mortalität, Gewichtsreduktion	1
Ball II - VT 9	Narkosebedingte Mortalität bei Vorbereitung auf NMR	7
Ball II - VT 10	Pneumonie	1
Ball II - VT 11	Narkosebedingte Mortalität bei Wundrevision	8
Ball II - VT 12	Narkosebedingte Mortalität bei Vorbereitung auf NMR	3



Abb.38-40 : Darstellung von Wundheilungsstörungen an Kopf und Schwanz . In einem Fall der Kontrollgruppe fatale Wundinfektion mit sekundärer Abzedierung im Bereich der gesetzten Läsion (links oben).

3.5. Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

Nach Abschluss der Verlaufsbeobachtung (4 Wochen) wurden die Tiere nach der unter Methodik beschriebenen Weise auf histologische Spätveränderungen nach Trauma untersucht. Dabei war neben der Begutachtung des Schädigungsausmaßes und der hippocampalen Veränderungen auch von Interesse, ob sich im Verlaufe der vierwöchigen Nachuntersuchungen ein posttraumatischer Hydrozephalus ausgebildet hatte.

Bei rein makroskopischer Betrachtung der Schädigung zeigte sich nach Entfernung des Ballons in der Kontrollgruppe eine unveränderte Duraoberfläche, im Vergleich dazu konnte bei allen Tieren der normotherm behandelten Ballongruppe I eine schmale, epidurale Blutauflagerung gefunden werden. Bei den Tieren der Hypothermiegruppe wiederum zeigten sich nur intermittierend epidurale Blutauflagerungen. Zusätzlich ließen sich auch nach Eröffnung der Dura keine ausgeprägten, subarachnoidalen Unterblutungen ausmachen. Nach erfolgter Perfusionsfixation und Entnahme des Gehirns stellte sich in allen Fällen der Kontrollgruppe (n = 9) eine komplett unauffällige Hirnoberfläche dar. Bei den Tieren der Ballongruppe I (n = 8) konnte ohne Ausnahme ein Substanzdefekt und deutliche Hämosiderinablagerungen an der Hirnoberfläche nachgewiesen werden. Auf der anderen Seite waren in der hypothermen Gruppe bei nur 55 % der Fälle ein Substanzdefekt, bei geringerer Hämosiderinablagerung, nachweisbar.

Die morphometrische Analyse des Schädigungsbezirkes nach Morikawa (siehe 2.4.) ergab für die hypotherm behandelten Tiere gegenüber denen der Ballongruppe I ein um 35 % signifikant kleineres Schädigungsareal ($p = 0,026$) 3 mm vor dem Bregma, in Höhe des Bregmas ein um 28 % kleineres, jedoch nicht signifikant unterschiedliches Schädigungsausmaß ($p = 0,055$) und in Höhe Bregma -3 eine um 11 % kleinere Schädigung ($p = 0,48$). In Höhe Bregma -9 konnte kein Unterschied der Defektareale ermittelt werden. Die Addition aller der für die Orientierung zum Bregma in Beziehung gebrachten Flächen für die Gesamtbeurteilung ergab für die hypotherm behandelten Tieren ein um 21 % kleineres, jedoch statistisch nicht signifikant unterschiedliches Schädigungsausmaß ($p = 0,467$).

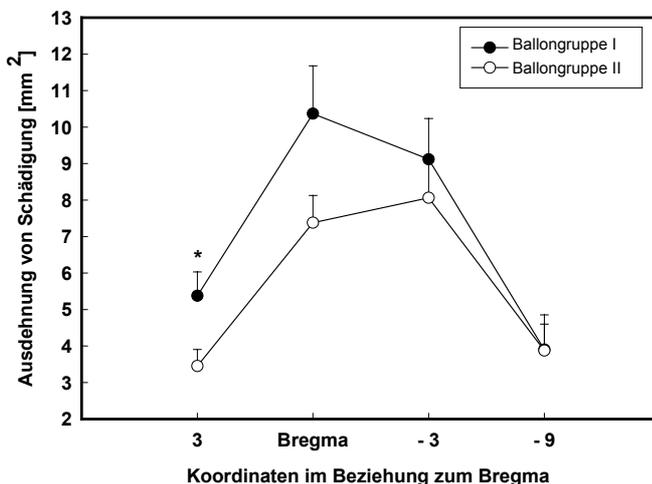


Abb.41: Darstellung der Schädigungsgröße nach Morikawa von Ballongruppe I und II. MW ± SE.

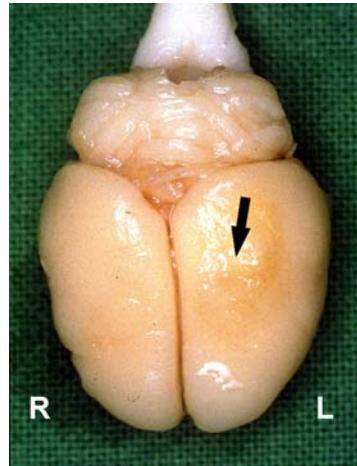
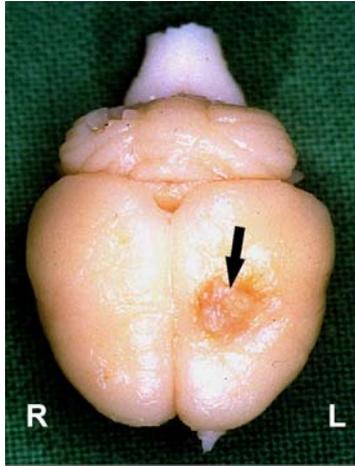


Abb.42-43 : Makroskopische, repräsentative Beurteilung von Hirnoberfläche eines normothermen behandelten Tieres der Ballongruppe I (links) und der Ballongruppe II (rechts)

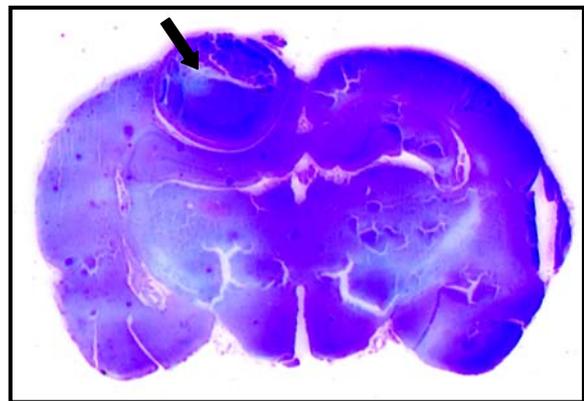
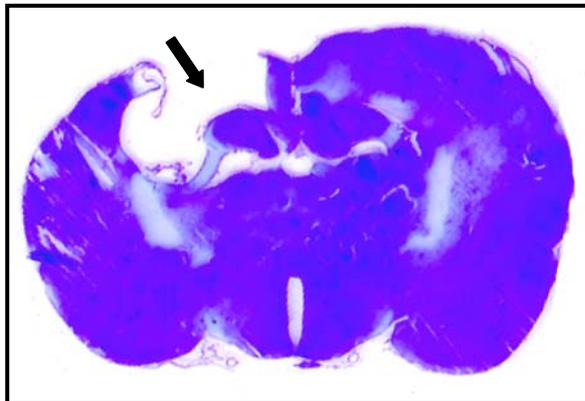


Abb.44-45 : Koronare Schnitte von Tier der normotherm behandelten Ballongruppe I mit schlechten Testergebnissen (links) und deutlichem Substanzdefekt nach 4 Wochen in Bereich der Ballonexpansion. Tier der Hypothermiegruppe (rechts) mit oberflächlicher Schädigung und tiefer liegender, leichter Gewebelazeration bei guten neuropsychologischen Testergebnissen (Kresylviolett).

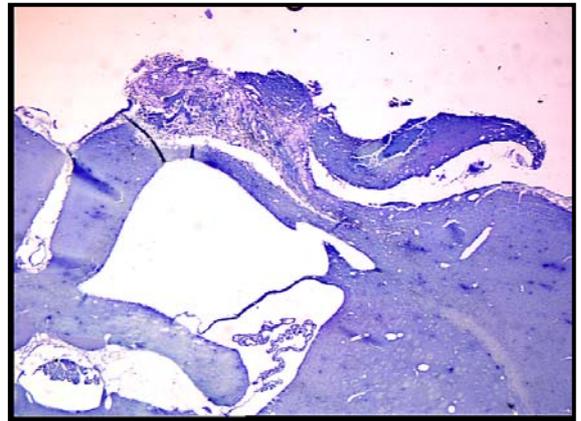
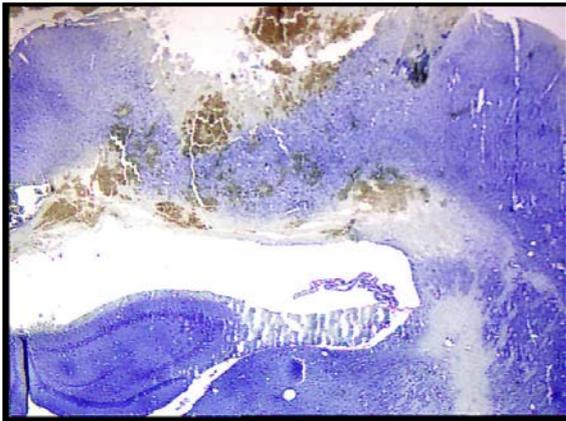


Abb.46-47 : Ausschnittsvergrößerung histopathologischer Befunde von Kortex mit Darstellung von Substanzdefekt mit umgebender Ichämiezone mit geschrumpften, hyperchromatierten Zellen, rechts organisierter Ischämiebezirk 4 Wochen nach Traumaapplikation im Kortexbereich

Die Beurteilung des Nervenzellverlustes im Bereich der Zellverbände CA1 – CA4 wurde durch die Erfassung der Gesamtneuronenanzahl, der Absolutzahl der vitalen Neuronen und des prozentualen Anteils vitaler Zellen an der Gesamtpopulation möglich.

Die Auswertung der Gesamtneuronenanzahl in der geschädigten Hemisphäre ergab nur für die Kontrollgruppe in den CA3 und CA4 Feldern signifikant geringere Nervenzellpopulationen ($p < 0,05$). Ansonsten konnten zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede gefunden werden. Die Auszählung der vitalen Neurone erbrachte im CA1 – Feld eine signifikant geringere Anzahl vitaler Neurone in der normotherm behandelten Ballongruppe I im Vergleich zur Kontrollgruppe und der Ballongruppe II ($p < 0,05$). In der Auswertung des CA2 Feldes ließ sich für alle 3 Gruppen ein signifikanter Unterschied ($p = 0,024$) finden. Dabei konnte erwartungsgemäß in der Kontrollgruppe die höchste Anzahl vitaler Neurone gefunden werden. Im Vergleich dazu zeigte sich im CA3 Feld zwischen den Absolutzahlen der Gruppen kein Unterschied ($p = 0,06$) und im CA4 Feld fand sich sogar überraschenderweise eine verminderte Anzahl der Zellen in der Kontrollgruppe gegenüber den anderen Gruppen ($p = 0,016$).

Die Beurteilung des prozentualen Anteils der vitalen Zellen erbrachte für das CA1 Feld eine signifikante Reduktion der Neuronenpopulation bei den normotherm behandelten Tieren, wogegen sich zwischen Kontrollgruppe und Ballongruppe II kein Unterschied zeigte ($p =$

0,001). Die Auswertung des CA2 Feldes zeigt zwar einen um 7% signifikant verminderten prozentualen Anteil vitaler Zellen in der hypothermen Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe, gleichzeitig war jedoch die Anzahl vitaler Zellen um 15 % höher als bei den normotherm behandelten Tieren ($p = 0,001$). Im CA 3 Feld fanden sich für die hypotherm behandelten Tiere eine um 12% höhere Anzahl der vitalen Zellen als in der normotherm behandelten Ballongruppe I ($p = 0,003$) und im CA 4 Feld zeigte sich sogar eine Zunahme um 16 % ($p = 0,009$). Allerdings erbrachte die Auszählung im CA 4 Feld auch, dass die Zahl vitaler Neurone hypotherm behandelter Tiere die Anzahl der Zellen in Kontrollgruppe überstieg.

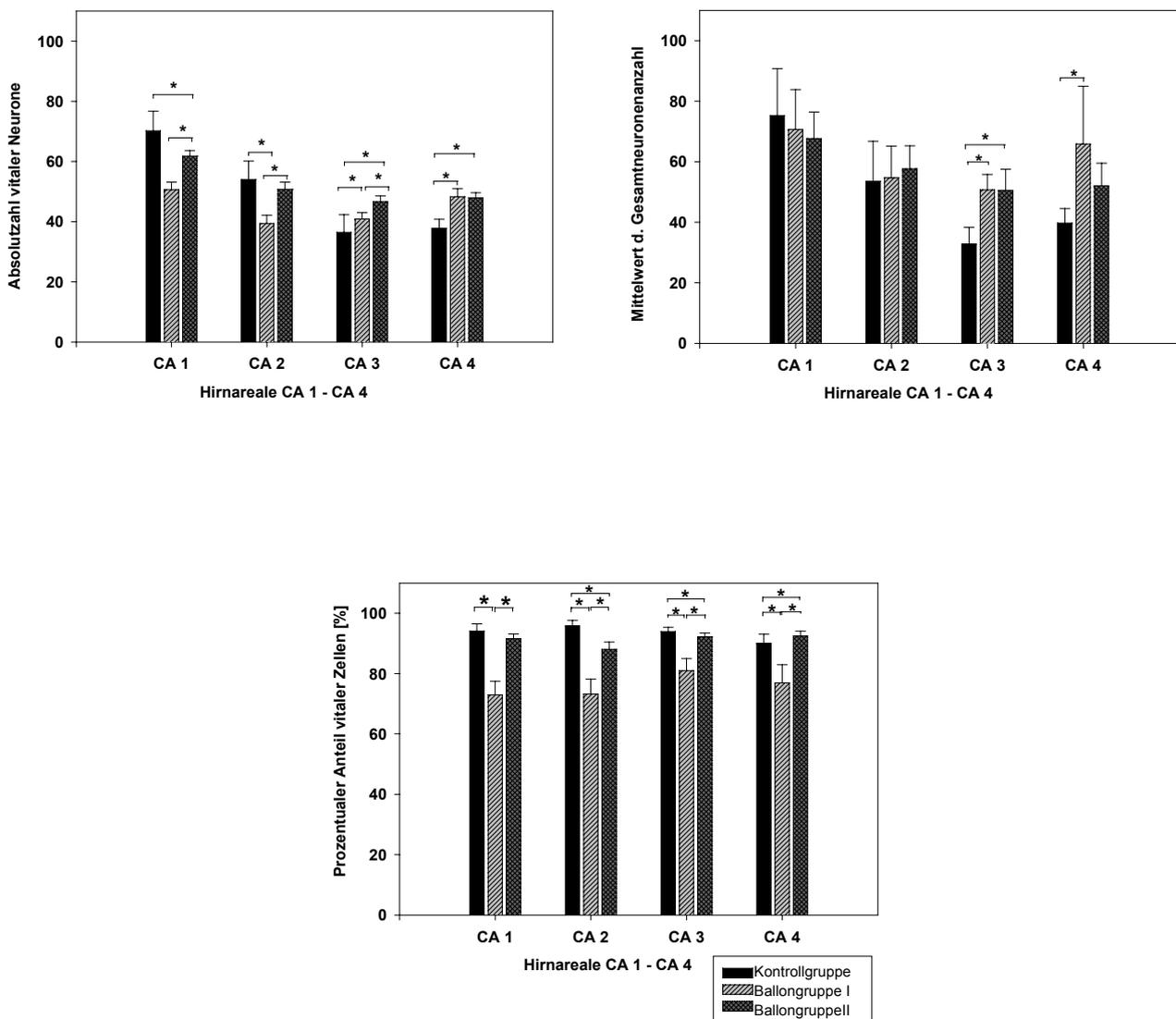


Abb.48-50 : Im Vergleich CA1 – CA4 Felder unter Berücksichtigung der Absolutanzahl der vitalen Neurone (links oben), Gesamtneuronenzahl (rechts oben) und des prozentualen Anteils der vitalen Neurone an der Gesamtneuronenpopulation bei Ballongruppe I und II. MW ± SE.

