

**EINFLUSS ZEREBRALER LUFTEMBOLIEN AUF DAS  
NEUROLOGISCHE OUTCOME NACH HERZ-LUNGEN-  
MASCHINE AN DER RATTE UNTER XENONANÄSTHESIE**

**-  
DOSISFINDUNGSSTUDIÉ ZUR EMBOLUSGRÖÖE**

---

Sebastian Pfaud

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Anästhesiologie

Einfluss zerebraler Luftembolien auf das neurologische Outcome nach  
Herz-Lungen-Maschine an der Ratte unter Xenonanästhesie

-

Dosisfindungsstudie zur Embolusgröße

Sebastian Pfaud

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität  
München zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Medizin  
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. E. Kochs

2. apl. Prof. Dr. M. Blobner

Die Dissertation wurde am 12.04.2013 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 22.10.2014 angenommen.

**EINFLUSS ZEREBRALER LUFTEMBOLIEN AUF DAS  
NEUROLOGISCHE OUTCOME NACH HERZ-LUNGEN-  
MASCHINE AN DER RATTE UNTER XENONANÄSTHESIE**

**-  
DOSISFINDUNGSSTUDIÉ ZUR EMBOLUSGRÖÖE**

---

Sebastian Pfaud

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

angefertigt unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. G. B. Mackensen

**EINFLUSS ZEREBRALER LUFTEMBOLIEN AUF DAS  
NEUROLOGISCHE OUTCOME NACH HERZ-LUNGEN-  
MASCHINE AN DER RATTE UNTER XENONANÄSTHESIE  
-  
DOSISFINDUNGSSTUDIE ZUR EMBOLUSGRÖÖE**

Dissertation  
zur Erlangung der humanmedizinischen Doktorwürde  
der Humanmedizinischen Fakultät der  
Technischen Universität München

von  
Sebastian Pfaud  
aus  
Regensburg

Regensburg 2012

1	Einleitung .....	8
1.1	Neurologische Defizite nach herzchirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation .....	9
1.1.1	Neurologische Defizite .....	9
1.1.2	Extrakorporale Zirkulation (EKZ) .....	11
1.1.2.1	pH-Management .....	11
1.1.2.2	Systemische Entzündungsreaktion (SIRS) .....	12
1.1.2.3	Zerebrale Hypoperfusion.....	13
1.1.2.4	Embolien .....	15
1.1.2.4.1	Feste Embolien.....	15
1.1.2.4.2	Gasförmige Embolien .....	16
1.2	Neuroprotektive Strategien.....	20
1.2.1	Nicht-pharmakologische Strategien.....	20
1.2.2	Pharmakologische Strategien.....	20
1.2.2.1	Xenon .....	24
1.2.2.1.1	Eigenschaften .....	24
1.2.2.1.2	Wirkmechanismus .....	25
1.2.2.1.3	Xenon in der Anästhesie .....	26
1.2.2.1.4	Vorteile .....	27
1.2.2.1.5	Neuroprotektive Eigenschaften .....	28
1.2.2.1.6	Nachteile.....	31
1.2.2.1.7	Einfluss von Xenon auf die Größe von Luftembolien .....	32
1.3	Vorteile eines Kleintiermodells .....	34
1.3.1	Frühere Modellformen .....	35
1.3.2	Forderungen an ein Kleintiermodell.....	38
1.3.3	Besonderheiten des Kleintiermodells dieser Studie .....	39
1.3.4	Ratte als Versuchstier.....	40
1.4	Kombination von Extrakorporaler Zirkulation und Luftembolien in einem Modell .....	41
1.5	Dosisfindungsstudie .....	42
2	Methoden .....	43
2.1	Versuchsplan.....	43
2.2	Versuchstierhaltung.....	44
2.3	Anästhesie.....	45

2.4	Präparation .....	48
2.5	Präparation des Blutspendetieres .....	49
2.6	Extrakorporale Zirkulation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine (HLM).....	50
2.7	Luftembolie .....	52
2.8	Neurologische Testung .....	53
2.8.1	Drehendes Gitter .....	53
2.8.2	Schwebebalken .....	54
2.8.3	Halte-Zug-Versuch.....	55
2.8.4	Spontane Aktivität.....	56
2.8.5	Symmetrie der Bewegung .....	56
2.8.6	Laufen auf den Vorderpfoten .....	57
2.8.7	Klettern .....	57
2.8.8	Reaktion auf Berührung am Körper .....	58
2.8.9	Reaktion auf Berührung der Schnurrhaare (Vibrissen).....	58
2.8.10	Testauswertung .....	59
2.9	Euthanasie .....	60
2.10	Histologische Aufarbeitung.....	61
2.10.1	TTC-Färbung .....	62
2.11	Statistik.....	63
3	Ergebnisse .....	64
3.1	Überleben .....	64
3.2	Neurologie .....	67
3.2.1	Motorisches Defizit .....	67
3.2.2	Sensorisches Defizit .....	68
3.3	Histologie.....	70
4	Diskussion.....	72
4.1	Diskussion der Methoden.....	72
4.1.1	Kombiniertes Modell aus ZLE und EKZ.....	72
4.1.2	Neurologische Testung.....	76
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	77
4.2.1	EKZ bedingt schlechteres Outcome .....	77
4.2.2	Mögliche Gründe .....	78
4.2.2.1	Systemische inflammatorische Reaktion .....	78
4.2.2.2	Einfluss auf die Leukozytenakkumulation .....	79
4.2.2.3	Nicht-pulsatiler Blutfluss.....	80
4.2.3	Kein Einfluss von Xenon auf die untersuchten Parameter .....	80

4.2.3.1	Blasenexpansion versus neuroprotektives Potential.....	81
4.2.3.2	Ausblick.....	82
5	Abschließende Betrachtung.....	83
6	Zusammenfassung .....	84
7	Literaturverzeichnis.....	87
8	Abkürzungsverzeichnis .....	103
9	Abbildungsverzeichnis .....	105
10	Danksagung.....	107
11	LEBENS LAUF	

## 1 Einleitung

Ziel dieser Doktorarbeit ist es durch eine Dosisfindungsstudie die Grundlagen zur weiteren Erforschung des neuroprotektiven Potentials des Edelgases Xenon im Dienste der Anästhesie während kardiochirurgischen Eingriffen zu legen.

Ausgangspunkt ist die Kombination von extrakorporaler Zirkulation mit einer Herz-Lungen-Maschine unter Anästhesie mit Xenon und das kontrollierte kontinuierliche Zufügen von zerebralen Luftembolien.

Frühere Modellformen erlaubten kein Überleben der Versuchstiere.

In unserem neu etablierten Kleintiermodell an der Ratte war das Überleben durch die Präparation und verfahrenstechnische Umstände nicht mehr gefährdet. Somit konnten die Auswirkungen zerebraler Luftembolien auf neurologische Parameter über den Zeitraum von einer Woche beobachtet werden.

Die Literatur gibt unterschiedliche Angaben über die Embolusgröße, die zu minimaler und maximaler neurologischer Beeinträchtigung führt. Diese Frage versuchten wir mit unserem Versuchsaufbau zu klären und somit die Grundlage für Folgestudien zu legen.

Der Zusatz oder das Fehlen von Xenon lässt bereits einige Schlüsse auf die Eigenschaften von Xenon zu; die eigentliche Klärung diesbezüglicher Fragen muss jedoch in den weiteren Studien erfolgen.

Als Zielparameter sollen das Überleben oder Sterben des Versuchstieres, motorische und sensorische Defizite sowie die Histologie des Gehirns betrachtet werden. Für zukünftige Studien soll es möglich werden, je nach beabsichtigtem Effekt, die Größe des Luftembolus wählen zu können.

Die Relevanz zur Erforschung neuroprotektiver Strategien ergibt sich aus den ständig wachsenden technischen Möglichkeiten der Kardiochirurgie mit einem zunehmend risikoreicheren Klientel. Die Komplikationsrate hält stets mit den Innovationen im technischen Bereich Schritt.



## **1.1 Neurologische Defizite nach herzchirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation**

### **1.1.1 Neurologische Defizite**

1996 veröffentlichten Roach et al ihre Resultate einer Multizenterstudie zum neurologischen Outcome von Patienten die sich chirurgischer Revaskularisation der Koronargefäße unterzogen hatten. Sie unterschieden zwei Kategorien von neurologischen Zuständen. Als Typ I wurden Tod durch Apoplex oder hypoxische Enzephalopathie, nicht-tödlicher Schlaganfall, transiente ischämische Attacke (TIA), Stupor oder Koma definiert; als Typ II beschrieben sie neu aufgetretene Verschlechterung der intellektuellen Funktionen, Verwirrung, Erregungszustände, Gedächtnisdefizite und Lähmungen ohne Anzeichen für ein fokales Ereignis. Es wurden in dieser prospektiven Studie 2108 Patienten untersucht, die sich elektiver arterieller Koronarbypass-Angioplastie unterzogen. Das Patientenalter war hoch und viele hatten Hypertonie, instabile Angina pectoris, Herzversagen, Schlaganfall, TIA oder Diabetes in ihrer Anamnese. 6,1 % (129) wiesen postoperativ verschlechterte neurologische Werte auf. 3,1% davon entfielen auf Typ I, 3,0% auf Typ II. Bei Typ I war die Mortalität im Krankenhaus 10fach erhöht, bei Typ II 5fach. Der durchschnittliche postoperative Krankenhausaufenthalt und die auf der Intensivstation verbrachte Zeit waren bei den Patienten mit neurologischen Problemen verdoppelt. 47% der Typ I-Patienten und 30% der Typ II-Patienten mussten zur Rehabilitation in spezielle Zentren überwiesen werden. Im Gegensatz dazu stehen die 8% aus der Patientengruppe ohne neurologische Defizite. (ROACH et al 1996)

Die moderne Herzchirurgie sieht sich mit einem Paradoxon konfrontiert. Ältere und kränkere Menschen profitieren am meisten von Herzoperationen obwohl sie deutlich mehr Risikofaktoren für höhere postoperative Morbidität und Mortalität aufweisen. Durch verbesserten myokardialen Schutz, ausgefeiltere chirurgische Techniken und Perfektionierung der extrakorporalen Zirkulation (EKZ), ein bei den meisten größeren Herzeingriffen verwendetes Instrument, stellt die Erhaltung der Herzfunktion keine all

zu große Schwierigkeit mehr dar; die Entwicklung protektiver Regime für das Gehirn steckt dagegen noch in den Kinderschuhen. Dieser Mangel an Fortschritt auf dem Gebiet der Neuroprotektion, kombiniert mit dem Zuwachs an älteren Patienten, hat zu vermehrtem Auftreten von Schlaganfällen und kognitiven Beeinträchtigungen nach Herzoperationen im Vergleich zum Erscheinen kardialer Probleme geführt.

Je älter der Patient, desto wahrscheinlicher das Auftreten von Problemen (NEWMAN M, CROUGHWELL ND et al 1994). Kurz- und Langzeitgedächtnisstörungen, Wortfindungsstörungen, verschlechtertes Wiedererkennen von Formen und verminderte Geschwindigkeit in der Informationsverarbeitung zählen zu den Hauptproblemen. Viele dieser Symptome sind akut, aber reversibel und bilden sich im Laufe der Zeit von selbst zurück. Dennoch kündigen neuropsychologische Defizite schlechtes Langzeit-Outcome an (ROACH et al 1996).

Ein Grund für die Anfälligkeit älterer Patienten für kognitive Dysfunktion hervorgerufen durch kardiochirurgische Eingriffe und damit verbundenem Einsatz der EKZ, mag unter anderem in der verminderten zerebralen Autoregulation im Alter liegen. Eventuell während der Operation auftretende Schwankungen des Blutdruckes und der Temperatur können Verminderungen des zerebralen Blutflusses verursachen. Newman et al konnten jedoch in ihrer auf diese Möglichkeit ausgelegten Studie keine Bestätigung für diese Theorie finden. (NEWMAN M, CROUGHWELL ND et al 1994) Das Alter wird nach wissenschaftlicher Datenlage als wichtigster Risikofaktor für das Auftreten neurologischer Probleme während und nach EKZ gesehen. Tuman et al untersuchten prospektiv 2000 Koronarbypass-Patienten, mit ähnlichen kardiologischen Vorerkrankungen, in drei Altersgruppen. Risikofaktoren für postoperative neurologische Ereignisse schlossen Alter, präoperative neurologische Abnormitäten, erst vor kurzem aufgetretene Myokardinfarkte und Dauer der EKZ ein. Sie fanden eine Inzidenz von 0,9% für neurologische Komplikationen in der Patientengruppe unter 65 Jahren, von 3,6% in der Gruppe zwischen 65 und 74 Jahren und von 8,9% bei denen über 75 Jahren. Ergebnisse anderer Forscher belegen ebenfalls den Zusammenhang zwischen höherem Alter und zerebraler Dysfunktion. (TUMAN KJ, McCARTHY RJ et al 1992)

Einen nicht zu vernachlässigenden Risikofaktor, der später noch näher beleuchtet werden soll, stellt die Plaquebildung im Rahmen der Arteriosklerose dar. Gewebestückchen können sich durch chirurgische Manipulation lösen und durch

Einschwemmung in zerebrale Endstromgebiete zu unterschiedlich schweren Komplikationen führen.

### **1.1.2 Extrakorporale Zirkulation (EKZ)**

Bereits zu Beginn der Ära der Herzchirurgie war offensichtlich, dass der obligate Einsatz jeglicher Form von EKZ mit weitreichenden Organschädigungen verbunden sein wird.

1954 wurde die extrakorporale Zirkulation zum ersten Mal erfolgreich klinisch von Gibbon eingesetzt. (GIBBON JH et al 1954) Noch im selben Jahr berichteten Fox et al über eine Reihe von Patienten, die neurologische und psychologische Dysfunktionen nach Herzoperationen zeigten. (FOX HM, RISSO ND et al 1954) Andere Studien folgten und bis in die 60er Jahre war der Zusammenhang zwischen Operationen am Herz und hoher Inzidenz von Hirnschädigungen etabliert. (TAYLOR KM et al 1998)

Natürlich ist die Zirkulation des Blutes durch Silikonschläuche unter Umgehung des menschlichen Herzens kein physiologischer Vorgang. Trotz zahlreicher Verbesserungen in punkto Sicherheit und Zuverlässigkeit der EKZ-Technologie, bestehen weiterhin pathologische Veränderungen, die sowohl systemische als auch lokale Organdysfunktionen verursachen. Speziell das Gehirn kann während EKZ über unterschiedliche Wege geschädigt werden. Zu diesen Wegen zählen in aufsteigender Wertigkeit:

- pH-Entgleisungen
- Systemische inflammatorische Reaktionen
- Zerebrale Hypoperfusion
- Mikroembolisation
- Makroembolisation

Jeder dieser Mechanismen kann die Hirnfunktion während oder nach EKZ beeinflussen, zumal sie auch zusammenhängen können und sich ihre negative Wirkung dadurch verstärken kann. (TAYLOR KM et al 1998)

#### **1.1.2.1 pH-Management**

Doch auch andere Faktoren können die Qualität der Blutversorgung und die Physiologie des Autoregulationsmechanismus beeinflussen. Einer davon ist abhängig vom Gasaustausch und Strategien zur Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Haushaltes während hypothermer EKZ. Seit längerem oxygeniert man nicht mehr nur einfach das Blut, sondern versucht einen eher physiologischen Gasaustausch zu bewerkstelligen, da zu hohe Sauerstoffkonzentrationen im arteriellen Blut zu Problemen, wie vermehrter Gasembolisation, führen können. Die Blutzirkulation insgesamt und der zerebrale Blutfluss im Besonderen sind anfällig für Änderungen in der arteriellen Kohlendioxidkonzentration. Für das pH-Management stehen im Wesentlichen zwei Protokolle zur Verfügung: pH-stat und  $\alpha$ -stat.

Beim pH-stat wird der pH unabhängig von der Körperkerntemperatur bei 7,40 gehalten. Sinkende Temperaturen erhöhen den Blut-pH, weswegen dem Oxygenator Kohlendioxid über den Zustrom beigemischt wird, um die Werte konstant zu halten.

$\alpha$ -stat hingegen bedeutet, dass das Verhältnis von dissoziierten zu nicht-dissoziierten Imidazolgruppen des Histidin-Puffer-Systems, gleich gehalten wird. Bei diesem Protokoll muss kein CO<sub>2</sub> bei Abkühlung und Erwärmung zugeführt werden. Es muss allerdings bemerkt werden, dass der Einsatz des pH-stat-Regimes eine so genannte „Luxus-Perfusion“ mit sich bringt. Es wird dem Gehirn mehr Sauerstoff geliefert, als es verbrauchen kann.

Hinzu kommt: je größer der Blutfluss, desto größer das Potential für mitgeschwemmte Emboli. (TAYLOR KM et al 1998)

### **1.1.2.2 Systemische Entzündungsreaktion (SIRS)**

Das Blut des Patienten zirkuliert während der EKZ durch einen artifiziellen Kreislauf bestehend aus Kunststoffen. Der Kontakt zu diesen künstlichen Oberflächen bewirkt die Aktivierung von humoralen und zellulären Mechanismen, die letzten Endes in einer systemischen Entzündungsreaktion münden. Nieren- und Lungenversagen werden als Folge beobachtet. Die Konsequenzen für das Gehirn sind noch nicht vollkommen geklärt und auch bei der Ätiologie ist noch kein Konsensus eingetreten. (WESTABY S, SAATVEDT K et al 2001)

Frühere Studien konzentrierten sich bei der Untersuchung dieses Phänomens auf die Komplementaktivierung. Es stellte sich aber heraus, dass Thrombozyten,

Neutrophile, Gerinnungsfaktoren, das fibrinolytische System und Kinine, zusammen mit einer beeindruckenden Liste von vasoaktiven und inflammatorischen Mediatoren, eine entscheidende Rolle bei diesen Vorgängen spielen können (LAFHEY et al 2002). Das Auftreten der generellen Entzündungszeichen wird deswegen zunehmend als unvermeidbare Nebenwirkung beim Einsatz der extrakorporalen Zirkulation in der Herzchirurgie gesehen. Bestandteile der Entzündung sind Adhäsion, Aggregation und folgende Mikroembolisation von Neutrophilen und anderen zellulären Blutbestandteilen.

Mittels Magnetresonanzaufnahmen wurde bei Patienten, die innerhalb von 60 min nach Beendigung chirurgischer Eingriffe an den Koronargefäßen untersucht wurden, eine diffuse Hirnschwellung mit Verlust des normalen Erscheinungsbildes der Sulci und Gyri bei allen Patienten, festgestellt. Es waren keine postoperativen neurologischen Veränderungen detektierbar. Möglicherweise kann die Schwellung auf vermehrte Kapillardurchlässigkeit, ein bekannter Bestandteil der inflammatorischen Antwort bei Herzpatienten, zurückgeführt werden. (TAYLOR KM et al 1998)

Eine abschließende Klärung steht allerdings noch aus. Die momentan gemessenen und als typisch für die SIRS angesehenen Parameter scheinen nicht zuverlässig zu sein. Nicht alle Patienten mit erhöhten Spiegeln der SIRS-Indikatoren zeigen auch erkennbare neurokognitive Veränderung. Westaby et al erklären in ihrer Studie, dass die inflammatorische Reaktion des Körpers ausgelöst durch den Kontakt zu körperfremden Oberflächen nicht allein für das typische Muster neuropsychologischer Veränderungen nach EKZ verantwortlich gemacht werden kann. Sie konnten keinen Zusammenhang zwischen Entzündungsmediatoren und objektivierbaren neuropsychologischen Effekten feststellen. Im Zusammenspiel mit anderen Faktoren wie Mikroembolien, Hypo- und Hyperperfusion mag der SIRS jedoch durchaus eine Rolle zukommen. Westaby et al gehen also von einer multifaktoriellen Genese der neuropsychologischen Alterationen nach EKZ-Einsatz aus. (WESTABY S, SAATVEDT K et al 2001)

### **1.1.2.3 Zerebrale Hypoperfusion**

Während EKZ liefert die künstliche Pumpe nur das Volumen, welches durch die Flussrate vorgegeben ist. Obwohl die physiologische Flussrate bei  $3,0-3,2 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$

---

liegt, werden üblicherweise Raten zwischen  $2,2 \text{ l m}^{-2} \text{ min}^{-1}$  und  $2,4 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$  angewendet. (VASKO JS et al 1972, TARHAN S et al 1971, REPLOGE RL et al 1961) Dieser Kompromiss entsteht aus der Meinung, dass eine höhere Flussrate mit vermehrtem Blutzelltrauma vergesellschaftet ist. Außerdem ist das Herzzeitvolumen (HZV) während Anästhesie reduziert. (BARTLETT RH et al 1982, BOUCHER et al 1974, HARKEN et al 1975, RUDY LW et al 1973) Der Einsatz milder Hypothermie während EKZ ermutigt manche Forscher sogar zu weiteren Reduzierungen der Flussraten. Der Sauerstoffbedarf des Gewebes fällt zunehmend mit der Erniedrigung der Temperatur und das HZV wird ebenfalls weiter vermindert. Es wurde gezeigt, dass der Gesamtsauerstoffverbrauch des Körpers von etwa  $120 \text{ ml}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$  bei  $37^\circ\text{C}$  auf  $33 \text{ ml}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$  bei  $20^\circ\text{C}$  abfällt, wenn die Perfusion bei  $2,4 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}$  verbleibt. Nach aktueller Datenlage kann die Flussrate bei einer Kerntemperatur von  $28^\circ\text{C}$  bis zu  $1,6 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}$  und bis zu  $1,2 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}$  bei  $20^\circ\text{C}$  reduziert werden. (FOX LS, BLACKSTONE LH et al 1982) Ob damit allerdings noch eine adäquate Perfusion des Gehirns erzielt wird, ist fraglich. Der zerebrale Blutfluss wird unter normalen Umständen sehr sorgfältig reguliert. Über eine große Bandbreite arterieller Drücke wird über die zerebrovaskuläre Autoregulation ein Plateau aufrechterhalten. Nur bei extrem hohen oder niedrigen Blutdruckwerten erfolgt die zerebrale Perfusion druckpassiv. Patienten mit chronischer arterieller Hypertonie stellen eine besondere Risikogruppe dar. Obwohl auch bei ihnen noch eine Autoregulation besteht, ist der zerebrale Blutfluss bereits bei Perfusionswerten erniedrigt, die bei Normotensiven durchaus noch als adäquat angesehen werden können. (TAYLOR KM et al 1993)

In einer klinischen Studie von Plestis und Gold wurde gezeigt, dass Patienten, die einer EKZ unterzogen wurden, weniger kardiale und neurologische Komplikationen aufwiesen, wenn der MAP höher war. Patienten mit niedrigeren Drücken schnitten schlechter ab. Der positive Effekt des höheren MAPs im Kontext zerebraler Embolien wird vor allem über die Verbesserung des Blutflusses durch kollaterale Blutgefäße erklärt. (PLESTIS KA, GOLD JP et al 2001)

Andere Autoren beschreiben, dass das Gehirn relativ resistent gegen Reduktionen des zerebralen Blutflusses zu sein scheint. Astrup et al fanden in einem Tierversuch an der Ratte als Schwellenwert für den Hirnzelluntergang heraus, dass der Blutfluss unter  $10 \text{ ml}\cdot 100 \text{ g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  fallen muss, bevor der ischämische Zelltod auftritt. Diese Schwelle gelte für normotherme Bedingungen und könne unter Hypothermie vermutlich noch weiter gesenkt werden. (ASTRUP J, SYMON L et al 1977) Es konnte

bisher nicht gezeigt werden, dass solche niedrigen Werte mit konventioneller extrakorporaler Zirkulation erreicht werden. Es sollte durch diese Beobachtungen jedoch kein Anlass für Nachlässigkeit bei der Kontrolle der zerebralen Perfusion während EKZ entstehen. Der Zusammenhang zwischen genereller Reduktion des zerebralen Blutflusses und ischämischer Schädigung ist noch nicht abschließend geklärt. (TAYLOR KM et al 1998)

#### **1.1.2.4 Embolien**

Schädigung des Gehirns kann durch Makro- oder Mikroembolien auftreten.

##### **1.1.2.4.1 Feste Embolien**

Zu den makroembolischen Quellen zählen durch die operative Manipulation gelöste intrakardiale oder intravaskuläre Thromben und die Freisetzung von atheromatösem Gewebe, vor allem aus der aufsteigenden Aorta, ebenfalls durch den chirurgischen Vorgang. (TAYLOR KM et al 1998) Davila-Roman et al fanden einen exponentiellen Zusammenhang zwischen Alter und arteriosklerotischen Veränderungen der Aorta ascendens. (DAVILA-ROMAN VG, BARZILAI B et al, 1991) In einer post mortem Studie an 221 herzchirurgischen Patienten konnten Blauth et al ebenfalls eine signifikante Verbindung von Alter, Schweregrad der Arteriosklerose und zerebralen Atheroembolien feststellen. (BLAUTH CI, COSGROVE DM et al 1992) Die Ausprägung und Häufigkeit der Atherome verschlimmern sich deutlich je älter der Patient ist, von 20% im fünften Lebensjahrzehnt bei Autopsie, zu 80% bei über 75-jährigen und die Schlaganfallrate steigt von 1% bei 51-60 Jahre alten Patienten auf 7% oder höher bei den über 75-jährigen. Die transösophageale Echokardiographie oder besser noch der epiaortale Scan befähigt den Anästhesisten die Aorta während der Operation zu überwachen und atheromatöse Plaques bezüglich ihrer Dicke und mobiler Anteile zu quantifizieren. Die Bedeutung der Aorta als Quelle von Atheroemboli und somit als Risikofaktor für perioperativen Schlaganfall wurde von Katz et al hervorgehoben, die eine Schlaganfallinzidenz von 25% bei Patienten mit mobilen Plaques im Aortenbogen, im Vergleich zu nur 2% in einer Patientengruppe mit nicht mobilen Plaques fanden. (KATZ ES, TUNICK PA et al 1992) Mehrere

Folgestudien bestätigten den deutlichen Zusammenhang zwischen aortalen Atheromen und Schlaganfall oder Tod. Überraschend scheinen daher Ergebnisse von Barbut et al, die keine signifikante Korrelation von Schwere der Atherome und Anzahl der mittels transkraniellem Dopplers festgestellten Emboli erkannten. Sie kamen zu dem Schluss, dass wohl gasförmige Emboli einen großen Beitrag zum Entstehen eines neurologischen Insultes leisten und häufiger sind als feste Emboli aus Atheromen. (BARBUT D, LO Y-W et al 1997)

#### 1.1.2.4.2 Gasförmige Embolien

Pugsley et al beschrieben die Auswirkungen von Mikrobläschen, die durch den Oxygenator der EKZ entstanden und einen Durchmesser von 50-200  $\mu\text{m}$  hatten. Klinisch zeigte sich Benommenheit, schlechte Koordination, Nystagmus und unterdrückte Reflexe. Diese Symptome bildeten sich zwar im Laufe einiger Tage zurück, aber neuropsychologische Tests deckten doch persistierende Abnormalitäten auf, die proportional zur Anzahl der zerebralarteriellen Luftembolien waren.(PUGSLEY W, KLINGER L et al 1994) Die Symptome variieren abhängig von der absoluten Gasmenge.

