



Fakultät für Medizin
Klinik für Anaesthesiologie

**Geschlechtsunterschiede in primären und sekundären
Ischämieschäden nach einer experimentellen
Subarachnoidalblutung in einem Rattenmodell**

Vojtech Kadera

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. J. E. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. B. Jungwirth
2. Univ.-Prof. Dr. B. Meyer

Die Dissertation wurde am 19.02.2014 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 22.10.2014 angenommen.

gewidmet meinen Eltern

Zusammenfassung

Einleitung

Eine Subarachnoidalblutung (SAB) ist ein schwerwiegendes und lebensbedrohliches Ereignis mit stark eingeschränkten Therapiemöglichkeiten. Trotz des medizinisch-technischen Fortschritts der letzten Jahre sind ein Jahr nach SAB nur 30 % der Patienten ohne neurologische Folgen. Um dieses funktionelle Outcome der Patienten verbessern zu können, ist zunächst ein detailliertes Verständnis der pathophysiologischen Prozesse notwendig. Einer der dabei bisher wenig untersuchten Einflussfaktoren ist das Geschlecht. Da klinische Studien zu diesem Thema aufgrund vielfältiger Einflussfaktoren nur eingeschränkt aussagekräftig sind, haben wir die hier vorliegende tierexperimentelle Untersuchung durchgeführt.

Material und Methoden

Um den Einfluss des Geschlechts und der Geschlechtshormone differenzieren zu können, haben wir 4 Gruppen (Sprague-Dawley Ratten) untersucht: männlich scheinkastriert, männlich kastriert, weiblich scheinkastriert und weiblich kastriert. Bei den Tieren aller 4 Gruppen wurde eine Subarachnoidalblutung mit Hilfe des sog. *Fadenmodells nach Bederson* induziert. Dabei wird bei narkotisierten Ratten durch den extrakraniellen Abschnitt der Arteria carotis interna ein Faden eingeführt und das Gefäß intrakraniell perforiert. In Folge wurden folgende Parameter im Verlauf der SAB gemessen und aufgezeichnet: Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP), der intrakranielle Druck (ICP), der mit einem Laserdoppler bestimmte zerebrale Blutfluss (LD-Fluss) und verschiedene Parameter der Blutgasanalyse (Sauerstoff, Kohlendioxid, pH, Elektrolyte, etc.). Nach der erfolgreichen SAB Induktion wurden die überlebenden Tiere über 14 Tage postoperativ neurologisch sowie neurokognitiv getestet, an Tag 14 nach SAB euthanasiert, das Hirngewebe entnommen und histologisch untersucht.

Ergebnisse

Es konnten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in den physiologischen Parametern MAP, ICP, zerebraler Perfusionsdruck (CPP) und LD-Fluss beobachtet werden. Die Mortalität im Zusammenhang mit SAB und die Infarktvolumina waren ebenfalls zwischen allen 4 Gruppen vergleichbar. Lediglich der pH Wert der weiblich scheinkastrierten Tiere war tendenziell niedriger im Vergleich zu den männlichen Tieren. Zudem zeigen die weiblichen Tiere die höchste Anzahl an Gehirnfarkten im Vergleich zu den übrigen 4 Gruppen. Es konnte kein Zusammenhang zwischen den Geschlechtshormonen Östrogen, Progesteron und Testosteron und physiologischen Parametern wie MAP, ICP, CPP, LD, des Infarktvolumens und der Mortalität nachgewiesen werden. Das Hormon Progesteron zeigte eine Korrelation mit dem Parameter Infarktanzahl ($r=0,444$; $p<0,05$).

Die Parameter ICP, CPP und LD-Fluss, am stärksten dabei der LD-Fluss auf der zum Schaden ipsilateralen Seite, besitzen in unserem Modell einen prädiktiven Wert bezüglich der Mortalität nach SAB.

Schlussfolgerung

Unsere Daten stehen im Kontrast zu anderen tierexperimentellen Arbeiten, die im Zusammenhang mit SAB sowohl vasodilatierende als auch neuroprotektive Effekte für die weiblichen Geschlechtshormone beweisen konnten. Ein Grund für diese Diskrepanz kann sein, dass frühere Studien männlichen Versuchstieren weibliche Geschlechtshormone verabreicht haben und nicht wie wir weibliche Tiere untersucht haben. In der vorliegenden Studie könnte sich die Kombination der Hormone Östrogen und Progesteron ungünstig ausgewirkt haben. Eine weitere Ursache mag im Modell selbst liegen: Im Gegensatz zu den anderen Studien haben wir ein Modell gewählt, bei dem das Gefäßendothel verletzt wird, analog zu den im klinischen Bereich vorkommenden SABs. Durch die Verletzung des Endothels kommt es zu einer verstärkten Vasokonstriktion und folglich zu einer verstärkten Minderperfusion des Hirngewebes. Dieser umfangreiche ischämische Schaden wiegt schwerer als die protektive Wirkung der Geschlechtshormone.

Folglich werden zukünftige Untersuchungen notwendig sein, die die Progesteron- und Östrogenwirkungen getrennt voneinander untersuchen. Auf diese Weise kann die Bedeutung dieser Hormone im Zusammenhang mit SAB und die damit verbundene Pathophysiologie weiter aufgeklärt werden, um daraus Therapie-Optionen ableiten zu können.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	2
Inhaltsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis.....	7
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	9
1 Einleitung	11
1.1 Was ist SAB?.....	12
1.1.1 Frühe ischämische Schäden.....	12
1.1.2 Sekundäre ischämische Schäden	12
1.1.3 Therapie.....	13
1.2 Geschlechtsunterschiede in der Inzidenz einer SAB.....	14
1.2.1 Unterschiede in der Mortalität und Morbidität.....	14
1.2.2 Einfluss der Geschlechtshormone	15
1.3 Zusammenfassung	16
2 Material und Methoden	17
2.1 Versuchstiere	17
2.2 Versuchsdurchführung und Ablauf	18
2.2.1 Kastration	18
2.2.2 SAB Induktion.....	19
2.2.3 Prozedere bis zum 14. postoperativen Tag.....	25
2.2.4 Prozedere am 14. Tag.....	25
2.3 Histologische Untersuchung.....	25
2.4 Statistische Methoden und Auswertung	26
3 Ergebnisse	27
3.1 Gewicht.....	27
3.2 Geschlechtshormonspiegel	27
3.3 Temperatur	28
3.4 Glukose.....	29
3.5 Parameter der Blutgasanalyse.....	29
3.5.1 Hämoglobin, Hämatokrit	29
3.5.2 Arterieller Sauerstoffpartialdruck (pO ₂), Sauerstoffsättigung (SaO ₂) und Kohlendioxidpartialdruck (pCO ₂)	31

3.5.3	pH Wert, aktiviertes Bikarbonat (HCO_3^-) und Basenüberschuss („Base excess“, BE)	32
3.5.4	Natrium, Kalium und Kalzium	33
3.6	Mittlerer arterieller Blutdruck	35
3.7	Intrakranieller Druck (ICP) und zerebraler Perfusionsdruck (CPP).....	37
3.8	Laserdoppler-Fluss	39
3.9	Infarkt volumen und Infarktanzahl	42
3.10	Mortalität	45
3.11	Logistische Regression	47
4	Diskussion	49
4.1	Modell.....	49
4.2	Gewicht.....	50
4.3	Parameter der Blutgasanalyse.....	51
4.3.1	Blutzucker.....	51
4.3.2	Hämoglobin und Hämatokrit	52
4.3.3	Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck, pH, aktiviertes Bikarbonat und Basenüberschuss	53
4.4	Einfluss des Geschlechts und der Geschlechtshormone auf den Blutdruck	53
4.4.1	Östrogen	54
4.4.2	Progesteron	54
4.4.3	Testosteron	55
4.5	Intrakranieller Druck, Blutfluss und Gefäßreagibilität, Infarkt volumen und Mortalität	55
4.5.1	Antiödematöse Wirkung der Geschlechtshormone	57
4.5.2	Geschlechtshormone und zerebrale Vasodilatation.....	58
4.5.3	Einfluss des Geschlechts auf das Infarkt-Ausmaß	60
4.5.4	Einfluss des Geschlechts auf die Mortalität	63
4.6	Abschließende Betrachtung der Geschlechtseinflüsse	64
4.7	Prädiktoren des Todes	66
5	Fazit	67
	Literaturverzeichnis	68
	Danksagung	76

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Versuchsaufbau	17
Abbildung 2: Arbeitsplatz.....	24
Abbildung 3: Arbeitsplatz – Detail.....	24
Abbildung 4: Mittlerer arterieller Blutdruck	36
Abbildung 5: Intrakranieller Druck	38
Abbildung 6: Zerebraler Perfusionsdruck.....	39
Abbildung 7: Mit dem Laserdoppler gemessener zerebraler Blutfluss rechts.....	40
Abbildung 8: Mit dem Laserdoppler gemessener zerebraler Blutfluss links.....	41
Abbildung 9: Korrelation des Hormons Progesteron mit der Gesamtzahl der Infarkte	42
Abbildung 10: Das totale Infarkt volumen in den 4 Gruppen am Tag 14 nach SAB.....	43
Abbildung 11: Infarktanzahl in den 4 Gruppen am Tag 14 nach SAB.....	44
Abbildung 12: Flussdiagramm- Darstellung der Mortalität in den 4 Gruppen im Laufe des Versuches	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gewicht.....	27
Tabelle 2: Östrogen Serumspiegel.....	27
Tabelle 3: Progesteron Serumspiegel	28
Tabelle 4: Testosteron Serumspiegel.....	28
Tabelle 5: Perikranielle Temperatur	28
Tabelle 6: Serumglukosespiegel	29
Tabelle 7: Hämoglobin	30
Tabelle 8: Hämatokrit	30
Tabelle 9: Einfluss der Geschlechtshormone auf Hämoglobin und Hämatokrit	30
Tabelle 10: Sauerstoffpartialdruck.....	31
Tabelle 11: Sauerstoffsättigung	31
Tabelle 12: Kohlendioxidpartialdruck.....	31
Tabelle 13: pH Wert	32
Tabelle 14: aktiviertes Bikarbonat.....	32
Tabelle 15: Basenüberschuss	33
Tabelle 16: Einfluss der Geschlechtshormone auf pH, aktiviertes Bikarbonat und Basenüberschuss	33
Tabelle 17: Natrium	34
Tabelle 18: Kalium	34
Tabelle 19: Kalzium.....	34

Tabelle 20: Mittlerer arterieller Blutdruck.....	35
Tabelle 21: Noradrenalin; Gesamtdosis in 60 Minuten	36
Tabelle 22: Intrakranieller Druck	37
Tabelle 23: Zerebraler Perfusionsdruck.....	38
Tabelle 24: Laserdoppler-Fluss rechts	40
Tabelle 25: Laserdoppler-Fluss links.....	41
Tabelle 26: Totales Infarktvolumen.....	43
Tabelle 27: Infarktanzahl	44
Tabelle 28: Mortalität	45
Tabelle 29: Logistische Regression ausgewählter Parameter.....	48

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
BE	Basenüberschuss, Base excess
β_1, β_2	Regressionskoeffiziente einer linearen Regression
Bcl-2	Apoptose-regulierendes Protein
Ca ²⁺	Kalziumspiegel
CPP	zerebraler Perfusionsdruck
DMSO	Dimethyl Sulfoxid
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
Glu	Glukosespiegel
GR	Gruppe
HCO ³⁻	aktiviertes Bikarbonat
HE	Hämatoxylin-Eosin
HIF 1 α	Hypoxie-induzierter Faktor 1 α (hypoxia inducible faktor 1 α)
ICP	intrakranieller Druck
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
K ⁺	Kaliumspiegel
LD	Laserdoppler Fluss
LDli	Laserdoppler Fluss links
LDre	Laserdoppler Fluss rechts
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
MCAO	Rattenmodell der zerebralen Okklusion
mean0_60	Mittelwert der ersten 60 Minuten
mk	männlich kastriert
ms	männlich scheinkastriert
MW	Mittelwert
n	Anzahl an Probanden

Na ⁺	Natriumspiegel
NF-KappaB	Nukleärer Faktor KappaB
NO	Stickstoff-Monoxid
NOS 2	Stickstoffmonoxid Synthase 2
p	Signifikanz
P53	Protein 53, Zellzyklus-regulierendes Protein
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PVC	Polyvinylchlorid
R ²	r-Quadrat, Bestimmtheitsmaß einer linearen Regression
RIA	Radioimmunoassay
SAB	Subarachnoidalblutung
SaO ₂	Sauerstoffsättigung
SD	Standardabweichung
SF	Standardfehler
TGF	transforming growth Faktor
TLR4	Toll like Rezeptor
VEGF	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (vascular endothelial growth factor)
Vol%	Prozent des Volumens
WHO	Weltgesundheitsorganisation
wk	weiblich kastriert
ws	weiblich scheinkastriert

1 Einleitung

Unter einer Subarachnoidalblutung (SAB) versteht man eine intrakranielle Blutverbreitung in einen Raum, der von zwei Hirnhäuten abgegrenzt ist - der zarten Hirnhaut, „Pia mater“ und der sog. „Spinnwebenhaut“, „Arachnoidea“. In 85 % der Fälle ist die Ursache für diese Blutung die Ruptur eines Gefäßaneurysmas (Dupont, Wijdicks et al. 2010, Venti 2012), die bei ca. 4 % der Bevölkerung spontan vorkommen kann (Rinkel, Djibuti et al. 1998).

Die Inzidenz dieses Geschehens beträgt je nach Weltregion 2 - 22/100 000 (Ingall, Asplund et al. 2000). In Bayern trifft es ca. 12 von 100 000 Bewohnern (Kolominsky-Rabas, Sarti et al. 1998).

Etwa 5 % aller Schlaganfälle liegt eine SAB zugrunde (Vaartjes, Reitsma et al. 2009, de Carvalho, Alves et al. 2011, Venti 2012), ein Ereignis, das mit einer hohen Mortalität und Morbidität einhergeht. Die Mortalität einer SAB in retrospektiven Studien variiert zwischen 32 % und 67 % (Nieuwkamp, Setz et al. 2009). Darüber hinaus zeigt eine amerikanische Studie aus dem Jahr 1995, dass ungefähr 12 % der an einer SAB leidenden Patienten sterben, noch bevor sie die Klinik erreichen (Schievink, Wijdicks et al. 1995). Aber nicht nur die Mortalität, sondern auch die Morbidität nach einer SAB ist erheblich. Nach Angaben einer kanadischen Studie, bei der die unmittelbare Mortalität nach SAB bei 30 % lag, überlebten 20 % aller Patienten mit einem schlechten neurologischen Outcome (Diaz and Wong 2011, Taki, Sakai et al. 2011). Lediglich 30 % aller Patienten, die mit der Diagnose einer SAB die Klinik erreichen, zeigen ein Jahr nach SAB keine neurologischen Defizite (Bjeljac, Keller et al. 2002).

Die Höhe der Mortalität in Deutschland zeigen vor allem Daten einer prospektiven Studie, die in Erlangen durchgeführt wurde. In dieser Stadt mit gut 100 000 Bewohnern wurden im Rahmen des sog. „Erlangen Stroke Projekts“ (ESPro) alle Patienten ausgewertet, die im Zeitraum von April 1994 bis April 1996 in Erlangen an Iktus erkrankt waren. Es wurden insgesamt 354 Patienten identifiziert, davon 12 (3,4 %) mit einer SAB. Die Mortalität betrug 50 % (Kolominsky-Rabas, Sarti et al. 1998).

1.1 Was ist SAB?

Die spontane aneurysmatische Subarachnoidalblutung ist ein schwerwiegendes, lebensbedrohliches Geschehen. Fachspezifische Kenntnisse über die pathophysiologischen Prozesse sind unverzichtbar, um die Folgen dieses Ereignisses therapieren, oder im Idealfall einer Subarachnoidalblutung vorbeugen zu können.

Die SAB und ihre Folgen führen zu einer deutlich reduzierten Blutversorgung des betroffenen Hirngewebes. Der daraus resultierenden Ischämie des Hirngewebes folgt ein Absterben der funktionellen Neurone und damit der Verlust neuronaler Funktion, dessen Ausmaß von der Intensität und Ausdehnung der initialen Blutung abhängt.

Die Art der Schäden unterteilt man dabei in frühe und sekundäre ischämische Schäden.

1.1.1 Frühe ischämische Schäden

Die Einblutung in den Subarachnoidalraum führt innerhalb von 1 - 2 Minuten zu einem intrakraniellen Druckanstieg. Diese Druckerhöhung führt dazu, dass der zerebrale Blutfluss stark vermindert, oder bei einer schweren Blutung gänzlich unterbrochen wird (Nornes 1978, Grote and Hassler 1988). Der stärkste Faktor, der die Durchblutung des Gehirns negativ beeinflusst, ist die Menge des Blutes, die sich in dem nicht ausdehnbaren, knöchernen Schädel ausbreitet (Broderick, Brott et al. 1994).

Dadurch kommt es zu einer globalen Hypoxie des Gehirns, die als Auslöser zahlreicher molekularer Reaktionen und als Ursache der nachfolgenden Gehirnschädigung gilt. Weiterhin kommt es zu einer Störung der Autoregulation der Gefäße, zu einer Vasokonstriktion und zu einem reduzierten Blutfluss (Bederson, Levy et al. 1998). Aus dieser Vasokonstriktion resultiert eine weitere Sauerstoff-Minderversorgung des Hirngewebes, woraus eine weitere Intensivierung des ischämischen Schadens entsteht.

1.1.2 Sekundäre ischämische Schäden

Sekundäre ischämische Schäden (ab 48 Stunden bis mehrere Tage nach einer SAB) entwickeln sich als Folge einer anhaltend reduzierten Sauerstoffversorgung des Hirngewebes. Dies kann zu einem Einstrom von Kalzium-Ionen in das Zellinnere führen. Dadurch werden verschiedene zelluläre Signalwege aktiviert, die sich je nach Intensität

der Blutung und daraus resultierender Schädigung als Inflammation oder Apoptose präsentieren können (Marzatico, Gaetani et al. 1990, Dumont, Dumont et al. 2003, Zhang, Fugleholm et al. 2003). Signalwege, die in eine Apoptose münden, sind u.a. eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors „nukleärer Faktor kappa B“ (NFκB), eine vermehrte Expression von Protein p53 und die Aktivierung von sog. „B Cell Lymphoma 2“, (bcl-2) Genen.

Alle Patienten, die die initiale Blutung überlebt haben, sind von Komplikationen wie Hirnödemen, Hydrozephalus oder verspäteten Gefäßspasmen bedroht (Bederson, Connolly et al. 2009).

1.1.3 Therapie

Zurzeit existiert keine spezifische medikamentöse Therapie, die in die oben genannten Mechanismen der Zellschädigung (Inflammation und Apoptose) im Sinne einer Verbesserung des Outcomes eingreifen kann.

Das Management von Patienten, die eine Subarachnoidalblutung erlitten haben, verfolgt primär das Ziel eine erneute Blutung zu verhindern. Dazu gehören Maßnahmen wie Bettruhe, Blutdruckkontrolle und eine möglichst schnelle Lokalisation der Blutungsquelle mit einem möglichst schnellen Verschluss des Gefäßdefekts (Bederson, Connolly et al. 2009). Dieser erfolgt nach Art und Lokalisation des Aneurysmas entweder offen neurochirurgisch oder durch eine radiologische Intervention, bei der das Aneurysma unter Röntgenkontrolle mit Metallspiralen ausgefüllt wird.

Im Falle eines erhöhten intrakraniellen Druckes erfolgt dessen Entlastung mit Hilfe einer äußeren Drainage.

Das einzige Medikament, welches bisher in klinischen Studien das neurologische Ergebnis nach SAB hat verbessern können, ist der Kalziumantagonist Nimodipin, der zur Prävention von Vasospasmen verabreicht wird (Allen, Ahn et al. 1983).

Einer der Faktoren, der die Entstehung, den Verlauf und das Ergebnis nach einer SAB beeinflussen können, ist das Geschlecht.

1.2 Geschlechtsunterschiede in der Inzidenz einer SAB

Aus großen retrospektiven epidemiologischen Studien, die mehrere tausend Patienten umfassen, ist bekannt, dass Frauen signifikant häufiger eine Subarachnoidalblutung erleiden als Männer. Das Verhältnis beträgt für alle Altersgruppen ca. 1:1,75 (Haley, Kassell et al. 1993, Eden, Meurer et al. 2008, Goldacre, Duncan et al. 2008, Vaartjes, Reitsma et al. 2009).

1.2.1 Unterschiede in der Mortalität und Morbidität

Weniger eindeutig erscheint die Aussage der klinischen Studien über die Mortalität und über das neurologische Outcome nach SAB. Aus der heutigen Sicht nicht mehr aktuell, aber dennoch interessant ist eine methodisch gut durchgeführte Arbeit vom Simpson aus dem Jahr 1991. In dieser Studie mit 127 Patienten hatten 43 % der Frauen im Vergleich zu 56 % der Männer ein ungünstiges Outcome nach SAB, was mit Hilfe des sog. „Glasgow Outcome Scale“ bestimmt wurde. Dieses Ergebnis ist aufgrund des Fortschritts in der interventionellen Radiologie (Patientendaten aus den Jahren 1980-1987) heute nur eingeschränkt aussagekräftig (Simpson, Contant et al. 1991). Eine weitere retrospektive Studie aus Schottland, die alle Patienten umfasst, die in den Jahren 1995-2000 mit einer intrakraniellen Erkrankung behandelt wurden zeigt, dass Männer im Vergleich zu Frauen häufiger an einer Subarachnoidalblutung sterben (Macleod and Andrews 2002). Chotai und Kollegen, die einen Zusammenhang zwischen Outcome und verschiedenen Risikofaktoren bei jungen Erwachsenen untersucht haben, kamen ebenfalls zu dem Schluss, dass junge Männer nach SAB eine ungünstigere Prognose haben als Frauen (Chotai, Ahn et al. 2013).

Im Kontrast zu diesen zwei Arbeiten steht eine Studie aus Dänemark, die 1076 SAB Patienten ausgewertet hat. Betrachtet man diese Ergebnisse, leiden Frauen häufiger an Vasospasmus und haben darüber hinaus ein signifikant schlechteres Outcome als Männer (Rosenlirn, Eskesen et al. 1993).

Ein weiteres interessantes Ergebnis zeigt eine in den USA durchgeführte Studie. Hier wurden die Daten von Teilnehmern einer multizentrischen Studie ausgewertet, bei der eine Nicardipin Gabe zur Prävention und Therapie von Vasospasmen untersucht worden war. Hier hat man gesondert diejenigen Patienten herausgegriffen, die im Rahmen der

Studie nur mit dem Placebo behandelt worden waren (1987-1989) (Kongable, Lanzino et al. 1996). Die Studienteilnehmer wurden nach Geschlecht und weiter auch nach ihrem Alter unterteilt. Die altersentsprechenden weiblichen und männlichen Gruppen wurden verglichen. Es konnten dabei keine signifikanten Geschlechtsunterschiede gezeigt werden, weder für die Mortalität, noch in der Häufigkeit des Auftretens von Vasospasmen oder beim neurologischen Outcome. Vergleichbare Ergebnisse zeigt eine weitere amerikanische Studie aus Texas, die 107 Patienten umfasst hatte sowie eine epidemiologische Langzeitstudie aus den Niederlanden (Eden, Meurer et al. 2008) (Vaartjes, Reitsma et al. 2009).