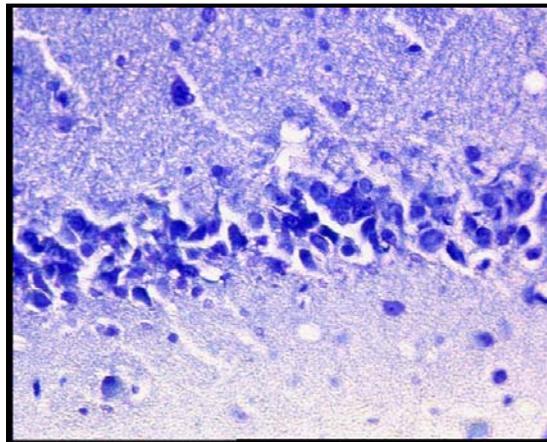
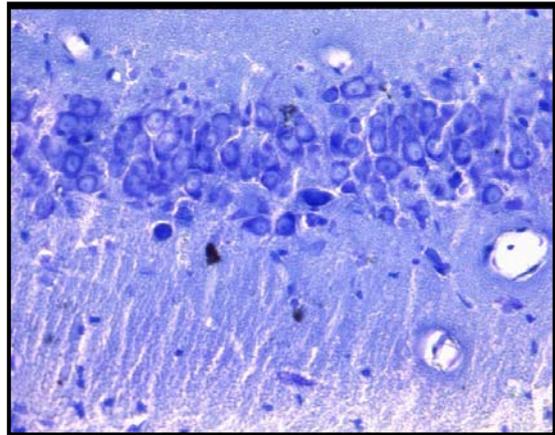
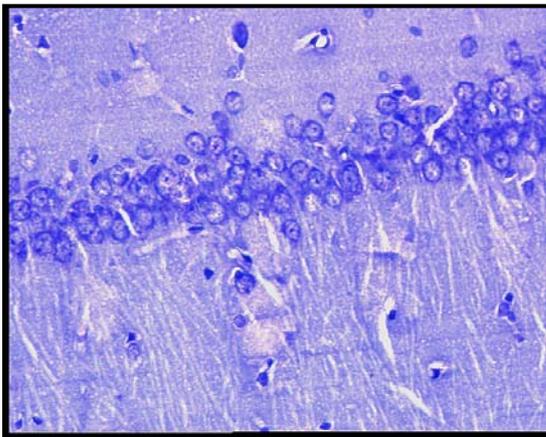


Abb.51-53 : Pyramidenzellen des Hippocampus. Normales CA 1 Feld (oben links, Kontrollgruppe), leichte Schädigung mit Nachweis einzelner geschrumpfter, hyperchromatiner Zellen (oben rechts, Ballongruppe II) und deutliche Schädigung mit massivem Neuronenverlust (unten, Ballongruppe I).

3.6. Posttraumatischer Hydrozephalus

Es wurde ebenso die im klinischen Alltag relevante Fragestellung des Einflusses einer Hypothermiebehandlung auf die Ausbildung eines posttraumatischen Hydrozephalus untersucht. Dabei war es im Rahmen der Nachuntersuchung bei 7 von 8 Tieren der Ballongruppe I und 10 von 11 Tieren der Ballongruppe II möglich, kernspintomographische Abschlussuntersuchungen zwischen dem 28. – 35. Tag nach Trauma mit den histologischen Befunden in Bezug auf die Entwicklung einer posttraumatischen Ventrikelerweiterung zu vergleichen.

Bei den normotherm behandelten Tieren der Ballongruppe I konnte im MRT bei einem Tier eine deutliche Ventrikelerweiterung, bei vier Tieren eine deutliche Asymmetrie mit Ventrikelerweiterung ipsilateral zur Schädigung und bei zwei Tieren keine eindeutige Ventrikelerweiterung gefunden werden. Im Vergleich dazu ergab die histologische Begutachtung bei zwei Tieren eine deutliche, bilaterale Ventrikelerweiterung. Vier Tiere zeigten eine asymmetrische, ipsilaterale Erweiterung und bei einem Tier waren keine Anzeichen für einen Hydrozephalus nachweisbar.

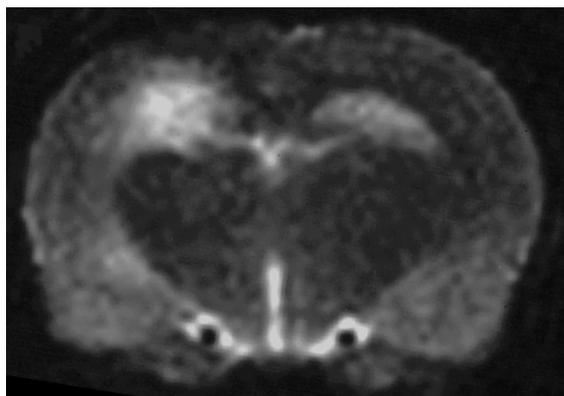
Im Gegensatz dazu konnten bei den Tieren der hypotherm behandelten Gruppe im MRT nur bei einem Tier eine massive bilaterale Erweiterung der Ventrikelerweiterung gefunden werden. Fünf Tiere zeigten eine asymmetrische, ipsilaterale Ventrikelerweiterung und vier wiesen keine Zeichen eines Hydrozephalus auf. Der histologische Vergleich ergab bei einem Tier eine deutliche Erweiterung, bei sechs eine Ventrikelasymmetrie und bei 3 Tieren keine Anzeichen für einen Hydrozephalus.

Der Vergleich der kernspintomographischen Befunde mit den histologischen Begutachtungen zeigte bei insgesamt 5 von 17 Tieren keine eindeutige Übereinstimmung. Nach histologischer Beurteilung musste die Ventrikelerweiterung bei 4 der 5 Tiere als ausgedehnter und hydrozephaler eingestuft werden.

Kernspintomographisch ließen sich keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen nachweisen. Histologisch fand sich bei 6 von 7 Tieren der Ballongruppe I und in 7 von 10 Tieren der Ballongruppe II eine Ventrikelasymmetrie oder eine generalisierte Erweiterung, sodass sich anhand dieser Daten kein signifikanter Einfluss der hypothermen Behandlung auf die Ausbildung eines posttraumatischen Hydrozephalus postulieren lässt. In der Kontrollgruppe ließen sich mit beiden Untersuchungsmethoden keine pathologischen Ventrikelerweiterungen nachweisen.

Gruppe II	NMR	Histologie
Tier 7	0	1
Tier 12	0	0
Tier 13	1	1
Tier 14	1	1
Tier 15	2	2
Tier 16	1	1
Tier 17	1	1
Tier 21	0	0
Tier 22	1	0
Tier 23	0	1

Gruppe I	NMR	Histologie
Tier 4	0	1
Tier 7	0	0
Tier 10	1	1
Tier 13	1	1
Tier 14	2	2
Tier 17	1	1
Tier 18	1	2



Tab.8 : Korrelation zwischen Ventrikelweite in MRT Abschlußuntersuchung und histologischem Befund in Ballongruppe I und II. Grad 0 = keine oder nur geringfügige Ventrikelvergrößerung, Grad 1 = Ventrikelasymmetrie, ipsilateral deutlicher ausgeprägt als kontralateral; Grad 2 = starke Ventrikelvergrößerung

Abb.54-55 : Koronarer Schnitt in Ventrikelebene mit Hydrozephalus (rechts/ Kresylviolett) und T2 gewichtetes NMR mit hydrocephaler Ventrikelkonfiguration (links).

4. Diskussion

4.1. Das Tiermodell

Ziel der Studie war es auf der einen Seite ein Tiermodell bei der Ratte zu etablieren, welches dem klinischen Bild einer extraaxialen, traumatischen epiduralen Raumforderung entspricht und auf der anderen Seite die Auswirkungen einer induzierten moderaten Hypothermie auf das neurologische Outcome der Versuchstiere erfassen kann.

Es wurde streng darauf geachtet, dass neben Tieren aus dem selben Tierstamm (Sprague Dawley) nur die Tiere eines Züchters verwendet wurden. Ratten des selben Stammes, die von verschiedenen Züchtern stammen, können eine signifikant unterschiedliche Anzahl an Hirngefäßanastomosen besitzen und damit kann es zu deutlichen Größenunterschieden in der Ausbildung des Ischämieareals kommen. Dies wurde bereits in Tiermodellen nach Okklusion der Arteria carotis (Oliff et al., 1997) gezeigt.

Damit war eine Homogenität der Versuchsergebnisse gewährleistet, die sich durch die inzuchtbedingte Vergleichbarkeit der Reaktionen auf pathologische Veränderungen erklären lässt (Ginsberg et al., 1989). Außerdem erscheint die Ratte als Versuchstier gut geeignet, da sie ein knöchernes Tentorium besitzt und somit eine Kompartimentierung in einen supra- und infratentoriellen Raum möglich war. Damit bestehen ähnliche anatomische Voraussetzungen wie bei größeren, in anderen Modellen verwendeten Tierspezies (Bedell et al., 1998; Ebmeyer et al., 1998), oder dem Menschen. Damit ist es möglich vergleichbare pathophysiologische und histologische Veränderungen nach Applikation einer transaxialen, epiduralen Raumforderung auf das Gehirn hervorzurufen.

Das in dieser Arbeit angewandte Ballonexpansionmodell wurde bereits in Untersuchungen zerebraler Neuromonitoringparameter durch Burger (Burger et al., 1998¹, 1998², 1999) eingesetzt und durch in „*vivo*“ kernspintomographische Untersuchungen validiert (Bendszus et al., 2002). Diese Onlineerfassung ermöglichte eine genaue Dokumentation der intrakraniellen Veränderungen während der Ballonexpansion und dem zeitlichen Zusammenhang zwischen der Applikation der primären Hirnschädigung und der Ausbildung sekundärer Hirnschäden, wie die Ausbildung eines Hirnödems oder der Demarkierung eines ischämischen Areals. Zusätzlich konnte beobachtet werden, dass sich der Ballon völlig gleichmäßig ausbreitete und während der Kompressionsphase keinen Größenschwankungen unterlag. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass bei diesem Modell bereits nach 30 min Hyperintensitäten in den T2 gewichteten kernspintomographischen Aufnahmen, im Sinne eines sich ausbildenden Hirnödems, auftraten und im Vergleich damit wesentlich früher als in bis dahin evaluierten Traumamodellen wie „cortical impact“ (Alsop et al., 1996; Unterberg et al., 1997), „fluid

perussion injury“ (Hanstock et al., 1994) oder nach Induktion einer intrazerebralen Blutung (Del Bigio et al., 1996). Anhand dieser Untersuchungen schien damit dieses Ballonexpansionsmodell hervorragend dazu geeignet, um die im klinisch neurochirurgischen Alltag häufig zu beobachtenden, in der Regel durch ein vorangegangenes Trauma bedingten, extraaxialen epiduralen Raumforderungen und deren pathophysiologischen Folgen nachzustellen. Zusätzlich konnten entsprechende neurologische Outcomeuntersuchungen angeschlossen werden. Des Weiteren bietet dieses Modell im Vergleich zu Modellen, die eine Simulation subduraler Hämatome durch Injektion subduralen Blutes zum Ziel haben (Miller et al., 1990), den Vorteil der besseren Reproduzierbarkeit der Schädigungsstärke und Ausbreitung der Raumforderung. Die bereits erwähnten Voruntersuchungen durch Burger konnten zeigen, dass sich der Ballon sehr gleichmäßig entfaltet, während im Gegensatz dazu in den Modellen zur Simulation subduraler Hämatome sich das Blut unterhalb der Dura diffuser verteilt und somit zu Schädigungen unterschiedlichen Ausmaßes führen kann. Auf der anderen Seite kann durch das Ballonexpansionsmodell natürlich der direkte Einfluss des Blutes als schädigendes Agens und damit dessen Auswirkungen auf die pathophysiologischen Vorgänge und das letztendlich entstehende Schädigungsausmaß, unabhängig von den intrakraniellen Druckverhältnissen und des zerebralen Perfusionsdruckes, nicht untersucht werden. Dies muss sicherlich als Nachteil des Modells angesehen werden.

Da in dieser Studie das Hauptaugenmerk auf die neuropsychologischen Verlaufsuntersuchungen und damit auf das neurologische Outcome der Tiere gerichtet war, wurde das EEG als funktioneller Parameter zur Kontrolle der Schädigungsstärke herangezogen. In der Praxis bedeutete dies, dass der Endpunkt der Ballonexpansion durch den Verlust der EEG-Aktivität definiert wurde, ohne dabei jedoch eine Einklemmung des Hirnstammes in den Tentoriumschlitz hervorzurufen, welches zu einem zu starken Schädigungsausmaß geführt hätte und damit eine Testung der Tiere in den folgenden Verlaufsuntersuchungen unmöglich geworden wäre. Zusätzlich ließ sich anhand, der während der Ballonexpansion zu beobachtenden, konstanten Insufflationsmengen bis zum Verlust der EEG Aktivität, gut veranschaulichen, dass es sich um ein gut zu definierendes Traumamodell handelt.

Die hohe Zuverlässigkeit des Kompressionsmodells zeigte sich auch darin, dass als unmittelbare Folge der Ballonexpansion nur ein Tier im Verlaufe der Studie ausgeschlossen werden musste, weil der Ballon infolge einer Undichtigkeit der Glasspritze im Bereich des Inspirationsschenkels nicht bis zum Nachweis eines isoelektrischen EEG's zu expandieren war. Dabei müssen allerdings erneut, die bereits durch Burger durchgeführten Voruntersuchungen, erwähnt werden, welche im Sinne einer Lernkurve zu dieser geringen Ausfallrate führten.

4.2. Die Narkose

Für die Einleitung einer Intubationsnarkose war es notwendig die Versuchstiere zunächst in der Ätherglocke zu sedieren. Aufgrund der bekannten, schleimhautreizenden und sekretionssteigernden Wirkung des Äthers und der damit durchaus verbundenen Auslösung von Laryngospasmen, kam es auch im Verlaufe dieser Studie zu dem Verlust von insgesamt 3 Versuchstieren, die in der Ätherglocke verstarben. Retrospektiv ist daher möglicherweise eine, zur Minimierung der Versuchstierverluste, vor endotrachealer Intubation durchgeführte Sedierung mit der intramuskulären Gabe von Ketamin sinnvoll.

