

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. MATERIAL UND METHODEN

Im experimentellen Teil dieser Arbeit wurden die Auswirkungen wiederholter Isofluran-Narkosen mit Xylazin/Polamivet® Prämedikation auf verschiedene Körperfunktionen des Beagle-Hundes untersucht.

Die Experimente, die Gegenstand dieser Arbeit sind, sind keine Tierversuche im Sinne des Tierschutzgesetzes. Allein die Narkose, mit der damit verbundenen Testung von Ultraschallkontrastmitteln, muss als Tierversuch verstanden werden (anzeigepflichtiges Tierversuchsvorhaben der Schering AG, Berlin, registriert beim Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin unter der Anzeigenummer: A 0101/98).

1.1 Versuchstiere

Für die Untersuchungen standen 6 gesunde Beagle-Hunde (Züchter: Harlan France, Gannat, F) der Firma Schering AG, Berlin, weiblichen Geschlechts zur Verfügung, die für die Untersuchung in 2 Gruppen gegliedert wurden (Tabelle 2). Zu Beginn der Studie (Juni 2002) lag das Alter der Tiere zwischen 13 und 14 Monaten. Vor dieser Untersuchung waren die Tiere noch nie in einem Versuch. Das Gewicht der Hunde lag zu diesem Zeitpunkt zwischen 8,9 kg und 9,4 kg (Mittelwert der Gruppe 1: 9,2 kg; Mittelwert der Gruppe 2: 9,2 kg).

Gruppe 1	Gruppe 2
H1E 125	H1E 093
H1E 095	H1E 029
H1E 129	H1E 109

Tab. 2: Gruppeneinteilung und Tiernummern

1.1.1 Vorbehandlungen

Die Tiere wurden beim Züchter (Harlan France, Gannat, F) nach dem Schema in Tabelle 3 geimpft. Des weiteren fanden Entwurmungen und weitere Behandlungen durch den Züchter statt (Tabelle 4).

Im November 2001 gingen die Tiere in den Besitz der Fa. Schering AG, Berlin, über. Ende Januar 2002 wurde allen Tieren einmalig eine Enfluran-Inhalationsnarkose (Fa. Abbott, Wiesbaden, D) mit Xylazin (Rompun® 2 %, Fa. Bayer AG, Leverkusen, D) und

Levomethadon/Fenpipramid (Polamivet[®], Fa. Hoechst Roussel Vet Vertriebs GmbH, Unterschleissheim, D) als Prämedikation verabreicht, um die Narkoseverträglichkeit zu überprüfen.

Lebenswoche	Impfstoff	Krankheit
4	Intra-Tac	Zwingerhusten
6	Nobivac-Puppy DP	Parvovirose, Staupe
8	Nobivac-DH2P2	Parvovirose, Staupe, H.C.C.
8	Nobivac L	Leptospirose
12	Nobivac-DH2P2	Parvovirose, Staupe, H.C.C.
12	Nobivac L	Leptospirose
14	Nobivac	Tollwut

Tab. 3: Impfschema

Lebenswoche	Behandlung	Wirkstoff und Firma
3	Entwurmung	Panacur [®] Hoechst, Febendazol
5	Entwurmung	Panacur [®] Hoechst, Febendazol
8	Absetzen	
8	Tätowierung	
8	Flöhe und Zecken	Frontline [®] Merial, Fipronil
8	Kokkizidien	Baycox [®] Bayer, Toltrazuril
11	Entwurmung	Panacur [®] Hoechst, Febendazol
12	Entwurmung	Panacur [®] Hoechst, Febendazol

Tab. 4: Behandlungsplan

Die Tiere wurden im März 2002 im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Freien Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, eingestellt. Im August erfolgte eine Impfung gegen Staupe, Hepatitis contagiosa canis, Parvovirose (Canimed[®]-SHP, Fa. Merial, Hallbergmoos, D) sowie gegen Leptospirose und Tollwut (Canimed[®]-LT, Fa. Merial, Hallbergmoos, D). Bei der Einstellung der Hunde wurden eine einmalige Flohprophylaxe mit Imidacloprid (Advantage[®], Fa. Bayer AG, Leverkusen, D) und eine Entwurmung mit Praziquantel und Pyrantel (Drontal Plus[®], Fa. Bayer AG, Leverkusen, D) durchgeführt, letztere wurde fortlaufend im Abstand von 4 Monaten wiederholt.

Weitere Behandlungen erfolgten bei Bedarf individuell. Innerhalb der Versuchsphasen fanden keine systemischen Behandlungen statt. Lokal wurde in dieser Zeit mit einer

Augensalbe (Terracortril[®], Fa. Dr. Mann Pharma, Berlin, D) und einem Ohrreiniger (Wedepet-Ohrreiniger, Fa. WDT, Garbsen, D) behandelt. Vor der ersten Versuchsphase und in der narkosefreien Phase musste teilweise systemisch behandelt werden (Tabelle 5).

Ursache	Tiere	Therapie
Durchfall	Stallbehandlung	Omniflora [®] N Kapseln (Fa. Novartis Consumer Health, München, D)
Stomatitis	Einzel tier (H1E-129)	Voren-Depot [®] (Fa. Boehringer Ingelheim GmbH, Ingelheim, D) und Tardomyocel [®] (Fa. Bayer AG, Leverkusen, D)
Lahmheit	Einzel tier (H1E-109)	Rimadyl [®] (Fa. Pfizer, Karlsruhe, D)

Tab. 5: Durchgeführte Behandlungen vor der ersten Versuchsphase und während der narkosefreien Phasen.

1.1.2 Haltungsbedingungen

Im Untersuchungszeitraum

In den Räumlichkeiten des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie der Freien Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, wurden die Tiere in ihrer versuchsfreien Phase entsprechend der Tierschutz-Hundeverordnung vom Mai 2001 untergebracht. Der Innenzwinger hat eine Bodenfläche von 21 m². Zusätzlich stand den Hunden für mindestens 3 Stunden am Tag ein Außenzwinger zur Verfügung. Dieser hat eine Bodenfläche von 64 m². Die Tiere hatten Wasser über Automatiktränken ad libitum zur Verfügung und wurden täglich einmal um ca. 13 Uhr mit 200 g des Fertigfutters ssniff Hd–H, 10 MM (Fa. ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, D) gefüttert. Nach Möglichkeit wurden die Hunde zusätzlich in kleinen Gruppen an der Leine in die nahegelegenen Parks ausgeführt.

Die Temperatur im Innenzwinger betrug 18 °C, die relative Luftfeuchtigkeit lag zwischen 30 und 70 %. Die Beleuchtung erfolgte durch Tageslicht und zusätzlich mit Leuchtstoffröhren in einem zwölfstündigen automatischen Wechsel (Hellphase zwischen 6 und 18 Uhr). Die Lichtintensität lag zwischen 300 und 20000 LUX (durchschnittlich 633 LUX, an 16 Stellen im Stall 50 cm über dem Boden ohne direkte Sonneneinstrahlung mit einem Luxmeter (Elvos LM-1010, Elvos GmbH, Ludwigsburg, D) bestimmt).

Tierversuchszeitraum

In den Räumlichkeiten der Schering AG, Berlin, wurden die Hunde im Zeitraum ihres Versuchseinsatzes (Dauer: 2 Tage) einzeln oder zu zweit in einem etwa 50 m² großen Raum gehalten. Die Luftfeuchtigkeit im Raum lag durchschnittlich bei 60 %, die Raumtemperatur betrug 20 °C (thermohygrographische Messung). Der Raum wurde in einem Zwölfstundensrhythmus von 6 bis 18 Uhr mit etwa 300 LUX (1,2 m über dem Boden mit einem Luxmeter (Elvos LM-1010, Elvos GmbH, Ludwigsburg, D) gemessen) beleuchtet.

Die Fütterung erfolgte einen Tag vor der Narkose gegen 9 Uhr in der FU-Berlin mit dem oben genannten Fertigfutter. Am darauffolgenden Tag, etwa eine Stunde nach Ausleitung der Narkose, erfolgte die Fütterung bei der Schering AG, Berlin. Hier wurden etwa 370 g Pedigree Pal[®] (Fa. Mars, USA) mit einer Handvoll Haferflocken und etwas Knochenmehl verfüttert. Den Tieren stand Wasser kontinuierlich über einen Tränknopf zur freien Verfügung.

Direkt nach dem Ausleiten der Narkose wurden die Tiere für 2 Stunden in eine Wärmebox (UNO-NL Roestvastaal BV., Zevenaer, NL) mit den Maßen Höhe 800 mm mal Breite 1400 mm mal Tiefe 950 mm und einer Temperatur von 30 °C verbracht.

1.2 Untersuchungsdesign

Die Tiere sind Versuchshunde der Fa. Schering AG, Berlin, Abteilung Ultrasound and New Modalities Research (US & NMR). Sie werden für die pharmakologische Charakterisierung von Ultraschallkontrastmitteln (USKM) herangezogen. Die USKM bestehen aus polymerumhüllten (Polybutylcyanoacrylat) Luftbläschen mit einem Durchmesser von 1 bis 3 µm und werden hinsichtlich ihrer kontrastgebenden Eigenschaften getestet. Dafür müssen die Tiere in Narkose gelegt werden. Ergebnisse aus vorklinischen sicherheitspharmakologischen und toxikologischen Untersuchungen erlauben die Schlussfolgerung, dass die USKM keine Auswirkungen auf die hier erhobenen Daten haben (Hauff, 2002).

Als Untersuchungsdesign wurde ein Kreuzversuch (Cross-Over) mit 2 Gruppen und 2 unterschiedlichen Versuchsabläufen gewählt (Tabelle 6a). Mit diesem Modell sollen eventuelle Effekte, bedingt durch die unterschiedlichen Narkoseintervalle (Treatmenteffekt), hervorgehoben werden.

Die Tiere der Gruppe 1 wurden in der ersten Versuchsphase 2-mal im Abstand von 8 Wochen in Narkose gelegt. Die Tiere der Gruppe 2 wurden in der ersten Versuchsphase 5-mal im Abstand von 2 Wochen in Narkose gelegt (Tabelle 6b). Aus Gründen der

Durchführbarkeit erfolgte der Beginn für die beiden Gruppen um eine Woche versetzt unter der Annahme, dass der Wochenunterschied keinen Einfluss auf die Ergebnisse hat.

Nach der ersten Versuchsphase vom 15.07.2002 bis zum 25.09.2002 wurde eine dreimonatige Ruhephase (Auswaschphase) eingehalten, in der keine Tierversuche stattfanden. Die zweite Versuchsphase begann am 06.01.2003 und endete am 31.03.2003. In der zweiten Versuchsphase wurden die oben beschriebenen Intervalle der Gruppen 1 und 2 getauscht.

Mit dem Cross-Over-Versuchsplan hat man die Möglichkeit, jedes Versuchstier sowohl in der ersten als auch in der zweiten Phase beurteilen zu können, da jedes Individuum unter 2 Bedingungen untersucht wird.

Bei der Anwendung eines solchen Designs können folgende Effekte auftreten:

1. Behandlungseffekt

Ein Behandlungseffekt liegt vor, wenn die Wirkungen durch die Narkoseintervalle „selten“ und „häufig“ verschieden sind. Dieser Unterschied kann und soll mittels dieses Versuchsdesigns effizient aus den Daten der beiden Perioden analysiert werden. Dies ist allerdings nur unter der Annahme möglich, dass kein Carry-Over-Effekt auftritt.

2. Periodeneffekt

Liegen die beobachteten Effekte durch die unterschiedlichen Narkoseintervalle im Mittel in der zweiten Periode auf einem anderen Niveau als in der ersten Periode, handelt es sich um einen Periodeneffekt. Es geht hierbei um Änderungen von Variablen über die Zeit, die auch ohne Narkose eingetreten wären (Gewöhnungseffekte, Lerneffekte, Klimaänderungen, Alter der Tiere u. v. m.). Diese Änderungen können die Narkoseauswirkung in ihrer Ausprägung beeinflussen. Ein reiner Periodeneffekt ist nur dann gegeben, wenn ein Carry-Over-Effekt ausgeschlossen werden kann. Solche Periodeneffekte müssen bei der Auswertung der Daten berücksichtigt werden.

3. Carry-Over-Effekt

Der Carry-Over-Effekt hat die Synonyme Nacheffekt und Residualeffekt. Damit ist gemeint, dass die Narkosen in der ersten Versuchsphase sich auf die zweite Phase auswirken, es also zu einer Überlagerung der beobachteten Effekte kommt. In diesem Versuch könnte das zum Beispiel bedeuten, dass die Tiere nach Durchlaufen der Versuchsphase „häufig“ ein anderes individuelles Grundniveau aufweisen. Auf Grund der in diesem Versuch sehr lang gewählten Ruhephase bzw. Auswaschphase wird davon ausgegangen, dass dieser Effekt hier nicht aufgetreten ist.

	Erste Versuchsphase (12 Wochen)	Ruhephase (15 Wochen)	Zweite Versuchsphase (12 Wochen)
Gruppe 1	selten		häufig
Gruppe 2	häufig		selten

Tab. 6a: Darstellung des Cross-Over-Untersuchungsdesigns. häufig = 5 Narkosen im 2-Wochen-Abstand; selten = 2 Narkosen im 8-Wochen-Abstand

Erste Versuchsphase:										
	Wo. 1	Wo. 2	Wo. 3	Wo. 4	Wo. 5	Wo. 6	Wo. 7	Wo. 8	Wo. 9	Wo. 10
Gruppe 1		N								N
Gruppe 2	N		N		N		N		N	
3 Monate Ruhephase										
Zweite Versuchsphase:										
	Wo. 1	Wo. 2	Wo. 3	Wo. 4	Wo. 5	Wo. 6	Wo. 7	Wo. 8	Wo. 9	Wo. 10
Gruppe 1		N		N		N		N		N
Gruppe 2	N								N	

Tab. 6b: Darstellung des Untersuchungsdesigns. N = Narkose; Wo. = Woche

1.3 Untersuchungs- und Versuchsablauf

Für die Versuche wurden die Tiere einen Tag vor der Narkose gegen 10 Uhr morgens in Transportboxen in einem klimatisierten Kleintransporter (20 °C) der Fa. Schering AG in die Müllerstrasse zur Abteilung Ultrasound & New Modalities Research (US & NMR) gebracht. Der Rücktransport erfolgte am Tag nach der Narkose in entsprechender Weise und etwa zur gleichen Zeit.

Für die diese Arbeit betreffenden Untersuchungen wurden die Tiere immer einen Tag vor der Narkose, einen Tag nach der Narkose und dann in einem 7-Tage-Rhythmus den nachfolgenden Untersuchungen unterzogen (Tabelle 7).

Um die Tiere an die ihnen abverlangten Aufgaben und den Umgang mit dem Menschen zu gewöhnen, gab es eine 7-wöchige Einarbeitungszeit.

Die Tiere erhielten am Versuchstag eine kombinierte Prämedikation mit Xylazin (Rompun® 2 %, Bayer AG, Leverkusen, D) [Dosierung: 2 mg/kg KGW] und Levomethadon/Fenpipramid (Polamivet®, Fa. Intervet, international, Unterschleißheim, D) [Dosierung: 0,5 mg/kg KGW Levomethadon + 0,025 mg/kg KGW Fenpipramid]. Ein Drittel dieser Mischung wurde dem Tier intramuskulär in die lange Sitzbeinmuskulatur verabreicht. Der Rest der Mischung wurde subkutan in die seitliche Brustwand injiziert. Für die Injektionen wurden sterile Einmalkanülen

(0,45 x 25 mm, steril, Fa. B.Braun[®], Melsungen, D) und sterile 5 ml Einmalspritzen (Fa. B.Braun[®], Melsungen, D) verwendet. Die Tiere wurden auf einem schalenförmigen Operationstisch, der mit Wärmeplatten ausgestattet war, in rechter Seitenlage gelagert. Im Raum herrschte eine Temperatur von 20 bis 25 °C.

Den Hunden wurde im Anschluss an die Prämedikation ein Trachealtubus (Willy Rüscher AG, Kernen, D; 8er Stärke) eingeführt. Es wurde eine Inhalationsnarkose mit Isofluran (Isofluran Curamed[®], Cura Med Pharma GmbH, Karlsruhe, D) durchgeführt. Die verabreichte Konzentration lag zwischen 1 bis 3 Vol-%. Die Inhalationsnarkose wurde unter Spontanatmung von Raumluft durchgeführt. Das Narkosegerät war Typ Sulla 808 V (Dräger Werk AG, Berlin, D). Die Hunde erreichten das Narkosestadium III, Stufe 1 bis 2 (nach Guedel).

Anschließend wurde die Vena cephalica antebrachii beiderseits bei den Hunden katheterisiert (Insyte[®], 1,3 x 51 mm steril, Vialon, Fa. Becton Dickinson Vascular Access Inc., Utah, USA). Ein Venenverweilkatheter diente der Applikation des Ultraschallkontrastmittels, ein weiterer der Entnahme von venösem Blut.

Die Körpertemperatur wurde rektal mit einer Sonde gemessen. Das Atemminutenvolumen wurde durch das Narkosegerät erfasst. Es wurde ein Elektrokardiogramm (EKG) abgeleitet mit Einmalelektroden aus Schaumstoff und Solidgel (ARBO[®], Kendall Medizinische Erzeugnisse GmbH, Neustadt/Donau, D). Die Aufzeichnung des EKGs, der Herz- und Atemfrequenz erfolgte mit dem GOULD Instrument System (Gould Instrument Technologies Inc., Madison, WI, USA) und der Ponema Software.

In der Isofluran-Narkose erhielten die Tiere über einen der 2 Venenverweilkatheter entweder eine Ultraschallkontrastmittelformulierung in Form einer Bolusinjektion oder einer Infusion. Die Dosis an appliziertem Polymer/Tier/Untersuchungstag lag zwischen 0,6 und 660 µg/kg KGW. Nach der Bolusinjektion erfolgte jeweils eine Nachspülung mit isotoner Kochsalzlösung (Fa. B.Braun[®], Melsungen, D). Nach Infusions- bzw. Injektionsende waren die Kontrastmittelbläschen in Abhängigkeit von der verwendeten Dosis bis zu 30 Minuten im Herz-Kreislauf-System mit Ultraschall nachweisbar. Die gesamte Narkosedauer lag durchschnittlich bei 4,8 Stunden (3,43 Stunden bis 7,95 Stunden).

Tag	Ablauf
Tag 0	Untersuchungen („vor der Narkose“) und Blutentnahmen („vor der Narkose“) an der FU Fütterung Transport zur Fa. Schering AG
Tag 1	Narkose und Testung von Ultraschallkontrastmitteln bei der Fa. Schering AG Blutentnahmen („nach Prämedikation“, „in Inhalationsnarkose“ und „am Narkoseende“) Videoaufzeichnung in einer Wärmeaufwachbox Fütterung
Tag 2	Rücktransport zur FU Untersuchungen („24 h nach dem Narkoseende“) und Blutentnahmen („24 h nach dem Narkoseende“) an der FU Fütterung
Tag 7	Untersuchungen („7 d nach dem Narkoseende“) und Blutentnahmen („7 d nach dem Narkoseende“) an der FU Fütterung
Tag 14	Untersuchungen („14 d nach dem Narkoseende bzw. 1 d vor der Narkose“) und Blutentnahmen („14 d nach dem Narkoseende bzw. 1 d vor der Narkose“) an der FU Fütterung (Transport zur Fa. Schering AG)

Tab. 7: Schema eines Versuchsablaufs und Angabe der Untersuchungs- und Messzeitpunkte. FU = Freie Universität Berlin; d = Tag(e); h = Stunde(n)

1.4 Untersuchungsmethoden und -parameter

Die Hunde wurden jeweils 1 Tag vor der Narkose und 1, 7 und 14 Tage nach der Narkose immer vormittags und nüchtern im Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Freien Universität Berlin untersucht. Zusätzlich erfolgten bei der Schering AG, Berlin, Blutentnahmen während der Narkose und eine Verhaltensanalyse im Anschluss an die Narkose (Tabelle 7). Bei der Versuchsphase „häufig“ sind die Werte 14 Tage nach der Narkose gleichzeitig die Werte 1 Tag vor der Narkose. Bei der Versuchsphase „selten“ wurden alle nachfolgend aufgelisteten Untersuchungsparameter zwischen den 2 Narkosen durchgehend einmal pro Woche erhoben, um die Routine für die Tiere beizubehalten. In der Auswertung wurden diese Werte nicht angegeben.

1.4.1 Parameter einer klinischen Allgemeinuntersuchung

- a) Das **Körpergewicht** wurde mit einer digitalen Fußbodenwaage (Fa. Soehnle 7742, Murrhardt, D) mit einem Messbereich bis maximal 100 kg und Zählerstrichen von 50 g ermittelt.
- b) Die **Körperinnentemperatur** wurde rektal mit einem elektronischen Digital-Fieberthermometer (Digital Geratherm Medical AG, Geschwenda, D, GT – 131) gemessen. Messbereich: 32,0 °C bis 43,9 °C, Auflösung: 0,1 °C, in dem Messbereich von 34,0 °C bis 42,0 °C liegt die Messgenauigkeit bei +/- 0,1 °C, außerhalb ungenauer.
- c) Die **Atemfrequenzmessung** erfolgte am stehenden Tier. Die Thoraxbewegungen wurden über die Dauer von einer Minute gezählt.
- d) Die **Herzfrequenzmessung** wurde am sitzenden Tier im Bereich des 4. Interkostalraumes der linken Thoraxwand mit einem Phonendoskop Typ Rappaport durchgeführt, die Auszählung erfolgte über die Dauer von 1 Minute.

1.4.2 Funktionstest von Hirnnerven

Um festzustellen, ob Veränderungen der Funktion von Hirnnerven durch die wiederholten Narkosen ausgelöst werden, wurden einige Reflexe der Hirnnerven manuell getestet. Als Einheiten wurden gewählt:

prompt (1), verzögert (2), ausgefallen (3).

- a) **Pupillarreflex direkt und indirekt:** Mit einer Taschenlampe wurde dem Tier nacheinander in beide Augen geleuchtet und die Reaktion der Pupillen überprüft. Das jeweils nicht beleuchtete Auge wurde mit der Hand abgedeckt, um nach der direkten Pupillenreaktion die indirekte überprüfen zu können. Dafür wurde die Hand entfernt und wiederum die Reaktion der Pupille beurteilt. Die Verkleinerung der Pupille ist eine positive Reaktion.
- b) **Nervus trigeminus motorisch und sensibel:** Das Berühren des rostralen Augenwinkels und der Nasenschleimhaut mit einer Sonde führt zur sensiblen Reizung des Nerves. Das Tier zeigt als positive Reaktion Abwehrbewegungen. Der motorische Teil wird durch passives Öffnen des Fanges überprüft. Dabei stellt ein leichter Widerstand eine positive Reaktion dar.
- c) **Schluckreflex:** Mit dem Finger wurde der Zungengrund manuell gereizt, das Tier zeigt im positiven Fall Abwehrbewegungen und schluckt.
- d) **Lidreflex:** Dem Tier wurde ein Finger, den es nicht kommen sah, ohne irritierenden Luftzug vor jeweils ein Auge geführt, die Folge ist der Lidschluss zum Schutz.