Borger et al konnten zeigen, dass bei vermehrten Interventionen durch den Kardiothekniker sich das neurokognitive Ergebnis ihrer Patienten in entsprechenden Tests verschlechterte. Sie führten dies auf ein vermehrtes Auftreten gasförmiger Mikroembolien zurück. Medikamenteninjektionen in den venösen Schenkel der EKZ und versehentlicher Einschluss von Luft brachten Luftbläschen in das System ein. Patienten, während deren Operation ein häufigeres Eingreifen des Kardiotheknikers nötig war, zeigten drei Monate postoperativ signifikant schlechtere Ergebnisse in den meisten eingesetzten neurokognitiven Tests. (BORGER MA, PENISTON CM et al 2001)

Der Einsatz der EKZ birgt weiterhin das Risiko der Bläschenentstehung im Oxygenator oder des Eindringens von Luft über die eröffnete Herzhöhle.

Typischerweise werden die Emboli im zerebralen Kreislauf in kleine Arterien mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 30-60  $\mu\text{m}$  geschwemmt. Hier verursachen sie auf zwei Arten pathologische Veränderungen: distal der Obstruktion vermindert sich der Blutfluss und es kommt zu einer Entzündungsreaktion durch die Blase. Durch die Ischämie können die Neuronen ihren Metabolismus nicht



aufrechterhalten, weshalb Wasser und Natrium in die Zelle einströmen und sich somit ein zytotoxisches Zellödem entwickelt. Zum anderen reagieren zelluläre und humorale Abwehrmechanismen auf die Oberfläche der Luftblase wie auf einen Fremdkörper. Zusätzlich kommt es auch zur mechanischen Irritation des Arterienendothels.(MUTH CM, SHANK ES et al 2000) Diese Beschädigung des Endothels kann durch die inflammatorische Reaktion zu einem Andauern der zerebralen Ischämie führen, selbst wenn das auslösende Agens bereits längst weitergespült wurde. (GROCOTT HP, SATO Y et al 2005)

Die Symptome einer arteriellen Gasembolie treten plötzlich auf. Sie reichen von leichter motorischer Schwäche und Kopfschmerzen oder geringgradiger Verwirrtheit, bis hin zu kompletter Orientierungslosigkeit, Krämpfen, Verlust des Bewusstseins und Koma. Asymmetrie der Pupillen, Hemianopsie und Affektionen der respiratorischen und kreislaufregulierenden Zentren (in Form von Bradyпноe, Cheyne-Stokes Atmung, kardialer Arrhythmie und Kreislaufzusammenbrüchen) sind ebenfalls bekannte Komplikationen. (MUTH CM, SHANK ES et al 2000) Eine verzögerte Erholung von der Allgemeinanästhesie und vorübergehende Bewusstseinstörungen, können bei Risikopatienten Hinweise für zerebrale Luftembolien sein. Insgesamt ist die Diagnostizierung schwierig. Anästhesiologische Komplikationen, wie das zentrale anticholinerge Syndrom, Wirkung von noch nicht abgebauten Anästhetika oder Muskelrelaxanzien, können ebenfalls das Bild von Embolien nachahmen.

Wichtigstes diagnostisches Kriterium ist die Patientengeschichte, denn der klinische Verdacht auf Emboli stützt sich auf die initialen neurologischen Symptome und den direkten zeitlichen Zusammenhang zwischen diesen und der Durchführung von invasiven Eingriffen.

Manchmal kann ein embolisches Geschehen von einem zerebralen Infarkt oder intrazerebraler Blutung mit einem Computertomogramm (CT) unterschieden werden. Oft sind die pathologischen Veränderungen aber zu gering und nicht gut im CT sichtbar. Die Magnetresonanzbildgebung zeigt gelegentlich eine vermehrte Wasseransammlung im verletzten Gewebe, doch auch diese Methode ist nicht zuverlässig und kann bei leichten Formen versagen. Gasbläschen in den Gefäßen der Retina können teilweise beobachtet werden, doch ihr Fehlen kann Embolien nicht ausschließen. Ebenfalls unspezifisch, aber mehrfach beschrieben, ist ein Anstieg des Hämatokritwertes, möglicherweise als direkte Konsequenz der

extravaskulären Flüssigkeitsverlagerung in das verletzte Gewebe. (MUTH CM, SHANK ES et al 2000)

In Tierversuchen wurde belegt, dass Luftinjektionen von 100 µl oder weniger in die A. carotis interna von Kaninchen, die Bildung von Mikrobläschen bewirken, wodurch der Blutfluss in Arteriolen mit einem Durchmesser von 50-200 µm für 1-6 min unterbrochen werden kann, bevor die Durchblutung wieder einsetzt. Große Luftmengen können Hirninfarkt, Koma oder oft sogar den Tod herbeiführen, wenn sie in die Gefäße des Gehirns gelangen. Glücklicherweise treten derartige Volumina in der Klinik nur sehr selten auf. Mikroskopische Luftbläschen sind allerdings recht häufig bei Patienten, die sich herzchirurgischen Operationen, Karotis Endarterioektomien (CEA) oder Angiographien der Hirngefäße unterziehen müssen. Auch bei Menschen mit künstlichen Herzklappen können sie festgestellt werden. Daten, die durch transkranielle Dopplermessungen entstanden, weisen darauf hin, dass während der Operation ganze Schauer von Bläschen auf das vaskuläre System des Gehirns treffen. (PUGSLEY W, KLINGER L et al 1988, VAN DIJK D, KEIZER AMA et al 2000)

Hindman et al konnten mit ihrem Experiment an Kaninchen die Dosisabhängigkeit des neurologischen Outcomes nach zerebralen Luftembolien nachweisen. Dabei verursachen großvolumige Bläschen schwere neurologische Beeinträchtigungen und ausgedehnte Veränderungen des Hirngewebes in der Triphenyltetrazolin-Färbung (TTC), während kleine Luftembolien zu weniger schwerwiegenden Änderungen der Antwort auf somatosensorisch evozierte Potentiale (SSEP) und neurologischer Dysfunktion führten. Der verursachte Schaden war nicht groß genug, um ein Versagen der Zellatmung oder Infarzierung zu provozieren, was mittels TTC-Färbung nachgewiesen hätte werden können. (HINDMANN BJ, DEXTER F et al 1999)

In einem anderen Versuchsaufbau am Kaninchen untersuchte Hindman den Einfluss von EKZ auf neurologische Parameter. Es zeigte sich, dass der Einsatz der EKZ zu einer verzögerten Erholung der SSEPs führte. Einige der charakteristischen Begleitumstände der EKZ, wie Hyperoxie, Hyperglykämie, Anämie, nicht-pulsatiler Blutfluss und Komplementaktivierung könnte dieses schlechtere Abschneiden bedingt haben. (HINDMANN BJ, DEXTER F et al 1998)

In beiden Versuchen wurde nur eine einmalige Luftinjektion vorgenommen.

Primäres Ziel in der Behandlung ist der Schutz und die Aufrechterhaltung der Vitalfunktionen. Wenn nötig wird kardiopulmonal reanimiert, da nicht nur venöse sondern auch primär arterielle Embolien zu erheblicher Beeinträchtigung des kardiopulmonalen Systems führen können. Somnolente oder komatöse Patienten müssen intubiert werden, um adäquate Oxygenierung und Ventilation zu gewährleisten. Zur Beatmung sollte Sauerstoff in höchst möglicher Konzentration appliziert werden. Dies dient nicht nur der Behandlung der Hypoxie sondern bildet auch einen Konzentrationsgradienten aus, welcher das Entweichen der Luft, bzw. des Stickstoffs aus den Blasen fördert.

Große Hoffnungen werden in die Entwicklung neuroprotektiver Strategien gesetzt, mit denen die empfindlichen Neuronen im Falle der Ischämie bereits geschützt sind, bevor es zum schädigenden Ereignis kommt.

## **1.2 Neuroprotektive Strategien**

Viele Herangehensweisen, sowohl pharmakologische, als auch nicht-pharmakologische, wurden untersucht und benutzt, mit dem Ziel, die Folgen von herzchirurgischen Eingriffen und EKZ für das Gehirn zu verringern.

### **1.2.1 Nicht-pharmakologische Strategien**

Die nicht-pharmakologischen, technischen Strategien bestehen zum größten Teil in Bestrebungen Embolien durch Filterung des arteriellen Blutes zu reduzieren. Pugsley et al überwachten das Entstehen von Mikroembolien mit einem transkraniellen Doppler bei Operationen mit und ohne arterielle Filterung. Bei der Kanülierung der Aorta und dem Beginn der EKZ stellten sie keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen dar. Während der weiteren extrakorporalen Zirkulation fanden sie allerdings insofern einen signifikanten Unterschied, als dass bei der gefilterten Gruppe anscheinend keine mikroembolischen Ereignisse über den transkraniellen Doppler detektiert werden konnten. (PUGSLEY W, KLINGER L et al 1988)

Vermeidung der Verletzung von aortalen Atheromen durch epiaortalen Scan zur Bestimmung der Kanülierungsstelle und Minimierung der Quellen für gasförmige Emboli sind empfohlen (SHANN et al 2006). Ergänzt werden sie durch Optimierung des pH-Managements und Modulationen der perioperativen Temperatur, vor allem durch die Vermeidung von Hypertermie (GROCOTT et al 2002).

### **1.2.2 Pharmakologische Strategien**

Die pharmakologischen Möglichkeiten konzentrieren sich vor allem auf Eingriffe in die ischämische Kaskade.

Es gibt zahlreiche Substanzen, denen allein oder in Kombination potentiell neuroprotektive Wirkung zugeschrieben wird. Eines der ersten Medikamente, das dementsprechend in der Herzchirurgie eingesetzt wurde war Thiopental. Es wurde vermutet, dass seine Wirkung auf einer Reduzierung des zerebralen

Sauerstoffbedarfs beruhte. (NUSSMEIER NA, ARLUND C et al 1986) Spätere Studien konnten aber den positiven Einfluss von Thiopental auf das neurologische Outcome nach herzchirurgischen Operationen nicht bestätigen. (ZAIDAN J et al 1991 und PASCOE E et al 1996)

Ähnlich ist die Sachlage bei Propofol. Dieses Medikament reduziert ebenfalls den metabolischen Umsatz und den Blutfluss des Gehirns, doch Verminderung neurologischer Defizite konnte auch hier nicht nachgewiesen werden. (ROACH G et al 1999)

Fortschritte ergaben sich durch Versuche, die sich mit adenosinregulierenden Präparaten, Adenosinen, beschäftigten. Dieser Weg wurde noch nicht weiter verfolgt, birgt aber noch Potential für die Zukunft.

Der unspezifische Serinprotease-Inhibitor Aprotinin wurde eigentlich auf seine Fähigkeit hin untersucht den Blutverlust möglichst gering zu halten. Es zeigte sich in der Patientengruppe, welche aus koronaren Bypassen und Klappenoperationen bestand, bei den Operierten mit hochdosierter Aprotinigungabe eine verminderte Schlaganfallrate im Vergleich zur Placebogruppe. Ein direkter neuroprotektiver Effekt durch antiinflammatorische Wirkung ist allerdings zweifelhaft. Möglicherweise liegt ein indirekter Nutzen bezüglich der Embolimenge vor. Brooker et al identifizierten die Einspeisung von aufgesogenem Blut aus der Kardiotomie in den extrakorporalen Kreislauf als eine der Hauptquellen für zerebrale Embolien während EKZ. (BROOKER RF, BROWN WR et al 1998) Da Aprotinin die Menge an potentiell partikelhaltigem Blut reduziert, das aus dem Operationsfeld wieder in den Kreislauf gelangt, könnte hieraus der scheinbar neuroprotektive Effekt resultieren. 2006 zeigte eine Multizenterstudie vermehrtes Auftreten von schweren Organversagen bei Aprotinigungabe (Mangano DT et al 2006). Das Medikament wurde zwischenzeitlich vom Markt genommen.

Kalzium spielt eine entscheidende Rolle in der ischämischen Kaskade, die zum Untergang von Neuronen führt. Zu der Gruppe von Medikamenten, die an diesem Punkt angreifen zählt der Kalziumkanal-Blocker Nimodipin. (STEEN P, NEWBERG L et al 1983) Wegen vermehrten Blutungen und erhöhter Sterblichkeitsrate ohne Anzeichen für Unterschiede in den neuropsychologischen Defiziten verglichen mit Placebo in der NimodipinGruppe musste dieses Experiment eingestellt werden. (LEGAULT C, FURBERG C et al 1996)

Ähnliche negative Ergebnisse gingen aus Studien mit anderen Kalziumkanalblockern hervor. (PAHOR M et al 1996, ZUCCALA G et al 1997)

Intravenös verabreichtes Lidocain wurde wegen seiner Eigenschaften als Natriumkanalblocker und seiner zusätzlich vermuteten antiinflammatorischen Wirkung untersucht. Frühere Studien zeigten vielversprechende Hinweise für neuroprotektives Potential (MITCHELL SJ et al 1999), nach neuerer Datenlage zerschlugen sich die Hoffnungen in Lidocain jedoch wieder (MITCHELL SJ et al 2009).

Eine Vielzahl von  $\beta$ -Blockern wird zur Therapie der koronaren Herzkrankheit eingesetzt. Obwohl diese Therapie primär für die Vermeidung von schweren myokardialen Ereignissen ausgelegt ist, konnte kürzlich auch ein verbessertes neurologisches Outcome nachgewiesen werden. Zugeschrieben wird dies unter anderem dem Einfluss der Arzneimittel auf den zerebrovaskulären Tonus und auf EKZ-bedingte inflammatorische Vorgänge. (GRIGORE A et al 1999)

Diese nachgewiesene durch EKZ hervorgerufene Entzündungsreaktion gibt auch anderen Substanzklassen einen Angriffspunkt. Der Körper reagiert auf die Entzündungsreize unter anderem mit der Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen. Eine zentrale Rolle bei deren körpereigener Entgiftung kommt dem Enzym Superoxid-Dismutase zu. Man hoffte durch Pegorgotein, welches die Funktion der Superoxid-Dismutase übernehmen kann, weniger neurokognitive Defizite zu erreichen. Diese Hoffnung wurde jedoch enttäuscht, es zeigte sich bisher kein Unterschied zwischen den Gruppen. (BUTTERWORTH J et al 1999)

Die Exotoxizität erlangte viel Aufmerksamkeit bezüglich der Möglichkeit einen Weg zur Neuroprotektion zu finden. Eine zentrale Rolle spielt hierbei Glutamat und der N-methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDA-Rezeptor). Seit längerem sind einige Medikamente bekannt, die an diesem mit einem Ionenkanal verknüpften Rezeptor als Antagonisten wirken. Daten aus Experimenten weisen auf neuroprotektive Effekte hin, doch die psychomimetischen Nebenwirkungen verhinderten bislang eine Anwendung bei Menschen. (AOKI M et al 1994)

Remacemid, ein nicht-kompetitiver NMDA-Antagonist, wurde auf Neuroprotektion bei Patienten während Bypass-Operationen getestet. Arrowsmith et al demonstrierten die positiven Einflüsse von oral verabreichtem Remacemid auf das neurokognitive Outcome. Ihnen gelang damit erstmalig den Nutzen dieser Medikamente für die Herzchirurgie nachzuweisen. (ARROWSMITH J et al 1998) Trotz dieser positiven

Ergebnisse wurden keine weiteren Versuche bezüglich der Indikation der Substanz unternommen.

Ebenfalls über den NMDA-Rezeptor wirkt das Edelgas Xenon (FRANKS NP et al 1998). Seit der Beschreibung seiner anästhetischen Eigenschaften durch Cullen interessieren sich immer wieder Forschergruppen für dieses Gas. Über eine mögliche neuroprotektive Wirkung wird seit längerem spekuliert.

### 1.2.2.1 Xenon

#### 1.2.2.1.1 Eigenschaften

1898 wurde von Ramsay und Travers bei der Zerlegung von Luft ein bis dahin unbekanntes Gas entdeckt. Der Begriff Xenon leitet sich aus dem griechischen Wort für „Fremder“ ab. Dieser Name wurde wohl gewählt, um die Seltenheit des Gases in unserer Atmosphäre zu verdeutlichen. Da Xenon nur 0,0000087% der Atmosphäre einnimmt, kann seine Gesamtmenge auf rund  $10^{14}$  l (das entspricht der 10 Mio.-fachen Menge, die derzeit weltweit produziert wird) bei atmosphärischem Druck geschätzt werden. Besser vorstellbar ist, dass ein Raum von 25 m<sup>2</sup> Grundfläche und 4 m Höhe (100 m<sup>3</sup>) durchschnittlich nur 8 ml Xenon enthält. (REYLE-HAHN et al 2000)

Helium, Neon, Argon, Krypton, Radon und Xenon bilden die Gruppe der Edelgase. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass ihre äußeren Elektronenschalen vollständig mit Elektronen besetzt sind. Durch diesen Zustand ist es den Gasen im Allgemeinen nicht möglich Bindungen mit anderen Molekülen einzugehen, sie sind inert.

Xenon ist das schwerste Edelgas und das einzige mit anästhetischen Eigenschaften unter normobaren Bedingungen. Seine große äußere Elektronenschale kann polarisiert und durch nahe Moleküle gestört werden. Es bildet sich ein induzierter Dipol aus. Hierdurch wird es dem Edelgas möglich mit Proteinen, wie z.B. Myoglobin, oder auch Lipiddoppelschichten zu interagieren und sich mit diesen zu verbinden.

Vermutlich ist diese Fähigkeit mit Zellproteinen und Zellmembranbestandteilen Bindungen einzugehen verantwortlich für die anästhetischen Eigenschaften von Xenon, die nun bereits seit nahezu 50 Jahren durch die Entdeckungen von Cullen et al bekannt sind. (LYNCH C et al 2000)

Xenon ist ein farbloses, geruch- und geschmackloses Gas. Im Periodensystem trägt es die Nummer 54 und besitzt ein Molekulargewicht von 131,3. Derzeit sind 9 stabile Isotope und zahlreiche künstliche Isotope bekannt. Sein Gefrierpunkt liegt bei  $-107,1^{\circ}$  Celsius. Die chemische Dichte ist viermal höher als die von Luft, sowie 3,4-mal höher als die von Lachgas. Als Edelgas ist Xenon nicht brennbar und kann im Gasgemisch nicht zur Explosion gebracht werden.



### 1.2.2.1.2 Wirkmechanismus

Die vergleichsweise hohe analgetische Potenz lässt sich über den Antagonismus des Xenons zu Glutamat am NMDA-Rezeptor erklären. Hypnotische Wirkung ist fraglich, da eine Interaktion mit dem GABA<sub>A</sub>-Rezeptor noch ungeklärt ist. Sollte ein solcher Mechanismus vorliegen, so müsste es in jedem Fall ein anderer als der des Isoflurans sein, dessen hypnotische Wirkung auf einem Abfall der exzitatorischen Spannung und einem Anstieg der inhibitorischen postsynaptischen Potentiale der Neuronen des Hippocampus zu beruhen scheint. (REYLE-HAHN et al 2000)

Die Beeinflussung des zerebralen Blutflusses (CBF) wird in der Literatur unterschiedlich bewertet: Yao et al konnten in einer Studie mit wachen Affen bei einer inspiratorischen Xenonkonzentration von 33% eine Reduktion des zerebralen Blutflusses um 12% und des zerebralen Sauerstoffverbrauchs um 12% zeigen. (YAO LP, BANDRES J et al 1992) In einer folgenden Untersuchung mit 80% Xenon veröffentlichte die gleiche Arbeitsgruppe jedoch eine Erhöhung des zerebralen Blutflusses um 50%. (YAO LP, NEMOTO NM et al 1992) Andere Studien von Plougman et al, die an wachen Freiwilligen und an Patienten mit akutem Hirntrauma mit 33% Xenon durchgeführt wurden, zeigten einen Anstieg des CBF. (PLOUGHMAN J 1994) Luttropp et al wiesen die Zunahme des CBF mittels transkranieller Dopplersonografie nach. (LUTTROPPE HH 1994)

Wegen seiner Dichte, muss bei höheren Konzentrationen des Edelgases, mit ungewöhnlich hoher Viskosität des Beatmungsgases gerechnet werden. Der Atemwegswiderstand wird verstärkt. Lachman et al verglichen in einer Studie die Lungenmechanik bei 70% Xenon versus 70% Lachgas mit jeweils 30% Sauerstoff. In beiden Gruppen war der Atemwegswiderstand erhöht im Vergleich zur Baseline ohne signifikanten Unterschied untereinander. Bei einigen Patienten der Lachgasgruppe sank die arterielle Sauerstoffsättigung unter 92%, in der Xenongruppe kamen solche Probleme nicht vor. (LACHMAN B et al 1990) Allerdings kann es auf Grund seiner hervorragenden Löslichkeit zur Diffusionshypoxie, dem sogenannten „Finkeffekt“ kommen, wenn zum Ende der Narkose das Gas nicht mit 100% Sauerstoff ausgewaschen wird. Stahl et al gelangten allerdings zu der Überzeugung, dass dieses Phänomen seltener auftritt als bei Lachgasnarkosen. (STAHL W et al 1998)

Es ist bekannt, dass es bei Verwendung von Lachgas/Sauerstoffgemischen zur Verdrängung des Sauerstoffes aus den Alveolen kommen kann, wenn bei der Ausleitung der alveoläre  $N_2O$ -Partialdruck abfällt und dadurch die Rückdiffusion aus dem Blut begünstigt wird. Zusammenfassend kann gesagt werden: die unter Xenonanästhesie vorhandenen Veränderungen der Atemmechanik, verbunden mit einem Anstieg des Atemwegswiderstands, haben keine Auswirkungen auf den Gasaustausch unter Xenonanästhesie.

#### 1.2.2.1.3 Xenon in der Anästhesie

Der klinische Einsatz erfordert einige Vorbereitungen. Stickstoff muss ausgewaschen sein, bevor die Einleitung der Narkose beginnt. Hierzu benutzt man reinen Sauerstoff für mindestens 5 min, begleitet durch eine intravenöse Anästhesie. Der Patient wird endotracheal intubiert und an ein Beatmungsgerät angeschlossen über das Xenon zugeführt werden kann. Bei 40-45 % Xenonkonzentration setzt die hypnotische Wirkung ein und dieser Zustand wird nach 1,5 min erreicht. Die gewünschte Konzentration von 60-70 % stellt sich nach ungefähr 8 min ein. Der MAC-Wert für Xenon liegt bei 0,71 für Menschen und bei 1,61 für Ratten (LYNCH C et al 2000). Eine Mononarkose mit Xenon ist somit schwierig und sehr teuer.

Bei der Anwendung in der Anästhesie zeigte sich eine Verlangsamung der Atemfrequenz bei niedrigeren Xenonkonzentrationen bis hin zum Atemstillstand bei einem Xenonpartialdruck über dem Atmosphärendruck. Kompensiert wird diese Verlangsamung über einen Anstieg des Atemzugvolumens bei gleich bleibendem Atemminutenvolumen. Hierin zeigt sich ein Unterschied zu anderen Narkosegasen bei denen es eher zum Anstieg der Atemfrequenz mit konsekutivem Abfall des Zug- und Minutenvolumens kommt. (REYLE-HAHN et al 2000)

Der Öl/Wasser-Löslichkeitskoeffizient von Xenon liegt bei 20 und ist somit der höchste aller Edelgase. Der Blut/Gas-Verteilungskoeffizient ist mit 0,14 extrem gering verglichen mit den anderen in der Anästhesie verwandten Gasen wie Lachgas (0,47) oder Sevofluran (0,65). Xenon diffundiert frei durch Gummi und kann zu signifikanten Gasverlusten bei Verwendung nicht geeigneter Trachealtuben führen. (REYLE-HAHN et al 2000) Dieses Problem besteht auch mit Lachgas. Ein weiterer gemeinsamer Punkt der beiden Gase ist deren Diffusion auch in andere physiologische und pathologische Räume im Körper. So konnte gezeigt werden,

dass die Diffusion von Xenon in die Abdominalorgane langsamer vor sich geht als bei Lachgas, wobei in dieser Situation der Transfer vermutlich nicht durch die Diffusion von Blut in die Hohlorgane limitiert sein dürfte, sondern durch die Gassättigung des Mucosablutes. Der niedrigere Blutlöslichkeits-Koeffizient des Xenons würde somit wohl die langsamere Abgabe beeinflussen. (LOCKWOOD G et al 2002)

#### 1.2.2.1.4 Vorteile

Großes Potential liegt in der Anwendung Xenons bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren oder in Situationen, in denen hohe hämodynamische Stabilität notwendig ist. Abgesehen von einer bis jetzt im Mechanismus noch nicht geklärten, doch klinisch bestätigten Verlangsamung der Herzfrequenz scheint es keine typischen negativen Wirkungen auf das Herz zu geben (SANDERS RD et al 2003, LYNCH C et al 2000). Andere Inhalationsanästhetika führen häufig zu Depression der myokardialen Kontraktilität. Xenon scheint keinen oder wenig Einfluss auf den Herzindex, Blutdruck oder systemischen Widerstand zu haben (SANDERS RD et al 2003, LYNCH C et al 2000).

Im letzten Jahrzehnt wurde der Nutzen von Xenon wieder vermehrt Gegenstand der Forschung. Zu Beginn suchte man hauptsächlich einen sicheren und effektiven Ersatz für  $N_2O$ , da dieses zunehmend als umweltbelastend und ozonschichtschädigend eingestuft wurde.

