

4. Diskussion

4.1 Zu den Versuchen

4.1.1 Tierversuchsmodell

Um sich für ein Tiermodell, welches einem Krankheitsbild des Menschen entsprechen soll zu entscheiden, sollen folgende Punkte beachtet werden:

- a) es sollte möglichst der klinischen Situation entsprechen, um die Übertragbarkeit der Ergebnisse zu erlauben,
- b) es muß reproduzierbar sein und
- c) die Untersuchungsmethoden sollten das Tier möglichst wenig belasten.

Ein häufig verwendetes Modell des fokalen Schlaganfalls, bei dem die Schädelkalotte geöffnet wird und die mittlere Zerebralarterie direkt verschlossen wird wurde von TAMURA (1981) beschrieben: Der M. temporalis wird entfernt und das Schädeldach mit einem feinen Zahnarztbohrer aufgebohrt. Nach Eröffnung der Dura mater liegt die A. cerebri media frei. Ein permanenter Verschuß kann durch Elektrokoagulation oder eine Ligatur erreicht werden. Einen vorübergehenden Verschuß des Blutgefäßes erreicht man mit einem Microclip, einer Ligatur (ARONOWSKI et al. 1997) oder durch Aufbringen von Endothelin-1 (DAWSON 1994), einem starken Vasokonstriktor.

Ein Vorteil dieser Methode ist, daß der Verschuß der A. cerebri media unter Sichtkontrolle erfolgt. Nachteilig jedoch sind die relativ große chirurgische Belastung des Tieres, die Eröffnung der Schädelkalotte, so daß der Einfluß des Hirnödems nur bedingt untersucht werden kann und das mechanische Zerstören von Hirngewebe beim Verschuß der MCA.

Mit dem Versuchsmodell, welches KOIZUMI et al. (1986) erstmals beschrieben haben, können einige der Nachteile, des oben beschriebenen Modells vermieden werden: In diesem Modell wird ein, durch Silikon an der Spitze verdickter Nylonfaden durch die A. carotis interna bis zur Abzweigung der A. cerebri media geschoben, was

zu einem Verschuß dieses Gefäßes führt. ZEA LONGA et al. (1989) modifizierten diese Methode leicht, indem die Spitze des Okklusionsfadens nicht durch Silikon verdickt wurde, sondern durch Erhitzen eines Fadenendes, so daß sich eine Schmelzkugel bildete. Die Vorteile dieser beiden Methode sind z.B.

- eine einfachere Operationstechnik mit geringerer Belastung für das Tier
- die Untersuchung der entstehenden Schäden am geschlossenen Schädel
- bei der Okklusion gibt es keine mechanische Verletzung des Hirngewebes.

Ein großer Nachteil dieser Methode ist die fehlende Erfolgskontrolle; es kann keine Aussage über einen erfolgten, vollständigen Verschuß gemacht werden. Während man bei permanenter Okklusion den Sitz des Fadens bei Entnahme des Gehirns kontrollieren kann, ist dies bei Okklusion-Reperfusion nicht möglich. Um den Verschuß der mittleren Zerebralarterie zu kontrollieren, gibt es die Möglichkeit, mittels Laser-Doppler-Meßsonde, quantitativer Autoradiographie oder Hydrogen-Clearance-Technik den Blutfluß zu messen, wie z.B. von KATSUMATA (1995), LAING (1993) und PETERS et al. (1998) beschrieben.

Diese Flußmessung erhöht jedoch den operativen Aufwand und die chirurgische Belastung des Tieres. Dadurch gehen einige der Vorteile der Fadenmethode verloren. Eine andere Modifikation, um sicher zu einem Verschuß der MCA zu kommen beschrieben BELAYEV et al. (1996): Dabei wird das Ende der Fäden mit Poly-L-Lysin beschichtet. Dies führt dazu, daß der Faden an die Gefäßwand „klebt“. Es ist jedoch nicht klar, ob durch die Beschichtung und die Anlagerung des Fadens an das Endothel der Gefäßwand größere Läsionen beim Entfernen des Fadens gesetzt werden, welches zur lokalen Thrombenbildung führen könnte.

Im Rahmen der Voruntersuchungen für diese Arbeit wurden sowohl die Methode von KOIZUMI et al. (1986), bei der das Fadenende mit Silikon verdickt wird, als auch die Methode von ZEA LONGA et al. (1989), bei der das Fadenende erhitzt wird angewendet. Bei diesen Untersuchungen kam es bei den silikonverdickten Fäden im Gegensatz zu LAING (1993) und SCHMIDT-ELSAESSER et al. (1998) häufig zu einer Perforation der ACA, da der Faden die Silikonmasse durchstach. Außerdem haftete das Silikon nicht fest genug am Faden, so daß das Silikon beim Zurückziehen des Fadens sich vom Faden löste und am Ursprung der MCA verblieb.