1.2.2 Einfluss der Geschlechtshormone

Um einen Einfluss der weiblichen Geschlechtshormone untersuchen zu können, wurden in einer Fall-kontrollierten Studie aus Washington 107 SAB Patientinnen mit 2 alters- und geschlechtsgleichen Kontrollpersonen gepaart. Es konnte gezeigt werden, dass prämenopausale Frauen im Vergleich zu postmenopausalen Frauen entsprechenden Alters ein niedrigeres Risiko tragen, an einer SAB zu erkranken (Longstreth, Nelson et al. 1994).

Andere klinische Studien, die den Einfluss von Geschlechtshormonen untersucht haben, beschäftigen sich vor allem mit dem Risiko einer SAB in Kombination mit der Einnahme oraler Kontrazeptiva. Die größte Studie in diesem Bereich wurde im Rahmen eines Projekts der Weltgesundheitsorganisation, World Health Organisation (WHO) „WHO Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception“ durchgeführt. Sie umfasst 1068 SAB Patientinnen und deren altersangepasste Kontrollpersonen. Laut Ergebnis dieser Untersuchung haben Frauen, die orale Kontrazeptiva einnehmen, ein leicht erhöhtes Risiko einer Subarachnoidalblutung (WHO 1996). Das Risiko einer SAB bei gleichzeitiger Einnahme oraler Kontrazeptiva scheint 1,5-2-fach höher zu liegen, ist aber immer noch geringer als das eines Rauchers oder bei arterieller Hypertonie (Vessey, Lawless et al. 1984, Hannaford, Croft et al. 1994, Thorogood 1998).

Es gibt leider insgesamt nur wenige Studien, die sich neben dem Risiko der Entstehung einer SAB auch mit dem funktionellen Outcome der Patientinnen nach SAB beschäftigten.

So konnte eine retrospektive fallkontrollierte Studie aus England zeigen, dass Frauen, die aktuell orale Kontrazeptiva einnehmen, häufiger ein schlechteres Outcome nach SAB haben im Vergleich zu Frauen, die keine Hormonpräparate einnehmen (Quotenverhältnis 2.3) (Hannaford, Croft et al. 1994).

1.3 Zusammenfassung

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der genannten klinischen Studien, dass bei einer Subarachnoidalblutung durchaus geschlechtsspezifische Unterschiede existieren. Aufgrund der hohen Variabilität sind allerdings die vorhandenen Daten kritisch zu sehen. An dieser Stelle könnten Daten aus experimentellen und tierexperimentellen Untersuchungen Klarheit schaffen, da diese Studien unter standardisierten Bedingungen den Einfluss von Geschlecht auf den Verlauf, das Outcome und die Mortalität im Rahmen der SAB untersuchen können.

Allerdings existieren bisher keine tierexperimentellen Studien, die auf die Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Tieren fokussieren. Aus diesem Grund haben wir die hier vorliegende tierexperimentelle Studie durchgeführt. Das Hauptaugenmerk lag dabei auf der Untersuchung geschlechts- und hormonabhängiger Veränderungen der physiologischen Parameter bei weiblichen und männlichen Ratten nach induzierter SAB.

2 Material und Methoden

Um den Einfluss von Geschlecht auf die physiologischen Parameter, die postischämische Gehirnmorphologie und die Mortalität nach einer Subarachnoidalblutung (SAB) zu untersuchen, wurden 4 Gruppen gebildet: 1. männliche scheinkastrierte Ratten, 2. männliche kastrierte Ratten, 3. weibliche scheinkastrierte Ratten und 4. weibliche kastrierte Ratten.

Da 10 Tiere jeder Gruppe während 14 Tage nach der SAB auch noch mit dem modifizierten Hole Board Test hinsichtlich ihrer neurokognitiven Fähigkeiten getestet wurden, haben wir unseren Versuch wie in Abbildung 1 dargestellt gestaltet.

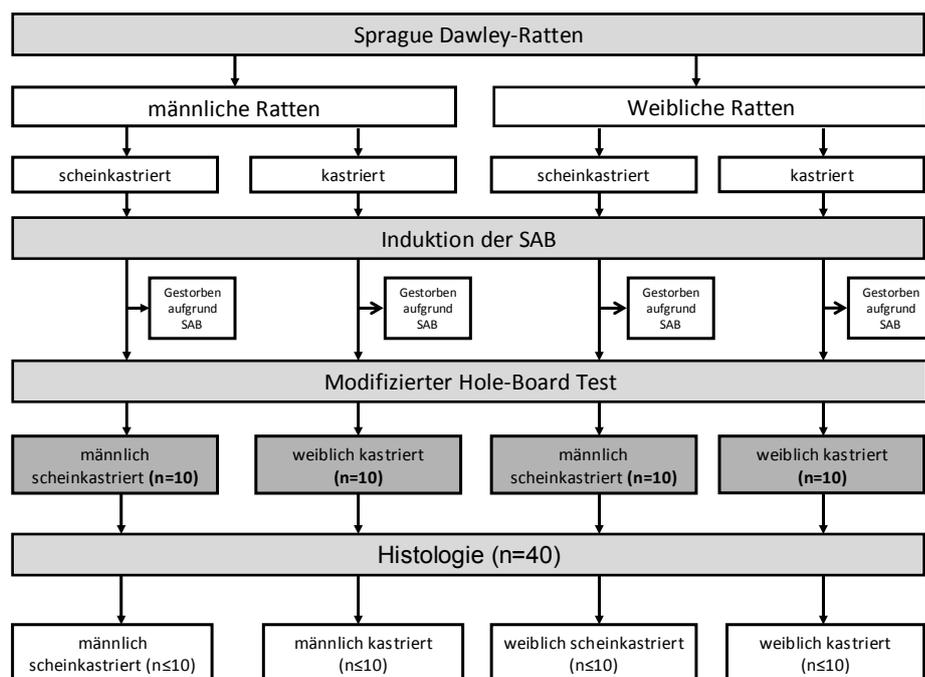


Abbildung 1: Versuchsaufbau

2.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden männliche und weibliche Sprague Dawley-Ratten (Charles River, Sulzfeld) verwendet. Nach ihrer Ankunft im Alter von 8 Wochen wurden die Tiere getrennt nach dem jeweiligen Geschlecht 37 Tage lang in Makrolon Typ 4 Käfi-

gen zu je maximal 4 Tieren pro Käfig in einem Tierhaltungsraum der Klinik für Anaesthesiologie gehalten. Die Bedingungen waren konstant mit einem 12 h:12 h Tag-Nacht Rhythmus, $22\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ Raumtemperatur, $60\% \pm 15\%$ Luftfeuchtigkeit und die Tiere hatten jederzeit freien Zugang zu Wasser und Futter.

2.2 Versuchsdurchführung und Ablauf

Im Alter von 12 Wochen wurden die Tiere je nach Gruppenzugehörigkeit entweder kastriert oder scheinkastriert. Nach der Kastration/Scheinkastration erfolgte eine Erholungsphase von 4 Wochen.

11 Tage vor Versuchsbeginn wurden die Tiere dann abhängig von ihrem Gewicht aus dem Makrolon Typ 4 Käfig in den sog. „Homecage“ des modifizierten Holeboard-Tests umgesetzt. Dieser „Homecage“ ist eine 80 x 60 x 50 cm große, nach oben offene, graue Polyvinylchlorid (PVC) - Box (eigene Herstellung, Fa. Weiss, München), die gleichzeitig Wohnareal und Testarena beinhaltet, getrennt lediglich durch eine durchsichtige, mit Löchern versehene Plexiglaswand (59 x 1 x 50 cm, Durchmesser der Löcher 1,5 cm, Lochabstand 5 cm). Futterraufen und Nippeltränken an einer Wohnraumseite gewähren den Tieren jederzeit uneingeschränkt Zugang zu Futter und Wasser.

2.2.1 Kastration

Im Alter von 12 Wochen wurden alle Tiere je nach Gruppenzugehörigkeit entweder kastriert oder scheinkastriert. Die Narkoseeinleitung erfolgte in einer durchsichtigen Plexiglasbox mit Sauerstoff und Isofluran (5 Vol% Isofluran (Forene[®], Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden)). Anschließend wurden sie mittels eines Laryngoskops intubiert und mit einem Kleintierventilator beatmet (KTR-4, Hugo-Sachs Elektronik, Harvard Apparatus GmbH). Als endotrachealer Tubus wurde eine modifizierte 16G Venenverweilkanüle benutzt. Während der Kastration/Scheinkastration wurden die Tiere mit einem Sauerstoff-Luft-Gemisch (40 % O₂) ventiliert und die Narkose mit 2 Vol% Isofluran aufrechterhalten.

Bei den männlichen Ratten wurde das Skrotum rasiert, desinfiziert (Cutasept[®], Bode Chemie GmbH, Hamburg,) und an der Schnittstelle mit Xylocain 2 % (Astra Zeneca,

London, UK) eine Lokalanästhesie durchgeführt. Daraufhin erfolgte ein Hautschnitt jeweils über dem rechten und dem linken Hoden.

Bei den Tieren der Gruppe „männlich kastriert“ wurden die Samenstränge präpariert, ligiert, und die Hoden entfernt. Bei der Gruppe „männlich scheinkastriert“ wurden lediglich die Samenstränge manipuliert, ohne die Hoden zu entfernen. Anschließend wurde die Haut mit Einzelheften (Prolene 4-0, Fa. Ethicon bei Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt) verschlossen.

Bei den weiblichen Ratten wurde der Bauch rasiert, mit Cutasept[®] desinfiziert und mit Xylocain 2 % infiltriert. Die Bauchhöhle wurde in der Linea alba eröffnet, die Ovarien aufgesucht und dargestellt. Bei Tieren der Gruppe „weiblich kastriert“ wurden sie am Übergang zwischen Eileiter und Ovar jeweils ligiert und entfernt.

Bei Tieren der Gruppe „weiblich scheinkastriert“ wurden die Ovarien lediglich aufgesucht und manipuliert, ohne entfernt zu werden. Bauchmuskulatur und Peritoneum wurden mit Einzelheften (Vicryl 3-0, Fa. Ethicon bei Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt) adaptiert und die Haut darüber mit intrakutanen Einzelheften (Vicryl 3-0 bzw. Prolene 4-0, Ethicon bei Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt) verschlossen.

Nach dem Ende der Kastration/Scheinkastration wurde die Isoflurananästhesie beendet, die Tiere nach Einsetzen der Spontanatmung zurück in die durchsichtige Plexiglasbox verbracht und dort nach Aufwachen extubiert und mit Novaminsulfon (2,5g/5ml Injektionslösung, Ratiopharm GmbH, Ulm) versorgt. Nach Ablauf einer einstündigen Überwachungsphase wurden die Tiere aus der Plexiglasbox wieder zurück in ihre gewohnte Haltungsumgebung und ihre gewohnte Gruppe verbracht.

2.2.2 SAB Induktion

4 Wochen nach der Kastration/Scheinkastration wurde bei allen Tieren eine Subarachnoidalblutung mit Hilfe des sog. „Fadenmodells“ nach Bederson durch Perforation der A. carotis interna am Abgang der A. cerebri media und nachfolgender Blutung induziert (Bederson, Germano et al. 1995).

2.2.2.1 Narkoseeinleitung

Die Narkoseeinleitung, Intubation und Beatmung erfolgte analog zur Kastration/Scheinkastration. Die chirurgische Präparation erfolgte unter 2 Vol% Isofluran mit FiO_2 40 %. Als Analgetikum erhielten alle Tiere 0,3 mg/kg Fentanyl über den Katheter in der Schwanzarterie.

2.2.2.2 Blutdrucküberwachung

Für die kontinuierliche Überwachung des arteriellen Blutdrucks während des Versuchs wurde nach Desinfektion und Lokalanästhesie (Xylocain 2 %) die Schwanzarterie präpariert.

Dazu wurde ventral die Haut am Schwanz 1 cm vom Schwanzansatz entfernt desinfiziert, mit 0,2 ml Xylocain 2 % infiltriert und ein 1 cm langer Hautschnitt durchgeführt. Die Faszie wurde in der Mitte eröffnet, die Arterie freipräpariert und am distalen Ende ligiert. Ein Polyethylenkatheter PE 50 (Fa. Intramedic Clay Adams, BD Company, Heidelberg) wurde ca. 2 cm vorgeschoben, mit einer weiteren Ligatur im Gefäß fixiert und an ein Druckmesssystem (LogiCal[®], Fa. Medex bei Smith Medicals, Grasbrunn) angeschlossen.

2.2.2.3 Temperaturmessung

Für die Überwachung der Körpertemperatur wurde eine rektale Temperatursonde (Medizinischer Temperaturfühler, Typ DRB2A, Fa. Exacon Asmuth Scientific, Roskilde, Dänemark) gelegt. Die perikranielle Temperatur wurde über eine Nadeltemperatursonde (HYP 1-30-1/2-T-G-60-SMPW-M, Fa. Omega Technologies, Stamford, USA) überwacht. Für die Konstanthaltung der Temperatur bei $37 \pm 0,5$ °C wurden die Tiere mittels eines konvektiven Warmgebläses (Warmtouch, Fa. Mallinckrot Medicals, Hazelwood, USA) entweder gewärmt oder gekühlt.

2.2.2.4 Intrakranieller Druck und zerebraler Blutfluss

Für die Messung des intrakraniellen Drucks und des zerebralen Blutflusses wurden die Tiere intubiert und beatmet auf den Bauch gedreht und der Kopf in einem stereotakti-

schen Rahmen für Kleintiere (Modell 902, David Kopf Instruments, Tujunga, California, USA) fixiert. Die Haut über dem Schädel wurde ebenfalls mit Cutasept® desinfiziert, mit Xylocain 2 % lokal anästhesiert, mit einem 3 cm langen Hautschnitt eröffnet und der Schädelknochen dargestellt. Danach wurden drei Bohrlöcher angelegt (Bohrmaschine: Uni-Drive N, Starnberg; Bohrer: Aesculap GD870R, Rosenbohrer D1,0 MM / ISO 010 2,35x51MM, 1,0 mm Durchmesser), ohne dabei die Dura mater zu verletzen. Für die Messung des zerebralen Blutflusses wurde je ein Bohrloch rechts und links (Durchmesser 1 mm) 5 mm seitlich der Sutura sagittalis und 1 mm dorsal der Sutura coronaria angelegt. Ein drittes Bohrloch (Durchmesser 1,5 mm) für die intrakranielle Druckmessung wurde über der Cisterna magna 1 mm lateral der Sutura coronaria und 1 mm dorsal der Sutura lambdoidea angelegt.

Zum Einbringen der Hirndruck-Messsonde (Intra Cranial Pressure, ICP) wurde die Dura mater unter Sichtkontrolle mit einem Punktionschnitt eröffnet, die intrakranielle Sonde (Fa. Codman bei Johnson & Johnson, New Brunswick, New Jersey, USA) mittels eines Mikromanipulators eingeführt und mit Zink-Phosphat Zahnzement (Hoffmann's Zement, Hoffmann Dental, Berlin) am Schädelknochen fixiert.

Der zerebrale Blutfluss wurde mittels eines Laserdopplers (Fa. Moor Instruments, Devon, UK) gemessen. Dazu wurden optische Sonden (Typ VP5bs, Fa. Moor Instruments, Devon, UK) mittels eines Mikromanipulator ebenfalls unter Sichtkontrolle in die Bohrlöcher rechts und links der Sutura sagittalis auf die unbeschädigte Dura mater eingebracht.

2.2.2.5 Präparation der Halsgefäße und Induktion der SAB

Nach dem Einbringen aller zerebralen Messsonden wurde das Tier zurück in Rückenlage gedreht.

Anschließend wurde der Halsbereich rasiert, mit Cutasept® desinfiziert, mit Xylocain (2 %) lokal anästhesiert und die Haut paramedian auf 2 cm eröffnet. Die A. carotis communis und die A. carotis interna wurden aufgesucht und vorsichtig vom N. vagus getrennt. Die A. carotis externa und ihre Abzweigungen wurden abgebunden (Vicryl 3-0, Ethicon, Stadt) und abgetrennt. Die Aa. carotis communis und interna wurden mit zwei sog. „Minibulldock-Klemmen“ abgeklemmt, um die A. carotis externa am distalen Ende eröffnen zu können und einen 3 – 4 cm langen Faden (Prolene 3-0, Fa. Ethicon bei

Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt), am Ende im rechten Winkel abgestumpft in die A carotis interna einführen zu können. Die A. carotis externa mit dem darin liegenden Faden wurde mit einer Ligatur verschlossen und beide Minibulldock-Klemmen entfernt. Im Weiteren wurde der Faden in Richtung des Blutflusses im Gefäß liegend so weit vorgeschoben, bis der mit dem Laserdoppler gemessene zerebrale Blutfluss in der rechten Hemisphäre deutlich abgesunken war. Der Faden wurde langsam weiter vorgeschoben, um intrakraniell die A. cerebri media zu perforieren. Mit einem Anstieg des intrakraniellen Druckes und einem gleichzeitigen Abfallen des zerebralen Blutflusses auf der kontralateralen Seite wurde dann der Faden zügig zurückgezogen und anschließend die A. carotis externa ligiert.

2.2.2.6 Überwachung der physiologischen Parameter

Während des gesamten Versuchs wurden zu bestimmten Zeitpunkten Blutgasanalysen durchgeführt (RapidLab 860, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn). Dazu wurden über den in der Schwanzarterie liegenden Katheter zu 3 Zeitpunkten Blutproben (jeweils 1 ml) entnommen: Vor der Induktion der SAB („Baseline“), 30 min nach Induktion der SAB („30 min post SAB“) und 60 min nach Induktion der SAB („60 min post SAB“). Zusätzlich wurde durch Zentrifugieren (3 min bei 12.000 Umdrehungen) (Kühlzentrifuge Biofuge Fresco, Heraeus, Wehrheim) Serum gewonnen und zur weiteren Analyse bei - 80 °C eingefroren. Im Anschluss wurde der Geschlechtshormonspiegel von Testosteron, Östrogen und Progesteron im Institut der Klinischen Chemie des Klinikums Rechts der Isar mittels Radio Immunoassay (RIA) bestimmt. Der arterielle Blutdruck, der intrakranielle Druck und die rektale Temperatur wurden auf einem Monitor (Datex-Ohmeda S5, Finnland) überwacht und die Daten für die weitere Auswertung auf einen Computer übertragen und mittels einer dafür bestimmten Software (Datex-Ohmeda S/5 Collect, Datex-Ohmeda, Finnland) gespeichert. Die mit dem Laserdoppler erhobenen Daten wurden ebenfalls mit Hilfe einer spezifischen Software (moorVMS-PC, Firma, Stadt, Land) aufgezeichnet und archiviert. Die perikranielle Temperatur wurde separat mit einem Digitalthermometer (Greisinger Electronic, Regenstauf) gemessen und überwacht.

2.2.2.7 Beenden der operativen Phase

Nach der letzten Blutentnahme 60 min nach Induktion der SAB wurde die Halswunde mit Einzelnähten (Prolene 4-0, Fa. Ethicon bei Johnson & Johnson MEDICAL GmbH, Norderstedt) verschlossen, die Laserdopplersonden entfernt, die Ratte auf den Bauch gedreht, die Sonde für die Hirndruck-Messung entfernt und die Kopfhaut mit Einzelheften (Prolene 4-0) verschlossen. Als Letztes wurde der Katheter aus der Schwanzarterie entfernt und auch hier die Haut mit Einzelheften (Prolene 4-0) wieder verschlossen. Nach dem Entfernen aller Sonden und Katheter und dem nachfolgenden Wundverschluss wurde die Isoflurananästhesie beendet, und die Tiere nach Einsetzen der Spontanatmung zurück in die durchsichtige Plexiglasbox zur weiteren Beobachtung gebracht. Nach dem Aufwachen wurden die Tiere dann extubiert und nach Ablauf der einstündigen Überwachungsphase nach Induktion der SAB aus der Plexiglasbox wieder zurück in ihre gewohnte Haltungsumgebung und ihre gewohnte Gruppe verbracht. Tiere, die innerhalb von 2 Stunden nach dem Ende der Narkose nicht wach geworden sind, wurden in tiefer Isoflurannarkose schmerzlos getötet. Zur besseren Anschaulichkeit wurden die Bestandteile des Labor-Arbeitsplatzes in Abb. 2 und 3 dokumentiert und beschrieben.