Zahlreiche Studien haben seitdem gezeigt, dass Xenon nicht nur im Vergleich zu  $N_2O$ , sondern auch zu den meisten anderen potenten, in der Anästhesie verwendeten Gasen, einige Vorteile besitzt, die hier nochmals zusammengefasst sind:

- Aufgrund des extrem niedrigen Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten von 0,14 ergibt sich ein schnelles An- und Abfluten des Gases. Daraus resultiert gute Steuerbarkeit.
- die kardio-vaskuläre Belastung ist geringer, die hämodynamische Situation bleibt während Xenonanästhesie recht stabil
- es besteht profunde Analgesie
- Verminderung der benötigten Opiatmenge

- keine Triggerung für maligne Hyperthermie
- es zeigten sich Hinweise auf neuroprotektive Eigenschaften

(SANDERS RD et al 2003)

#### 1.2.2.1.5 Neuroprotektive Eigenschaften

Xenon inhibiert den NMDA-Rezeptor nicht-kompetitiv. Über den Rezeptor wird unter anderem die nozizeptive Antwort der Neuronen im dorsalen Rückenmarkshorn behindert, wobei nur wenig Effekt an GABA<sub>A</sub> und nicht-NMDA glutamatergen Rezeptoren beobachtet werden kann. In einer Studie von Franks et al konnte gezeigt werden, dass 80% Xenon NMDA-Rezeptor-abhängige Phänomene zu beinahe 60 % unterdrücken kann. (FRANKS NP et al 1998, SANDERS RD et al 2003)

Der NMDA-Rezeptor ist, wie der AMPA- und der Kainat-Rezeptor, ein ligandenaktivierter Ionenkanal, er zeichnet sich jedoch durch vier Besonderheiten aus:

1. Während des Ruhepotentials ist sein Ionenkanal von Mg<sup>2+</sup>-Ionen verstopft. Erst bei leichter Depolarisation oder in Anwesenheit von Glutamat wird der Kanal durchgängig.
2. Durch den geöffneten Kanal strömen nicht nur, wie bei AMPA- und Kainat-Rezeptoren, Na<sup>+</sup> und K<sup>+</sup> ein, sondern auch Ca<sup>2+</sup>.
3. Es besteht eine Bindungsstelle für Glycin, wodurch die Wirkung von NMDA und Glutamat potenziert werden kann.
4. Es bestehen noch weitere Bindungsstellen für eine Reihe von anderen Substanzen, die den Kanal wieder verschließen können, also Antagonisten sind. Zu diesen gehören das Kurznarkosemittel Ketamin, sein Vorläufer Phencyclidin und die Parkinsonmedikamente Amantadin und Memantin. Xenon muss ebenso zu diesen Antagonisten gezählt werden.

Da durch den NMDA-Rezeptor, bzw. durch seinen gekoppelten Ionenkanal, Ca<sup>2+</sup> in die Zelle einströmt, wird die Neurotoxizität von Glutamat deutlich. Bei Hypoxie und Ischämie tritt vermehrt Glutamat auf. (STARKE K et al 2001) Unter normoxischen Bedingungen setzten kortikale Neuronen nur geringe Mengen Glutamat frei. Werden sie jedoch sauerstoffarmen oder -freien Konditionen unterworfen, so steigt die Freisetzung stark an und erreicht nach 30 min ein Maximum. (PETZELT C et al 2003)

In Ischämiesituationen wird im Gehirn folgende Kaskade ausgelöst:

Das unzureichende Angebot an O<sub>2</sub> und Glucose veranlasst die Zelle von aeroben auf anaeroben Stoffwechsel umzustellen und weniger hochenergetische organische Phosphatverbindungen, wie ATP, zu produzieren. Hieraus ergibt sich ein Zusammenbruch der ATP-abhängigen Ionenpumpsysteme, die Konzentrationen von Na<sup>+</sup> und K<sup>+</sup> werden gestört und aus ihrem Gleichgewicht gebracht. Na<sup>+</sup> strömt vermehrt in die Zelle ein. Die Folgen sind Spannungsänderungen, die zur Öffnung von spannungsabhängigen Ca<sup>2+</sup>-Kanälen, Freisetzung von intrazellulärem Ca<sup>2+</sup> aus dem endoplasmatischen Retikulum oder den Mitochondrien und genereller Membrandepolarisation führen. Diese Depolarisation mündet in einen Anstieg von exzitatorischen Aminosäuren, wie Glutamat und Aspartat. Die Aktivierung spezifischer Glutamatrezeptoren, wie des NMDA-Rezeptors, erhöht die intrazellulären Konzentrationen von Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup>. Genauer gesagt, triggert der Einstrom des extrazellulären Kalziums die Freisetzung des intrazellulären. (KRISTIAN T et al 1998 ) Zeitgleich entweicht intrazelluläres K<sup>+</sup> in den Extrazellularraum, wodurch in Anwesenheit von extrazellulärem Glutamat, rund um das Infarktgebiet Wellen von sich ausbreitenden Depolarisationen initiiert werden. (HOSSMAN K-A et al 1996) Der dramatische Anstieg des extrazellulären Kalziums treibt die Kaskade durch die Aktivierung einiger kalziumabhängiger Enzyme weiter voran. Diese Enzyme, darunter Endonukleasen, Stickoxid-Synthase (NOS), verschiedene Proteasen, Lipasen, Proteinkinasen und Phospholipasen induzieren ihrerseits Kettenreaktionen, die letztendlich zum Untergang der Zelle führen. Es kommt zur Bildung von Sauerstoffradikalen, deren negativer Einfluss auf die Entstehung von ischämischen Schäden bekannt ist. (FABIAN R et al 1995, CHAN P et al 1996, PETERS O et al 1998) Sie schädigen Zellmembranen, Mitochondrien und DNS, außerdem scheinen sie die kaspasevermittelte Apoptose zu triggern. (DIRNAGL U et al 1999)

Da Kalzium, bzw. dessen intrazelluläre Erhöhung, eine so entscheidende Rolle beim Untergang der Zelle spielt, zielen neuroprotektive Strategien unter anderem auf diesen Mechanismus ab. Eine erhebliche Menge strömt, wie bereits erwähnt, über den NMDA-Rezeptor ein und viele Agenzien, die als neuroprotektiv erachtet werden greifen hier an.

Die Schwierigkeit bei den meisten NMDA-Rezeptorantagonisten ist die Penetration der Blut/Hirn-Schranke. Da Xenon aber ein kleines, apolares Atom ist, kann es diese

rasch durchdringen und in ausreichenden Konzentrationen mit den Rezeptoren interagieren. (MA D et al 2002)

Die Anästhesieführung verlangt zusätzlich einige Besonderheiten. Auch mit Low-Flow oder Minimal-Flow-Strategien, war lange Zeit der Einsatz des Edelgases aus ökonomischen Gründen nicht akzeptabel. Derzeit kostet 1 l Xenon etwa US \$10. Durch einen geschlossenen Kreislauf auf der Basis des Anästhesierespirators kann das Gas zurück gewonnen werden und dadurch reduzieren sich die Kosten. Wegen seiner extrem niedrigen Löslichkeit, wird nur ein geringer Teil des Gases vom Gewebe absorbiert. Innerhalb des geschlossenen Systems werden alle Gaskonzentrationen inspiratorisch und expiratorisch gemessen und nur der tatsächliche Gasverbrauch wird mit Frischgas ersetzt. In der praktischen Umsetzung muss bei einer Xenonanästhesie nach Anästhesieeinleitung der Stickstoffanteil über mindestens 5 min minimiert werden. Während dieser Auswaschphase wird die Narkose durch eine intravenöse Narkose aufrechterhalten. Nach Intubation des Patienten und Anschluss an das geschlossene Anästhesiesystem wird mit der Einwaschphase des Xenons begonnen. Da das Gas, wie bereits erwähnt, sehr schnell anflutet, ist schon nach 3-4 min die notwendige Xenonkonzentration von 55-65% erreicht. Die größte Menge Xenon wird während dieser Einwaschphase benötigt. Sie beträgt etwa 6-8 l beim durchschnittlichen Erwachsenen. Zur Aufrechterhaltung sind dann nur noch kleine Mengen des Gases notwendig, die nicht durch Verbrauch, sondern durch Variationen des Systeminhaltes des geschlossenen Kreislaufes sowie Verluste via Haut und chirurgisches Wundgebiet hervorgerufen werden. Zum Ende der Anästhesie wird das Gas durch Gabe von 100% O<sub>2</sub> aus dem Körper ausgewaschen. (REYLE-HAHN et al 2000)

Ma et al zeigten in ihrer Studie, dass Xenon nur neuroprotektive, aber keine neurotoxischen Eigenschaften aufweist. Dadurch unterscheidet es sich deutlich von anderen NMDA-Rezeptorantagonisten, wie Stickoxydul oder Ketamin. Als Marker für die neuronale Schädigung diente c-Fos. Xenon verursachte in dieser Arbeit eine deutliche und dosisabhängige Reduktion der c-Fos-positiven Neuronen. Es zeigten sich nahezu keine Nebenwirkungen und es wird vorgeschlagen Xenon den anderen NMDA-Rezeptor-Antagonisten vorzuziehen, wenn davon ausgegangen werden kann, dass erhöhte Gefährdung für neuronale Schädigung bei einer Behandlung vorliegt. Dies trifft z.B. auf Eingriffe in der Herzchirurgie zu. (MA D et al 2002) Die Nebenwirkungen von Ketamin zeigen sich vor allem auch im psychischen Bereich:

beim Abklingen der Wirkung werden häufig halluzinatorische Episoden erlebt. Für diese „bad trips“ besteht später keine Amnesie (BÜCH HP et al 2001). Xenon verursacht keine Halluzinationen.

Zu ähnlichen Ergebnissen wie Ma gelangten auch Wilhelm et al. Sie verwendeten in ihrer Studie die Freisetzung von LDH als Maß für die Zellschädigung. Xenon reduzierte signifikant die LDH-Menge in Zellkulturen, die gezielt NMDA oder Glutamat ausgesetzt wurden. Dabei hatte Xenon bei 75% atm keinen Einfluss auf die LDH-Freisetzung in Abwesenheit von Glutamat und NMDA, es kann also vom Fehlen einer intrinsischen Neurotoxizität des Gases allein ausgegangen werden. Auch der Schaden durch Sauerstoffentzug für 75 min konnte durch das Edelgas vermindert werden. (WILHELM S et al 2002)

Darüber hinaus gelang es Ma et al in einer weiteren Studie nachzuweisen, dass Xenon das neurologische Outcome nach EKZ zu verbessern scheint. Sie verglichen vier Gruppen von Ratten, wobei drei von diesen einem EKZ-Regime unterworfen waren; es zeigte sich, dass sowohl die Sham-, als auch die EKZ+Xenon-Gruppe signifikant besser in der neurologischen Testreihe abschnitten, als die Ratten mit EKZ ohne Xenon und auch besser als diejenigen, die statt Xenon MK801 erhielten. MK801 ist ein NMDA-Rezeptor-Antagonist, dem ebenfalls neuroprotektive Eigenschaften zugeschrieben werden. Ma stellte fest, dass MK801 zwar zu einer Reduktion EKZ-induzierter neurologischer Deterioration führte und obwohl dies sogar auf qualitativ ähnliche Weise wie bei Xenon geschieht, war das Edelgas quantitativ dennoch deutlich überlegen. (MA D et al 2003)

Es stellt sich jedoch die Frage, ob die neuroprotektive Potenz von Xenon groß genug ist, im Falle einer Luftembolie ausreichend zu schützen. Wie bereits oben beschrieben, kann das Edelgas zur Vergrößerung von Blasen führen. Möglicherweise wird dadurch mehr Hirngewebe geschädigt als durch die ursprüngliche Embolie ausgelöste Ischämie.

#### 1.2.2.1.6 Nachteile

Ein offensichtlichster Nachteil des Xenons ist wohl sein Preis. Wie bereits erwähnt liegt der momentane Preis bei US \$10 pro Liter Xenon. (REYLE-HAHN et al 2000)

Aus den hohen Kosten ergibt sich die Forderung nach einem geschlossenen Kreislauf zur Applikation des Gases, wodurch ein geringer Verbrauch bei

größtmöglicher Rückgewinnung erzielt werden kann. Diese Systeme sind allerdings in ihrer Handhabung mit einigen Schwierigkeiten und einem vermehrten Arbeitsaufwand für den Anästhesisten verbunden.

Die Kostenanalyse für eine 40 Jahre alten männlichen ASA I-Patienten von 70 kg Körpergewicht, ergab bei einem simulierten elektiven Eingriff einen Preis von \$ 356 bei 240 min Dauer. Dieses Beispiel bezieht sich bereits auf ein geschlossenes Applikationssystem. Der Großteil der Kosten entsteht aus der Menge des benötigten Gases für Priming und Spülung des Kreislaufsystems. Sollten neuere Technologien eine Möglichkeit zur Entfernung des Stickstoffes aus dem System ohne Priming/Flushing erbringen, könnten die Kosten auf \$ 108 gedrückt werden. (SANDERS RD et al 2003)

Der in Abschnitt 1.2.2.1.2. beschriebene Einfluss des Edelgases auf die Dimension von Luftblasen ist noch nicht abschließend in all seinen Konsequenzen für den zerebralen Blutfluss bei Bläschenembolie geklärt.

#### 1.2.2.1.7 Einfluss von Xenon auf die Größe von Luftembolien

Einer intravaskulären Luftblase steht scheinbar nahezu unbegrenzt Gas aus dem Blutstrom zur Verfügung. Lockwood wies nach, dass Xenon und Lachgas in vitro Luftblasen vergrößerten, zog aber den Schluss, dass die Vergrößerung durch Xenon in Volumen und Geschwindigkeit des Größenzuwachses nicht so gravierend ist wie die durch Lachgas. (LOCKWOOD G et al 2002) Grocott et al untersuchten diese Behauptung in einem Kleintiermodell unter Verwendung einer EKZ weiter und konnten zeigen, dass Lachgas in der Tat zu einem stärkeren Zuwachs der Embolusgröße führte, als Xenon oder Stickstoff. Lachgas vergrößerte die Luftblasen um  $63 \pm 23\%$ , Xenon um  $17 \pm 6\%$  und  $N_2$  um  $2 \pm 2\%$ . Die  $N_2O$ -Gruppe wies eine signifikant größere Volumenausdehnung auf als die Xenon-Gruppe. (GROCOTT HP et al 2005)

Wenn sich eine Luftblase in einer mit Lachgas angereicherten Flüssigkeit befindet, dringt dieses in die Blase ein und verdrängt den Stickstoff. Dieser dynamische Prozess bestimmt die Entwicklung der Blase. Lockwood vermutet, dass Xenon auf Grund seines größeren Atomgewichtes langsamer in eine Luftblase diffundiert. Dies kann jedoch seiner Meinung nach nicht der einzige Grund sein, denn in diesem Fall würde Luft schneller als jedes Anaesthetikum aus der Blase entweichen und diese



würde kollabieren. Die Löslichkeit ist ein weiterer Faktor mit Einfluss auf die Größenzunahme von Luftblasen. Um die Blase bildet sich eine Pufferschicht aus nur teilweise äquilibrierter Flüssigkeit aus, wodurch die lokalen Konzentrationsgradienten und ihre Antriebskraft für den Diffusionsvorgang abgeschwächt werden. Die Bedeutung der Löslichkeit und der Diffusionsfähigkeit eines Gases in Flüssigkeit ist nicht einfach zu durchschauen und Xenon soll, durch seine Atomgröße und seine geringe Löslichkeit, ein im Vergleich zu Lachgas geringeres Potential zur Vergrößerung luftgefüllter Räume haben; Lockwood kann hierzu keine Angaben machen.

Sein Experiment untersuchte das Verhalten von Luftblasen in Wasser. Für die Anästhesie, in der das Blut als Medium natürlich die entscheidende Rolle spielt, empfiehlt er Lachgas unmittelbar vor und während extrakorporaler Zirkulation zu vermeiden. Löslichkeit und Diffusionsfähigkeit von Xenon und Lachgas entsprechen im Blut bei Körpertemperatur, der in Wasser bei 20-37° C. Durch die größere Viskosität des Blutes kann sich die Pufferzone um eine Blase vergrößern, was die Unterschiede zwischen Xenon und Lachgas noch verdeutlichen könnte. Lockwood ist sich sicher, dass sein Ergebnis, dass sich Luftblasen in Xenonlösungen langsamer vergrößern, als in Lachgas angereicherten Flüssigkeiten, nicht nur in Wasser, sondern auch in Blut Gültigkeit besitzt. (LOCKWOOD G et al 2002)

Eine weitere Studie, die sich mit der Vorhersage des Wachstums von Luftembolien befasste unterstützt ihn hierin: Sta et al stellen außerdem heraus, dass die Blasenausmaße in hohem Grade nichtlinear von multiplen Faktoren abhängig sind. Dazu zählen sie ebenfalls Löslichkeit und Diffusionsfähigkeit, sowie den Gaspartialdruck, Größe des Konzentrationsgradienten, Gefäßdurchmesser und die Temperatur. Sie verglichen in ihrem Experiment sauerstoff- und xenongefüllte Blasen in verschiedenen Situationen. Sie stellten dabei fest, dass eine Xenonblase in einer mit Sauerstoff gesättigten Umgebung, Volumen verliert, da der Ausstrom des Edelgases in das umgebende Gewebe dem Konzentrationsgefälle folgend bevorzugt stattfindet. Der initial einströmende Sauerstoff kann den Volumenverlust nur verzögern aber nicht ausgleichen. Ist das Xenon vollständig aus der Blase ausgeströmt wird der übrig bleibende Sauerstoff reabsorbiert.

Befindet sich eine Xenonblase in den zerebralen Gefäßen, kann es zu einem anderen Phänomen kommen: zu Beginn bestehen hier sehr große Konzentrationsgradienten zwischen der xenongefüllten Embolie und dem

Hirngewebe. Das Edelgas strömt aus der Blase und O<sub>2</sub> gelangt hinein. Dadurch kommt es zur kontinuierlichen Verdünnung des Xenons in der Embolie und der Diffusionsvorgang kann sich dem veränderten Konzentrationsgefälle folgend umdrehen. Der Sauerstoffgradient bleibt jedoch bestehen, so dass nun zusätzlich auch noch O<sub>2</sub> in die Blase diffundiert. Dieses resultiert in einer kontinuierlichen Volumenzunahme. Die Blase wächst axial und verschließt somit eine längere Strecke des Gefäßes. Somit kommt die Oberfläche auch mit mehr Endothel in Kontakt und könnte zu einer stärkeren inflammatorischen und zellschädigenden Reaktion führen. Außerdem kann es zur Blockierung eines noch perfundierten Arteriolenastes kommen, wenn die Blase bis zu einer Bifurkation wächst und diese verstopft. (STAMARIA N et al 2003)

### **1.3 Vorteile eines Kleintiermodells**

Von jeher war es schwierig bei einem herzchirurgisch ausgerichteten Versuchsaufbau reproduzierbare präklinische Modelle bezüglich neurologischer Parameter zu finden. Großtiere zeichnen sich neben ihren hohen Kosten auch durch die höhere Anfälligkeit und somit den größeren Betreuungsaufwand aus. Oft gibt es auch einfach keine etablierten Großtiermodelle für bestimmte Versuchsanordnungen. Kleintiere z.B. Ratten, wie in der vorliegenden Studie bieten hier entscheidende Vorteile.

Ratten können unter standardisierten Bedingungen kostengünstig und dennoch tiergerecht gehalten werden, außerdem scheinen sie weniger anfällig für zufällige Krankheiten zu sein, die Ergebnisse unbrauchbar machen können. Als wichtigster Punkt ist jedoch anzuführen, dass es etablierte Testprotokolle gibt.

Die Entwicklung der EKZ begann 1937 als Gibbon die erste Herz-Lungen-Maschine (HLM) an Katzen einsetzte. Seither hat sich diese Technik natürlich entscheidend verbessert und der Einsatz beim Menschen ist heute etabliert.

Trotz aller Neuerungen gibt es immer noch Komplikationen beim Einsatz der EKZ. Umso wichtiger erscheint es ein suffizientes und zuverlässiges Kleintiermodell für die präklinische Forschung zu besitzen. (BALLAUX PKEW et al 1999)

### 1.3.1 Frühere Modellformen

Die Literatur beschreibt mehrere Modelle in denen ein Kleintier, meist die Ratte, als ganzes Tier und nicht nur das isolierte und aus dem Körper entfernte Herz zur Untersuchung der EKZ benutzt wird.

Popovic et al. berichteten als erste von einem funktionierenden System im Jahre 1966. (POPOVIC P et al 1966)

1968 erläuterten sie ihre Vorgehensweise. Sie führten EKZ-Studien sowohl normotherm, als auch hypotherm mit einem Teilfluss-Bypass durch. Der Thorax wurde dabei nicht eröffnet und die Kanülierung erfolgte peripher. 13,7 ml wurden als Priming-Volumen benötigt, wobei der Großteil mit 11,3 ml bedingt durch den Oxygenator war. Sie erkannten, dass der extrakorporale Fluss nur dann suffizient war, wenn die Kanüle für den venösen Rückfluss bis in den rechten Ventrikel vorgeschoben wurde. Es gelang ihnen einzelne Tiere wieder von der EKZ zu trennen, sie berichteten jedoch nicht von längerem Überleben der Versuchstiere. (POPOVIC P et al 1968)

Der Effekt der EKZ auf das retikulo-endotheliale System stand im Blickpunkt einer Studie, die von Subramanian et al. durchgeführt wurde. In ihrem Modell wurde der Thorax eröffnet und ein Vollfluss-Bypass eingerichtet; als erste gewährleisteten sie den Rückfluss ins Reservoir durch einen zentral-venösen Zugang und schlossen den Kreislauf über die A. iliaca communis. Die Größe ihres Kreislaufes mit einem Volumen von 120 ml forderte den zusätzlichen Einsatz von Spenderblut zur Ringer-Priming-Lösung. Um die Durchblutung des pulmonalen Gefäßsystems zu vermeiden, wurde die A. pulmonalis unterbunden.

Es gelang ihnen einen systemisch arteriellen Druck von 100 mmHg bei einem Fluss von  $150 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1} 300 \text{ g}^{-1}$  Körpergewicht der Ratte aufrechtzuerhalten. Die Flussrate wurde anhand der Clark-Formel zur idealen Perfusion berechnet und orientierte sich nicht an der physiologischen Herzauswurfleistung. Entgleisungen des Säure-Basen-Gleichgewichts wurden korrigiert. (SUBRAMANIAN V et al 1968)

Triggiani et al. behaupteten ein Vollfluss-EKZ-Modell entwickelt zu haben.

Der Thorax wurde eröffnet und der Kreislauf durch zentral-venöse und peripher-arterielle Kanülierung geschlossen. Alle drei V. cavae und die A. pulmonalis wurden unterbunden um den Durchfluss des kompletten zirkulierenden Blutvolumens sicher zu stellen. (TRIGGIANI E et al 1970) Sie sahen eine durchschnittliche Flussrate von

nur 15-20 ml/min/kg als ausreichend an, da die physiologische kardiale Durchschnittsauswurfleistung einer Ratte jedoch deutlich höher liegt, ist die Suffizienz und die Behauptung im Besitz eines Vollfluss-Modells zu sein, wohl in Frage zu Stellen. (BALLAUX PKEW et al 1999)

Proctor beschreibt ein Modell, bei dem 50 Tiere überlebten, allerdings ohne Informationen zur genauen Dauer und Art des Überlebens zu geben. Auch er führte die EKZ bei geschlossenem Thorax durch, bediente sich hierbei eines Teilfluss-Bypasses. Eine Neuerung erfuhr sein Model durch den Einsatz einer Priming-Flüssigkeit aus Kolloid- und Elektroytlösung. 20-30 ml wurden benötigt um den Kreislauf zu füllen. (PROCTOR E et al 1977, PROCTOR E et al 1978)

Alexander und Al Ani benutzten einen inkompletten Bypass. Sie stellten venöse Drainage aus dem rechten Vorhof über die V. femoralis oder jugularis her und leiteten das Blut über die A. femoralis oder die linke A. carotis zurück in die Ratte. Für die Vorfüllung des Kreislaufes wurden 12 ml einer Mischung aus Hartmann Lösung und Heparin benötigt, 4,4 ml allein wegen des Oxygenators. (ALEXANDER B et al 1983)

Das bislang vollständigste Model lieferten Wehberg et al. Ihnen gelang die Vereinigung von komplettem Umgehungskreislauf unter Normothermie und zentraler Kanülierung. Der Zugang über die Herzspitze und Aortenklappe in die Aortenwurzel entspricht am ehesten dem Vorgehen beim Menschen, führt allerdings auch zum Tod des Versuchstieres bei Abschluss der EKZ-Phase. (WEHBERG KE et al 1996)

Sasaki et al. beschrieben ein inkomplettes Bypass-Modell. Sie benutzten periphere Zugänge über die V. jugularis und die A. femoralis. Frisches venöses Spenderblut mit Zusatz von Ringer-Laktat, Mannitol und Natrium-Bicarbonat in einer Gesamtmenge von 23 ml wurde zur Füllung eingesetzt. (SASAKI S et al 1996)

Einige der Autoren berichten von Problemen bei der venösen Drainage. Periphere Zugänge wurden meistens über einfache Schläuche geschaffen, bei den zentralen Kanülierungen kamen meistens spezielle Kanülen zum Einsatz, die durch ein korbartiges Endstück den rechten Herzvorhof offen halten und so den venösen Rückfluss verbessern sollten. (SUBRAMANIAN V et al 1968, WEHBERG KE et al 1996) Andere versuchten durch ein erhöhtes Gefälle (SASAKI S et al 1996) oder direkte Kanülierung des rechten Ventrikels (POPOVIC P et al 1966) die venöse Drainage zu verbessern. Subramanian et al. und Sasaki et al. glaubten das Problem

über die Kanülenform beheben zu können (SUBRAMANIAN V et al 1968, SASAKI S et al 1996)

Wehberg et al. legen Wert auf die Feststellung, dass der Widerstand des venösen Ausflusstraktes, der eine wichtige Determinante des venösen hydrostatischen Druckes darstellt, zur Flüssigkeitsansammlung führen könnte. (WEHBERG KE et al 1996) Diese Arbeitsgruppe erwähnt in ihrer Arbeit als einzige das Volumen des venösen Reservoirs und den kontinuierlichen Rückgang der Füllung, vermutlich bedingt durch die bereits erwähnte Ansammlung von Flüssigkeit im Gewebe und Verluste durch Verdunstung. (WEHBERG KE et al 1996, BALLAUX PKEW et al 1999)

Ein weiteres Problem stellt die Reduzierung des Kreislaufvolumens dar. Die meisten Modelle verfügen über ein recht großes extrakorporales Volumen und sind deshalb auf den Einsatz von Spenderblut angewiesen. Eine alleinige Vorfüllung des Kreislaufes mit kristalloider Lösung würde zu massiver Hämodilution führen. (BALLAUX PKEW et al 1999) Einzig das Modell von Alexander/Al Ani kommt ohne zusätzliches Blut aus. (ALEXANDER B et al 1983)

Sasaki et al. benutzten einen Membranoxygenator, viele andere Gruppen bedienten sich des älteren Blasenoxxygenators. (BALLAUX PKEW et al 1999)

Der mittlere arterielle Druck wurde von allen Autoren unterschiedlich eingestellt und rangiert zwischen 100 und 40 mmHg. (BALLAUX PKEW et al 1999)

Nur die Modelle mit zentralem Zugang zur venösen Drainage konnten als kompletter Umgehungskreislauf genutzt werden, da sonst der venöse Rückfluss nicht suffizient war. Periphere Kanülierung scheint nicht geeignet zu sein. (BALLAUX PKEW et al 1999)

Häufig bildete sich während der EKZ-Phase eine metabolische Azidose aus. Diesem Phänomen wurde durch den Zusatz von Natriumbicarbonat zur Vorfüllungsflüssigkeit oder während des Versuches begegnet. Diese Methode entspricht dem Vorgehen in der Praxis. (BALLAUX PKEW et al 1999)

Die bereits in 1.1.2.4.2. erwähnten Modelle von Hindman et al am Kaninchen, untersuchten bereits den Einfluss gasförmiger Embolien auf das neurologische Vermögen der Versuchstiere. In der 1999 veröffentlichten Arbeit wird isoliert der Effekt der Embolien, in der 1998 erschienenen Studie, die Kombination von EKZ und Luftembolie untersucht. Beiden ist gemein, dass jeweils nur ein Luftembolus und

nicht eine repetitive Anzahl von Embolien in das Tier eingebracht wird. (HINDMAN et al 1998, 1999)

### **1.3.2 Forderungen an ein Kleintiermodell**

Proctor stellt folgende Anforderungen an eine Miniatur Herz-Lungen-Maschine:

1. Möglichkeit die Zirkulation vollständig zu übernehmen (200-280 ml/kg/min) bei normaler Temperatur. (BALLAUX PKEW et al 1999) Nach der weiteren Studienlage zu urteilen, werden auch 150-180 ml/kg/min erfolgreich angewendet (GROCOTT HP et al 2001)
2. niedrige Hämolyserate um 1-2stündige EKZ mit sicherem Überleben des Versuchstieres zu gewährleisten
3. die Vorfüllung des Kreislaufes sollte nicht mehr Volumen benötigen als das Blutvolumen einer jungen ausgewachsenen Ratte
4. Möglichkeit zur Abkühlung und Erhöhung der Körperkerntemperatur (BALLAUX PKEW et al 1999)

Hinzu kommt noch für ein suffizientes Modell zum Studium der EKZ die Forderung nach einem Langzeitüberleben des Versuchstieres. Nur dann ist es möglich die Auswirkungen auf die neurologischen und neurokognitiven Fähigkeiten zu testen und zu evaluieren.