Aus diesen Gründen wurde die Methode von ZEA LONGA et al. (1989) angewendet. LAING (1993) verglich beide Methoden miteinander und konnte den durch Hitze verdickten Faden bei 56% der Tiere an der richtigen Stelle plazieren. Bei diesen Tieren war der des zerebrale Blutfluß (CBF) im Durchschnitt bei 33 ml/min*100 g Hirngewebe (gesunde Hemisphäre 77 ml/min*100 g Hirngewebe). Mit den silikonverdickten Fäden konnte er 93% der Tiere eine Reduktion des zerebralen Blutflusses auf 10,7 ml/min*100 g Hirngewebe (im Vergleich zu 71 ml/min*100 g Hirngewebe) erzielt werden. Allerdings hat LAING (1993) die verschiedenen Gruppen nicht in einem Versuch miteinander verglichen, sondern erst die Methode nach ZEA LONGA et al. (1989) untersucht und anschließend die Methode nach KOIZUMI et al.(1986).

Auch SCHMIDT-ELSAESSER et al. (1998) verglichen die Methoden miteinander wobei er bei der Methode von ZEA LONGA et al. (1989) statt einen 4-0 Nylonfadens mit erhitztem Ende ein 3-0 Nylonfaden verwendete. Bei dieser Methode kam es bei 30% der Tiere zu einer Perforation der ACA und bei 24% der Tiere zu einem unvollständigen Verschuß. Bei dem silikonverdickten Faden kam es bei 8% der Tiere zu einer Perforation und bei 26% zu einem unvollständigen Verschuß. Nach Korrektur des Fadensitzes unter Laser-Doppelflußmessung kam es bei den Tieren der Gruppe I in 56% der Tiere zu einer Okklusion der MCA, in Gruppe II in 86% der Tiere. Das Infarkt volumen wurde nur in Gruppe II ermittelt. Diese Arbeit kommt zu dem Schluß, das das Modell mit silikonverdicktem Faden unter Kontrolle des zerebralen Blutflusses zu den besten Ergebnissen führt. Diese Untersuchungen geben zwar Aufschluß über die Anzahl der Tiere mit gelungenem Verschuß der MCA, es läßt jedoch keinerlei Rückschuß zu auf die Variation in den Infarktgrößen.

In der Literatur gibt es unterschiedliche Angaben darüber, wie weit die Fadenspitze durch die A. carotis interna vorgeschoben werden muß. Dies reicht von 17 mm bei ZEA LONGA et al. (1989) (bei Sprague-Dawley Ratten mit 300-400 g Gewicht) über 18 mm bei MATSUO (1995) (bei Wistar-Ratten; 270-320g Gewicht) und 22 mm bei ZAROW et al. (1997) (bei Sprague-Dawley Ratten; 280-320 g Gewicht). In den Voruntersuchungen zu dieser Arbeit erwies sich eine fixe Fadenlänge als

unpraktikabel, da es einerseits dazu führte, daß bei einigen Tieren eine Hirnblutung ausgelöst wurde, da der Faden die ACA perforierte, während bei anderen Tieren der Faden noch nicht weit genug geschoben war (der Sitz des Fadens wurde nach Töten der Tiere kontrolliert). Deshalb wurde der Faden in den weiteren Untersuchungen etwa 15 mm vorgeschoben und dann weitergeschoben, bis ein Widerstand gespürt wurde.

Wie wichtig die Herstellung des Fadens als auch der richtige Sitz des Fadens sind, beschreiben auch KUGE et al. (1995) und ZAROW et al. (1997). KUGE et al. (1995) beschrieben, daß die Infarktgröße bei einem monofilen Faden mit dem Durchmesser 4-0 der Firma Ethicon signifikant größer ist als bei dem gleichen Faden der Firma Nitcho. Er führt dies auf unterschiedliche Durchmesser und unterschiedliche Eigenschaften wie Zugfestigkeit und Dehnbarkeit zurück. ZAROW et al. (1997) berichteten über den Einfluß des Fadensitzes auf Infarktgröße und zerebralen Blutfluß. Seine Ergebnisse zeigen, daß die Infarktgröße signifikant größer war, wenn man den Faden 22 mm vorschiebt anstatt 18 mm und es bei der 18 mm-Gruppe zu größerer Streuung der Infarktvolumen kommt.