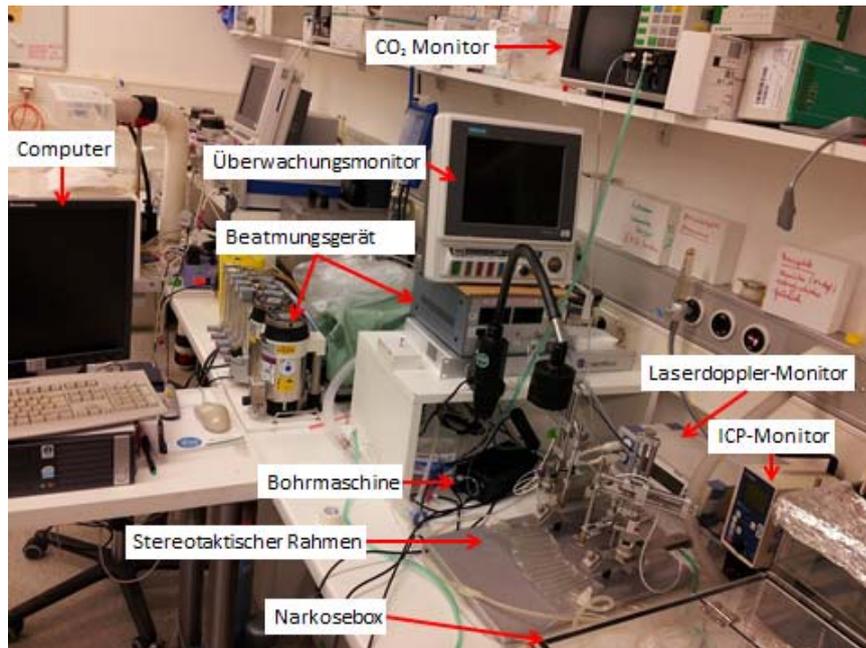


Abbildung 2: Arbeitsplatz

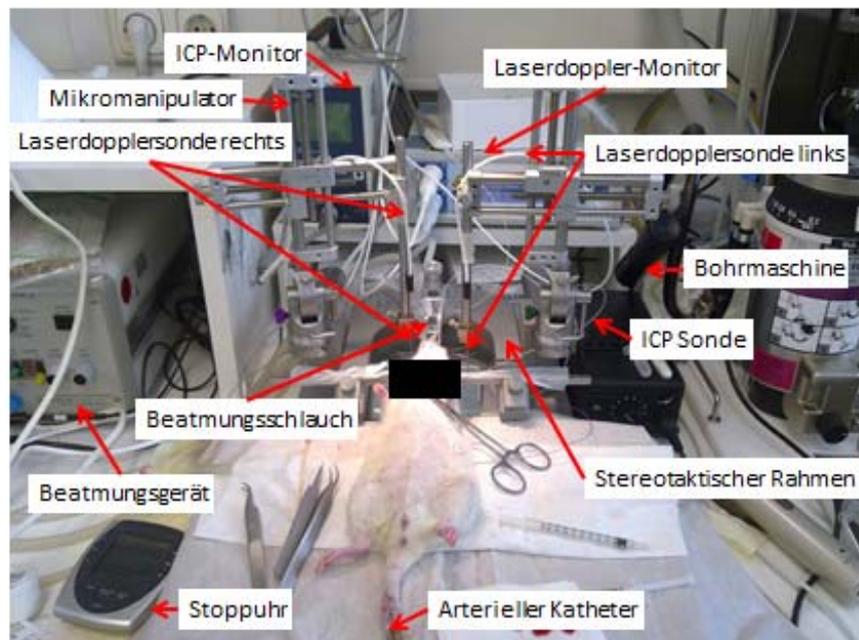


Abbildung 3: Arbeitsplatz – Detail

2.2.3 Prozedere bis zum 14. postoperativen Tag

Alle Tiere, die die Induktion der SAB überlebt haben, wurden neurologisch untersucht. Darüber hinaus wurde die neurokognitive Funktion mit Hilfe des modifizierten Hole Board-Tests überprüft. Der modifizierte Hole Board-Test erlaubt es, Lern- und Gedächtnisprozesse im Kontext des Verhaltens in einem einzigen Testaufbau zu untersuchen. Darüber hinaus lassen sich gleichzeitig die motorischen Fähigkeiten der Tiere abbilden (Ohl, Holsboer et al. 2001).

Die Tiere lernen, optische Markierungen (weißes Klebeband auf grauem PVC) mit einer Futterbelohnung zu assoziieren. Als Belohnung dienen dabei blanchierte und gehobelte Mandelstückchen. Um wie geplant in jeder Gruppe 10 Tiere im modifiziertem Hole-Board Test neurokognitiv testen zu können, mussten pro Gruppe so viele Tiere einer Subarachnoidalblutung ausgesetzt werden, bis 10 Tiere erfolgreich die 14 Tage nach SAB überlebt hatten.

2.2.4 Prozedere am 14. Tag

An 14. Tag nach Induktion der SAB wurden alle Tiere in tiefer Isoflurannarkose euthanasiert. Um das Hirngewebe weiter histologisch untersuchen zu können, wurden alle Ratten dekapitiert, der knöchernen Schädel eröffnet, das Gehirn entnommen und unmittelbar auf Trockeneis tiefgefroren. Bis zur weiteren Verarbeitung wurde das entnommene Gewebe bei -80 °C aufbewahrt.

2.3 Histologische Untersuchung

Es wurden die Gehirne aller Tiere, die wie geplant die 14 Tage nach SAB überlebt haben, untersucht. Dafür wurden die Hirne mit einem Kryostat Mikrotom (HM 355, Microm International GmbH, Walldorf) geschnitten. Rostral beginnend wurden von Bregma +5,1 mm bis Bregma - 7,3 mm alle 400 µm jeweils 6 Schnitte (7µm) auf Objektträger (Super Frost Plus, Menzel Gläser, Braunschweig) aufgezogen. Die Schnitte wurden anschließend mit Hämatoxylin-Eosin (HE) nach einem Standardprotokoll gefärbt. Von den HE-gefärbten Gehirnschnitten wurden mit Hilfe eines Scanners (Hamamatsu Nanozoomer 2.0 HT virtual imaging system, Hamamatsu, Hamamatsu City, Japan) digitale Aufnahmen erstellt. Mittels einer Software (Nanozoomer Digital Patho-

logy Virtual Slide Viewer - NPD.view, version 1.2.36, Hamamatsu Photonics KK, Japan) wurden nach der Digitalisierung die Fläche und Anzahl der Schädigungsareale bestimmt.

2.4 Statistische Methoden und Auswertung

Alle statistischen Berechnungen wurden mit Software IBM SPSS Statistics (USA) durchgeführt.

Die Serumspiegel der Geschlechtshormone wurden mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse verglichen. Die Parameter der Blutgasanalytik, die Werte der perikraniellen Temperatur, des mittleren arteriellen Drucks, des intrakraniellen Drucks, des zerebralen Perfusionsdrucks und des Laserdopplers wurden mit allgemeinen linearen Modellen mit Messwiederholung analysiert. Infarktfläche und Infarktanzahl wurden sowohl parametrisch mit einfaktorieller Varianzanalyse als auch nichtparametrisch mit dem Kruskal-Wallis Test verglichen. Der Einfluss der Geschlechtshormone auf die physiologischen Parameter wurde mittels Korrelation nach Pearson und mittels einer linearen Regression berechnet. Dabei wurden als unabhängigen Variablen Östrogen, Progesteron, Testosteron und das Verhältnis Östrogen/Progesteron gewählt. Die Unterschiede in der Sterblichkeit wurden mit Chi-Quadrat berechnet. Anschließend wurde mittels einer binären logistischen Regression der prädiktive Wert folgender physiologischer Parameter (als unabhängige Variablen herangezogen) bezüglich des Todes (als abhängige Variable gewählt) bestimmt: Geschlechtshormone: Östrogen, Progesteron, Testosteron; Noradrenalinindosis der ersten 60 min; Parameter der Blutgasanalyse: Hämoglobin, Hämatokrit, Sauerstoffpartialdruck, Kohlendioxidpartialdruck, Sauerstoffsättigung, pH, Bikarbonat, Base excess, Natrium-, Kalium-, Kalziumspiegel; Serumglukosespiegel; mittlerer arterieller Druck, intrakranieller Druck, Laserdoppler-Fluss rechts und links.

3 Ergebnisse

3.1 Gewicht

Die männlichen Tiere waren im Vergleich zu den weiblichen Tieren deutlich schwerer. Die Kastration hatte bei männlichem Geschlecht keinen Einfluss auf die Gewichtsverteilung. Bei weiblichem Geschlecht waren die scheinkastrierten Ratten im Vergleich zu den kastrierten weiblichen Tieren statistisch signifikant leichter.

Tabelle 1: Gewicht

Gruppe	n	Gewicht (g)			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	
männlich scheinkastriert	22	483,2	±	31,6	* ws, wk
männlich kastriert	15	474,9	±	26,6	* ws, wk
weiblich scheinkastriert	30	307,5	±	20,0	* ms, mk, wk
weiblich kastriert	22	350,5	±	13,0	* ms, mk, ws

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

3.2 Geschlechtshormonspiegel

Wie erwartet hatte die Gruppe der weiblich scheinkastrierten Tiere die statistisch signifikant höchsten Östrogen und Progesteron Serumspiegel und die Gruppe der männlich scheinkastrierten Tiere den statistisch signifikant höchsten Testosteron Wert.

Tabelle 2: Östrogen Serumspiegel

Gruppe	n	Östrogen (pg/ml)			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	
männlich scheinkastriert	22	15,2	±	4,9	*ws
männlich kastriert	15	13,0	±	4,4	*ws
weiblich scheinkastriert	30	26,0	±	19,8	*ms, mk, wk
weiblich kastriert	22	13,5	±	4,9	*ws

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 3: Progesteron Serumspiegel

Gruppe	n	Progesteron (ng/ml)			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	
männlich scheinkastriert	22	7,9	±	4,4	* ws, wk
männlich kastriert	15	13,1	±	7,8	*ws
weiblich scheinkastriert	30	37,7	±	14,5	*ms, mk, wk
weiblich kastriert	22	18,3	±	8,5	*ms, ws

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 4: Testosteron Serumspiegel

Gruppe	n	Testosteron (ng/ml)			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	
männlich scheinkastriert	22	1,5	±	0,6	*mk, ws, wk
männlich kastriert	15	<0,03	±	0,0	*ms
weiblich scheinkastriert	30	<0,03	±	0,0	*ms
weiblich kastriert	22	<0,03	±	0,0	*ms

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

3.3 Temperatur

Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede in der perikraniellen Temperatur zwischen den Geschlechtern oder zwischen den 4 Gruppen männlich scheinkastriert, männlich kastriert, weiblich scheinkastriert und weiblich kastriert.

Tabelle 5: Perikranielle Temperatur (°C)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	22	36,9	±	0,3	36,9	±	0,3	36,9	±	0,3	-
mk	15	36,9	±	0,3	36,9	±	0,3	36,9	±	0,3	-
ws	30	36,9	±	0,3	36,8	±	0,3	36,9	±	0,3	-
wk	21	36,9	±	0,4	37,0	±	0,4	36,9	±	0,3	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

3.4 Glukose

Es gab zu keinem der 3 Messzeitpunkte statistisch signifikante Unterschiede in den Serumglukosespiegeln zwischen den Geschlechtern oder den 4 Gruppen männlich schein- kastriert, männlich kastriert, weiblich schein- kastriert und weiblich kastriert.

Genauso konnte kein Einfluss der Geschlechtshormone auf den Serumglukosespiegel beobachtet werden.

Tabelle 6: Serumglukosespiegel (mg/dl)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	22	176,1	±	37,7	173,4	±	31,0	173,0	±	28,3	-
mk	15	201,9	±	47,8	173,0	±	33,8	168,3	±	26,3	-
ws	30	187,3	±	39,3	196,5	±	53,1	204,7	±	60,1	-
wk	21	184,1	±	39,8	172,3	±	40,8	184,8	±	46,3	-

ms = männlich schein- kastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich schein- kastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

3.5 Parameter der Blutgasanalyse

3.5.1 Hämoglobin, Hämatokrit

Hämoglobin- und Hämatokritwerte der Gruppe weiblich schein- kastriert zeigten über die Zeit eine leicht abfallende Tendenz, die im Vergleich mit der Gruppe männlich schein- kastriert und der Gruppe weiblich kastriert statistisch signifikant war. Geschlecht an sich hatte keinen Einfluss auf die Hämoglobin- und die Hämatokritwerte. Darüber hin- aus konnte ein schwacher Zusammenhang zwischen dem Hormon Progesteron und den Hämoglobin- und Hämatokritwerten festgestellt werden.

Tabelle 7: Hämoglobin (g/dl)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	21	14,6	±	0,9	14,0	±	0,9	13,7	±	1,0	*ws
mk	15	14,3	±	1,0	13,7	±	1,0	13,4	±	0,9	-
ws	28	14,0	±	0,9	13,1	±	1,3	12,6	±	0,9	*ms, wk
wk	20	14,7	±	0,9	13,7	±	0,9	13,8	±	0,9	*ws

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 8: Hämatokrit (%)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	21	42,9	±	2,7	41,0	±	2,6	40,4	±	3,0	*ws
mk	15	42,1	±	2,9	40,1	±	2,8	39,3	±	2,6	-
ws	28	40,6	±	2,6	38,2	±	3,9	37,0	±	2,8	*ms, wk
wk	20	43,0	±	2,7	41,9	±	2,8	40,2	±	3,0	*ws

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 9: Einfluss der Geschlechtshormone auf Hämoglobin und Hämatokrit

Hormon	Hämoglobin		Hämatokrit	
	β_1	β_2	β_1	β_2
Östrogen	0,128	0,129	0,125	0,126
Progesteron	*-0,274	*-0,312	*-0,292	*-0,328
Testosteron	0,045	0,024	0,050	0,029
Öst/Prog	-	-0,162	-	-0,155
R^2	0,039	0,054	0,050	0,063

R^2 = R-Quadrat; Öst/Prog = Verhältnis der Hormone Östrogen und Progesteron; β_1 = Regressionskoeffizient für Geschlechtshormone ohne Öst/Prog; β_2 = Regressionskoeffizient für Geschlechtshormone mit Öst/Prog Verhältnis; * = $p \leq ,05$

3.5.2 Arterieller Sauerstoffpartialdruck (pO₂), Sauerstoffsättigung (SaO₂) und Kohlendioxidpartialdruck (pCO₂)

Es gab zu keinem der 3 Messzeitpunkte statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern bei den Parametern Sauerstoffpartialdruck, Sauerstoffsättigung und Kohlendioxidpartialdruck. Genauso konnte kein Zusammenhang zwischen dem Serumspiegel der Geschlechtshormone Östrogen, Progesteron und Testosteron und den Parametern pO₂, SaO₂ und pCO₂ nachgewiesen werden.

Tabelle 10: Sauerstoffpartialdruck (mmHg)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	22	155,0	±	27,6	156,3	±	32,5	157,0	±	32,4	-
mk	15	146,8	±	38,8	145,6	±	42,9	140,2	±	34,3	-
ws	30	137,8	±	38,2	147,1	±	40,4	142,0	±	52,9	-
wk	21	142,1	±	48,6	141,6	±	43,0	142,7	±	40,1	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = p ≤ ,05

Tabelle 11: Sauerstoffsättigung (%)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	21	99,4	±	0,4	99,1	±	0,7	99,2	±	0,7	-
mk	15	99,1	±	0,8	99,1	±	1,0	99,0	±	1,2	-
ws	28	98,8	±	1,3	99,2	±	0,9	99,1	±	1,0	-
wk	20	99,0	±	1,0	99,1	±	0,8	99,1	±	0,8	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = p ≤ ,05

Tabelle 12: Kohlendioxidpartialdruck (mmHg)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	22	35,2	±	1,6	34,9	±	2,5	34,2	±	2,3	-
mk	15	34,8	±	2,2	35,4	±	3,2	35,3	±	2,0	-
ws	30	35,3	±	1,7	34,9	±	2,2	34,2	±	2,5	-
wk	21	35,0	±	2,6	35,3	±	2,2	34,6	±	2,8	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = p ≤ ,05

3.5.3 pH Wert, aktiviertes Bikarbonat (HCO_3^-) und Basenüberschuss („Base excess“, BE)

pH und HCO_3^- in der Gruppe der weiblich scheinkastrierten Tiere unterscheiden sich signifikant von den Werten der Gruppen männlich scheinkastriert und männlich kastriert.

Tabelle 13: pH Wert

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	21	7,48	±	0,03	7,48	±	0,03	7,48	±	0,03	*ws
mk	15	7,48	±	0,04	7,47	±	0,04	7,47	±	0,03	*ws
ws	30	7,45	±	0,03	7,44	±	0,03	7,44	±	0,05	*ms, mk
wk	21	7,47	±	0,03	7,46	±	0,03	7,47	±	0,04	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 14: aktiviertes Bikarbonat (mmol/l)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	22	26,1	±	2,0	25,8	±	2,2	25,4	±	2,3	*ws
mk	15	25,1	±	1,7	25,1	±	2,2	25,0	±	1,7	*ws
ws	30	24,1	±	1,6	23,0	±	1,8	23,0	±	2,0	*ms, mk
wk	21	24,9	±	1,0	24,4	±	1,6	24,6	±	1,5	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Die Gruppe der weiblich scheinkastrierten Tiere wies im Vergleich mit allen anderen 3 Gruppen statistisch signifikant niedrigeren BE Werte auf.

Tabelle 15: Base Excess (mmol/l)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	22	3,0	±	2,1	2,6	±	2,2	2,3	±	2,4	*ws
mk	15	2,0	±	1,9	1,7	±	2,3	1,6	±	1,8	*ws
ws	30	0,6	±	1,8	-0,7	±	2,0	-0,5	±	2,4	*ms, mk, wk
wk	21	1,2	±	1,3	1,0	±	1,8	1,4	±	1,8	*ws

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Es konnte ein Zusammenhang zwischen dem Testosteron Serumspiegel und den Parametern pH, HCO_3^- und BE festgestellt werden. Mit steigendem Testosteron Serumspiegel wird der pH Wert des Blutes positiver, das aktivierte Bikarbonat und der Basenüberschuss höher.

Tabelle 16: Einfluss der Geschlechtshormone auf pH, aktiviertes Bikarbonat und Basenüberschuss

Hormon	pH		aktiviertes Bikarbonat		Basenüberschuss	
	β_1	β_2	β_1	β_2	β_1	β_2
Östrogen	0,050	0,049	-0,039	-0,040	-0,013	-0,013
Progesteron	-0,223	-0,187	-0,219	-0,198	-0,236	-0,209
Testosteron	*0,255	*0,275	*0,262	*0,275	*0,260	*0,276
Öst/Prog	-	0,152	-	0,092	-	0,114
R^2	0,123	0,136	0,149	0,148	0,151	0,154

R^2 = R-Quadrat; Öst/Prog = Verhältnis der Hormone Östrogen und Progesteron; β_1 = Regressionskoeffizient für Geschlechtshormone ohne Östrogen/Progesteron; β_2 = Regressionskoeffizient für Geschlechtshormone mit Östrogen/Progesteron Verhältnis; * = $p \leq ,05$

3.5.4 Natrium, Kalium und Kalzium

Natrium und Kalzium zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den 4 Gruppen männlich scheinkastriert, männlich kastriert, weiblich scheinkastriert und weiblich kastriert. Bei den Kalium Werten zeigt sich ein Unterschied: Die Gruppe weiblich scheinkastriert zeigt signifikant niedrigere Kalium Werte im Vergleich zur Gruppe weiblich kastriert. Es konnte kein Einfluss der Geschlechtshormone auf die Serumspiegel des Natriums, Kaliums und Kalziums beobachtet werden.

Tabelle 17: Natrium (mmol/l)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	22	138,4	±	1,4	138,6	±	2,2	138,9	±	2,1	-
mk	15	137,9	±	1,6	139,1	±	2,6	139,0	±	2,1	-
ws	30	137,7	±	1,7	138,9	±	2,8	137,9	±	3,1	-
wk	21	138,7	±	4,2	139,6	±	2,3	137,9	±	1,7	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 18: Kalium (mmol/l)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	20	4,1	±	0,4	4,1	±	0,5	4,0	±	0,6	-
mk	15	4,3	±	0,4	4,1	±	0,4	4,0	±	0,4	-
ws	30	4,0	±	0,4	3,8	±	0,6	3,9	±	0,5	*wk
wk	16	4,4	±	0,5	4,3	±	0,3	4,3	±	0,4	*ws

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 19: Kalzium (mmol/l)

GR	n	Baseline			30 min post-SAB			60 min post-SAB			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	
ms	21	1,2	±	0,2	1,2	±	0,2	1,2	±	0,2	-
mk	15	1,2	±	0,3	1,2	±	0,3	1,2	±	0,3	-
ws	30	1,1	±	0,3	1,0	±	0,4	1,0	±	0,3	-
wk	21	1,2	±	0,2	1,1	±	0,3	1,2	±	0,2	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; GR = Gruppe; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

3.6 Mittlerer arterieller Blutdruck

Der Verlauf des mittleren arteriellen Blutdrucks zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen den 4 Gruppen männlich scheinkastriert, männlich kastriert, weiblich scheinkastriert, weiblich kastriert. Es konnten auch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern beobachtet werden. Ähnlich konnte kein Zusammenhang zwischen den Geschlechtshormonen und dem Blutdruck festgestellt werden.

Tabelle 20: Mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)

Zeit (min)	männlich scheinkastriert			männlich kastriert			weiblich scheinkastriert			weiblich kastriert		
	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF
Base	90,8	±	2,1	96,4	±	2,7	101,1	±	2,1	90,9	±	2,2
1	86,6	±	7,4	87,6	±	6,4	90,0	±	5,7	89,7	±	5,8
2	89,2	±	6,8	90,3	±	7,7	98,5	±	6,7	95,7	±	5,1
3	91,7	±	6,2	99,7	±	7,2	98,2	±	6,0	91,6	±	5,3
4	93,1	±	5,7	94,1	±	6,8	95,0	±	6,3	90,2	±	4,5
5	94,4	±	5,7	86,3	±	8,0	95,8	±	5,8	89,1	±	4,0
10	83,7	±	3,7	84,7	±	6,4	86,9	±	2,8	89,8	±	3,0
15	80,1	±	2,6	86,9	±	4,8	87,4	±	3,4	94,1	±	3,0
20	90,0	±	2,8	93,2	±	4,3	87,0	±	3,3	88,7	±	2,6
25	93,4	±	3,7	89,4	±	3,8	109,4	±	6,2	98,2	±	6,6
30	107,2	±	7,5	89,1	±	8,5	101,1	±	6,2	101,1	±	6,5
35	91,3	±	3,6	86,6	±	6,4	92,1	±	4,5	87,2	±	2,8
40	87,7	±	2,4	86,0	±	4,4	92,3	±	3,7	94,0	±	3,2
45	90,0	±	2,3	91,6	±	4,9	89,5	±	2,7	92,2	±	3,5
50	88,1	±	5,4	89,4	±	3,9	90,2	±	2,1	87,8	±	2,5
55	102,3	±	6,5	97,0	±	9,8	98,6	±	4,5	97,0	±	4,8
60	102,2	±	8,3	89,3	±	4,7	91,9	±	4,5	94,3	±	4,7

MW = Mittelwert; SF = Standardfehler; Base = Baseline

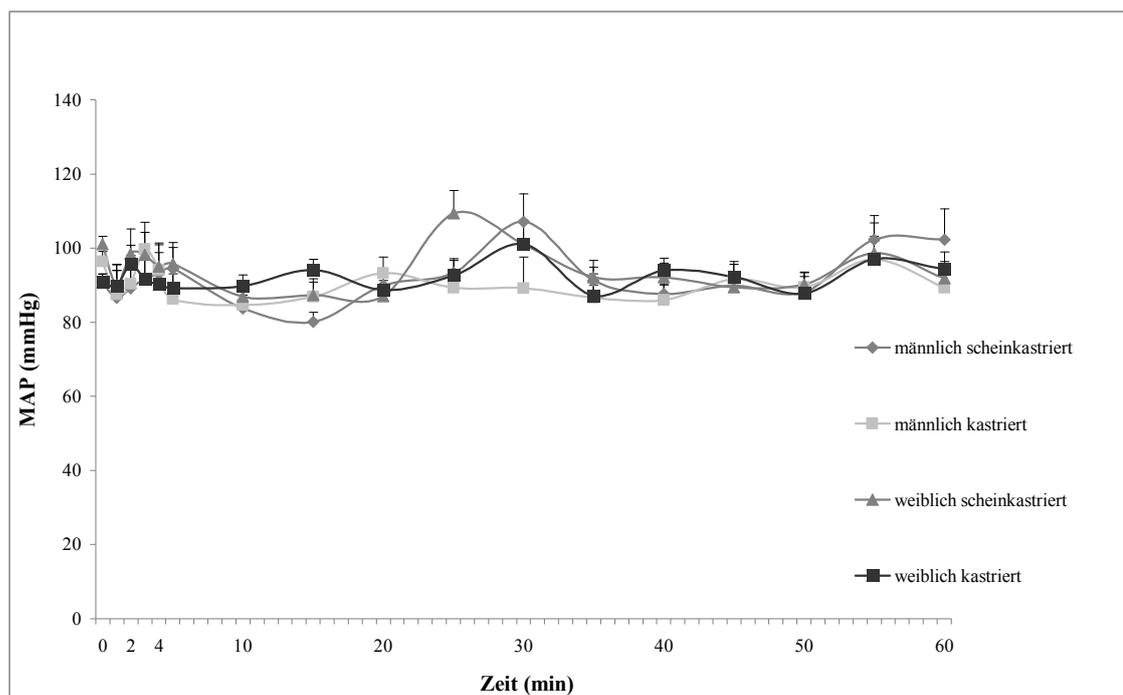


Abbildung 4: Mittlerer arterieller Blutdruck

Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede im Noradrenalinbedarf der ersten Stunde zwischen beiden Geschlechtern sowie zwischen den 4 Gruppen nachgewiesen werden: Der Serumspiegel der Geschlechtshormone bewirkt keinen Einfluss auf die Menge des verabreichten Noradrenalins.