1.4.3 Blutdruck

Für die Messung des arteriellen systolischen und diastolischen Blutdrucks wurde das Gerät Memoprint® (Fa. Scil Animal Care Company GmbH, Viernheim, D) verwendet. Hierbei handelt es sich um eine indirekte oszillometrische Messtechnik. Für die Messung wurde die kleine Hundemanschette an der rechten Vordergliedmaße des Tieres lateroproximal des Karpalgelenkes über der Arteria mediana angelegt (Henke et al., 2000). Die Tiere wurden dafür jeweils nach der Erhebung der Parameter der klinischen Allgemeinuntersuchung auf die linke Körperseite gelegt (Abbildung 1). Das Gerät pumpte die Manschette automatisch bis 180 mmHg auf. Es wurden immer 5 Messungen nacheinander durchgeführt. Anschließend wurden jeweils für den systolischen und den diastolischen Blutdruck die Mittelwerte aus diesen 5 Messungen berechnet. Die dadurch erhaltenen Werte weichen +/- 2 bis 5 % von den Werten der invasiven Methode ab (Henke et al., 2000). Diese Mittelwerte wurden zur weiteren statistischen Aufbereitung herangezogen.



Abb. 1: Tier H1E-095 bei der Blutdruckmessung

1.4.4 Messung der Herzfrequenz unter ergometrischer Belastung

Der Versuch mit ergometrischer Belastung der Tiere erfolgte anschließend an die Blutdruckmessung auf dem Laufband Trimline 7600.one (Fa. H.-P.-Cosmos Sportgeräte GmbH, Traunstein, D). Die Herzfrequenz wurde mittels eines Herzfrequenz-Messgerätes Polar A1™ (Fa. Polar Electro Oy, Finnland) bestimmt. Dafür wurde der Sendergurt seitlich an der linken Brustwand direkt hinter dem Ellenbogen befestigt. Die in den Gurt eingelassenen Messelektroden kamen somit dorsal und ventral des Brustkorbes zum liegen (Abbildung 2). Die Empfängeruhr wurde neben die Lauffläche auf die Seitenbegrenzung gelegt, um einen optimalen telemetrischen Empfang der Impulse zu garantieren. Die Brustwand des Tieres wurde vorher mit etwas Wasser befeuchtet und die Kontaktflächen der Messelektroden mit reichlich Ultraschall-Gel benetzt, um einen optimalen Kontakt und damit eine störungsfreie Übermittlung der Herzfrequenzen zu erreichen. Das Gerät hat eine Messgenauigkeit von ca. 1 Schlag/Minute.

Der Versuch mit ergometrischer Belastung erstreckte sich über eine Gesamtdauer von 15 Minuten. Die Messungen wurden immer über 1 Minute durchgeführt, wobei die Daten alle 10 Sekunden (0. sec bis 60. sec) von dem Empfänger abgelesen wurden. Aus diesen 7 Einzelwerten wurde jeweils der arithmetische Mittelwert berechnet. Diese Mittelwerte wurden bei der weiteren statistischen Auswertung verwendet. Die 1. Messung erfolgte vor der Belastung, die 2. Messung zwischen der 4. und 5. Minute, die 3. Messung zwischen der 9. und 10. Minute und die letzte Messung zwischen der 14. und 15. Minute. Das Laufband wurde auf eine Steigung von 12 % eingestellt. Zur Leistungssteigerung wurde die Anfangsgeschwindigkeit von 4 km/h alle 5 Minuten (direkt nach der Herzfrequenzmessung) jeweils um 1 km/h erhöht.

Zu Beginn der Studie liefen die Tiere mit einem Geschirr und angeleint. Im Laufe der Zeit wurden die Tiere an Halsbänder gewöhnt, und es konnte auf die Leine verzichtet werden.

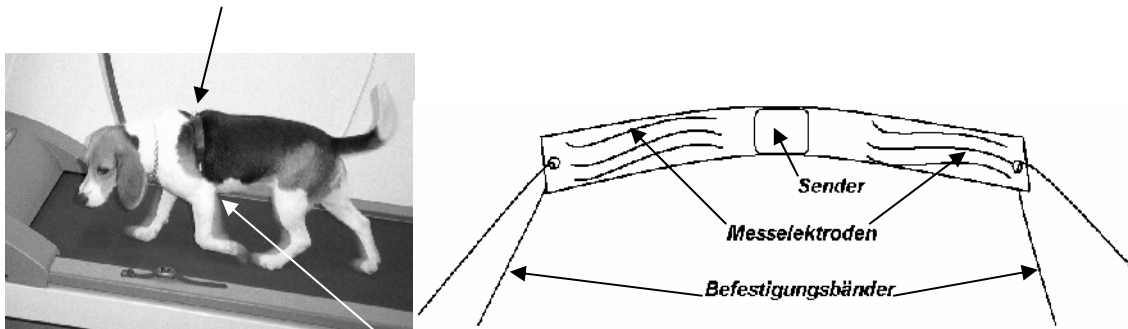


Abb. 2: Tier H1E-125 bei der Leistungsmessung. Die Pfeile markieren die Lage der Messelektroden. Daneben ist der Pulsmesser von Polar™ schematisch dargestellt.

1.4.5 Blutentnahmen

Die Blutentnahmen zur Bestimmung der Leberenzyme ALT, AST und ALP und der Nierenparameter Serum-Harnstoff und -Kreatinin erfolgten am sitzenden Tier an den Vordergliedmaßen (vorzugsweise der rechten Vordergliedmaße). Das Blut wurde durch Punktion der gestauten Vena cephalica antebrachii mittels einer sterilen Einmalkanüle (0,9 x 40 mm, steril, Fa. B.Braun®, Melsungen, D) bzw. in der Narkose mittels eines Venen-Verweilkatheters (Insyte®, 1,3 x 51 mm steril, Vialon, Fa. Becton Dickinson Vascular Access Inc., Sandy, Utah, USA) entnommen. Es wurden etwa 2 bis 2,5 ml Blut entnommen. Als Auffanggefäße wurden Serum-Monovetten® 2,7 ml (Fa. Sarstedt, Nümbrecht, D) verwendet. Frühestens 15 Minuten und spätestens 45 Minuten nach der Blutentnahme wurden die Proben bei 3000 U/min für 15 Minuten zentrifugiert. Der Überstand (Serum) wurde in ein Reaktionsgefäß mit Safe-Lock 1,5 ml (Fa. Eppendorf, Hamburg, D) abpipettiert.

Anschließend wurden die Proben sofort bei -20 °C tiefgefroren. Die Analyse der Blutproben erfolgte innerhalb von 3 Wochen.

Die Blutentnahmen wurden zu 7 Zeitpunkten durchgeführt: Die Entnahmen erfolgten jeweils 1 Tag vor der Narkose, dann 30 Minuten nach der Prämedikation, 3 Stunden nach Versuchsbeginn in tiefer Isofluran-Narkose (2 Stunden nach Intubation), am Ende der Narkose, 24 Stunden, 7 und 14 Tage nach Narkoseende. Bei der Versuchsphase „häufig“ ist die Entnahme zum Zeitpunkt 14 Tage nach der Narkose identisch mit der zum Zeitpunkt 1 Tag vor der nächsten Narkose (Tabelle 7).

Zusätzlich wurden von jedem Tier je 2 Blutproben á 2,5 ml an 4 Zeitpunkten für hämatologische und zusätzliche klinisch-chemische Untersuchungen in einem Abstand von etwa 3 Monaten entnommen. Die erste dieser Blutentnahmen erfolgte unmittelbar vor der ersten Versuchsphase. Die zweite Probe wurde 2 Wochen nach der letzten Narkose der ersten Versuchsphase genommen. Die dritte Probe wurde direkt vor der zweiten Versuchsphase, die letzte Blutprobe 2 Wochen im Anschluss an die letzte Narkose der zweiten Versuchsphase entnommen. Diese Proben dienen der Erkennung von möglichen Langzeiteffekten. Die Entnahme und Aufbereitung erfolgte entsprechend der oben beschriebenen Methode, ebenso wie die Behandlung der Proben zur klinisch-chemischen Untersuchung. Abweichend davon wurden als Auffanggefäß für die hämatologische Untersuchung Monovetten[®] mit einem EDTA (Ethyldiamintetraacetat) plus Kalium-Zusatz verwendet. Die hämatologischen Analysen fanden binnen 2 Stunden statt. Bis zur Analyse wurden sie bei Raumtemperatur gelagert.

1.4.5.1 Bestimmungsmethoden

Die Blutuntersuchungen wurden im hämatologischen und klinisch-chemischen Labor der Abteilung Experimentelle Toxikologie der Fa. Schering AG, Berlin, durchgeführt.

Verwendete Geräte:

- Bestimmung der hämatologischen Parameter: Analysesystem ADVIA[®] 120 (Fa. Bayer Diagnostics GmbH, Leverkusen, D) mit der dazugehörigen Veterinär Software, mit der spezies-spezifische Referenzwerte abrufbar waren. Diese Referenzwerte werden auch in der vorliegenden Untersuchung verwendet.
- Serumanalysegerät für die klinische Chemie: Automatic-Analyser Hitachi 904 (Fa. Roche Diagnostics[®], Basel, CH). Die Referenzwerte, die in der vorliegenden Untersuchung verwendet werden, wurden anhand dieses Gerätes im klinisch-chemischen Labor der Abteilung Experimentelle Toxikologie der Fa. Schering AG,

Berlin in dem Zeitraum November 1998 bis Juli 2001 an gesunden, unbehandelten, weiblichen Beagle-Hunden jeden Alters bestimmt. Die Anzahl der Tiere lag bei den verschiedenen Parametern zwischen 50 bis 154. Die Referenzbereiche wurden nach der nichtparametrischen Methode ermittelt, wobei das 90 %-Perzentil-Intervall als Referenzbereich definiert ist.

1.4.5.1.1 Hämatologische Untersuchungen

Das ADVIA[®] 120-System basiert auf dem Meßprinzip der Durchflusszytometrie. Bei der Durchflusszytometrie wird die Ablenkung des Laser-Lichtstrahls durch die vorbeifließenden Zellen photoelektrisch gemessen.

Das Gerät verfügt über verschiedene Messkanäle. In einem Kanal werden die Zelltypen Erythrozyten, Thrombozyten und Retikulozyten (auf Grund der unterschiedlichen Größe der Zellen bzw. des Vorhandenseins eines Zellkerns) differenziert und gezählt. In diesem Kanal wird auch das mittlere Zellvolumen der Erythrozyten bestimmt. Die Leukozytenzählung erfolgt in einem weiteren Kanal. Die Differenzierung der Leukozytenpopulation (neutrophile und eosinophile Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten und peroxidase-negative Zellen) wird sowohl durch die verschiedenen Zytoplasma- und Kernverhältnisse, als auch durch ein zytochemisches Verfahren vorgenommen. Die basophilen Granulozyten werden separat bestimmt. Der Hämoglobingehalt wird ebenfalls gesondert nach Lyse der Erythrozyten bestimmt.

Messwerte

- a) Erythrozytenzählung (RBC)**
Einheit: $10^{12}/l$
- b) Leukozytenzählung (WBC)**
Einheit: $10^9/l$
- c) Hämoglobingehaltbestimmung (HGB)**
Einheit: mmol/l umgewandelt in g/l
- d) Thrombozytenzählung (PLT)**
Einheit: $10^9/l$
- e) Mittleres Zellvolumen (MCV)**
Einheit: fl
- f) Retikulozytenzählung (RETIC)**
Einheit: %

Differentialblutbild

Die Gesamtzahl der Leukozyten wird gleich 100 % gesetzt. Die Einheit ist immer %.

- g) **Neutrophile Granulozytenzählung (NEUT)**
- h) **Lymphozytenzählung (LYMPH)**
- i) **Monozytenzählung (MONO)**
- j) **Eosinophile Granulozytenzählung (EOS)**
- k) **Basophile Granulozytenzählung (BASO)**
- l) **Große peroxidase-negative Zellenzählung (LUC)**

Rechenwerte

Erythrozytenparameter wurden indirekt bestimmt.

m) **Hämatokrit (HCT)**

Einheit: l/l

Formel: $HCT = RBC \times MCV / 10$

n) **Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (MCH)**

Einheit: fmol

Formel: $MCH = (HGB/RBC) \times 10$

o) **Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC)**

Einheit: mmol/l

Formel: $MCHC = HGB \times 100/HCT$

1.4.5.1.2 Klinisch-chemische Blutuntersuchungen

Die klinisch-chemische Blutuntersuchung erfolgte mit dem Analyseautomaten Automatic-Analyser Hitachi 904 (Fa. Roche Diagnostics[®], Basel, CH).

a) **Aspartat-Amino-Transferase (AST)**

UV-Test: Die Reaktion von α -Ketoglutarat mit L-Aspartat zu L-Glutamat und Oxalacetat wird durch das Enzym AST katalysiert. Die Oxalacetat-Zunahme wird in der gekoppelten Indikatorreaktion bestimmt. Bei dieser chemischen Reaktion wird NADH zu NAD oxidiert. Die Geschwindigkeit der photometrisch ermittelten NADH-Abnahme ist direkt proportional zur Oxalacetat-Bildung und damit der AST-Aktivität.

Einheit: IU/l

b) **Alanin-Amino-Transferase (ALT)**

UV-Test: Die Reaktion von α -Ketoglutarat mit L-Alanin zu L-Glutamat und Pyruvat wird durch das Enzym ALT katalysiert. Die Pyruvat-Zunahme wird in der gekoppelten Indikatorreaktion bestimmt. Bei dieser chemischen Reaktion wird NADH zu NAD

oxidiert. Die Geschwindigkeit der photometrisch ermittelten NADH-Abnahme ist direkt proportional zur Pyruvat-Bildung und damit der ALT-Aktivität.

Einheit: IU/l

c) Alkalische Phosphatase (ALP)

Farb-Test: Bei der chemischen Reaktion wird p-Nitrophenylphosphat in Gegenwart von Magnesiumionen durch die Phosphatase in Phosphat und p-Nitrophenol gespalten. Das dabei freigesetzte und photometrisch gemessene p-Nitrophenol ist proportional zu der ALP-Aktivität.

Einheit: IU/l

d) Cholesterin

Enzymatischer Farb-Test: Die Cholesterinester werden über mehrere Schritte gespalten. Dabei entsteht Wasserstoffperoxid, das mit 4-Aminophenazon und Phenol unter katalytischer Wirkung der Peroxidase einen roten Farbstoff bildet. Dessen Farbintensität ist direkt proportional zur Cholesterin-Konzentration und kann photometrisch gemessen werden.

Einheit: mg/dl, umgerechnet in SI-Einheit mmol/l

e) Glucose

UV-Test: Glucose wird zu Glucose-6-P oxidiert, dabei entsteht NADPH. Die Geschwindigkeit der NADPH-Zunahme ist direkt proportional zu der Glucose-Konzentration und wird photometrisch gemessen.

Einheit: mg/dl, umgerechnet in SI-Einheit mmol/l

f) Harnstoff

Kinetischer UV-Test: In einer enzymatischen Reaktion wird Harnstoff hydrolysiert, in einer anschließenden Reaktion wird NADH zu NAD oxidiert. Die Extinktionsabnahme durch den NADH-Verbrauch wird kinetisch gemessen.

Einheit: mg/dl, umgerechnet in SI-Einheit mmol/l

g) Total Plasma Protein

Farb-Test: Zweiwertiges Kupfer reagiert in alkalischer Lösung mit der Peptidbindung der Eiweiße zum charakteristischen purpurfarbenen Biuretkomplex. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Eiweiß-Konzentration, die photometrisch gemessen wird.

Einheit: g/dl umgerechnet in SI-Einheit g/l

h) Kreatinin

Kinetischer Farb-Test: Kreatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrat einen gelb-orange gefärbten Komplex, dessen Farbintensität direkt proportional der Kreatinin-Konzentration photometrisch gemessen wird. Korrektur um 0,3 mg/dl, da Proteine im Serum unspezifisch mit der Jaffé-Methode reagieren.

Einheit: mg/dl, umgerechnet in SI-Einheit $\mu\text{mol/l}$

i) Kalzium

Farb-Test: Kalzium reagiert in alkalischer Lösung mit einem Chromogen zu einem violetten Farbstoff, dessen Farbtintensität, proportional zur Kalzium-Konzentration, photometrisch bestimmt wird.

Einheit: mmol/l

j) Natrium, Kalium und Chlorid

Die Ionen werden mittels einer indirekten Messmethode, die auf dem Prinzip der Potentiometrie beruht, selektiv bestimmt. Auf Grund der Potentialdifferenz zwischen der Messelektrode, die an das Potential des zu messenden Kations angepasst ist, und der Referenzelektrode, die eine konstante Spannung erhält, wandern die Kationen aus der zu messenden Lösung über eine spezielle Membran in die Messelektrode und verändern dort das Potential. Die Änderung der Potentialdifferenz zwischen den Elektroden wird gemessen und hat eine logarithmische Beziehung zur Konzentration der Probe.

Einheit: mmol/l

1.4.6 Verhaltensanalyse

Um Auswirkungen von Narkosen auf das Verhalten während der Aufwachphase der Tiere beurteilen zu können, wurden diese direkt nach dem Ausleiten der Narkose (etwa 2 Minuten) mit einer Videokamera (Fujitsu Genera Limited (YV2.6x3B-2), Fujitsu Foto Optical, Tokyo, J) für 2 Stunden beobachtet. Die Tiere befanden sich in der oben beschriebenen Wärmebox. Die Aufzeichnung erfolgte mit einem Videorekorder (Panasonic Super Drive, NV-FJ630, Panasonic, Wiesbaden, D). Zur Überprüfung der Kameraeinstellung wurde ein kleiner Schwarzweiß-Monitor (VMM 9/3, Art.Nr. 90338, Fa. eneo Laboratories, Barcelona, E) angeschlossen. Die Auswertung wurde auf die erste halbe Stunde beschränkt und erfolgte mit dem Verhaltensanalyseprogramm EthoLog 2.25 (E.B. Ottoni, Sao Paulo, BR) (Ottoni, 2000).

Es wurden folgende Verhaltensparameter bestimmt:

- Das Aktivitätsverhalten bzw. koordinierte Bewegungen, das Ruheverhalten und das Aufwachverhalten. Dies sind Verhaltensweisen, die eine gewisse Zeit andauern. Sie werden als State Events bezeichnet.
- In einer separaten Auswertung wurde das Verhalten „Zittern“ über eine Untersuchungsdauer von einer Stunde gemessen. Es handelt sich hierbei ebenfalls um einen State Event.
- Das erste Kopfbeugen des Hundes. Dieses Verhalten tritt nur sehr kurz auf, daher wird es als Instant Event bezeichnet.

Für die Auswertung der Daten mit dem Verhaltensanalyseprogramm EthoLog 2.25 von E.B. Ottoni wurde jedem Parameter ein Buchstabe der Computertastatur zugeordnet (Tabelle 8). Bei den als State Events definierten Verhaltensweisen wurde durch das Programm jeweils der Beginn, das Ende und die Dauer notiert.

Bei dem Instant Event wurde der jeweilige Zeitpunkt notiert, bei dem er einsetzte. Aus den Daten des Programms ist ersichtlich, zu welchem State Event der Instant Event stattgefunden hat.

State Events	Code	Instant Event	Code
Aufwachverhalten	a	erstes Mal Kopfheben	k
Aktivität/koordinierte Bewegung	b		
Ruheverhalten	r		
Zittern	s		

Tab. 8: Verhaltensparameter mit entsprechendem Code

1.4.6.1 Definitionen der einzelnen Verhaltensparameter

1.4.6.1.1 Aktivitätsverhalten bzw. koordinierte Bewegung

Stehen

Jede Körperhaltung, bei dem das Tier auf seinen 4 Gliedmaßen stand.

Laufen

Vorwärtsbewegung

Sitzen

Haltung, bei der das Tier auf seinen Hinterbeinen saß und sich auf seine Vorderbeine stützte.

Putzverhalten

Belecken, Kratzen, Schütteln und Beschnüffeln des eigenen Körpers.

Auf den Hinterbeinen stehen

Körperposition, bei dem sich das Tier auf seine Hinterläufe stellte und seine Vorderläufe frei oder an einer Wand waren.

Erkundungsverhalten

Verhalten, bei dem das Tier den Boden abschnüffelte, insbesondere seine Nase durch die Belüftungslöcher steckte, aber auch Verhaltensweisen wie Bekratzen und Belecken der Boxenwände und -böden.

Urinieren

Das Tier setzte Urin ab.

Koten

Das Tier setzte Kot ab.

Lautäußerungen

Verhalten, bei dem auch ohne Videoton zu sehen war, dass der Hund bellte oder heulte. Dabei spielten die Kopf- und Maulhaltung im Zusammenspiel mit den Bewegungen des Brustkorbes eine entscheidende Rolle.

1.4.6.1.2 Ruheverhalten

Seitenlage

Das Tier befand sich in rechter oder linker Seitenlage.

Brustlage

Das Tier lag auf seinem Brustbein.

1.4.6.1.3 Narkosespezifisches Aufwachverhalten

Kopfheben (Instant Event)

Falls sich der Hund zu Beginn der Aufzeichnung in Brust- oder Seitenlage befand und aus dieser Position als erstes Anzeichen seines Aufwachens den Kopf hob, wurde der Zeitpunkt notiert. Saß oder stand das Tier bereits, konnte dieser Zeitpunkt nicht erfasst werden.

Aufwachverhalten (State Event)

Unkoordiniertes Verhalten mit Ruderbewegungen im Liegen, Vorwärtsrobben, Umfallen, deutliches Schwanken, Taumeln und weitere Verhaltensweisen, die darauf schließen ließen, dass das Tier noch nicht im Vollbesitz seiner motorischen Fähigkeiten war. Als Aufwachzeitpunkt wird der Zeitpunkt bezeichnet, in dem das Tier die ersten unkoordinierten Bewegungen macht.

1.4.6.1.4 Zittern

Jedes deutlich sichtbare Beben und Schütteln des Körpers oder der Körperteile der Tiere, dass sie im Liegen oder im Sitzen zeigten, wurde separat über die Dauer von einer Stunde erfasst. Die Auswertung wurde auf eine Stunde ausgedehnt, da die Tiere teilweise das Verhalten „Zittern“ erst nach 30 Minuten zeigten.

1.5 Auswertung/Statistik

Die statistische Planung und Analyse der Daten wurde nach der Beratung von Herrn Dipl.-Math. H.-F. Ulbrich (Abteilung Non-Clinical Statistics, Fa. Schering AG, Berlin) und mit der Hilfe von Frau Dr. G. Arndt (Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung, Fachbereich Veterinärmedizin) durchgeführt.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit den Computer-Programmen SigmaPlot[®] Version 4 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), SigmaStat[®] Version 2.03 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) und SAS[®] (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). Es wurde für alle Daten eine einheitliche Darstellungsweise in Form von Liniendiagrammen gewählt. In diesen Graphen sind die Werte der 3 Tiere einer Gruppe einzeln pro Versuch angegeben. Bei der Interpretation dieser Diagramme wird der Begriff „Fall“ für die Beschreibung des Vergleichs zwischen 2 Zeitpunkten pro Versuch und Tier angewendet. Pro Tier können 7 solcher „Fälle“ verglichen werden.

Für den Cross-Over-Test und den paired-t-Test wurde die Annahme, dass die Daten einer Gaußschen Normalverteilung genügen, vorausgesetzt. Auf eine Überprüfung ist auf Grund der geringen Fallzahlen verzichtet worden. Für die Auswertung des Cross-Over-Modells wurde eine 2 x 2 Cross-Over-Analyse für Gauß-verteilte und varianzhomogene Daten durchgeführt.