4.1.2 Tierausswahl

Bei Modellen der fokalen temporären Zerebralischämie wurden meist Sprague-Dawley (ZEA LONGA et al. 1987; DAWSON et al. 1994; BELAYEV et al. 1996; SCHMIDT-ELSAESSER et al. 1998) oder Wistar-Ratten (KOIZUMI et al. 1986; NAGASAWA 1989; LAING et al. 1993) verwendet. In den hier beschriebenen Versuchen wurden überwiegend Wistar-Ratten verwendet.

Versuche mit Long-Evans- und „spontan hypertensiven“ Ratten (ARONOWSKI et al. 1997) ergaben, daß bei Long-Evans Ratten die Infarktgröße bei temporärer Okklusion der MCA etwa 3-4fach so groß ist wie bei permanenter Okklusion. Dies deutet auf einen starken Reperfusionsschaden bei Long-Evans Ratten hin. Im Gegensatz dazu war kein Reperfusionsschaden bei den spontan hypertensiven Ratten festzustellen. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden neben Wistar-Ratten auch Long-Evans Ratten in den Versuchen eingesetzt, eine stärkere Infarktausbildung bei Ischämie-Reperfusion konnte allerdings nicht nachgewiesen werden.

Die Unterschiede bei permanenter Okklusion zwischen Wistar- und Long-Evans-Ratten zeigen, daß die Tierausswahl bei der fokalen zerebralen Ischämie eine wichtige Rolle spielt. Je nach Rattenstamm können unterschiedlich viele Verzweigungen und Kollateralgefäße in dem von der A. cerebri media durchbluteten Gebiet vorkommen. So beschrieb HERZ et al. (1996) eine signifikant größere Anzahl von Abzweigungen von der MCA bei Wistar- im Vergleich zu Fisher-Ratten. Die Infarkte in der Fisher-Gruppe waren signifikant größer als bei der Wistar-Gruppe. In der Arbeit von CAI et al. (1998) ergaben sich bei einem Modell mit Eröffnung des Schädeldaches und photothrombotischer Okklusion signifikante Unterschiede in den Infarktgrößen von SHR/Kyushu- zu SHR/Izumu-Ratten (SHR = spontaneous hypertensiv rat). Außerdem wurden bei SHR/Kyushu-Ratten signifikant kleinere Infarkte bei Tieren mit Y-verzweigter MCA als bei Tieren mit unverzweigter MCA erzeugt.

4.1.3 Zu den Versuchsreihen

In der Versuchsreihe I wurden die Ratten nach der Methode von ZEA LONGA et al. (1989) operiert und unterschiedlichen Okklusionszeiten der mittleren Zerebralarterie ausgesetzt. In allen Versuchsreihen und -gruppen (mit Ausnahme der Tiere mit permanenter Okklusion) traten Tiere auf, bei denen kein Infarkt zu sehen war. Auch ZEA LONGA et al. (1989) (25% der Tiere ohne Infarkt) und BELAYEV et al. (1996) (bei einer Versuchsgruppe mit 1 stündiger Okklusion 43% der Tiere ohne Infarkt) haben ähnliche Ergebnisse beschrieben. Versuche mit einem Modell, bei dem die Okklusion überprüft werden kann (KATSUMATA 1995) haben gezeigt, daß bei einer Okklusionsdauer von einer Stunde keine oder nur geringe Infarkte entstehen, es aber nach 2stündiger Okklusion bei allen Tieren zur Infarktbildung kam, als sie 24 Stunden nach Beginn der Okklusion untersucht wurden. Bei den Ischämiezeiten ab 2 Stunden in der Versuchsreihen kann daher angenommen werden, daß das Ausbleiben eines Infarktes wahrscheinlich auf versuchstechnische Gründe zurückzuführen ist. MATSUO (1994) und MEMEZAWA et al. (1992 b) schlossen die Tiere aus, bei die keine neurologischen Defizite erkennbar waren, da sie davon ausgingen, daß bei diesen Tieren die Okklusion

mißlungen war. In dieser Arbeit habe ich mich an der Infarktgröße orientiert, da bei einigen Tieren trotz sehr großer Hirnläsionen keine neurologischen Defizite feststellbar waren. Es wurden daher alle Tiere, bei denen kein Infarkt darstellbar war, aus der statistischen Untersuchung herausgenommen. In den Kapiteln 1.3.1 und 4.1.1 habe ich darauf hingewiesen, daß man den zerebralen Blutfluß messen kann, um zu sehen, bei welchen Tieren eine Okklusion stattgefunden hat.