Tabelle 21: Noradrenalin ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$); Gesamtdosis in 60 Minuten

Gruppe	n	Noradrenalin			Signifikante Differenz mit
		MW	\pm	SD	
männlich scheinkastriert	22	10,3	\pm 9,7	-	
männlich kastriert	15	20,00	\pm 13,0	-	
weiblich scheinkastriert	30	21,00	\pm 24,0	-	
weiblich kastriert	22	15,90	\pm 21,3	-	

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

3.7 Intrakranieller Druck (ICP) und zerebraler Perfusionsdruck (CPP)

Im Verlauf des intrakraniellen Drucks und des zerebralen Perfusionsdrucks zeigten sich weder zwischen den beiden Geschlechtern noch zwischen den 4 untersuchten Gruppen signifikante Unterschiede. Es konnte kein Einfluss der Geschlechtshormone auf die Höhe des intrakraniellen Druckes und des zerebralen Perfusionsdruckes beobachtet werden.

Tabelle 22: Intrakranieller Druck (mmHg)

Zeit (min)	männlich scheinkastriert			männlich kastriert			weiblich scheinkastriert			weiblich kastriert		
	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF
Base	8,8	±	0,5	9,3	±	0,7	8,2	±	0,4	8,5	±	0,4
1	52,3	±	8,5	63,9	±	7,5	66,9	±	6,2	60,6	±	7,4
2	48,1	±	8,9	60,5	±	8,9	70,2	±	8,9	57,6	±	9,4
3	46,5	±	8,9	59,2	±	8,2	64,7	±	8,9	50,3	±	8,5
4	44,9	±	8,0	49,2	±	6,1	60,2	±	8,9	55,3	±	8,4
5	42,4	±	6,8	39,6	±	5,1	55,3	±	8,4	40,0	±	6,4
10	29,6	±	3,9	33,3	±	5,8	39,6	±	5,0	26,1	±	2,5
15	26,7	±	2,8	35,5	±	5,7	36,3	±	4,9	25,4	±	2,3
20	29,7	±	3,6	33,5	±	5,3	34,4	±	4,1	30,1	±	3,4
25	28,5	±	3,2	33,6	±	5,8	35,3	±	4,5	25,4	±	2,1
30	25,6	±	2,5	28,3	±	3,7	31,9	±	3,3	25,2	±	2,1
35	27,0	±	2,7	28,5	±	3,7	33,7	±	3,7	24,8	±	1,8
40	27,2	±	2,5	28,5	±	3,5	34,6	±	4,0	27,7	±	1,9
45	28,1	±	2,7	32,1	±	4,0	34,9	±	4,3	27,7	±	2,3
50	27,2	±	2,5	29,3	±	3,6	35,0	±	4,1	26,3	±	1,8
55	27,4	±	2,6	29,3	±	3,7	34,8	±	4,1	25,3	±	2,1
60	26,4	±	2,5	31,2	±	5,0	33,4	±	3,7	24,7	±	1,9

MW = Mittelwert; SF = Standardfehler; Base = Baseline

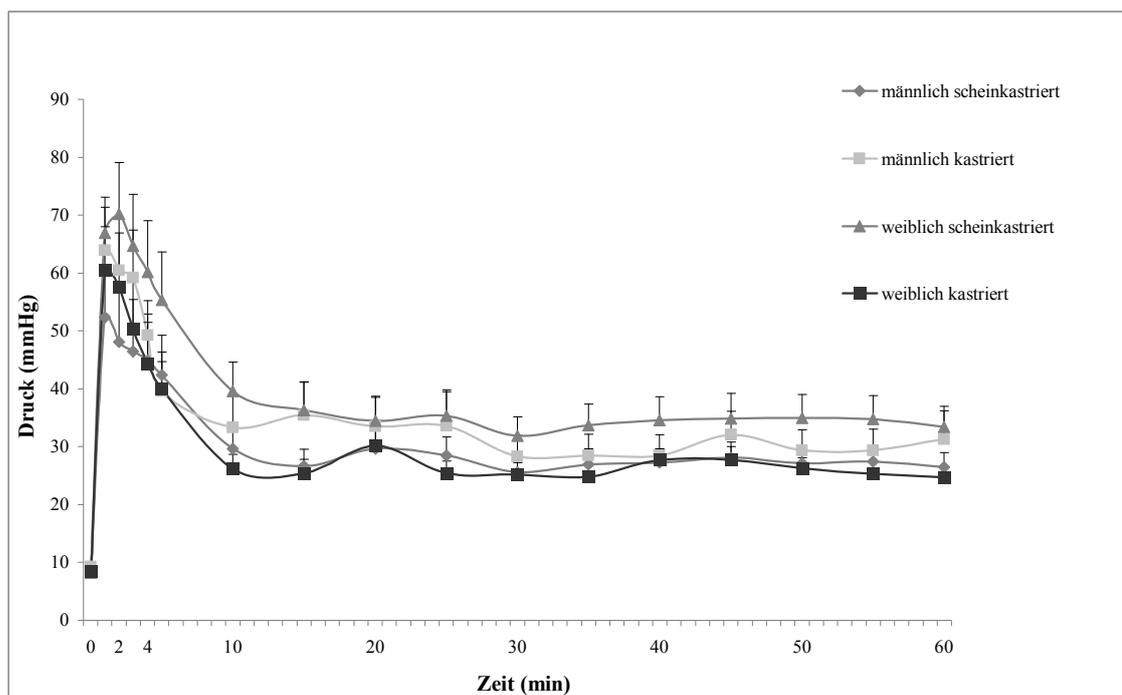


Abbildung 5: Intrakranieller Druck

Tabelle 23: Zerebraler Perfusionsdruck (mmHg)

Zeit (min)	männlich scheinkastriert			männlich kastriert			weiblich scheinkastriert			weiblich kastriert		
	MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD	MW	±	SD
Base	82,0	±	2,1	87,2	±	3,0	92,9	±	2,2	82,4	±	2,3
1	34,3	±	4,9	23,7	±	4,7	23,1	±	3,3	29,1	±	5,4
2	41,0	±	5,1	23,7	±	5,3	28,3	±	4,0	38,1	±	6,7
3	45,2	±	5,1	40,6	±	8,3	33,5	±	5,0	41,4	±	5,5
4	48,2	±	5,3	46,7	±	8,5	34,8	±	6,2	45,8	±	6,0
5	52,0	±	5,6	46,7	±	9,0	40,5	±	5,9	49,2	±	6,2
10	54,0	±	5,4	51,3	±	6,6	47,4	±	4,8	63,6	±	4,9
15	53,4	±	4,3	51,5	±	6,5	51,1	±	5,0	68,7	±	3,9
20	60,3	±	5,4	59,8	±	6,7	52,6	±	4,8	58,5	±	5,3
25	64,9	±	4,2	55,7	±	5,4	74,1	±	7,7	72,7	±	7,2
30	81,6	±	8,1	60,9	±	10,0	69,2	±	7,3	75,9	±	7,0
35	64,4	±	4,9	58,1	±	7,6	58,4	±	5,8	62,5	±	3,7
40	60,5	±	3,6	57,5	±	5,9	57,7	±	5,1	66,1	±	3,5
45	61,8	±	3,4	59,5	±	6,8	54,6	±	3,8	64,5	±	2,8
50	60,9	±	4,6	60,1	±	6,5	55,3	±	4,3	61,6	±	2,8
55	74,9	±	6,4	67,7	±	11,4	63,9	±	4,4	70,8	±	5,7
60	75,8	±	8,6	58,1	±	6,8	58,5	±	6,1	69,6	±	5,2

MW = Mittelwert; SF = Standardfehler; Base = Baseline

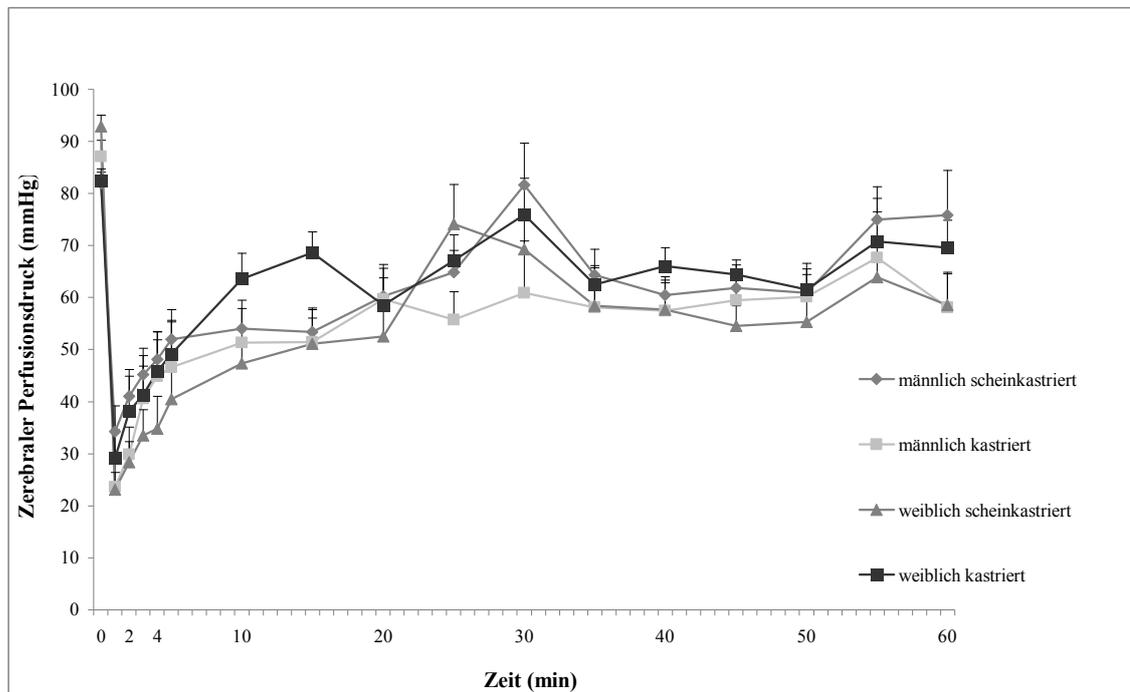


Abbildung 6: Zerebraler Perfusionsdruck

3.8 Laserdoppler-Fluss

Es zeigten sich keine bedeutsamen Unterschiede im Laserdoppler-Fluss zwischen den beiden Geschlechtern oder zwischen den 4 Gruppen männlich scheinkastriert, männlich kastriert, weiblich scheinkastriert und weiblich kastriert. Die Gruppe der weiblich scheinkastrierten Tiere zeigt tendenziell einen niedrigeren Laserdoppler-Fluss auf der zum Schaden ipsilateralen Seite.

Tabelle 24: Laserdoppler-Fluss rechts (% des Ausgangwertes)

Zeit (min)	männlich scheinkastriert			männlich kastriert			weiblich scheinkastriert			weiblich kastriert		
	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF
Base	1,00	±	0,00	1,00	±	0,00	1,00	±	0,00	1,00	±	0,00
1	0,29	±	0,07	0,17	±	0,05	0,13	±	0,03	0,21	±	0,05
2	0,28	±	0,06	0,21	±	0,06	0,10	±	0,02	0,22	±	0,05
3	0,31	±	0,07	0,31	±	0,07	0,13	±	0,03	0,28	±	0,08
5	0,44	±	0,10	0,42	±	0,08	0,18	±	0,04	0,29	±	0,07
10	0,41	±	0,09	0,48	±	0,09	0,24	±	0,05	0,35	±	0,08
15	0,35	±	0,07	0,48	±	0,09	0,32	±	0,06	0,47	±	0,10
20	0,46	±	0,08	0,50	±	0,09	0,33	±	0,06	0,47	±	0,08
25	0,49	±	0,07	0,52	±	0,09	0,38	±	0,07	0,47	±	0,08
30	0,49	±	0,08	0,54	±	0,11	0,36	±	0,06	0,49	±	0,08
35	0,55	±	0,08	0,57	±	0,10	0,40	±	0,07	0,48	±	0,07
40	0,49	±	0,06	0,57	±	0,09	0,41	±	0,07	0,50	±	0,07
45	0,55	±	0,07	0,53	±	0,09	0,40	±	0,06	0,49	±	0,06
50	0,60	±	0,08	0,55	±	0,09	0,40	±	0,07	0,48	±	0,06
55	0,60	±	0,07	0,51	±	0,07	0,43	±	0,06	0,49	±	0,06
60	0,59	±	0,06	0,56	±	0,09	0,41	±	0,06	0,53	±	0,06

MW = Mittelwert; SF = Standardfehler; Base = Baseline

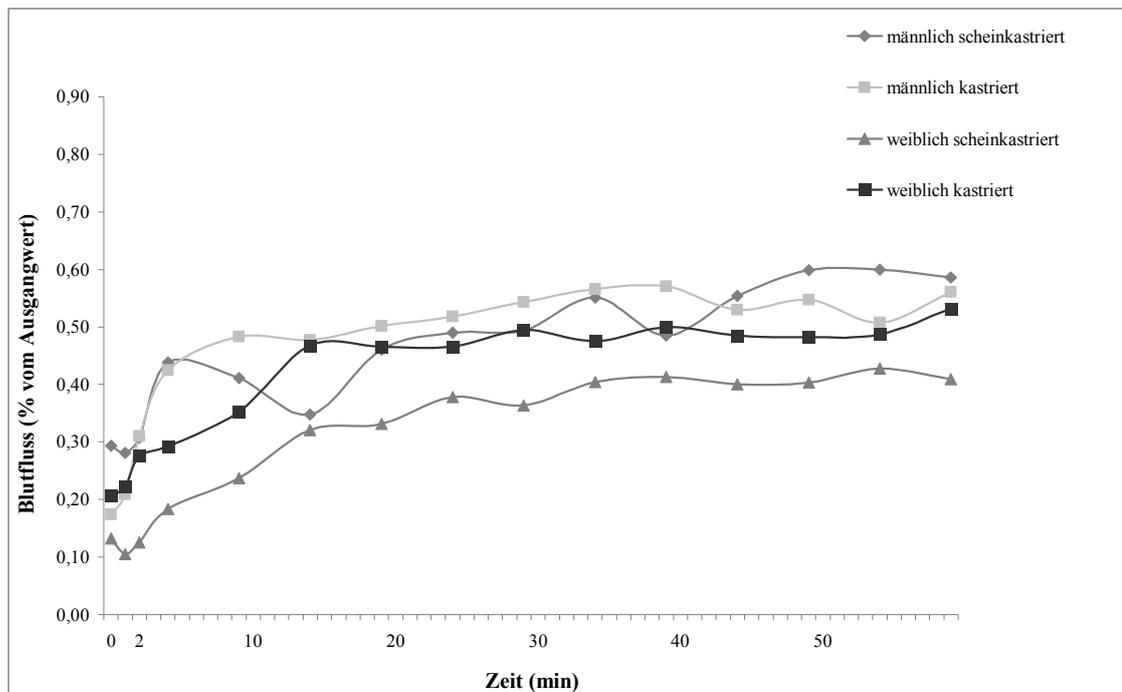


Abbildung 7: Mit dem Laserdoppler gemessener zerebraler Blutfluss rechts

Tabelle 25: Laserdoppler-Fluss links (% des Ausgangwertes)

Zeit (min)	männlich scheinkastriert			männlich kastriert			weiblich scheinkastriert			weiblich kastriert		
	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF	MW	±	SF
Base	1,00	±	0,00	1,00	±	0,00	1,00	±	0,00	1,00	±	0,00
1	0,38	±	0,07	0,24	±	0,04	0,27	±	0,05	0,34	±	0,06
2	0,37	±	0,07	0,25	±	0,06	0,25	±	0,04	0,36	±	0,07
3	0,41	±	0,07	0,32	±	0,07	0,29	±	0,05	0,38	±	0,07
5	0,45	±	0,08	0,41	±	0,07	0,41	±	0,08	0,48	±	0,07
10	0,46	±	0,07	0,51	±	0,08	0,50	±	0,08	0,52	±	0,07
15	0,49	±	0,08	0,50	±	0,08	0,55	±	0,08	0,62	±	0,07
20	0,55	±	0,08	0,64	±	0,09	0,59	±	0,08	0,59	±	0,07
25	0,60	±	0,08	0,62	±	0,10	0,64	±	0,08	0,59	±	0,07
30	0,57	±	0,07	0,58	±	0,11	0,64	±	0,07	0,65	±	0,08
35	0,61	±	0,06	0,63	±	0,11	0,65	±	0,07	0,64	±	0,07
40	0,63	±	0,05	0,68	±	0,10	0,68	±	0,08	0,79	±	0,11
45	0,69	±	0,05	0,67	±	0,09	0,68	±	0,08	0,67	±	0,06
50	0,72	±	0,05	0,72	±	0,09	0,68	±	0,08	0,69	±	0,07
55	0,71	±	0,04	0,70	±	0,08	0,71	±	0,09	0,64	±	0,06
60	0,70	±	0,04	0,73	±	0,11	0,70	±	0,09	0,71	±	0,08

MW = Mittelwert; SF = Standardfehler; Base = Baseline

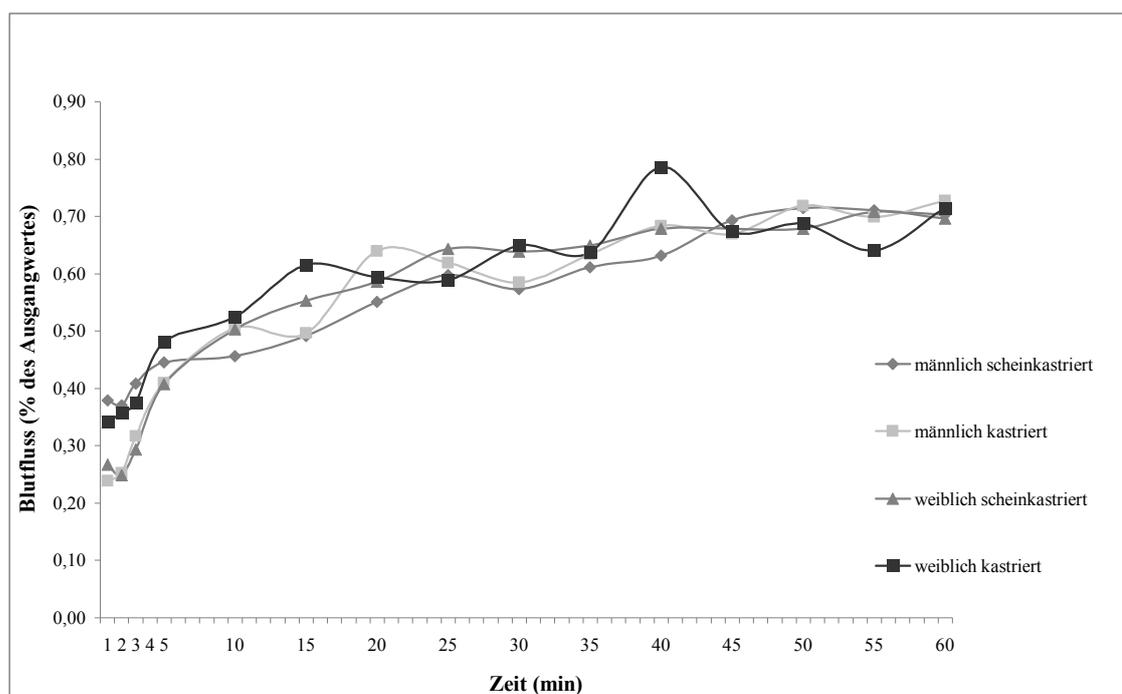


Abbildung 8: Mit dem Laserdoppler gemessener zerebraler Blutfluss links

3.9 Infarktvolumen und Infarktanzahl

Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede im totalen Infarktvolumen des Gesamtgehirns zwischen den Geschlechtern oder zwischen den 4 Gruppen nachgewiesen werden.

Die männlichen Tiere zeigten eine signifikant geringere Anzahl an Infarkten im gesamten Gehirn im Vergleich zu den weiblichen Tieren ($p < 0,025$).

Darüber hinaus konnte eine Korrelation ($R = 0,444$, $p = 0,005$) zwischen der Infarktanzahl und dem Progesteron Serumspiegel festgestellt werden. Ein Zusammenhang zwischen den Hormonen Östrogen oder Testosteron und der Gehirnmorphologie nach Gehirnschämie konnte dagegen nicht beobachtet werden.