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde ein kombiniertes Gemisch von Isofluran 1% - 2%, Lachgas NO_2 66 % und Sauerstoff O_2 33% verwandt. Eine Intubationsnarkose war zwingend notwendig, um durch die Beeinflussung von Beatmungsdruck, Atemfrequenz und Sauerstoffanteil am Gemisch eine Konstanz der arteriellen pCO_2 und pO_2 Werte innerhalb der Versuchsgruppen zu erreichen. Ohne dieses Beatmungsregime hätte es zwangsläufig in den nachfolgenden Verlaufsuntersuchungen Unterschiede in den neurologischen Outcomes der jeweiligen Versuchstiere gegeben. Diese Einflüsse hätten den Effekt der Therapieform einer moderaten Hypothermie beeinflusst und überlagert und wären damit dem Ziel der Studie entgegengestanden. Des weiteren war eine unmittelbare Beeinflussbarkeit der Blutgase absolut notwendig, da unter Hypothermie die Löslichkeit der Blutgase beeinflusst wird. So nimmt unter Hypothermie die Bindung von CO_2 an das Hämoglobin zu und die Löslichkeit von CO_2 wird erhöht. Dies hat zur Folge das der arterielle pCO_2 abnimmt und der pH- Wert des Blutes im Sinne einer Alkalose zunimmt (Kofstad, 1996). In unserer Studie wurde während der Hypothermiephase der pCO_2 nach dem pH - stat Prinzip korrigiert, welches eine Konstanthaltung des pH bei 7,4 und des paCO_2 bei 40 mmHg bedeutet und nur durch eine gezielte Hypoventilation der Tiere unter hypothermen Bedingungen erreicht werden kann. Im Gegensatz dazu existiert als zweites Blutgasregime die alpha-stat Methode bei der, der pCO_2 nicht korrigiert wird und es während der Abkühlung zu einem Abfall des pCO_2 und einem damit verbundenen Anstieg des pH-Wertes kommt. Beide Regime wurden und werden in ihrer Auswirkung auf das Gehirn bereits überprüft und im Vergleich beider zeigt sich unter pH-stat Management experimentell (Nagai et al., 1999; Kurth et al., 1998; Cheng et al., 1995) und klinisch (Murkin et al., 1987) eine im Vergleich höhere Hirndurchblutung. Dieser Effekt scheint aber bei einer tiefen Hypothermie aufgehoben. Eine Arbeit konnte sogar bei einer Abkühlung auf 17°C eine höhere Hirndurchblutung unter alpha-stat Management feststellen (Hindman et al., 1995). Ebenfalls wurde die Beeinflussung der zerebralen Autoregulation durch beide Regime bereits vielfach diskutiert. Dabei scheint es während pH-stat Management, zu einer Einschränkung, aber zu

keiner Aufhebung, der Autoregulation zu kommen (Nagai et al., 1999; Irikura et al., 1998; Rogers et al., 1988). Die CO₂ Reaktivität bleibt unter moderater Hypothermie erhalten (Irikura et al., 1998), scheint aber unter alpha-stat Bedingungen besser zu sein (Hindman et al., 1993). Zusätzlich konnte in Studien bei Kindern unter pH- stat Regime eine geringe Mortalität und Morbidität festgestellt werden (Jonas et al., 1993 ; Du Plessis et al., 1997), welches auf die wie bereits oben erwähnte bessere Hirndurchblutung unter pH-stat Regime und auf eine homogenere und schnellere Abkühlung des Gehirnes zurückgeführt wurde. Nagai konnte allerdings experimentell nach fokaler Ischämie unter moderater Hypothermie keine Unterschiede des Schädigungsausmaßes als Folge der unterschiedlichen Blutgasregime feststellen (Nagai et al., 1999). Des weiteren zeigt eine Übersichtsarbeit von Kern, dass das Blutgasmanagement offensichtlich nur eine untergeordnete Rolle unter moderater Hypothermie spielt (Kern et al., 1995).

Ingesamt zeigte sich die gewählte Narkoseform sehr gut steuerbar. So konnten zum Beispiel Blutdruckabfälle, die durch Tubusreizung (vasovagal) hervorgerufen wurden, durch eine Verringerung der Zufuhr des Narkosegases sofort coupiert werden. Damit ließen sich allein über die Regulierung der minimalen alveolaren Konzentration (MAC) des Isoflurans nicht zerebral bedingte Blutdruckschwankungen vermeiden und konstante vergleichbare mittlere arterielle Blutdruckwerte (MAP) erreichen. Zusätzlich bietet die Intubationsnarkose den Vorteil, dass auch während der Datenaquirierung endotracheal abgesaugt werden kann. Zudem konnte nach Abschluss des Onlinemonitorings eine schonende und kontrollierte Narkoseausleitung erfolgen. Trotzdem mussten 7 Tiere des Gesamtkollektivs aufgrund einer respiratorischen Insuffizienz bzw. eines iatrogenen Tubusverschlusses während der Versuche ausgeschlossen werden.

Die Entscheidung für eine kontrollierte mechanische Ventilation wurde auch anhand der Tatsache getroffen, dass Tiere die nach Traumaapplikation kontrolliert beatmet wurden, eine längere Überlebenszeit aufwiesen und keine zusätzliche durch Hypoventilation hervorgerufene Hirnschwellung entwickelten (Ganz et al., 1990). Damit konnte eine entscheidende Voraussetzung für das in dieser Studie notwendige Langzeitüberleben für die neuropsychologischen Nachuntersuchungen erfüllt werden.

Bezüglich des verwendeten Narkosegases Isofluran berichteten verschiedene Autoren über eine Zunahme des zerebralen Blutflusses und des Blutvolumens, welches ursächlich auf eine durch Isofluran bedingte Vasodilatation der zerebralen Gefäße zurückgeführt wird (Hansen et al., 1988; Hoffmann et al., 1991; Todd et al., 1996). Lee konnte zudem zeigen, dass bei den Konzentrationen, die in unserer Studie zur Anwendung kamen, nur eine minimale Beeinflussung der zerebralen Autoregulation zwischen einem arteriellen Mitteldruck von 60–149 mmHg stattfindet (Lee et al., 1994). Zusätzlich konnten neuere Untersuchungen eine unter Isofluran verminderte Ausschüttung des Neurotransmitters Glutamat nachweisen

(Patel et al., 1995; Nakashima et al., 1996; Larsen et al., 1998; Eilers et al., 1999). Das Auftreten erhöhter Glutamatspiegel wurde schon vielfach in Verbindung mit einem negativen Effekt auf das ischämische Schädigungsvolumen bzw. Verschlechterung des neurologischen Outcomes gebracht (Butcher et al., 1990; Choi et al., 1990; Faden et al., 1989). Der daraus abzuleitende positive Effekt des Isoflurans auf das Schädigungsvolumen und das neurologische Outcome konnte ebenfalls schon Verschiedenfach gezeigt werden (Miura et al. 1998; Hoffmann et al., 1993). Bezogen auf das in dieser Studie angewandte Design ist es durch die Verwendung von Isofluran durchaus möglich, dass eine Verringerung des Schädigungsausmaßes im Vergleich zu anderen Narkosearten (Opiaten, Benzodiazepinen) stattgefunden hat. Da aber in unseren Untersuchungen der Einfluss einer moderaten Hypothermie untersucht werden sollte und das Narkoseregime bei allen Versuchstieren identisch durchgeführt wurde, konnte dieser mögliche, systematische Fehler toleriert werden. Zusätzlich wurde während des Onlinemonitorings darauf geachtet die MAC für die gesamte Beobachtungszeit nicht über 2% ansteigen zu lassen, da es, wie von einigen Autoren beschrieben, zu einem sogenannten „burst suppression“ kommen kann und damit die Verwendung des EEG zur Beurteilung der neurologischen Funktion nur noch eingeschränkt möglich wäre (Loomis et al., 1986; Michenfelder et al., 1991; Sano et al., 1993).

4.3. Methode zur Hypothermieinduktion

Nach Durchsicht der erfassten experimentellen Arbeiten zeigte sich, dass in den meisten Fällen eine Abkühlung des gesamten Körpers mit Hilfe von eisgekühltem Wasser (Jiang et al., 1992; Clifton et al., 1991), von Eispackungen (Doerfler et al., 2001; Toyoda et al., 1996 ; Dixon et al., 1998) oder mittels eines kalten Luftstroms (Green et al., 1992; Lo et al., 1992) erreicht wurde. In einer neueren Arbeit von Yanamoto wurde die Hypothermie durch Applikation von Alkohol induziert (Yanamoto et al., 2001). In einigen Fällen reichte auch nur spontanes Abkühlen nach Narkoseeinleitung zur Erlangung der gewünschten Temperaturabsenkung aus, wie dies auch in Anlehnung an die klinische Operationsroutine alltäglich zu beobachten ist (Goto et al., 1993; Minamisawa et al., 1990). Als weitere Option der Hypothermieinduktion steht die Möglichkeit der selektiven Abkühlung des Kopfes zur Verfügung, die allerdings von einer geringeren Anzahl von Autoren beschrieben und angewandt wurde (Nurse und Corbett, 1994; Ohta et al., 1996). Im Vergleich zu den Techniken, die neben der Senkung der Hirntemperatur auch eine Abkühlung der Körperkerntemperatur nach sich ziehen, könnte die selektive Abkühlung des Kopfes zu einer Minimierung der durch eine Hypothermie hervorgerufenen systemischen Nebenwirkungen führen. Während das Auftreten von Koagulopathien, Arrhythmien und immunologische Veränderungen nach der Induktion einer tiefen Hypothermie gut beschrieben und

dokumentiert sind (Menges bei Schäfer, 1968; Gunton et al. , 1956; Biggar et al., 1983), sind die systemischen Nebenwirkungen einer milden bzw. moderaten Hypothermie aktuell noch Gegenstand intensiver Forschung. Gelb konnte bei kurzer und milder Abkühlung kein signifikant häufigeres Auftreten der genannten Komplikationen ermitteln (Gelb et al.,1999). Andere Untersuchungen wiederum zeigten den Einfluss einer milden Hypothermie auf die zelluläre Immunantwort. Beilin fand bereits bei Patienten die perioperativ einer milden Abkühlung von durchschnittlich nur 1° C ausgesetzt waren, bereits eine Beeinflussung der Immunantwort nach 24 Stunden. Es kommt hierbei zu einer Suppression der Lymphozytenaktivierung und Suppression der Produktion bestimmter, die Immunantwort modulierender, Cytokine (Beilin et al., 1998). Zusätzlich konnte bereits 1996 in einer klinischen Studie gezeigt werden, dass Patienten welche perioperativ den Bedingungen einer milden Hypothermie ausgesetzt waren im Vergleich zu normotherm gehaltenen Patienten eine höhere Rate an Wundinfektionen hatten. Die Hospitalisierungszeit im hypothermen Kollektiv lag über der von normotherm behandelten Patienten (Kurz et al., 1996).

Für unsere Versuchsanordnung wählten wir die technisch relativ einfach und gut durchzuführende Abkühlung des gesamten Tierkörpers über ein meanderförmig unter dem Tier angebrachten Schlauchsystems, durch welches Eiswasser geleitet wurde. Innerhalb der 30 minütigen Kompressionsphase konnte so die gewünschte Temperatur von 32°C erreicht werden. Diese Methode wurde experimentell bisher seltener eingesetzt (Chopp et al., 1989; Burger et al., 1998²). Die Konstanthaltung bzw. Austarierung der angestrebten 32° C erfolgte ebenfalls über ein unter dem Schlauchsystem befindlichen Heizkissen. Während der Abkühlungsphase konnte initial zunächst eine deutliche Temperaturdifferenz zwischen rektaler und zerebraler Temperatur beobachtet werden, wobei die rektale unter der zerebralen Temperatur lag. Nach Erreichen der angestrebten 32° C hatte sich das Verhältnis beider Temperaturen wieder auf das Ausgangsniveau zurückgebildet. Retrospektiv lässt sich dieses Phänomen sicherlich zwanglos über die nähere Lage der rektalen Sonde zur Kühlvorrichtung erklären.

Bei dieser von uns angewandten und bevorzugten Methode der Hypothermieinduktion ist natürlich die Absenkung der Hirntemperatur auch mit einer Senkung der Körperkerntemperatur verbunden, was wiederum auch zu oben genannten und diskutierten Begleiterscheinungen der hypothermen Behandlung führen kann. Angesichts des Studiendesigns und dem geplanten Langzeitüberleben der Tiere bestand für uns die Möglichkeit auch diesen Aspekt zu überprüfen und einen Beitrag zur Aufklärung über die Nebenwirkungen einer hypothermen Behandlung zu leisten. Zusätzlich eignete sich unser Modell gut zur Nachstellung der bereits in klinischen Studien durchgeführten Behandlung von Schädelhirntraumen mit moderater Hypothermie, da in der klinischen Anwendung in der

Neurochirurgie eine extrakorporale Abkühlung des Blutes, im Gegensatz zur Abkühlung unter 30 °C in der Kardiochirurgie, nicht notwendig ist und dass eine Oberflächenkühlung durch wasserzirkulierende Matten, Eispackungen, Ventilatoren oder Matten mit kalter zirkulierender Luft erreicht wird (Shiozaki et al., 1993; Metz et al., 1996; Schwab et al., 1998, Bernard et al., 2002; Holzer et al., 2002). Zusätzlich kann eine Abkühlung über gekühlte Infusionen oder Magenspülungen erreicht werden (Marion et al., 1993, 1997; Clifton et al., 2001). Georgiadis konnte außerdem die Methode der intravasalen Kühlung über die Einlage eines Kühlkatheters in die vena cava inferior, ohne dabei den Aufwand einer extrakorporalen Abkühlung, wie in der Kardiochirurgie einzugehen, etablieren (Georgiadis et al., 2001).

4.4. Die Erfassung der zerebralen und rektalen Temperatur

Wie bereits unter Methodik beschrieben erfolgte die Erfassung der intrazerebralen Temperatur über ein Metallthermoelement, welches in eine Tiefe von 4mm rechts frontal eingeführt wurde. Da die Sonde an ihrem Ende spitz zuläuft, kann sie scharf in das Hirngewebe eingebracht werden. Bei dieser invasiven Methode ist natürlich die Gefahr einer Hirngewebsverletzung nicht vollständig auszuschließen und damit besteht die Gefahr der ungewollten Vergrößerung des ischämischen Areal durch Stichkanalblutungen oder zusätzliche Schwellung im umgebenden Gewebe (Mushiroi et al., 1989). Die neuropsychologischen Nachuntersuchungen der Kontrollgruppe konnten aber zeigen, dass trotz intrazerebraler Temperaturmessung und der genannten Risiken die Tiere keine neurologischen Defizite aufwiesen. Dies konnte auch durch die, allerdings nicht systematisch, durchgeführten posttraumatischen Kernspinaufnahmen bestätigt werden. Im Bereich der eingebrachten Sonde zeigten sich keine Auffälligkeiten. Großer Vorteil der intrazerebralen Technik ist, dass die Ableitung der Daten genau in dem Gewebe erfolgt, welches für unsere Untersuchungen am meisten von Interesse ist und damit indirekte Methoden, die letztendlich nur eine Abschätzung der eigentlichen zerebralen Temperatur erlauben, vermieden werden konnten. Damit war eine exakte Definition des Temperaturniveaus und eine genaue Beobachtung der Temperaturänderungen vor, während und nach der Traumainduktion möglich. Aufgrund der o.g. möglichen Komplikationen durch das scharfe Einbringen der Sonde direkt in das Hirngewebe wurde nach Möglichkeiten einer indirekten Messung und damit Abschätzung der intrazerebralen Temperatur gesucht. Dabei konnten aber nur nahezu identische Werte im Bereich des Temporalmuskels und des Striatums unter Normalbedingungen gefunden werden. Unter pathologischen Bedingungen, wie die Induktion eines ischämischen Geschehens, wurden aber deutlich unterschiedliche Werte erfasst, wobei die Temperaturen des Temporalmuskels in der Regel 1 - 2 °C über denen im Striatum lagen und somit bei alleiniger Verwendung der Muskeltemperatur eine

durchaus erhebliche Fehleinschätzung der intrazerebralen Temperatur vorgelegen hätte (Busto et al., 1987; Miyazawa et al., 1992). Miyazawa fand allerdings, dass die epidurale Temperatur, gemessen durch eine zusätzlich in den Epiduralraum platzierte Sonde, auch unter ischämischen Bedingungen der intracerebralen Temperatur entsprach (Miyazawa et al., 1992). Aufgrund der anatomischen Gegebenheiten bei der Ratte und den damit verbundenen Schwierigkeiten der Platzierung einer epiduralen Sonde, bevorzugten wir die oben geschilderte intrazerebrale Temperaturmessung über ein Metallthermoelement.