4.1.3.1 Einfluß der Okklusionsdauer auf die Mortalität

Die Okklusionsdauer hat einen direkten Einfluß auf die Mortalität. Während bei ein- und zweistündiger Okklusion keine Todesfälle auftraten (auch nicht in den späteren Versuchsreihen), starben bei dreistündiger Okklusion von 11 Tieren 3 (ca. 27%) und bei vierstündiger Okklusion von 12 Tieren 4 (ca. 33%). Bei permanentem Verschuß der MCA starb 1 Tier von 12 Versuchstieren (ca. 9%). Statistisch signifikant sind diese Ergebnisse zwar nicht (Vergleich der Gruppen mit 1stündiger und 4stündiger Okklusion mit dem Fisher-Test. $P = 0,055$), sie zeigen jedoch, daß es bei Ischämie mit Reperfusion zu einer Zunahme der Mortalität kommt und daß diese Tiere eine höhere Mortalität zeigen als bei permanenter Okklusion.

Eine Erklärung für das Phänomen könnte das entstehende Ödem sein: Während sich bei der Reperfusion ein sehr starkes Ödem ausbilden kann, welches zu einer starken Erhöhung des Hirndrucks führt, ist die Ödemausbildung bei permanenter Okklusion weniger stark ausgeprägt. Bei allen am Infarkt gestorbenen Tiere war ein Größenunterschied zwischen den Hirnhälften zu erkennen. Es bleibt zu untersuchen, ob es bei den Tieren mit Reperfusion zu einem Ödemanstieg kurz nach dem Zurückziehen des Fadens kommt, der dann wieder abklingt, oder ob die höhere Mortalität andere Ursachen hat. Um diese Frage zu klären wäre es sinnvoll, die Tiere in kurzen Abständen nach der Reperfusion auf die Größe des Ödems zu untersuchen.

4.1.3.2 Einfluß der Okklusionsdauer auf den Neurologischen Status

Bei der Bewertung des neurologischen Status wurde das Modell von KAWAMURA et al. (1994) übernommen, welches sich an den in der Literatur angegebenen Verfahren orientiert (BOLANDER et al. 1989; ZEA LONGA et al. 1989; RIDENOUR 1992). BOLANDER et al. (1989) untersuchten den Neurologischen Status nach 18h, zu diesem Zeitpunkt zeigten die meisten der Ratten eine Beugung der Vordergliedmaße und eine verminderte Seitenstabilität nach einem seitlichen Stoß. KAWAMURA et al. (1994) untersuchten die Infarktgröße und den neurologischen Status 24 Stunden nach 1-, 2-, 3-, 4-, 5-stündiger und permanenter Okklusion bei einem Modell modifiziert nach ZEA LONGA et al. (1989). Der neurologische Score war bei 4stündiger, 5stündiger und permanenter Okklusion signifikant größer als bei 1stündiger Okklusion.

Aus den in dieser Arbeit ermittelten Ergebnissen läßt sich kein Zusammenhang zwischen neurologischem Status und Dauer der Okklusion feststellen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die neurologische Untersuchung teilweise keine eindeutigen Befunde ergaben. So war die Vorderpfotenflexion zwar gut feststellbar, die verminderte Seitenstabilität jedoch nicht. Die Drehbewegung um die paretische Seite ließ sich sehr gut feststellen, dagegen die Unfähigkeit, spontan zu gehen, nicht. Aus diesem Grund wurden auch Zwischenwertungen gegeben, wenn die Untersuchung nicht eindeutig war.

4.1.3.3 Einfluß der Okklusionsdauer auf das Hirnödem

Um eine Aussage über die Größe des Ödems machen zu können, wurde der Volumenunterschied beider Hirnhälften miteinander verglichen und daraus den Ödemfaktor bestimmt (Volumen der Hirnhälfte mit Infarkt/Volumen der Hirnhälfte ohne Infarkt). Es zeigt sich eine Zunahme des Ödemfaktors je nach Dauer der Okklusion, es gab es auch eine Zunahme von der Gruppe mit 4h Okklusion/Reperfusion zur Gruppe mit permanenter Okklusion.

Die Ergebnisse haben gezeigt daß es einen direkten Zusammenhang zwischen Ödemfaktor und der Infarktgröße 24h nach Beginn der Okklusion gibt. Diese positive Korrelation ($P < 0,01$ in allen Versuchsgruppen) deutet auf die Wichtigkeit hin, ein Modell zu benutzen, bei dem die Schädelkalotte unversehrt bleibt, damit die Hirndruckverhältnisse, die nach einem Schlaganfall entstehen, simuliert werden können.