Selbstverständlich muss sich das Modell möglichst nahe am realen klinischen Einsatz orientieren. Vorteilhaft wäre der Verzicht auf Spenderblut um Hämolyse und Inflammation optimal beurteilen zu können.

Der Membranoxygenator ist dem älteren Modell weit überlegen. Blasenbildung wird durch ihn, bei mehr als ausreichender Oxygenierung, vermindert.

Zur Optimierung des venösen Rückflusses und zur Untersuchung an einem kompletten Umgehungskreislauf sollte die Drainage direkt aus dem rechten Vorhof erfolgen.

Kontinuierliche Blutgasanalysen helfen, das empfindliche Gleichgewicht des Blutes auch während der EKZ annähernd zu erhalten. (BALLAUX PKEW et al 1999)

Die Forderung nach dem kleinen Volumen des extrakorporalen Kreislaufes bedingt vor allem die Entwicklung eines speziellen Oxygenators. Verbindungsschläuche, die für das restliche Volumen verantwortlich sind, können beliebig verändert werden, der Oxygenator nicht. Sein Volumen muss ausreichend sein, um genügend Blut mit Sauerstoff zu sättigen. Probleme ergeben sich aus der Tatsache, dass selbst die

kleinsten handelsüblichen Modelle, die Neugeborenenoxxygenatoren, noch ein so großes Volumen besitzen, dass zwei Ratten zur Vorfüllung als Blutspendertiere geopfert werden müssen. (GROCOTT HP et al 2001)

### **1.3.3 Besonderheiten des Kleintiermodells dieser Studie**

Eine Limitation bei herzchirurgisch behandelten Ratten mit Einsatz der EKZ stellte lange Zeit das Problem der Sternotomie dar. Wird bei Nagern das Sternum durchtrennt, können sie die Brustmuskulatur, die sie dringend zur Bewegung und zum Fressen benötigen nicht mehr einsetzen. Somit war ein Versuchsaufbau der Langzeitüberleben erforderte nicht möglich.

Die vorliegende Studie bediente sich deshalb einer neu entwickelten Form der Präparation, um die Ratten an die EKZ anzuschließen, welche ohne Sternotomie auskam. Es wurden die V. jugularis und eine Schwanzarterie kanüliert, mit Kathetern versehen und über diese der Kreislauf geschlossen (weitere Details siehe 2.4 Präparation). Somit war es möglich die Tiere nach der Operation und der Applikation von Xenon überleben zu lassen, sie in einer siebentägigen postoperativen Phase zu beobachten und neurologische Testreihen mit ihnen durchzuführen.

Durch diese Neuerung entfernt sich das Tiermodell allerdings etwas vom klinischen Vorgehen beim Mensch, bei dem natürlich die Durchtrennung des Sternums vorgenommen werden muss. Gewebestückchen, die sich möglicherweise im retransfundierten Blut nach der Sternotomie befinden, stehen im Verdacht neurologische Probleme auszulösen. Andere Faktoren, die das Hirn während kardiochirurgischen Interventionen schädigen können, wie z.B. inflammatorische Reaktionen, werden jedoch durchaus mit diesem Modell nachgeahmt. (BALLAUX PKEW et al 1999)

Den Studienergebnissen von Grocott et al folgend, die mittels transösophagealer Echokardiographie die Lage der venösen Kanüle untersuchten, konnte der venöse Rückfluss so optimiert werden, dass die EKZ mit vollem Fluss gefahren werden konnte. (GROCOTT HP et al 2001)

Mit dem neu entwickelten Plattenoxxygenator kann dank seines geringen Volumens auch ohne Spenderblut gearbeitet werden. (JUNGWIRTH B et al 2006) Das Studiendesign mit dem Zusatz des Edelgases Xenon verlangte es allerdings, dass zur ausreichenden Oxygenierung mit 33% O<sub>2</sub>, ein größerer Oxxygenator verwendet

werden musste. So war es nötig ein Tier zur Blutspende zu opfern. Genauere Details finden sich im Abschnitt „Methoden“.

### 1.3.4 Ratte als Versuchstier

Offensichtlich ist das Herz einer Ratte viel kleiner als das eines Menschen. Anatomisch sind die Organe allerdings durchaus vergleichbar. Größere Unterschiede bestehen nur auf Seiten des venösen Anschlusses. Drei V. cavae, zwei obere und eine untere, leiten das Blut in einen dünnwandigen Sinus venosus dorsal des rechten Atriums. Die rechte kraniale V. cava verbindet sich kranio-dorsal, die inferiore kaudal mit dem Sinus venosus; die linke kraniale Vene leitet das Blut von links zusammen mit dem Sinus coronarius in den Sinus venosus. Die Muskeln des Sinus bilden zwei kleine sino-atriale Klappen aus, welche Sinus und rechtes Atrium voneinander trennen.

Die Anatomie und der Verlauf der Aorta sind bei Ratte und Mensch analog.

Aus der Anatomie des kardio-vaskulären Systems der Ratte sollten sich also keine Komplikationen bei der Entwicklung oder im Einsatz eines Kleintiermodells zur Erforschung der EKZ ergeben.

Zur Interpretation der Ergebnisse die aus Versuchen mit Ratten entstehen, sowie zur Berechnung der notwendigen hämodynamischen Variablen beim Einsatz der EKZ, sollte man die wichtigsten Gemeinsamkeiten und Unterschiede des kardiovaskulären Systems bei Ratte und Mensch kennen.

Tabelle 1 gibt die wichtigsten Parameter kurz wieder:

	Ratte	Mensch
Herzfrequenz (Schläge/min)	330-480	60-86
Blutdruck (mmHg)		
systolisch	88-184	110-140
diastolisch	58-145	60-90
Schlagvolumen (ml)	1,3-2,0	68-100
Kardialer Auswurf (l/min)		
Bandbreite	0,01-0,08	3,7-9,4



Durchschnitt	0,05	6,5
Herzindex (l/min/m <sup>2</sup> )	1,5	3,9
Durchschnittliches Blutvolumen (ml/kg)	64,1	69
Atemfrequenz (Atemzüge/min)	66-114	16-20

**Tabelle 1: Vergleich des kardio-vaskulären Systems bei Ratte und Mensch (modifiziert nach BALLAUX PKEW et al 1999)**

Der Unterschied der Herzfrequenz ist wohl am auffälligsten, wohingegen der Blutdruck durchaus in ähnlichen Bereichen liegt. (BALLAUX PKEW et al 1999)

## **1.4 Kombination von Extrakorporaler Zirkulation und Luftembolien in einem Modell**

Bisher gab es keine Studie die den Einfluss von Gasembolien und Xenon in einem in vivo Modell kombinierte.

In unserem Rattenmodell der extrakorporalen Zirkulation lässt sich dies bewerkstelligen. Das Risiko der Luftbläschenbildung im Oxygenator wurde bereits oben beschrieben. Folglich kann davon ausgegangen werden, dass Patienten für die definierte Zeit der extrakorporalen Zirkulation einer größeren Gefahr der neurologischen Schädigung durch zerebrale Luftembolien ausgesetzt sind als andere Patienten. Für diesen Zeitraum scheint es sinnvoll durch adäquaten Einsatz neuroprotektiver Strategien, z.B. Xenon als Narkosegas, für zusätzlichen Schutz und Sicherheit für den Patienten zu sorgen. Zunächst muss man allerdings durch Tierversuche die Sicherheitsaspekte dieses Vorgehens überprüfen.

Kann Xenon das neurologische Outcome von Patienten, die einer Schädigung durch Luftembolie ausgesetzt werden verbessern? Die Hauptphase des Versuches, von dem hier die Dosisfindungsstudie beschrieben werden soll, befasst sich mit diesem Thema.

## **1.5 Dosisfindungsstudie**

Bevor die Hauptphase jedoch beginnen konnte, war es nötig eine Dosisfindungsstudie bezüglich der Emboliegröße durchzuführen. Aus der vorhandenen Literatur zu diesem Thema war nicht genau ersichtlich, welche Luftmenge zu neurologischer Beeinträchtigung von Versuchstieren führt, bzw. welche überhaupt noch überlebt werden kann. In bereits vorhandenen Studien zum Thema Luftembolien schwankten die Daten von 10-100  $\mu\text{l}/\text{kg}$  für das Volumen eines einzelnen Luftbläschens.

## 2 Methoden

### 2.1 Versuchsplan

60 männliche, 10 Wochen alte Sprague-Dawley Ratten (Charles River Laboratories, Kisslegg, Deutschland) mit einem Gewicht von  $375\text{g}\pm 36\text{g}$ , wurden in vier Gruppen ( $n=15$ ) aufgeteilt.

Alle erfuhren die gleiche Präparation zur Vorbereitung für die EKZ und Applikation der ZLE (zerebralen Luftembolie), jedoch nur zwei Gruppen wurden tatsächlich der EKZ zugeführt, die anderen beiden dienten als Sham-Gruppe und erhielten nur ZLE ohne EKZ.

Des Weiteren wurden Subgruppierungen in jeweils eine Xenon- (56% Xenon, 5%  $\text{N}_2$ , 34%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$ ) und eine Stickstoff- (61%  $\text{N}_2$ , 34%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$ ) Gruppe vorgenommen. Somit entstanden zwei Hauptgruppen (EKZ + ZLE oder Sham) mit je zwei Untergruppen (Xenon oder Stickstoff):

- EKZ/ZLE/ $\text{N}_2$
- EKZ/ZLE/Xenon
- Sham/ZLE/ $\text{N}_2$
- Sham/ZLE/Xenon

Die Ratten wurden je 20 min vor, während der 90 min EKZ und 30 min nach der EKZ-Phase mit der entsprechenden Gasmischung beatmet.

Während der 90 min EKZ-Phase applizierten wir über einen PE 10 Katheter, der in der Arterie carotis interna lag, über den Zeitraum von 60 min 10mal eine Luftblase mit einem Volumen von 0,2 bis 10  $\mu\text{l}$  und verursachten somit gezielt eine definierte zerebrale Luftembolie (ZLE). Der erste Embolus wurde nach 15 min EKZ-Zeit verabreicht, der letzte nach 75 min.

Dieser Prozedur und dem zeitlichen Ablauf unterlagen auch die beiden Kontrollgruppen, die nicht an die EKZ angeschlossen waren (Sham-Gruppen).

Es ergab sich folgende Verteilung:

	ZLE in $\mu\text{l}$	0,2	0,5	1,0	1,6	1,8	2,5	3,8	5,0	7,0	10,0	
Behandlung	Anzahl der Tiere/Gruppe											gesamt
EKZ/ZLE/N <sub>2</sub>		1	3	3	2	1	3	0	1	0	1	15
EKZ/ZLE/Xenon		1	3	3	2	1	3	0	1	0	1	15
Sham/ZLE/N <sub>2</sub>		1	1	1	1	0	3	1	3	1	3	15
Sham/ZLE/Xenon		1	1	1	1	0	3	1	3	1	3	15

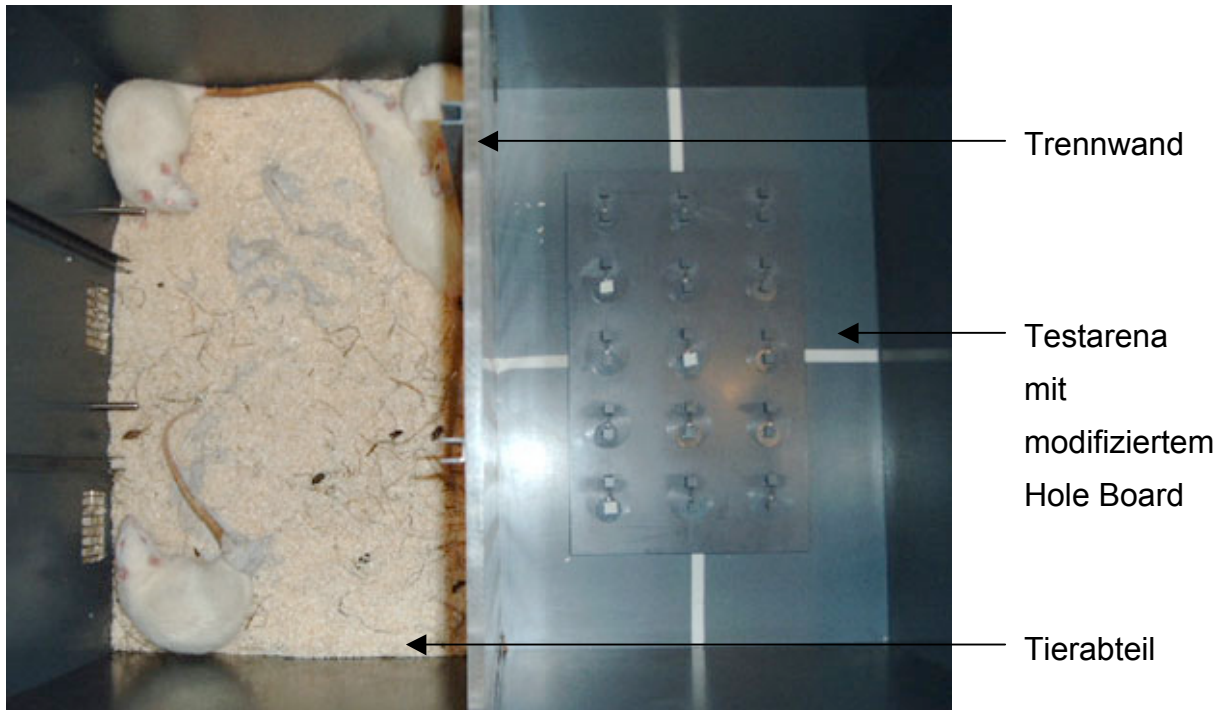
**Tabelle 2: Anzahl der Tiere in der jeweiligen Behandlungsgruppe mit Embolusvolumen (modifiziert nach CARLSEN J 2005)**

Tiere mit schweren neurologischen Schäden wurden euthanasiert. Alle anderen Ratten wurden bis zum 7. postoperativen Tag neurologisch getestet.

## 2.2 Versuchstierhaltung

Männliche Sprague-Dawley Ratten wurden in einem eigenen Raum unter standardisierten Laborbedingungen gehalten. Hierzu zählen gleichbleibende Tag-Nacht-Rhythmik (12h Licht / 12h Dunkelheit, hell ab 0.30 Uhr), konstante Raumtemperatur von 22° C, eine Luftfeuchtigkeit von 60%, sowie freier Zugang zu Wasser und Futter. Durch den veränderten Tag-Nacht-Rhythmus war es möglich den neurologischen Test morgens um 8.00 Uhr durchzuführen, ohne in eine Schlafphase der Ratten zu fallen, die die Performance der Tiere negativ beeinflusst hätte. Die Tiere wurden bereits 3 Wochen vor Versuchsbeginn in diesem Raum gehalten, um sie an die veränderte Umgebung und die Tag/Nacht-Rhythmik zu gewöhnen.

Um dem Sozialverhalten der Ratten gerecht zu werden, lebten je 10 Tiere gemeinsam in einer 80 cm x 60 cm x 50 cm großen Box mit einem Wohnraum 40 cm x 60 cm x 50 cm (eigene Herstellung, undurchsichtiges graues PVC, Weiss, München). Diese geräumige Box gestattete es auch, die Nager in einer begleitenden Studie im gewohnten Umfeld einer neurokognitiven Untersuchung mittels eines modifizierten Hole-Board-Tests zuzuführen. Der Wohnraum war hierzu von der Testarena abgetrennt.



**Abbildung 1 Ratten im Wohnkäfig mit abgetrennter Testarena (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt)**

Neben der neurologischen Untersuchung wurde durch Gewichtskontrollen der Zustand der Ratten täglich dokumentiert. Die Tiere standen unter täglicher tierärztlicher Versorgung und Betreuung. Bei rapider Verschlechterung (Gewichtsverlust über 25%, respiratorischer Problematik, etc.) euthanasierten wir die Tiere.

Zusätzlich zu der neurologischen Testung, die in dieser Dissertation beschrieben wird, erfolgte parallel eine detaillierte neurokognitive Testung des gleichen Versuchstierkollektives mit Verwendung des so genannten „Holeboard-Testes“.

Die exakte Versuchsbeschreibung und Ergebnisse wurden in der Dissertation von Frau Janette Carlsen mit dem Titel „Etablierung eines neuen Modells an der Ratte mit extrakorporaler Zirkulation und zerebralen Luftembolien wobei der Einfluss von Xenon auf neuropsychologische Leistungsfähigkeit und Mortalität mit untersucht werden soll“ 2005 veröffentlicht.

## 2.3 Anästhesie

Das Versuchsprotokoll, sowie die Durchführung der Anästhesie waren von einer Ethikkommission (Regierung Oberbayern) geprüft und gebilligt worden.

Die Ratten ( $375 \pm 36$  g) wurden in einer speziell angefertigten Narkosebox (Plexiglas®) mit 3 Vol % Isofluran in 80% Sauerstoff anästhesiert. Bei ausreichender Narkosetiefe, abgeschätzt an der reduzierten Atemfrequenz, intubierten wir sie orotracheal mittels eines mit einer Lichtquelle versehenen Nasenspekulums. Als Tubus diente eine 14 Gauge Venoflow-Braunüle (Venflon™, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg).

Die Ventilation erfolgte mechanisch über einen Kleintier-Ventilator. Bei einer Sauerstoffkonzentration von 45% wurden Frequenz und Atemzugvolumen so gewählt, dass sich ein PaCO<sub>2</sub> von 35-45 mmHg einstellte. Zur Aufrechterhaltung der Narkose während der Präparation applizierten wir 2,0-2,5 Vol% Isofluran. Zusätzlich erhielten die Versuchstiere nach Einbringen des ersten Katheters in die Schwanzarterie über diesen repetitive Fentanylboli von 5 µg. 20min vor Beginn der extrakorporalen Zirkulation wurde die inspiratorische Sauerstoffkonzentration auf 31-33% reduziert und der Gruppe entsprechend entweder (nach vorangehender Denitrogenierung) 52-56% Xenon bzw. 61% Stickstoff beigemischt.

Schließlich wurde in den EKZ-Gruppen die Beatmung der Lungen für die 90 min dauernde EKZ unterbrochen. Die Applikation des oben genannten Gasgemisches erfolgte über die HLM.

Um möglichst isoliert den Einfluss von Xenon untersuchen zu können, wurde gleichzeitig von kombiniertem Anästhesieverfahren (Isofluran, Fentanyl) auf eine rein intravenöse Anästhesie umgestellt. Zunächst erhielt die Ratte einen Bolus von Fentanyl (30 µg/kg), Atracurium (0,5 mg/kg), und Midazolam (0,4 mg/kg) und im Anschluss eine kontinuierliche Menge per Infusionem (2,5 µg/kg/min Fentanyl, 0,084 mg/kg/min Atracurium, 0,03 mg/kg/min Midazolam) über eine Pumpe.

Physiologisches Monitoring erfolgte über konsequent durchgeführte Blutgas- (Rapidlab 860, Chiron Diagnostics) und Blutzuckerbestimmungen, sowie Überwachung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP).

Da während der EKZ eine Beurteilung der Ventilation über etCO<sub>2</sub>-Messung nicht möglich war, orientierten wir uns vor allem an häufig durchgeführten Blutgasanalysen (BGA). Der pH, pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE und die Elektrolyte (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>) wurden gemessen und dokumentiert. Weitere Informationen erhielten wir über die

Bestimmung der Hb- und Hämatokritwerte. Sämtliche Parameter wurden mit einem Blutgasanalysegerät bestimmt.

Metabolische Entgleisungen wurden nach Bedarf durch Gabe von 50 % Glucose oder  $\text{NaHCO}_3$  behoben. Der Einsatz von vasopressiv oder inotrop wirkenden Medikamenten war nicht erforderlich.

Während des gesamten Versuchablaufes kontrollierten wir die Körpertemperatur perikranial über eine Sonde im M. temporalis und hielten sie konstant bei  $37,5 \pm 0,1^\circ \text{C}$  unter zu Hilfenahme einer wasserbadgespeisten Heizmatte und eines Warmluftgebläses (WarmTouch® 5200, Nellcor, USA). Außerdem wurde die rektale Temperatur erfasst.

## 2.4 Präparation

Die Präparation erfolgte unter aseptischen Bedingungen. Dafür wurden alle Operationsfelder rasiert, mit Desinfektionsmittel abgesprüht und mit 2% Lidocain infiltriert. Zwischen den Experimenten wurden alle wiederverwendbaren Materialien mit Formaldehyd gassterilisiert und somit ausreichende Sterilität gesichert. Die Oxygenatormatten wurden nicht wiederverwendet aber trotzdem vor ihrem Gebrauch gassterilisiert. Alle verwendeten Katheter wurden vor Beginn der Operation mit sterilem, heparinisierendem NaCl gespült, anschließend gefüllt und somit luftleer gemacht.

Nach Darstellung der Gefäße wurden diese inzidiert und die Katheter eingebracht. Durch vorgelegte Ligaturen konnte der Blutverlust gering gehalten, sowie die Fixierung der Katheter im Lumen gesichert werden.

Bei den anästhesierten und beatmeten Tieren begannen wir mit der Präparation einer Schwanzarterie, die zunächst zur Blutdruckmessung, später als Zufluss für die EKZ dienen sollte. Für die Kanülierung benutzten wir einen 20 Gauge Katheter. Anschließend wurde dem Versuchstier 150 IU Heparin und 5 µg Fentanyl verabreicht.

Um auch während der EKZ den Blutdruck präzise bestimmen zu können, war die Kanülierung einer weiteren Arterie nötig. Die rechte A. epigastrica superficialis, ein Ast der A. femoralis, erfüllte diesen Zweck über einen PE 10 Katheter. Diese Arterie wurde der A. femoralis vorgezogen, um eine Ischämie und konsekutive motorische Beeinträchtigung der rechten Hintergliedmaße zu vermeiden.

Über den Längsschnitt an der rechten Leiste gelang auch die Präparation der rechten V. epigastrica. Mit einem PE 10-Katheter versehen, diente diese uns zur venösen Injektion von Medikamenten.

Zur Verabreichung der zerebralen Luftembolie wurde die rechte A. carotis interna mit einem PE 10-Katheter kanüliert. Nach medianem Längsschnitt an der Ventralseite des Halses und Identifizierung der A. carotis externa und interna wurden die Abgänge der A. carotis externa ligiert und abgesetzt. Großen Wert legten wir auf die sichere Ligatur der A. pterygopalatina, des letzten Abganges der A. carotis interna,



vor deren Eintritt in die Schädelbasis, da durch diese Unterbindung eine Verteilung des Luftembolus in extrazerebrale Arterien vermieden wurde.

Im Folgenden wurde die A. carotis externa unter Erhalt eines etwa 5 mm langen stumpfes distal abgesetzt, über einen Faden fixiert und auf Spannung gehalten und mit einer locker gelegten Ligatur von proximal abgeklemmt. Somit konnte die folgende Inzision und das Einführen des Emboliekatheters blutungsarm und unter guter Sicht durchgeführt werden. Durch Schwenken des Externastumpfes nach kaudal, gelang es die Carotisbifurkation zu begradigen und somit den Katheter ohne allzu große Perforationsgefahr bis über den Abgang der A. pterygopalatina hinaus, in die A. carotis interna vorzuschieben. Die Fixierung erfolgte auch hier über die vorgelegten Ligaturen.

Der letzte Schritt der Präparation bestand in der Herstellung des Weges auf dem das venöse Blut aus der Ratte in das Reservoir der EKZ gelangen konnte.

Durch einen zusätzliche horizontalen Hautschnitt rechts lateral wurde die V. jugularis externa dargestellt. Hier erfolgte die Kanülierung mit einem mehrfach gelochten 4,5 French Katheter. Die Perforation bewirkt eine Erhöhung der Drainageleistung und sorgt somit für einen ausreichenden venösen Rückfluss. Der Katheter wurde so platziert, dass seine Spitze an der Mündung der V. cava inferior in das rechte Atrium zu liegen kam, was auch zur Optimierung der Drainage beitrug.

Sämtliche Tiere der Sham-Gruppen wurden auf die gleiche Weise präpariert und die Katheter für die Dauer des Experimentes in situ belassen ohne an den Kreislauf angeschlossen zu werden. Die chirurgische Vorgehensweise der EKZ-Gruppe wurde somit nachgeahmt.