Für die Erfassung der Körperkerntemperatur entschlossen wir uns zur Anlage einer rektalen Temperatursonde. Dabei wurde, die ebenfalls durch Miyazawa (Miyazawa et al., 1992) postulierte Erkenntnis berücksichtigt, dass verlässliche Kerntemperaturen erst bei einer Tiefe von 6 cm gemessen werden. Daher erfolgte die Platzierung der Sonde bei ca. 6,5 – 7cm. Dazu muss allerdings angemerkt werden, dass ein Tier, aufgrund einer durch die Sonde verursachten Darmperforation, verstarb.

4.5. Das MRT in der Langzeitbeobachtung

Im ursprünglichen Studiendesign war vorgesehen alle Tiere posttraumatisch einer frühen kernspintomographischen Untersuchung (< 7 Tage) zu unterziehen. Aufgrund der Tatsache das nur Tiere mit einem Gewicht zwischen 200-300g verwandt wurden, zeigten sich die Versuchstiere in der Frühphase nach Traumainduktion noch so geschwächt , dass einige Tiere im Zuge der für die MRT- Untersuchung notwendigen intraperitonealen Narkose (Rompun®, Ketanest®) verstarben (s.a. Tab.7). Zur Minimierung der Versuchstierverluste und der eigentlich im Mittelpunkt stehenden neuropsychologischen Testungen sahen wir von weiteren Kernspinuntersuchungen in der Frühphase nach Trauma ab. Da die Tiere am Ende der Beobachtungszeit wieder deutlich an Gewicht zugelegt hatten und robust genug für eine kernspintomographische Untersuchung waren, erfolgte lediglich zum Ende der Beobachtungszeit (nach 4 Wochen) eine Abschlussuntersuchung und Vergleich von T2 gewichteten Aufnahmen. Dabei zeigten sich bei den normotherm behandelten Tieren häufiger kortikal ausgestanzte Ischämiebezirke, währenddessen bei hypotherm behandelten Tieren, eher liquorintense, subcinguläre und subcallosale Substanzdefekte, bei gleichzeitig besser erhaltenen kortikalen Strukturen, zu finden waren. Bezüglich der Ventrikelweite fanden sich bei 50 – 60 % der Tiere, unabhängig von der Zugehörigkeit zu einer der beiden Therapiegruppen, eine mäßige, zum Teil auch deutliche Ventrikelerweiterung im Sinne eines posttraumatischen Hydrozephalus. Wie diese Zahlen deutlich machen, besteht damit kernspintomographisch kein eindeutiger Hinweis, dass eine hypotherme Behandlung die Ausbildung eines posttraumatischen Hydrozephalus verhindert. Die histologische Aufarbeitung der Versuchstierpräparate erbrachte die Bestätigung der im MRT befundeten

Ventrikelerweiterungen mit einem höheren prozentualen Anteil unter den normotherm behandelten Tieren, ohne dass dieser Unterschied eine statistische Signifikanz erreichte. Hayasaki konnte ebenfalls 4 Wochen nach Trauma bei der Korrelation von MRT-Veränderungen mit histologischen Befunden eine Ventrikelerweiterung finden (Hayasaki et al., 1997). Bramlett konnte sogar einen positiven Einfluss der hypothermen Behandlung auf die Ventrikelweite finden (Bramlett et al., 1997). Bezüglich unseren Untersuchungen muss hinzugefügt werden, dass sich unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit keine Korrelation zwischen histologischem Befund und hyperintens dargestelltem Bezirk in der Kernspintomographie herstellen ließ. Dabei zeigten allerdings schon frühere Untersuchungen, dass T2 gewichtete Aufnahmen in der Langzeituntersuchung bereits 7 Tage nach Trauma mittels „weight drop“ keine Korrelation zu histologischen Befunden mehr aufweisen, während diffusionsgewichtete Untersuchungen eine gute Korrelation zeigten (Assaf et al., 1997). Ebenso lässt sich das genaue Ausmaß des zytotoxischen Hirnödems nur mittels diffusionsgewichteter Aufnahmen über die ersten 7 - 14 Tage nach „weight drop“ Trauma bestimmen (Barzo et al., 1997¹, 1997²).

Angesichts der oben geschilderten technischen Schwierigkeiten, der geringen Fallzahl und der ausschließlichen Verwendung von T2-gewichteten Aufnahmen ohne Diffusionsgewichtung ist eine exakte Interpretation der Ergebnisse schwerlich möglich. Um die genauen Auswirkungen einer moderaten hypothermen Behandlung in der kernspintomographische Bildgebung zu erfassen, sind häufigere und engmaschigere MRT-Kontrollen inklusive diffusionsgewichteter Aufnahmen notwendig. Angesichts der Zielsetzung und der eindeutig im Mittelpunkt stehenden neuropsychologischen Verlaufsuntersuchungen und damit der Erfassung des neurologischen Outcomes sollten die MRT- Untersuchungen eine Zusatzinformation zum Gesamtbild der Studie liefern.

4.6. Histologische Methoden

Um eine exakte Wiedergabe der histopathologischen Veränderungen zu erhalten wählten wir die Methode der intravitalen Perfusionsfixation mit 4 % Paraformaldehyd. Da die Versuchstierhirne nach Fixation und Entnahme vor der histologischen Aufarbeitung in PFA 4 % eingelegt wurden, führte dies im Vergleich zum frischen Präparat zur Schrumpfung des Gesamtvolumens, sodass leider ein direkter Volumenvergleich kernspintomographischer Volumina mit histologisch berechneten Volumina über die Interpolation von 4 Flächenanteilen nicht möglich war (Herguido et al., 1999). Allerdings konnte mittels der Imagingsoftware eine morphometrische Analyse erfolgen (siehe auch Methodik) und somit die Ischämiezone erfasst werden. Dies erlaubte wiederum einen Vergleich der Schädigungs-

areale innerhalb der beiden Therapiegruppen. Diese Auswertung mittels Morphometrie erbrachte ein um 21 % kleineres Schädigungsvolumen der hypotherm behandelten Tiere. In der statistischen Analyse reichte dies allerdings noch nicht für eine Signifikanz aus. Ergänzend hinzugefügt werden sollte allerdings der Umstand, dass aufgrund der bereits beschriebenen und beobachteten Ventrikelerweiterungen speziell unter den normothermen Tieren eine exakte Ausmessung des Ischämieareals erschwert war.

Für die histologische Begutachtung auf zellulärer Ebene wurde der Neuronenverlust im Bereich des Hippocampusareale CA1 – CA4 erfasst. Frühere Untersuchungen zeigten, dass neben dem CA1 Feld auch die Auszählung der CA2 – CA4 Felder eine höhere Aussagekraft bzw. Präzision der ermittelten Ergebnisse ermöglicht (Herguido et al., 1999). Die Auszählung erfolgte mit einem Zählkular. Hierbei kann natürlich nicht ausgeschlossen werden, dass die Absolutzahl der Neurone und deren Beurteilung durch Artefakte wie Überprojektion von Zellen und Schrumpfungartefakte beeinflusst war (Herguido et al., 1999).

4.7. Die neuropsychologische Testbatterie

Zur Erfassung des neurologischen Outcomes in den posttraumatischen Verlaufsuntersuchungen diente eine modifizierte Testbatterie nach Alexis (Alexis et al., 1995). Anhand dieser Testungen konnten auf der einen Seite kognitive Funktionen wie Lernfähigkeit und Gedächtnisleistung sowie auf der anderen Seite sensomotorische Funktionen wie die Überprüfung des Gleichgewichtsinnes und die Integrationsleistung der Vorderläufe beurteilt werden. Die einzelnen Komponenten der Testbatterie wurden bereits in früheren Untersuchungen ausführlich auf ihre Validität und Reliabilität untersucht und schienen damit sehr gut geeignet für unseren Versuchsaufbau. Dabei wurde zum einen die „Open Field“ Aktivität (Jarrard, 1973; Alexis et al., 1995; Dowden und Corbett, 1999), der posturale Reflex (Markgraf et al., 1994; Bedersen et al., 1986), der Gleichgewichtsinne und die sensomotorische Integrationsleistung im „Beam Walking“ (Goldstein und Davis, 1990; Ohlsson et al., 1995; Dixon et al., 1998) und „Beam Balance“ Test (Feeney et al., 1982; Alexis et al., 1995; Clifton et al., 1991) sowie die Lernfähigkeit und Gedächtnisleistung im „Morris Water Maze“ Test (Morris et al., 1982; Jaspers et al., 1990; Prins und Hovda, 1998) überprüft.

Diese ausführliche und umfangreiche Testung war unserer Meinung in jeden Fall notwendig, da nur so alle durch das Trauma betroffenen Hirnregionen zu erfassen waren. Aufgrund der gewählten Ballongröße von 0,2 ml kam es neben der Schädigung kortikaler und striataler Strukturen auch zu einer Kompression des ipsilateralen Hippocampus. Zusätzlich sollte auch das als Endpunkt der Ballonexpansion definierte isoelektrische EEG bedacht werden, welches einen globalen, wenn auch nur kurzfristigen, Stillstand des Funktionsstoffwechsels

anzeigt und damit natürlich auch neurologische Defizite entstehen können, die nicht ausschließlich dem eigentlichen Ort der Läsion zuzuordnen sind.

Die Platzierung des Ballons direkt über dem motorischen Kortex (Bregma -1mm) ermöglichte die Ausbildung eines optimalen Schädigungsausmaßes bzw. adäquater Hemiparese, ohne die Tiere dabei so stark zu schädigen, dass sie für eine weitergehende Nachuntersuchung nicht mehr zu verwenden gewesen wären. In den durch Burger durchgeführten Voruntersuchungen zeigte sich, dass eine um 0,1 ml größere Balloninsufflation auf ein Volumen von 0,3ml bereits zu einem Cushing Reflex mit beidseits weiten und lichtstarrten Pupillen führte und somit für diese Arbeit nicht geeignet war.

Innerhalb der Pilotgruppe konnte ebenfalls beobachtet werden, dass die übliche Platzierung des Ballons bei Bregma - 4mm vor der Sutura interparietale und einer Insufflationsmenge von 0,2 ml nur zu einer minimalen Einschränkung der motorischen Funktionen führten und damit eine sinnvolle Testung nicht möglich war. Daher wurde die oben beschriebene Stelle direkt über dem motorischen Kortex gewählt. Dies ermöglichte letztendlich eine aussagekräftige Testung. Die bereits angeführte und in anderen Traumamodellen (Dixon et al., 1998) gefundene hohe Validität und Reliabilität der einzelnen Test, konnte auch im Rahmen dieser Untersuchung bestätigt werden.

4.8. Das Onlinemonitoring

Die Präparation der Schwanzarterie der Versuchstiere und die Einlage eines Katheters ermöglichte neben der Bestimmung der Blutgase und deren Einstellung nach dem ph-stat Prinzip auch die kontinuierliche Aufzeichnung des arteriellen Blutdruckes. Damit war die Voraussetzung für einen Vergleich der Therapieregime erfüllt. Dabei zeigte sich, dass während der Traumapplikation der mittlere Blutdruck in der normothermen Gruppe am niedrigsten, jedoch nicht auf Werte außerhalb der Autoregulationsgrenzen, abgesunken war. Die statistische Auswertung konnte zudem keinen signifikanten Unterschied des MAP innerhalb der Versuchsgruppen aufzeigen.

Bezüglich der zerebralen Temperaturmessung zeigte sich, dass die Hirntemperatur am Ende der Baselinemessung bei keinem der Versuchstiere über die rektale Temperatur angestiegen war. Da sich in den bereits angeführten Voruntersuchungen durch Burger herausstellte, dass die Temperatursonde circa 60 Minuten zum Anzeigen der richtigen Temperatur benötigte, konnte dies auch nicht erwartet werden. Aufgrund der Tatsache das die Abkühlung aber ebenfalls 30 Minuten in Anspruch nahm, konnte die Dauer der Baselinemessung von 30 min toleriert werden.

Im Verlauf zeigten sich für die Kontrollgruppe circa 0,15°C höhere zerebrale Temperaturwerte im Vergleich zu den rektalen Werten. Im Gegensatz dazu konnte während

der Kompressionsphase in beiden Traumagruppen ein Abfall der zerebralen unter die rektalen Werte beobachtet werden. Unter normothermen Bedingungen erfolgte eine Absenkung bis ca. 1°C und unter hypothermen Bedingungen bis 0,3 °C. In der normothermen Gruppe blieb anschließend die zerebrale Temperatur über den ganzen Zeitraum 0,1 - 0,2 °C unterhalb der Körperkerntemperatur, um allerdings in der Hypothermiegruppe im Verlauf 0,5 - 0,8 °C über die rektale Temperatur anzusteigen. Damit konnte im Gegensatz zu anderen Arbeiten (Jiang et al., 1991) in diesem Modell der direkte Einfluss des Traumas auf die Hirntemperatur gezeigt werden. Zusätzlich lassen offensichtlich die Unterschiede in den Differenzen zwischen rektaler und zerebraler Temperatur in den beiden Therapiegruppen Rückschlüsse auf die Schwere der Hirnschädigung zu, wie es Burger in seinen Untersuchungen ebenfalls bereits postulierte (Burger et al., 1998²).

Die Anwendung der Elektroenzephalographie zur Definition der Traumastärke stellte sich als ausgesprochen zuverlässig heraus, da bei allen Versuchstieren nahezu identische Balloninsufflationsmengen zur Auslösung eines isoelektrischen EEG benötigt wurden. Nur ein einziges Tier wurde so stark geschädigt, dass eine Einklemmung des Hirnstammes im Tentoriumschlitz mit begleitenden Cushing-Reflex hervorgerufen wurde. Bei allen anderen Tieren waren die dadurch verursachten neurologischen Defizite (Hemiparese etc.) in ihrem Ausmaß optimal dazu geeignet, die Versuchstiere, den in den Verlaufsuntersuchungen vorgesehenen neuropsychologischen Testungen zu unterziehen. Des weiteren zeigte sich in Übereinstimmung mit anderen Autoren (Hoffmann und Thomas 1996; Burger et al., 1998², 2003) eine signifikant bessere und schnellere Rückbildung der EEG-Aktivität unter Hypothermie, im Sinne eines unter hypothermen Bedingungen sich besser und frühzeitiger regenerierenden Funktionsstoffwechsels. Nach Weaning und Extubation wiesen die Tiere beider Gruppen unter Betonung des Hinterlaufes eine Hemiparese auf, wogegen die Kontrolltiere ein normales Bewegungsmuster zeigten.