Bei dem Cross-Over-Modell ging es darum, die unterschiedlichen Auswirkungen auf die Parameter Körpergewicht, Körpertemperatur, Atem- und Herzfrequenz, Blutdruck, Herzfrequenz unter ergometrischer Belastung sowie der Leber- und Nierenparameter im Serum durch häufige bzw. seltene Narkosen herauszufinden (Treatmenteffekt). Auf Grund des gewählten Versuchsdesigns ist davon auszugehen, dass der maximale Effekt im jeweils letzten Versuch einer Phase (2. und 7. Versuch für Gruppe 1 und 5. und 7. Versuch für Gruppe 2) zu beobachten ist. Innerhalb der Ergebnisse dieser letzten Versuche wurde außer bei Harnstoff und Kreatinin der Zeitpunkt 24 Stunden nach der Narkose gewählt. Beim Serum-Harnstoff wurde der Wert „nach Prämedikation“, bei Serum-Kreatinin der Wert vom „Narkoseende“ gewählt. Um das Verhalten der Werte in Bezug auf ihren jeweiligen Ausgangswert miteinbeziehen und sie damit besser interpretieren zu können, wurde bei der Cross-Over-Analyse mit den absoluten Differenzen gerechnet. Die absoluten Differenzen stellen das Maß der Veränderung bzw. der Wirkung dar (Effektmaß).

In der Ergebnisdarstellung wird für die einzelnen Parameter, die mit Hilfe des Cross-Over-Modells analysiert wurden, der aus dem Modell geschätzte Versuchsphasenunterschied „häufig – selten“, der zugehörige Standardfehler und die Überschreitungshäufigkeit p für die

Nullhypothese, „die Werte der Versuchsphasen unterscheiden sich nicht“, angegeben. Von einem Unterschied in den Treatmentstufen wird gesprochen, wenn $p < 0,05$ ist.

Bei 2 Parametern (KGW und Crea) wurde außerdem der paired-t-Test zum Vergleich zwischen 2 Zeitpunkten innerhalb eines Versuches angewendet. Wenn $p < 0,05$ ist, wird von Unterschieden zwischen den Zeitpunkten gesprochen.

Zur Unterstützung der graphischen Analyse wurden ferner bei einigen Parametern (KGW, Temperatur, HF, HF unter Belastung, AST, ALP und Crea) Tabellen mit dem arithmetischen Mittelwert sowie der maximalen und minimalen Abweichung der Differenz der Werte 24 Stunden nach der Narkose im Vergleich zu vor der Narkose beigefügt. Diese Werte wurden pro Gruppe und Versuchsphase getrennt berechnet. Mit „n“ wird immer der Stichprobenumfang angegeben.

Auf Grund der geringen Tierzahl dienen die statistischen Verfahren (Cross-Over-Modell, paired-t-Test und die Berechnungen von Mittelwert (MW), Maximum (Max.) und Minimum (Min.)) allein der besseren Beschreibung der Ergebnisse. Eine Verallgemeinerung auf die Gesamtpopulation kann nicht vorgenommen werden.

Auf eine statistische Aufbereitung der Ergebnisse der Funktionstests der Hirnnerven wurde verzichtet.

1.5.1 Auswertung der Verhaltensparameter

Das Verhaltensanalyseprogramm EthoLog 2.25 gab die Ergebnisse in Form von programmeigenen Textdateien wieder. Diese wurden zur weiteren Bearbeitung in Windows EXCEL Format konvertiert. Anschließend sind die Daten zur graphischen Aufbereitung in SigmaPlot[®] übertragen worden.

Die Daten zur prozentualen Dauer der Verhaltensweisen (Aktivität/koordinierte Bewegungen, Ruhe- und Aufwachverhalten) wurden als Blockdiagramme dargestellt. Zusätzlich wurden Dauer [Minuten] und Häufigkeit der Verhaltensweisen pro Tier und Versuch tabellarisch dargestellt. Dies erfolgte für das Verhalten „Zittern“ separat. Außerdem wurden die Zeiten bis zum „ersten Kopfheben“, „ersten Aufwachverhalten“ sowie zur „ersten koordinierten Bewegung“ berechnet und in Tabellen beigefügt.

2. ERGEBNISSE

2.1 Parameter der klinischen Allgemeinuntersuchung

2.1.1 Körpergewicht

Das mittlere Ausgangsgewicht der beiden Hundegruppen unterschied sich nicht (Gruppe 1: $9,2 \pm 0,2$ kg; Gruppe 2: $9,2 \pm 0,2$ kg). Die angegebenen Werte sind Mittelwerte mit der Standardabweichung der mittleren Körpergewichte pro Tier und pro Gruppe, ermittelt aus den wöchentlich gemessenen Körpergewichten innerhalb von 4 Wochen vor Versuchsbeginn.

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln. Es ergab sich ein Schätzwert für den Versuchsphasenunterschied „häufig“ gegen „selten“ (Treatmenteffekt) von $-0,3$ kg mit einem mittleren Standardfehler von $0,3$ kg (p-Wert = $0,410$).

Bei dem Vergleich des Körpergewichts jeweils vor und 24 Stunden nach einer Narkose mittels paired-t-Test ergab sich in 5 von 14 Versuchen ein statistisch signifikanter Abfall des Gewichts (Anhang C, Tabelle 17).

Aus den graphischen Darstellungen (Abbildungen 3 und 4) der Entwicklung der Körpergewichte in Abhängigkeit von den Versuchen war ein Abfall des Körpergewichts 24 Stunden nach der jeweiligen Narkose in 18 von 21 Fällen pro Gruppe zu ermitteln. Bei den meisten Versuchen war der Gewichtsverlust innerhalb von 7, spätestens jedoch nach 14 Tagen, wieder ausgeglichen. In jeweils 3 von 21 Fällen pro Gruppe (Versuchsphase „häufig“) veränderte sich das Körpergewicht 24 Stunden nach der Narkose nicht oder stieg an. In diesen Fällen kam es zu einem maximalen Gewichtsanstieg von $0,1$ kg.

Bei den Versuchsphasen „selten“ kam es immer zu einem Gewichtsverlust 24 Stunden nach der Narkose (Tabelle 9). Der maximale Gewichtsabfall bewegte sich nach Versuchsphasen und Gruppen getrennt zwischen $0,5$ kg und $0,8$ kg (Tabelle 9). Bei dem Tier H1E-095 kam es im Versuch 7 zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Narkose zu einem unrealistisch hohen Gewichtsabfall von $2,5$ kg. Es handelt sich dabei wahrscheinlich um einen Messfehler, da das Tier bei der klinischen Allgemeinuntersuchung keine Störungen aufwies. Bei den statistischen Auswertungen (MW, Min., Max. und paired-t-Test) wurde dieser Wert herausgenommen.

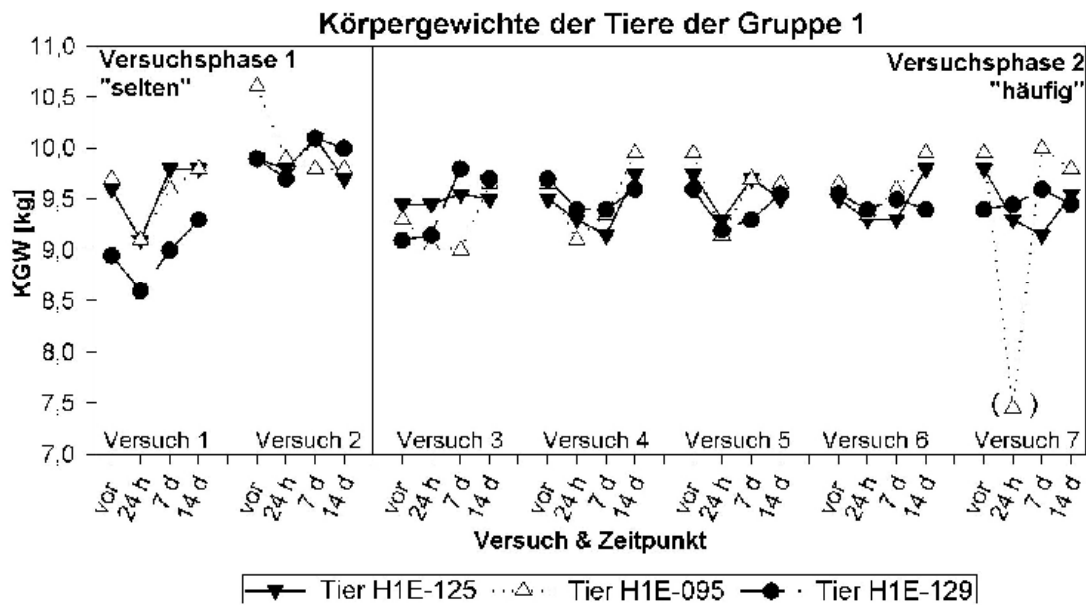


Abb. 3: Darstellung des Körpergewichts [kg] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. Das Ergebnis der Körpergewichtsmessung des Tieres H1E-095 vom Versuch 7 zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Narkose ist in Klammern dargestellt, da es sich hierbei um einen unrealistischen Wert handelt, der wahrscheinlich durch einen Messfehler verursacht wurde.

KGW = Körpergewicht; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

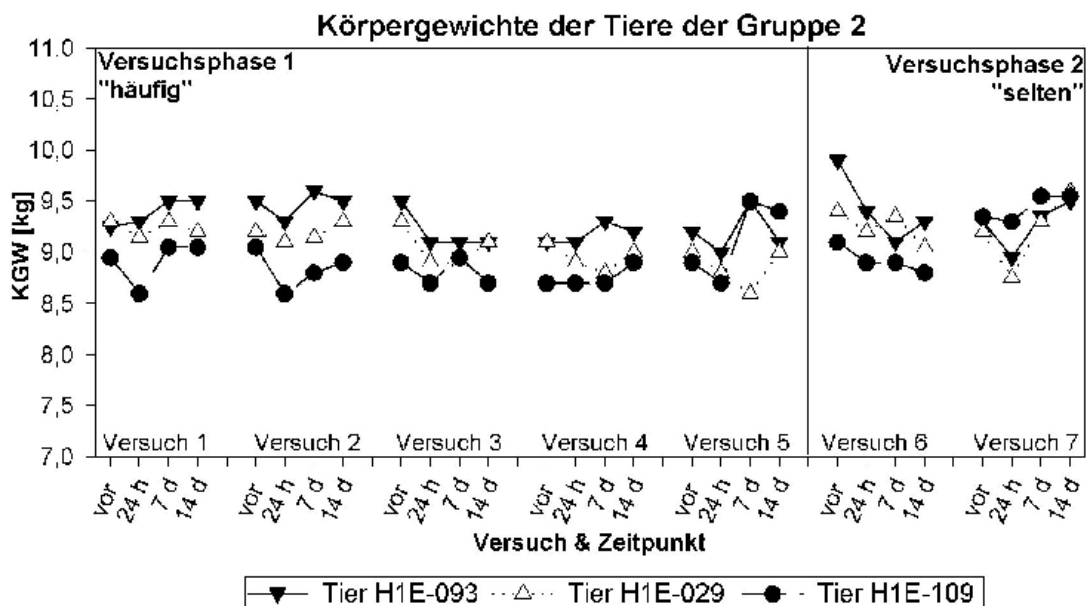


Abb. 4: Darstellung des Körpergewichts [kg] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

KGW = Körpergewicht; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

	Gruppe 1 "selten"	n	Gruppe 1 "häufig"	n	Gruppe 2 "selten"	n	Gruppe 2 "häufig"	n
MW	-0,4 kg	6	-0,3 kg	14	-0,3 kg	6	-0,2 kg	15
Min.	-0,1 kg		0,1 kg		-0,1 kg		0,1 kg	
Max.	-0,7 kg		-0,8 kg		-0,5 kg		-0,5 kg	

Tab. 9: Angaben des Gewichtsverlustes [kg] 24 Stunden nach der Narkose im Vergleich zu 1 Tag vor der Narkose. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert (MW), der maximale (Max.) sowie der minimale (Min.) Gewichtsverlust [kg] getrennt nach Gruppen und Versuchsphasen und der Stichprobenumfang ($n = \text{Versuche} \times \text{Tiere}$). Das Ergebnis der Körpergewichtsmessung von Tier H1E-095 (Gr. 1) 24 Stunden nach der Narkose im Versuch 7 (Versuchsphase „häufig“) wurde herausgenommen, da es unerklärlich hoch ausfiel.

Das Körpergewicht der Tiere der Gruppe 1 (Abbildung 3), gemessen jeweils 1 Tag vor den Narkosen, stieg innerhalb der 8-wöchigen Versuchspause vom 1. zum 2. Versuch hin an. Nach der 3-monatigen Ruhephase lag das Körpergewicht der Tiere wieder auf dem Niveau wie vor dem ersten Versuch. Die Tiere der Gruppe 2 nahmen innerhalb ihrer ersten Versuchphase nicht zu, auch nach der Ruhephase war die Gewichtszunahme nur gering. In der zweiten Versuchsphase konnte bei beiden Gruppen keine Gewichtszunahme von Versuch zu Versuch verzeichnet werden.

2.1.2 Körpertemperatur

Die Körpertemperatur lag größtenteils zu jedem Messzeitpunkt bei beiden Gruppen innerhalb des für den Hund angegebenen Referenzbereichs von 37,5 bis 39,0 °C (Knickel et al., 1998). Ausnahmen traten bei der Gruppe 1 bei 6 und bei der Gruppe 2 bei 25 Messungen auf, bei 2 Messungen lag die Körpertemperatur darunter, und bei 29 Messungen lag sie darüber. Die klinisch relevante Temperatur von 39,5 °C (Paddleford und Erhardt, 1992) wurde nur bei insgesamt 4 Messungen überschritten. Dabei handelte es sich immer um den Zeitpunkt 24 Stunden nach der Narkose. Eine kritische Untertemperatur trat nicht auf.

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln. Es ergab sich ein Schätzwert für den Versuchsphasenunterschied „häufig“ gegen „selten“ (Treatmenteffekt) von 0,2 °C mit einem mittleren Standardfehler von 0,1 °C ($p\text{-Wert} = 0,158$).

Aus den Graphen zur Darstellung der Körpertemperatur (Abbildung 5 und 6) ist zu erkennen, dass die Körpertemperatur, außer in 4 von 21 Fällen bei der Gruppe 1 und in 3 von 21 Fällen bei der Gruppe 2, 24 Stunden nach der Narkose über dem Wert 1 Tag vor der Narkose lag. In der Mehrheit der Fälle sinken die Werte danach wieder ab. Nach 7, teilweise auch erst

nach 14 Tagen sind viele der Werte wieder auf oder unter dem Ausgangsniveau. Der mittlere Temperaturanstieg 24 Stunden nach der Narkose bewegte sich nach Versuchsphasen und Gruppen getrennt zwischen 0,3 °C und 0,6 °C, maximal wurden Werte von 1,3 °C erreicht. Bei der Versuchsphase „häufig“ kam es bei beiden Gruppen (zweimal bei Gr. 1 und einmal bei Gr. 2) zu einem Körpertemperaturabfall, der maximal 1,1 °C (Gr. 1) betrug (Tabelle 10). Beim Vergleich der Körpertemperaturen, gemessen jeweils 1 Tag vor der Narkose des ersten und letzten Versuchs (Vers. 2 Gr. 1 & Vers. 5 Gr. 2) der ersten Versuchsphase (Abbildungen 5 und 6) fällt auf, dass mit der Ausnahme von je einem Tier pro Gruppe (H1E-095 & H1E-093) die Körpertemperatur 1 Tag vor der Narkose des letzten Versuchs niedriger ist als 1 Tag vor der Narkose des 1. Versuchs der ersten Versuchsphase (um 0,3 bis 0,9 °C).

	Gr. 1 "selten"	n	Gr. 1 "häufig"	n	Gr. 2 "selten"	n	Gr. 2 "häufig"	N
MW	0,4 °C	6	0,3 °C	15	0,6 °C	6	0,4 °C	15
Min.	0,0 °C		-1,1 °C		0,3 °C		-0,2 °C	
Max.	1,3 °C		0,7 °C		1,2 °C		1,1 °C	

Tab. 10: Angaben des Temperaturanstiegs [°C] 24 Stunden nach der Narkose im Vergleich zu 1 Tag vor der Narkose. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert (MW), der maximale (Max.) sowie der minimale (Min.) Temperaturanstieg [°C] getrennt nach Gruppen (Gr.) und Versuchsphasen („selten“ & „häufig“) sowie der Stichprobenumfang (n = Versuche x Tiere).

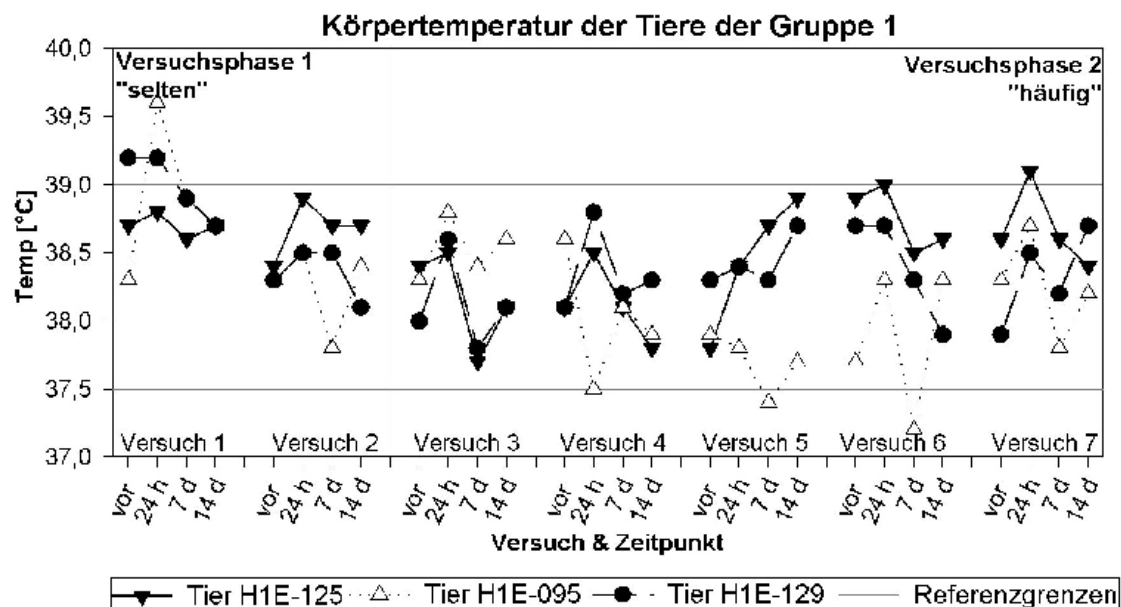


Abb. 5: Darstellung der Körpertemperatur [°C] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. Temp = Körpertemperatur; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

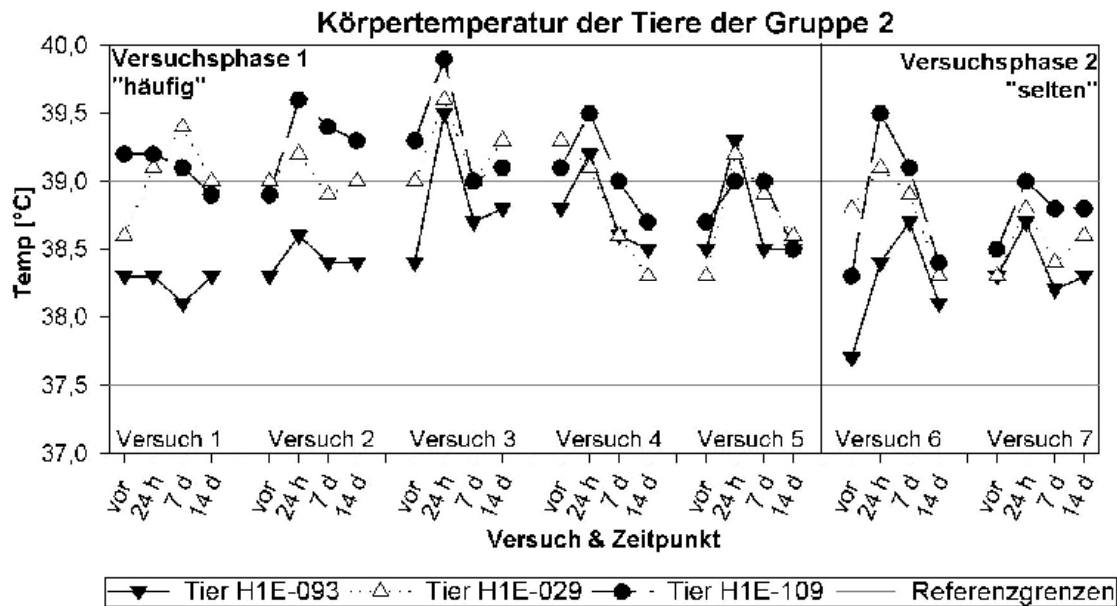


Abb. 6: Darstellung der Körpertemperatur [°C] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.
 Temp = Körpertemperatur; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

2.1.3 Atemfrequenz

Die Atemfrequenz lag mit 14 bis 44 Zügen pro Minute immer weitgehend innerhalb des in der Literatur angegebenen Referenzbereichs von 18 bis 35 (Pickrell et al., 1971) bzw. 15 bis 30 Zügen pro Minute (Knickel et al., 1998).

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln. Es ergab sich ein Schätzwert für den Versuchsphasenunterschied „häufig“ gegen „selten“ (Treatmenteffekt) von 1 Zug/Minute mit einem mittleren Standardfehler von 3 Zügen/Minute und einem p-Wert von 0,873.

Auf den Abbildungen 7 und 8 ist zu erkennen, dass zum Zeitpunkt vor dem ersten Versuch der ersten Versuchsphase die Atemfrequenz bei allen Tieren der Gruppe 2 höher war als bei den Tieren der Gruppe 1. Die Atemfrequenz der Tiere der Gruppe 2, gemessen jeweils 1 Tag vor der Narkose, nahm in den folgenden Versuchen ab, blieb aber immer etwas höher als die Atemfrequenz bei den Tieren der Gruppe 1.

Die Atemfrequenz war in 13 von 21 Fällen bei der Gruppe 1 und in 10 von 21 Fällen bei der Gruppe 2 24 Stunden nach der Narkose höher als 1 Tag vor der Narkose. Der Anstieg war bei der Gruppe 1 in 88 % und bei der Gruppe 2 in 80 % der Fälle ≤ 10 Züge/Minute. In

einigen Fällen (4 bei Gruppe 1 und 10 bei Gruppe 2) war ein gegenläufiger Trend zu beobachten (Abbildungen 7 und 8).

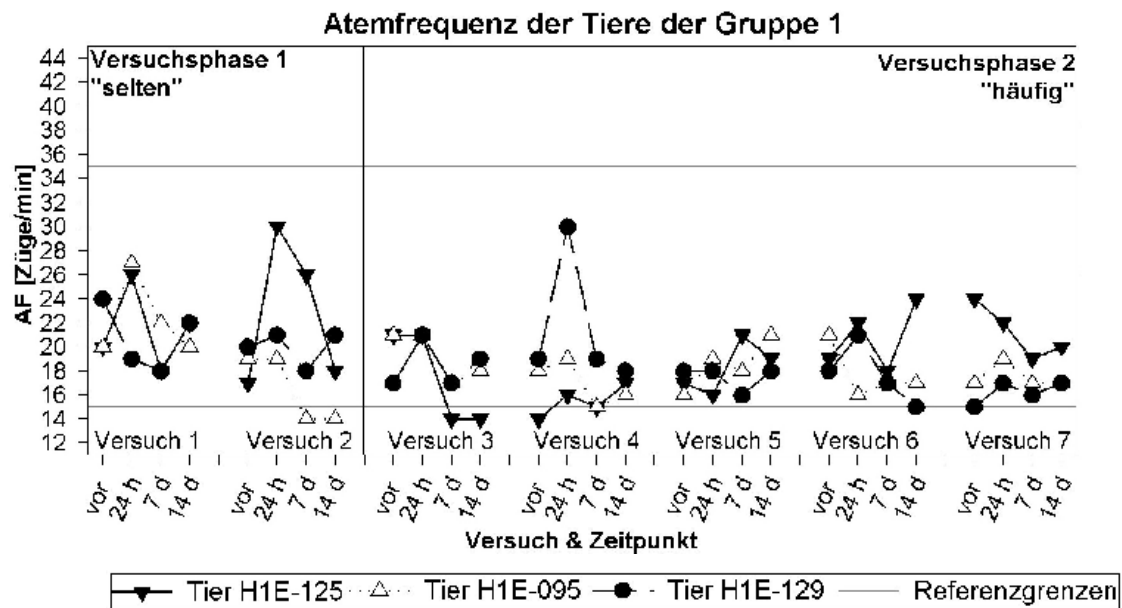


Abb. 7: Darstellung der Atemfrequenz [Züge/Minute] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

AF = Atemfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose.