## **2.5 Präparation des Blutspendetieres**

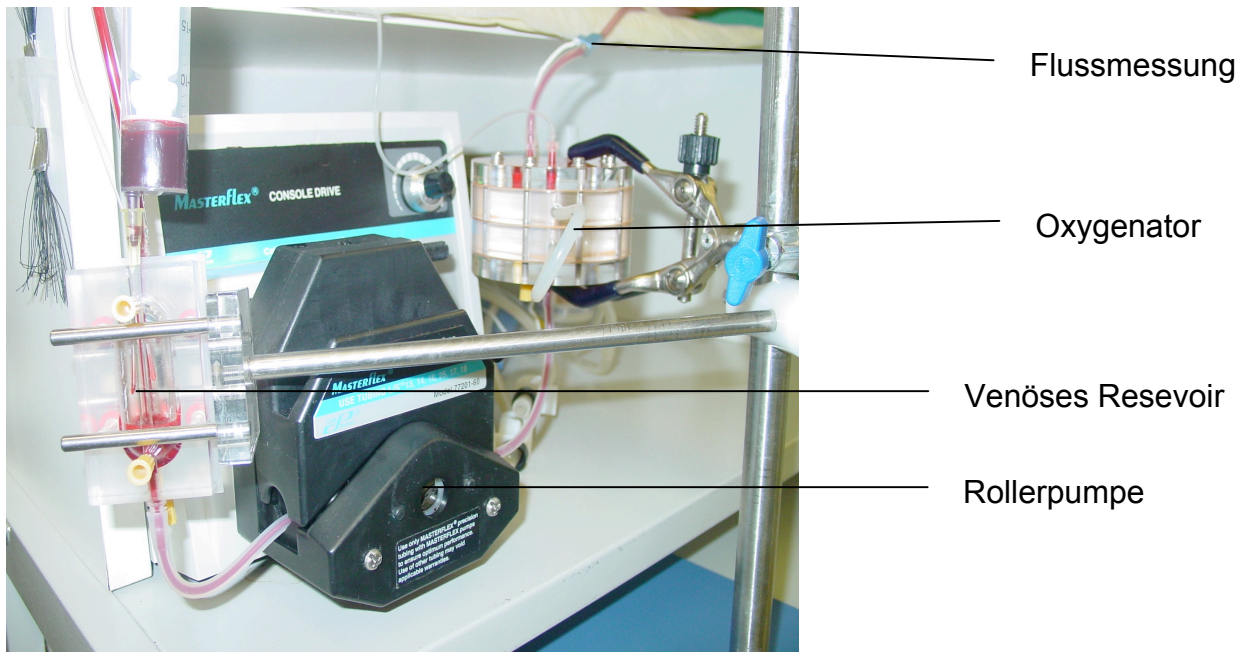
Trotz des verringerten Volumens des Oxygenators war es nötig ein weiteres Tier zu exsanguinieren, um Blut zur Füllung des extrakorporalen Kreislaufes zur Verfügung zu haben. Die Blutentnahme wurde ebenfalls am vollständig anästhesierten und beatmeten Tier vorgenommen. Wieder wurde durch einen Horizontalschnitt lateral am Hals oberhalb der Clavicula, die V. jugularis externa freigelegt und angeschlungen. Wir brachten einen flexiblen, mehrfach gelochten Silikonkatheter in die Vene ein und schoben ihn bis in das rechte Herz vor. Nach Gabe von 150 IU

Heparin erfolgte die Blutabnahme mit einer 20 ml-Spritze in möglichst tiefer Isoflurannarkose. Um ein möglichst großes Volumen zu erzielen erfolgte dies langsam, zusätzlich wurden bei Versiegen des Blutflusses durch Kollabieren der Gefäß-/Ventrikelwände 2 ml HAES verabreicht. Nach kurzer Wartezeit konnte die Blutentnahme fortgesetzt und zwischen insgesamt 17 und 20 ml Spenderblut gewonnen werden.

## **2.6 Extrakorporale Zirkulation mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine (HLM)**

Der extrakorporale Kreislauf bestand aus einem Reservoir, das 12 cm unterhalb der Herzhöhe des Versuchstieres befestigt war. Dadurch konnten wir die Schwerkraft ausnutzen um die venöse Drainage zu unterstützen. Von diesem Reservoir aus gelangte das Blut über einen Silikonschlauch zu einer Rollerpumpe (Masterflex®; Cole-Parmer Instruments Co., Vernon Hills, IL), die wir benutzten, um das Blut zu einem speziell für unseren Versuch angefertigten Oxygenator zu pumpen. Dieser Oxygenator bestand aus vier kreisförmigen, 1 cm dicken Plexiglasscheiben mit einem Durchmesser von 8 cm. In zwei der vier Scheiben waren mittig quadratische Fenster eingeschnitten, in die die Oxygenatormembranen eingepasst werden konnten. Diese hatten eine Kantenlänge von 4 cm eine Dicke von 1,5 cm und bestanden aus mehrlagig, kreuzweise angeordneten Polymethylpenten-Lamellen (Hersteller Membrana). Es ergab sich eine Gasaustauschfläche von 628,4 cm<sup>2</sup> pro Mattenpaket. Die Membranen waren nur für einmaligen Gebrauch bestimmt und wurden vor ihrem Einsatz gassterilisiert.

Sämtliche Verbindungsschläuche bestanden aus Silikon mit einem Innendurchmesser von 1,6 mm (Tygon®; Cole-Parmer Instruments Co., Vernon Hills, IL).



**Abbildung 2** Rollerpumpe mit Reservoir und Oxygenator (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt)

Der große Vorteil unseres Oxygenators bestand darin, dass es durch ihn möglich war eine ausreichende Gasaustauschfläche zur Oxygenierung zu schaffen, obwohl in einer Versuchsgruppe 56% des Gasvolumens von Xenon eingenommen wurde. Außerdem war es nicht nötig, wie bei früheren Versuchen mit Neugeborenenoxxygenatoren, zwei Blutspenderatten zur Füllung des Kreislaufes zu opfern, da bei unserem System das Blutvolumen mit 16 ml recht klein gehalten wurde. Der Oxygenator selber war mit einem Volumen von 10 ml an diesem Gesamtvolumen beteiligt.

Seitlich wurde in die beiden mittleren Platten Sauerstoff ein- und abgeleitet, somit der Gasaustausch über die blutdurchspülten Membranen gewährleistet. Vom Oxygenator aus konnte das Blut zwei verschiedene Wege nehmen: über einen PE 10 Schlauch, der in einem Dreiwegehahn endete, um Proben des oxygenierten Blutes für die Blutgasanalyse zu gewinnen. Über einen zusätzlich angeschlossenen kleinen PE 10 Katheter konnte überschüssiges Blut wieder dem venösen Reservoir zugeführt werden. Der andere Weg führte über eine Flussmessungs-Sonde (2N806 Flussmessungs-Sonde und T208 Volumenmessungs-Sonde, Transonics Systems, Inc., Ithaca, NY) zum Versuchstier. Somit war es möglich kontinuierlich den EKZ-Fluss zu bestimmen. Um den Kreislauf vor Beginn der EKZ mit Spenderblut zu füllen

und zu entlüften, war an dieser Stelle über einen Einwegehahn ein Umgehungsweg eingebaut. So konnte der Kreislauf ohne das Versuchstier einzuschließen betrieben werden. Als „Priming“-Flüssigkeit benutzten wir 14 ml Vollblut eines mit 150 IU heparinisierten Blutspendetieres sowie zusätzlich 2 ml HAES 6% und 100 IU Heparin.

War die Füllungsphase abgeschlossen, verschlossen wir den Einwegehahn und das Blut strömte über den 20 Gauge Katheter in die Schwanzarterie.

Die venöse Drainage durch den 4,5 French Katheter sorgte für den Fluss des venösen Bluts aus der Ratte zurück in das venöse Reservoir des Kreislaufes, füllte dieses wieder auf und der Kreislauf war geschlossen.

Während der EKZ konnten Glukose,  $\text{NaHCO}_3$ , HAES und weiteres Blut direkt über das Reservoir beigemischt werden.

Die Dekanülierung gelang regelmäßig so blutungsarm und suffizient unter Benutzung einer blutstillenden Ligatur, dass auf die Antagonisierung des Heparins mit Protamin verzichtet werden konnte.

Bei Wiedererlangen der Spontanatmung wurden die Ratten in eine mit Sauerstoff angereicherte Box mit freiem Zugang zu Wasser und Futter gelegt, in der sie sich 24 Stunden erholen konnten. Waren sie nach dieser Periode in gutem Zustand, wurden sie wieder in ihren Käfig zu den anderen Ratten eingesetzt.

## 2.7 Luftembolie

Für die Applikation der Luftembolie benutzten wir Harvard Gastight<sup>®</sup> Mikroliterspritzen von 10 und 50  $\mu\text{l}$  (Gastight<sup>®</sup> # 1701 N und # 1705 N; Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz). Mit diesen war es möglich zwischen zwei NaCl-Säulen exakt das erforderliche Luftbläschenvolumen zwischen 0,2 und 10  $\mu\text{l}$  einzustellen. Die NaCl-Lösung war steril und heparinisiert. Die vorbereitete Spritze spannten wir in eine Harvard-Pumpe ein, um so, 10mal über den Zeitraum von 60 min, ein Luftbläschen mit konstanter Geschwindigkeit injizieren zu können. Dies erfolgte über den in die A. carotis interna eingebrachten PE 10 Katheter. Am Schlauchende, welches mit der Kanüle der Spritze konnektiert wurde, war ein kurzes Stück eines weichen Silikonschlauches an den Katheter angeschweißt. Dadurch

wurde zum einen eine dichte Verbindung zwischen Spritze und Katheter garantiert, die auch leicht zu entfernen war, um die Spritze für den nächsten Embolus neu zu füllen. Zum anderen konnte man den Silikonschlauch mit einem Klemmchen mit gepolsterten Branchen, während der Diskonnektion von der Spritze, vorübergehend abklemmen, ohne das Lumen des Katheters dauerhaft einzuengen, wie es bei unflexiblerem Material als Silikon der Fall gewesen wäre. Wir achteten streng darauf, dass durch den Vorgang des erneuten Verbindens mit der Mikroliterspritze keine zusätzlichen Luftbläschen in das System eingeschlossen wurden.

## **2.8 Neurologische Testung**

Alle Versuchstiere wurden am Operationstag, am ersten, dritten und siebten postoperativen Tag neurologisch getestet. Die Durchführung des Tests erfolgte immer zwischen 8.00 Uhr und 9.00 Uhr morgens und wurde stets von der gleichen, verblindeten Person bewertet und dokumentiert. Der Versuch fand in der für die Ratten gewohnten Umgebung unter den oben bereits aufgeführten Rahmenbedingungen statt.

Der Test gliederte sich in neun Versuche:

### **2.8.1 Drehendes Gitter**

Dieser Test lässt Rückschlüsse auf Kraft, Beweglichkeit und Koordination aller vier Gliedmaßen zu.

Die Ratten wurden auf ein freibewegliches Drahtgitter (57 x 50 cm, Lochgitterabstand: 1 cm) gesetzt und dieses dann umgedreht, so dass das Tier sein eigenes Körpergewicht halten musste. Die Zeit bis zum Fallenlassen auf die gepolsterte Unterlage wurde gestoppt. Ein Score von 0 (fällt  $\leq 5$  s) - 3 (bleibt  $\geq 15$  s hängen) Punkten war erreichbar.



**Abbildung 3** Gesunde Ratte am gedrehten Gitter (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt)

Erreichte eine Ratte nur einen Punktwert von 0 (fällt  $\leq 5$  s), wurde dies als pathologisch definiert, da diese Übung für Tiere ohne motorisch-neurologische Einschränkung kein Problem darstellt.

### **2.8.2 Schwebebalken**

Das Gleichgewicht der Tiere wurde mit folgendem Versuchsaufbau getestet:

Ein 1,5 cm breites unbehandeltes Vierkantholz diente als Schwebebalken. Die Ratten wurden auf das eine Ende des Holzes gesetzt und ihre Reaktion beobachtet. Waren die Tiere unfähig auf dem Balken zu balancieren, erhielten sie 0 Punkte, blieben sie bis zu 10 s auf dem Holz 1 Punkt, zwischen 11 s und 20 s 2 Punkte, für 21-30 s gab es 3 Punkte.

Fiel die Ratte vor Ablauf von 30 s vom Schwebebalken galt dies als pathologisch.



**Abbildung 4** Gesunde Ratte auf dem Schwebebalken (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt)

### **2.8.3 Halte-Zug-Versuch**

Es wurde die Zeit gestoppt, welche die Ratten an einem in 40 cm Höhe, horizontal gespannten Drahtseil (60 cm x 0,3 x 0,3 cm) mit den Vorderpfoten hängen konnten. Eine gesunde Ratte versucht sich empor zu ziehen und eine Hinterpfote auf das Seil zu bringen. Dieses Verhalten schlossen wir in die Punkteverteilung mit ein. 0-2 s entsprachen 0 Punkten, 3-4 s 1 Punkt; ab 5 s, aber kein drittes Bein auf dem Seil 2 Punkte; ab 5 s und ein drittes Bein auf dem Seil 3 Punkte. Konnte sich eine Ratte weniger als 2 s halten, galt dies als pathologisch.



**Abbildung 5** Gesunde Ratte beim Halte-Zug-Versuch mit Zeitmessung (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt)

#### **2.8.4 Spontane Aktivität**

Wir setzten die Ratten allein in einen sauberen Käfig und beobachteten ihr Verhalten für 5 min. Gesunde Ratten sind neugierig und beginnen unbekanntes Terrain sofort zu erforschen. Bewertet wurde die Fähigkeit der Tiere sich allen vier Wände des Käfigs zu nähern. Dementsprechend erhielten Tiere, die an der Stelle an der sie eingesetzt wurden sitzen blieben und sich gar nicht bewegten 0 Punkte. Erhoben sie sich kaum und bewegten sich nur wenig, gab es 1 Punkt; 2 Punkte, wenn sie erst nach einiger Zeit begannen die neue Umgebung zu erforschen und nicht alle Wände des Käfigs untersuchten. Näherten sie sich mindestens drei der Käfigwände, bedeutete dies 3 Punkte.

Wurde nur 1 Punkt erreicht, werteten wir den Test als pathologisch.

#### **2.8.5 Symmetrie der Bewegung**

Gesunde Ratten strecken, wenn sie am Schwanz hochgehoben werden, alle vier Gliedmaßen symmetrisch vom Körper weg. Da der von uns verursachte Hirnschaden in der rechten Hemisphäre lokalisiert war, wurde die Funktion der linken Gliedmaßen im Schadensfall beeinträchtigt. 0 Punkte vergaben wir, wenn die linke Seite sich gar



nicht bewegte, bei minimaler Bewegung 1 Punkt. Wurden die linken Beinchen langsamer ausgestreckt als die rechten gaben wir 2 Punkte; bei symmetrisch ausgestreckten vier Gliedmaßen erhielt das Tier 3 Punkte.

Ein Punktwert von 2 und weniger wurde als pathologisch definiert.

### **2.8.6 Laufen auf den Vorderpfoten**

Wird ein gesundes Tier, um das Laufvermögen zu beurteilen, auf eine ebene Fläche abgesetzt, streckt es alle vier Gliedmaßen reflexartig dieser Fläche entgegen und beginnt, seine Umgebung zu explorieren. Die Versuchstiere wurden an den Rand des Versuchstisches geführt und durch Hochheben am Schwanz dazu gebracht, auf den Vorderpfoten zu laufen. Dadurch war eine Beeinträchtigung der Motorik der Vorderpfoten besser erkennbar.

Die Symmetrie in der Streckung der beiden Vorderbeine wurde beobachtet. Die Bewertung ergab sich folgendermaßen: 0 Punkte, wenn sich das linke Vorderbein gar nicht bewegte; 1 Punkt, linkes Vorderbein bewegte sich minimal; 2 Punkte, linke Vorderpfote wurde weniger ausgestreckt, als die rechte und das Laufen auf den Vorderpfoten war ungleichmäßig; 3 Punkte, beide Beinchen waren gleichmäßig ausgestreckt und die Ratte lief symmetrisch auf beiden Vorderpfoten.

Ein Punktwert von 2 und weniger wurde als pathologisch definiert.

### **2.8.7 Klettern**

Die Ratten wurden am Schwanz hochgehoben und an ein steil stehendes Drahtgitter herangeführt, bis sie sich daran festklammern konnten. Normalerweise benutzen die Tiere alle vier Gliedmaßen zum Klettern. Die Kraft, mit der sich die Ratte am Gitter festhielt, wenn man sie am Schwanz davon wegzuziehen versuchte, wurde mitbewertet. Konnte das Tier nicht klettern oder neigte dazu sich nur im Kreis zu drehen, erhielt es 1 Punkte; 2 Punkte, die linke Seite wurde nicht gleichmäßig zum Klettern eingesetzt oder die Ratte hielt sich beim Herunterziehen mit der rechten Seite stärker am Gitter fest als mit der linken; 3 Punkte, die Ratte kletterte problemlos am Gitter hoch und hielt sich kräftig daran fest.

Ein Punktwert von 2 und weniger wurde als pathologisch definiert.



**Abbildung 6** Gesunde Ratte beim Klettern am 90° aufgestellten Gitter (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt)

### **2.8.8 Reaktion auf Berührung am Körper**

Die Ratte wurde nacheinander auf beiden Körperseiten kurz und kräftig mit einem Wattestäbchen berührt und ihre Reaktion (Kopfbewegung zur jeweiligen berührten Seite) auf diesen Stimulus beobachtet. Bewertet wurde wie folgt: 1 Punkt, wenn die Ratte keine Reaktion auf den Stimulus auf der linken Seite zeigte; 2 Punkte, verzögerte Reaktion auf der linken im Vergleich zur rechten Seite; 3 Punkte, die Ratte drehte den Kopf zur berührten Seite hin und reagierte auf beide Stimuli mit gleicher Intensität.

Ein Punktwert von 2 und weniger wurde als pathologisch definiert.

### **2.8.9 Reaktion auf Berührung der Schnurrhaare (Vibrissen)**

Die Vibrissenreaktion gilt neben der Propriozeption als Indikator der Sensibilität. Nacheinander wurden die Schnurrhaare auf jeder Seite mit einem Wattestäbchen berührt und die Reaktion (Bewegung des Kopfes in die berührte Richtung) beobachtet. Die Bewegung mit dem Stäbchen zum Kopf des Tieres wurde so

ausgeführt, dass das Blickfeld der Ratte umgangen wurde und somit die Reaktion nur auf die Berührung und nicht den visuellen Reiz hin erfolgte. Reagierte das Tier nicht bei Berührung auf der linken Seite, vergaben wir 1 Punkt; 2 Punkte bei langsamerer Reaktion auf der linken Seite; 3 Punkte, Ratte bewegte ihren Kopf in die Richtung des Stimulus und das Ausmaß der Reaktion war auf beiden Seiten gleichwertig.

Ein Punktwert von 2 und weniger wurde als pathologisch definiert.

### **2.8.10 Testauswertung**

Die komplette Testreihe wurde stets zweimal durchgeführt und jeweils die höheren Punktezahlen wurden zu einem Gesamtergebnis zusammengezählt.

Hierbei bildeten die ersten drei Tests (Drehendes Gitter/Schwebebalken/Halte -Zug) eine Einheit mit einer Summe von 0-9 erreichbaren Punkten. Dieser Teil der neurologischen Testung ging zur Berechnung des motorischen Defizits in die Auswertung ein. Die sensorisch-motorischen Tests umfassen in dieser Studie Gleichgewicht im Balkentest sowie Greif- und Haltevermögen.

Bei den restlichen Tests waren Ergebnisse zwischen 3 und 18 Punkten möglich und das Ergebnis wurde zur Berechnung des sensorischen Defizits verwendet.

Neben der Leistung in sensorisch-motorischen Tests wird also auch das Bewusstsein, Sensorik und Laufvermögen der Tiere beurteilt.

Die Ergebnisse der beiden Teile wurden getrennt in der statistischen Auswertung bearbeitet.

Die folgende Tabelle gibt die Zuordnung der einzelnen Tests zu den jeweiligen Eigenschaften wieder.

Grad der Beeinträchtigung						Ergebnis	Normalwert
Eigenschaft	Test	3	2	1	0		
Motorische Funktion							
Balance	Zeit auf dem Schwebebalken	21-30 s	11-20 s	1-10 s	Nicht messbar	0-3	3
Physische Kraft	Halte-Zug-Versuch	5 s mit drittem Gliedmaß auf dem Seil	5 s ohne drittes Gliedmaß auf dem Seil	3-4 s	0-2 s	0-3	3
Physische Kraft	Zeit am gedrehten Gitter	15 s	11-14 s	6-10 s	0-5 s	0-3	3
Symmetrie der Bewegung	Aktive Bewegung	Symmetrische Bewegung	Einseitige Schwäche	Hemiplegie	bewegungsunfähig	0-3	3
Sensorische Funktion							
Berührungsempfindung am Körper	Reaktion auf Stimulus am Körper	Normal auf beiden Seiten	Einseitig verlangsamt	Einseitig fehlend	Keine Reaktion	0-3	3
Berührungsempfindung an den Schnurrhaaren	Reaktion auf Stimulus an den Schnurrhaaren	seitengleich	Einseitig verlangsamt	Einseitig fehlend	Keine Reaktion	0-3	3

**Tabelle 3 Testaufteilung in motorische und sensorische Qualitäten (modifiziert nach JUNGWIRTH B et al 2007)**

## 2.9 Euthanasie

Nach Abschluss der neurologischen Testreihe wurden die Tiere am 7. Tag euthanasiert und die Hirne zur Schnittgewinnung entnommen.

Die Ratten wurden wieder in der Plastikbox mit Isofluran anästhesiert, anschließend intubiert und beatmet.

Durch einen Abdomenlängsschnitt und Inzision des Diaphragmas verschafften wir uns Zugang zum schlagenden Herzen. In tiefer Isoflurannarkose injizierten wir 20 ml NaCl direkt in den linken Ventrikel, um das Tier zu entbluten. Zu diesem Zweck wurde die Leber eingeschnitten, um einen Abfluss des Blutes zu gewährleisten. Im Anschluss applizierten wir über die gleiche Einstichstelle in das noch schlagende Herz 20 ml 4% Formalin und erreichten somit eine vollständige Fixierung des Hirngewebes.

Nach 20-minütiger Wartezeit erfolgte die Entnahme des kompletten Gehirns. Hierzu wurde ein horizontaler Schnitt auf Höhe des ersten Zervikalwirbels angebracht und das Rückenmark durchtrennt.

Das entnommene Gehirn wurde, nachdem die Kalotte aufgebrochen und es aus dieser befreit war, in einem formalingefüllten Gefäß bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt.

Tiere, die vor dem 7. Tage wegen ihres schlechten Allgemeinzustandes euthanasiert werden mussten, wurden in tiefer Isoflurannarkose durch Genickbruch getötet.

Auch diesen Tieren entnahmen wir zur Qualitätssicherung und Beurteilung des Ausmaßes des Infarktareals das Gehirn.

## **2.10 Histologische Aufarbeitung**

Die Gehirne wurden in 10 µm dicke Scheiben im Abstand von 150 µm geschnitten und HE (Hematoxilin/Eosin) gefärbt.

Über eine Videokamera wurden die gefärbten Schnitte auf Infarktareale abgesucht und das Infarktvolume durch einen Bildanalysator berechnet. Die Durchführung erfolgte durch einen bezüglich der Umstände des Experimentes verblindeten Mitarbeiter. Die Begrenzungen des Infarktareals wurden einzeln mittels eines Cursors vom Untersucher im Kortex und Subkortex markiert. Zur Berechnung des Volumens wurde die Fläche der Areale mit der bekannten Intervalldicke von 150 µm über die gesamte Ausdehnung des infarzierten Hirngewebes als orthogonale Projektion multipliziert.



**Abbildung 7 HE-gefärbter Hirnschnitt: Infarkt im Kortex der rechten Hemisphäre gut erkennbar**

### **2.10.1 TTC-Färbung**

Hirne von Ratten, die vor Ablauf der geforderten 7 Tage verstarben oder euthanasiert werden mussten, wurden in 2 mm dicke Scheiben zerschnitten und sofort mit TTC (2, 3, 5-Triphenyl-Tetra-Zolium-Chlorid) gefärbt. Diese Färbung erlaubt es zwischen vitalem und geschädigtem Gewebe schnell bereits makroskopisch zu unterscheiden. Vitales Gewebe erhält eine pinke Farbe, das geschädigte Areal bleibt hell. Auf diese Weise belegten wir, dass die Schädigung des Gehirns zu schwerwiegend war um eine Erholung zu ermöglichen und trugen damit zur Qualitätssicherung des Versuches bei.

1 g TTC wurde in 50 ml NaCl verrührt und somit eine 2%ige Lösung erstellt. Ein Rüttelinkubator sorgte für die konstante Temperatur von 37° C. Die Hirnschnitte verblieben 15 min in der Färbeflüssigkeit und wurden alle 3 min gewendet um eine vollständige und gleichmäßige Färbung zu sichern.

Nach Beendigung der Inkubationszeit des TTC entfernten wir die Schnitte aus der Lösung und fixierten sie in 10%igem Formalin. Die Lagerung erfolgte in den formalingefüllten Gefäßen in einem lichtgeschützten Schrank, da sich die Farben bei Sonneneinstrahlung wieder aus dem Gewebe lösen.

Die Infarkt volumina wurden in gleicher Weise wie bei den HE-gefärbten Schnitten bestimmt. Da die Schichtdicke allerdings bei dieser Aufbereitungsform nicht exakt kontrollierbar war, dienten uns diese Ergebnisse nur zur Qualitätssicherung und gingen in keine statistische Berechnung ein.



Abbildung 8: TTC-gefärbte Hirnschnitte

## 2.11 Statistik

Die Ergebnisse wurden in einer logistischen Regressionsanalyse aufgearbeitet, wobei die Größe der Luftembolie, die Präparation (EKZ versus Sham) und die Xenoninhalation als abhängige Variablen betrachtet wurden. Das Überleben, sowie motorisches und sensorisches Defizit stellten die unabhängigen Variablen dar.

Die Untersuchung der abhängigen Variablen „Volumen des Luftembolus“ erfolgte nicht gruppenweise, sondern gestreut über den Bereich von 0,2 bis 10  $\mu\text{l}$ .

Nur die Testwerte des siebten postoperativen Tages wurden in die Berechnung miteinbezogen. Tiere, die nicht bis zu diesem Termin überlebten, gingen mit maximalen Schädigungspunkten in die Berechnung der neurologischen Werte im Sinne eines Composit endpoints ein. Überleben ohne entsprechende Beeinträchtigung wurde angenommen, wenn keine der getesteten Qualitäten aus dem normalen Bereich abwich.

In einem stufenweisen Einschlussverfahren wurde die Bedeutung für die einzelnen Faktoren geklärt: zunächst wurde der Einfluss der Präparation untersucht (EKZ versus Sham), anschließend die Auswirkungen der Behandlung (Xenon versus  $\text{N}_2$ ); es folgten die Wechselwirkungsfaktoren (Präparation x Behandlung), es sei denn die Berechnung der Einzelfaktoren ergab keinen signifikanten Effekt ( $p > 0,05$ ).

Embolusvolumen, Zusatz oder Fehlen von Xenon, sowie der Einsatz oder das Fehlen der EKZ wurden mit dem Infarkt volumen am siebten postoperativen Tag in einer linearen Regressionsanalyse korreliert. Wieder erfolgte der Einschluss der Faktoren stufenweise (Ausschluss:  $p > 0,1$ ; Einschluss:  $p < 0,05$ ).