4.9. Das neurologische Outcome nach vierwöchiger Langzeitbeobachtung

Als Zielsetzung der Langzeituntersuchung wurde die Auswirkung einer moderaten Hypothermie auf das neurologische Outcome nach Induktion einer epiduralen, fokalen Raumforderung formuliert.

Die Einschlusskriterien (s.a. Methodik), unter welchen die Tiere in die Studie aufgenommen wurden, erfüllten die meisten Tiere problemlos. Dazu muss allerdings angemerkt werden, dass die Versuchstiergewichte von ganz entscheidender Bedeutung waren, da die Ratten, wie die Testungen zeigten, ab einem bestimmten Gewicht und entsprechender Größe nicht

mehr motorisch in der Lage waren, den Testparcours fehlerfrei entsprechend den Einschlusskriterien zu bewältigen. Daher wurden nur Tiere zwischen 200 – 250 g ausgewählt. Zusätzlich konnte ebenfalls beobachtet werden, dass einige wenige Tiere trotz „Idealgewichts“ und negativer plus positiver Motivation nicht zur Durchführung der Tests zu bewegen waren. Eine mögliche Erklärung dafür liefert der Umstand, dass genau diese Tiere, im Gegensatz zu den problemlos zu Testenden, zwischen Anlieferung und Testbeginn noch einige Tage unter Laborbedingungen zu zweit in den Käfigen verbrachten. Untersuchungen von Johansson (Johansson et al., 1996) konnten eine Beeinflussung der Testperformance in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen finden. In der Folgezeit wurde daher darauf geachtet, die Zeit zwischen Anlieferung und Aufnahme in das Studienprotokoll so kurz wie möglich zu halten. Des Weiteren konnten aufgrund der personellen Situation die Untersuchungen nicht im Blindverfahren durchgeführt werden. Damit kann leider nicht mit letzter Sicherheit eine unbewusste Beeinflussung der Testergebnisse durch den Untersucher ausgeschlossen werden.

In der Auswertung der „Open Field“ fand sich in beiden traumatisierten Gruppen 24 Stunden nach Traumainduktion eine signifikante Antriebsminderung im Vergleich zu dem präoperativ erhobenen Status. Im Vergleich beider Gruppen konnte kein Unterschied gefunden werden. Ursächlich kommen dafür wahrscheinlich die frische Hirnschwellung, damit verbundene Elektrolytstörungen durch verminderte Nahrungsaufnahme bzw. hypothalamische Störungen in Betracht. Außerdem sollten eventuelle Narkosenachwirkungen nicht außer Acht gelassen werden. Zwischen dem 3. und 11. Tag nach Trauma konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden. Im emotionalen Verhalten der Tiere, welches wir anhand des Defäkationsverhalten beobachteten, konnten ebenfalls keine Unterschiede gefunden werden. Zudem war auffällig, dass es bei keinem der traumatisierten Tiere zu einer Hyperaktivität kam, wie dies bereits vielfach in Ischämie-Modellen zu beobachten war (Nurse und Corbett, 1994; Colbourne et al., 1994). Robinson konnte allerdings zeigen, dass nur eine rechtshemisphärische Ischämie bei Ratten zu einer Hyperaktivität im „Open Field“ führt (Robinson et al., 1979). So kann nur darüber spekuliert werden, ob eine linkshemisphärische Schädigung, wie in unserem Modell, kein Aktivitätsanstieg der Tiere im „Open Field“ zur Folge hat.

Ab dem 11. Tag nach Trauma zeigten sich die normotherm behandelten Tiere signifikant inaktiver. Dies kann auf der einen Seite natürlich als Folge eines größeren Schädigungsmaßes innerhalb der normothermen Tiere im Sinne z.B. einer zunehmenden hemisphärischen Atrophie ab dem 14. Tag nach Trauma (Hayasaki et al., 1997) angesehen werden. Als weitere Ursachen sind ebenfalls posttraumatische Liquorzirkulationsstörungen mit Ventrikelerweiterung zu diskutieren. Auf der anderen Seite kann die Aktivitätsabnahme ebenfalls als Ausdruck einer zunehmenden Habituation an die Umgebung aufgefasst

werden, wie dies auch andere Autoren beobachten konnten (Colbourne et al., 1994). Ohlsson beschrieb zudem den Einfluss der Umgebungsbedingungen auf das funktionelle Outcome und postulierte das ein „enriched environment“ zu einer Verbesserung der Testergebnisse führt (Ohlsson et al., 1995). Damit besteht die Möglichkeit, dass die Abnahme der Aktivität durchaus in Zusammenhang mit unseren eher beengten und bescheidenen Laborverhältnissen steht, da bei stärker geschädigten Tiere unter Umständen eine größere Beeinflussung der Testergebnisse durch die Umgebungsbedingungen erfolgt. Da bisher „Open Field“ Untersuchungen nur an Ischämie-Modellen stattfanden, können über die Ursache der Aktivitätsabnahme nach Applikation eines extraaxialen Trauma in der normothermen Gruppe nur Mutmaßungen geäußert werden.

Bei Überprüfung des posturalen Reflexes zeigte sich, dass er in 50% der Fälle im normothermen Kollektiv über den gesamten Beobachtungszeitraum kontralateral auszulösen war. Im Vergleich dazu konnten bei den hypotherm behandelten Tieren ab dem 3. posttraumatischen Tag nur Normalbefunde gefunden werden. Der posturale Test gilt als sehr sensitiver Test bei Zustand nach Schädigung im Bereich des Cortex und des Striatums. Dies konnte in unseren Untersuchungen bestätigt werden. Zudem korrelierte der Test ebenfalls mit dem Schädigungsausmaß und steht somit in Übereinstimmung mit Untersuchungen an Ischämie-Modellen (Bederson et al., 1986; Person et al., 1989). Als vorteilhaft stellte sich ebenfalls die einfache Durchführbarkeit ohne großen labortechnischen Aufwand dar.

Ein weiterer Bestandteil der neuropsychologischen Testbatterie war der „Beam Balance“ Test. Dieser Test gilt entsprechend der eingängigen Literatur als sensitiver Test zu Überprüfung vestibulomotorischer Bahnen des motorischen Cortex (Feeney et al., 1982; Alexis et al., 1995). Dabei ergab die Analyse der Latenzzeiten (s.o. Methodik) nur in den ersten 4 Tagen bessere Testergebnisse für die Hypothermiegruppe im Vergleich zu den normothermen Tieren. Im Gegensatz dazu konnte die Auswertung der Skalenwerte (siehe Abb. 27) mit Ausnahme der Tage 15 – 23 nach Trauma signifikant bessere Testergebnisse für die Hypothermiegruppe über den gesamten Beobachtungszeitraum aufzeigen. Retrospektiv spiegelt damit die Vergabe von Punktwerten nach der von Clifton etablierten Performanceskala (Clifton et al., 1991) wesentlich besser die Unterschiede in den motorischen Leistungsfähigkeiten der beiden Therapiegruppen wieder, als die reine Bemessung der Latenzzeiten. Es ist damit möglich auch geringere Abstufungen in der motorischen „Performance“ zu erfassen. In anderen Traumamodellen konnten in der ersten Woche nach Trauma unter Hypothermie ebenfalls bessere Testergebnisse gefunden werden (Clifton et al., 1991; Dixon et al., 1998). Allerdings zeigte sich in diesen Modellen sowie auch in Ischämie-Modellen ohne Hypothermie (Alexis et al., 1995; Markgraf et al., 1992) nach 14 Tagen eine vollständige Erholung mit normalen Testergebnissen. Im Gegensatz dazu stehen unsere Untersuchungen mit pathologischen Werten für die normothermen Tiere bis zum

Abschluss der Untersuchung am 28. Tag nach Trauma. Als Ursache für diesen Aspekt sollte man die im Vergleich zu den genannten Untersuchungen wahrscheinlich größere Traumastärke und die Platzierung des Ballons direkt über dem motorischen Kortex in Betracht ziehen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen lassen sich wohl am ehesten auf das histologisch, zwar aufgrund der geringen Fallzahlen nicht signifikante, um 21% größere, kortikale Schädigungsvolumen innerhalb der normothermen Gruppe zurückführen. Kernspintomographisch konnten ebenfalls für die hypotherm behandelten Tiere im Gegensatz zu den normothermen Tieren besser erhaltene, kortikale Strukturen gefunden werden.

In der Auswertung des „Beam Walking“ Tests konnten in Übereinstimmung mit dem „Beam Balance“ Test ebenfalls bessere Testergebnisse für die hypothermen Tiere über den gesamten Beobachtungszeitraum, abgesehen vom 15. – 23. Tag nach Trauma, gefunden werden. Dabei gilt wiederum dieser Test als sensitiver Test für die sensomotorische Integrationsleistung vor allem der Hinterläufe. Diesmal stellte sich ganz im Gegensatz zum „Beam Balance“ Test neben der Beurteilung der „Performance“ auch die Latenzzeit, die zur Überquerung des Balkens benötigt wurde, als ebenfalls sensitiver Parameter dar. Da der „Beam Walking“ Test sicherlich als der komplexere der beiden Tests anzusehen ist, wirken sich offenbar auch schon geringere Unterschiede in den motorischen Defiziten auf die Überquerungszeit aus und lassen sich damit besser differenzieren. Wir konnten damit ebenfalls eine Korrelation zwischen Schädigungsgröße und Testergebnissen finden. Dixon fand in seinen Untersuchungen nach „cortical impact“ ebenfalls bessere Testergebnisse für hypotherm behandelte Tiere. Er konnte allerdings kein histologisches Korrelat zu seinen Beobachtungen finden (Dixon et al., 1998). Auch Goldstein der eine unilaterale, kortikale Läsion setzte, konnte keinen Zusammenhang zwischen Läsionsgröße und Testergebnissen im „Beam Walking“ finden. Er führte dies auf noradrenerge, medial, subfrontal verlaufende motorische Projektionsbahnen zurück, die die Rückbildung der motorischen Defizite bei der Ratte beschleunigen würden (Goldstein et al., 1990). Durch die Ausdehnung des Ballon und damit verbundene Ischämie und Gewebslazeration können auch diese Bahnen in Mitleidenschaft gezogen werden. Durch Anwendung der Hypothermie ist es uns möglicherweise gelungen eine Schonung eben dieser Bahnen zu erreichen. Ebenso sollte angemerkt werden, dass es trotzdem außer Frage steht, dass die Größe und Schwere einer zerebralen Läsion, in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation, einen Einfluss auf dem Umfang und Ausbildung eines neurologischen Defizits und dessen Rückbildungstendenz hat. In dem angeführten Modell von Goldstein handelte es sich dagegen um eine sehr klar definierte rein kortikale Läsion.

Durch den zusätzlich durchgeführten „Water Maze Test“ bestand zudem die Möglichkeit, durch das Trauma hervorgerufene kognitive Störungen zu erfassen. Dabei bestand das

Hauptaugenmerk natürlich darauf, ob eine moderate Hypothermie neben motorischen Abläufen auch kognitive Prozesse protektiv beeinflussen kann. Durch das in unserem Modell gewählte Ballonexpansionstrauma konnten, in Übereinstimmung mit anderen Traumamodellen (Cherian et al., 1998; Markgraf et al., 2001), ebenfalls kognitive Defizite hervorgerufen werden. Es zeigte sich, dass diese sich im Verlauf bis zum Ende der Beobachtungszeit besserten, aber zu jeder Zeit im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verändert waren. Dabei ist es wichtig hinzuzufügen, dass keines der Tiere zu Beginn der Testungen im „Water Maze“ (11. Tag nach Trauma) so stark geschädigt war, dass das Schwimmvermögen durch Paresen beeinträchtigt gewesen wäre. Bei Betrachtung der beiden Therapiegruppen stellte sich heraus, dass die hypotherm behandelten Tiere bei identischer Schwimmgeschwindigkeit im Vergleich zu den normotherm Behandelten über den gesamten Beobachtungszeitraum deutlich geringere Zeiten zum Auffinden der Plattform benötigten. Ab dem 3. Testdurchgang zeigte sich sogar eine Annäherung in den Latenzzeiten der Hypothermiegruppe und der Kontrollgruppe. Damit konnte in diesem Modell der positive Effekt einer hypothermen Behandlung auch auf kognitive Prozesse wie Gedächtnisleistung und räumliche Orientierung gezeigt werden.

Als ursächlich für die Einschränkungen der Gedächtnisleistungen und der räumlichen Orientierung werden Läsionen im Bereich des Hippocampus (Morris et al., 1982; Moser et al., 1993; Squire et al., 1992) diskutiert. Insbesondere werden dafür Neuronenverluste im CA1 Sektor verantwortlich gemacht. (Jaspers et al., 1990; Nelson et al., 1997). Im Widerspruch dazu stehen allerdings Untersuchungen in denen kognitive Defizite, ohne histologisch eindeutig zu identifizierenden Nervenzellverlust, auszulösen waren (Lyeth et al., 1990). Es existieren aber auch Untersuchungen in denen nach experimentellem Schädel – Hirn – Trauma unter Hypothermie bessere Ergebnisse im „Water Maze“ zu erzielen waren, aber gleichzeitig in der histologischen Aufarbeitung keine Unterschiede in den Neuronenzahlen der Hippocampi der verschiedenen Therapiegruppen gefunden werden konnte (Dixon et al., 1998). Daher ist es notwendig, außer auf die pathomorphologischen Veränderungen nach Trauma, auch andere positive Effekte der Hypothermie zu diskutieren. So konnte Taft zeigen, dass Hypothermie sogenannte „subletale“ Schäden am neuronalen Zytoskelett des Hippocampus zu verhindern hilft, ohne dass dies mit den gängigen Methoden der histologischen Auswertung zu erfassen gewesen wäre (Taft et al., 1993). Des weiteren gibt es auch Hinweise dafür, dass durch eine Störung kortikaler und cholinergischer Funktionsprozesse kognitive Funktionen beeinflusst werden (Morris et al., 1986; Berger-Sweeney et al., 1993). So ließen sich ebenso durch die Aktivierung cholinergischer Prozesse Besserungen kognitiver Funktionen hervorrufen (Robinson et al., 1990). In unserer Studie zeigte sich nach Auszählung der Zellen im Hippocampus nach 4 Wochen bei den normotherm behandelten Tieren eine erniedrigte Absolutzahl der vitalen Neurone und ein

erniedrigter prozentualer Anteil der vitalen Neurone an der Gesamtneuronenpopulation gegenüber der Kontrollgruppe. Demgegenüber wiesen die Kontrolltiere und die hypotherm behandelten Tiere zwar signifikante, jedoch wesentlich geringere Unterschiede in den Abschnitten CA1 – CA4 auf. Damit lagen wir im Gegensatz zu Dixon (Dixon et al., 1998), der trotz besseren Outcomes kein histologisches Korrelat finden konnte, in Übereinstimmung mit anderen Autoren, die in Trauma bzw. Ischämie-Modellen (Green et al., 1992; Bramlett et al., 1995) einen Zusammenhang zwischen hypothermer Behandlung und besserem kognitiven Outcome und histologisch geringeren Schädigungsausmaß fanden. So konnten neuere Untersuchungen an Okklusionsmodellen, zwar ohne spezifische Testung der kognitiven Funktion, ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Hypothermie, neurologischen Outcome und histologischen Schädigungsausmaß finden (Yanamoto et al., 2001; Maier et al., 2001). Betrachtet man die Latenzzeiten im „Water Maze“ separat, ist auffällig, dass offensichtlich in der Normothermiegruppe neben den Langzeitgedächtnis auch das Kurzzeitgedächtnis geschädigt war, da mit der Anzahl der Versuche sich die Latenzzeiten nicht verkürzten, wie dies bei den Tieren der Kontroll- und der Hypothermiegruppe zu beobachten war. Andererseits lässt sich damit nicht erklären, warum sich letztendlich die Latenzzeiten der normothermen Tiere gegen Abschluss der Verlaufsuntersuchungen denen der Kontrollgruppe annäherten. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass aufgrund des relativ langen Untersuchungszeitraums eine Erholung von nur funktionsgestörten, hippocampalen Zellen stattgefunden hat. Auf der anderen Seite schien sich im Laufe der Zeit die Schwimmtaktik der normothermen Tiere zu ändern. Schwammen sie anfänglich nur entlang des Beckenrandes, so durchkreuzten sie nach einigen Tagen das Becken eher ziellos und waren somit in der Lage, auch zufällig und im Durchschnitt schneller die Plattform zu finden. Verantwortlich dafür könnte, neben der oben angeführten Erholung hippocampaler Zellen, auch der nicht geschädigte, präfrontale Kortex sein. Dieses Areal ist für die Entwicklung von Lernstrategien zur Problemlösung verantwortlich (Winocur und Moscovitch, 1990). Dazu muss allerdings kritisch angemerkt werden, dass für die Beurteilung und Auswertung der Schwimmtaktik kein entsprechendes Videoequipment mit entsprechender Software für die Erfassung der Schwimmbahnen zur Verfügung stand und damit natürlich nur die subjektiven Beobachtungen des Untersuchers in die Diskussion einfließen konnten.