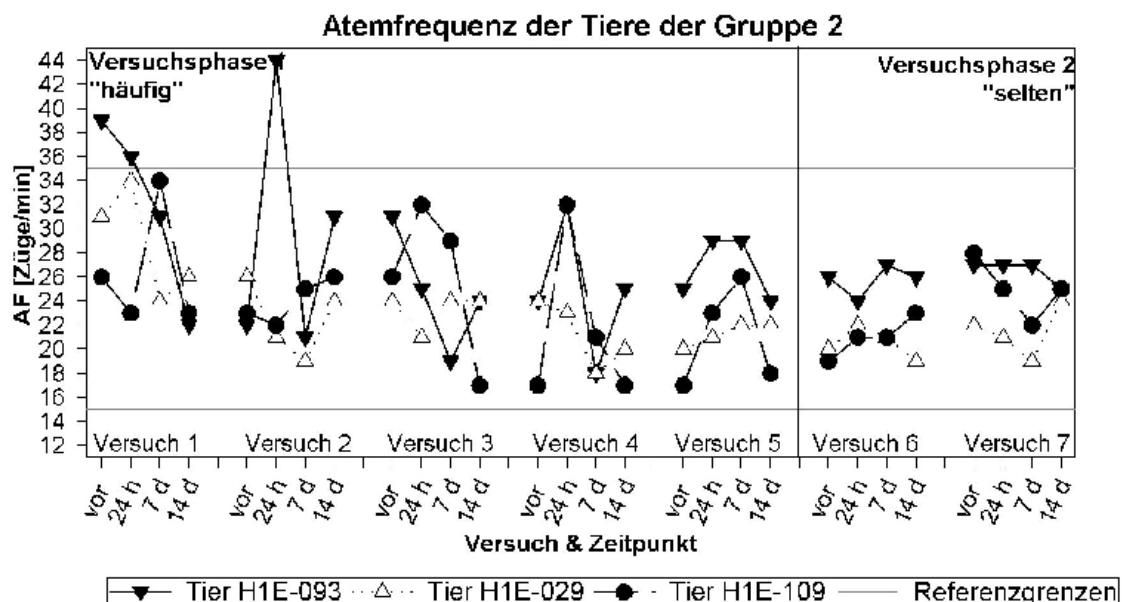


Abb. 8: Darstellung der Atemfrequenz [Züge/Minute] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

AF = Atemfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose.

2.1.4 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz bewegte sich weitgehend innerhalb des in der Literatur verwendeten Referenzbereichs von 80 bis 120 Schlägen/Minute für den Hund (Knickel et al., 1998). Eine Überschreitung trat nur vereinzelt (6 Messungen bei Gruppe 1 und 2 Messungen bei Gruppe 2), meist bei dem Zeitpunkt 24 Stunden nach der Narkose auf. Eine Unterschreitung trat bei 10 Messungen bei der Gruppe 1 und bei 18 Messungen bei der Gruppe 2 auf.

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln. Es ergab sich ein Schätzwert für den Versuchsphasenunterschied „häufig“ gegen „selten“ von -16 Schlägen/Minute mit einem Standardfehler von 15 Schlägen/Minute. Der p-Wert lag bei 0,363.

Die Herzfrequenz unterlag starken individuellen Schwankungen (Abbildungen 9 und 10). In 16 von 21 Fällen bei der Gruppe 1 und in 17 von 21 Fällen bei der Gruppe 2 waren die Herzfrequenzen 24 Stunden nach der Narkose höher als vor den Narkosen. Maximal stieg die Herzfrequenz in der Versuchsphase „selten“ bei der Gruppe 2 (59 Schläge/Minute). In 5 von 21 Fällen bei der Gruppe 1 und in 4 von 21 Fällen bei der Gruppe 2 war die Herzfrequenz 24 Stunden nach der Narkose niedriger als zuvor, maximal lag dieser Abfall bei 12 Schlägen/Minute (Tabelle 11). Innerhalb von 7 bis 14 Tagen lagen die Werte wieder im Bereich des Ausgangsniveaus.

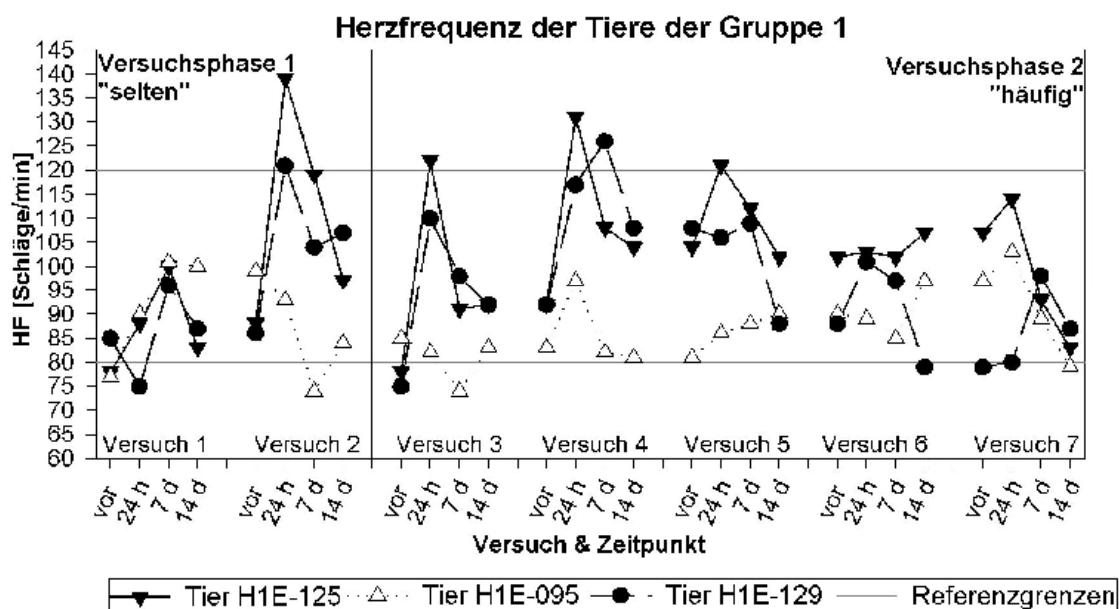


Abb. 9: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

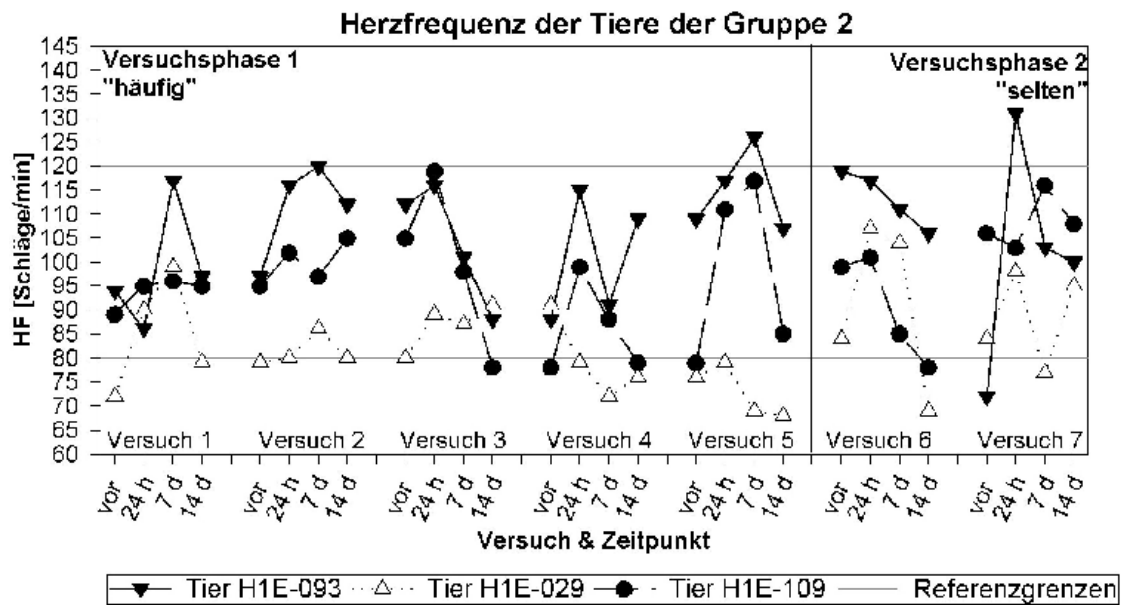


Abb. 10: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

	Gruppe 1 "selten" [Schläge/Minute]	n	Gruppe 1 "häufig" [Schläge/Minute]	n	Gruppe 2 "selten" [Schläge/Minute]	n	Gruppe 2 "häufig" [Schläge/Minute]	n
MW	16	6	13	15	16	6	10	15
Min.	-10		-3		-3		-12	
Max.	51		44		59		32	

Tab. 11: Angaben der Veränderung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] 24 Stunden nach der Narkose im Vergleich zu 1 Tag vor der Narkose. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert (MW), der maximale (Max.) sowie der minimale (Min.) Anstieg der Herzfrequenz [Schläge/Minute] getrennt nach Gruppen und Versuchsphasen sowie der Stichprobenumfang (n = Versuche x Tiere).

2.1.5 Funktionstest von Hirnnerven

Die Reflexe blieben bei allen Tieren an jedem gemessenen Zeitpunkt erhalten, erfolgten prompt und waren zu keinem Zeitpunkt verzögert.

2.2 Blutdruck

Die Werte des systolischen und des diastolischen Blutdrucks der beiden Gruppen bewegten sich zu jedem Zeitpunkt innerhalb der Referenzwerte für den Hund (SBD: 90 bis 165 mmHg; DBD: 60 bis 115 mmHg), die mit diesem Gerät ermittelt wurden (Erhardt, 1997).

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln. So wurde für den systolischen Blutdruck ein Schätzwert für den Versuchsphasenunterschied („häufig“ – „selten“) von 2 mmHg mit einem Standardfehler von 2 mmHg und einem p-Wert von 0,431 ermittelt. Bei dem diastolischen Blutdruck belief sich der Schätzwert für den Versuchsphasenunterschied („häufig“ – „selten“) auf -1 mmHg mit einem Standardfehler von 3 mmHg und einem p-Wert von 0,818.

Es waren keine eindeutigen Veränderungen des Blutdrucks im Zusammenhang mit den durchgeführten Versuchen zu erkennen (Abbildungen 11 bis 14). Die Blutdruckwerte unterlagen versuchsunabhängig diversen Schwankungen, sowohl nach oben als auch nach unten.

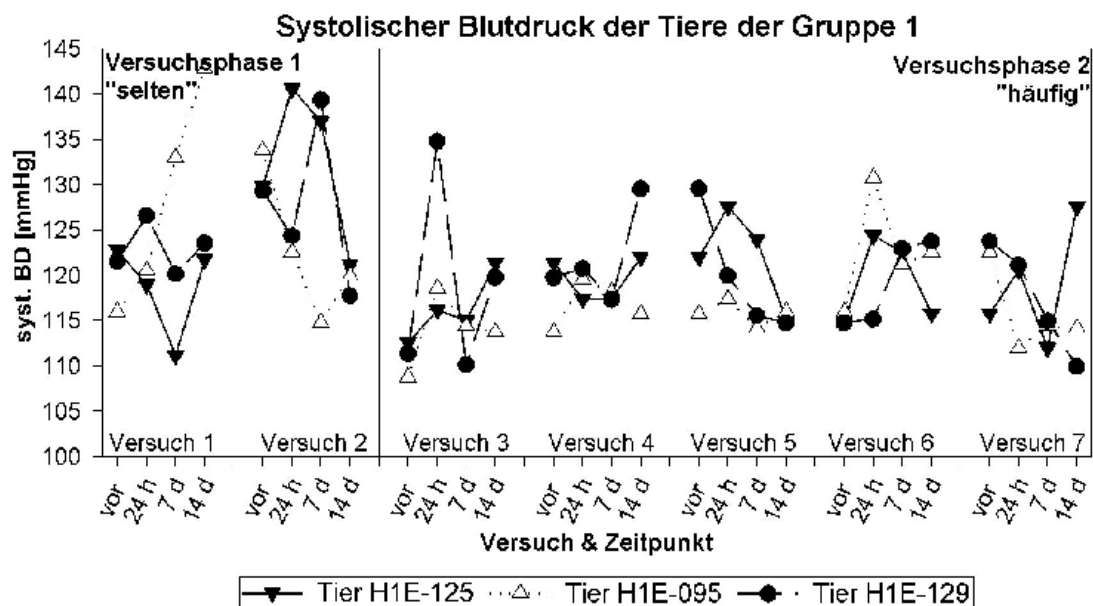


Abb. 11: Darstellung des systolischen Blutdrucks [mmHg] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. syst. BD = systolischer Blutdruck; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

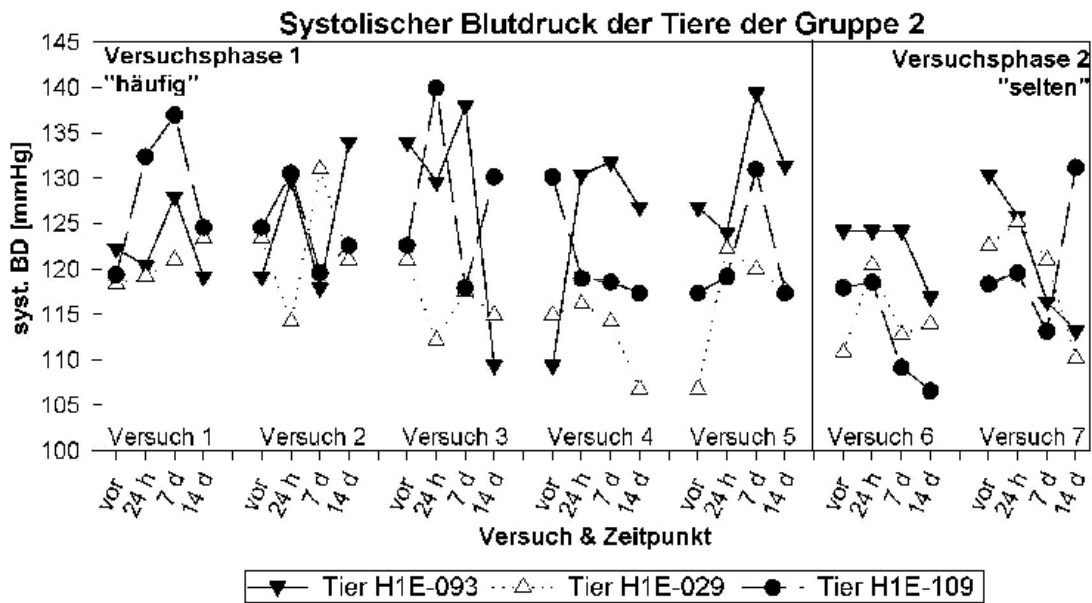


Abb. 12: Darstellung des systolischen Blutdrucks [mmHg] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. syst. BD = systolischer Blutdruck; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

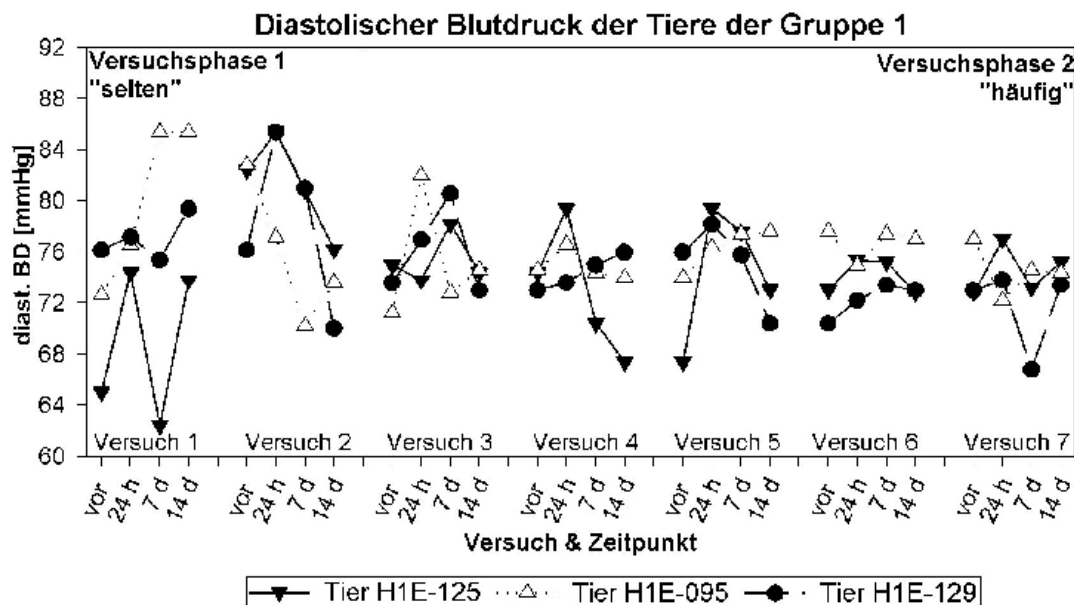


Abb. 13: Darstellung des diastolischen Blutdrucks [mmHg] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. diast. BD = diastolischer Blutdruck; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

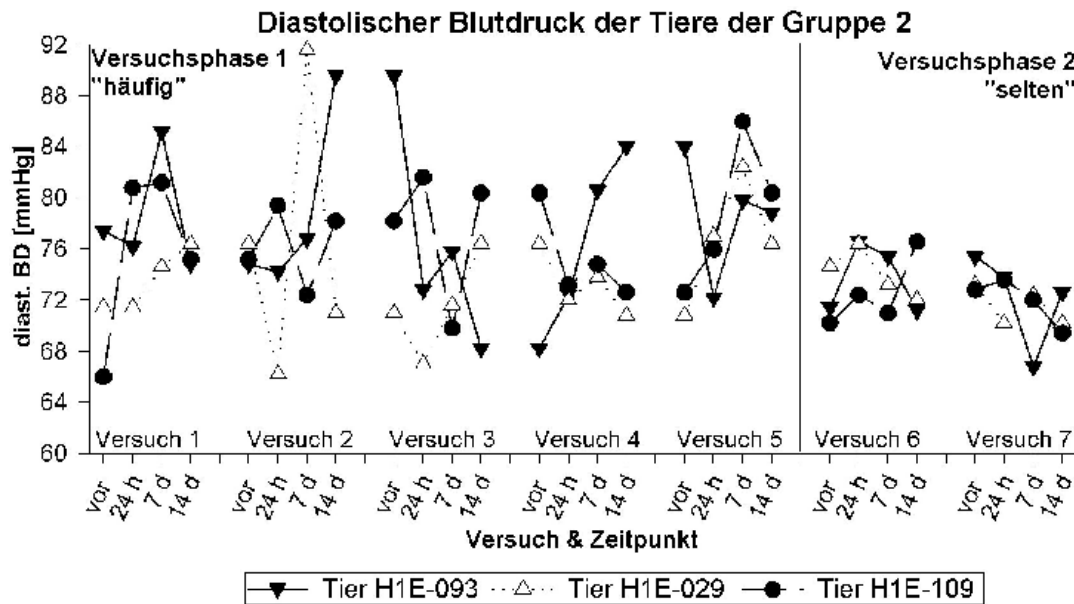


Abb. 14: Darstellung des diastolischen Blutdrucks [mmHg] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. diast. BD = diastolischer Blutdruck; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

2.3 Messung der Herzfrequenz unter ergometrischer Belastung

Die Leistung wurde anhand der Herzfrequenzänderungen unter Belastung untersucht.

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch bei keiner Belastungsstufe ein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln. Es ergaben sich folgende Schätzwerte für den Vergleich der Versuchsphasen „häufig“ gegen „selten“ bei den einzelnen Leistungsstufen (Tabelle 12):

Belastungs-Stufe	Schätzwert [Schläge/Minute] („häufig“ - „selten“)	Standardfehler [Schläge/Minute]	p-Wert [Schläge/Minute]
0 km/h	6	8	0,500
4 km/h	7	6	0,317
5 km/h	-4	9	0,706
6 km/h	2	10	0,854

Tab. 12: Ergebnisse des 2 x 2 Cross-Over Modells. Zur Berechnung wurden die Differenzen aus den Ergebnissen jeweils 1 Tag vor der Narkose zu 24 Stunden nach der Narkose pro Belastungsstufe des jeweils letzten Versuchs einer Versuchsphase herangezogen.

Bei Betrachtung der Daten der Einzelversuche war in der Mehrheit der Fälle bei beiden Gruppen (Ausnahmen: 1 von 21 Fällen bei Gr. 1 & 4 von 21 Fällen bei Gr. 2 bei einer Belastung von 4 km/h, 4 von 21 Fällen bei der Gr. 2 bei einer Belastung von 5 km/h sowie

2 von 21 Fällen bei der Gr. 1 & 3 von 21 Fällen bei der Gr. 2 bei einer Belastung von 6 km/h) bei ergometrischer Belastung ein Anstieg der Herzfrequenz 24 Stunden nach den Narkosen im Vergleich zu vor den Narkosen zu beobachten (Abbildungen 17 bis 22). Auch bei der Messung der Herzfrequenz vor der ergometrischen Belastung ist, außer in 5 von 21 Fällen bei der Gruppe 1 und in 8 von 21 Fällen bei der Gruppe 2, zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Narkose ein Anstieg der Herzfrequenz im Vergleich zu 1 Tag vor der Narkose zu sehen (Abbildungen 15 und 16). Bei der Messung 7 bzw. 14 Tage nach der Narkose waren die Werte meist wieder auf das Niveau der Werte 1 Tag vor der Narkose gefallen.

Weiterhin ist aus den Abbildungen 17, 19 und 21 (Gruppe 1) zu erkennen, dass die Herzfrequenzen, jeweils gemessen zum Zeitpunkt vor den Narkosen, bei 2 Tieren (Ausnahme Tier H1E-095) in der zweiten Versuchsphase etwas höher sind als in der ersten Versuchsphase.

In der jeweils ersten Versuchsphase waren bei beiden Gruppen die maximalen Anstiege der Herzfrequenzen 24 Stunden nach jeder Narkose bei allen Belastungsstufen höher als in der zweiten Versuchsphase (Tabelle 13). Ferner war zu bemerken, dass die Anstiege der Herzfrequenzen bei der Leistungsstufe von 5 und 6 km/h mit die höchsten pro Gruppe und Versuchsphase waren (Tabelle 13).