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Überleben

5 Tiere wurden aus der weiteren Analyse der Daten ausgeschlossen. Ausschluss erfolgte wegen insuffizienten venösen Rückflusses (ein Tier aus der EKZ/ZLE/Xenon-Gruppe), Probleme bei der Katheterisierung (eine Ratte aus der EKZ/ZLE/N<sub>2</sub>-Gruppe, eine aus der Sham/ZLE/N<sub>2</sub>-Gruppe) oder Entwicklung eines postoperativen zervikalen Hämatoms mit inspiratorischem Stridor (eine Ratte der EKZ/ZLE/N<sub>2</sub> und eine der Sham/ZLE/Xenon-Gruppe). Diese Ratten wurden ersetzt um die Gruppengröße gleich zu halten.

34 der 60 Versuchstiere (~57%) verstarben vor Ablauf der vollen 7-tägigen postoperativen Beobachtungs- und Testungsphase. Vier dieser Ratten erlitten die Schädigungen bereits intraoperativ und konnten nicht von der Beatmung genommen werden. Die übrigen erlangten zwar wieder Spontanatmung, wiesen jedoch respiratorische Schwierigkeiten, weite lichtstarre Pupillen und eingeschränkte oder fehlende Abwehr auf Schmerzreize auf. Waren die Hinweise auf Hirntod gravierend, wurden diese Tiere euthanasiert, 12 verstarben spontan direkt postoperativ oder im Laufe der Nachbeobachtungszeit. Insgesamt überlebten 26 der 60 Tiere (~ 43%) die vollen 7 Tage des Versuchsablaufes.

Behandlung	überlebt	gestorben	von
EKZ/ZLE/N <sub>2</sub>	6	9	15
EKZ/ZLE/Xenon	6	9	15
Sham/ZLE/N <sub>2</sub>	8	7	15
Sham/ZLE/Xenon	6	9	15
gesamt	26	34	60

**Tabelle 4: überlebende und verstorbene Tiere in den einzelnen Gruppen**

Alle Tiere mit einer Luftmenge von  $\leq 10 \times 0,5 \mu\text{l}$  haben überlebt.



Bei den Tieren mit 10 x 1 µl verstarb je eines in den beiden EKZ-Gruppen, die restlichen überlebten die vollen sieben Tage.

Alle Ratten der EKZ-Gruppen mit einer Bläschengröße über 1 µl verstarben.

10 x 10 µl wurden nie toleriert; alle Ratten hatten postoperativ weite lichtstarre Pupillen und zeigten keine Abwehrreaktionen auf Schmerzreize. Manche Versuchstiere dieser Gruppe zeigten sogar eine Trübung und Ulzeration eines Auges.

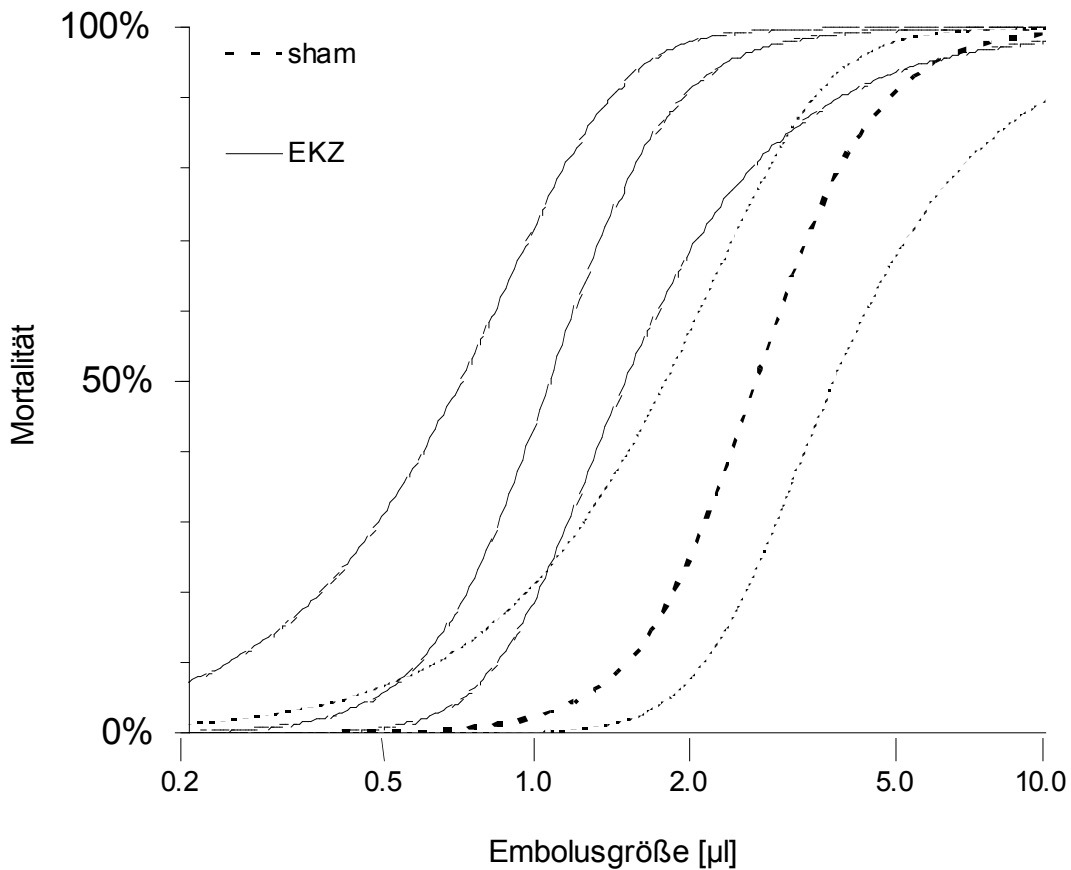
	ZLE in µl	0,2	0,5	1,0	1,6	1,8	2,5	3,8	5,0	7,0	10,0	
Behandlung	♥überlebende / verstorbenen†											gesamt
E K Z + N <sub>2</sub>		♥	♥♥♥	♥♥†	††	†	†††	0	†	0	†	1 5
EKZ+Xenon		♥	♥♥♥	♥♥†	††	†	†††	0	†	0	†	1 5
S h a m + N <sub>2</sub>		♥	♥	♥	♥	0	♥♥†	♥	♥♥†	†	†††	1 5
Sham+Xenon		♥	♥	♥	†	0	♥††	†	†††	†	†††	1 5

**Tabelle 5: ♥Überlebende/verstorbenen† der einzelnen Gruppen mit Angabe des Embolusvolumens**

Die TTC-Färbung zeigte bei allen Versuchstieren, die nicht die geforderten sieben Tage überlebten, einen ausgedehnten Infarkt in Übereinstimmung mit den beobachteten neurologischen Komplikationen, durch welche die Entscheidung getroffen wurde, das jeweilige Tier zu euthanasieren.

Die logistische Regressionsanalyse ergab, dass Xenon keine signifikante Einflussgröße darstellt, so dass die beiden Gruppen Xenon und N<sub>2</sub> zusammen dargestellt werden können.

In der folgenden Grafik wird der Zusammenhang zwischen EKZ, bzw. Sham und dem Überleben der Versuchstiere verdeutlicht.



**Abbildung 9: Mortalität in Abhängigkeit von der verwendeten Luftemboliegröße für die EKZ bzw Sham Gruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall (siehe auch Parallelarbeit zu gleichem Versuchstierkollektiv CARLSEN J 2005)**

Die logistische Regressionsanalyse zeigt einen Zusammenhang zwischen der Mortalität und dem Logarithmus der ZLE-Volumina (Mittelwerte  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall). Die EKZ-Kurve ist im Vergleich zur Shamkurve signifikant nach links verschoben. Dies bedeutet, dass bereits kleinere Embolievolumen zum Tod des Versuchstieres führen.

Die Behandlung mit oder ohne Xenon hatte, wie bereits oben erwähnt, keinen Einfluss auf das Überleben. Deshalb sind für diese Untergruppen auch keine eigenen Kurven dargestellt.

## 3.2 Neurologie

Die Ergebnisse der neurologischen Datensammlung wurden wie bereits oben erwähnt, getrennt als Einbusse an motorischen Fähigkeiten und als Veränderung auf sensorischer Ebene betrachtet.

### 3.2.1 Motorisches Defizit

Das folgende Kurvendiagramm stellt das motorische Defizit in Abhängigkeit zunehmender Volumen der Luftbläschen dar.

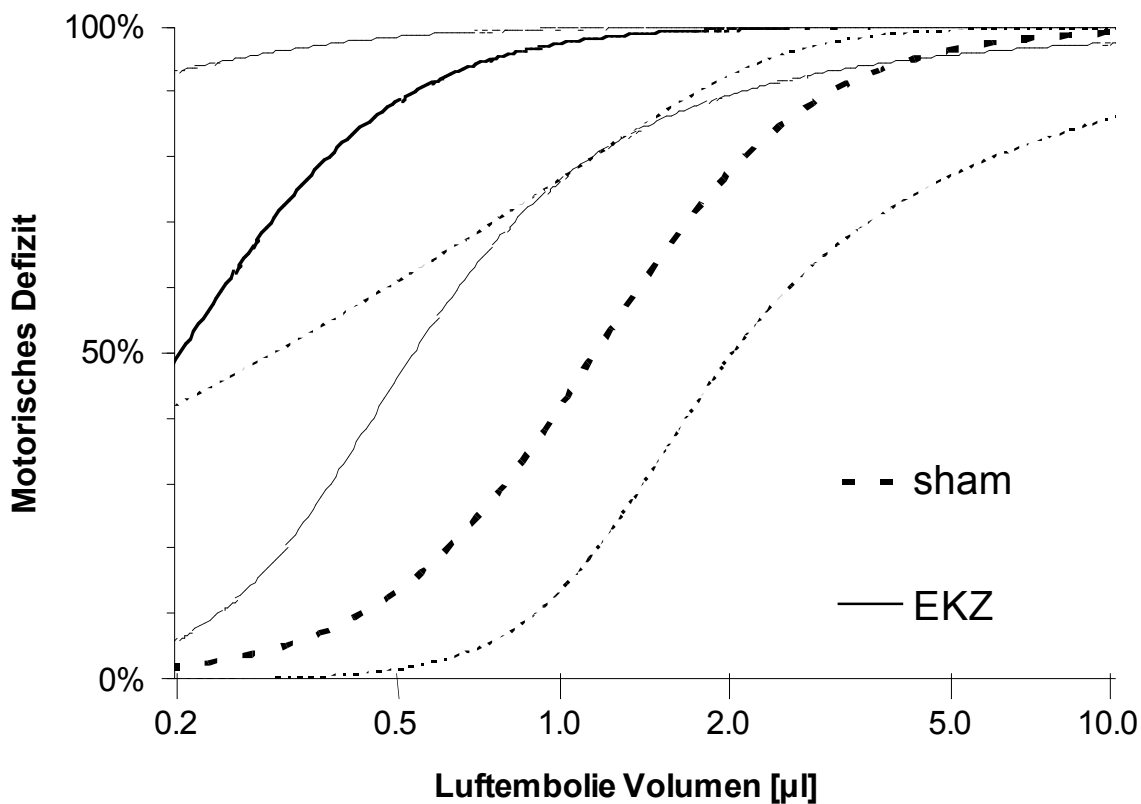


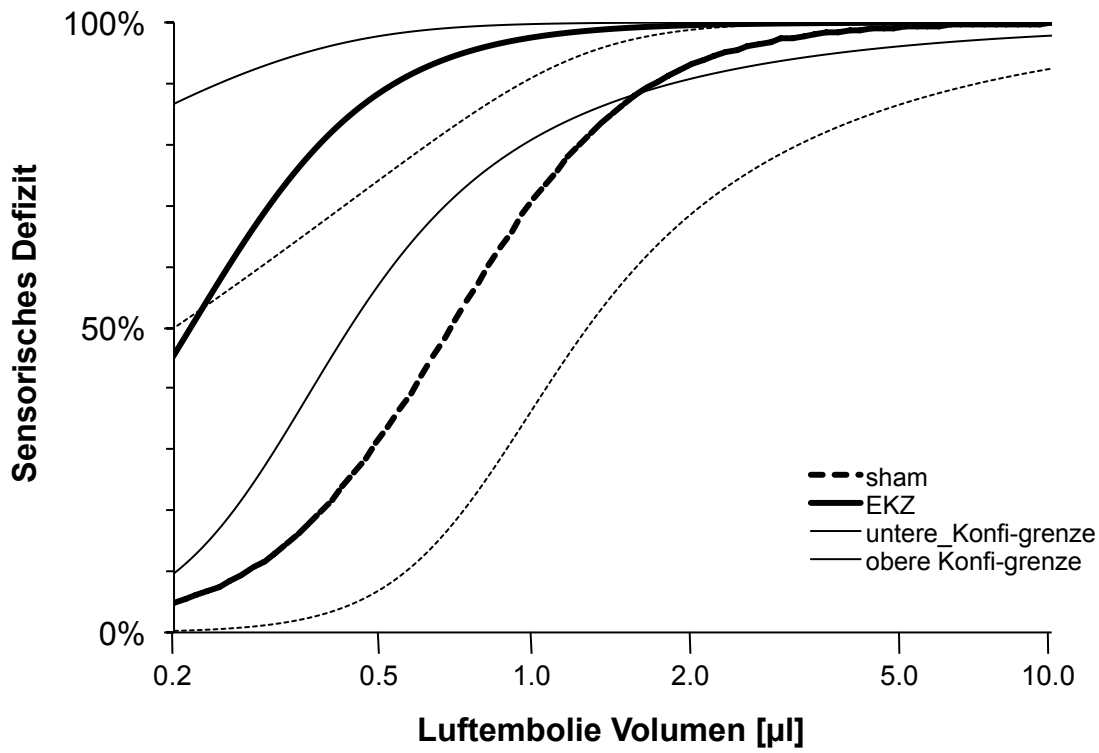
Abbildung 10: Neurologisches Defizit in Abhängigkeit von der verwendeten Luftemboliegröße für die EKZ bzw Sham Gruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall (modifiziert nach JUNGWIRTH B et al 2007)

Die logistische Regressionsanalyse zeigt einen Zusammenhang zwischen der Zunahme des motorischen Defizits und dem Logarithmus der ZLE-Volumina (Mittelwerte  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall). Die EKZ-Kurve ist im Vergleich zur Shamkurve signifikant nach links verschoben. Auch hier bestätigt sich, dass bereits bei kleineren Blasenvolumen die Beeinträchtigung in der EKZ-Gruppe stärker ausgeprägt ist als in der nicht-EKZ-Gruppe.

Xenonzusatz zeigte keinen Unterschied. Es sind deshalb keine Graphen für diese Untergruppen dargestellt.

### **3.2.2 Sensorisches Defizit**

Das folgende Kurvendiagramm stellt das sensorische Defizit in Abhängigkeit zunehmender Volumen der Luftbläschen dar.



**Abbildung 11: Sensorisches Defizit in Abhängigkeit von der verwendeten Luftemboliegröße für die EKZ bzw Sham Gruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall (modifiziert nach JUNGWIRTH B et al 2007)**

Die logistische Regressionsanalyse zeigt einen Zusammenhang zwischen der Zunahme des sensorischen Defizits und dem Logarithmus der ZLE-Volumina (Mittelwert  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall). Die EKZ-Kurve ist im Vergleich zur Shamkurve signifikant nach links verschoben. Auch hier bestätigt sich, dass bereits bei kleineren Blasenvolumen die Beeinträchtigung in der EKZ-Gruppe stärker ausgeprägt ist als in der Sham-Gruppe

Xenonzusatz zeigte keinen Unterschied. Es sind deshalb keine Graphen für diese Untergruppe dargestellt.

### **3.3 Histologie**

Eine lineare Regressionsanalyse zeigt einen Zusammenhang zwischen der Zunahme des Infarktvolumens und dem Logarithmus der ZLE-Volumina (Einzelwerte). Nur die Infarktvolumina der HE-gefärbten Hirnschnitte gingen in die Statistik ein.

Die EKZ-Kurve ist im Vergleich zur Shamkurve signifikant nach links verschoben. Das Infarktvolumen ist in der EKZ-Gruppe bei gleichem Embolusvolumen signifikant größer als in der Sham-Gruppe.

Xenon führte nicht zu einer Beeinflussung des histologischen Ergebnisses.

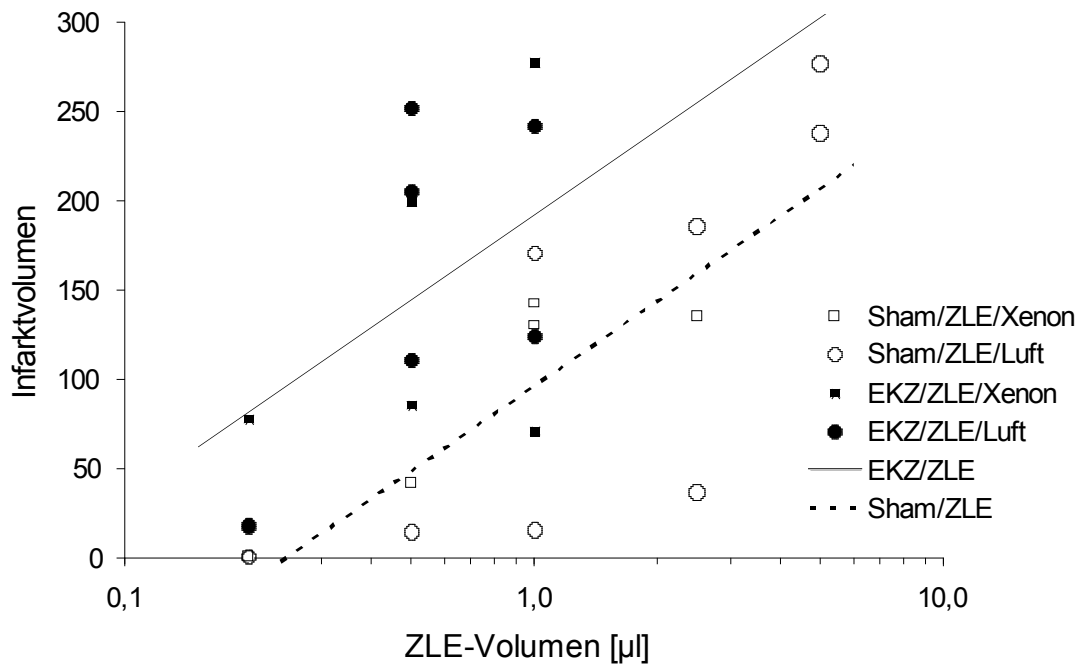


Abbildung 12 Infarktverhalten in Abhängigkeit vom Volumen der Luftembolien (modifiziert nach JUNGWIRTH B et al 2007)

Letztendlich zeigen die Ergebnisse der Dosisfindung, dass ein Embolus von 0,3  $\mu\text{l}$  für weitere Studien verwendet werden sollte. Hier zeigt sich ein sicheres Überleben der Tiere mit deutlich erkennbaren neurologischen Defekten.

---

## 4 Diskussion

Zerebrale Luftembolien wurden als einer von mehreren Verursachern von neurologischen Komplikationen während EKZ im Rahmen der kardiochirurgischen Eingriffe identifiziert. Daneben stellen feste Embolien aus atheromatösen Veränderungen der Aorta eine weitere große Quelle für Probleme dar. (ARROWSMITH JE et al 1999)

Bislang fehlte ein zuverlässiges präklinisches Kleintiermodell mit dem es möglich war Entstehung und Auswirkung gasförmiger Embolien bei Einsatz der EKZ und einem Langzeitüberleben der Versuchstiere zu studieren.

Das in dieser Arbeit verwendete Modell erlaubt es ZLE und EKZ zu kombinieren. Der Embolus kann erfolgreich und sicher in den Körper des Versuchstieres eingebracht werden. Dank der speziellen Methode der EKZ ohne Sternotomie ist ein Langzeitüberleben nicht bereits durch die Versuchsumstände gefährdet. Die Ratten werden nach Beendigung des Versuches wieder von der extrakorporalen Zirkulation getrennt und das eigene Herz nimmt seine Arbeit wieder auf, wie es auch beim Einsatz in der Humanmedizin der Fall ist.

### 4.1 Diskussion der Methoden

#### 4.1.1 Kombiniertes Modell aus ZLE und EKZ

Schweine, Lämmer und andere größere Tiere sind häufig eingesetzte Versuchstiere im Rahmen von neurologischen/neurokognitiven Studien. Diese Modelle scheiterten allerdings an zu hohen Kosten, Personal- und Materialaufwand oder sind mit dem längerfristigen Überleben der Tiere nicht vereinbar. Darüber hinaus existieren kaum etablierte Tests über Neurologie und Kognition bei diesen Spezies. Die Ratte wurde dagegen schon im Zuge zahlreicher zerebraler Ischämie Modelle intensiv hinsichtlich histologischer, neurokognitiver und Verhaltensvariablen untersucht und die Anwendung einer vollständigen EKZ mit längerfristiger Nachuntersuchung bereits etabliert. Weitere Vorteile bieten geringere Kosten (Zucht und Haltung),



vergleichbare Anatomie und Physiologie zu höheren Säugetieren und bessere ethische Akzeptanz.

In der hier beschriebenen Studie gelang die erfolgreiche Kombination eines zerebralen Luftembolie-Modells mit einer bereits etablierten Methode zur EKZ-Studie, die ein Überleben der Ratten erlaubt (MACKENSEN GB et al 2001, JUNGWIRTH B et al 2006). Die Möglichkeit somit die Auswirkungen von ZLE auf neurologischer und neurokognitiver Ebene zu studieren, sowie neuroprotektive Strategien zu entdecken oder auf ihr Potential in vorklinischen Versuchen zu testen, stellt einen wichtigen Fortschritt dar.

Frühere ZLE-Tiermodelle erbrachten bereits wichtige Erkenntnisse über die Kinetik der ZLE im Bezug auf die unterschiedlichen Arterioldurchmesser, Veränderungen des zerebralen Blutflusses und somatosensorisch-evozierter Potentiale als Folge von Luftbläschen unterschiedlicher Volumen. (FURLOW TW et al 1982, HELPS SC et al 1990)

Hindman beschrieb als Erster einen Versuchsaufbau, der zum Studium der ZLE-Effekte während EKZ bei Kaninchen diente. Er durchtrennte das Sternum der Tiere und kanülierte zur venösen Drainage direkt den rechten Vorhof. 50 µl Luft wurden über die A. carotis interna injiziert. Zielparameter der Studie waren somato-sensorisch evozierte Potentiale (SSEP). Zur Bekräftigung der richtigen Lage des Katheters wurden nach Gewinnung der Daten noch einmal 200 µl Luft injiziert und das komplette Verschwinden der SSEPs als positiver Beweis angesehen. Dieser Versuchsaufbau erlaubte natürlich kein längerfristiges Überleben. Präparation und Luftinjektion allein genügen bereits um das Versuchstier letal zu schädigen. Neurologische und neurokognitive Testungen sind unter diesen Umständen nicht möglich. (HINDMAN BJ et al 1998)

Furrow stellt vier Gründe heraus, die den Erfolg einer ZLE-Studie an Ratten schmälern können.

Als erstes Problem erkennt er, dass häufig die Kontrolle über den Zielort des Embolus fehlte. Durch wenig spezifische Wahl der arteriellen Injektionsstelle, verteilte sich die Luftblase willkürlich in eine oder zwei größere Arterien. Oft erfolgte somit eine Embolisation von Gefäßen, die nicht das Gehirn versorgten und nicht das volle Blasenvolumen gelangte an den gewünschten Zielort im Cerebrum. (FURLOW TW et al 1982) Durch gezieltes Aufsuchen, Identifizieren und Kanülierung der A. carotis interna durch die abgesetzte A. carotis externa und zusätzliche Ligatur der A.

pterygopalatina glauben wir ein hohes Maß an Kontrolle und Sicherheit über die Applikation des Embolus erlangt zu haben. Diese Vorgehensweise schließt jedoch mit ein, dass eventuell das hämodynamische Gleichgewicht angrenzender von den unterbundenen oder abgesetzten Arterien abhängiger Versorgungsgebiete gestört oder gar zusätzliches Gewebe beschädigt wurde. Dieser Kompromiss wurde von uns eingegangen.

Furlow fordert keine unnötigen Schäden bei der Präparation des gewünschten Zuganges zu verursachen. (FURLOW TW et al 1982) Wir glauben den schonendsten Weg bei bestmöglicher Kontrolle gewählt zu haben. Wechselwirkungen, bzw. zusätzliche Schädigung durch die Präparation sind aber letztendlich nicht vollständig auszuschließen.

Weiterhin stellt Furlow fest, dass die intravaskuläre Kapazität begrenzt ist. Die Injektion von großen Luftblasen, wie z. B. im oben beschriebenen Experiment von Hindman, kann ein „Überfließen“ der Luft bedingen. Sie gelangt dann beispielsweise in die kontralaterale Hemisphäre oder gar in das vertebro-basiläre Stromgebiet. Der fokale Aspekt des Experiments geht unter diesen Umständen verloren und Infarkte des Hirnstammes oder anderer Areale verfälschen die Ergebnisse, führen unter Umständen sogar den verfrühten Tod des Versuchstieres herbei. (FURLOW TW et al 1982) Die Aufteilung des gesamten Embolusvolumens auf zehn kleinere Injektionen sollte dieses Problem lösen.

Eine letzte Forderung Furlows ist die tatsächliche Größe der individuellen Luftblase, die aus dem Lumen des intraarteriellen Katheters in die Arterie entweicht zu kontrollieren. Klinisch entsteht meist ein Schauer von mehreren kleinen Blasen. Eine einzelne große Blase von gleichem Volumen hat natürlich andere Oberflächeneigenschaften wie dieser „Blasencluster“. (PUGSLEY W, KLINGER L et al 1988, VAN DIJK D, KEIZER AMA et al 2000) Die klinische Realität wird also nicht ganz korrekt nachgeahmt und Ergebnisse können somit zu falschen Schlüssen führen. Vier Parameter bedingen die Bildung gleichmäßiger Bläschen in vitro: 1. die Größe der Öffnung aus der die Luft ausströmt; 2. der Injektionsdruck; 3. die Geschwindigkeit, der an der Öffnung vorbeiströmenden Flüssigkeit; 4. die Oberflächenspannung dieser Flüssigkeit. (FURLOW TW et al 1982) Nur die ersten beiden Parameter unterliegen in vivo der Kontrolle des Untersuchers. Aus technischen Gründen ist es uns nicht gelungen den „shower of bubbles“, wie er in transkraniellen Doppler-Untersuchungen während Operationen dokumentiert wurde,

zu imitieren. Durch einen standardisierten kleinen Öffnungsdurchmesser und konstante Injektionsgeschwindigkeit durch die Harvard-Pumpe, erfüllt die Studie die ersten beiden geforderten Parameter Furlows (FURLOW TW et al 1982) und die zusätzlich Fraktionierung des Embolus auf zehn repetitive Gaben kommt dem Echtzustand ebenfalls etwas näher.