4.9.1. Der Gewichtsverlauf

Das Gewicht war posttraumatisch zwischen dem zweiten und vierten Tag in der normothermen Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe um 16 % signifikant vermindert, Im Vergleich dazu zeigten die hypothermen Tiere zur Kontrollgruppe keine statistisch signifikanten Unterschiede. Über die Ursachen hierfür kann nur spekuliert werden.

Möglicherweise kommt dafür ein posttraumatischer Hypermetabolismus mit verstärkter kataboler Proteinstoffwechsellage (Clifton et al., 1991) nach Trauma in Frage, der aufgrund der größeren Schädigungsausmaßes im normothermen Kollektiv stärker ausgeprägt war. Außerdem war durch die, insbesondere in den ersten Tagen nach Trauma, Ausbildung hochgradiger Paresen im normothermen Kollektiv, die Nahrungsaufnahme für diese Tiere erschwert. Dies kann sekundär ebenfalls zu einem vermehrten Gewichtsverlust der normotherm behandelten Tiere geführt haben.

5. Zusammenfassung und Ausblick

In dieser experimentellen Studie wurde der Einfluss einer moderaten Hypothermie nach Induktion einer epiduralen, extraaxialen Raumforderung auf das neurologische Outcome, auf histopathologische Veränderungen und mittels bildgebender Methoden untersucht. Der Hauptaugenmerk wurde dabei eindeutig auf die neurologischen Verlaufsuntersuchungen mit Hilfe einer neuropsychologischen Testbatterie gelegt. Deswegen wurde auch eine Dauer von vier Wochen für die Verlaufsuntersuchung gewählt, da diese Zeitspanne bei der Ratte einem Zeitraum von ca. 2 Jahren beim Menschen entspricht (Hamm et al., 1992). Damit konnte in etwa die Hauptphase der klinischen Rekonvaleszenz nach Trauma abgedeckt werden. Zudem hatten die meisten experimentellen Arbeiten bereits nach wesentlich kürzeren Zeiträumen ihre Nachuntersuchungen abgeschlossen. Erst Maier dehnte die Zeitspanne sogar auf 2 Monate aus (Maier et al., 2001).

Die Gesamtmortalität betrug bei den normotherm behandelten Tieren 55% und bei den hypotherm behandelten Tieren 45%. Der Unterschied betrug damit nur 10% und war nicht signifikant. Betrachtet man aber die Mortalitätsraten differenzierter, so zeigt sich bezüglich der rein schädigungsbedingten Mortalität als Folge von schweren neurologischen Defiziten wie Hemiparese, Inaktivität und damit verbundenen dramatischen Gewichtsverlust eine Mortalität von 5% für die Hypothermiegruppe und 30% in der Normothermiegruppe. Dies findet seine Bestätigung auch in anderen experimentellen Untersuchungen. In Traumamodellen konnte Clifton mit dem „fluid percussion“ und Clark mit dem „cortical impact“ Modell durch Hypothermie eine Reduktion der Mortalität erreichen (Clifton et al., 1991; Clark et al., 1996). Maier fand unter Verwendung eines MCA – Okklusionsmodells und Langzeituntersuchungen nach 2 Monaten ebenfalls eine geringere Mortalität nach Anwendung einer Hypothermie (Maier et al., 2001). Für die Anwendung von Hypothermie bei Schädel – Hirn – Traumen und zerebralen Ischämien in klinischen Studien ist die Datenlage bisher noch widersprüchlich. So konnte bei SHT - Patienten die Mortalität mit Ausnahme von Patienten mit GCS 3 - 4 bei Aufnahme (Marion et al., 1997) unter moderater Hypothermie reduziert (Shiozaki et al., 1993; Marion et al., 1993) und das neurologische Outcome gebessert werden. Jiang fand ebenfalls bei 87 Patienten mit SHT und Langzeitanwendung von milder Hypothermie von 3. – 14. Tag nach Trauma eine signifikant reduzierte Mortalität und verbessertes Outcome 1 Jahr nach Therapie (Jiang et al., 2000) Andererseits konnte wiederum Shiozaki nach Durchführung einer japanischen Multicenterstudie bei Patienten nach SHT mit 91 Fällen keinen protektiven Effekt einer moderaten hypothermen Behandlung finden (Shiozaki et al., 2001). Die bisher größte Multicenterstudie in den USA von 1994 -

1998 musste bei 392 Patienten mit SHT abgebrochen werden, nachdem kein therapeutischer Effekt unter Hypothermie festzustellen war (Clifton et al., 2001¹). Nähere Analysen zeigten jedoch eine Verbesserung des Outcomes bei Patienten unter 45 Jahren welche bei Aufnahme bereits hypothermen Bedingungen ausgesetzt waren. Damit stellt sich natürlich die Frage nach dem optimalen Zeitfenster für den Beginn einer hypothermen Behandlung. Markgraf konnte tierexperimentell einen positiven Effekt auf die Ausdehnung des Hirnödems und des neurologischen Outcomes bis spätestens 60 min nach Trauma begonnener Hypothermieinduktion finden. Schon 30 min später, d.h. 90 min posttraumatisch, eingeleiteter Abkühlung ließen sich diese Effekte nicht mehr nachweisen (Markgraf et al., 2001). Als therapeutische Konsequenz erscheint damit unter Umständen ein sofortiger Beginn der Hypothermiebehandlung mit Eintreffen des Notarztes als wirkungsvoller. In der genannten Studie von Clifton betrug die Zeiten bis zum Erreichen der gewünschten Temperatur im Mittel $8,4 \pm 3$ h nach Trauma. Des Weiteren zeigte eine kritische Auseinandersetzung mit dem Studiendesign eine große Varianz in den Therapieregimen und den Ergebnissen der teilnehmenden Kliniken. Diese Variationen können natürlich zu einer Beeinflussung der Ergebnisse der Gesamtstudie geführt haben (Clifton et al., 2001²). Zusätzlich konnten wiederum neueste Untersuchungen bei Patienten mit zerebraler Ischämie nach Herz- und Kreislaufstillstand einen protektiven Effekt einer moderater Hypothermie auf das neurologische Outcome aufzeigen (Bernard et al., 2002; Holzer et al., 2002).

In unserer Studie sollte aber auf keinen Fall der nur geringe Unterschied in der Gesamtmortalität mit 55 % in der normothermen und 45 % in der hypothermen Gruppe vernachlässigt werden. Die Annäherung der Gesamtmortalität war hierbei auf eine deutlich erhöhte Rate systemischer oder lokaler Infektionen unter den hypothermen Tieren zurückzuführen. In experimentellen Studien wurde bisher abgesehen von einer erhöhten Pneumonierate bei Hunden in den ersten 48 Stunden nach Trauma und Anwendung einer Hypothermie (Ebmeyer et al., 1998), von keiner erhöhten, infektionsbedingten Mortalität berichtet. Auch Maier konnte trotz zweimonatiger Verlaufsuntersuchung keine erhöhten Infektionsraten finden (Maier et al., 2001). In klinischen Studien mehren sich allerdings die Hinweise auf eine durch Hypothermie bedingte Immunsuppression und damit verbundenen erhöhten Infektionsneigung. So konnten erhöhte Pneumonieraten (Schwab et al., 1998; 2001 ; Shiozaki et al., 2001) aber auch ein vermehrtes Auftreten von Meningitiden (Shiozaki et al., 2001) beobachtet werden. Shiozaki konnte zudem signifikant erhöhte Raten von Leuko- und Thrombozytopenien sowie Elektrolytentgleisungen im hypothermen Kollektiv finden (Shiozaki et al., 2001). Schwab fand in einer eigens zur Überprüfung der Nebenwirkungen von Hypothermie bei Patienten mit zerebraler Ischämie aufgelegten Studie erhöhte Raten an Pneumonien (48%), Thrombozytopenien (70%) und Bradykardien (62%) (Schwab et al., 2001). Er beschrieb allerdings alle Nebenwirkungen als gut beherrschbar. Prospektive

Studien von Patienten mit kolorektalen Eingriffen wiesen ebenso unter milder Hypothermie signifikant vermehrt Wundheilungsstörungen (Kurz et al., 1996) und eine geringere Lymphozytenaktivität auf (Beilin et al., 1998). Angewandt auf unsere Studie zeigte sich ebenfalls eine erhöhte Rate von Wundheilungsstörungen unter Hypothermie, ohne dabei jedoch zu einer Beeinflussung der Ergebnisse in den neuropsychologischen Testreihen zu führen.

Abschließend kann festgehalten werden, dass in dieser Studie die Induktion einer moderaten Hypothermie nach epiduraler, extraaxialer Raumforderung, zu einer Verbesserung neurologischer Defizite und damit zu einer Besserung der Lebensqualität jener Versuchstiere führte, die den Beobachtungszeitraum überlebten. Eine Verringerung der Gesamtmortalität konnte nicht erreicht werden.

6. Literaturverzeichnis

Alsop DC, Murai H, Detre JA, et al: Detection of acute pathologic changes following experimental traumatic brain injury using diffusion-weighted magnetic resonance imaging. **J Neurotrauma** **13**:515-521, 1996

Alexis NE, Dietrich WD, Green EJ, Prado R, Watson BD: Nonocclusive common carotid artery thrombosis in the rat results in reversible sensorimotoric and cognitive behavioral deficits. **Stroke** **26**:2338-2346, 1995

Assaf Y, Beit-Yannai E, Shohami E, et al: Diffusion- and T2-weighted MRI of closed-head injury in rats: a time course study and correlation with histology. **Magn Reson Imaging** **15**:77-85, 1997

Baker CJ, Onesti ST, Solomon RA: Reduction by delayed hypothermia of cerebral infarction following middle cerebral artery occlusion in the rat: a time-course study. **J Neurosurg** **77**:438-444, 1992

Baker CJ, Fiore AJ, Frazzini VI, Choudhri TF, Zubay GP, Solomon RA: Intraischemic hypothermia decreases the release of glutamate in the cores of permanent focal cerebral infarcts. **Neurosurgery** **36**:994-1001;discussion 100, 1995

Barzo P, Marmarou A, Fatouros P, et al: Biphasic pathophysiological response of vasogenic and cellular edema in traumatic brain swelling. **Acta Neurochir Suppl (Wien)** **70**:119-122, 1997¹

Barzo P, Marmarou A, Fatouros P, et al: Contribution of vasogenic and cellular edema to traumatic brain swelling measured by diffusion-weighted imaging. **J Neurosurg** **87**:900-907, 1997²

Bedell, E.A., DeWitt, D.S., Prough, D.S: Fentanyl Infusion preserves cerebral blood flow during decreased arterial blood pressure after traumatic brain injury in cats. **J. Neurotrauma** **11**:985-992, 1998

Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartowski H: Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. **Stroke** **17**:472-486, 1986

Beilin B, Shavit Y, Razumovsky J, Wolloch Y, Zeidel A, Bessler H: Effects of mild perioperative hypothermia on cellular immune response. **Anesthesiology** **89**:1133-1140, 1998

Bendszus M, Burger R, Vince GH et al. : A reproducible model of an epidural mass lesion in rodents. Part II: Characterization by in vivo magnetic resonance imaging. **J. Neurosurg.** **97**: 1419-1423, 2002

Berger C, Schäbitz WR, Georgiadis D, Steiner T, Aschoff A, Schwab S: Effects of hypothermia on excitatory amino acid in stroke patients: a microdialysis study. **Stroke** **33**: 519-524, 2002

Berger-Sweeney J, Heckers S, Mesulam MM et al.: Differential effects of spatial navigation of immunotoxin-induced cholinergic lesions of the medial septal area and nucleus basalis magnocellularis. **J Neurosci.** **14**: 4507- 4519, 1993

Bering EA, Taren JA, McMurrey J, Bernhard WF: The effect of hypothermia on the general physiology and cerebral metabolism of monkeys in the hypothermic state. **Surg Gyn Obst** **102**:134-138, 1956

Bernard S.A., Gray T.W., Buist M.D. et al. : Treatment of comatose survivors of out of hospital cardiac arrest with induced hypothermia. **N Engl J Med** **346**:557-563, 2002

Biggar WD, Bohn D, Kent G: Neutrophil circulation and release from bone marrow during hypothermia. **Infect Immun** **40**:708-712, 1983

Bigelow WA, Lindsay WK, Harrison RC: O₂- transport and utilization in dogs at low temperatures. **Am J Physiol** **160**:125-137, 1950

Botterell BH, Loughheed WM, Scott JW et al.: Hypothermia, and interruption of carotid-, or carotid and vertebral circulation, in the surgical management of intracranial aneurysms. **J Neurosurg** **13**:1-42, 1956

Bramlett HM, Green EJ, Dietrich WD, Busto R, Globus MY-T, Ginsberg MD: Posttraumatic brain hypothermia provides protection from sensorimotor and cognitive behavioral deficits. **J Neurotrauma** **12**:289-298, 1995

Bramlett HM, Dietrich WD, Green EJ, Busto R: Chronic histopathological consequences of fluid-percussion brain injury in rats: effects of posttraumatic hypothermia. **Acta Neuropathol** **93**:190-199, 1997

Brunberg JA, Reilly EL, Doty DB: Central nervous system consequences in infants of cardiac surgery using deep hypothermia and circulatory arrest. **Pediatr. Res** **7**: 419, 1973