0 km/h	Gr. 1 "selten" [Schläge/min]	n	Gr. 1 "häufig" [Schläge/min]	n	Gr. 2 "selten" [Schläge/min]	n	Gr. 2 "häufig" [Schläge/min]	N
MW	18	6	8	15	1	6	9	15
Min.	-12		-32		-15		-30	
Max.	30		17		21		39	
4 km/h	Gr. 1 "selten"	n	Gr. 1 "häufig"	n	Gr. 2 "selten"	n	Gr. 2 "häufig"	N
MW	20	6	16	15	9	6	20	15
Min.	12		-2		-12		-9	
Max.	25		16		32		39	
5 km/h	Gr. 1 "selten"	n	Gr. 1 "häufig"	n	Gr. 2 "selten"	n	Gr. 2 "häufig"	n
MW	34	6	18	15	10	6	19	15
Min.	20		1		-8		-4	
Max.	58		21		37		45	
6 km/h	Gr. 1 "selten"	n	Gr. 1 "häufig"	n	Gr. 2 "selten"	n	Gr. 2 "häufig"	n
MW	16	6	17	15	9	6	17	15
Min.	-3		-5		-11		-8	
Max.	35		24		38		48	

Tab. 13: Angaben der Veränderung der Herzfrequenzen [Schläge/min]. Berechnet wurde die Differenz der Messwerte 24 Stunden nach der Narkose zur Messung 1 Tag vor der Narkose bei jeder Belastungsstufe. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert (MW), der maximale (Max.) sowie der minimale (Min.) Anstieg bzw. Abfall der Herzfrequenz [Schläge/min] getrennt nach Gruppen (Gr.) und Versuchsphasen („selten“ & „häufig“) sowie der Stichprobenumfang (n = Versuche x Tiere).

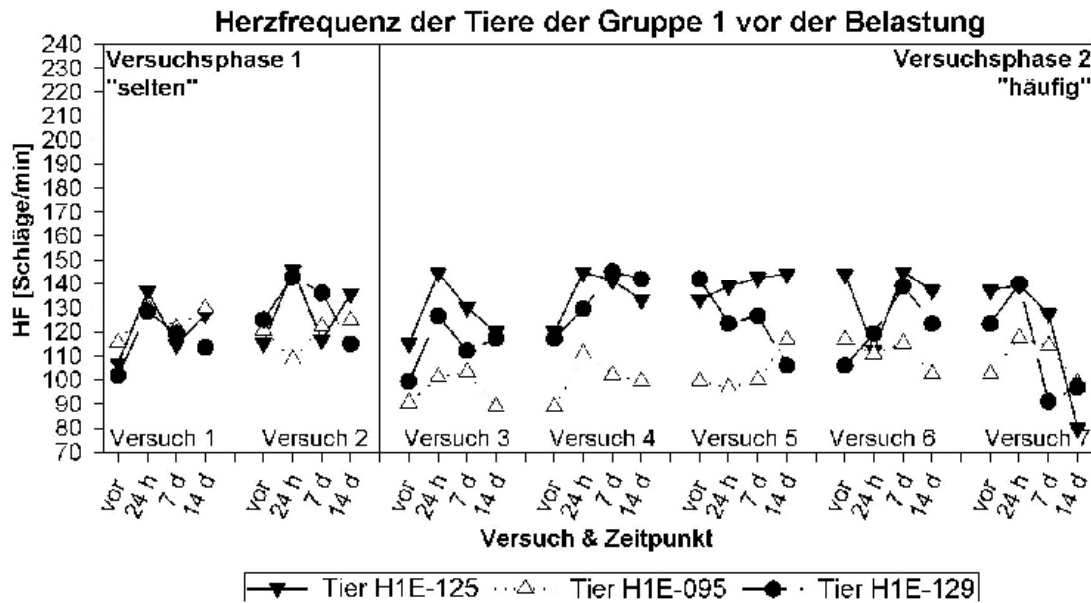


Abb. 15: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 1 jeweils vor der ergometrischen Belastung in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

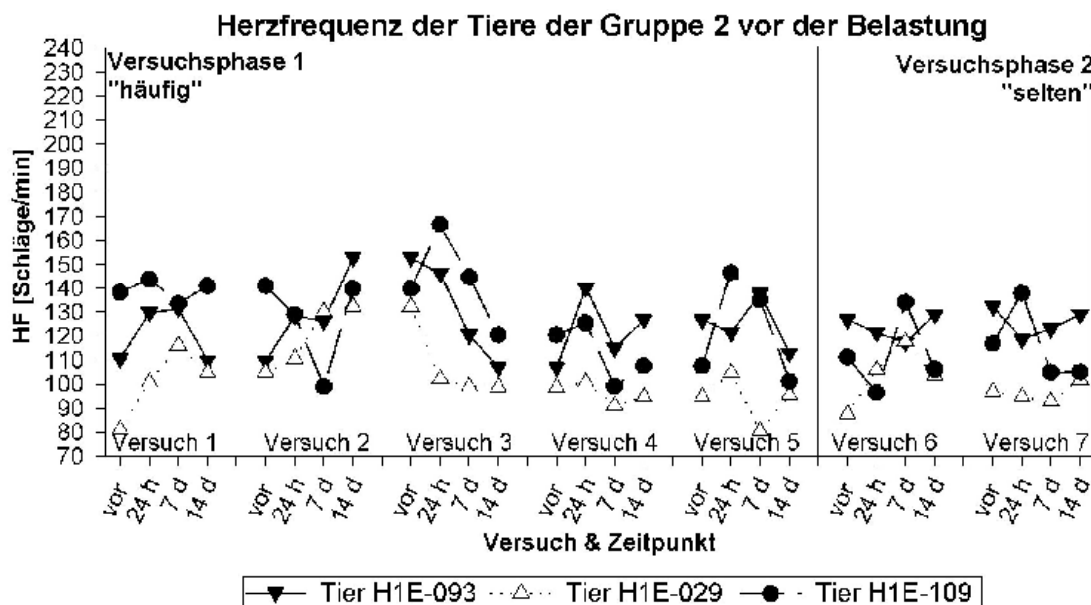


Abb. 16: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 2 jeweils vor der ergometrischen Belastung in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

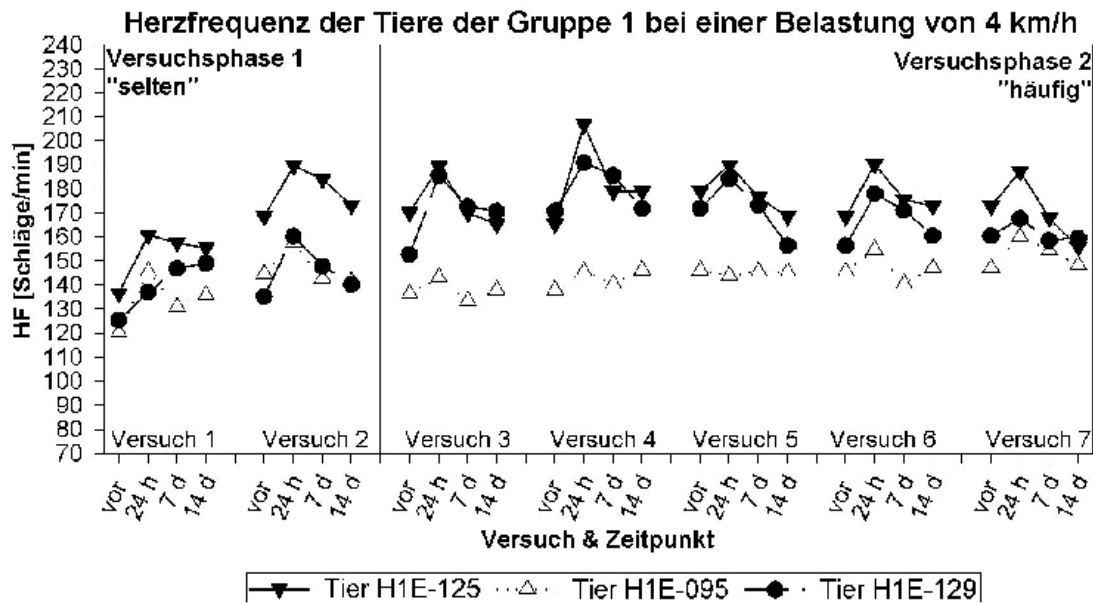


Abb. 17: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 1 jeweils bei einer ergometrischen Belastung von 4 km/h in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

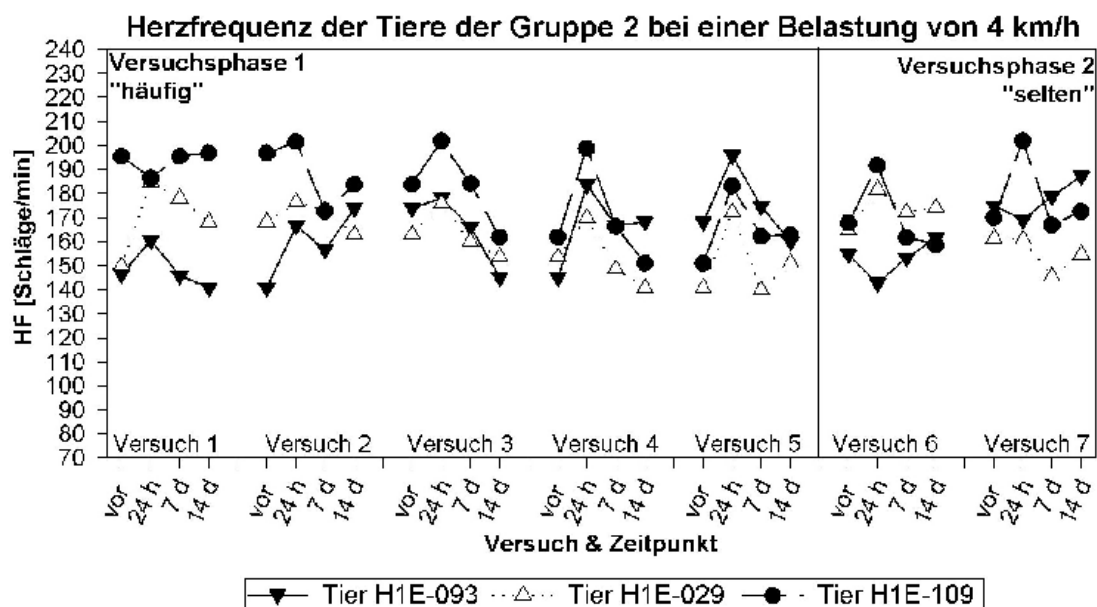


Abb. 18: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 2 jeweils bei einer ergometrischen Belastung von 4 km/h in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

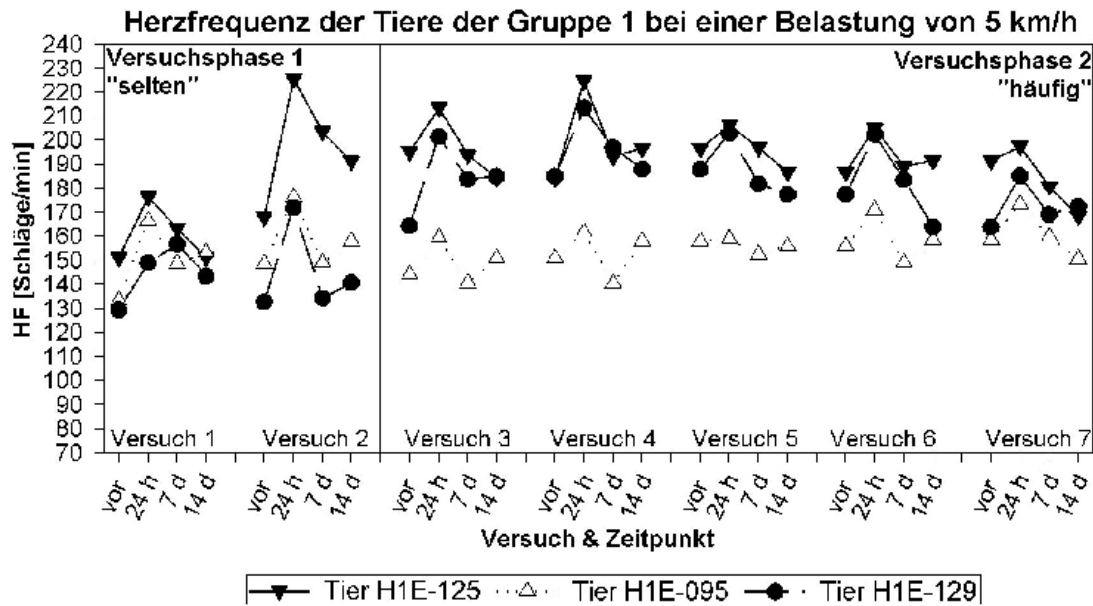


Abb. 19: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 1 jeweils bei einer ergometrischen Belastung von 5 km/h in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

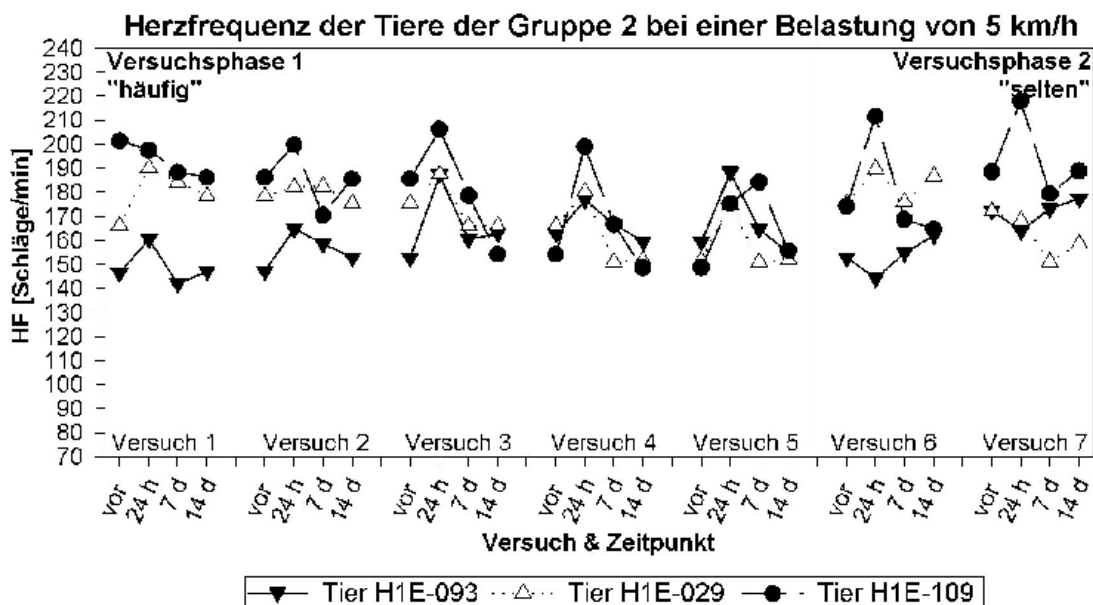


Abb. 20: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 2 jeweils bei einer ergometrischen Belastung von 5 km/h in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

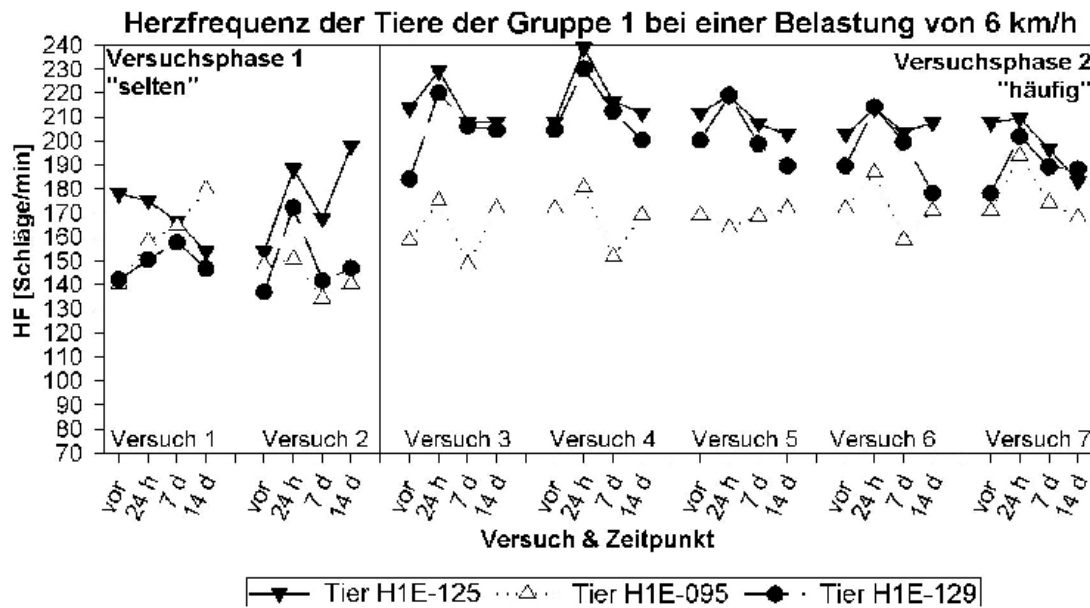


Abb. 21: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 1 jeweils bei einer ergometrischen Belastung von 6 km/h in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

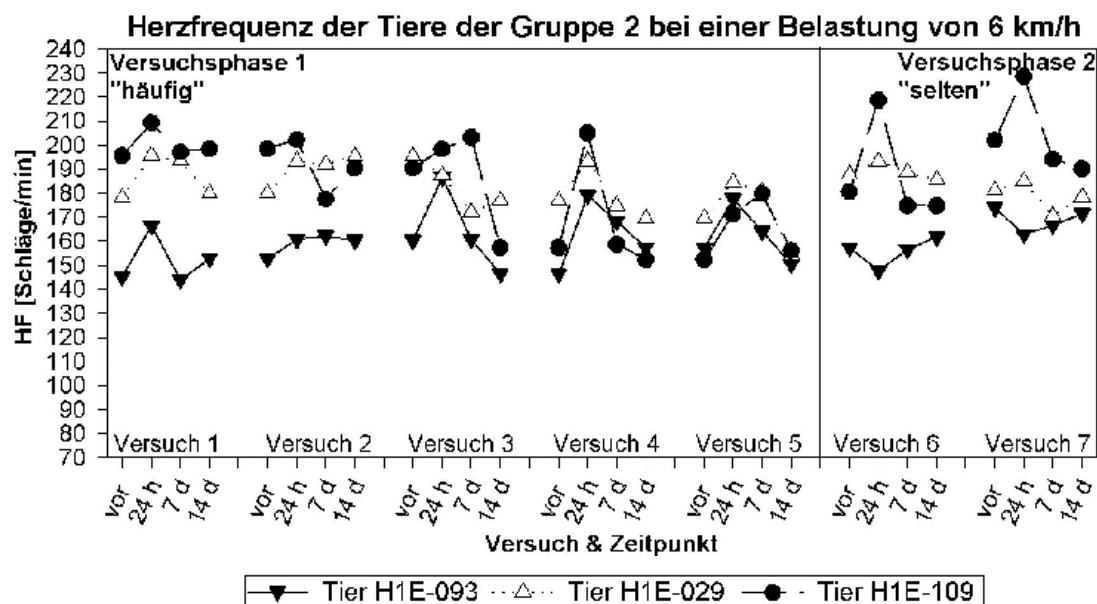


Abb. 22: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 2 jeweils bei einer ergometrischen Belastung von 6 km/h in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

Eine Erhöhung der Leistungsstufe bewirkte im Mittel einen Anstieg der Herzfrequenzen (Abbildungen 23 und 24). Bei den Tieren beider Gruppen war dieser Anstieg nach der ersten Leistungssteigerung besonders eindeutig erkennbar (von 0 auf 4 km/h). Bei den Tieren der Gruppe 1 war insbesondere in der zweiten Versuchsphase bei jeder Erhöhung der Leistungsstufe auch eine Zunahme der mittleren Herzfrequenzen zu erkennen (Anhang C, Tabelle 18).

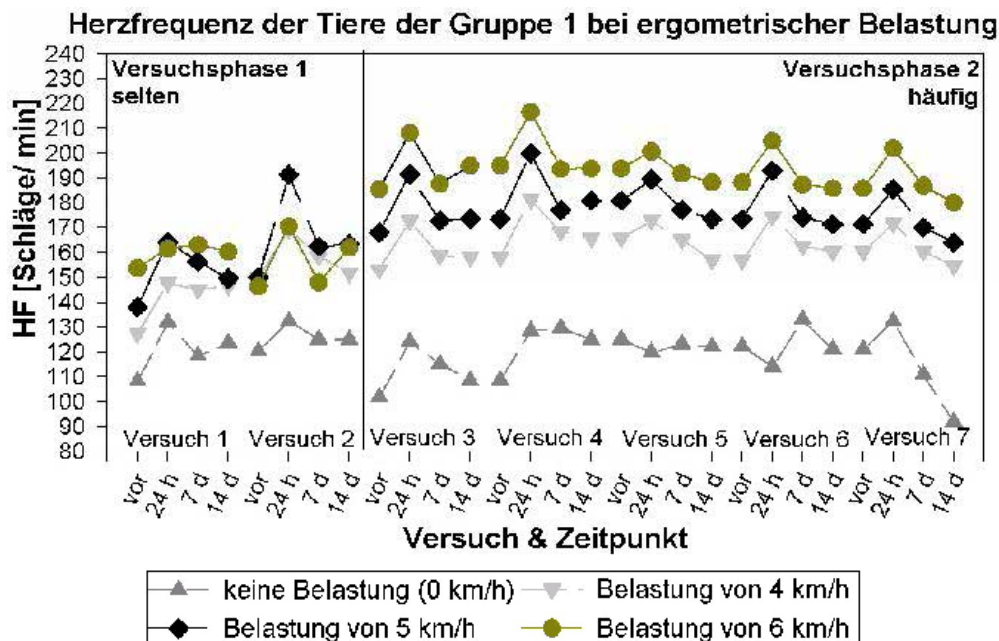


Abb. 23: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 1 unter Belastung in Abhängigkeit von der Erhöhung der Leistungsstufen. Angegeben sind nur die Mittelwerte der 3 Tiere der Gruppe 1 pro Versuch.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

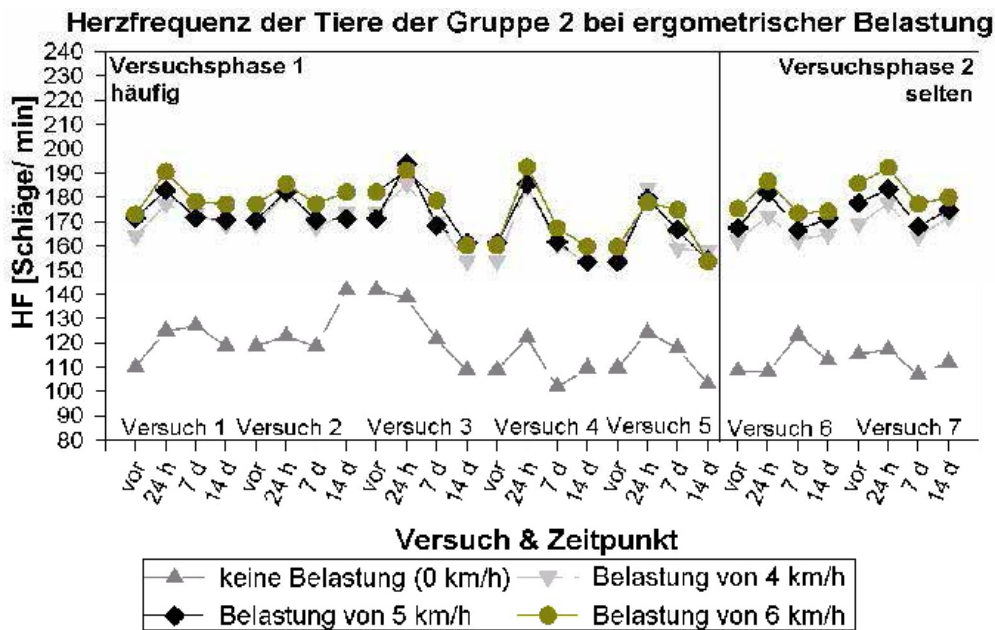


Abb. 24: Darstellung der Herzfrequenzen [Schläge/Minute] der Tiere der Gruppe 2 unter Belastung in Abhängigkeit von der Erhöhung der Leistungsstufen. Angegeben sind nur die Mittelwerte der 3 Tiere der Gruppe 2 pro Versuch.