Das Überleben des Versuchstieres bedingt eine gewisse Entfernung des Modells von der klinischen Realität. Normalerweise ist das Haupteinsatzgebiet der EKZ bei Operationen am offenen Thorax zu sehen. Der Verzicht auf die mediane Sternotomie in diesem Aufbau schränkt also die Möglichkeiten zur Erforschung solcher Operationen ein. Direkte chirurgische Eingriffe am Herzen, inklusive aortalem Crossclamping und künstlich verursachtem Herzstillstand, wurden nicht durchgeführt. Da unsere gesunden Versuchstiere grundsätzlich frei von komplexen und weitläufigen Nebenerkrankungen, wie z. B. atheromathösen Gefäßerkrankungen waren, stellt dieser Umstand ebenfalls eine Entfernung von der klinischen Situation wie sie auch in 1.1.1 beschrieben wird dar. Diese Faktoren tragen in der Realität natürlich nicht unerheblich zur Entstehung neurologischer Komplikationen bei.

Unser retrograder Zugang für die EKZ über die Schwanzarterie entspricht nicht dem klassischen Vorgehen beim Menschen, hier wird der antegrade Perfusion über Kanülierung der Aorta durchgeführt. Dennoch ist die retrograde Perfusion keine unbekannte Möglichkeit in der Humanmedizin. Sie wurde häufig im Rahmen von PortAcces-Operationen (Heartport Inc., Redwood City, CA) als minimaler Zugang gewählt und findet Einsatz bei Eingriffen an der intrathorakalen Aorta mit Anwendung der EKZ. (MACKENSEN GB et al 2001).

Blasen entstehen bei der EKZ im Oxygenator oder werden während der Eröffnung der Herzkammer über die Aorta in die zerebralen Gefäße eingeschwenkt, die direkte Injektion in die A. carotis interna ist also nicht ganz „physiologisch“.

Wir glauben jedoch die richtigen und nötigen Kompromisse geschlossen zu haben, um ein sicheres Einbringen von Luftembolien in die Hirngefäße, bei einem Langzeitüberleben des Versuchstieres, in Abhängigkeit zur Blasengröße zu erzielen. Die Kombination aus selektiver ZLE-Injektion und etabliertem EKZ-Modell erlaubt es die Grenzen früherer Versuche zu durchbrechen.

Wir erstellten die Dosis-Wirkungs-Kurven für unterschiedliche Endpunkte, wie Überleben, motorische und sensorische Funktion und Histologie. Dadurch ist es

---

möglich in anschließenden Studien die Blasengröße nach Wunsch der Überlebensrate oder Inzidenz des neurologischen Defizites zu wählen.

#### 4.1.2 Neurologische Testung

Sensorisch-motorische Tests stellen einen wichtigen Bestandteil der differenzierten neurologischen Untersuchung dar, denn mit quantifizierbaren Testmethoden können motorische Funktionen objektiver bewertet werden. Außerdem können aktive Tests Aufschluss über spezifische neurologische Defizite geben, die durch passives Beobachten allein nicht zu erkennen wären. (COMBS DJ, D'ALECY LG et al 1987) Zu den sensorisch-motorischen Tests dieser Studie zählen Gleichgewicht im Schwebebalken-Test, sowie Greif- und Haltevermögen (Drehendes Gitter- und Halte-Zug-Test) (vgl. 2.8).

Die in dieser Studie verwendete neurologische Testung stellt keine Neuerung dar, sondern ist die Anwendung bekannter und gut etablierter Testreihen aus der Erforschung der Komplikationen zerebraler Ischämien.

Der Schwebebalken-Test, das drehende Gitter und der Halte-Zug-Versuch sollen an dieser Stelle exemplarisch dargestellt werden.

Der Schwebebalken-Test, bei dem die Tiere eine bestimmte Zeitdauer auf einem schmalen Holzbalken balancieren sollen, ist eine weitverbreitete Technik. Dabei dient er der Bewertung von Defiziten der vestibulomotorischen Funktion (COMBS DJ, D'ALECY LG et al 1987) bei zerebellarer (TUPPER DE, WALLACE RB et al 1980), traumatischer (LYETH BG et al 1993), post-subarachnoidaler hämorrhagischer (GERMANO AF et al 1994), globaler (COMBS, D'ALECY et al 1987) und fokaler zentralnervöser Schädigungen (BARONE FC et al 1992).

Der Test „Drehendes Gitter“ dient als Indikator der allgemeinen Muskelkraft zum Beispiel nach Vorhirn- und fokaler zerebraler Ischämie (COMBS, D'ALECY et al 1987). Hierfür soll sich das Tier auf einem unterschiedlich geneigtem Gitter (horizontal, vertikal und um 180° gedreht) für eine bestimmte Zeitdauer festhalten.

Beim Greif-Zug-Test sollen sich die Tiere nur mit den Vordergliedmaßen an einem horizontal gespannten Seil über eine bestimmte Zeitdauer halten. Dadurch können taktile bzw. propriozeptorische Platzierungsreaktionen der Vordergliedmaßen und die Muskelkraft zum Beispiel nach Vorhirn- und fokaler zerebraler Ischämie (COMBS, D'ALECY et al 1987, GIONET TX et al 1991) bewertet werden.

Durch die große Erfahrung die mit den Testreihen besteht, scheinen sie gut geeignet zu sein, die motorisch/sensorische Funktion in diesem zuverlässig wiederzuspiegeln.

In Anlehnung an Reasoner et al wird in der vorliegenden Studie ein Gesamtpunkteschema entwickelt, um die motorische/sensorische Funktion mit dem histologischen Befund und der Mortalität vergleichen zu können. (REASONER D et al 1997)

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.1 EKZ bedingt schlechteres Outcome**

Die Injektion von Luftblasen ergibt unterschiedliche Ergebnisse bei den EKZ und Sham-Gruppen. In Abwesenheit der EKZ konnten deutlich höhere ZLE-Volumen toleriert werden. Die Mortalität war in der EKZ-Gruppe erhöht, motorisches und sensorisches Vermögen eingeschränkt im Vergleich zu den Sham-Gruppen.

Dieses Resultat stimmt mit den Ergebnissen von Hindman et al. überein. Sie konnten zeigen, dass die Erholung des somatosensorisch evozierten Potentials nach Luftembolie in den EKZ-Gruppen schlechter war als in den Sham-Gruppen. Die negativen Effekte wurden als Folge der Besonderheiten für die Physiologie während EKZ interpretiert. Hyperoxie, Hyperglykämie, Anämie, nicht-pulsatiler Fluss und Komplementaktivierung werden aufgezählt. Die Autoren der Studie berichten über die Abweichungen der physiologischen Werte von der Norm, beschlossen aber nicht regulierend einzugreifen. So tolerierten sie beispielsweise Hb-Werte zwischen 7,5 und 8,0 g/dl in EKZ-Gruppen. Es wurden keine ausgleichenden Maßnahmen eingeleitet, um keine atypischen Bedingungen bei EKZ herzustellen. Die Vergleichbarkeit mit dieser Studie ist eingeschränkt, da Hindman et al Kaninchen als Versuchstiere benutzten. (HINDMAN BJ et al 1998)

Auch Pugsley beschrieb klinische Beobachtungen die auf eine dosisabhängige Beeinträchtigung des postoperativen neurologischen Status nach ZLE während EKZ schließen lassen. (PUGSLEY W et al 1990)

Reasoner et al. untersuchten das neurologische Outcome an Hasen nach zerebraler Luftembolie. Sie folgten dabei im Wesentlichen der Studie Hindmans et al.,

beschränkten sich allerdings nur auf die ZLE ohne die Kombination mit EKZ. Sie fanden ebenfalls einen verschlechterten neurologischen Status ihrer Versuchstiere mit steigenden Volumina der Blasen. Mit ihrer Arbeit legten die Autoren dar, dass nicht nur durch die spezifische Testung der Neuronen mittels SSEPs Alterationen des Gehirns durch ZLE belegbar sind, sondern auch durch komplexere neurologische Testung. (REASONER D et al 1997)

## **4.2.2 Mögliche Gründe**

Einige Faktoren können das schlechtere Abschneiden der EKZ-Gruppen bedingen.

### **4.2.2.1 Systemische inflammatorische Reaktion**

Jeglicher Einsatz der extrakorporalen Zirkulation ist mit einer systemischen inflammatorischen Reaktion verbunden, Beschädigungen durch Ischämie oder Reperfusion können auftreten und somit eine inflammatorische Kaskade in Gang gesetzt werden die nicht nur Herz, Lunge, Nieren und Verdauungsorgane, sondern eben auch das Gehirn betreffen. Eine Theorie besagt, dass einer der stärksten Stimuli für die Entzündungsreaktion in zirkulierendem Endotoxin, dem Liposaccharidbestandteil gramnegativer Zellwände, zu suchen ist. Der Ursprung des Endotoxins ist nicht vollständig geklärt. Vermutungen verweisen auf eine mögliche Hypoperfusion des gastrointestinalen Traktes während EKZ; dadurch soll eine Translokation der Bakterien der Darmmukosa begünstigt werden und zu einem hohen Level an frei zirkulierendem Endotoxin führen. Der toxische Effekt besteht nicht darin, Körperzellen direkt abzutöten oder Zellvorgänge zu blockieren, sondern in einer Beeinflussung verschiedenartigster Effektorzellen. Zu diesen zählen Monozyten, polymorphkernige Granulozyten, Thrombozyten und Makrophagen. Das Toxin stimuliert in ihnen die Bildung und Freisetzung bioaktiver Lipide, Sauerstoffradikale und Peptidmediatoren, wie den Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8 und IL-10. Weiterhin wird das Komplementsystem und Plasminogen aktiviert, Bradykinin wird gebildet und die Gerinnungskaskade in Gang gesetzt. (MATHEW JP et al 2003)

Zwei weitere Begleitumstände der EKZ tragen zur systemischen Inflammation bei. Die körperfremde Oberfläche des Kreislaufes selbst löst eine Abwehrreaktion des Körpers aus. Die Gabe von Fremdblut, um den Kreislauf zu füllen und den Hb-Wert konstant zu halten, hat selbst bei hoher Kompatibilität zum Empfänger stets das Risiko eine Inflammation zu verursachen.

All diese Mechanismen und Effekte summieren sich zu dem Entzündungsreiz, der vom Embolus ausgeht (vgl. 1.1.2.4.2 Arterielle Luftembolien).

#### **4.2.2.2 Einfluss auf die Leukozytenakkumulation**

Die systemische Entzündung beim Einsatz der EKZ bedingt die Bildung von proinflammatorischen Zytokinen. Diese bewirken zumindest teilweise die Ausprägung bestimmter Adhäsionsmoleküle auf der Oberfläche der Zellen, die sich in der infarktangrenzenden Zone befinden. Drei Molekülfamilien bilden die adhäsionsfördernden Stellen auf der Zellmatrix aus: die Integrinfamilie, die Selektine und die große Gruppe der Immunglobuline. (SPRINGER TA et al 1990, 1991)

Die Integrine werden auf Leukozyten ausgebildet. Zu den wichtigsten zählen hierbei LFA-1 und Mac-1. Die passenden Rezeptoren für diese werden von den intrazellulären Molekülen ICAM-1 und ICAM-2 aus der Familie der Immunglobuline gebildet. Deren Ausbildung wird wiederum durch eine Vielzahl inflammatorischer Mediatoren, wie z. B. IL-1 gefördert. (SPRINGER TA et al 1991, LUSCINSAKAS FW et al 1991)

Die dritte Klasse der Adhäsionsrezeptoren sind die Selektine. Es handelt sich hierbei um Glykopeptide, welche die endotheliale Adhäsion der Leukozyten modulieren. Die Aktivität und Anzahl dieser Moleküle auf der Zelloberfläche wird ebenfalls durch inflammatorische Mediatoren reguliert. (SPRINGER TA et al 1991)

Die Luftblase stellt in unserem Versuch an sich schon einen Stimulus für die Akkumulation der Leukozyten (speziell der polymorphkernigen Leukozyten) dar. Zusätzlich zur parenchymatösen Ischämie, produziert die Luftembolie einen primär endothelialen Schaden und aktiviert die Leukozyten. (KOCHANNEK PM et al 1992)

Vermutungen werden in der Literatur geäußert, dass die Akkumulation von Leuko- und Monozyten die Thrombosierung infarzierter Areale einleitet. Der Nachweis subendothelialer Makrophageninfiltration in arthereosklerotischen Läsionen, lässt weitere Schlüsse bezüglich der Bedeutung für den Pathomechanismus dieser

Ansammlungen zu. So kann der zerebrale Blutfluss durch Verstopfung des Gefäßes oder durch freigesetzte vasokonstriktive Mediatoren weiter vermindert werden. Die Freisetzung hydrolytischer Enzyme, sowie die Produktion von Lipidmediatoren und Sauerstoffradikalen, verstärkt unter Umständen die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke oder des Parenchyms. (KOCHANNEK PM et al 1992)

Welche Rolle die Leukozyten und Monozyten bei der Verstärkung ischämischer Schädigung des Gehirns spielen, ist noch nicht abschließend geklärt.

Die durch den Einsatz der EKZ stimulierte Produktion der Zytokine könnte jedoch die möglichen negativen Effekte weiter verstärken.

#### **4.2.2.3 Nicht-pulsatiler Blutfluss**

Der Blutfluss wird von der Pumpe unseres Kreislaufes kontinuierlich gehalten. Das Herz erzeugt in vivo einen pulsatilen Fluss. Somit entspricht das Modell nicht ganz den physiologischen Bedingungen, die normalerweise in einer Ratte bestehen.

Die Absorptionskinetik der Luftblasen kann durch den linearen Fluss beeinträchtigt und somit die Auswirkung der Embolie verändert worden sein. Ähnliches gilt für die Ausprägung kollateraler Kreisläufe. Die Bedeutung dieser Parameter für die Resultate des Versuches kann schwer abgeschätzt werden.

#### **4.2.3 Kein Einfluss von Xenon auf die untersuchten Parameter**

Das Edelgas Xenon wirkte sich nicht auf Überleben, Neurologie oder Histologie aus. Xenon wurde in dieser Studie wegen seiner bekannten neuroprotektiven Effekte untersucht. Sowohl in vitro-, als auch in vivo-Studien wiesen diese Eigenschaft nach. Es wurde gezeigt, dass es das Potential besitzt im Mäuseversuch neurologisches und histologisches Ergebnis nach transientser fokaler Ischämie des Gehirns zu verbessern (HOMI HM et al 2003), sowie die neurologische Beeinträchtigung durch EKZ bei einem Rattenmodell zu reduzieren. (MA D et al 2003) Der Einsatz Xenons im kardiochirurgischen Bereich wurde in letzter Zeit wieder vermehrt erforscht. In anderen Bereichen der Chirurgie wird die Anwendung bereits als sicher und effektiv empfunden, so dass die klinische Kombination von Xenon und EKZ den nächsten Schritt darstellt. Eine klinische Studie hierzu wurde 2006 von Lockwood



veröffentlicht. 16 Patienten, die einen koronaren Bypass wurden erfolgreich mit Xenon, während der EKZ behandelt. (LOCKWOOD GG et al 2006)

Die vielfachen positiven Eigenschaften des Gases, wie stabile Hämodynamik und Umweltverträglichkeit, werden jedoch von den zumindest in der Theorie unwiderlegbaren Nachteilen überschattet. Neben den hohen Kosten und der Notwendigkeit für spezielles Equipment, wie ein geschlossenes Kreislaufsystem, ist dies wohl vor allem die potentielle Vergrößerung gasgefüllter Blasen, wie sie vor allem im herzchirurgischen Bereich beim Einsatz der EKZ im Oxygenator gebildet werden können. Dieses Risiko ist bedingt durch den niedrigen Löslichkeitskoeffizienten Xenons. Das gut untersuchte Lachgas ist mit einem Blut/Gas-Verteilungskoeffizienten von 0,41 dafür bekannt, dass es sehr schnell vor allem luftgefüllte Blasen vergrößert; Xenons Blut/Gas-Verteilungskoeffizient liegt mit 0,12-0,14 (je nach Literatur) sogar noch niedriger. Daher sollte zumindest theoretisch die Vergrößerung durch das Edelgas schneller von statten gehen. (LOCKWOOD et al 2002)

In vitro-Studien zeigten jedoch, dass Xenon Luftbläschen vergrößert, allerdings nicht schneller als N<sub>2</sub>O. (LOCKWOOD et al 2002)

Grocott et al. veröffentlichten 2005 eine Studie die sich mit dem Vergleich des Effekts von Xenon, Lachgas und Stickstoff auf Luftbläschen beschäftigt. Sie setzten ein in vivo-EKZ-Model ein, in seinen Grundzügen das gleiche wie in dieser Doktorarbeit, jedoch ohne eine Ratte an die EKZ anzuschließen. Nur der Kreislauf wurde untersucht. (GROCOTT HP et al 2005)

Die Luftbläschen wurden allerdings nicht einem echten vaskulären Bett ausgesetzt und wurden im venösen Ausflusstrakt des Kreislaufs sowohl gebildet, als auch gemessen. In unserem Versuch injizierten wir die Blasen direkt arteriell. In der Klinik sind arterielle Emboli als viel gefährlicher und schwerwiegender in ihren Komplikationen anzusehen als venöse.

#### **4.2.3.1 Blasenexpansion versus neuroprotektives Potential**

Grocott et al fanden die bereits in 1.2.2.1.3 beschriebenen Verhältnisse: Xenon führte zu einer geringer ausgeprägten Vergrößerung als Lachgas (Xenon  $17 \pm 6\%$ , Lachgas  $63 \pm 23\%$ ).

Es stellt sich also die Frage, wie viel Expansion der Luftblase noch tolerierbar ist bevor sie sich negativ auswirkt. Wenn 63% bei Lachgas zu viel bedeutet, sind 17% bei Xenon noch akzeptabel?

Grocott stellt fest, dass es durchaus möglich ist das Risiko der ZLE durch den Edelgaseinsatz zu erhöhen. Diese potentielle Schädigung muss gegen die neuroprotektiven Fähigkeiten Xenons abgewogen werden. Er sieht durchaus eine Chance, dass sich die beiden Effekte ausgleichen. (GROCOTT HP et al 2005)

Die Ergebnisse unserer Studie scheinen dies teilweise zu unterstützen.

So zeigte sich keine Verschlechterung der untersuchten Parameter, allerdings auch keine Besserung. Aus einem anderen Blickwinkel betrachtet scheint also das Ausmaß der Blasenexpansion die positiven Effekte des neuroprotektiven Potentials völlig ausgelöscht zu haben. Der Einsatz von Xenon bringt letztendlich laut unseren Ergebnissen keinen Vorteil. Zieht man die bereits genannten Nachteile wieder in Betracht, scheint eine klinische Anwendung im Rahmen der EKZ nicht empfehlenswert.

#### **4.2.3.2 Ausblick**

Basierend auf den Ergebnissen dieser Dosisfindungsstudie wurde eine weitere Studie zur Untersuchung der Neuroprotektion durch Xenon durchgeführt. Hierbei wurden definierte Embolien von 0,3  $\mu$ l in dem gleichen EKZ-Modell wie in dieser Studie injiziert. Die Versuchsratten wurden über einen längeren Zeitraum als nur eine Woche postoperativ beobachtet und neurologisch, sowie neurokognitiv getestet.

Xenon zeigte wieder keine Auswirkungen auf die neurologische Funktion. Allerdings waren Kognition und auch histologisches Ergebnis 14 Tage nach ZLE und EKZ mit Xenon beeinträchtigt. (JUNGWIRTH B et al 2006)

## **5 Abschließende Betrachtung**

In dieser Studie wird ein zuverlässiges Modell der Erforschung zerebraler Luftembolien während des Einsatzes der extrakorporalen Zirkulation beschrieben.

Die Dosisfindungsstudie zeigte unterschiedliche Ergebnisse auf neurologischer und histologischer Ebene, sowie in Betrachtung des Überlebens der Versuchstiere:

EKZ verursacht eine deutliche Verschlechterung in allen drei betrachteten Zielparametern im Vergleich zu den Sham-Gruppen. Signifikant größere Volumina der Luftbläschen konnten ohne die EKZ toleriert werden.

Die Resultate dieser Studie scheinen zu implizieren, dass der Einsatz des Edelgases Xenons keine Auswirkung auf das Ergebnis hat. Ob sich diese Behauptung aufrechterhalten lässt, muss in zukünftigen Versuchen weiter untersucht und geklärt werden.

## 6 Zusammenfassung

### Hintergrund:

Der demografische Wandel mit einer Zunahme älterer Patienten mit kardialen und neurologischen Vorerkrankungen bedingt eine Zunahme schwerwiegender Komplikationen. Viele dieser sind neurologischer Natur und verursacht durch Mikroembolien perioperativ. Intraoperative Neuroprotektion ist ein Ziel der Wissenschaft. Xenon scheint durch seine Eigenschaften ein perfektes Narkosegas zu sein, mit welchem eine Neuroprotektion intraoperativ gelingen könnte. Bislang gab es kein Tiermodell mit dem der Einfluss von Xenonanästhesie und zerebralen Luftembolien gemeinsam untersucht werden konnte. In dieser Doktorarbeit wird ein zuverlässig funktionierendes Kleintiermodell vorgestellt. Der Versuchsaufbau wird benutzt, um in einer Dosisfindungsstudie die Embolusgröße zu bestimmen bei der eine neurologische Beeinträchtigung eines Versuchstieres während extrakorporaler Zirkulation und Xenonanästhesie eintritt und ein Überleben des Versuchstieres gewährleistet bleibt.

### Methoden:

Nach Prüfung des Versuchsaufbaus durch eine Ethikkommission (Regierung Oberbayern), wurden 60 männliche, 10 Wochen alte Sprague-Dawley Ratten (Charles River Laboratories, Kisslegg, Deutschland) mit einem Gewicht von  $375\text{g} \pm 36\text{g}$ , in vier Gruppen ( $n=15$ ) aufgeteilt.

Alle erfuhren die gleiche Präparation zur Vorbereitung für die EKZ und Applikation der ZLE (zerebralen Luftembolie), jedoch nur zwei Gruppen wurden tatsächlich der EKZ zugeführt, die anderen beiden dienten als Sham-Gruppe und erhielten nur ZLE ohne EKZ.

Des Weiteren wurden Subgruppierungen in jeweils eine Xenon- (56% Xenon, 5%  $\text{N}_2$ , 34%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$ ) und eine Stickstoff- (61%  $\text{N}_2$ , 34%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$ ) Gruppe vorgenommen. Somit entstanden zwei Hauptgruppen (EKZ + ZLE oder Sham) mit je zwei Untergruppen (Xenon oder Stickstoff).

Alle 7 Tage überlebenden Tiere wurden postoperativ einer standardisierten neurologischen Testung unterzogen. Anschließend erfolgte die Euthanasie mit anschließender histologischer Untersuchung der Infarktvolumina.

### Ergebnisse:

26 der 60 Ratten überlebten die vollen 7 Tage. Eine Embolusgröße von  $0,5 \mu\text{l}$  wurde hierbei von den Versuchstieren überlebt, wobei eine neurologische Beeinträchtigung

nachgewiesen werden konnte. Für weiterführende Untersuchungen konnten 0,3 µl große Emboli empfohlen werden. Die statistischen Analysen konnten keinen neuroprotektiven Vorteil von Xenonanästhesie nachweisen. Mit zunehmender Embolusgröße, stieg das Ausmaß der neurologischen Beeinträchtigung bis zur letalen Schädigung und das histologisch nachgewiesene Infarktvolumen nahm zu. Für die EKZ-Gruppen traten bereits bei deutlich geringeren Embolusgrößen neurologische Symptome auf.

Kurzzusammenfassung:

60 männliche Sprague-Dawley Ratten wurden an eine extrakorporale Zirkulation angeschlossen. Alle Tiere wurden auf die gleiche Weise mit einem arteriellen Katheter versehen, über den intrazerebrale Luftembolien unterschiedlicher Volumina injiziert wurden. Der Versuchsaufbau diente zur Findung der Dosis, bei der eine messbare neurologische Schädigungen in einem standardisiertem Test nachweisbar wurde. Überlebende Tiere wurden auf motorische und sensorische Defizite in Abhängigkeit von der Luftembolusgröße getestet. Zusätzlich wurde der Einfluss von Xenon als inhalatives Anästhetikum auf das neurologische Ergebnis überprüft. Hier konnte kein neuroprotektiver Einfluss nachgewiesen werden. Für weiterführende Studien konnte eine Empfehlung zur Embolusgröße von 0,3 µl ausgesprochen werden.

Abstract:

60 male Sprague-Dawley rats were connected to cardiopulmonary bypass. All animals were prepared with an intraarterial catheter, which we used to instill different sizes of intracerebral air emboli. The setup was designed to determine the dose of air, that causes a measurable neurological impairment in a standardised examination. Surviving rats were examined regarding motoric and sensoric deficits caused by increasing sizes of air emboli. In addition the influence of Xenon as inhalative anaesthetic was evaluated. No neuroprotective advantage could be found. The results show that an embolus size of 0,3 µl is suitable for further research.