Burger R, Vince GH, Meixensberger J, Roosen K. Bilateral Monitoring of CBF and Tissue Oxygen Pressure in the Penumbra of a Focal Mass Lesion in Rat. **Acta Neurochir** **71 (Suppl)**:157-161, 1998¹

Burger R, Vince H, Meixensberger J, et al: Hypothermia influences time course of intracranial pressure, brain temperature, EEG and microcirculation during ischemia-reperfusion. **Neurol Res (Suppl 1)** **20**: 52-60, 1998²

Burger R, Vince GH, Meixensberger J et al. : Interrelations of Laser Doppler Flowmetry and Brain Tissue Oxygen Pressure during Ischemia and Reperfusion by an Experimental Mass Lesion. **J Neurotrauma** **12**: 1149-1164, 1999

Burger R, Bendszus M, Vince GH, Solymosi I, Roosen K: Neuromonitoring, magnetic resonance imaging and histology confirm beneficial effect of moderate hypothermia due to an epidural focal mass lesion in rodents. **Neurosurgery** (submitted), 2003

Burger R, Bendszus M, Vince GH et al.: A new reproducible epidural mass lesion model in rodents. Part I :Characterization by neurophysiological monitoring, magnetic resonance imaging, and histopathological analysis. **J Neurosurg** **97**:1410-1418, 2002

Busto R, Dietrich WD, Globus MY, Valdes I, Scheinberg P, Ginsberg MD: Small differences in intrischemic temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. **J Cereb Blood Flow Metab** **7**:729-738, 1987

Butcher SP, Bullock R, Graham DI, McCulloch J: Correlation between amino acid release and neuropathologic outcome in rat brain following middle cerebral artery occlusion. **Stroke** **21**: 1727-1733, 1990

Cheng W, Hartmann JF, Cameron DE, et al: Cerebral blood flow during cardiopulmonary bypass: influence of temperature and pH management strategy. **Ann Thorac Surg** **59**:880-886, 1995

Cherian L, Hannay HJ, Vagner G, et al: Hyperglycemia increases neurological damage and behavioral deficits from post-traumatic secondary ischemic insults. **J Neurotrauma** **15**:307-21, 1998

Choi DW, Rothman SM : The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic ischemic neuronal death. **Ann Rev Neurosci** **13**: 171-182, 1990

Chopp M, Knight R, Tidwell CD, Helpert JA, Brown E, Welch KM: The metabolic effects of mild hypothermia on global cerebral ischemia and recirculation in the cat: Comparison to normothermia and hyperthermia. **J Cereb Blood Flow Metab** **9**:141-148, 1989

Clark RSB, Kochanek PM, Marion DW, Schiding JK, White M et al.: Mild posttraumatic hypothermia reduces mortality after severe controlled cortical impact in rats. **J Cereb Blood Flow Metab** **16**: 253-261

Clifton GL, Jiang JY, Lyeth BG, Jenkins LW, Hamm RJ, Hayes RL: Marked protection by moderate hypothermia after experimental traumatic brain injury. **J Cereb Blood Flow Metab** **11**:114-121, 1991

Clifton GL, Allen S, Berry J, et al: Systemic hypothermia in treatment of brain injury. **J Neurotrauma (Suppl 2)** **9**:S487-95, 1992

Clifton GL, Allen S, Barrodale P, et al: A phase II study of moderate hypothermia in severe brain injury. **J Neurotrauma** **10**:263-71; discussion 273, 1993

Clifton GL: Systemic hypothermia in treatment of severe brain injury: a review and update. **J Neurotrauma** **12**:923-927, 1995

Clifton GL, Miller ER, Choi SC et al.: Lack of effect of induction of hypothermia after acute brain injury. **N Eng Med** **344** : 556-563, 2001¹

Clifton GL, Choi SC, Miller ER et al. : Intercenter variance in clinical trials of head trauma—experience of the National Acute Injury Study : Hypothermia. **J Neurosurg** **95**:751-755, 2001²

Colbourne F, Corbett D: Delayed and prolonged post-ischemic hypothermia is neuroprotective in the gerbil. **Brain Res 654**:265-272, 1994

Crawford ES, Saleh SA: Transverse aortic arch aneurysm. Improved results of treatment employing new modifications of aortic reconstruction and hypothermic cerebral circulatory arrest. **Ann Surg 194**: 180-188, 1981

Del Bigio MR, Yan HJ, Buist R, et al: Experimental intracerebral hemorrhage in rats. Magnetic resonance imaging and histopathological correlates. **Stroke 27**:2312-9; discussion 2319-2, 1996

DeWitt DS, Prough DS, Taylor CL, et al: Reduced cerebral blood flow, oxygen delivery, and electroencephalographic activity after traumatic brain injury and mild hemorrhage in cats. **J Neurosurg 76**:812-821, 1992

Dietrich WD, Busto R, Halley M, Valdes I. The importance of brain temperature in alterations of the blood-brain barrier following cerebral ischemia. **J Neuropathol Exp Neurol 49**:486-497, 1990

Dixon CE, Markgraf CG, Angileri F, et al: Protective effects of moderate hypothermia on behavioral deficits but not necrotic cavitation following cortical impact injury in the rat. **J Neurotrauma 15**:95-103, 1998

Doerfler A, Schwab S, Hoffmann T et al.: Combination of decompressive craniectomy and mild hypothermia ameliorates infarction volume after permanent focal ischemia in rats. **Stroke 32**:2675-2681, 2001

Dowden J, Corbett D : Ischemic Preconditioning in 18- to 20-month old gerbils. **Stroke 30**: 1240-1246, 1999

Drake CG, Barr WK, Coles JC, Gergely NF: The use of extracorporeal circulation and profound hypothermia in treatment of ruptured intracranial aneurysm. **J Neurosurg 21**: 575-581, 1964

Du Plessis AJ, Jonas RA, Wypij D, et al: Perioperative effects of alpha-stat versus pH-stat strategies for deep hypothermic cardiopulmonary bypass in infants. **J Thorac Cardiovasc Surg** **114**:991-1000; discussion 100, 1997

Ebmeyer U, Safar P, Radovsky A, et al: Moderate hypothermia for 48 hours after temporary epidural brain compression injury in a canine outcome model. **J Neurotrauma** **15**:323-336, 1998

Eilers H, Kindler CH, Bickler PE: Different effects of volatile anesthetics and polyhalogenated alkanes on depolarization-evoked glutamate release in rat cortical brain slices. **Anesth Analg** **88**:1168-1174, 1999

Faden AI, Demediuk P, Panter SS, Vink R: The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. **Science** **244**:798-800, 1989

Fay T: Observations of prolonged human refrigeration. **NY State J Med** **40**:1351-1354, 1940

Feeney DM, Gonzalez A, Law WA: Amphetamine, haloperidol and experience interact to affect the rate of recovery after motor cortex injury. **Science** **217**: 855-857, 1982

Friehs G: Möglichkeiten und Grenzen der Hypothermie. Wien: **Klin Wochenschr** **80**:333-338, 1969

Ganz JC, Zwetnow NN: A quantitative study of some factors affecting the outcome of experimental epidural bleeding in swine. **Acta Neurochir (Wien)** **102**:164-172, 1990

Gelb AW: Side effects of hypothermia, in Spiss CK, Bacher A, Blaicher AM, Illievich UM, Schwab St, Sterz F, Zimpfer M (eds): **Proceedings of the 2nd international symposium on therapeutic hypothermia**. Wien: 1999, pp 12

Georgiadis D, Schwarz S, Kollmar R, Schwab S : Endovascular cooling for moderate hypothermia in patients with acute stroke. **Stroke** **32**:2550-2553, 2001

Ginsberg MD, Busto R: Rodent models of cerebral ischemia. **Stroke** **20**:1627-1642, 1989

Globus MY-T, Alonso O, Dietrich WD, Busto R, Ginsberg MD: Glutamate release and free radical production following brain injury: Effects of posttraumatic hypothermia. **J Neurochem** **65**:1704-1711, 1995

Goldstein LB, Davis JN,: Influence of lesion size and location on amphetamine accelerated recovery of beam - walking in rats. **Behav Neurosci** **104**:318-325, 1990

Goss JRSD, Styren PO, Miller PO, Kochanek PM, Palmer DW, Marion DW, Dekosky ST: Hypothermia attenuates the normal increase in interleukin-1 β RNA and nerve growth factor following traumatic brain injury in the rat. **J Neurotrauma** **12**:159-167, 1995

Goto Y, Kassell NF, Hiramatsu K, Soleau SW, Lee KS. Effects of intras ischemic hypothermia on cerebral damage in a model of reversible focal ischemia. **Neurosurgery** **32**:980-4; discussion 984-5, 1993

Green EJ, Dietrich WD, van Dijk F, Busto R, Markgraf CG, McCabe PM, Ginsberg MD, Schneidermann N. Protective effects of neural hypothermia on behaviour following global cerebral ischemia in rats. **Brain Res** **580**:197-204, 1992

Greenberg MS **Handbook of Neurosurgery**, S.660-662 5. Auflage Thieme New York 2001

Guntun RW, Scott JW, Lounghed WM et al.: Changes in cardiac rhythm and in form of electrocardiogram resulting from induced hypothermia in man. **Am Heart J** **52**:419-429, 1956

Hamm RJ, Dixon CE, Gbadebo DM, Singha AK, Jenkins LW, Lyeth BG, RL Hayes: Cognitive deficits following traumatic brain injury produced ny controoled cortical impact. **J Neurotrauma** **9**:11-20, 1992

Hansen TD, Warner DS, Todd MM, et al: Distribution of cerebral blood flow during halothane versus isoflurane anesthesia in rats. **Anesthesiology** **69**:332-337, 1988

Hanstock CC, Faden AI, Bendall MR, et al: Diffusion-weighted imaging differentiates ischemic tissue from traumatized tissue. **Stroke** **25**:843-848, 1994

Hayasaki K, Marmarou A, Barzo P, et al: Detection of brain atrophy following traumatic brain injury using gravimetric techniques. **Acta Neurochir Suppl (Wien)** **70**:75-77, 1997

Herguido MJ, Carceller F, Roda JM, Avendo C: Hippocampal cell loss in transient global cerebral ischemia in rats : a critical assesement. **Neuroscience 93** : 71-80, 1999

Hindman BJ, Dexter F, Cutkomp J, et al: Hypothermic acid-base management does not affect cerebral metabolic rate for oxygen at 27 degrees C. A study during cardiopulmonary bypass in rabbits. **Anesthesiology 79**:580-587, 1993

Hindman BJ, Dexter F, Cutkomp J, et al: pH-stat management reduces the cerebral metabolic rate for oxygen during profound hypothermia (17 degrees C). A study during cardiopulmonary bypass in rabbits. **Anesthesiology 82**:983-95; discussion 24A, 1995

Hoffman WE, Edelman G, Kochs E, et al: Cerebral autoregulation in awake versus isoflurane-anesthetized rats. **Anesth Analg 73**:753-757, 1991

Hoffman WE, Thomas C, Albrecht RF: The effect of halothane and isoflurane on neurologic outcome following incomplete cerebral ischemia in the rat. **Anesth Analg 76**:279-283, 1993

Hoffman WE, Thomas C: Effects of graded hypothermia on outcome from brain ischemia. **Neurol Res 18**:185-189, 1996

Hoffman WE, Charbel FT, Edelman G: Brain tissue oxygen, carbon dioxide, and pH in neurosurgical patients at risk for ischemia. **Anesth Analg 82**:582-586, 1996

Holzer M. für The Hypothermia after cardiac arrest study group: Mild therapeutic Hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. **N Eng J Med 346**: 549-556, 2002

Irikura K, miyasaka Y, Nagai S, Yuzawa I, Morii S, Fujii K: Moderate hypothermia reduces hypotensive, but not hypercapnic vasodilation of pial arterioles in rats. **J Cereb Blood Flow metab 18**:12294-1297, 1998

Jarrard LE: The hippocampus and motivation. **Psych Bull 79**:1 - 12, 1973

Jaspers RMA, Block F, Heim C, Sontag K-H: Spatial learning is affected by transient occlusion of common carotid arteries(2VO): comparison of behavioural and histopathological changes after '2VO`and `four-vessel-occlusion` in rats. **Neurosci Lett 117**:149-153, 1990

Jiang JY, Lyeth BG, Clifton GL, Jenkins LW, Hamm RJ, Hayes RL: Relationship between body and brain temperature in traumatically brain-injured rodents. **J Neurosurg** **74**: 492-496, 1991

Jiang JY, Lyeth BG, Kapasi MZ, Jenkins LW, Povlishock JT: Moderate hypothermia reduces blood-brain barrier disruption following traumatic brain injury in the rat. **Acta Neuropathol** **84**:495-500, 1992

Jiang J, Yu M, Zhu C: Effect of long-term mild hypothermia in patients with severe traumatic brain injury: 1-year follow up review of 87 cases. **J Neurosurg** **93**: 546-549, 2000

Johansson BB, Ohlsson AL: Laboratory of Experimental Neurology Do, Lund University Hospital: Environment, social interaction, and physical activity as determinants of functional outcome after cerebral infarction in the rat. **Exp Neurol** **139**:322- 327, 1996

Jonas RA, Bellinger DC, Rappaport LA, et al: Relation of pH strategy and developmental outcome after hypothermic circulatory arrest. **J Thorac Cardiovasc Surg** **106**:362-368, 1993

Karibe H, Zarow GJ, Graham SH, Weinstein PR: Mild intras ischemic hypothermia reduces postischemic hyperperfusion, delayed postischemic hypoperfusion, blood-brain barrier disruption, brain edema, and neuronal damage volume after temporary focal cerebral ischemia in rats. **J Cereb Blood Flow Metab** **14**:620-627, 1994

Kern FH, Greeley WJ: Pro: pH-stat management of blood gases is not preferable to alpha-stat in patients undergoing brain cooling for cardiac surgery [see comments]. **J Cardiothorac Vasc Anesth** **9**:215-218, 1995

Kimble D: The effects of bilateral injury in rats. **J Comp Physiol Psychol** **56**:273-283, 1963

Kofstad J: Blood gases and hypothermia: some theoretical and practical considerations. **Scand J Clin Lab Invest Suppl** **224**:21-26, 1996

Koizumi H, Povlishock JT: Posttraumatic hypothermia in the treatment of axonal damage in an animal model of traumatic axonal injury. **J Neurosurg** **89** :303-310, 1998

Kurth CD, O'Rourke MM, O'Hara IB: Comparison of pH-stat and alpha-stat cardiopulmonary bypass on cerebral oxygenation and blood flow in relation to hypothermic circulatory arrest in piglets. **Anesthesiology** **89**:110-118, 1998

Kurz A, Sessler DI, Lenhardt R: Perioperative normothermia to reduce the incidence of surgical-wound infection and shorten hospitalization. **N Engl J Med** **334**:1209-1215, 1996

Larsen M, Valo ET, Berg-Johnsen J, et al: Isoflurane reduces synaptic glutamate release without changing cytosolic free calcium in isolated nerve terminals. **Eur J Anaesthesiol** **15**:224-229, 1998

Lazorthes G, Campan L: Moderate hypothermia in craniocerebral trauma. **Acta Neurochir (Suppl 13)**:174-185, 1964

Lee JG, Hudetz AG, Smith JJ, et al: The effects of halothane and isoflurane on cerebrocortical microcirculation and autoregulation as assessed by laser-Doppler flowmetry. **Anesth Analg** **79**:58-65, 1994