HF = Herzfrequenz; vor = 1 Tag vor der Narkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

2.4 Blutwerte

2.4.1 Leberenzyme

2.4.1.1 Aspartat-Amino-Transferase (AST)

Außer in 4 Messungen bei der Gruppe 1 und in 6 Messungen bei der Gruppe 2 bewegte sich die Enzymaktivität unterhalb der Referenzgrenze von 49 IU/l, die vom klinisch-chemischen Labor der Experimentellen Toxikologie der Schering AG, Berlin ermittelt wurde.

Unter dem Cross-Over-Modell (Tabelle 16) lässt sich statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln.

Bei der Betrachtung der einzelnen Versuche (Abbildungen 25 und 26) war erkennbar, dass die Enzymaktivität innerhalb der Narkose bis zum Versuchsende hin sinkt. Zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Narkose waren die Werte wieder angestiegen, meist über den Ausgangswert und teilweise auch über die Referenzgrenze hinaus (in 4 von 21 Fällen bei Gruppe 1 und in 6 von 21 Fällen bei der Gruppe 2). Bei einem Tier (H1E-109) der Gruppe 2

überschritten die Anstiege die Referenzgrenze um mehr als das 3-fache. Sieben Tage nach der Narkose lag die Enzymkonzentration meist wieder auf dem Ausgangsniveau. Bei dem Vergleich der Versuchsphasen-Mittelwerte (Tabelle 14) fällt ein höherer Anstieg der Enzymaktivität in den Versuchsphasen „selten“ auf. Auch die maximalen Anstiege sind in diesen Versuchsphasen zu finden.

AST	Gruppe 1 "selten"	n	Gruppe 1 "häufig"	n	Gruppe 2 "selten"	n	Gruppe 2 "häufig"	n
MW	21 IU/l	6	15 IU/l	15	37 IU/l	6	22 IU/l	15
Min.	2 IU/l		-8 IU/l		-1 IU/l		-5 IU/l	
Max.	87 IU/l		63 IU/l		129 IU/l		124 IU/l	

Tab. 14: Angaben der Veränderung der Enzymaktivität der AST [IU/l] 24 Stunden nach der Narkose im Vergleich zu 1 Tag vor der Narkose. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert (MW), der maximale (Max.) sowie der minimale (Min.) Anstieg der Enzymaktivität [IU/l] getrennt nach Gruppen und Versuchsphasen sowie der Stichprobenumfang (n = Versuche x Tiere).

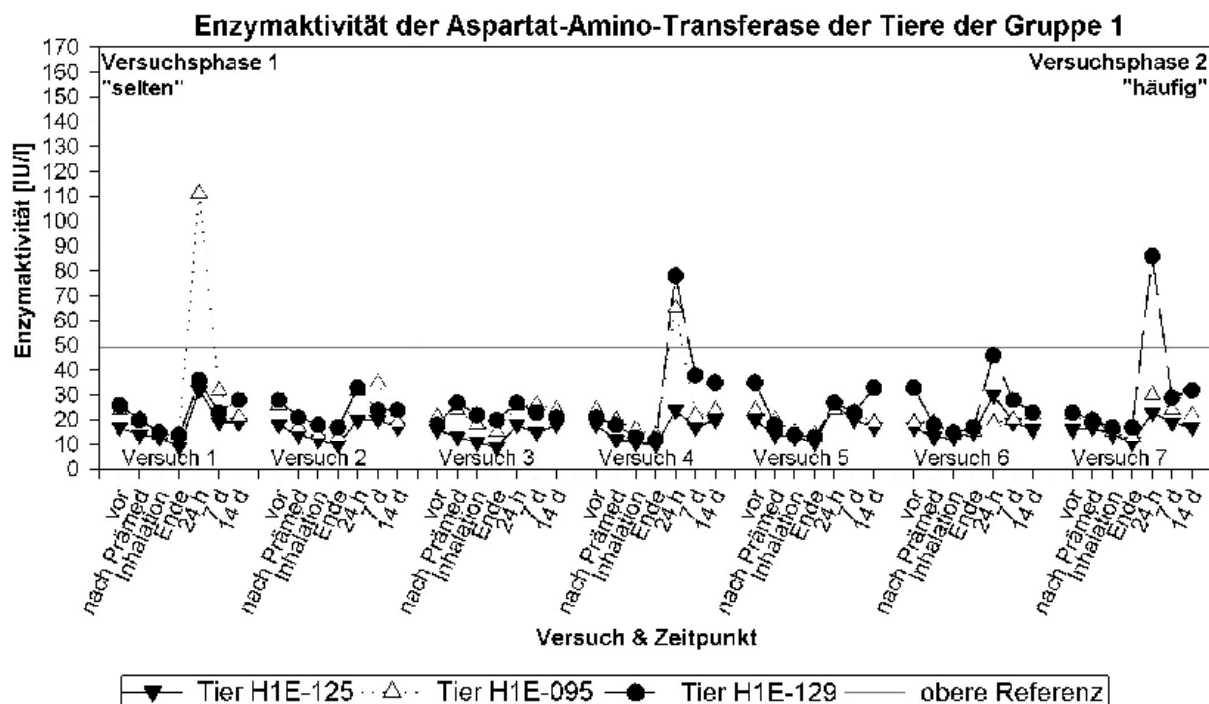


Abb. 25: Darstellung der Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase [IU/l] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. vor = 1 Tag vor der Narkose; nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende, beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

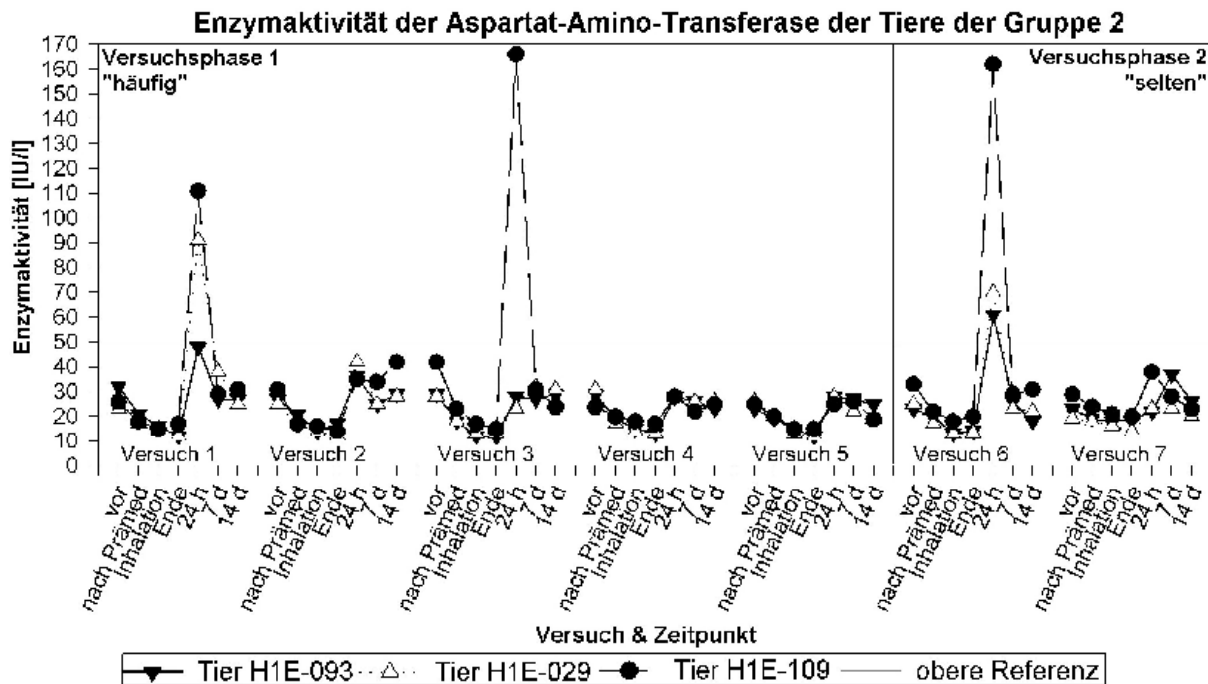


Abb. 26: Darstellung der Enzymaktivität der Aspartat-Amino-Transferase [IU/l] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

vor = 1 Tag vor der Narkose; nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende, beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

2.4.1.2 Alanin-Amino-Transferase (ALT)

Jeweils vor einem jeden Versuch bewegte sich die Enzymaktivität der ALT bei beiden Gruppen meist unterhalb der angegebenen Referenzgrenze von 64 IU/l, die vom klinisch-chemischen Labor der Experimentellen Toxikologie der Schering AG, Berlin ermittelt wurde. Abweichungen nach oben kamen bei dem Tier H1E-129 der Gruppe 1 bei den Versuchen 2, 6 und 7 sowie bei dem Tier H1E-109 der Gruppe 2 bei den Versuchen 2 und 3 und bei dem Tier H1E-029 der Gruppe 2 ebenfalls beim Versuch 3 vor.

Bei der ALT lässt sich unter dem Cross-Over-Modell (Tabelle 16) statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln.

Bei der Betrachtung der einzelnen Versuche in den graphischen Darstellungen (Abbildungen 27 und 28) konnte man ersehen, dass es bei einigen Versuchen zu einer Verringerung der Enzymaktivität bis zum Zeitpunkt tiefer Inhalationsnarkose (Inhalation) bzw. dem Versuchsende (Ende) hin kam. Der Anstieg der Aktivität 24 Stunden bzw. 7 Tage nach einer Narkose war nicht einheitlich, aber zu erkennen. Die Ausgangswerte wurden dabei meist

geringfügig überschritten, teilweise (10 Messungen) auch die Referenzgrenze. Es war eine Beeinflussung der Werte, insbesondere der Tiere H1E-129 der Gruppe 1 und H1E-109 der Gruppe 2, möglicherweise verursacht durch die bei allen Tieren zum gleichen Zeitpunkt durchgeführte Impfung und Entwurmung, zu verzeichnen. Bei dem Tier der Gruppe 1 waren alle Werte des 2. Versuchs betroffen. Bei den Tieren der Gruppe 2 waren davon die Werte 14 Tage nach dem 2. Versuch und die Ausgangswerte des 3. Versuchs betroffen. Beim Tier H1E-109 waren neben der letzten Messung von Versuch 2 alle Werte des 3. Versuchs betroffen.

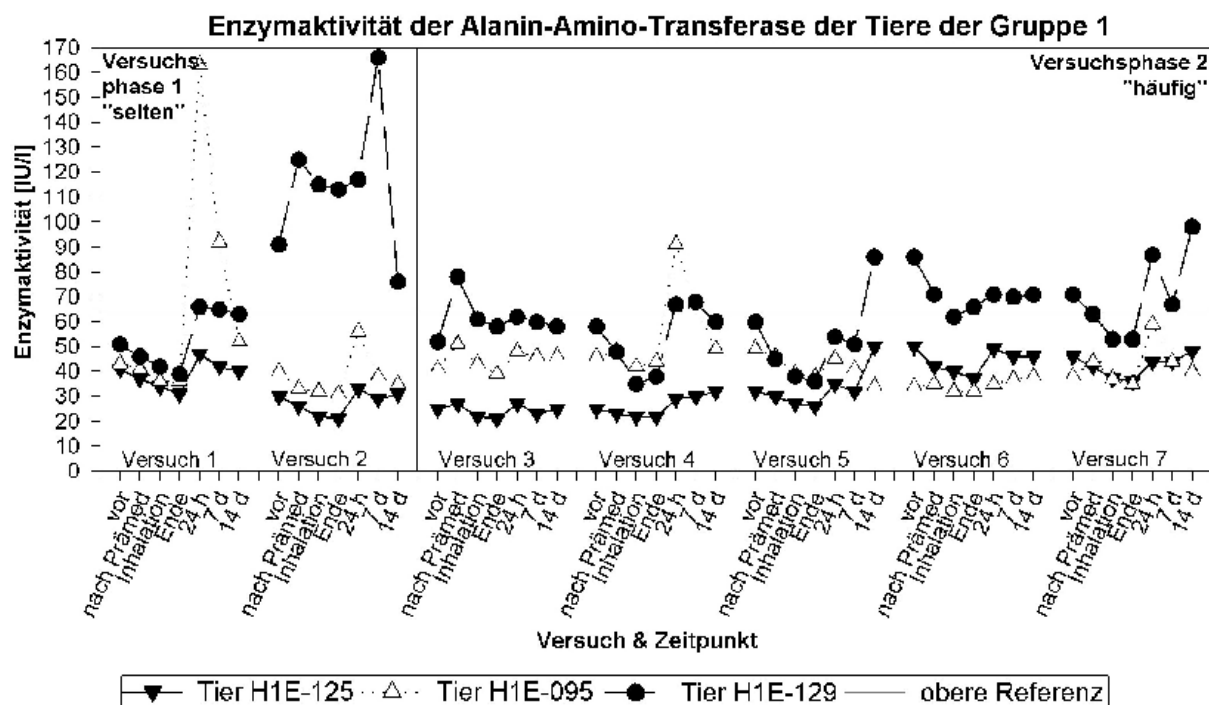


Abb. 27: Darstellung der Enzymaktivität der Alanin-Amino-Transferase [U/l] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. vor = 1 Tag vor der Narkose; nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

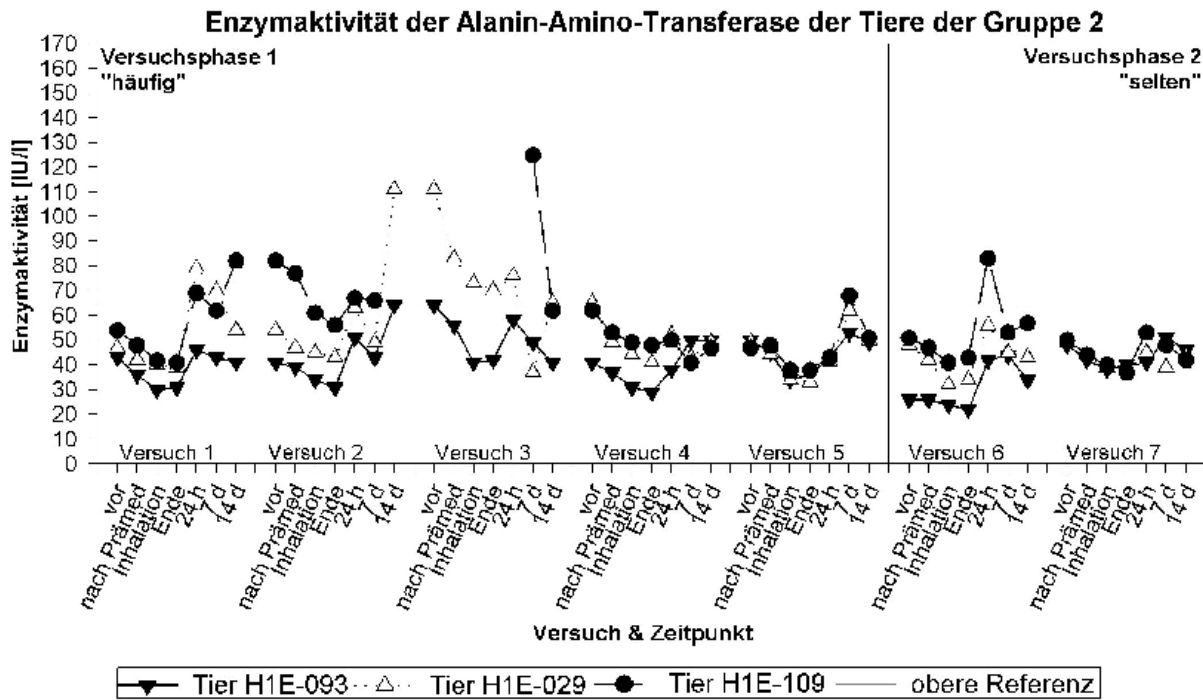


Abb. 28: Darstellung der Enzymaktivität der Alanin-Amino-Transferase [IU/l] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. Die Werte des Tieres H1E-109 der letzten Messung des Versuchs 2 und der ersten 5 Messungen des Versuchs 3 wurden auf Grund der starken Abweichung, verursacht durch die Entwurmung und da kein Zusammenhang mit der Narkose gesehen werden konnte, weggelassen.

vor = 1 Tag vor der Narkose; nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

2.4.1.3 Alkalische Phosphatase (ALP)

Für die Enzymaktivität der ALP existiert eine Altersabhängigkeit. Diese wurde bei der Ermittlung der Referenzwerte durch das klinisch-chemische Labor der Experimentellen Toxikologie der Schering AG, Berlin nicht berücksichtigt. Daher ist bei dieser Auswertung die von Kraft et al. (1996) ermittelte Referenzgrenze der hier betroffenen Altersgruppe (13 bis 22 Monate) von 146 IU/l verwendet worden. Die Enzymaktivität der ALP bewegte sich bei den meisten Tieren häufig, teilweise auch zum Zeitpunkt 1 Tag vor der Narkose, etwas über der Referenzgrenze. Die Werte des Tieres H1E-095 der Gruppe 1 lagen immer erheblich über der Referenzgrenze.

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch ein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln. Die Enzymaktivität 24 Stunden nach den Narkosen im Vergleich zu 1 Tag vor der Narkose des jeweils letzten Versuchs einer Versuchsphase war

bei der Versuchsphase „selten“ signifikant höher als bei der Versuchsphase „häufig“. Der Schätzwert für den Versuchsphasenunterschied („häufig“ - „selten“) lag bei -174 ± 44 IU/l, der p-Wert betrug 0,017 (Tabelle 16).

Auf den graphischen Darstellungen (Abbildung 29 und 30) ist zu sehen, dass die Werte des Tieres H1E-095 der Gruppe 1 über den Werten der anderen Tiere lagen und den Referenzwert immer deutlich überschritten. Es stellte sich über die Dauer der Versuchsphasen kein Anstieg der Ausgangswerte („vor jeder Narkose“) der ALP dar. Während einer Narkose fielen die Werte bei beiden Gruppen bis zum Versuchsende hin geringfügig ab. Nach 24 Stunden waren die Werte über das jeweilige Ausgangsniveau angestiegen. Die Enzymaktivität hatte bei dem Tier H1E-095 der Gruppe 1 immer am stärksten zugenommen. Dadurch kam es auch zu deutlich höheren Mittel- und Maximalwerten bei der Enzymaktivitätszunahme 24 Stunden nach der Narkose bei der Gruppe 1 im Vergleich zu Gruppe 2 (Tabelle 15).

Meist lagen die Werte nach 14, teilweise auch schon nach 7 Tagen wieder im Bereich der Ausgangswerte.

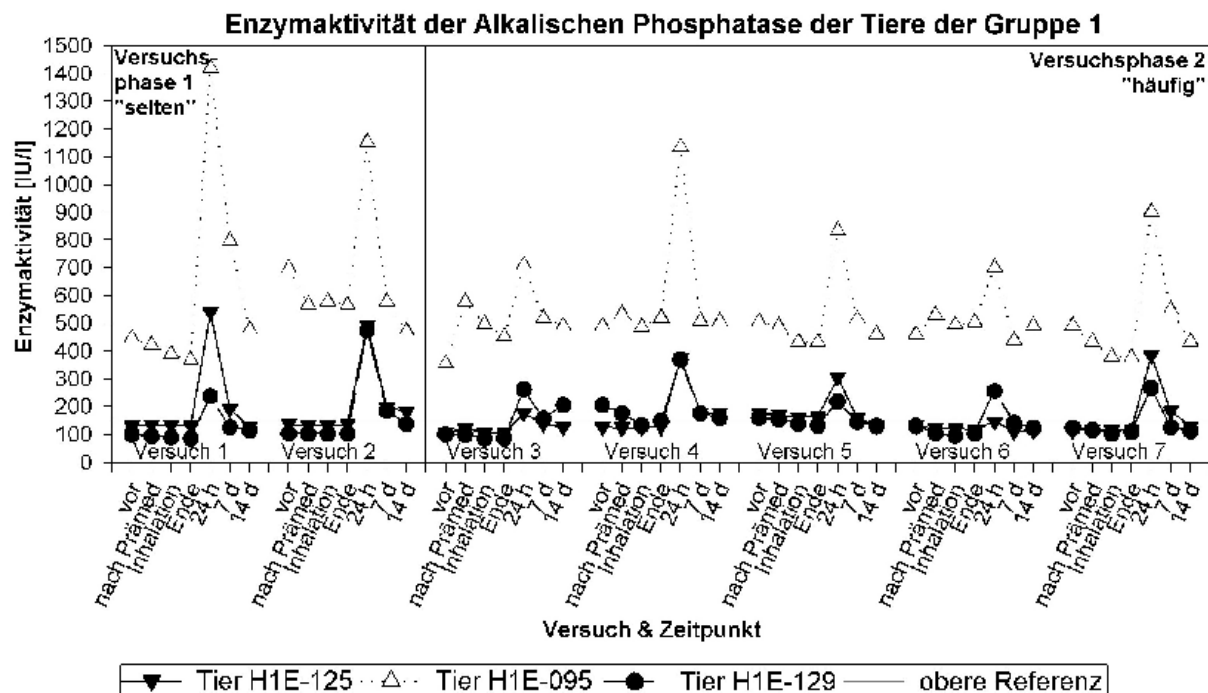


Abb. 29: Darstellung der Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase [IU/l] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. vor = 1 Tag vor der Narkose; Nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

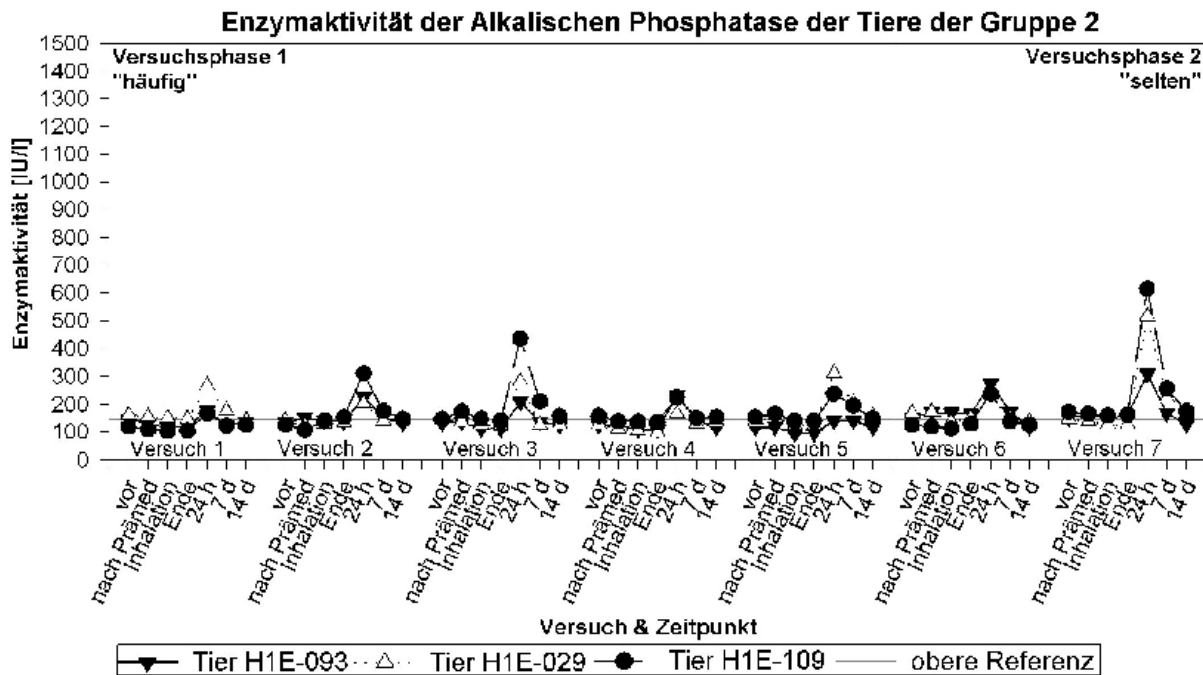


Abb. 30: Darstellung der Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase [IU/l] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. vor = 1 Tag vor der Narkose; Nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

AST	Gruppe 1 "selten"	n	Gruppe 1 "häufig"	n	Gruppe 2 "selten"	n	Gruppe 2 "häufig"	N
MW	450 IU/l	6	224 IU/l	15	213 IU/l	6	102 IU/l	15
Min.	136 IU/l		13 IU/l		69 IU/l		26 IU/l	
Max.	973 IU/l		647 IU/l		444 IU/l		289 IU/l	

Tab. 15: Angaben der Veränderung der Enzymaktivität der ALP [IU/l] 24 Stunden nach der Narkose im Vergleich zu vor der Narkose. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert, der maximale (Max.) sowie der minimale Anstieg (Min.) der Enzymaktivität [IU/l] getrennt nach Gruppen und Versuchsphasen sowie der Stichprobenumfang (n = Versuche x Tiere).