SLIVKA et al. (1995) untersuchten das Hirnödem an einem Modell temporärer und permanenter Okklusion der MCA mit Eröffnung des Schädels. Zusätzlich zur Okklusion der MCA wurde auch noch die A. carotis communis verschlossen. Auch er untersuchte das Hirnödem nach 24h und konnte keine Unterschiede in den Ödemgrößen zwischen 3stündiger und permanenter Okklusion feststellen. Die Volumenzunahme des Hirngewebes kann partiell durch Massenverlagerung durch Kraniotomiedefekt kompensiert werden. Deshalb ist die Untersuchung des der Auswirkung des Ödems an einem Modell mit offener Schädel nicht ideal, insbesondere nicht bei der Frage, bis zu welchem Zeitpunkt eine Reperfusion sinnvoll (Reduktion des Infarktvolumens ohne Mortalitätserhöhung) ist. Nur mit einem Modell, bei dem die Schädelkalotte intakt bleibt, kann die intrakranielle Drucksteigerung und die damit ansteigende Mortalitätsrate bei einer späteren Reperfusion simuliert werden.

4.1.3.4 Einfluß der Okklusionsdauer auf die Infarktgröße

Die erste Versuchsreihe hat gezeigt, daß es einen Zusammenhang zwischen der Dauer der Okklusion der MCA und der Größe des Infarktes, gemessen 24 Stunden nach Okklusionsbeginn, gibt. Die größten Infarkte traten bei den Tieren mit permanenter Okklusion auf. Statistisch signifikant waren die Unterschiede zwischen permanenter Okklusion und ein- bzw. Zweistündiger Okklusion mit anschließender Reperfusion. Ähnliche Ergebnisse finden sich auch in der Literatur: KAPLAN et al. (1991), zeigte die Unterschiede in Infarktgrößen und Ödemfaktor nach 1, 2, 3, 4 stündiger Okklusion-Reperfusion und 24stündiger Okklusion bei einem Modell des Verschlusses der MCA und der CCA: Bei einstündiger Okklusion waren nur sehr

kleine oder gar keine Infarkte feststellbar, während die Infarkte der 3- und 4-stündigen Okklusion-Reperfusion annähernd gleich große waren, wie die Infarkte bei permanente Okklusion. Außerdem wurde eine Korrelation von Ödemfaktor und Infarktgröße festgestellt (siehe unten). KATSUMATA (1995) beschreibt histologische Veränderungen nach 2stündiger Okklusion mit anschließender 24stündiger Reperfusion, konnte aber keine Veränderungen nach 1stündiger Okklusion mit anschließender Reperfusion feststellen. BELAYEV et al. (1996) beschreiben in ihren Untersuchungen Infarktgrößen von $29,8 \pm 19,9 \text{ mm}^3$ bei einstündiger Okklusion und Infarktgrößen von $66,95 \pm 18,2 \text{ mm}^3$ bei zweistündiger Okklusion.

SLIVKA et al. (1995) stellten bei einem Kraniektomiemodell (siehe auch 4.2.1.4) fest, daß die Infarktgrößen nach 3stündiger Okklusion genauso groß sind wie bei permanenter Okklusion. Sie waren signifikant größer als bei 1 oder 2 stündiger Okklusion. Es bestand ebenfalls ein Zusammenhang zwischen Infarktgröße und Ödemausbildung. Diese erwartete Zunahme des Schädigungsausmaßes mit zunehmender Ischämiedauer ist leicht erklärbar:

Die durch die Okklusion hervorgerufene Durchblutungsstörung führt zu einem raschen Absterben eines zentralen Bezirkes. Die Penumbra, in der es zu einer Verminderung der Durchblutung kommt, bleibt der Strukturstoffwechsel vorübergehend bestehen. Dauert die Okklusion länger, kommt es zu den in der Einleitung beschriebenen Veränderungen in dem betroffenen Gebiet mit dem Verlust der Zellintegrität und dem Absterben der Zellen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß man bei Ratten ein Zeitfenster von etwa 2 Stunden hat, um die Infarktgröße durch Reperfusion zu beeinflussen. Dauert die Ischämie länger, ist die Reperfusion als therapeutische Maßnahmen nur noch begrenzt wirksam, da es bei einer Reduktion der Infarktgröße zu einer Zunahme der Akutmortalität kommt.