Lindsay KW, Bone I : **Neurology and Neurosurgery illustrated** 3. Auflage, Churchill, Livingston, 1997

Lo EH, Steinberg GK: Effects of hypothermia on evoked potentials, magnetic resonance imaging, and blood flow in focal ischemia in rabbits. **Stroke** **23**:889-893, 1992

Loomis CW, Brunet D, Milne B, Cervenka FW, Johnson GD: Arterial isoflurane concentration and EEG burst suppression during cardiopulmonary bypass. **Clin Pharmacol Ther** **40**:304 - 314, 1986

Lowell HM, Bloor BM: The effect of increased intracranial pressure on cerebrovascular dynamics. **J Neurosurg** **34**:760-769, 1971

Lyeth BG, Jenkins LW, Hamm RJ, Dixon CD, Phillips LL, Clifton GL, Young HF, Hayes RL: Prolonged memory impairment in the absence of hippocampal cell death following traumatic brain injury in the rat. **Brain Res** **526**:249-258, 1990

Maier CM, Sun GH , Kunis D, Yenari MA, Steinberg GK : Delayed induction and long- term effects of mild hypothermia in a focal model of transient cerebral ischemia: neurological outcome and infarct size: **J Neurosurg 94**: 90-96, 2001

Marion DW, Obrist WD, Carlier PM, Penrod LE, Darby JM: The use of moderate therapeutic hypothermia for patients with severe head injuries: a preliminary report [see comments]. **J Neurosurg 79**:354-362, 1993

Marion DW, Penrod LE, Kelsey SF, et al: Treatment of traumatic brain injury with moderate hypothermia. **N Engl J Med 336**:540-546, 1997

Markgraf CG, Green EJ, Hurwitz BE, et al: Sensorimotor and cognitive consequences of middle cerebral artery occlusion in rats. **Brain Res 575**:238 246, 1992

Markgraf CG, Green EJ, Watson B, PM Mcgabe, Schneidermann N, Dietrich D, Ginsberg MD: Recovery of sensorimotor function after distal middle cerebral artery photothrombotic occlusion in rats. **Stroke 25**:153-159, 1994

Markgraf CG, Clifton GL, Moody MR et al.: Treatment window for hypothermia in brain injury **J Neurosurg 95**: 979-983, 2001

Menges G : Die gelenkte Hypothermie in der operativen Medizin. Theoretische und klinische Medizin in Einzeldarstellungen. Band 39 (h. Schäfer,Hrsg), Hüthig Verlag Heidelberg ,1968

Metz C, Holzschuh M, Bein T, Woertgen C, Frey A, Frey I, Taeger K, Brawanski A: Moderate hypothermia in patients with severe head injury : cerebral and extracerebral effects. **J Neurosurg 85**: 533-541, 1996

Michenfelder JD, Milde JH: The relationship among canine brain temperature, metabolism, and function during hypothermia. **Anesthesiology 75**:130-136, 1991

Mileson BE, Schwartz RD: The use of locomotor activity as a behavioral screen for neuronal damage following transient forebrain ischemia in gerbils. **Neurosci Lett 128**:71-76, 1991

Miller JD, Bullock R, Graham DI, Chen MH, GM Teasdale: Ischemic brain damage in a model of acute subdural hematoma. **Neurosurgery 27**:433-439, 1990

Minamisawa H, Smith ML, Siesjo BK: The effect of mild hyperthermia and hypothermia on brain damage following 5, 10, and 15 minutes of forebrain ischemia. **Ann Neurol** **28**:26-33, 1990

Miura Y, Grocott HP, Bart RD, et al: Differential effects of anesthetic agents on outcome from near-complete but not incomplete global ischemia in the rat [see comments]. **Anesthesiology** **89**:391-400, 1998

Miyazawa T, Hossmann KA: Methodological requirements for accurate measurements of brain and body temperature during global forebrain ischemia of rat. **J Cereb Blood Flow Metab** **12**:817-822, 1992

Mohri H, Merendino KA: Hypothermia with or without a pump oxygenator. **Surgery of the chest** (Gibbon JH, Sabiston DC, Spencer FC, eds) Philadelphia, W.B. Saunders Company, 643-673

Morikawa E, Ginsberg MD, Dietrich WD, Duncan RC, Kraydieh S, Globus MY, Busto R: The significance of brain temperature in focal cerebral ischemia: histopathological consequences of middle cerebral artery occlusion in the rat. **J Cereb Blood Flow Metab** **12**:380-389, 1992

Morris RGM, Garrud P, Rawlins JNP et al: Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. **Nature** **297**:681-683, 1982

Morris RGM, Anderson E, Lynch GS, Baudry M: Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. **Nature** **319**:774-775, 1986

Moser E, Moser M, Andersen P :Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions, but is hardly present following ventral lesions. **J neurosci.** **13**:3916 , 1993

Murkin JM, Farrar JK, Tweed WA, et al: cerebral autoregulation and flow/ metabolism coupling during cardiopulmonary bypass: The influence of PaCO₂. **Anesth Analg** **66**:825-832, 1987

Mushiroi T, Yoshimine T, Hayakawa T, Mogami H: Stab wound prevents delayed neuronal death in gerbil hippocampus. **J Cereb Blood Flow Metab (suppl1)** **9**: 188, 1989

Nagai S, Irikura K, Maruyama S, et al: The significance of hypothermic acid-base management induced before ischemia in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion. **Neurol Res** 21:204-208, 1999

Nakamura M, Tanno H., Fukuda K, Yamaura A: The effects of mild hypothermia on expression of stress protein (HSP72) after experimental brain injury. **Brain Nerv** 47:484-490, 1995

Nakashima K, Todd MM: Effects of hypothermia, pentobarbital, and isoflurane on postdepolarization amino acid release during complete global cerebral ischemia. **Anesthesiology** 85:161-168, 1996

Nelson A, Lebessi A, Sowinski P, Hodges H: Comparison of effects of global cerebral ischemia on spatial learning in the standard and radial water maze: relationship of hippocampal damage to performance. **Behav Brain Res** 85:93-115, 1997.

Nurse S, Corbett D. Direct measurement of brain temperature during and after intras ischemic hypothermia: correlation with behavioral, physiological, and histological endpoints. **J Neurosci** 14:7726-7734, 1994

Ohlsson AL, Johansson BB: Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats: **Stroke** 26: 644-649, 1995

Ohta T, Kuroiwa T, Sakaguchi I, Sakai N, Moriwaki K : Selective hypothermic perfusion of canine brain. **Neurosurgery** 38. 1211-1215

Oliff HS, Coyle P, Weber E: Rat Strain and vendor Differences in Collateral Anastomoses. **J Cereb Blood Flow Metab** 17:571-576, 1997

Patel PM, Drummond JC, Cole DJ, et al: Isoflurane reduces ischemia-induced glutamate release in rats subjected to forebrain ischemia. **Anesthesiology** 82:996-1003, 1995

Persson L, Hardemark H-G, Bolander HG, Hillered L, Olsson Y: Neurologic and neuropathologic outcome after middle cerebral artery occlusion in rats. **Stroke** 20:641-645, 1989

Pomeranz S, Safar P, Radovsky A, Tisherman SA, Alexander H, Stezoski W.: The effect of resuscitative moderate hypothermia following epidural brain compression on cerebral damage in a canine outcome model. **J Neurosurg** **79**:241-251, 1993

Prins ML, Hovda DA : traumatic brain injury in the developing rat : Effects of maturation on morris water maze acquisition. **J Neurotrauma** **15**: 799-811,1998

Rittenhouse EA, Mohri H, Dillard DH, Merendino KA : Deep hypothermia in cardiovascular surgery. **Ann Thorac Surg** **17**:63-98, 1974

Robinson RG, Coyle JT: Differential behavioral and biochemical effects of right and left hemispheric cerebral infarction in the rat. **Science** **205**:707-710, 1979

Rogers AT, Stump DA, Gravlee GP, et al: Response of cerebral blood flow to phenylephrine infusion during hypothermic cardiopulmonary bypass: influence of PaCO₂ management. **Anesthesiology** **69**:547-551, 1988

Sano T, Patel PM, Drummond JC, et al: A comparison of the cerebral protective effects of etomidate, thiopental, and isoflurane in a model of forebrain ischemia in the rat. **Anesth Analg** **76**:990-997, 1993

Schwab S, Schwarz S, Spranger M, et al: Moderate hypothermia in the treatment of patients with severe middle cerebral artery infarction. **Stroke** **29**:2461-2466, 1998

Schwab S, Georgiadis D, Berrouschot J et al.: Feasibility and safety of moderate in hypothermia after massive hemispheric infarction. **Stroke** **32**: 2033-2035, 2001

Sedzimir C: Therapeutiv hypothermia in cases of head injury. **J Neurosurg** **16**:407-414, 1959

Shiozaki T, Sugimoto H, Taneda M, Yoshida H, Iwai A, Yoshioka T, Sugimoto T. Effect of mild hypothermia on uncontrollable intracranial hypertension after severe head injury [see comments]. **J Neurosurg** **79**:363-368, 1993

Shiozaki T, Sugimoto H, Taneda M, et al: Selection of severely head injured patients for mild hypothermia therapy [see comments]. **J Neurosurg** **89**:206-211, 1998

Shiozaki T, Hayakata T, Taneda M et al.: A multicenter prospective randomized controlled trial of the efficacy of mild hypothermia for severely head injured patients with low intracranial pressure. **J Neurosurg** **94**:50-54, 2001

Smith SL, Hall ED: Mild pre- and posttraumatic hypothermia attenuates bloodbrain barrier following controlled cortical impact injury in the rat. **J Neurotrauma** **13**: 1-9, 1996

Squire LR : Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys and humans. **Psychol. Review** **99** : 195-231, 1992

SteigerH.J., Reulen H.J. : **Manual Neurochirurgie** S. 307-311 ecomed. 1999

Taft WC, Yang K, Dixon CE et al.: Hypothermia attenuates the loss of hippocampal microtubule-associated protein 2 (MAP2) following traumatic brain injury. **J Cereb Blood Metab** **13**:796-802

Todd MM, Weeks J: Comparative effects of propofol, pentobarbital, and isoflurane on cerebral blood flow and blood volume. **J Neurosurg Anesthesiol** **8**:296-303, 1996

Toyoda T, Suzuki S, Kassell NF, Lee KS. Intraischemic hypothermia attenuates neutrophil infiltration in the rat neocortex after focal ischemia-reperfusion injury. **Neurosurgery** **39**: 1200-1205, 1996

Uihlein A, MacCarty CS, Michenfelder JD, Terry HR, Daw EF: Deep hypothermia and surgical treatment of intracranial aneurysms. **JAMA** **195**: 127-129, 1966

Unterberg AW, Stroop R, Thomale UW, et al: Characterisation of brain edema following "controlled cortical impact injury" in rats. **Acta Neurochir Suppl (Wien)** **70**:106-108, 1997

Winocur G, Moscovitch M: Hippocampal and prefrontal cortex contributions to learning and memory: Analysis of lesion and aging effects on maze learning in rats. **Behav Neurosci** **104**:544-551, 1990

Wright JS, Hicks RG, Newman DC: Deep hypothermic arrest: Observation on later development in children. **J Thorac Cardiovasc Surg** **77**: 466-468, 1979

Yanamoto H. , Nagata I. ,Niitsu Y., Zhang Z. et al.:Prolonged mild hypothermia therapy protects the brain against permanent focal ischemia. **Stroke** 32:232-239, 2001

Danksagung

In erster Linie gebührt Herrn PD Dr. R. Burger mein Dank der als Betreuer dieser Doktorarbeit durch seinen Ideenreichtum, seine konstruktiven und kritischen Ratschläge in stets freundschaftlicher Atmosphäre den entscheidenden Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet hat.

Mein besonderer Dank gilt ebenso Herrn Prof. Dr. K. Roosen der durch seine großzügige, anhaltende Förderung und Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit erst möglich machte.

Danken möchte ich ebenso den Mitarbeitern des Tier – OP der Kopfklinik Würzburg insbesondere der Leiterin Fr. Brünner, die durch ihre logistische Unterstützung und ihr nettes Wesen für eine angenehme, trotz zeitweise hoher Belastung, Arbeitsatmosphäre gesorgt hat und damit nicht zuletzt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Des weiteren möchte ich mich recht herzlich bei Herrn PD Dr. W. Müllges für die Übernahme des Koreferats bedanken.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Mark Züchner

Heimatanschrift: Friedrich - Wilhelm - Str.22
54290 Trier
Tel.: 0651/9919623

E-Mail: jmzuechner@aol.com

Geburtsdatum: 25. Januar 1972

Geburtsort: Leipzig

Familienstand: verheiratet

Nationalität: deutsch

Schulbildung

1978 -1984 Polytechnische Oberschule Leipzig-West

1984 -1988 Kinder - und Jugendsportschule Leipzig

1988 -1989 Erweiterte Oberschule Leipzig - Grünau

1989 -1992 Wirtschaftsgymnasium Wertheim am Main

Mai 1992 Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst

Juli 1992 - Dez.1992 Alten und Service - Zentrum München - Laim

Jan 1993 - Okt.1993 Sana - Klinik - München - Sendling GmbH

Hochschulbildung

Nov.1993 - März 1994 Technische Universität München
Studienfach Chemie

Mai 1994 Bayerische Julius - Maximilian - Universität

	Würzburg
März 1996	<u>Physikum</u>
März 1997	<u>1.Staatsexamen</u>
Sept.1999	<u>2.Staatsexamen</u>
Okt.1999 - Sep.2000	Praktisches Jahr der Universität Würzburg in folgenden Kliniken
Okt.1999 - Feb.2000	Universitätsklinik Würzburg <u>Neurochirurgie</u>
Feb.2000 - Juni 2000	Zentralkrankenhaus in Akershus ,Norwegen <u>Innere Medizin</u>
Juni 2000 - Aug.2000 Aug.2000 - Sept.2000	Mayo General Hospital, Castlebar, Irland Klinikum Coburg <u>Chirurgie</u>
Okt.2000	3.Staatsexamen

Famulaturen

1996/1999	<u>Chirurgie</u> (Kreis Krankenhaus Wertheim,Ski Sykehus Oslo)
1997	<u>Allgemeinmedizin</u> (Osloakutten,Gemeinschaftspraxis)
1998	<u>Neurochirurgie</u> (Universität Würzburg)
1999	<u>Anästhesie</u> (Ski Sykehus Oslo)

Studienbegleitende Tätigkeiten

1995	1 Monat Extrawacht auf der HNO-Intensiv Uniklinik Würzburg
1995 –1999	regelmäßige Extrawachten im Pflegebereich der Intensivstation Herz-und Thoraxchirurgie Universität Würzburg

Promotion

Seit 1999

Experimentelle Arbeit mit dem Thema :

Auswirkung einer induzierten moderaten Hypothermie auf das Outcome nach Induktion einer epiduralen , fokalen, Raumforderung im Tiermodell

Prof. Dr. med. K.Roosen

Ärztliche Tätigkeit

Feb. 2001- Juli 2002

Arzt im Praktikum in der Neurochirurgischen Klinik der Universität Heidelberg.

Seit Aug. 2002

Assistenzarzt in der Neurochirurgischen Abteilung des Krankenhaus der Barmherzigen Brüder in Trier

Trier, den 05.11.2003

Mark Züchner