## 7 Literaturverzeichnis

ALEXANDER B, AL ANI H

Prolonged partial cardiopulmonary bypass in rats

J Surg Res 1983; 35:28-34

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

Effects of MK-801 and NBQX on acute recovery of piglet cerebral metabolism after  
hypothermic circulatory arrest

J Cereb Blood Flow Metab 1994; 14: 156-65

ARROWSMITH JE, GROCOTT HP, NEWMAN MF

Neurologic risk assesment, monitoring and outcome in cardiac surgery

J Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 13/6: 736-743

ARROWSMITH J, HARRISON M, NEWMAN S, STYGALL J, TIMBERLAKE N,  
PUGSLEY W

Neuroprotection of the brain during cardiopulmonary bypass. A randomized trial of  
remacemide during coronary artery bypass in 171 patients

Stroke 1998; 29: 2357-62

ASTRUP J, SYMON L, BRANSTON NM, LASSEN LAI

Cortical evoked potential and extracellular K<sup>+</sup> and H<sup>+</sup> at critical levels of brain  
ischemia

Stroke 1977; 8: 51-7

BALLAUX PKEW, GOURLAY T, RATNATUNGA CP, TAYLOR KM

A literature review of cardiopulmonary bypass models for rats

Perfusion 1999; 14: 411-17

BARBUT D, LO Y-W, HARTMANN GS, YAO FS, TRIFILETTI RR, HAGER DN,  
HINTON RB, GOLD JP, ISOM OW

Aortic atheroma is related to outcome but not numbers of emboli during coronary bypass

Ann Thorac Surg 1997, 64: 454-9

BARONE FC, PRICE WJ, WHITE RF, WILLETTE RN, FEUERSTEIN GZ

Genetic hypertension and increased susceptibility to cerebral ischemia

Neurosci Biobehav Rev 1992; 16:219-33

BARTLETT RH, ANDREWS AF, TOOMASIAN JM, HAIDUC NJ, GAZZANIGA A

Extracorporeal membrane oxygenation for newborn respiratory failure: forty-five cases

Surgery 1982; 92: 425-33

BLAUTH CI, COSGROVE DM, WEBB BW, RATLIFF NB, BOYLAN M, PIEDMONTE MR, LYTE BW, LOOP FD

Atheroembolism from the ascending aorta

J Thorac Cardiovasc Surg 1992, 103: 1104-1112

BORGER MA, PENISTON CM, WEISEL RD, VASILIOU M, GREEN REA, FEINDEL CM

Neuropsychologic impairment after coronary bypass surgery: effect of gaseous microemboli during perfusionist interventions

J Thorac Cardiovasc Surg 2001; 121: 743-9

BOUCHER JK, RUDY LW, EDMUNDS LH

Organ blood flow during pulsatile cardiopulmonary bypass

J Appl Physiology 1974; 36: 86-90

BROOKER RF, BROWN WR, MOODY DH, HAMMON JW, Jr., REBOUSSIN DM, DEAL DD, GHAZI-BIRRY HS, STUMP DA

Cardiotomy suction: a major source of brain lipid emboli during cardiopulmonary bypass

Ann Thorac Surg 1998; 65: 1651-5



BÜCH HP, BÜCH U

Narkotika, 2001, in: FORTH HENSCHLER RUMMEL (Hrsg.) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2001, 8. Auflage, S. 293

BUTTERWORTH J, LEGAULT C, STUMP DA, COKER L, HAMMON JW, Jr., TROOST BT, ROYSTER RL, PROUGH DS

A randomised, blinded trial of the antioxidant pegogortein: no reduction in neuropsychological deficits, inotropic drug support, or myocardial ischemia after coronary artery bypass surgery

J Cardiothorac Vasc Anesth 1999; 13: 690-4

CARLSEN JM

Etablierung eines neuen Modells an der Ratte mit extrakorporaler Zirkulation und zerebralen Luftembolien wobei der Einfluss von Xenon auf neuropsychologische Leistungsfähigkeit und Mortalität mit untersucht werden soll

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Tiermedizinischen Doktorwürde an der Tiermedizinischen Fakultät der LMU München 2005

CHAN P

Role of oxidants in ischemic brain damage

Stroke 1996; 27: 1124-1129

COMBS DJ, D'ALECY LG

Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol

Stroke 1987; 18:503-11

DAVILA-ROMAN VG, BARZILAI B, WAREING TH, MURPHY SF, KOUCHOUKOS NT

Intraoperative ultrasonographic evaluation of the ascending aorta in 100 consecutive patients undergoing cardiac surgery

Circulation 1991; 84: 47-53

DIRNAGL U, IADECOLA C, MOSKOWITZ M

Pathobiology for ischemic stroke: an integrated view

TINS 1999; 22: 391-97

FABIAN R, DeWITT D, KENT T

In vivo detection of superoxide anion production by the brain using a cytochrome c electrode

J Cerebr Blood Metabol 1995; 15: 242-47

FOX HM, RISSO ND, GIFFORD S

Psychological observations of patients undergoing mitral surgery

Psychosomat Med 1954; 16: 186-208

FOX LS, BLACKSTONE EH, KIRKLIN JW, STEWART RW, SAMUELSON PN

Relationship of whole-body oxygen consumption to perfusion flow rate during hypothermic cardiopulmonary bypass

J Cardiovasc Surg 1982; 83: 239-48

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

How does xenon produce anaesthesia?

Nature 396, 324 (26 November 1998) | doi:10.1038/24525

FURLOW TW, Jr.

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

Stroke 1982; 13/6: 847-852

GIBBON J H

Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery

Minn Med 1954; 37: 1771-85

GRIGORE A, AMORY D, WHITE W, GERHARDT M, SMITH P, SCHWINN D, NEWMAN M

Beta blockade and neurological outcome in cardiac surgery

Anaest Analg (abstract) 1999; 88: SCA89

GERMANO AF, DIXON CE, D'AVELLA D, HAYES RL, TOMASELLO F  
Behavioral deficits following experimental subarachnoid hemorrhage in the rat  
J Neurotrauma 1994; 11:345-53

GIONET TX, THOMAS JD, WARNER DS, GOODLETT CR, WASSERMAN EA,  
WEST JR  
Forebrain ischemia induces selective behavioral impairments associated with  
hippocampal injury in rats  
Stroke 1991; 22:1040-7

GROCOTT HP, MACKENSEN GB, GRIGORE AM, MATHEW J, REVES JG,  
PHILLIPS-BUTE B, SMITH PK, NEWMAN MF  
Postoperative Hyperthermia Is Associated With Cognitive Dysfunction After Coronary  
Artery Bypass Graft Surgery  
Stroke 2002;33:537

GROCOTT HP, MACKENSEN GB  
A recovery model of cardiopulmonary bypass in the rat  
Perfusion 2001; 16: 75-81

GROCOTT HP, SATO Y, HOMI HM, SMITH BE  
The influence of xenon, nitrous oxide and nitrogen on gas bubble expansion during  
cardiopulmonary bypass  
European J of Anaesthesiology 2005; 22: 353-58

HARKEN AH  
The influence of pulsatile perfusion on oxygen uptake by the isolated canine hind  
limb  
J Thorac Cardiovasc Surg 1975; 70: 237-41

HELPS SC, MEYER-WITTING M, REILLY PL, GORMAN DF  
Increasing doses of intracarotid air and cerebral blood flow in rabbits

Stroke 1990; 21:1340-5

HINDMANN BJ, DEXTER F, SUBIETA A, SMITH T, CUTKOMP J

Brain injury after cerebral arterial air embolism in the rabbit as determined by triphenyltetrazolium staining

Anaesthesiology 1999; 90: 1462-73

HINDMANN BJ, DEXTER F, ENOMOTO S, SUBIETA A, SMITH T, CUTKOMP J

Recovery of evoked potential amplitude after cerebral arterial air embolism in the rabbit

Anesthesiology 1998; 88: 696-707

HINDMAN BJ, DEXTER F, ENOMOTO S, SUBIETA A, SMITH T, CUTKOMP J

Recovery of evoked potential amplitude after cerebral arterial air embolism in the rabbit: a comparison of the effect of cardiopulmonary bypass with normal circulation

Anesthesiology 1998; 88: 696-707

HOMI HM, YOKOO N, MA D, WARNER DS, FRANKS NP, MAZE M, GROCOTT HP

The neuroprotective effect of xenon administration during transient middle cerebral artery occlusion in mice

Anesthesiology 2003; 99:876-81

HOSSMAN K-A

Periinfarct depolarizations

Cerebrovasc Brain Met Rev 1996; 8: 195-208

JUNGWIRTH B, KELLERMANN K, BLOBNER M, SCHMEHL W, KOCHS EF, MACKENSEN GB

Cerebral air emboli differentially alter outcome after cardiopulmonary bypass in rat compared with non circulation

Anesthesiology 2007; 107:768-75

JUNGWIRTH B, KOCHS E, MACKENSEN G

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

Anesth Analg 2003; SCA 72

JUNGWIRTH B, MACKENSEN GB, BLOBNER M, NEFF F, REICHART B, KOCHS EF, NOLLERT G

Neurologic outcome after cardiopulmonary bypass with deep hypothermic circulatory arrest in rats: description of a new model

J Thorac Cardiovasc Surg 2006; 131: 805-12

KATZ ES, TUNICK PA, RUSINEK H, RIBAKOVE G, SPENCER FC, KRONZON I

Protruding aortic aneurysms predict stroke in elderly patients undergoing cardiopulmonary bypass: experience with intraoperative transesophageal cardiography

J Am Coll Cardiol 1992, 20: 70-77

KOCHANEK PM, HALLENBECK JM

Polymorphonuclear leukocytes and monocytes/macrophages in the pathogenesis of cerebral ischemia and stroke

Stroke 1992; 23: 1367-1379

KRISTIAN T, SIESJO B

Calcium in ischemic cell death

Stroke 1998; 29: 705-18

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

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

Lancet 1990; 335: 1413-1415

LAFFEY JG, BOYLAN JF, CHENG DC.

The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist.

Anesthesiology. 2002 Jul;97(1):215-52.

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

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

Stroke 1996; 27: 593-598

LOCKWOOD G

Expansion of air bubbles in aqueous solutions of nitrous oxide or xenon

Brit J of Anaesth 2002; 89/2: 282-6

LOCKWOOD GG, FRANKS NP, DOWNIE NA, TAYLOR KM, MAZE M

Feasibility and safety of delivering xenon to patients undergoing coronary artery bypass graft surgery while on cardiopulmonary bypass: phase I study.

Anesthesiology. 2006; 104(3):458-65

LASCINSKAS FW, CYBULSKY MI, KIELY JM, PECKINS CS DAVIS VM, GIMBRONE MA

Cytokine-activated human endothelial monolayers support enhanced neutrophil transmigration via a mechanism involving both endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 and intracellular adhesion molecule-1

J Immunolog 1991; 146:1617-1625

LUTTROP H, ROMNER B, PERHAG L, ESKILSSON J, FREDRIKSEN S, WERNER O

Left ventricular performance and cerebral haemodynamics during xenon anaesthesia. A transoesophagealechocariography and transcranial doppler sonography study

Anaesthesia 1993; 48: 1045-1049

LYETH BG, JIANG JY, LIU S

Behavioral protection by moderate hypothermia initiated after experimental traumatic brain injury

J Neurotrauma 1993; 10:57-64

LYNCH C III, BAUM J, TENBRINCK R

Xenon anaesthesia

Anaesthesiology 2000; 92: 865-70

MA D, WILHELM S, MAZE M, FRANKS NP

Neuroprotective and neurotoxic properties of the 'inert' gas, xenon

Brit J of Anaesth 2002; 89/5: 739-46

MA D, YANG H, LYNCH J, FRANKS NP, MAZE M, GROCOTT HP

Xenon attenuates cardiopulmonary bypass-induced neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat

Anesthesiology 2003; 98: 690-8

MATHEW JP, GROCOTT HP, PHILLIPS-MUTE B, STAFFORD-SMITH M, LASKOWITZ DT, ROSSIGNOL D, BLUMENTHAL JA, NEWMAN MF

Lower endotoxin immunity predicts increased cognitive dysfunction in elderly patients after cardiac surgery

Stroke 2003; 34: 508-513

MACKENSEN GB, SATO Y, NELLGÅRD B, PINEDA J, NEWMAN MF, WARNER DS, GROCOTT HP

Cardiopulmonary bypass induces neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat

Anesthesiology 2001; 95: 1485-91

MANGANO DT, TUDOR IC, DIETZEL C

The risk associated with aprotinin in cardiac surgery

N Engl J Med. 2006 Jan 26;354(4):353-65.

MITCHELL SJ, PELLET O, GORMAN D

Cerebral protection by lidocaine during cardiac operations

Ann Thorac Surg 1999; 67: 1117-24

MITCHELL SJ, MERRY AF, FRAMPTON C, DAVIES E, GRIEVE D, MILLS BP, WEBSTER CS, MILSOM FP, WILLCOX TW, GORMAN DF.

Cerebral protection by lidocaine during cardiac operations: a follow-up study.

Ann Thorac Surg. 2009 Mar;87(3):820-5.

MUTH CM, SHANK ES

Gas embolism

The New England J of Med 2000; 342/7: 476-482

NEWMANN MF, CROUGHWELL ND, BLUMENTHAL JA, WHITE WD, LEWIS JB, SMITH LR, FRASCO P, TOWNER EA, SCHELL RM, HURWITZ BJ, REVES JG

Effect of aging on cerebral autoregulation during cardiopulmonary bypass; association with postoperativ cognitive dysfunction

Circulation 1994; Vol 90, No 5, Part 2: 243-249

NUSSMEIER NA, ARLUND C, SLOGOFF S

Neuropsychiatric complications after cardiopulmonary bypass: cerebral protection by a barbiturate

Anaesthesiology 1986: 64:165-170

PAHOR M, GURALNIK J, FURBERG C, CARBONIN P, HAVLIK P

Risk of gastrointestinal haemorrhage with calcium antagonists in hypertensive persons over 67 years old

Lancet 1996; 347: 1061-65

PASCOE E, HUDSON R, ANDERSON B, KASSUM D, SHANKS A, ROSENBLOOM M, THOMSON I

High-dose thiopentone for open-chamber cardiac surgery: a retrospective review

Can J Anaesth 1996; 43:575-9

PETERS O, BACK T, LINDAUER U, BUSCH C, MEGOW D, DREIER J, DIRNAGL U

Increased formation of reactive oxygen species after permanent and reversible middle cerebral artery occlusion in the rat

J Cereb Blood Flow Metabol 1998; 18: 196-205



PETZELT C, BLOM P, SCHMEHL W, MÜLLER J, KOX WJ

Prevention of neurotoxicity in hypoxic cortical neurons by the noble gas xenon

Life science 2003; 72: 1909-18

PLESTIS KA, GOLD JP

Importance of blood pressure regulation in maintaining adequate tissue perfusion during cardiopulmonary bypass

Semin Thorac Cardiovasc Surg 2001; 13(2): 170-5

POPOVIC P, HORECKY J, POPOVIC VP

Circulation extracorporelle chez le rat blanc en hypothermie

J Physiol Paris 1966; 58: 594

POPOVIC P, HORECKY J, POPOVIC VP

Hypothermic cardiopulmonary bypass in white rats

Ann Surg 1968; 168: 298-301

PROCTOR E

An oxygenator for cardiopulmonary bypass in the rat

J Surg Res 1977; 22: 124-27

PROCTOR E

Partial and total circulatory support in the rat using a small heart-lung machine

J Physiol Lond 1978; 281: 8-10

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

Microemboli and cerebral impairment during cardiac surgery

Ann Meeting of the Int Coll of Angiology, Amsterdam, The Netherlands, 1988

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

Impact of microemboli during cardiopulmonary bypass on neuropsychological functioning

Stroke 1994, 25/7: 1393-1399

PLOUGHMAN J, ASTRUP J, PEDERSEN J, GYLDENSTED C

Effect of stable Xenon inhalation on intracranial pressure during measurement of cerebral blood flow in head injury

J Neurosurg 1994; 81: 822-28

REASONER D, HINDMAN B, DEXTER F, SUBIETA A, CUTKOMP J, SMITH T  
Doxycycline reduces early neurologic impairment after cerebral arterial air embolism in the rabbit

Anesthesiology 1997; 87: 569-576

REPLOGE RL, GROSS RE

Renal function during extracorporeal circulation

J Surg Res 1961; 1: 91-6, 1961

REYLE-HAHN M, ROSSAINT R

Xenon – ein neues Anästhetikum

Anäthesist 2000; 49: 869-874

ROACH G, NEWMAN M, MURKIN J, MARZTKE J, RUSKIN A, LI J, GUO A, WISNIEWSKI A, MANGANO D

Ineffectiveness of burst suppression therapy in mitigating perioperative cerebrovascular dysfunction

Anaesthesiology 1999; 90: 1255-64

ROACH GW, KANCHUGER M, MANGANO CM, NEWMAN M

Adverse cerebral outcome after coronary bypass surgery

The New England Journal of Medicine 1996; 25: 1857-1864

SANDERS RS, FRANKS NP, MAZE M

Xenon: no stranger to anaesthesia

Brit J of Anaesthesia 2003; 91(5): 709-17

SASAKI S, TAKIGAMI K, SHIYA N, YASUDA K

Partial cardiopulmonary bypass in rats for evaluating ischemia-reperfusion injury

ASAIO J 1996; 42:1027-30

SHANN KG, LIKOSKY DS, MURKIN JM, BAKER RA, BARIBEAU YR, DEFOE GR, DICKINSON TA, GARDNER TJ, GROCOTT HP, O'CONNOR GT, ROSINSKI DJ, SELLKE FW, WILCOX TW.

An evidence-based review of the practice of cardiopulmonary bypass in adults: a focus on neurologic injury, glycemic control, hemodilution, and the inflammatory response.

J Thorac Cardiovasc Surg. 2006 Aug;132(2):283-90.

SPRINGER TA

Adhesion receptors of the immunesystem

Nature 1990; 346:425-434

SPRINGER TA, LASKY LA

Sticky sugars for selectins

Nature 1991; 349:196-197

STA MARIA N, ECKMANN DM

Model predictions of gas embolism growth and reabsorption during xenon anesthesia

Anesthesiology 2003; 99: 638-45

STAHL W, HANDSCHUH T, CALZIA E, MARX T, RADEMACHER P, GEORGIEFF M  
Arterial oxygen pressures during norous oxide and xenon elemination

Crit Care 1998; 2: 108

STARKE K

Grundlagen der Pharmakologie des Nervensystems, 2001, in: FORTH HENSCHLER RUMMEL (Hrsg.) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2001, 8. Auflage, S. 133

STEEN P, NEWBERG L, MILDE J, MICHENFELDER J

Nimodipine improves cerebral blood flow and neurologic recovery after complete cerebral ischemia in the dog

J Cereb Blood Flow Metab 1983

SUBRAMANIAN V, McLEOD J, GANS H

Effect of extracorporeal circulation on reticuloendothelial function. I. Experimental evidence for impaired reticuloendothelial function following cardiopulmonary bypass in rats

Surgery 1968; 64:775-84

TARHAN S, MOFFIT EA

Anaesthesia and supportive care during and after cardiac surgery

Ann Thorac Surg 1971; 11: 64-89

TAYLOR KM

Brain damage during cardiopulmonary bypass

Ann Thorac Surg 1998; 65: 20-26

TAYLOR KM

Cardiac surgery and the brain, in: SMITH P, TAYLOR KM, eds.: Cardiac surgery and the brain. London: Edward Arnold 1993;1-14

TRIGGIANI E, COPPOLA M, NIGRO R, NAPOLI V, BELLINI O

La circolazione extracorporea nel ratto. Aspetti tecnici

Boll Soc Ital Biol Sper 1970;46:998-1001

TUMAN KJ, McCARTHY RJ, NAJAFI H, IVANKOVICH AD

Differential effects of advanced age on neurologic and cardiac risks of coronary artery operations

J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 104: 1510-1517

TUPPER DE, WALLACE RB

Utility of the neurological examination in rats

Acta Neurobiol Exp (Wars) 1980; 40:999-1003

VAN DIJK D, KEIZER AMA, DIEPHUIS JC, DURAND C, VOS LJ, HIJMAN R

Neurocognitive dysfunction after coronary artery bypass surgery: a systematic review

J Thorac Cardiovasc Surg 2000; 120: 632-9

VASKO JS, DEARING JP

Techniques of cardiopulmonary perfusion

Cardiac Surgery New York: Appleton-Century-Crofts 1972; 115-23

WEHBERG KE, FOSTER AH, WISE RM, McLAUGHLIN JS, BRUNNER MJ

Nitric oxide mediates fluid accumulation during cardiopulmonary bypass

J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 112:168-74

WESTABY S, SAATVEDT K, WHITE S, KATSUMATA T, VAN OEVEREN W,  
HALLIGAN PW

Is there a relationship between cognitive dysfunction and systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass

Ann Thorac Surg 2001; 71: 667-72

WILHELM S, MA D, MAZE M, FRANKS NP

Effects of xenon on in vitro und in vivo models of neuronal injury

Anesthesiology 2002; 96: 1485-91

YAO LP, BANDRES J, NEMOTO EM, BOSTON JR, DARBY JM, YONAS H

Effect of 33 % Xe inhalation on whole-brain blood flow in awake and fentanyl-anesthetized monkeys

Stroke 1992; 23: 69-74

YAO LP, NEMOTO EM, BOSTON JR, YONAS H

Effect of 80 % Xe on whole blood flow and metabolism in awake monkeys

J Neurosurg Anesthesiol 1992; 4: 268-271

ZAIDAN J, KLOCHANY A, MARTIN W, ZIEGLERJ, HARLESS D, ANDREWS D

Effect of Thiopental on neurologic outcome following coronary artery bypass grafting

Anaesthesiology 1991; 74:406-411

ZUCCALA G, PAHOR M, LANDI F, GASPARINI G, PAGANO F, CARBONIN P  
COCCHI A

Use of calcium antagonists and need for perioperative transfusions in older patients  
with hip fracture

Brit Med J 1997; 314: 643-4

## 8 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
atm	Athmosphäre
ATP	Adenosintriphosphat
BGA	Blutgasanalyse
bzw	beziehungsweise
CEA	Karotis Endarteriektomie
EKG	Elektrokardiogramm
EKZ	extrakorporale Zirkulation
CBF	zerebraler Blutfluß
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
dl	Deziliter
etc	et cetera
DNS	Desoxyribonukleinsäure
g	Gramm
GABA	$\gamma$ -amino-benzoe-Säure
h	Stunde
HAES	Hydroxyethylstärke
Hb	Hämoglobin
HE	Hematoxilin/Eosin
HLM	Herzlungenmaschine
HZV	Herzzeitvolumen
ICAM	intrazelluläre Adhensions Moleküle
IL	Interleukin
IU	internationale Einheiten
i.v.	intra venös
kg	Kilogramm
l	Liter
LDH	Laktatdehydrogenase
LFA	Lymphozyten-Funktionsassoziertes Antigen
MAC	minimale alveoläre Konzentration
m	Meter

Abkürzungsverzeichnis

MAP	mittlerer arterieller Druck
mg	Milligramm
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
Mio	Millionen
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
min	Minute
ml	Milliliter
NMDA	N-methyl-D-Aspartat
NOS	Stickoxid-Synthase
pH	Potentia Hydrogenii
PE	Polyethylen
s	Sekunde
SIRS	Systemische inflammatorische Reaktion
SSEP	somato-sensorisch evozierte Potentiale
TIA	transiente ischämische Attacke
TNF	Tumornekrosefaktor
TTC	Triphenyltertzolin
V.	Vena
Vol%	Volumenprozent
z.B.	zum Beispiel
ZLE	zerebrale Luftembolie
ZNS	zentrales Nervensystem



## 9 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1 Ratten im Wohnkäfig mit abgetrennter Testarena (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt) .....	45
Abbildung 2 Rollerpumpe mit Reservoir und Oxygenator (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt).....	51
Abbildung 3 Gesunde Ratte am gedrehten Gitter (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt).....	54
Abbildung 4 Gesunde Ratte auf dem Schwebebalken (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt).....	55
Abbildung 5 Gesunde Ratte beim Halte-Zug-Versuch mit Zeitmessung (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt) .....	56
Abbildung 6 Gesunde Ratte beim Klettern am 90° aufgestellten Gitter (Aufnahmen wurden durch die Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum rechts der Isar der TU München zur Verfügung gestellt) .....	58
Abbildung 7 HE-gefärbter Hirnschnitt: Infarkt im Kortex der rechten Hemisphäre gut erkennbar .....	62
Abbildung 8: TTC-gefärbte Hirnschnitte .....	63
Abbildung 9: Mortalität in Abhängigkeit von der verwendeten Luftemboliegröße für die EKZ bzw Sham Gruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ 95%iges Konfidenzintervall (siehe auch Parallelarbeit zu gleichem Versuchstierkollektiv CARLSEN J 2005).....	66

Abbildung 10: Neurologisches Defizit in Abhängigkeit von der verwendeten Luftemboliegröße für die EKZ bzw Sham Gruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall (modifiziert nach JUNGWIRTH B et al 2007) ..... 67

Abbildung 11: Sensorisches Defizit in Abhängigkeit von der verwendeten Luftemboliegröße für die EKZ bzw Sham Gruppe. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  95%iges Konfidenzintervall (modifiziert nach JUNGWIRTH B et al 2007) ..... 69

Abbildung 12 Infarktvolumen in Abhängigkeit vom Volumen der Luftembolien (modifiziert nach JUNGWIRTH B et al 2007) ..... 71

## 10 Danksagung

Ich danke Herrn Univ.-Prof. Dr. med., Dipl. Phys. E. Kochs für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit zur Durchführung der Doktorarbeit in seiner Abteilung.

Prof. Dr. med. G. Burkhard Mackensen für die Betreuung und wissenschaftliche Führung der Studie.

Größter Dank an Frau PD Dr. med. Bettina Jungwirth für ständigen Beistand bei der Durchführung der Versuche, intensive Betreuung bei der Erstellung der Arbeit und Korrekturlesen, sowie Verbesserung der ersten bis zur letzten Version.

Meinem Chef, Herrn Prof. Dr. med. B. Füchtmeier, für die unschätzbare Hilfe.

Meinem Vater, Dr. med. Reinhart Pfaud für die Durchsicht und Korrekturlesen der Arbeit, sowie seelische und moralische Unterstützung.

Frau Eleonore Reicheneder für Korrekturlesen und Anfeuerung.

Meiner gesamten Familie.

# 11 LEBENS LAUF

## PERSÖNLICHE DATEN

Geburtsdatum: 11. Oktober 1978 in Esslingen  
 Familienstand: ledig, keine Kinder  
 Staatsangehörigkeit: deutsch

## AUSBILDUNG

09/1989-06/1998 Hans-Carossa-Gymnasium Landshut, Abitur  
 03/2000-03/2002 Ludwig-Maximilian-Universität München  
 03/2002 Physikum (LMU München)  
 03/2002 Technische Universität München  
 03/2003 Erstes Staatsexamen, Note 3 (TU München)  
 04/2005 Zweites Staatsexamen, Note 2 (TU München)  
 10/2006 Drittes Staatsexamen, Note 1 (TU München)

## ARBEITSERFAHRUNG

### ZIVILDIENTST

08/1998-09/1999 Achdorfer Krankenhaus, Landshut, Abteilung für Anaesthesie

### FAMULATUREN

08/2002 Achdorfer Krankenhaus, Landshut, Kardiologie  
 08/2003 Klinikum Rechts der Isar, Anaesthesie  
 08/2004 Klinikum Rechts der Isar, Gefäßchirurgie  
 09/2004 Praxis für Orthopädie bei Dr. med. Markus Kaydel in München

### PRAKTISCHES JAHR

08-12/2005 G.F. Jooste Hospital, Kapstadt, Südafrika, Unfallchirurgie und Interdisziplinäre Notaufnahme  
 12/2005-04/2006 Wellington Hospital, Wellington, Neuseeland, Anaesthesie  
 04-08/2006 Rotkreuz-Krankenhaus, München, II. Med. Abteilung, Innere Medizin

AUSBILDUNG ZUM FACHARZT FÜR UNFALLCHIRURGIE UND ORTHOPÄDIE

03/2007	Krankenhaus der Barmherzigen Brüder Regensburg, Assistenzarzt in der Abteilung für Unfallchirurgie bei Prof. Dr. med. Rainer Neugebauer
06/2011	Krankenhaus der Barmherzigen Brüder Regensburg, Assistenzarzt in der Abteilung für Unfallchirurgie bei Prof. Dr. med. Bernd Füchtmeier
04/2014	Facharzt für Unfallchirurgie und Orthopädie