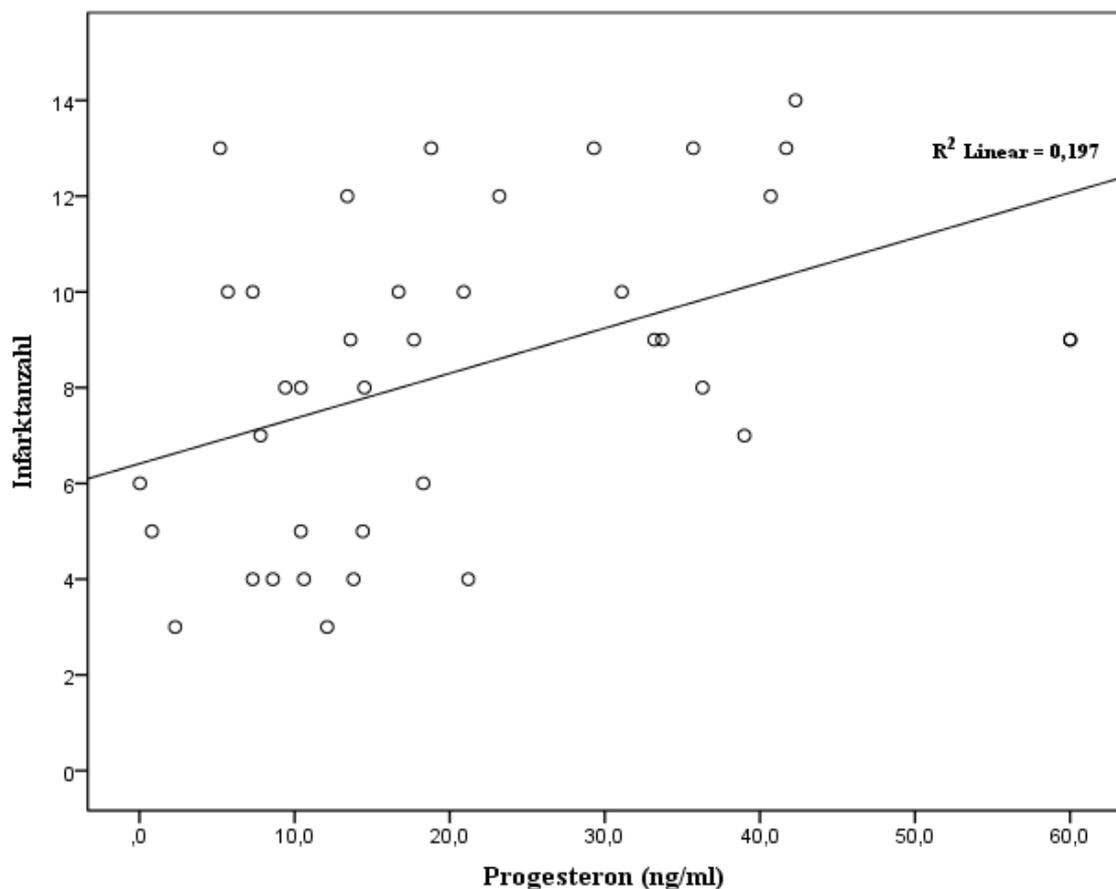


Abbildung 9: Korrelation des Hormons Progesteron mit der Gesamtzahl der Infarkte

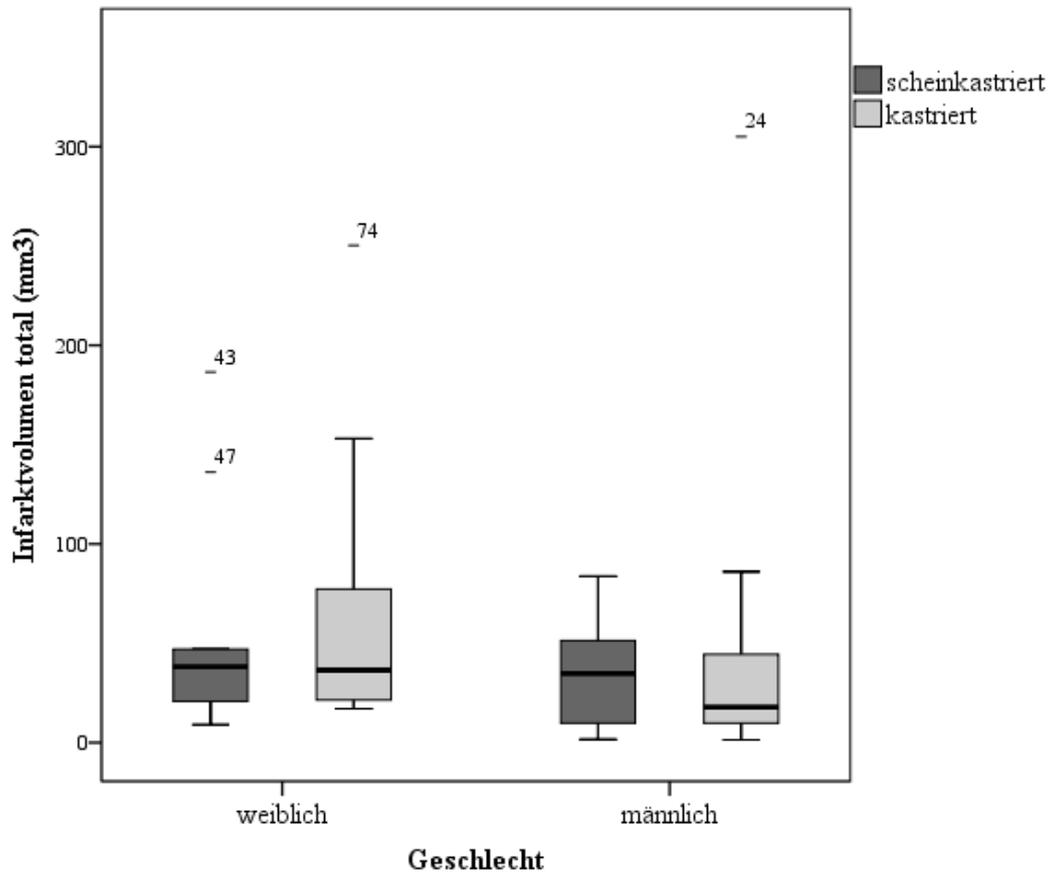


Abbildung 10: Das totale Infarktvolumen in den 4 Gruppen am Tag 14 nach SAB

Tabelle 26: Totales Infarktvolumen (mm³)

Gruppe	n	Infarktvolumen			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	
männlich scheinkastriert	9	37,1	±	28,5	-
männlich kastriert	10	52,9	±	92,1	-
weiblich scheinkastriert	10	57,0	±	57,6	-
weiblich kastriert	9	71,7	±	79,6	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

Tabelle 27: Infarktanzahl

Gruppe	n	Infarktanzahl			Signifikante Differenz mit
		MW	±	SD	
männlich scheinkastriert	9	7,1	±	3,4	*ws, wk
männlich kastriert	10	6,3	±	2,5	*ws, wk
weiblich scheinkastriert	10	9,5	±	3,0	-
weiblich kastriert	9	10,7	±	2,5	-

ms = männlich scheinkastriert; mk = männlich kastriert; ws = weiblich scheinkastriert; wk = weiblich kastriert; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Tieranzahl; * = $p \leq ,05$

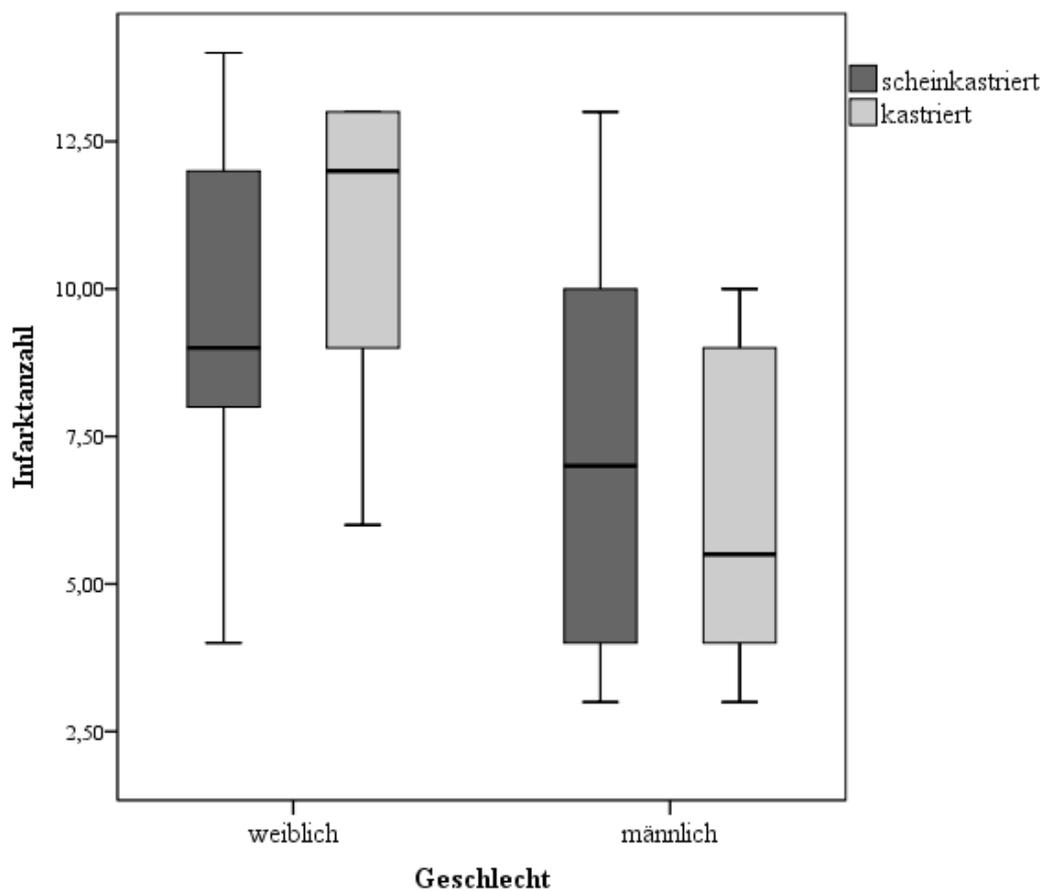


Abbildung 11: Infarktanzahl in den 4 Gruppen am Tag 14 nach SAB

3.10 Mortalität

Es konnte weder ein Einfluss des Geschlechts noch ein Einfluss der Kastration oder der Geschlechtshormone Östrogen, Progesteron und Testosteron auf die Mortalität nach einer SAB beobachtet werden.

Tabelle 28: Mortalität

	männlich	weiblich	gesamt
scheinkastriert	54,55 %	66,67 %	61,54 %
kastriert	33,33 %	54,55 %	45,95 %
gesamt	45,95 %	61,54 %	

Insgesamt wurden 45,95 % der männlichen und 61,54 % der weiblichen Tiere nach Beenden der operativen Phase nicht wach oder konnten nicht extubiert werden. Nach der Euthanasie und nachfolgenden Kraniektomie zeigte sich bei diesen Tieren eine massive intrakranielle Blutverbreitung in die basalen Zisternen und auch über die Oberfläche der beiden Hemisphären, dazu eine starke Gehirnschwellung und häufig eine Herniation in das Foramen magnum.

In der Abbildung 12 wird gezeigt, zu welchem Zeitpunkt Tiere gestorben sind bzw. euthanasiert wurden:

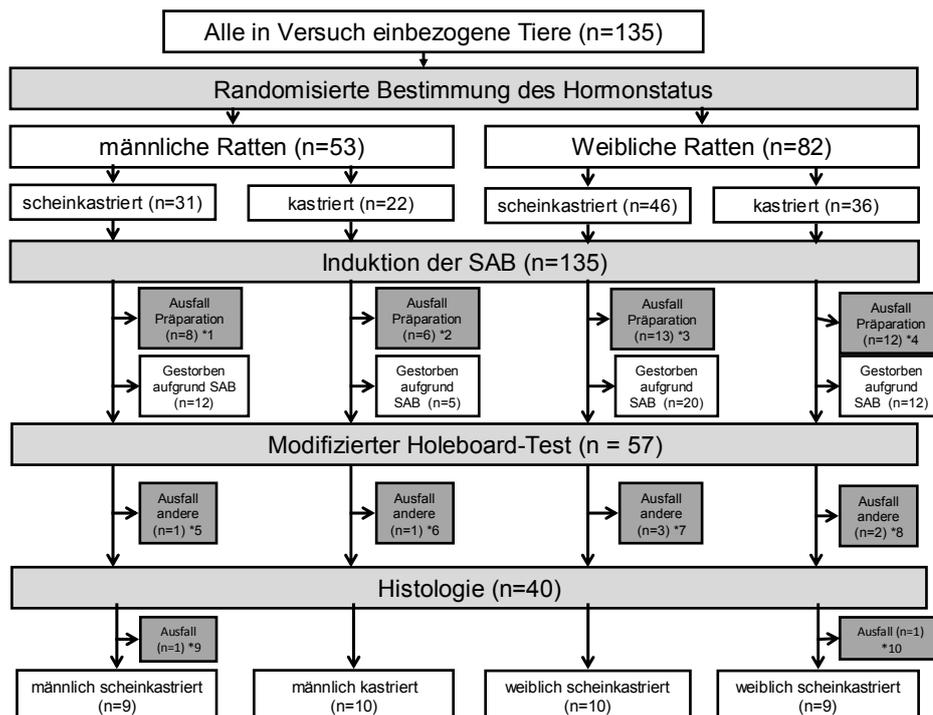


Abbildung 12: Flussdiagramm - Darstellung der Mortalität in den 4 Gruppen im Laufe des Versuches

*1 – bei 4 Ratten war der Faden, mit dem die SAB induziert werden sollte („Perforationsfaden“), nicht einzuführen und die *A. pterygopalatina* wurde perforiert. Bei 2 Ratten konnte aufgrund falsch platzierter Laserdoppler (LD) Sonden kein LD Abfall gemessen werden. 1 Ratte wurde aufgrund eines zu stark abweichenden Gewichts ausgeschlossen.
 *2 – bei 2 Ratten traten technische Probleme bei der Datenaufzeichnung auf. Bei 2 Ratten wurden die Laserdopplersonden falsch platziert. Eine Ratte wurde wegen einer unkontrollierbaren metabolischen Entgleisung ausgeschlossen und bei einer Ratte wurde der Perforationsfaden zu tief eingeführt.

*3 – bei 5 Ratten war der Perforationsfaden in die A. carotis interna, (ACI) nicht einführbar, bei 1 Ratte wurde der Perforationsfaden zu tief eingeführt. Bei 1 Ratte konnte der mittlere arterielle Blutdruck aufgrund eines zithrombotisierten Katheters nicht gemessen werden. 1 Ratte wurde wegen nicht kontrollierbaren Blutdrucks ausgeschlossen, bei 2 Ratten kam es zu technischen Problemen, bei der Beatmung von 1 Ratte wurde während des Versuchs versehentlich extubiert und subsequent sofort getötet. Bei 1 Ratte kam es zu technischen Problemen des Heizungssystems.

*4 – bei 6 Ratten ließ sich der Perforationsfaden nicht einführen. Bei 1 Ratte konnte aufgrund technischer Probleme keine Blutgasanalyse durchgeführt werden, 1 Ratte war nicht intubierbar, bei 1 Ratte war die Blutdruck Messung aus technischen Gründen nicht möglich und bei 1 Ratte wurde iatrogen versehentlich eine Nachblutung induziert.

*5 – 1 Ratte entwickelte eine Schwanznekrose

*6 – 1 Ratte entwickelte eine Bein thrombose, 1 Ratte entwickelte einen Bauchabszess.

*7 – 2 Ratten entwickelten Bein thrombosen, 1 Ratte entwickelte einen Bauchabszess, 1 Ratte musste aufgrund einer Paraparese der Hinterpfoten euthanasiert werden

*8 – bei 1 Ratte kam es zu einer Beinschwellung, bei 1 Ratte führte eine Zahnfehlstellung zu übermäßigem Gewichtsverlust und damit zu dem Ausschluss aus der Studie.

3.11 Logistische Regression

Jeder der folgenden Parameter: Der intrakranielle Druck (ICP), der zerebrale Perfusionsdruck (CPP), der Laserdoppler Blutfluss rechts (LDre) und links (LDli) konnten den Tod vorhersagen. Der Parameter Laserdoppler-Fluss rechts war von allen diesen Werten am stärksten prädiktiv.

Tabelle 29: Logistische Regression ausgewählter Parameter

	Exp(B)	Exp(B)	Exp(B)	Exp(B)	Exp(B)	Exp(B)
MAP_mean0_60	0,236	1,043	-	-	-	-
ICP_mean0_60	4,576	-	1,139*	-	-	-
CPP_mean0_60	4,177	-	-	,918*	-	-
LDre_mean0_60	,011*	-	-	-	,002*	-
LDli_mean0_60	0,165	-	-	-	-	,006*
Geschlecht	0,472	0,543	0,415	0,415	0,764	0,366
Kastration	0,324	0,54	0,325	0,384	0,556	0,399
Konstante	9,816	0,043	,050*	387,416*	22,486*	50,738*
Prozent richtig	84,30%	59,60%	79,80%	75,30%	80,90%	75,30%
Nagelkerke R ²	0,682	0,115	0,545	0,41	0,534	0,437

Mean0_60 = Mittelwert der ersten 60 min nach SAB; * = $p \leq ,05$

Sowohl für die Geschlechtshormone (Östrogen, Progesteron, Testosteron) als auch für die Noradrenalin-Dosis und Parameter der Blutgasanalyse (Hämoglobin, Hämatokrit, Sauerstoffpartialdruck, Kohlendioxidpartialdruck, Sauerstoffsättigung, pH, Bikarbonat, Basenüberschuss, Natrium-, Kalium-, Kalziumspiegel) sowie für den Serumglukosespiegel konnte keine Prädiktionskraft bezüglich des Todes festgestellt werden.

4 Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, dass keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Geschlechts bestehen, was die Physiologie während und unmittelbar nach einer SAB anbelangt. Der einzige signifikante Unterschied bestand in der Ausprägung des hirmorphologischen Schadens: Die Anzahl der Hirninfarkte war in den weiblichen Gruppen signifikant höher.

4.1 Modell

Um die Unterschiede bezüglich des Verlaufs und der Erholung nach einer SAB zwischen den Geschlechtern möglichst Klinik-nah untersuchen zu können, mussten wir das Modell wählen, das am ehesten einem tatsächlichen Blutungsverlauf nach einer spontanen Aneurysma-Ruptur entspricht. Zur Auswahl standen (Prunell et al. 2003):

- Punktionsmodell: Dabei wird nach dem Einführen eines Fadens über ein extrakranielles Gefäß intrakraniell die Gefäßwand in Richtung des Subarachnoidalraumes perforiert. Dies kann entweder die A. basilaris (Barry, Gogjian et al. 1979) oder die A. carotis sein (Bedersons Perforationsmodell) (Bederson, Germano et al. 1995).

- Single-Injektions-Modell: Bei diesem Modell wird das autologe Blut in die Cisterna Magna (Delgado, Brismar et al. 1985) oder in den perichiasmalen Subarachnoidalraum appliziert (Piepgras, Thome et al. 1995, Klinge, Beck et al. 1999). Die Blutapplikation erfolgt entweder hirndruckkontrolliert oder es wird ein bestimmtes Volumen Blut gegeben.

- Doppel-Injektions-Modell: Bei diesem Modell wird autologes Blut zweimal im Abstand von 24 Stunden appliziert (Meguro, Clower et al. 2001).

Aus unserer Sicht eignete sich am besten das Perforationsmodell nach Bederson. Dabei entsteht nach dem Einführen eines Fadens (3-0 Prolene) über den extrakraniellen Abschnitt der A. carotis interna in ihren intrakraniellen Anteil und eine anschließende Perforation der Gefäßwand in der Nähe der Abzweigung der A. cerebri media und A. cerebri anterior die Blutung. Im Unterschied zu den Injektionsmodellen kommt es bei diesem Perforationsmodell zu einem Anstieg des intrakraniellen Drucks und zu einer tat-

sächlichen Beschädigung der Gefäßwand. Für das von uns verwendete Fadenmodell spricht auch die Tatsache, dass die am häufigsten rupturierte Gefäßstelle bei Menschen der Abgang der A. cerebri media oder A. cerebri anterior ist (Kongable, Lanzino et al. 1996). Damit lässt sich vermuten, dass aufgrund der Blutverteilung vor allem in den basalen Cisternen der höchste Druckanstieg in der Nähe des Hypothalamus zustande kommt. Der Hypothalamus gilt als Zentrum für die Regulation des Kreislaufs, so dass sich eine Ischämie in diesem Bereich negativ auf den Kreislauf auswirken kann. Bei anderen SAB Modellen mit Ausnahme des perichiasmalen Injektionsmodells, das sehr hohe Ansprüche an die manuellen Fähigkeiten des Versuchsdurchführenden stellt, wird das Gefäß andernorts perforiert oder das Blut direkt in die Cisterna magna eingespritzt. Dadurch kann die intrakranielle Blut- und Druckverteilung von der bei einer spontan auftretenden aneurysmatischen SAB abweichen.

4.2 Gewicht

Hauptendpunkt der hier vorliegenden Studie war die neurologische und neurokognitive Funktion nach SAB. Als Nebenendpunkt wurde der histomorphologische Schaden mit-untersucht. Da das Alter für die Vulnerabilität des Hirngewebes eine wichtige Rolle spielt (Toescu, Verkhratsky et al. 2004, Crivello, Rosenberg et al. 2007), wurden in unserem Experiment Ratten gleichen Alters untersucht. Daraus hat sich ein geschlechts- und hormonabhängiger Gewichtsunterschied zwischen den 4 Gruppen ergeben, da männliche Tiere insgesamt schwerer werden und naturgemäß in der gleichen Zeit mehr an Gewicht zulegen als weibliche Tiere.

Weiblich scheinkastrierte Tiere waren mit knapp über 300 g ($307,5 \pm 3,6$ g) Körpergewicht zum Zeitpunkt der SAB signifikant leichter im Vergleich zu den übrigen 3 Gruppen. Da die SAB bei allen Tieren mit dem gleichen Faden (Prolene 3-0) induziert wurde, lässt sich nicht sicher ausschließen, dass die relativen Unterschiede in der Körpergröße zur Fadengröße eine Rolle für den Umfang des Schadens und der Blutung gespielt haben. Allerdings zeigen sich weder im funktionellen Outcome noch bei den Gesamtinfarktivolumina geschlechts- oder hormonabhängige Unterschiede, sodass wir davon ausgehen, dass in diesem Modell die Relation von Körpergröße zu Fadengröße bei der Ausprägung des Schadens keine entscheidende Rolle gespielt hat.

4.3 Parameter der Blutgasanalyse

4.3.1 Blutzucker

Der Glukose Spiegel unterscheidet sich nicht zwischen allen 4 Gruppen. Interessant ist allerdings die Beobachtung, dass die initial erhöhte Blutglukose bei den männlich kastrierten Ratten im Verlauf der SAB absinkt. Im Unterschied dazu stieg der Blutzuckerspiegel der weiblich scheinkastrierten Ratten an. Eine der wahrscheinlichsten Ursachen für diesen Anstieg des Serumglukosespiegels bei den SAB Tieren, die keine exogene Zufuhr von Glukose erhielten, ist eine durch die Stressreaktion bedingte Ausschüttung der proglykämischen Hormone wie Kortisol, Katecholamine, Wachstumshormon, und Zytokine (Andrews and Walker 1999, Barth, Albuszies et al. 2007, Dungan, Braithwaite et al. 2009). Eine retrospektive Studie an über 3000 kardiochirurgischen Patienten hat gezeigt, dass das Geschlecht ein unabhängiger prädiktiver Faktor für die Entwicklung einer perioperativen Hyperglykämie ist (Garg, Grover et al. 2013). Diese Beobachtung wird u.a. von einem Rattenexperiment unterstützt, bei dem die Geschlechtsunterschiede in der humoralen Reaktion beider Geschlechter auf Stress untersucht wurden. Die Autoren konnten zeigen, dass die weiblichen Tiere der Studie einen schnelleren und stärkeren Anstieg von Kortikosteroiden sowie eine ausgeprägtere Suppression des Wachstumshormones aufwiesen als die männlichen Tiere (Kant, Lenox et al. 1983). Daraus lässt sich schließen, dass die weiblichen Tiere auf bestimmte Stressstimuli, wie in unserem Fall die operativ induzierte SAB, mit einer stärker ausgeprägten Hyperglykämie reagieren als die männlichen Tiere. Diese Schlussfolgerung stimmt mit unseren Ergebnissen überein: Der Wert der Serumglukose steigt im 60-minütigem Verlauf nach SAB bei den weiblichen scheinkastrierten Tieren im Vergleich zu den anderen Tieren stärker an. Darüber hinaus ist eine Hyperglykämie mit einer schlechteren Prognose nach einer SAB verbunden (Schmutzhard, Rabinstein et al. 2011). Laut dieser Erkenntnisse müssten die weiblich scheinkastrierten Tiere im Vergleich zu den anderen Gruppen bezüglich des Outcomes und der Mortalität benachteiligt sein. In unserer Studie konnte allerdings weder in der Sterblichkeit noch in der Neurokognition ein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen wer-

den (Stigler, in Vorb.). Entsprechend sind weitere Untersuchungen notwendig, die sich gezielt mit der Stressreaktion nach SAB beschäftigen, um die Bedeutung dieser Beobachtungen konkret einordnen zu können.