4.1.3.5 Zusammenhang zwischen Ödemfaktor und Infarktgröße

Die Ergebnisse belegen einen Zusammenhang zwischen Infarktgröße und Ödemfaktor. Bei den Wistar-Ratten konnte eine positive Korrelation, in Versuchsreihe I und Versuchsreihe II festgestellt werden ($P < 0,01$). Wie schon in den vorherigen Kapiteln erwähnt, wurde auch von SLIVKA et al. (1995) ein Zusammenhang zwischen Ödem und Infarktgröße festgestellt. Er untersuchte auch das Ödem 6 und 12 Stunden nach Okklusionsbeginn bei 3-stündiger und permanenter Okklusion. Dabei war keine kurzzeitiger Ödemanstieg in der Gruppe mit Reperfusion im Vergleich zu der Gruppe mit permanenter Okklusion festzustellen. Er kam zu dem Schluß, daß das zerebrale Ödem von der Größe des Infarktes abhängt und daß eine Reperfusion keinen Einfluß auf das Ödem hat. Allerdings durch den permanenten Verschuß der rechten A. carotis communis in seiner Untersuchung war der Blutfluß im betroffenen Gebiet dauerhaft erniedrigt, was einen Einfluß auf die Ödemausbildung gehabt haben könnte.

4.1.3.6 Einfluß von Ebselen auf die Infarktgröße

Im Rahmen dieser Untersuchungen konnte kein Unterschied in der Infarktgröße zwischen den Kontrollgruppen und den Ebselengruppen festgestellt werden.

Für die fehlende Wirkung von Ebselen in den Versuchsreihen kommen mehrere mögliche Gründe in Frage. Die wichtigste Frage ist, ob Ebselen tatsächlich keinen Einfluß auf die Infarktausbildung hat. Es gab in diesen Versuchen einige Ergebnisse, die eine Aussage zu dieser Frage zulassen, schwierig machen: Es fällt die große Anzahl von Tieren auf, bei denen sich kein Infarkt ausgebildet hat. Sie liegt bei den Ebselengruppen zwischen 20 und 50%. Außerdem kamen große Schwankungen in den Infarktgrößen vor, im Gegensatz zu den Ergebnissen aus der Versuchsreihe I. Da die Operationen in den späteren Versuchsreihen mit Substanz und Kontrolle genauso durchgeführt wurden, wie in der ersten Versuchsreihe und sich die Operationserfahrung im Laufe der Zeit verbessert haben mußte, dürfte dies keinen Einfluß auf die Ergebnisse gehabt haben. Geändert hat sich gegenüber den Tieren

aus der Versuchsreihe I nur die intraperitoneale bzw. orale Gabe von Cremophor. Die wahrscheinlichste Ursache für die kleinen Infarkte ist ein unvollständiger Verschluss der MCA (siehe auch Diskussion zum Tierversuchsmodell). Dieser kann seinen Grund entweder in einer veränderten Gefäßstruktur im Bereich der MCA in Versuchsreihe II (größerer Gefäßdurchmesser und/oder vermehrte Kollateralgefäße der MCA) oder durch eine fehlerhafte Lage des Fadens (Kopf zu klein, nicht korrekt positioniert) gehabt haben. Um die Ursache festzustellen wäre es notwendig, die Versuchsmethode zu überprüfen. Wie in der Einleitung schon erwähnt versuchen einige Autoren (BELAYEV et al. 1996), entweder durch beschichten des Fadens (mit Poly-L-Lysin oder mit Silikon) oder durch Überprüfung des Blutflusses (mit Laser-Doppelfluß), regelmäßige Infarkte zu bekommen.

In Kapitel 4.2.1 wurde schon darauf eingegangen, wie wichtig der Sitz des Fadens und dessen Präparation ist. Die Durchmesser des Fadenendes wurde anhand einer Mikrometerschraube unter dem Mikroskop überprüft. Sie war in allen Versuchsreihen gleich. Den Sitz des Fadens in Relation zur Gefäßanatomie konnte, wie schon erwähnt, bei diesem Versuchsmodell nicht durch Flußmessung überprüft werden und stellt eine mögliche Fehlerquelle dar.

Wie ARONOWSKI et al. (1997) beschrieb, bildete sich bei Long-Evans Ratten im Gegensatz zu spontan hypertensiven Ratten ein sehr ausgeprägter Reperfusionsschaden aus. Da die Ergebnisse in dieser Arbeit aus Versuchsreihe I keinen größeren Hirnschaden bei Reperfusion gezeigt haben wurden die Versuche mit Ebselen bei Long-Evans Ratten wiederholt um den Einfluß von Ebselen auf den Reperfusionsschaden zu untersuchen. Bei diesem Rattenstamm fiel auf, daß es in den Versuchsgruppen zu sehr kleinen Infarkten kam. Wie schon im Ergebnisteil erwähnt, kann aufgrund der Schwankungen in den Kontrollgruppen der Wistar-Ratten keine Aussage darüber gemacht werden, ob die Infarktgröße bei Long-Evans-Ratten mit temporärer Okklusion kleiner als bei Wistar-Ratten ist. Auch hier ist wieder die Frage, ob das Versuchsmodell für diesen Rattenstamm angepaßt werden müßte.