2.4.2 Nierenwerte

2.4.2.1 Serum-Harnstoff

Die Werte beider Gruppen bewegten sich größtenteils zu jedem Zeitpunkt innerhalb der Referenzwerte (3,21 bis 5,7 mmol/l), die vom klinisch-chemischen Labor der Experimentellen

Toxikologie der Schering AG, Berlin ermittelt wurden. Ausnahmen stellten das Tier H1E-095 der Gruppe 1 und das Tier H1E-109 der Gruppe 2 dar.

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsphasen „selten“ und „häufig“ ermitteln (Tabelle 16).

Bei der Beurteilung der Graphen (Abbildungen 31 und 32) ist außer eines Abfalls der Konzentration zum Zeitpunkt „nach der Prämedikation“ in 17 von 21 Fällen bei der Gruppe 1 und in 16 von 21 Fällen bei der Gruppe 2 keine Beeinflussung durch die Versuche auszumachen. Die Harnstoff-Konzentration im Serum unterlag versuchsunabhängig diversen Schwankungen, sowohl nach oben als auch nach unten.

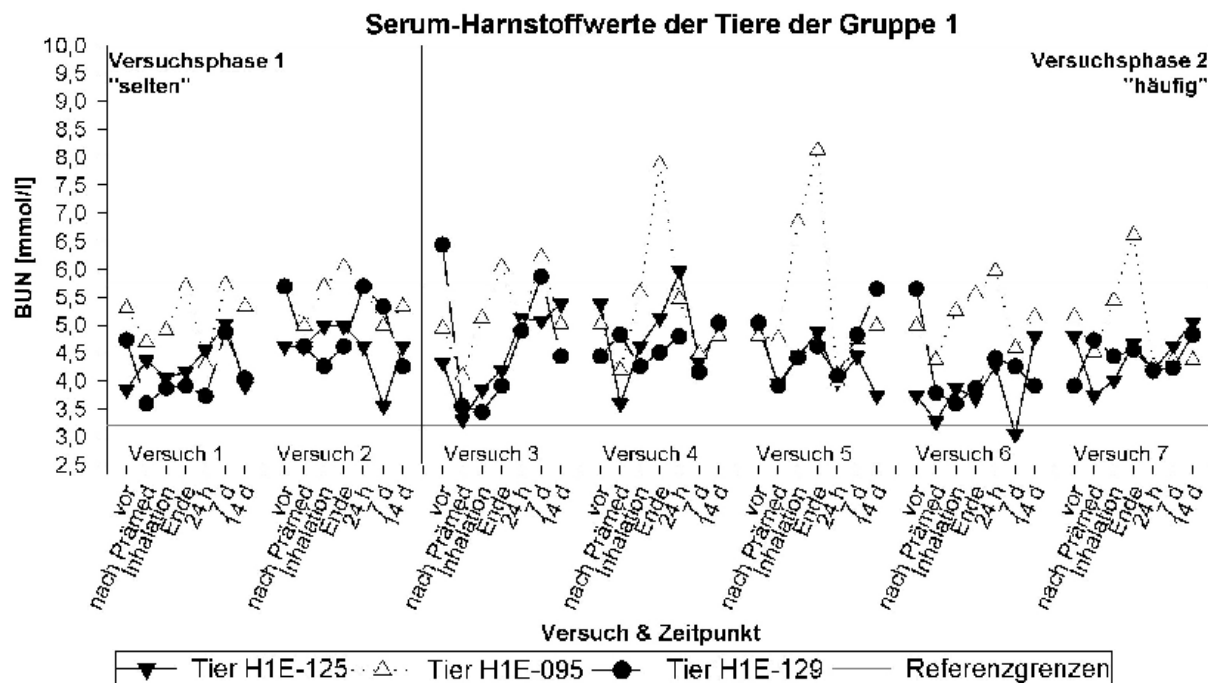


Abb. 31: Darstellung der Serum-Harnstoffwerte [mmol/l] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

BUN = Harnstoff; vor = 1 Tag vor der Narkose; Nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

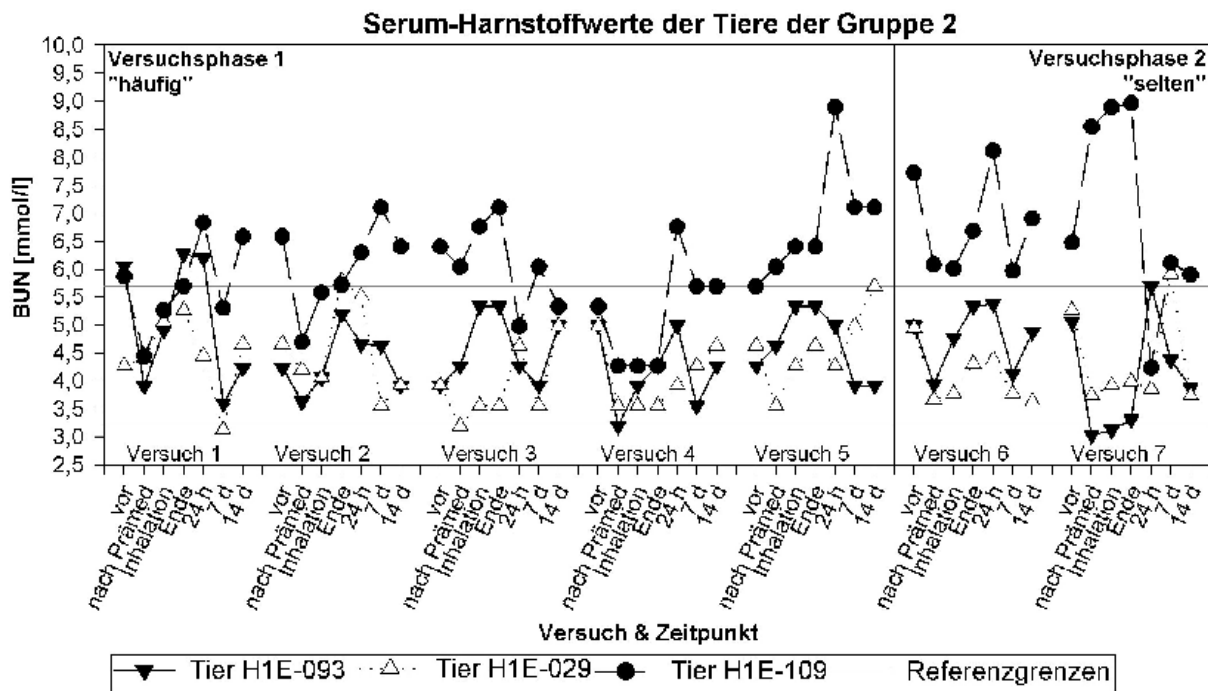


Abb. 32: Darstellung der Serum-Harnstoffwerte [mmol/l] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

BUN = Harnstoff; vor = 1 Tag vor der Narkose; Nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

2.4.2.2 Serum-Kreatinin

Die Serum-Kreatininwerte verhielten sich in beiden Versuchsphasen bei beiden Gruppen weitgehend identisch. Es trat bei der Gruppe 1 bei 7 Messungen und bei Gruppe 2 bei 24 Messungen eine Überschreitung der oberen Referenzgrenze (84,9 $\mu\text{mol/l}$) auf, wobei es sich jeweils nur um ein Tier je Gruppe handelte (Gr. 1 Tier H1E-129, Gr. 2 Tier H1E-109). Unterschreitungen der unteren Referenzgrenze (64,5 $\mu\text{mol/l}$) traten bei der Gruppe 1 bei 66 Messungen und bei der Gruppe 2 bei 28 Messungen auf.

Unter dem Cross-Over-Modell lässt sich statistisch kein Unterschied zwischen den Versuchsphasen ermitteln (Tabelle 16).

Aus den Ergebnissen des paired-t-Tests, bei dem die Konzentrationen 1 Tag vor der Narkose mit denen am Ende der Narkose verglichen wurden, geht hervor, dass dieser beschriebene Abfall der Kreatinin-Konzentration in 11 von 14 Fällen statistisch signifikant ist (Anhang C, Tabelle 19).

Bei Vergleich der Graphen der einzelnen Versuche und Tiere (Abbildungen 33 und 34) zur Darstellung der Serum-Kreatinin-Konzentration fällt auf, dass diese nahezu deckungsgleich sind. Es kam bei fast allen Tieren in jedem Versuch zu einem Abfall der Kreatinin-Konzentration bis zum Ende der Narkose hin. Häufig (in 16 von 21 Fällen bei Gr. 1 und in 12 von 21 Fällen bei Gr. 2) lagen die Werte dann unterhalb des unteren Referenzwertes, der von dem klinisch-chemischen Labor der Experimentellen Toxikologie der Schering AG, Berlin ermittelt wurde. Sieben, teilweise auch erst 14 Tage nach der Narkose waren die Werte wieder etwa auf das Ausgangsniveau angestiegen. Die Werte der Tiere H1E-129 der Gruppe 1 und H1E-109 der Gruppe 2 lagen häufig 1 Tag vor der Narkose und 14, teilweise auch 7 Tage nach der Narkose über dem oberen Referenzwert. Bei diesen Tieren unterschritten die Werte nur selten die untere Referenzgrenze.

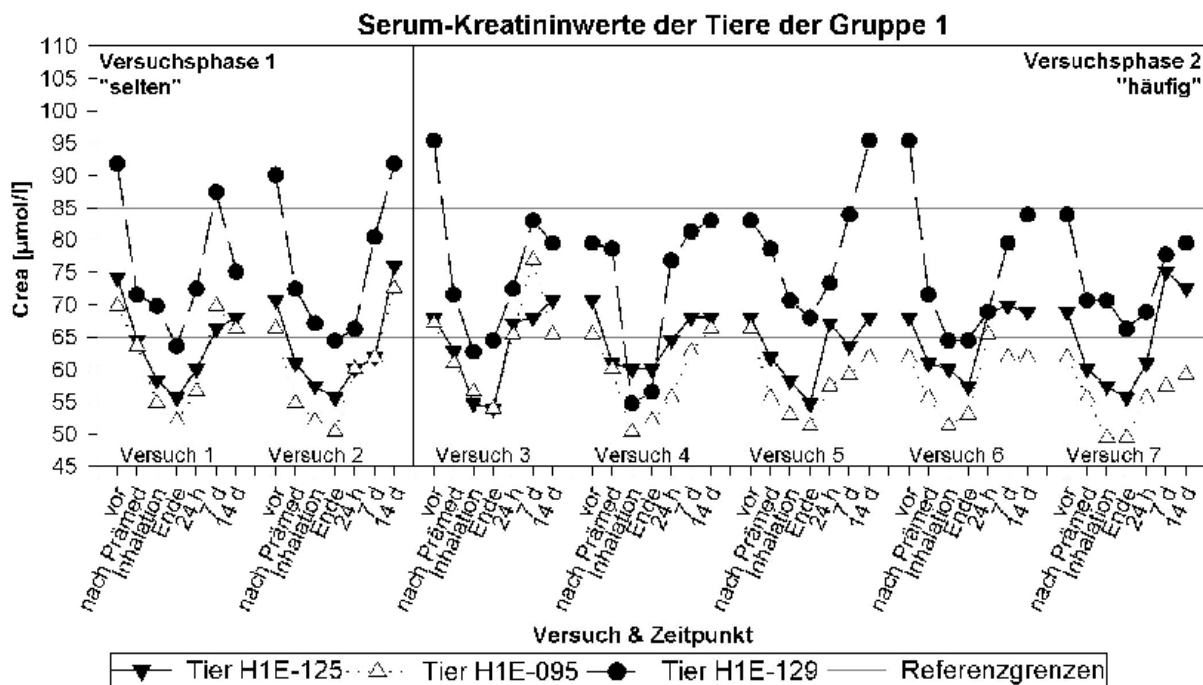


Abb. 33: Darstellung der Serum-Kreatininwerte [$\mu\text{mol/l}$] der Tiere der Gruppe 1 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche.

Crea = Kreatinin; vor = 1 Tag vor der Narkose; nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Versuchsende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

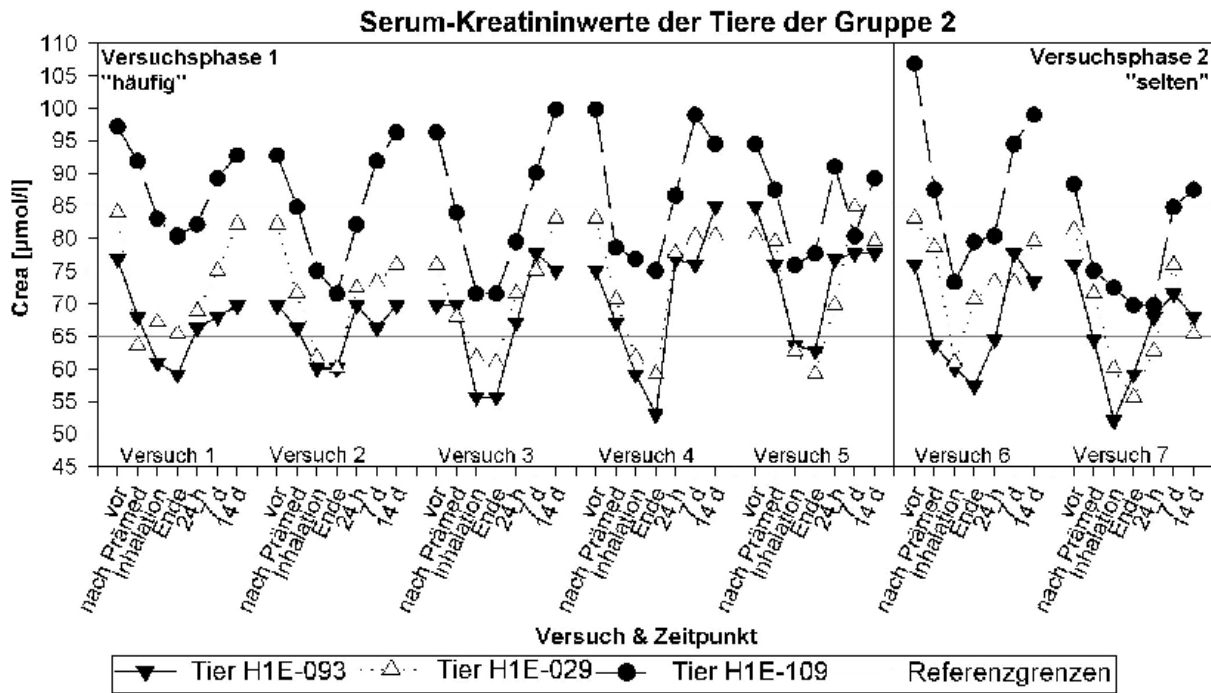


Abb. 34: Darstellung der Serum-Kreatininwerte [$\mu\text{mol/l}$] der Tiere der Gruppe 2 in Abhängigkeit von den Versuchsintervallen und der Anzahl der Versuche. Crea = Kreatinin; vor = 1 Tag vor der Narkose; Nach Prämed = 30 Minuten nach der Gabe der Prämedikation; Inhalation = etwa 2 Stunden nach Einleitung der Inhalationsnarkose; Ende = am Narkoseende beim Ausleiten der Inhalationsnarkose; 24 h = 24 Stunden nach der Narkose; 7 d = 7 Tage nach der Narkose; 14 d = 14 Tage nach der Narkose

	Schätzwert („häufig“ – „selten“)	Standardfehler	p-Wert
AST [IU/l] (24 h)	10 IU/l	9,3 IU/l	0,345
ALT [IU/l] (24 h)	-4 IU/l	2,4 IU/l	0,223
ALP [IU/l] (24 h)	-174 IU/l	43,8 IU/l	0,017*
BUN [mmol/l] (nach Prämed.)	0,34 mmol/l	0,73 mmol/l	0,668
CREA [$\mu\text{mol/l}$] (Ende)	2,4 $\mu\text{mol/l}$	1,7 $\mu\text{mol/l}$	0,242

Tab. 16: Ergebnisse des 2 x 2 Cross-Over-Modells. Als Zeitpunkte wurden für die Leberenzymaktivitäten jeweils die Werte der Messung 24 Stunden nach der Narkose (24 h) herangezogen, für die Serum-Harnstoffwerte (BUN) wurde der Messzeitpunkt nach der Prämedikation (nach Prämed.) verwendet und bei den Serum-Kreatininwerten (CREA) wurden die Werte der Messung am Narkoseende (Ende) gewählt. Außer bei der Enzymaktivität der ALP besteht zwischen den Versuchsphasen „häufig“ und „selten“ kein signifikanter Unterschied. Als statistisch signifikant gilt $p < 0,05$, gekennzeichnet mit einem *.

2.4.3 Hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen (Dreimonatswerte)

Bis auf wenige Ausnahmen befanden sich alle gemessenen Parameter beider Gruppen innerhalb ihres Referenzbereichs, die den Angaben der Gerätesoftware entsprechen (Ergebnisse sind im Anhang D, Abbildungen 42 bis 45 zu finden).

- Die **Erythrozytenzahl** (Anhang D, Abb. 42) lag zu allen Messzeitpunkten im Referenzbereich. Innerhalb dieses Bereichs sank sie bei allen Tieren der Gruppe 1 nach der ersten Versuchsphase und war dann vor der zweiten Versuchsphase wieder angestiegen. Dieses Bild war nicht in der zweiten Versuchsphase der Gruppe 1 und in keiner Versuchsphase der Gruppe 2 zu sehen.
- Auch der **Hämoglobingehalt** (Abbildung 35) bewegte sich immer innerhalb der Referenzwerte. Bei allen Tieren der Gruppe 1 war ein Abfall der Werte nach der ersten Versuchsphase zu beobachten. Dieses Verhalten war nur bei einem Tier der Gruppe 2 zu beobachten.
- Entsprechendes galt für den **Hämatokrit** (Anhang D, Abb. 42).

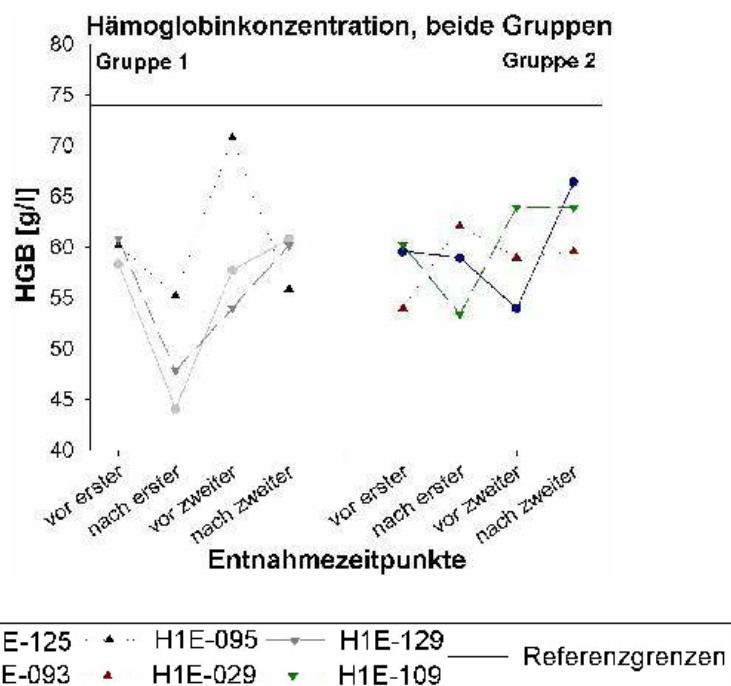


Abb. 35: Ergebnisse der Messung der Hämoglobin-Konzentration [g/l].
 HGB = Hämoglobin; vor erster = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der ersten Versuchsphase;
 nach erster = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der ersten Versuchsphase;
 vor zweiter = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der zweiten Versuchsphase; nach zweiter =
 Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der zweiten Versuchsphase

- Das **mittlere Erythrozytenvolumen** (Anhang D, Abb. 42) des Tieres H1E-029 der Gruppe 2 war zu fast allen Messzeitpunkten über die Referenzwerte hinaus erhöht, einzige Ausnahme stellte die Messung nach der zweiten Versuchsphase dar. Die Werte fielen jeweils nach einer Versuchsphase ab und stiegen danach wieder an. Entsprechendes traf für das Tier H1E-109 der Gruppe 2 zu, ohne dass die Werte hierbei den Referenzbereich verlassen haben. Bei den Tieren der Gruppe 1 lagen die Werte nach der zweiten Versuchsphase unter den Ausgangswerten, blieben aber innerhalb des Referenzbereiches.
- Nur bei einem Tier der Gruppe 2 (H1E-029) konnte eine Abhängigkeit von den Versuchen bezüglich des **mittleren Hämoglobingehalts der Einzelerythrozyten** erkannt werden (Anhang D, Abb. 42). Es zeigte sich ein Sinken des Gehalts nach jeder Versuchsphase, und vor der zweiten Versuchsphase lag der Gehalt etwas oberhalb der Referenzgrenze.
- Die **mittlere Hämoglobin-Konzentration der Erythrozyten** stieg bei beiden Gruppen nach der zweiten Versuchsphase an, verließ aber nie den Referenzbereich (Abbildung 36).

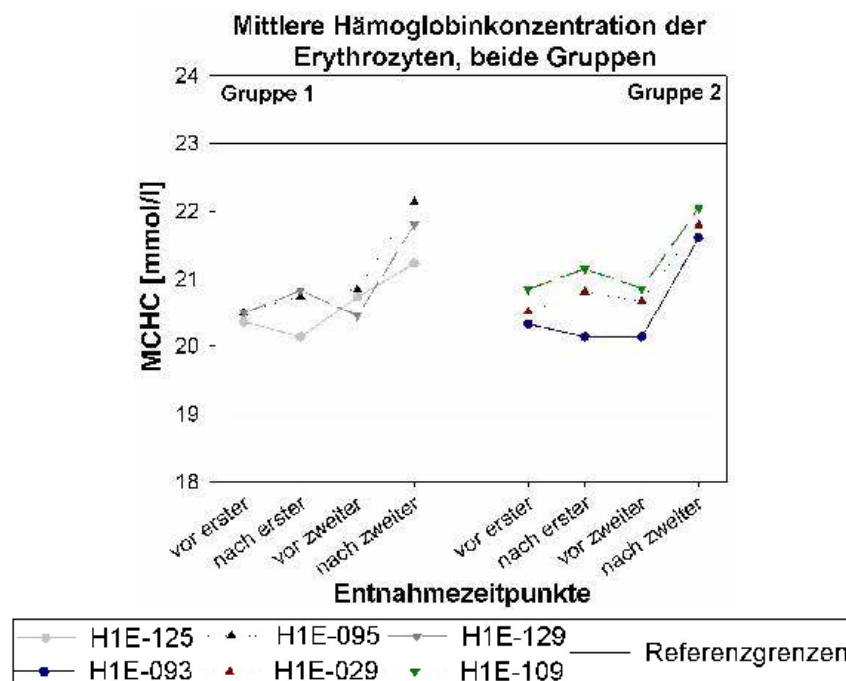


Abb. 36: Ergebnisse der Messung der mittleren Hämoglobin-Konzentration der Erythrozyten [mmol/l].