4.3.2 Hämoglobin und Hämatokrit

Bei den weiblich scheinkastrierten Ratten (der vom Gewicht her leichtesten Gruppe) sind der Hämoglobin- und Hämatokrit-Wert über die Zeit stärker abgefallen als bei den anderen drei Gruppen. Das liegt zum einen u.U. an der schwierigeren Präparation, da die weiblich scheinkastrierten Tiere leichter, und damit kleiner sind. Die schwierigere Präparation kann dabei mit einem leicht erhöhten Blutverlust verbunden sein. Darüber hinaus haben weiblich scheinkastrierte Ratten bedingt durch ihr geringeres Körpergewicht ein geringeres Blutvolumen, was sich bei einer 3fachen Blutabnahme stärker auf den Hämoglobinwert auswirkt als bei den schwereren Tieren. Aus klinischen Studien ist bekannt, dass auch SAB Patienten häufig eine Anämie entwickeln. Diese kann eine Hypoxie der Hirngewebe und eine Störung des zerebralen Stoffwechsels („cerebral metabolic distress“) verursachen (Kurtz, Schmidt et al. 2010). Ein ausgeprägter Hämoglobinabfall ist mit einem schlechterem Outcome verbunden (Naidech, Jovanovic et al. 2007, Kramer, Gurka et al. 2008, Kramer, Zygun et al. 2009). Die zuletzt genannten Studien verdeutlichen, dass der in der Literatur bei allgemein chirurgischen Patienten als sichere eingeschätzte Hämoglobin-Wert von 7 mg/dl (Bundesärztekammer 2008) für Patienten, die an einer ischämischen Neuroerkrankung wie SAB leiden, nicht gültig ist. Da aber die Hämoglobinwerte von über 11,0 mg/dl in diesen Studien mit einem besserem Outcome verbunden waren und der niedrigste Wert der Gruppe weiblich scheinkastriert 12,6 mg/dl beträgt, gehen wir davon aus, dass dieser Unterschied zu den anderen Gruppen - obgleich statistisch signifikant - keinen direkten Einfluss auf die Zielgrößen Mortalität, Hirninfarkt und Parameter der intrakraniellen Physiologie hat.

4.3.3 Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck, pH, aktiviertes Bikarbonat und Basenüberschuss

Es konnten zwischen den 4 Gruppen keine Unterschiede im Kohlendioxidpartialdruck nachgewiesen werden. Die Sauerstoffwerte bleiben bei allen Tieren während des gesamten Versuchs im Normbereich. Interessanterweise zeigen die Parameter wie pH und BE leicht erhöhte Werte bei den männlichen im Vergleich zu weiblichen Ratten. Diesen Zusammenhang unterstützt eine schwache Korrelation des Hormons Testosteron mit den Parametern pH, HCO₃⁻ und BE. Alle diese Parameter haben einen Einfluss auf die zerebrale Autoregulation der Hirngefäße (Kontos, Wei et al. 1978, Aaslid, Lindegaard et al. 1989). Da sich die Gruppen im Hinblick auf die CO₂ Werte nicht unterscheiden, ist die Ursache für diese Beobachtung, vermutlich ähnlich wie bei dem Parameter Serumglukose, dem Unterschied in der humoralen Reaktion auf Stress geschuldet (Kant, Lenox et al. 1983). Diese humorale Reaktion auf Stress verursacht eine schlechtere Mikrozirkulation im peripheren Gewebe, was einen Abfall des pH Wertes bewirkt (Allen 2011). Da sich die Gruppen weiterhin nicht in der Arterienolgabe, sondern wie in Kapitel 4.3.1. aufgeführt im Serumglukosespiegel unterscheiden, ist dieses Phänomen bei weiblich scheinkastrierten Tieren möglicherweise auch auf eine gesteigerte Stressreaktion mit erhöhtem Spiegel an endogenen Katecholaminen und anderen Hormonen der Stressreaktion zurückzuführen (Kant, Lenox et al. 1983). Die zerebralen Gefäße besitzen eine eigene Vasoregulation und die Gehirnperfusion hängt vor allem von Parametern wie dem Perfusionsdruck und dem CO₂-Partialdruck ab (Lazaridis, Smielewski et al. 2013), die bei allen Gruppen allerdings keine statistisch signifikanten Unterschiede aufweisen.

4.4 Einfluss des Geschlechts und der Geschlechtshormone auf den Blutdruck

In unserem Versuch wurde der mittlere arterielle Blutdruck mittels Noradrenalin künstlich konstant über 80 mmHg gehalten. Der Arterienol-Bedarf unterscheidet sich dabei zwischen den 4 Gruppen nicht.

Aus klinischen und experimentellen Studien ist bekannt, dass sich die Geschlechter in ihrem Gefäßtonus und in der Reaktion auf verschiedene vasokonstriktorische Substan-

zen unterscheiden. Die Ursache dafür ist wahrscheinlich eine Interaktion der Geschlechtshormone mit den den Gefäßtonus-regulierenden Systemen. Rezeptoren für Östrogen, Progesteron und Testosteron konnten sowohl in den Gefäßendothelien als auch in der glatten Gefäßmuskulatur nachgewiesen werden. Die Wirkung der Rezeptoren entfaltet sich entweder über Gentranskription oder durch andere Mechanismen, wie z.B. durch den transmembranösen Ionenaustausch (Orshal and Khalil 2004).

4.4.1 Östrogen

Seit den 1990er Jahren ist bekannt, dass Östrogene einen Einfluss auf den Gefäßtonus ausüben (Kawano, Motoyama et al. 1997, Gerhard, Walsh et al. 1998). Dies betrifft beide Geschlechter (Lew, Komesaroff et al. 2003). Versuche an einer isolierten Aorta weiblicher Ratten konnten eine deutlich stärkere Stickoxid (NO) induzierte Vasodilatation zeigen als bei männlichen Gefäßen (Kaiser and Rubanyi 1994). Dies ist Östrogenrezeptor-abhängig und die Wirkung wird durch die Stimulation der endothelialen Stickoxid-Synthase entfaltet (Duckles and Miller 2010). Darüber hinaus scheint Östrogen auch über einen von Endothel und Östrogen-Rezeptoren unabhängigen Mechanismus direkt die glatte vaskuläre Muskulatur zu relaxieren (Farhat, Lavigne et al. 1996, Crews and Khalil 1999).

4.4.2 Progesteron

Das Hormon Progesteron besitzt wie Östrogen auch eine vasodilatierende Wirkung. In niedriger physiologischer Dosierung kann Progesteron die Produktion des Endothelin 1 und dadurch die Vasokonstriktion einschränken (Morey, Pedram et al. 1997). Bei steigendem Spiegel (35-140 ng/ml) wird vermutlich eine Relaxation durch eine Interaktion mit Ca^{2+} Kanälen erreicht (Jiang, Sarrel et al. 1992). Anders ist es allerdings bei einem höheren Progesteron Spiegel: Dieser kann durch Blockade der Ca^{2+} Kanäle zu einer verminderten Gefäßrelaxierung führen (Perusquia, Hernandez et al. 1996). Interessanterweise hat sich in einer Studie an Koronararterien von Hunden gezeigt, dass Progesteron die vasodilatierende Wirkung des Östrogens abschwächen kann (Miller and Vanhoutte 1991).

4.4.3 Testosteron

Auch Testosteron besitzt eine vasoaktive Wirkung. An Koronargefäßen von Schweinen wurde gezeigt, dass Testosteron in der Lage ist, die glatte Muskulatur der Gefäße zu relaxieren. Dieser Effekt kommt durch Öffnung der K^+ - Ca^{2+} Kanäle zustande (Deenadayalu, White et al. 2001). Testosteron kann aber auf die Gefäßwand ebenso einen vasokonstriktorisches Effekt ausüben (Geary, Krause et al. 2000). Dieser Effekt ist auf das Endothel beschränkt (Gonzales, Krause et al. 2004) und hängt mit einer erhöhten Expression des Thromboxan A2 zusammen (Gonzales, Ghaffari et al. 2005). Weiterhin wurde gezeigt, dass das Testosteron ähnlich wie Östrogen und Progesteron auch eine direkte, Rezeptor unabhängige Wirkung auf die glatte Gefäßmuskulatur besitzt (Orshal and Khalil 2004).

Aus diesen Überlegungen lässt sich ableiten, dass weiblich scheinkastrierte Tiere einen höheren Noradrenalin-Bedarf haben sollten als männlich scheinkastrierte Tiere. Dies ist in unserer Studie jedoch nicht der Fall. Ein Grund für dieses divergierende Ergebnis könnte sein, dass der betroffene Organismus in den 4 Wochen zwischen Kastration und Induktion der SAB über eine Hochregulation der vasokonstriktorisches wirksamen Substanzen oder deren Rezeptoren bisher nicht untersuchte Kompensationsmechanismen etabliert, die den ursprünglichen Einfluss des Geschlechts auf den Gefäßtonus ins nicht mehr Messbare reduzieren. Eine andere Ursache, wie in der Studie von Miller und Vanhoutte (1991) gezeigt, kann in der gegenseitigen Beeinflussung von Östrogen und Progesteron liegen, die sich gegenseitig in ihrer vasodilatierenden Wirkung abschwächen. Diese Befunde lassen sich aber anhand unserer Daten leider nicht bestätigen.

4.5 Intrakranieller Druck, Blutfluss und Gefäßreagibilität, Infarktvolumen und Mortalität

In der vorliegenden Untersuchung konnte keine Auswirkung des Geschlechts oder der Geschlechtshormone auf die durch eine SAB gestörte Perfusion des Hirngewebes nachgewiesen werden.

Um den Einfluss des Geschlechts auf einen ischämischen Gehirnschaden bei einer SAB interpretieren zu können, müssen mehrere Aspekte berücksichtigt werden. Bei der

Ruptur eines Aneurysmas kommt es zu einer Blutung, die primär durch eine schnelle Vasokonstriktion beendet wird. In unserem Modell simulieren wir diese Aneurysma-Ruptur mit nachfolgender Blutung durch die Perforation der A. cerebri media. Das sich im Subarachnoidalraum verbreitende Blut führt durch zahlreiche Prozesse zu einer Verminderung des zerebralen Blutflusses (Ostrowski, Colohan et al. 2006). Diese akute Vasokonstriktion hält bis zu 24 Stunden an und ist vom Anstieg des ICP und Absinken des CPP unabhängig (Bederson, Levy et al. 1998). Eine effektive Vasodilatation kann in einem nichtperforierten Gefäß einen weiteren ischämischen Schaden minimieren und dadurch neuroprotektiv wirken. Wie im vorherigen Kapitel erwähnt, beeinflussen Geschlechtshormone durch Rezeptor-abhängige und Rezeptor-unabhängige Mechanismen den systemischen Gefäßwiderstand. Wie zahlreiche Studien empirisch nachweisen konnten, entfalten Geschlechtshormone ihre Wirkung auch im zerebralen Gefäßsystem und entsprechend wohl auch im Gehirnparenchym selbst (Shughrue, Lane et al. 1997, Shughrue, Scrimo et al. 2000). Die Zusammensetzung und Verhältnisse der Rezeptoren und Rezeptor-Subtypen zueinander können sich von der systemischen Zirkulation deutlich unterscheiden, wie es auch eine Arbeit von Gonzales und Kollegen (2007) beschreibt. Die Autoren haben entdeckt, dass sich in den Arterien männlicher Ratten sowohl das Enzym 5α -Reduktase als auch das Enzym Aromatase befinden. 5α -Reduktase wandelt das Testosteron in das deutlich potentere Hormon Dihydrotestosteron um. Die Expression des Enzyms Aromatase ist intrakraniell ausschließlich auf das Gefäßendothel beschränkt und wandelt das Testosteron zu 17β -Östradiol um. Durch dieses Enzym kann das potente Hormon 17β -Östradiol auch in der Gefäßwand der männlichen Hirnarterien aus dem Hormon Testosteron produziert werden, dessen Konzentration und Wirkung sich dort von der Konzentration im Blut bedeutsam unterscheiden kann (Gonzales, Ansar et al. 2007).

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen häufen sich, wie in folgendem Abschnitt aufgelistet, experimentelle Studien, die für weibliche Geschlechtshormone ausschließlich positive Effekte auf die zerebrale Perfusion, die Infarktgröße und Apoptose nach einem ischämischen Schaden nachweisen konnten.

4.5.1 Antiödematöse Wirkung der Geschlechtshormone

Eine positive neuroprotektive Eigenschaft der weiblichen Geschlechtshormone auf den intrakraniellen Druck und die zerebrale Perfusion ist die antiödematöse Wirkung.

4.5.1.1 Östrogen

In einem Ischämiemodell an Mäusen wurde beispielsweise entdeckt, dass der Östrogenrezeptor β durch eine Stabilisierung der Blut-Hirn-Schranke die Entstehung eines vasoaktiven Ödems mildern kann. Laut Shin und Kollegen geschieht das durch eine reduzierte Expression des Hypoxie induzierten Faktors 1α (HIF 1α) und des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF), die sich an der inflammatorischen Reaktion beteiligen (Shin, Yang et al. 2013). Eine noch stärkere Ödem-reduzierende Wirkung wurde bei Progesteron festgestellt (Miller, Alley et al. 1996).

4.5.1.2 Progesteron

In einer experimentellen Studie über Schädel-Hirn-Trauma (traumatic brain injury) wurden intakte männliche, intakte weibliche und weibliche Ratten mit einem artifiziell hohen Progesteronspiegel verglichen. Die Untersuchung konnte zeigen, dass Tiere mit hohem Progesteronspiegel (Substitution mit 4 mg/Tag) signifikant weniger Hirnödeme entwickelt haben als intakte weibliche Tiere mit physiologischem Progesteronspiegel. Die intakten weiblichen Tiere wiesen wiederum weniger stark ausgeprägte Ödeme auf im Vergleich zur Gruppe der männlich intakten Tiere (Roof, Duvdevani et al. 1993).

Entsprechend dieser Beobachtungen reduzieren beide weiblichen Geschlechtshormone die Entstehung eines Gehirnödems. Basierend auf diesen Überlegungen sollten weiblich scheinkastrierte Tiere im Grunde niedrigere Werte des intrakraniellen Drucks als andere Gruppen aufweisen. Diese Auswirkung konnte in unserer Studie nicht nachgewiesen werden. An dieser Stelle sei aber erwähnt, dass die klassische Methode zur Feststellung eines Hirnödems im Rahmen einer experimentellen Studie das Wiegen des Hirngewebes zunächst direkt nach der Euthanasie und das zweite Mal nach einer Wasserevaporation bei 110 °C für 24 Stunden ist (Schwab, Bauer et al. 1997). Aus dem derart gewon-

nenen Gewichtsunterschied wird die Menge des Gehirnwassers berechnet. Da aber die Tiere in der hier vorliegenden Studie aufgrund der kognitiven Untersuchung erst 14 Tage nach SAB euthanasiert wurden, war die Anwendung dieser Methode nicht möglich. Zudem ist der intrakranielle Druck an sich auch noch von anderen Parametern als nur vom zerebralen Ödem abhängig. Ein wichtiger Faktor ist die Durchblutung des Hirnparenchyms (Striabel 2008). Eine weitere, sehr wichtige Einflussgröße ist die Menge des sich in den Subarachnoidalraum verbreitenden Blutes (Prunell, Mathiesen et al. 2003). Aus diesem Grund kann bezüglich der Ödem-modulierenden Wirkung der Geschlechtshormone in unserem Versuch keine genaue Aussage getroffen werden. Da sich aber der intrakranielle Druck zwischen den 4 Gruppen nicht unterscheidet, wird davon ausgegangen, dass auch das Ausmaß der mit dem 3-0 Prolene Faden induzierten Blutung zwischen den 4 Gruppen männlich scheinkastriert, männlich kastriert, weiblich scheinkastriert und weiblich kastriert vergleichbar ist.

4.5.2 Geschlechtshormone und zerebrale Vasodilatation

In unserem Versuch konnten keine Geschlechtsunterschiede im zerebralen Blutfluss nach einer SAB festgestellt werden. Wie schon am Anfang des Kapitels erwähnt, befinden sich Östrogenrezeptoren auch in den das Gehirn versorgenden Gefäßen, wo die Östrogene ihre vasodilatierende Wirkung entfalten. Die Hormone Progesteron und Testosteron besitzen wie nachfolgend beschrieben ebenfalls eine auf die Gehirnvaskulatur vasoregulierende Wirkung.

4.5.2.1 Östrogen

Auch an männlichen Ratten konnte nachgewiesen werden, dass 17β -Östradiol das Ausmaß von Vasospasmen im Rahmen einer experimentellen SAB reduzieren kann. Dies findet einerseits über eine reduzierte Produktion und Freisetzung des Endothelin 1 statt (Lin, Dumont et al. 2006), auf der anderen Seite kommt es Östrogen Rezeptorspezifisch über eine Transaktivierung des nukleären Faktor KappaB zu einer Steigerung der Aktivität der induzierbarer NO-Synthase (iNOS). Gleichzeitig wird das Absinken

der Aktivität der endothelialen/endogenen NO-Synthase (eNOS) verhindert (Lin, Shih et al. 2006, Shih, Lin et al. 2006).

4.5.2.2 Progesteron

Die Wirkung von Progesteron wurde im Zusammenhang mit SAB bisher kaum untersucht. Eine Studie an Ratten von Lu und Cho (1996) konnte zeigen, dass die Vasodilatation der zerebralen Mikrozirkulation bei weiblichen Ratten stärker mit einer Progesteron- als mit einer Östrogengabe korreliert (Lu, Cho et al. 1996). Dagegen konnten in einer Studie an Frauen, die im Rahmen einer in vitro-Fertilisation einer kontrollierten Hormonstimulation ausgesetzt wurden, keine Unterschiede im zerebralen Blutfluss festgestellt werden (Nevo, Soustiel et al. 2007).

4.5.2.3 Testosteron

Die männlichen Geschlechtshormone scheinen eine andere Rolle zu haben. Dihydrotestosteron begünstigt die Inflammation in der postischämischen zerebralen Gefäßwand. Es konnten erhöhte Werte der NFkappaB Produkte wie Cyclooxygenase-2 (COX-2) und iNOS gemessen werden (Gonzales, Duckles et al. 2009). In einem in vitro Versuch, in dem bei Ratten unter bestimmten Bedingungen der Durchmesser der mittleren Zerebralarterie bestimmt wurde, konnte nachgewiesen werden, dass Tiere, die Testosteron besitzen, auch einen höheren Grundtonus der Gefäßmuskulatur aufweisen (Geary, Krause et al. 2000).

Laut den Ergebnissen dieser Studien zum Thema Geschlechtshormone und zerebrale Perfusion begünstigen weibliche Geschlechtshormone (und zwar vor allem Östrogene) eine Vasodilatation, und männliche Geschlechtshormone eine Vasokonstriktion. Folglich sollten männlich scheinkastrierte Ratten erniedrigte, und weiblich scheinkastrierte Ratten höhere mit dem Laserdoppler gemessene Blutflusswerte im Vergleich zu den anderen Gruppen aufweisen. Ein Grund für das in unserer Studie von diesen Überlegungen abweichende Ergebnis kann am gewählten Modell liegen. In allen oben genannten Studien wurde die Wirkung der Geschlechtshormone an einem Doppelinjektionsmodell untersucht (s. Kapitel 4.1), bei dem es zu keinem direkten Schaden an den Ge-

hirngefäßen kommt. In unserer Studie ist dagegen die subarachnoidale Blutung durch die Perforation eines intrakraniellen Gefäßes induziert. Dabei kommt es zu einem mechanischen Endothelschaden und einer Perforation, womit eine Konstriktion hervorgerufen wird. Ein auf diese Art hervorgerufener Vasospasmus kann in seiner Reaktion viel stärker auftreten als im Rahmen eines ausschließlichen Ischämie-Reperfusionsschadens, wie er beim Doppelinjektionsmodell auftritt.

4.5.3 Einfluss des Geschlechts auf das Infarkt-Ausmaß

Die Daten der vorgelegten Studie zeigen eine höhere Anzahl an Gehirninfarkten nach einer SAB bei den weiblichen Tieren. Die Infarktgesamtfläche unterscheidet sich bei beiden Geschlechtern nicht. Die Serumspiegel der Geschlechtshormone beeinflussen das Infarkt-Ausmaß nicht.

4.5.3.1 Östrogene

In einem Rattenmodell der fokalen zerebralen Ischämie („middle cerebral artery occlusion“, MCAO) zeigen weibliche intakte Ratten im Vergleich zu ovariektomierten Ratten in Kortex und Kaudoputamen kleinere Infarktflächen und höhere mit dem Laserdoppler gemessene Blutflusswerte (Alkayed, Harukuni et al. 1998). Eine weitere Studie konnte zeigen, dass dieser Effekt vor allem im Kortex auftritt (Dubal, Kashon et al. 1998). Diese neuroprotektive Eigenschaft der weiblichen Geschlechtshormone wird vermutlich über den Östrogenrezeptor α (ER α) vermittelt (Dubal, Zhu et al. 2001) und konnte auch bei Tieren, die Östrogene bis zu 3 Stunden nach dem ischämischen Ereignis bekommen haben, gemessen werden (Yang, Shi et al. 2000). Positive neuroprotektive Effekte in Form einer Reduktion der Infarktgröße konnte aber nur für Plasma Östrogen-Werte gezeigt werden, die annähernd in physiologischen Bereichen (20 ± 8 pg/ml) lagen (Rusa, Alkayed et al. 1999). Ähnlich wurde in einem Modell der globalen Gehirnischämie bei Wüstenrennmäusen nachgewiesen, dass 17β -Östradiol den Umfang des Zelluntergangs im Hippokampus (konkret in der sog. „Cornu ammonis 1, CA1“ Region) vermindert (Shughrue and Merchenthaler 2003).