Trotz dieser methodischen Gründe, darf man auch nicht ausschließen, daß Ebselen in der hier angewendeten Art der Applikation und Dosierung keine Wirkung zeigt. Ebselen wurde schon in vielen Versuchen verwendet (SCHEWE 1994), aus denen

Applikationsart und Dosierung entnommen wurde. Er faßte die Ergebnisse früherer Versuche zusammen und berichtete über die positiven Effekte von Ebselen und stellt in einer Tabelle Versuche anderer Autoren und deren Dosierungen dar. Dabei wurden Dosierungen zwischen 4 und 600 mg/kg KGW verwendet.

Da die hier verwendeten Dosierungen von 30 und 100 mg/kg KGW sowohl i.p. als auch oral die gleichen sind, die bei anderen Autoren beschrieben (DAWSON 1994) sind und auch der Zeitpunkt der Verabreichung nur unwesentlich abweicht, wäre laut Literatur einen Effekt mit Ebselen zu erwarten gewesen.

DAWSON (1994) beschreibt einen neuroprotektiven Effekt von Ebselen nach einer oralen Gabe von 10 bzw. 30 mg/kg KGW, 40 min vor MCA-Okklusion. Die Okklusion verursacht er durch lokale Gabe des Vasokonstriktors Endothelin-1. Dabei wirkte die höhere Dosierung von Ebselen besser als die niedrigere (nur bei höherer Dosierung ein signifikanter Unterschied). Andere Untersuchungen haben gezeigt, daß niedrigere Dosierungen von Ebselen (MATSUI 1990) bessere Ergebnisse erzielen.

MATSUI (1990) untersuchte Ebselen an einem Modell mit permanenter Okklusion. Er verabreichte die Substanz oral 12 Stunden nach der Okklusion. Beim Vergleich mit einer Kontrollgruppe konnte er nur bei einer Dosierung von 10 mg/kg KGW einen signifikanten Unterschied in der Infarktgröße feststellen, bei 30 mg/kg KGW war kein Effekt zu sehen. Allerdings konnte er bei Dosierungen von 10 und 30 mg Ebselen/kg KGW eine Verringerung des Hirngewebswassers nachweisen.

KNOLLEMA et al. (1996) berichten ebenfalls von einer signifikanten Reduktion der Infarktgröße nach einer Gabe von 8 mg Ebselen/kg KGW in einem Modell einer vorübergehenden globalen Ischämie, ausgelöst bei beatmeten Tieren durch Verschluss der A. carotis und Verringerung des O₂-Anteils auf 10%. Sowohl in der Vehikel- (Dimethylsulfoxid (DMSO)) als auch in der Ebselen-Gruppe konnte eine Verringerung der Infarktgröße im Vergleich zur Kontrollgruppe (0,9% Kochsalzlösung) festgestellt werden, die bei der Ebselen-Gruppe in Cortex, Thalamus und Nucleus caudatus signifikant ($P < 0,05$) war. Bei einem Vergleich zwischen der Ebselen- und der DMSO-Gruppe konnte er nur im Nucleus caudatus einen signifikanten Unterschied feststellen. Im Thalamus und im Cortex waren keine signifikanten Unterschiede zu erkennen.

Das Versuchsmodell von KNOLLEMA et al. (1996) ist nicht oder nur bedingt mit der Situation der fokalen Ischämie vergleichen, da es durch die Senkung der O₂-Konzentration zu einer globalen Beeinflussung der Sauerstoffkonzentration und einer Weitstellung der Gefäße in beiden Hemisphären kommt. Desweiteren ist unklar, inwieweit die Hypoxie/Reoxygenierung andere Effekte in Hinsicht der Sauerstoffradikalbildung/ Lipidperoxidation zeigt als eine Ischämie/Reperfusion. Dies könnte für die Wirkung von Ebselen, welches im wesentlichen als Radikalfänger wirkt, Konsequenzen haben.