MCHC = mittlere Hämoglobin-Konzentration der Erythrozyten; vor erster = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der ersten Versuchsphase; nach erster = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der ersten Versuchsphase; vor zweiter = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der zweiten Versuchsphase; nach zweiter = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der zweiten Versuchsphase

- Die Zahl der **Retikulozyten** (Anhang D, Abb. 43) stieg bei allen Tieren der Gruppe 1 nach beiden Versuchsphasen an, verließ aber nicht den Referenzbereich. Dieses Verhalten war auch bei einem Tier (H1E-093) der Gruppe 2 zu beobachten, dabei lag der Anstieg jeweils über dem Referenzbereich. Die Werte der anderen Tiere der Gruppe 2 verhielten sich nicht entsprechend.
- Die **Leukozytenzahl** (Anhang D, Abb. 43) lag bei allen Tieren zu jedem Zeitpunkt innerhalb der Referenz. Innerhalb des Referenzbereiches sank bei 2 Tieren der Gruppe 1 und 1 Tier der Gruppe 2 die Anzahl der Leukozyten nach jeder Versuchsphase ab.
- Bei den **neutrophilen** und **basophilen Granulozyten**, den **Lymphozyten**, den **Monozyten** (Anhang D, Abb. 44) und den **großen peroxidase-negativen Zellen** (Anhang D, Abb. 43) waren keine eindeutigen Abweichungen auszumachen, die Werte bewegten sich innerhalb ihres Referenzbereiches.
- Die Zahl der **eosinophilen Granulozyten** (Abbildung 37) stieg bei 2 Tieren der Gruppe 1 nach der ersten und allen 3 Tieren nach der zweiten Versuchsphase an. Bei einem Tier überstieg es die obere Referenzgrenze. Bei einem Tier (H1E-029) der Gruppe 2 lag der Ausgangswert oberhalb der Referenzgrenze.

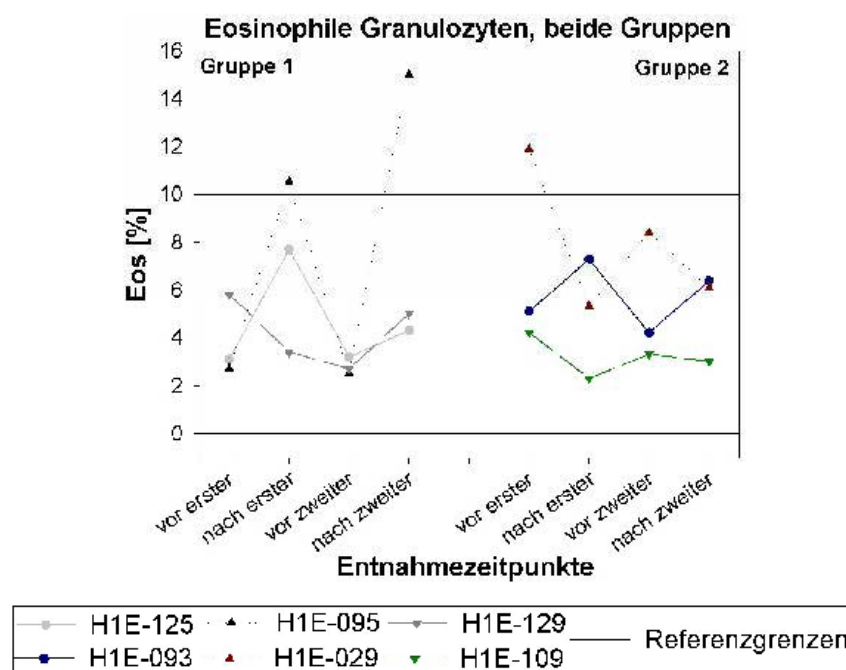


Abb. 37: Ergebnisse der Messung der Eosinophilen Granulozytenzahl [%].

Eos = eosinophile Granulozyten; vor erster = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der ersten Versuchsphase; nach erster = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der ersten Versuchsphase; vor zweiter = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der zweiten Versuchsphase; nach zweiter = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der zweiten Versuchsphase

- Bei der **Thrombozytenzahl** (Anhang D, Abb. 43) bewegten sich alle Werte zu jedem Zeitpunkt innerhalb des Referenzbereiches. Innerhalb des Referenzbereiches war bei 2 Tieren der Gruppe 1 ein Abfall nach der ersten Versuchsphase zu sehen, bei dem 3. Tier stieg der Wert. Bei der Gruppe 2 verhielten sich die Werte nicht einheitlich.
- Der **Gesamt-Serum-Proteingehalt** (Anhang D, Abb. 46) nahm bei 2 Tieren der Gruppe 1 nach der ersten Versuchsphase etwas zu, stieg dann in der Ruhephase bei allen 3 Tieren an. Nach der zweiten Versuchsphase fiel der Gehalt bei der Gruppe 1 wieder ab. Bei der Gruppe 2 verhielten sich die Werte uneinheitlich.
- Der **Cholesteringehalt** (Abbildung 38) nahm bei den Tieren der Gruppe 1 nach der ersten Versuchsphase zu, erreichte Werte oberhalb der Referenzgrenze, stieg bei 2 Tieren dieser Gruppe in der Ruhephase noch weiter an und erreichte erst nach der zweiten Versuchsphase wieder die Werte vor den Versuchen. Bei 2 Tieren der Gruppe 2 sank der Gehalt nach einer jeden Versuchsphase, gegenläufig verhielt es sich beim 3. Tier, hier stiegen die Werte jeweils nach den Versuchsphasen über die obere Referenzgrenze hinaus an.

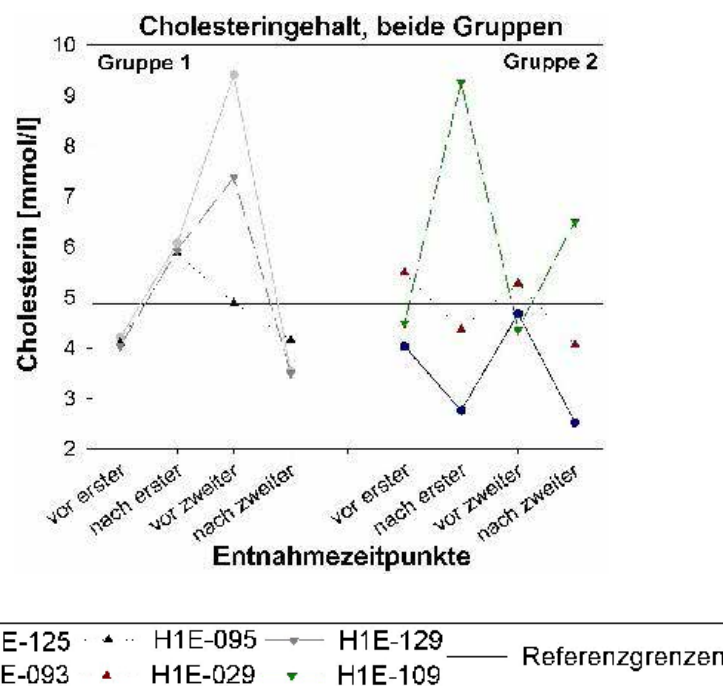


Abb. 38: Ergebnisse der Messung des Cholesteringehalts [mmol/l] im Serum. vor erster = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der ersten Versuchsphase; nach erster = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der ersten Versuchsphase; vor zweiter = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der zweiten Versuchsphase; nach zweiter = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der zweiten Versuchsphase

- Der **Glukosegehalt** (Abbildung 39) sank nach der ersten Versuchsphase bei allen Tieren beider Gruppen ab, teilweise auch unter die Referenzgrenze bei beiden Gruppen, allerdings nicht bei allen Tieren.

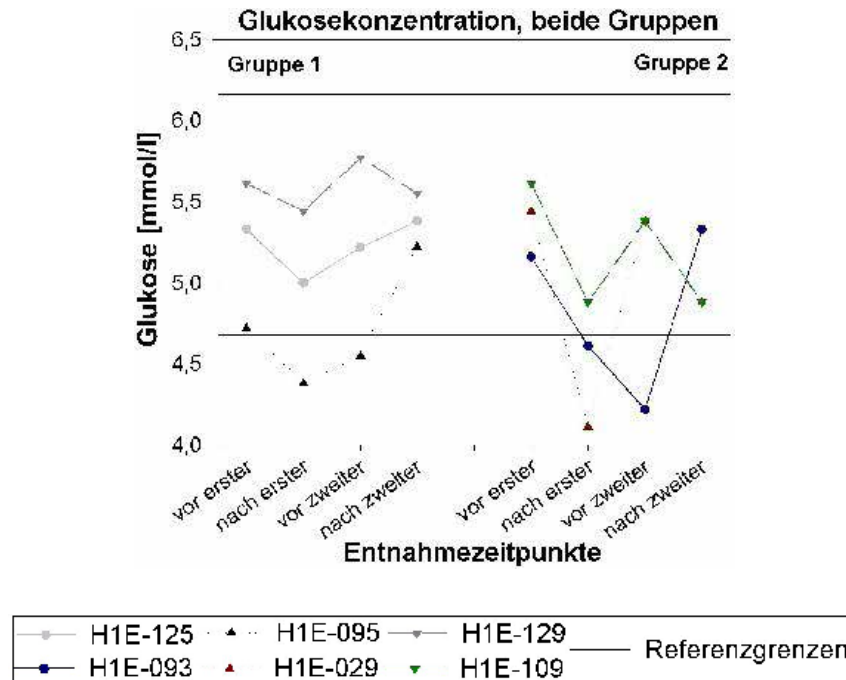


Abb. 39: Ergebnisse der Messung der Glukose-Konzentration [mmol/l] im Serum. vor erster = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der ersten Versuchsphase; nach erster = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der ersten Versuchsphase; vor zweiter = Blutentnahme 1 Tag vor Beginn der zweiten Versuchsphase; nach zweiter = Blutentnahme 2 Wochen nach der letzten Narkose der zweiten Versuchsphase

- Die **Kalzium-Konzentration** (Anhang D, Abb. 45) sank bei fast allen Tieren beider Gruppen nach der zweiten Versuchsphase unter die untere Referenzgrenze ab. Ansonsten konnte keine einheitliche Abhängigkeit von den Versuchen festgestellt werden.
- Der **Natriumgehalt** (Anhang D, Abb. 45) der Tiere der Gruppe 1 fiel innerhalb des Referenzbereiches einheitlich nach jeder Versuchsphase ab, bei der Gruppe 2 war dies nur nach der zweiten Versuchsphase zu beobachten.
- Der **Kaliumgehalt** (Anhang D, Abb. 45) fiel innerhalb des Referenzbereichs nach der ersten Versuchsphase meist ab und stieg nach der zweiten Versuchsphase bei beiden Gruppen mit einigen Ausnahmen an. Bei 1 Tier (H1E-095) der Gruppe 1 lag der Wert nach der Ruhephase oberhalb der Referenzgrenze und sank dann auf das Niveau der anderen Tiere ab.

- Der **Chlorid-Gehalt** (Anhang D, Abb. 45) lag bei allen Tieren beider Gruppen nach der ersten Versuchsphase niedriger und erholte sich dann wieder bzw. stieg etwas an. Er lag fast immer innerhalb des Referenzbereiches. Ansonsten verhielten sich auch die Elektrolytwerte eher uneinheitlich. Die Abweichungen von den Referenzwerten waren immer gering.

2.5 Verhalten

Aus den graphischen Darstellungen der prozentualen Dauer der 3 Verhaltenskomplexe (Abbildungen 40 und 41) ist ersichtlich, dass individuelle Unterschiede bezüglich der Dauer der einzelnen Verhaltensweisen nach jeder Narkose bei den 6 Tieren bestanden. Jedes Tier zeigte in der Aufwachphase ein individuelles Verhaltensmuster, d. h. ein Tier, das vom Charakter eher ruhig war, hat sich, unabhängig vom Narkoseintervall oder der Anzahl der Narkosen, generell weniger bewegt und überwiegend während des Überwachungszeitraums geruht. Im Gegensatz dazu hat sich ein eher aktives Tier insgesamt mehr bewegt und weniger geruht. Die Tiere der Gruppe 2 schienen ruhiger zu sein im Vergleich zu den Tieren der Gruppe 1.

Bei der Beurteilung der Dauer in Minuten und der Häufigkeit (Anhang E, Tabellen 20 und 21) der einzelnen Verhaltensweisen (Aufwach-, Ruhe- und Aktivitätsverhalten) bestätigt sich das individuelle Bild. Auch wieviel Zeit bis zum Auftreten des ersten Kopfhebens, des ersten Aufwachverhaltens und der ersten koordinierten Bewegungen im Anschluss an die Narkose verging, ist von Tier zu Tier verschieden gewesen (Anhang E, Tabelle 22). Bei 2 Tieren der Gruppe 1 fiel auf, dass sie im 2. Versuch deutlich länger brauchten, bis sie das erste Mal den Kopf hoben bzw. andere Anzeichen von Aufwachverhalten zeigten. Im 3. Versuch, nach der 3-monatigen Ruhephase, waren die Zeiten wieder deutlich kürzer. Bei der Gruppe 2 konnte diese Beobachtung nur bei einem der 3 Tiere (H1E-109) gemacht werden (Anhang E, Tabelle 22).

Die Zeiten, bis das erste Kopfheben und das erste Aufwachverhalten auftraten, lagen sehr nah beieinander. Die ersten koordinierten Bewegungen erfolgten meist wenige Minuten danach (Anhang E, Tabelle 22).

Bei der Auswertung des Verhaltens im Anschluss an die Narkosen fiel auf, dass die Tiere in den meisten Versuchen (Ausnahmen: Tier H1E-095, Vers. 3; Tier H1E-125, Vers.1; Tier H1E-093, Vers. 1, 2, 5 & 7; Tier H1E-029, Vers. 1, 3 & 4; Tier H1E-109, Vers. 4) im Liegen und Sitzen deutlich zitterten (Anhang E, Tabelle 23). Die Dauer des Zitterns betrug innerhalb der einstündigen Beobachtungszeit von 0,1 bis zu 48,7 Minuten. Die durchschnittliche Dauer der einzelnen Zittersequenzen lag zwischen 0,1 und 5,1 Minuten. Die Hunde zeigten dieses

Verhalten im Wechsel mit anderen Verhaltensweisen etwa 1 bis 33 Mal pro Versuch. Auch hier konnte keine Abhängigkeit von den Narkoseintervallen oder der Anzahl der Narkosen ausgemacht werden.

Gruppe 1

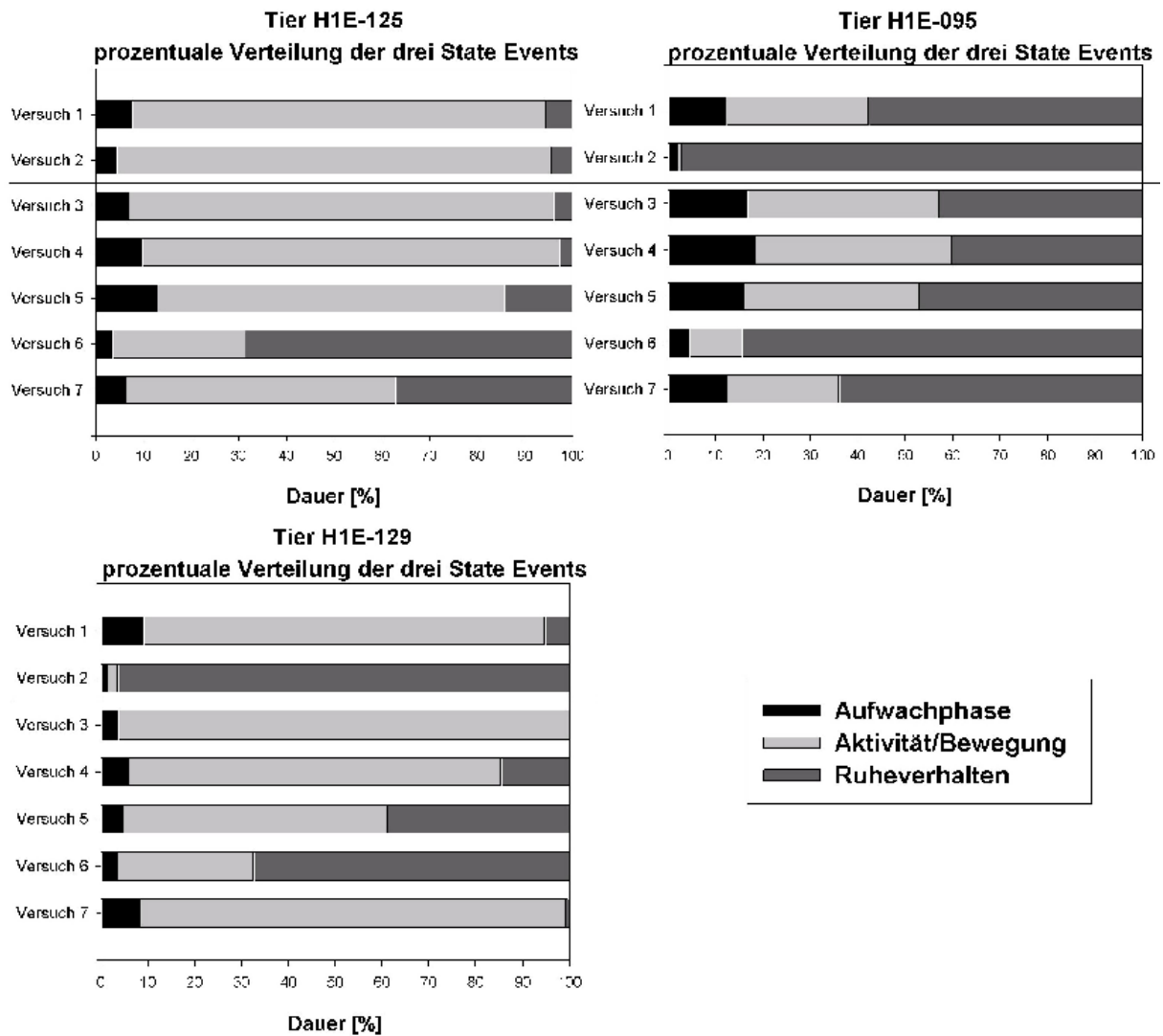


Abb. 40: Auf den 3 Graphen ist die jeweilige Dauer in [%] der 3 Verhaltenskomplexe (Ruheverhalten, Aktivität/Bewegung und Verhalten in der Aufwachphase) innerhalb der ersten halben Stunde nach der Narkose jedes einzelnen Tieres der Gruppe 1 für alle 7 Versuche abgebildet. Die Linie trennt die erste und die zweite Versuchsphase voneinander.

Gruppe 2

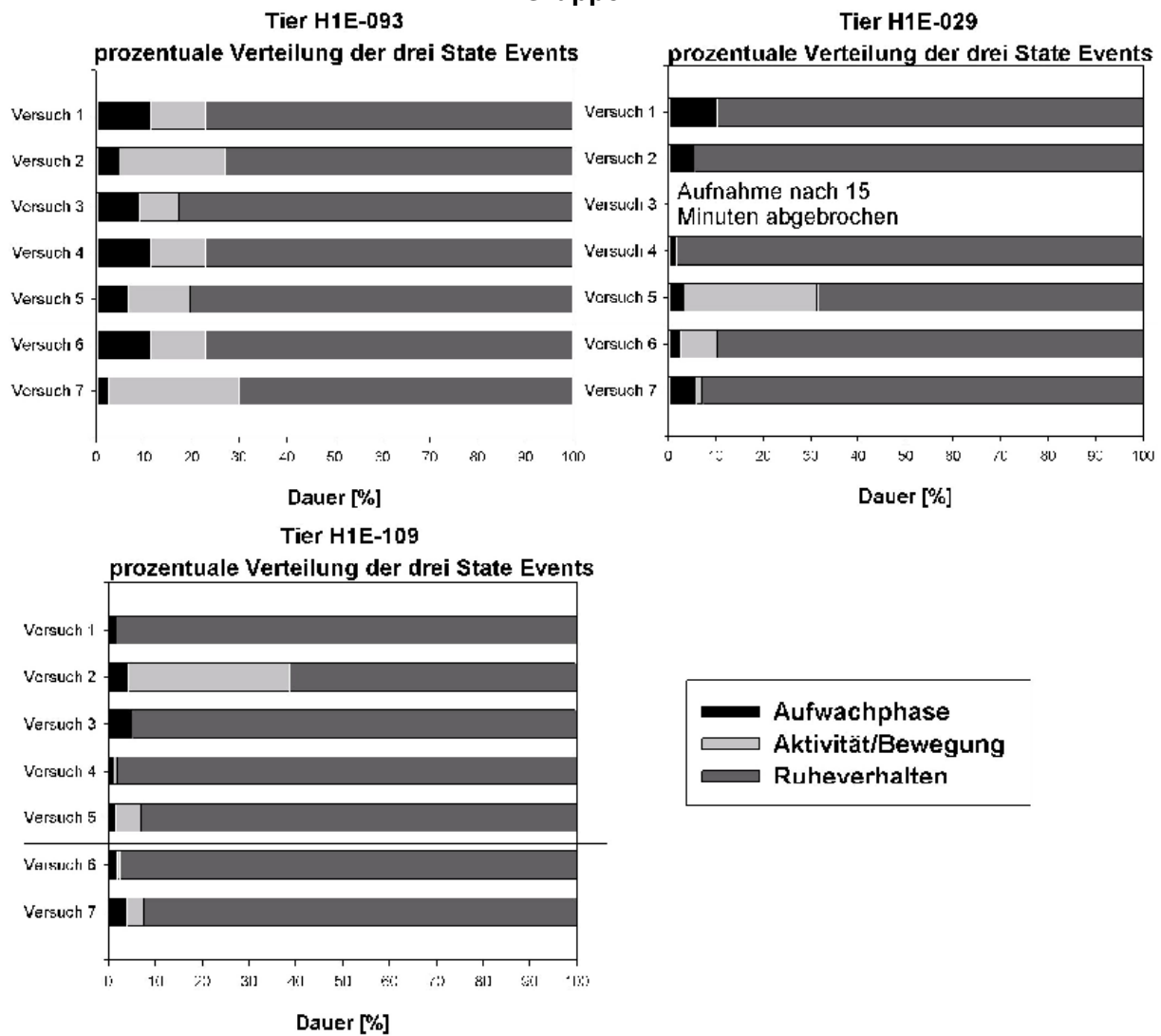


Abb. 41: Auf den 3 Graphen ist die jeweilige durchschnittliche Dauer in [%] der 3 Verhaltenskomplexe (Ruheverhalten, Aktivität/Bewegung und Verhalten in der Aufwachphase) innerhalb der ersten halben Stunde nach der Narkose jedes einzelnen Tieres der Gruppe 2 für alle 7 Versuche abgebildet. Die Linie trennt die erste und die zweite Versuchsphase voneinander.

Der Versuch 3 des Tieres H1E-029 ist nicht enthalten, da hierbei die Videoaufzeichnung nach etwa 13,5 Minuten aus technischen Gründen abgebrochen wurde.