Es wurden auch experimentelle Studien zur SAB durchgeführt. So konnte an einem Rattenmodell der SAB durch die Gabe von 17β -Östradiol eine verminderte DNA Fragmentation und eine reduzierte Apoptose im Gyrus dentatus gezeigt werden (Lin, Dumont et al. 2009, Kao, Chang et al. 2013). Anhand dieser Studien müssten die Tiere der Gruppe weiblich scheinkastriert, die Tiere also mit dem höchsten Östrogenspiegel, kleinere Infarkt volumina zeigen als die Ratten aller anderen Gruppen.

4.5.3.2 Progesteron

Zahlreiche tierexperimentelle Studien zur fokalen zerebralen Ischämie haben gezeigt, dass eine Progesteron-Gabe bei männlichen Ratten die Infarktgröße reduzieren kann (Hoffman, Merchenthaler et al. 2006). In einer MCAO-Studie an Ratten konnte nachgewiesen werden, dass eine Progesteron-Gabe zwei Stunden nach dem ischämischen Ereignis nicht nur zur Verkleinerung des Infarktareals im Vergleich zu Kontrolltieren führt, sondern dies auch mit Verbesserung des neurologischen Outcomes verbunden war (Chen, Chopp et al. 1999). Um die Therapiemöglichkeiten für dieses Hormon zu untersuchen, wurde in einem komplexen Modellversuch mit einstündiger fokaler zerebraler Ischämie männlichen Mäusen drei Mal Progesteron intraperitoneal verabreicht, und zwar 1 Stunde, 6 Stunden und 24 Stunden nach dem Ereignis der MCAO. Ein Teil der Tiere wurde danach euthanasiert um das Infarktvolumen zu beurteilen. Ein zweiter Teil der Tiere wurde anschließend motorischen und kognitiven (dem sog. „Water maze“) Tests unterzogen. So konnte gezeigt werden, dass mit Progesteron behandelte Tiere kleinere Infarktvolumina, eine niedrigere Mortalität und darüber hinaus auch bessere motorische und neurokognitive Funktionen aufwiesen im Vergleich zu den nur mit Vehikel (Dimethyl Sulfoxid, DMSO) behandelten Tieren (Gibson and Murphy 2004). Weiterhin wurde an männlichen Tieren nachgewiesen, dass die Progesteron Gabe eine Stunde nach einer SAB die an Toll-like Rezeptor vier und Nukleärem Faktor Kappa B (TLR4/NF-KappaB) gebundene inflammatorische Reaktion und Apoptose mildert (Wang, Zuo et al. 2011). Andere Mechanismen der antiinflammatorischen Wirkung sind: reduzierte Bildung des Interleukin 1β , des Transformierenden Wachstumsfaktor (TGF) $\beta 2$ und der induzierbaren Stickstoffmonoxid Synthase (iNOS) (Miller, Alley et al. 1996).

4.5.3.3 Testosteron

Testosteron und seine Funktion in der Neuroprotektion wurden bisher kaum untersucht. In einem Rattenmodell der fokalen zerebralen Ischämie (MCAO) wurde gezeigt, dass der Testosteronspiegel mit der Größe des Gehirnfarktes zusammenhängen kann. Seine potenziell schädigende Wirkung beruht darauf, dass es die Toxizität von Glutamat steigert (Hawk, Zhang et al. 1998, Yang, Perez et al. 2002, Yang, Liu et al. 2005).

Laut diesen Studien reduzieren weibliche Geschlechtshormone den ischämischen Schaden neuronalen Gewebes, während ihn die männlichen Geschlechtshormone begünstigen. In unserer Studie konnten keine Unterschiede in der gesamten Infarktfläche zwischen den 4 Gruppen festgestellt werden. Genauso konnte kein Einfluss der Geschlechtshormone beobachtet werden. Im Gegensatz zu den oben genannten Studien zeigte die Gruppe der weiblich scheinkastrierten Tiere die höchste Infarktanzahl, die mit dem Serumspiegel des Hormons Progesteron korreliert ($r = 0,444$, $p < 0,05$). Als Ursache für diese Differenz zwischen unseren Ergebnissen und den Ergebnissen anderer Studien ist vor allem das Modell zu berücksichtigen. Keine der in Abschnitt 4.5.3. aufgelisteten Studien hat die SAB mit Hilfe des Fadenmodells nach Bederson (Bederson 1995) untersucht, oder ein vergleichbares Modell gewählt, bei dem der Gefäßinnenraum verletzt und die Gefäßwand perforiert wird. Darüber hinaus hat keine der erwähnten Studien männliche und weibliche Tiere mit physiologischen Hormonwerten verglichen. Es wurden zumeist männliche Tiere untersucht, bei denen Östrogen und Progesteron getrennt substituiert wurden, oder durch eine Hormonsubstitution supraphysiologische Spiegel erreicht wurden. In unserem Versuch wurden keine Hormone substituiert, sondern weibliche Tiere mit physiologischen Östrogen- und Progesteronspiegeln eingesetzt. Da beide Hormone gleichzeitig wirksam sind, muss noch ein potenzieller Einfluss angesprochen werden, zu dem schon Miller und Kollegen Überlegungen angestellt haben (Miller and Vanhoutte 1991): Die Hormone Östrogen und Progesteron können sich in ihrer Wirkung negativ beeinflussen (Khaksari, Soltani et al. 2011, Maghool, Khaksari et al. 2013) und dadurch die neuroprotektive Wirkung aufheben, die die Hormone zeigen, wenn sie einzeln wirken. Diese Beobachtung kann in der vorgelegten Studie weder bestätigt noch abgelehnt werden. Der Grund dafür liegt an einer niedrigen Anzahl an Tieren in der Gruppe weiblich scheinkastriert, bei denen Infarktgröße und Infarktanzahl gemessen werden konnten ($n=10$). Tiere dieser Gruppe wurden nicht zyklus kontrolliert operiert. Bei einem kurzen vier-tägigen Ovulationszyklus schwanken die Geschlechts-

hormonspiegel stark und in Folge dessen auch das Verhältnis zueinander, sodass im Rahmen der durchgeführten Untersuchung keine validen Aussagen über die Wirkung der Progesteron-Östrogen Ratio im Zusammenhang mit der Hirnmorphologie möglich sind. An dieser Stelle muss jedoch erwähnt werden, dass das Fadenmodell nach Beder-son nicht das Modell der Wahl für die genauere Untersuchung der Vasospasmen ist. Denn das genannte Fadenmodell führt zu einem ungleichmäßigen Blutungsausmaß und dementsprechend zu einem ungleich hohen Anstieg des intrakraniellen Druckes mit subsequent unterschiedlich stark ausgeprägten primären Hirngewebeschädigungen. Darüber hinaus findet bei diesem Modell die Phase der maximalen Vasospasmen am zweiten Tag nach SAB statt, wobei unsere Versuchstiere aufgrund einer neurologischen und neurokognitiven Untersuchung erst am Tag 14 euthanasiert wurden. Bis zu dem 14. Tag nach SAB haben sich alle Gefäßspasmen zurückgebildet und sind mikroskopisch nicht mehr nachweisbar. Aus diesem Grunde ist mit den vorliegenden Daten keine Aussage über den Einfluss des Geschlechts und der Geschlechtshormone auf einen verzögerten Vasospasmus möglich. Um dies zu überprüfen, bedürfte es weiterer Untersuchungen, möglichst mit einem Doppelinjektionsmodell.

4.5.4 Einfluss des Geschlechts auf die Mortalität

Die Sterblichkeitsrate nach SAB in der hier vorliegenden Studie zeigt keine Geschlechtsunterschiede.

Die Beobachtung, dass zwischen den Gruppen weiblich scheinkastrierte und weiblich kastrierte Tiere keine Mortalitätsunterschiede bestehen, deckt sich mit den Ergebnissen der Studie von Yang et al. (2001), die 3 Gruppen – weiblich intakt, weiblich ovariektomiert und weiblich ovariektomiert mit supraphysiologischer Östrogen-Substitution (24.9 ± 6.6 pg/mL nach 24 Stunden und 31.3 ± 11.5 pg/mL nach 48 Stunden) hinsichtlich Mortalität untersucht hat (Yang, He et al. 2001). Die Gruppe mit Östrogen-Substitution in supraphysiologischer Dosierung zeigte die geringste Mortalität (15.4 % gegen 53.3 % bei den scheinkastrierten Ratten und 68.4 % bei den kastrierten weiblichen Ratten). Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den ovariektomierten und den nicht ovariektomierten Ratten nachgewiesen werden.

Mögliche positive Effekte weiblicher Geschlechtshormone auf das Überleben nach einer zerebralen Schädigung zeigt auch eine experimentelle Studie aus dem Bereich des Schädel Hirn-Traumas. So war eine Östrogengabe bei kastrierten weiblichen sowie männlichen Ratten vor einer traumatischen Hirnschädigung mit einem besseren Überleben verbunden (Roof and Hall 2000). Diese Beobachtung konnte in der vorgelegten Studie jedoch nicht bestätigt werden, was im nächsten Kapitel genauer dargestellt wird.

4.6 Abschließende Betrachtung der Geschlechtseinflüsse

Die bisher genannten experimentellen Studien stehen im Kontrast zu unseren Ergebnissen: Die hier vorliegende Arbeit sieht keinen Vorteil weiblich intakter Ratten gegenüber allen anderen Gruppen. Sowohl in der sofortigen Reaktion (Anstieg des ICP und Veränderung des zerebralen Blutflusses) als auch in der späteren, zweiten Phase, gekennzeichnet durch die Konsolidierung des hirmorphologischen Schadens und in unserem Versuch über die Infarktfläche und die Anzahl der Infarkte repräsentiert, zeigen die weiblich intakten Tiere keinen Vorteil. In dieser zweiten Phase des Schadens erwies sich das weibliche Geschlecht sogar als Nachteil: weibliche Ratten zeigten eine höhere Anzahl von Infarktarealen als männliche Ratten. Unsere Ergebnisse entsprechen damit eher den Ergebnissen klinischer Studien, die zwar Geschlechtsunterschiede in der Häufigkeit, nicht aber in der Mortalität und im funktionellen Outcome feststellen konnten (Simpson, Contant et al. 1991, Kongable, Lanzino et al. 1996, Vaartjes, Reitsma et al. 2009). Dies konnte weder in großen retrospektiven Studien (Vaartjes, Reitsma et al. 2009) noch in randomisierten kontrollierten Studien gezeigt werden (Kongable, Lanzino et al. 1996).

Wie schon erwähnt, wurden die meisten der oben genannten experimentellen Studien mit Hilfe von Modellen durchgeführt, bei denen die Gefäßwand nicht beschädigt wird. Die Auswirkung der Geschlechtshormone auf die pathophysiologischen Prozesse nach einer SAB wurden experimentell bisher ausschließlich mit dem sog. Doppel-Injektions Modell untersucht. Bei diesem Modell bleiben die Gefäßwände intakt. Auch Modelle der zerebralen Ischämie, die den zerebralen Blutfluss mittels temporären Verschiebens eines Fadens in ein hirnversorgendes Gefäß unterbrechen, belassen die Gefäßwand intakt. Dadurch kommt es zwar in beiden Modellen zu einem Ischämie-Reperfusion-

Schaden, wie er auch bei einer SAB stattfindet. Allerdings fehlt die traumatische Gefäßwandschädigung, wie sie bei einer tatsächlichen SAB vorkommt und in unserem Modell durch die Perforation mit dem Faden abgebildet wird. Der Endothelschaden mit Freilegung der unter dem Endothel liegenden Strukturen zusammen mit dem sich im Subarachnoidalraum frei verbreitenden Blutes führen zu starken Vasospasmen (Bederson, Levy et al. 1998, Ostrowski, Colohan et al. 2006) und heben die vasodilatierende Wirkung der weiblichen Geschlechtshormone möglicherweise weitgehend auf.

Eine weitere mögliche Ursache für die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen unserer Studie und anderen experimentellen Arbeiten kann auch in der Wechselwirkung der Hormone Östrogen und Progesteron liegen, die sich untereinander möglicherweise negativ beeinflussen. Das zeigt eine Studie von Maghool et al. (2013). In der genannten Studie wurden nach Schädel-Hirn Trauma weibliche Tiere untersucht, die sich in unterschiedlichen Phasen des Zyklus befanden. Es konnten tatsächlich Unterschiede in ICP, CPP und Hirnödem in Abhängigkeit von der Phase des Zyklus festgestellt werden. Tiere im Proöstrus wiesen niedrigere ICP und höhere CPP Werte auf als Tiere in einer anderen Zyklus-Phase (Maghool, Khaksari et al. 2013). Eine weitere Untersuchung, die auch die Kombination der beiden weiblichen Geschlechtshormone im Zusammenhang mit einem Hirnödem, Beschädigung der Blut-Hirn Schranke und Inflammation nach einem Schädel-Hirn-Trauma untersucht hat, kam zu dem Ergebnis, dass die positive Wirkung der einzelnen Hormone in deren Kombination tatsächlich abgeschwächt wird (Khaksari, Soltani et al. 2011). Das gilt vor allem für die Kombination eines niedrigen Östrogen mit einem höheren Progesteron Serumspiegel. Alle früher genannte Tierexperimente (ausgenommen der zitierten Studie von Yang et al., 2001) verwendeten als Versuchstiere ausschließlich männliche Tiere, bei den entweder das Hormon Östrogen oder das Hormon Progesteron substituiert wurde. Mittels dieses Studiendesigns können keine negativen Wechselwirkungen zwischen den weiblichen Geschlechtshormonen entstehen. So kann sich die neuroprotektive Wirkung der einzelnen Hormone vollständig entfalten. In unserer Studie konnte kein Zusammenhang zwischen dem Verhältnis der Hormone Östrogen zu Progesteron und anderen Parametern nachgewiesen werden. Das einzige Ergebnis, das überhaupt auf einen Einfluss der Geschlechtshormone hinweist, ist die Korrelation des Hormons Progesteron mit dem Parameter „Infarktanzahl“ ($r < 0,444$, $p < 0,05$). Leider ist in der vorgelegten Studie keine Rücksicht auf die Kombination von Östrogen und Progesteron oder die Zyklusphase zum Zeitpunkt der SAB ge-

nommen worden. Aus diesem Grund beträgt die Anzahl der Tiere, die ein günstiges Östrogen/Progesteron-Verhältnis aufweisen (Maghool 2013, Khaksari 2011) in der Gruppe der überlebenden weiblich scheinkastrierten Tiere nur zwei Ratten. Bei so geringer Stichprobenmenge bleibt eine statistische Auswertung der eventuellen Wechselwirkung von Östrogen und Progesteron spekulativ. Deshalb können wir im Rahmen dieser Studie nicht mit abschließender Sicherheit festhalten, ob die weiblichen Geschlechtshormone an sich tatsächlich keinen Überlebensvorteil bieten. Weiter ist unklar, ob dies trotz der vasoaktiven Wirkung der Geschlechtshormone wegen einer zu starken Gefäßkonstriktion nicht der Fall ist, oder ob evtl. eine ungünstige Kombination der Hormone Östrogen und Progesteron die entscheidende Rolle spielt. Diese Überlegungen gilt es in nachfolgenden Studien zu untersuchen.

4.7 Prädiktoren des Todes

Die einzigen Parameter, die den Tod vorhersagen konnten, sind diejenigen, die mit dem intrakraniellen Geschehen direkt zusammenhängen: Der intrakranielle Druck, der zerebrale Perfusionsdruck und der Laserdoppler-Fluss rechts wie links. Der Parameter, der den stärksten prädiktiven Wert besitzt, ist eindeutig der mit dem Laserdoppler gemessene Blutfluss auf der zum Schaden ipsilateralen Seite. Diese Daten bestätigen das Ergebnis, zu dem schon der Begründer dieses Modells im Jahr 1998 gelangte (Bederson, Levy et al. 1998). In einer Arbeit von Prunell und Kollegen (2003) konnte darüber hinaus eine starke Korrelation zwischen dem Parameter Laserdoppler-Fluss und der Menge des sich in den Subarachnoidalraum verbreitenden Blutes bestimmt werden. Allerdings konnten die Autoren keine eindeutig signifikante prädiktive Aussagekraft bezüglich des Todes für die Parameter intrakranieller Druck und zerebraler Perfusionsdruck feststellen (Prunell, Mathiesen et al. 2003). Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit unterstützt die Ergebnisse der oben genannten Studien und die allgemeine Vorstellung der nach SAB ablaufenden zerebralen Pathophysiologie, bei der es nach einer Einblutung in den Subarachnoidalraum zu einer von ICP und CPP unabhängigen Vasokonstriktion kommt. Diese wird in dieser Arbeit indirekt als Abfall des mittels eines Laserdopplers gemessenen Blutflusses ermittelt und bedeutet für den betroffenen Organismus das höchste Mortalitätsrisiko.

5 Fazit

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen die Beobachtungen anderer Studien: Vor allem der zerebrale Blutfluss, aber auch die Höhe des intrakraniellen Drucks und des Perfusionsdrucks ist entscheidend für das Überleben des von einer SAB betroffenen Organismus.

Bei der Frage nach den Geschlechtsunterschieden nach einer SAB konnten in der vorliegenden Studie trotz anders lautender Beobachtungen zahlreicher weiterer tierexperimenteller Arbeiten im Bereich der Gehirnschämie und des Schädel Hirn-Traumas keine Vorteile für das weibliche Geschlecht nachgewiesen werden, weder in der primären Reaktion (ICP, CPP, zerebraler Blutfluss) noch bezüglich der sekundären postischämischen Reaktion (Infarktfläche und Infarktanzahl) und der Mortalität nach einer SAB. Eine differenzierte Analyse der Kombination Östrogen- und Progesteron wird schlussendlich notwendig sein, um den Einfluss der Geschlechtshormone auf das Überleben und weitere potenzielle Vorteile insbesondere der weiblichen Geschlechtshormone in der Neuroprotektion untersuchen zu können.

Literaturverzeichnis

- Aaslid, R., K. F. Lindegaard, W. Sorteberg and H. Nornes (1989). "Cerebral autoregulation dynamics in humans." *Stroke* **20**(1): 45-52.
- Alkayed, N. J., I. Harukuni, A. S. Kimes, E. D. London, R. J. Traystman and P. D. Hurn (1998). "Gender-linked brain injury in experimental stroke." *Stroke* **29**(1): 159-165; discussion 166.
- Allen, G. S., H. S. Ahn, T. J. Preziosi, R. Battye, S. C. Boone, S. N. Chou, D. L. Kelly, B. K. Weir, R. A. Crabbe, P. J. Lavik, S. B. Rosenbloom, F. C. Dorsey, C. R. Ingram, D. E. Mellits, L. A. Bertsch, D. P. Boisvert, M. B. Hundley, R. K. Johnson, J. A. Strom and C. R. Transou (1983). "Cerebral arterial spasm--a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage." *N Engl J Med* **308**(11): 619-624.
- Allen, M. (2011). "Lactate and acid base as a hemodynamic monitor and markers of cellular perfusion." *Pediatr Crit Care Med* **12**(4 Suppl): S43-49.
- Andrews, R. C. and B. R. Walker (1999). "Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets." *Clin Sci (Lond)* **96**(5): 513-523.
- Barry, K. J., M. A. Gogjian and B. M. Stein (1979). "Small animal model for investigation of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm." *Stroke* **10**(5): 538-541.
- Barth, E., G. Albuszies, K. Baumgart, M. Matejovic, U. Wachter, J. Vogt, P. Radermacher and E. Calzia (2007). "Glucose metabolism and catecholamines." *Crit Care Med* **35**(9 Suppl): S508-518.
- Bederson, J. B., E. S. Connolly, Jr., H. H. Batjer, R. G. Dacey, J. E. Dion, M. N. Diringer, J. E. Duldner, Jr., R. E. Harbaugh, A. B. Patel and R. H. Rosenwasser (2009). "Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association." *Stroke* **40**(3): 994-1025.
- Bederson, J. B., I. M. Germano and L. Guarino (1995). "Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat." *Stroke* **26**(6): 1086-1091; discussion 1091-1082.
- Bederson, J. B., A. L. Levy, W. H. Ding, R. Kahn, C. A. DiPerna, A. L. Jenkins, 3rd and P. Vallabhajosyula (1998). "Acute vasoconstriction after subarachnoid hemorrhage." *Neurosurgery* **42**(2): 352-360; discussion 360-352.
- Bjeljac, M., E. Keller, M. Regard and Y. Yonekawa (2002). "Neurological and neuropsychological outcome after SAH." *Acta Neurochir Suppl* **82**: 83-85.
- Broderick, J. P., T. G. Brott, J. E. Duldner, T. Tomsick and A. Leach (1994). "Initial and recurrent bleeding are the major causes of death following subarachnoid hemorrhage." *Stroke* **25**(7): 1342-1347.
- Bundesärztekammer, V. d. (2008). "Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten - Gesamtnovelle 2008." **4. Auflage**.

- Chen, J., M. Chopp and Y. Li (1999). "Neuroprotective effects of progesterone after transient middle cerebral artery occlusion in rat." *J Neurol Sci* **171**(1): 24-30.
- Chotai, S., S. Y. Ahn, H. J. Moon, J. H. Kim, H. S. Chung, Y. G. Chung and T. H. Kwon (2013). "Prediction of outcomes in young adults with aneurysmal subarachnoid hemorrhage." *Neurol Med Chir (Tokyo)* **53**(3): 157-162.
- Crews, J. K. and R. A. Khalil (1999). "Antagonistic effects of 17 beta-estradiol, progesterone, and testosterone on Ca²⁺ entry mechanisms of coronary vasoconstriction." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **19**(4): 1034-1040.
- Crivello, N. A., I. H. Rosenberg, B. Shukitt-Hale, D. Bielinski, G. E. Dallal and J. A. Joseph (2007). "Aging modifies brain region-specific vulnerability to experimental oxidative stress induced by low dose hydrogen peroxide." *Age (Dordr)* **29**(4): 191-203.
- de Carvalho, J. J., M. B. Alves, G. A. Viana, C. B. Machado, B. F. dos Santos, A. H. Kanamura, C. L. Lottenberg, M. C. Neto and G. S. Silva (2011). "Stroke epidemiology, patterns of management, and outcomes in Fortaleza, Brazil: a hospital-based multicenter prospective study." *Stroke* **42**(12): 3341-3346.
- Deenadayalu, V. P., R. E. White, J. N. Stallone, X. Gao and A. J. Garcia (2001). "Testosterone relaxes coronary arteries by opening the large-conductance, calcium-activated potassium channel." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **281**(4): H1720-1727.
- Delgado, T. J., J. Brismar and N. A. Svendgaard (1985). "Subarachnoid haemorrhage in the rat: angiography and fluorescence microscopy of the major cerebral arteries." *Stroke* **16**(4): 595-602.
- Diaz, R. J. and J. H. Wong (2011). "Clinical outcomes after endovascular coiling in high-grade aneurysmal hemorrhage." *Can J Neurol Sci* **38**(1): 30-35.
- Dubal, D. B., M. L. Kashon, L. C. Pettigrew, J. M. Ren, S. P. Finklestein, S. W. Rau and P. M. Wise (1998). "Estradiol protects against ischemic injury." *J Cereb Blood Flow Metab* **18**(11): 1253-1258.
- Dubal, D. B., H. Zhu, J. Yu, S. W. Rau, P. J. Shughrue, I. Merchenthaler, M. S. Kindy and P. M. Wise (2001). "Estrogen receptor alpha, not beta, is a critical link in estradiol-mediated protection against brain injury." *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**(4): 1952-1957.
- Duckles, S. P. and V. M. Miller (2010). "Hormonal modulation of endothelial NO production." *Pflugers Arch* **459**(6): 841-851.
- Dumont, A. S., R. J. Dumont, M. M. Chow, C. L. Lin, T. Calisaneller, K. F. Ley, N. F. Kassell and K. S. Lee (2003). "Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation." *Neurosurgery* **53**(1): 123-133; discussion 133-125.
- Dungan, K. M., S. S. Braithwaite and J. C. Preiser (2009). "Stress hyperglycaemia." *Lancet* **373**(9677): 1798-1807.
- Dupont, S. A., E. F. Wijdicks, G. Lanzino and A. A. Rabinstein (2010). "Aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an overview for the practicing neurologist." *Semin Neurol* **30**(5): 545-554.
- Eden, S. V., W. J. Meurer, B. N. Sanchez, L. D. Lisabeth, M. A. Smith, D. L. Brown and L. B. Morgenstern (2008). "Gender and ethnic differences in subarachnoid hemorrhage." *Neurology* **71**(10): 731-735.
- Farhat, M. Y., M. C. Lavigne and P. W. Ramwell (1996). "The vascular protective effects of estrogen." *FASEB J* **10**(5): 615-624.