Der von KNOLLEMA et al. (1996) beschriebene Einfluß von DMSO auf die Infarktgröße wurde auch von anderen Autoren (TRAYSTMAN u. KIRSCH (1991); SHIMIZU et al. (1997)) bestätigt. SHIMIZU et al. (1997) haben den Einfluß von DMSO auf die Infarktgröße bei einem Modell permanenter fokaler zerebrale Ischämie (modifiziertes Modell nach ZAE LONGA et al. 1989) untersucht: nach Gabe von DMSO traten ab einer Menge von 0,1 ml signifikant kleinere Infarkte auf. TRAYSTMAN u. KIRSCH (1991) berichteten über die Eigenschaft von DMSO als Radikalfänger. Bei Rückenmarksischämie verringerte DMSO den neurologischen und mikroskopischen Schaden. Aus diesem Grund wurde auf DMSO verzichtet und Cremophor als Lösungsmittel eingesetzt. In der Literatur ist nicht beschrieben, welchen Einfluß Cremophor auf die Infarktgröße hat. Da die Versuche nicht zur Klärung dieser Frage angelegt waren, ist ein Vergleich nicht möglich.

4.2 Abschließende Bemerkungen

4.2.1 Permanente Okklusion der MCA

Die Versuchsmethode zeigte gute Ergebnisse bei der permanenten Okklusion. Es konnte bei jedem Tier ein Infarkt ausgelöst werden. Auch konnte der Sitz des Fadens nach dem Töten überprüft werden und mißglückte Operationen fielen eher auf. Erstaunlich sind die kleinen Infarkte bei den Long-Evans Ratten. Hier muß überprüft werden, aus welchem Grund die Infarkte so klein sind. Denkbare Ursachen sind ein größerer Gefäßdurchmesser der ACA, so daß vermehrt Blut am Fadenkopf vorbei in die MCA fließen konnte oder ein wesentlich dichteres Netz an Kollateralgefäßen, so daß sich der Verschluß der MCA nicht so gravierend auswirkt. Die Methode ist in dieser Form für Long-Evans-Ratten nicht empfehlenswert.

4.2.2 Temporäre Okklusion der MCA

Wie in der Diskussion schon erklärt, eignet sich die Fadenmethode nicht in dieser Form, da sich bei zu vielen Tieren kein Infarkt ausbildet. Da, im Gegensatz zur permanenten Okklusion, eine Überprüfung des Fadensitzes nicht möglich ist, kann keine Aussage über den Erfolg der Operation gemacht werden. Wie sich in dieser Arbeit herausgestellt hat, ist der Verschluß der MCA mit dieser Methode oft unbefriedigend, so daß sich bei vielen Tieren kein Infarkt ausbildet. Andere Methoden, den Sitz des Fadens bzw. den Blutfluß zu kontrollieren, sind sehr aufwendig und führen meist zu einer Eröffnung des Schädels, was einige der Vorteile dieser Methode wegfallen läßt. Da diese Methode jedoch weit schonender ist, als die Kraniektomiemethode lohnt sich eine Überprüfung der Methode. Denkbar wären kleinere Unterschiede in dem Körpergewicht der Ratten, andere Rattenstämme und eine andere Präparation des Fadenendes, welches die MCA okkludieren soll. Hier wären als Beispiel die Verwendung von Silikon, was in diesen Versuchen nicht zum Erfolg geführt hat, und die Beschichtung mit einem Adhäsivs, wie es BELAYEV et al. (1996) verwendet.

4.2.3 Neurologische Untersuchung

In diesen Versuchen konnte kein Zusammenhang zwischen neurologischem Status und Infarktgröße gefunden werden. Dies lag unter anderem an der Schwierigkeit, die Tiere objektiv zu beurteilen. Hier sollte eine Überprüfung des Schlüssels des Neurologischen Status vorgenommen werden. Es wäre für den Versuchsaufbau äußerst hilfreich, schon nach kurzer Zeit Aussagen über den Erfolg der Operation machen zu können. Dann könnten die Versuchsgruppen dementsprechend angepaßt werden und mögliche Fehler könnten überprüft werden.

4.2.4 Rattenstamm

In dieser Arbeit wurden Wistar-Ratten und Long-Evans-Ratten verwendet. Zwischen diesen beiden Stämmen ergaben sich bei permanenter Okklusion der MCA beträchtliche Unterschiede in den Infarktgrößen. Es ist nicht auszuschließen, daß ähnliche Unterschiede auch zwischen anderen Rattenstämmen vorkommen. Da andere Autoren Sprague-Dawley (ZEA LONGA et al. 1987; BELAYEV et al. 1996; SCHMIDT-ELSAESSER et al. 1998), SHR-Ratten (DOGAN et al. 1998) bei ihren Versuchen verwendeten, ist ein direkter Vergleich über einzelne Aspekte nicht möglich. Es sollte für jeden Rattenstamm eine Methode erarbeitet werden, die zufriedenstellende Ergebnisse liefert. Dazu wären weitere Untersuchungen zum idealen Gewicht, Präparation der Fadenenden und Vorschublänge der Fäden nötig.