- Garg, R., A. Grover, S. McGurk and J. D. Rawn (2013). "Predictors of hyperglycemia after cardiac surgery in nondiabetic patients." J Thorac Cardiovasc Surg **145**(4): 1083-1087.
- Geary, G. G., D. N. Krause and S. P. Duckles (2000). "Gonadal hormones affect diameter of male rat cerebral arteries through endothelium-dependent mechanisms." Am J Physiol Heart Circ Physiol **279**(2): H610-618.
- Gerhard, M., B. W. Walsh, A. Tawakol, E. A. Haley, S. J. Creager, E. W. Seely, P. Ganz and M. A. Creager (1998). "Estradiol therapy combined with progesterone and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women." Circulation **98**(12): 1158-1163.
- Gibson, C. L. and S. P. Murphy (2004). "Progesterone enhances functional recovery after middle cerebral artery occlusion in male mice." J Cereb Blood Flow Metab **24**(7): 805-813.
- Goldacre, M. J., M. Duncan, M. Griffith and P. M. Rothwell (2008). "Mortality rates for stroke in England from 1979 to 2004: trends, diagnostic precision, and artifacts." Stroke **39**(8): 2197-2203.
- Gonzales, R. J., S. Ansar, S. P. Duckles and D. N. Krause (2007). "Androgenic/estrogenic balance in the male rat cerebral circulation: metabolic enzymes and sex steroid receptors." J Cereb Blood Flow Metab **27**(11): 1841-1852.
- Gonzales, R. J., S. P. Duckles and D. N. Krause (2009). "Dihydrotestosterone stimulates cerebrovascular inflammation through Nf κ B, modulating contractile function." J Cereb Blood Flow Metab **29**(2): 244-253.
- Gonzales, R. J., A. A. Ghaffari, S. P. Duckles and D. N. Krause (2005). "Testosterone treatment increases thromboxane function in rat cerebral arteries." Am J Physiol Heart Circ Physiol **289**(2): H578-585.
- Gonzales, R. J., D. N. Krause and S. P. Duckles (2004). "Testosterone suppresses endothelium-dependent dilation of rat middle cerebral arteries." Am J Physiol Heart Circ Physiol **286**(2): H552-560.
- Grote, E. and W. Hassler (1988). "The critical first minutes after subarachnoid hemorrhage." Neurosurgery **22**(4): 654-661.
- Haley, E. C., Jr., N. F. Kassell and J. C. Torner (1993). "A randomized controlled trial of high-dose intravenous nicardipine in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A report of the Cooperative Aneurysm Study." J Neurosurg **78**(4): 537-547.
- Hannaford, P. C., P. R. Croft and C. R. Kay (1994). "Oral contraception and stroke. Evidence from the Royal College of General Practitioners' Oral Contraception Study." Stroke **25**(5): 935-942.
- Hawk, T., Y. Q. Zhang, G. Rajakumar, A. L. Day and J. W. Simpkins (1998). "Testosterone increases and estradiol decreases middle cerebral artery occlusion lesion size in male rats." Brain Res **796**(1-2): 296-298.
- Hoffman, G. E., I. Merchenthaler and S. L. Zup (2006). "Neuroprotection by ovarian hormones in animal models of neurological disease." Endocrine **29**(2): 217-231.
- Ingall, T., K. Asplund, M. Mahonen and R. Bonita (2000). "A multinational comparison of subarachnoid hemorrhage epidemiology in the WHO MONICA stroke study." Stroke **31**(5): 1054-1061.

- Jiang, C. W., P. M. Sarrel, D. C. Lindsay, P. A. Poole-Wilson and P. Collins (1992). "Progesterone induces endothelium-independent relaxation of rabbit coronary artery in vitro." Eur J Pharmacol **211**(2): 163-167.
- Kant, G. J., R. H. Lenox, B. N. Bunnell, E. H. Mougey, L. L. Pennington and J. L. Meyerhoff (1983). "Comparison of stress response in male and female rats: pituitary cyclic AMP and plasma prolactin, growth hormone and corticosterone." Psychoneuroendocrinology **8**(4): 421-428.
- Kao, C. H., C. Z. Chang, Y. F. Su, Y. J. Tsai, K. P. Chang, T. K. Lin, S. L. Hwang and C. L. Lin (2013). "17 α -Estradiol attenuates secondary injury through activation of Akt signaling via estrogen receptor alpha in rat brain following subarachnoid hemorrhage." J Surg Res.
- Kausar, K. and G. M. Rubanyi (1994). "Gender difference in bioassayable endothelium-derived nitric oxide from isolated rat aortae." Am J Physiol **267**(6 Pt 2): H2311-2317.
- Kawano, H., T. Motoyama, K. Kugiyama, O. Hirashima, M. Ohgushi, H. Fujii, H. Ogawa and H. Yasue (1997). "Gender difference in improvement of endothelium-dependent vasodilation after estrogen supplementation." J Am Coll Cardiol **30**(4): 914-919.
- Khaksari, M., Z. Soltani, N. Shahrokhi, G. Moshtaghi and G. Asadikaram (2011). "The role of estrogen and progesterone, administered alone and in combination, in modulating cytokine concentration following traumatic brain injury." Can J Physiol Pharmacol **89**(1): 31-40.
- Klinge, P. M., H. Beck, T. Brinker, G. F. Walter and M. Samii (1999). "Induction of heat shock protein 70 in the rat brain following intracisternal infusion of autologous blood: evaluation of acute neuronal damage." J Neurosurg **91**(5): 843-850.
- Kolominsky-Rabas, P. L., C. Sarti, P. U. Heuschmann, C. Graf, S. Siemonsen, B. Neundoerfer, A. Katalinic, E. Lang, K. G. Gassmann and T. R. von Stockert (1998). "A prospective community-based study of stroke in Germany--the Erlangen Stroke Project (ESPro): incidence and case fatality at 1, 3, and 12 months." Stroke **29**(12): 2501-2506.
- Kongable, G. L., G. Lanzino, T. P. Germanson, L. L. Truskowski, W. M. Alves, J. C. Torner and N. F. Kassell (1996). "Gender-related differences in aneurysmal subarachnoid hemorrhage." J Neurosurg **84**(1): 43-48.
- Kontos, H. A., E. P. Wei, A. J. Raper, W. I. Rosenblum, R. M. Navari and J. L. Patterson, Jr. (1978). "Role of tissue hypoxia in local regulation of cerebral microcirculation." Am J Physiol **234**(5): H582-591.
- Kramer, A. H., M. J. Gurka, B. Nathan, A. S. Dumont, N. F. Kassell and T. P. Bleck (2008). "Complications associated with anemia and blood transfusion in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage." Crit Care Med **36**(7): 2070-2075.
- Kramer, A. H., D. A. Zygun, T. P. Bleck, A. S. Dumont, N. F. Kassell and B. Nathan (2009). "Relationship between hemoglobin concentrations and outcomes across subgroups of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage." Neurocrit Care **10**(2): 157-165.
- Kurtz, P., J. M. Schmidt, J. Claassen, E. Carrera, L. Fernandez, R. Helbok, M. Presciutti, R. M. Stuart, E. S. Connolly, N. Badjatia, S. A. Mayer and K. Lee (2010). "Anemia is associated with metabolic distress and brain tissue hypoxia after subarachnoid hemorrhage." Neurocrit Care **13**(1): 10-16.

- Lazaridis, C., P. Smielewski, L. A. Steiner, K. M. Brady, P. Hutchinson, J. D. Pickard and M. Czosnyka (2013). "Optimal cerebral perfusion pressure: are we ready for it?" Neurol Res **35**(2): 138-148.
- Lew, R., P. Komesaroff, M. Williams, T. Dawood and K. Sudhir (2003). "Endogenous estrogens influence endothelial function in young men." Circ Res **93**(11): 1127-1133.
- Lin, C. L., A. S. Dumont, Y. F. Su, Z. K. Dai, J. T. Cheng, Y. J. Tsai, J. H. Huang, K. P. Chang and S. L. Hwang (2009). "Attenuation of subarachnoid hemorrhage-induced apoptotic cell death with 17 beta-estradiol. Laboratory investigation." J Neurosurg **111**(5): 1014-1022.
- Lin, C. L., A. S. Dumont, S. C. Wu, C. J. Wang, S. L. Howng, Y. F. Huang, W. Y. Wong, N. F. Kassell, A. Y. Jeng and A. L. Kwan (2006). "17beta-estradiol inhibits endothelin-1 production and attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage." Exp Biol Med (Maywood) **231**(6): 1054-1057.
- Lin, C. L., H. C. Shih, A. S. Dumont, N. F. Kassell, A. S. Lieu, Y. F. Su, S. L. Hwang and C. Hsu (2006). "The effect of 17beta-estradiol in attenuating experimental subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm." J Neurosurg **104**(2): 298-304.
- Longstreth, W. T., L. M. Nelson, T. D. Koepsell and G. van Belle (1994). "Subarachnoid hemorrhage and hormonal factors in women. A population-based case-control study." Ann Intern Med **121**(3): 168-173.
- Lu, G. P., E. Cho, G. F. Marx and J. Gibson (1996). "Cerebral hemodynamic response to female sex hormones in the rat." Microvasc Res **51**(3): 393-395.
- Macleod, M. R. and P. J. Andrews (2002). "Effect of deprivation and gender on the incidence and management of acute brain disorders." Intensive Care Med **28**(12): 1729-1734.
- Maghool, F., M. Khaksari and A. Siahposht Khachki (2013). "Differences in brain edema and intracranial pressure following traumatic brain injury across the estrous cycle: involvement of female sex steroid hormones." Brain Res **1497**: 61-72.
- Marzatico, F., P. Gaetani, V. Silvani, D. Lombardi, E. Sinforiani and R. Rodriguez y Baena (1990). "Experimental isobaric subarachnoid hemorrhage: regional mitochondrial function during the acute and late phase." Surg Neurol **34**(5): 294-300.
- Meguro, T., B. R. Clower, R. Carpenter, A. D. Parent and J. H. Zhang (2001). "Improved rat model for cerebral vasospasm studies." Neurol Res **23**(7): 761-766.
- Miller, L., E. W. Alley, W. J. Murphy, S. W. Russell and J. S. Hunt (1996). "Progesterone inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in murine macrophages." J Leukoc Biol **59**(3): 442-450.
- Miller, V. M. and P. M. Vanhoutte (1991). "Progesterone and modulation of endothelium-dependent responses in canine coronary arteries." Am J Physiol **261**(4 Pt 2): R1022-1027.
- Morey, A. K., A. Pedram, M. Razandi, B. A. Prins, R. M. Hu, E. Biesiada and E. R. Levin (1997). "Estrogen and progesterone inhibit vascular smooth muscle proliferation." Endocrinology **138**(8): 3330-3339.
- Naidech, A. M., B. Jovanovic, K. E. Wartenberg, A. Parra, N. Ostapkovich, E. S. Connolly, S. A. Mayer and C. Commichau (2007). "Higher hemoglobin is associated with improved outcome after subarachnoid hemorrhage." Crit Care Med **35**(10): 2383-2389.

- Nevo, O., J. F. Soustiel and I. Thaler (2007). "Cerebral blood flow is increased during controlled ovarian stimulation." Am J Physiol Heart Circ Physiol **293**(6): H3265-3269.
- Nieuwkamp, D. J., L. E. Setz, A. Algra, F. H. Linn, N. K. de Rooij and G. J. Rinkel (2009). "Changes in case fatality of aneurysmal subarachnoid haemorrhage over time, according to age, sex, and region: a meta-analysis." Lancet Neurol **8**(7): 635-642.
- Nornes, H. (1978). "Cerebral arterial flow dynamics during aneurysm haemorrhage." Acta Neurochir (Wien) **41**(1-3): 39-48.
- Ohl, F., F. Holsboer and R. Landgraf (2001). "The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents." Behav Res Methods Instrum Comput **33**(3): 392-397.
- Orshal, J. M. and R. A. Khalil (2004). "Gender, sex hormones, and vascular tone." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **286**(2): R233-249.
- Ostrowski, R. P., A. R. Colohan and J. H. Zhang (2006). "Molecular mechanisms of early brain injury after subarachnoid hemorrhage." Neurol Res **28**(4): 399-414.
- Perusquia, M., R. Hernandez, M. A. Morales, M. G. Campos and C. M. Villalon (1996). "Role of endothelium in the vasodilating effect of progestins and androgens on the rat thoracic aorta." Gen Pharmacol **27**(1): 181-185.
- Piepgas, A., C. Thome and P. Schmiedek (1995). "Characterization of an anterior circulation rat subarachnoid hemorrhage model." Stroke **26**(12): 2347-2352.
- Prunell, G. F., T. Mathiesen, N. H. Diemer and N. A. Svendgaard (2003). "Experimental subarachnoid hemorrhage: subarachnoid blood volume, mortality rate, neuronal death, cerebral blood flow, and perfusion pressure in three different rat models." Neurosurgery **52**(1): 165-175; discussion 175-166.
- Rinkel, G. J., M. Djibuti, A. Algra and J. van Gijn (1998). "Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systematic review." Stroke **29**(1): 251-256.
- Roof, R. L., R. Duvdevani and D. G. Stein (1993). "Gender influences outcome of brain injury: progesterone plays a protective role." Brain Res **607**(1-2): 333-336.
- Roof, R. L. and E. D. Hall (2000). "Estrogen-related gender difference in survival rate and cortical blood flow after impact-acceleration head injury in rats." J Neurotrauma **17**(12): 1155-1169.
- Rosenlirn, J., V. Eskesen and K. Schmidt (1993). "Clinical features and outcome in females and males with ruptured intracranial saccular aneurysms." Br J Neurosurg **7**(3): 287-290.
- Rusa, R., N. J. Alkayed, B. J. Crain, R. J. Traystman, A. S. Kimes, E. D. London, J. A. Klaus and P. D. Hurn (1999). "17beta-estradiol reduces stroke injury in estrogen-deficient female animals." Stroke **30**(8): 1665-1670.
- Schievink, W. I., E. F. Wijdicks, J. E. Parisi, D. G. Piepgas and J. P. Whisnant (1995). "Sudden death from aneurysmal subarachnoid hemorrhage." Neurology **45**(5): 871-874.
- Schmutzhard, E., A. A. Rabinstein and H. Participants in the International Multi-Disciplinary Consensus Conference on the Critical care Management of Subarachnoid (2011). "Spontaneous subarachnoid hemorrhage and glucose management." Neurocrit Care **15**(2): 281-286.
- Schwab, M., R. Bauer and U. Zwiener (1997). "The distribution of normal brain water content in Wistar rats and its increase due to ischemia." Brain Res **749**(1): 82-87.

- Shih, H. C., C. L. Lin, T. Y. Lee, W. S. Lee and C. Hsu (2006). "17beta-Estradiol inhibits subarachnoid hemorrhage-induced inducible nitric oxide synthase gene expression by interfering with the nuclear factor kappa B transactivation." Stroke **37**(12): 3025-3031.
- Shin, J. A., S. J. Yang, S. I. Jeong, H. J. Park, Y. H. Choi and E. M. Park (2013). "Activation of estrogen receptor beta reduces blood-brain barrier breakdown following ischemic injury." Neuroscience **235C**: 165-173.
- Shughrue, P. J., M. V. Lane and I. Merchenthaler (1997). "Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system." J Comp Neurol **388**(4): 507-525.
- Shughrue, P. J. and I. Merchenthaler (2003). "Estrogen prevents the loss of CA1 hippocampal neurons in gerbils after ischemic injury." Neuroscience **116**(3): 851-861.
- Shughrue, P. J., P. J. Scrimo and I. Merchenthaler (2000). "Estrogen binding and estrogen receptor characterization (ERalpha and ERbeta) in the cholinergic neurons of the rat basal forebrain." Neuroscience **96**(1): 41-49.
- Simpson, R. K., Jr., C. F. Contant, D. K. Fischer, D. A. Cech, C. S. Robertson and R. K. Narayan (1991). "Epidemiological characteristics of subarachnoid hemorrhage in an urban population." J Clin Epidemiol **44**(7): 641-648.
- Striebel, H. W. (2008). Die operative Intensivmedizin: Sicherheit in der klinischen Praxis, Schattauer Verlag.
- Taki, W., N. Sakai and H. Suzuki (2011). "Determinants of poor outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage when both clipping and coiling are available: Prospective Registry of Subarachnoid Aneurysms Treatment (PRESAT) in Japan." World Neurosurg **76**(5): 437-445.
- Thorogood, M. (1998). "Stroke and steroid hormonal contraception." Contraception **57**(3): 157-167.
- Toescu, E. C., A. Verkhratsky and P. W. Landfield (2004). "Ca²⁺ regulation and gene expression in normal brain aging." Trends Neurosci **27**(10): 614-620.
- Vaartjes, I., J. B. Reitsma, M. Berger-van Sijl and M. L. Bots (2009). "Gender differences in mortality after hospital admission for stroke." Cerebrovasc Dis **28**(6): 564-571.
- Venti, M. (2012). "Subarachnoid and intraventricular hemorrhage." Front Neurol Neurosci **30**: 149-153.
- Vessey, M. P., M. Lawless and D. Yeates (1984). "Oral contraceptives and stroke: findings in a large prospective study." Br Med J (Clin Res Ed) **289**(6444): 530-531.
- Wang, Z., G. Zuo, X. Y. Shi, J. Zhang, Q. Fang and G. Chen (2011). "Progesterone administration modulates cortical TLR4/NF-kappaB signaling pathway after subarachnoid hemorrhage in male rats." Mediators Inflamm **2011**: 848309.
- WHO (1996). "Haemorrhagic stroke, overall stroke risk, and combined oral contraceptives: results of an international, multicentre, case-control study. WHO Collaborative Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception." Lancet **348**(9026): 505-510.
- Yang, S. H., Z. He, S. S. Wu, Y. J. He, J. Cutright, W. J. Millard, A. L. Day and J. W. Simpkins (2001). "17-beta estradiol can reduce secondary ischemic damage and mortality of subarachnoid hemorrhage." J Cereb Blood Flow Metab **21**(2): 174-181.

Yang, S. H., R. Liu, Y. Wen, E. Perez, J. Cutright, A. M. Brun-Zinkernagel, M. Singh, A. L. Day and J. W. Simpkins (2005). "Neuroendocrine mechanism for tolerance to cerebral ischemia-reperfusion injury in male rats." J Neurobiol **62**(3): 341-351.

Yang, S. H., E. Perez, J. Cutright, R. Liu, Z. He, A. L. Day and J. W. Simpkins (2002). "Testosterone increases neurotoxicity of glutamate in vitro and ischemia-reperfusion injury in an animal model." J Appl Physiol **92**(1): 195-201.

Yang, S. H., J. Shi, A. L. Day and J. W. Simpkins (2000). "Estradiol exerts neuroprotective effects when administered after ischemic insult." Stroke **31**(3): 745-749; discussion 749-750.

Zhang, B., K. Fugleholm, L. B. Day, S. Ye, R. O. Weller and I. N. Day (2003). "Molecular pathogenesis of subarachnoid haemorrhage." Int J Biochem Cell Biol **35**(9): 1341-1360.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med., Dipl.-Phys. Eberhard Kochs für die sehr freundliche Aufnahme in sein Arbeitskollektiv und zusammen mit dem leitenden Oberarzt Herrn Prof. Dr. med. Manfred Blobner für die Unterstützung bei dieser Arbeit bedanken.

Herzlich will ich mich bei Frau PD Dr. med. Bettina Jungwirth für das Überlassen dieses Themas, für die Betreuung und Unterstützung während der gesamten Arbeit, für die zahlreichen Anregungen und die guten Ratschläge bedanken.

Besonders bedanke ich mich bei der Frau Dr. vet. Kristine Kellermann für Ihre herzliche Aufnahme und in die Forschungsgruppe, für die Einarbeitung im Forschungslabor der Experimentellen Anästhesie des Klinikums Rechts der Isar und die intensive Betreuung im gesamten Erstellungszeitraum der Arbeit, für die Weitergabe des nötigen Wissens bei dem Umgang mit Tieren, für ihre sehr hilfreichen Anregungen und Empfehlungen während der Versuchsdurchführung und die zahlreichen gewissenhaft durchgeführten Korrekturen meines Manuskripts.

Weiterhin bedanke ich mich bei der Tierärztin, Frau Martina Stiegler für die hervorragende Zusammenarbeit und für die fachgerechte Betreuung der Versuchstiere.

Ebenfalls möchte ich mich bei Herrn Stefan Fiedrich, Mag. rer. nat. bedanken für seine unverzichtbare Hilfe bei der statistischen Datenauswertung.

Mein Dank gehört auch Frau Dr. med. Lucia Gordan und Frau Dr. med. Elisabeth Török für die fachliche Einführung in das praktische Vorgehen bei dem Perforationsmodell der Subarachnoidalblutung.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Oliver Heiko Mensch bedanken, der durch seine hilfreichen Anregungen zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Sehr herzlich will ich mich auch bei meiner Frau Dr. phil. Stepanka Kadera bedanken, die mich während der Promotionszeit motiviert und durch die Höhen und Tiefen begleitet hat.