

Tierversuchsmodell zur Untersuchung cerebroprotektiver Eigenschaften
eines Pharmakon während des hypothermen Herz - Kreislauf -
Stillstandes, am Beispiel des Nimotop®S

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktor der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Dirk-Jonas Danneberg
aus Darmstadt

Gießen 1998

Aus dem Medizinischen Zentrum für Chirurgie, Anästhesiologie und Urologie

Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie

Leiter: Prof. Dr. Dr.h.c. Hehrlein

des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. Dr.h.c. Hehrlein

Gutachter: Prof. Dr. Jessen

Tag der Disputation: 5. Mai 1999

Gewidmet meiner Tochter,
Josephine-Elisabeth

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	
	1.1. Einleitung und Fragestellung	Seite 1
	1.2. Physiologische Grundlagen	4
2.	Material und Methodik	9
	2.0. Versuchsdurchführung	9
	2.1. Versuchstiere	9
	2.2. EEG	10
	2.3. Narkoseverlauf	11
	2.3.1 Narkose-Medikamente	15
	2.4. Herz-Lungen-Maschine	16
	2.4.1 Perfusionsphasen der HLM	19
	2.5. Weitere Laborgeräte und Messungen	20
3.	Versuchsaufbau	21
	3.1. Prä-Operative Messungen	21
	3.2. OP-Vorbereitung und Anästhesie	22
	3.3. Nullmessung EEG	25
	3.4. Der Operationsverlauf	25
	3.5. Probenentnahme und Messungen	27
	3.5.1. Die untersuchten Laborparameter	30
	3.5.1.1. Kreatinkinase	30
	3.5.1.2. Sauerstoffgehalt und Sauerstoffsättigung	31
	3.6. Calciumantagonisten	32
	3.6.1. Wirkungsmechanismus von Calciumantagonisten	34
	3.7. Versuchsende	35
	3.8. Statistische Methodik	36
	3.8.1. Untersuchungsdesign	37

4.	Ergebnisse und Statistik	Seite 39
	4.1. Verarbeitung der Ergebnisse	39
	4.1.1. Statistische Auswertung	41
	4.2. Ergebnisse und statistische Deskription	46
	4.2.1. Beschreibung der Ergebnisse in den Phasen	48
5.	Diskussion	61
6.	Zusammenfassung	72
7.	Anhang: Tabellen und Diagramme	74
8.	Literaturverzeichnis	84
-	Danksagung	
-	Lebenslauf	

1.1. Einleitung und Fragestellung

Viele Operationen am nicht schlagenden Herzen und an den großen thorakalen Gefäßen werden heute ermöglicht durch die Verwendung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) zur Durchführung der extrakorporalen Zirkulation.

Bis zur Einführung der extrakorporalen Zirkulation in der Herzchirurgie beschränkten sich operative Eingriffe, zum Beispiel an den Herzklappen, im wesentlichen auf geschlossene Kommissurotomien an der stenosierten Mitralklappe.

1953 erfolgte der erste Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine (HLM) beim Menschen durch Gibbon (1954) in den USA [21].

Durch diesen Einsatz wurde eine wesentliche Voraussetzung geschaffen, durch temporären Ersatz der Pumpfunktion des Herzens Operationen am offenen nicht schlagenden Herzen durchzuführen.

Mit der Möglichkeit, einen Wärmetauscher in den Kreislauf der HLM zu schalten und somit die Körperkerntemperatur während der extrakorporalen Zirkulation zu senken, wird dem Chirurgen eine Methode zur Verfügung gestellt, die es ihm ermöglicht, herzchirurgische Eingriffe zum Beispiel bei Kindern und Säuglingen mit angeborenen Herzfehlern [6, 7, 9, 12, 40, 41, 58] sowie Eingriffe im Bereich des Aortenbogens beim Erwachsenen [3, 23, 38, 63], im hypothermen Kreislaufstillstand und einer geringen Flußgeschwindigkeit [50, 51] der Herz-Lungen-Maschine durchzuführen.

Durch das Absenken der Körperkerntemperatur mit Hilfe des Wärmetauschers und der extrakorporalen Zirkulation reduziert sich der Zellstoffwechsel und somit der Sauerstoffverbrauch [36].

Dies stellt einen wesentlichen Faktor zur Reduzierung des Sauerstoffbedarfs und der Erhöhung der Ischämietoleranz der Körpergewebe, insbesondere dem Gehirn, dar [36].

Coselli et al. (1988) beschrieben die Tatsache, daß Patienten herzchirurgische Eingriffe in tiefer Hypothermie mit einem bis zu 60 Minuten dauernden Herz-Kreislauf-Stillstand in der Regel ohne cerebrale Dysfunktion überstehen können [13].

Es gibt aber auch Veröffentlichungen, die beschreiben, daß Eingriffe mit längerer oder grenzzeitiger Herz-Kreislauf-Stillstandzeit mit einer deutlichen Zunahme an cerebraler Schädigung einher gehen können [7, 9, 15, 38].

Kececioglu (1990) beschreibt verschiedene Ausprägungen cerebraler Dysfunktionen bei Kleinkindern nach Korrekturoperationen angeborener Herzfehler im hypothermen Kreislaufstillstand zwischen 32 und 70 minütiger Dauer [28].

Er berichtet über zum Teil erst zwischen dem dritten und achten postoperativen Tag auftretende choreatiforme Krankheitsbilder oder das Auftreten eines hyperkinetisch hypotonen Syndroms.

Die Obduktion von nach 2 Tagen bis 3 Monaten postoperativ verstorbenen Patienten und die histopathologische Untersuchung der Gehirne ergab eine Gliose und einen Zellverlust im Globus Pallidus, sowie in abgeschwächter Ausprägung im Cortex und Hippocampus.

In der Arbeit von Brunberg et al. (1974) werden postoperative cerebrale Dysfunktionen bei 4 von 21 untersuchten Patienten beobachtet [9].

Er beschreibt auch Langzeitfolgen bei operierten Kleinkindern in Form von Dyskinesien und choreatiformen Anfällen die zum Teil bis zu 30 Monaten postoperativ auftraten.

Bei Erwachsenen wird bei einem Aortenbogenaneurysma die Interposition einer Gefäßprothese mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine erforderlich.

Hierbei wird zur Reimplantation der Halsschlagadern (supraaortale Äste) ein hypothermer Herz-Kreislauf-Stillstand von bis zu 60 Minuten vorgenommen. Dabei kommt es in einem hohen Prozentsatz zu neurologischen Ausfällen bis hin zu apallischen Syndromen [14, 15].

In der Kinderherzchirurgie wird vor allem bei den Herztransplantationen im Säuglingsalter zur Behandlung eines hypoplastischen Linksherz-Syndroms und häufig damit verbundenem hypoplastischem Aortenbogen die chirurgische Behandlung im hypothermen Herz-Kreislauf-Stillstand notwendig.

Bei diesen Eingriffen mit hohem Operationsrisiko ist bei erfolgreich durchgeführten Operationen mit einer hohen neurologischen Komplikationsrate zu rechnen.

Lundar et al. (1983) beschrieben neurologische Komplikationen nach Operationen im hypothermen Herz-Kreislauf-Stillstand von 16 % [38].

Die Dauer des hypothermen Herz-Kreislauf-Stillstandes wird bisher auf Grund der beschriebenen cerebralen Funktionsstörungen auf 60 Minuten limitiert.

Diese Tatsachen führen zu der Überlegung, ob es zusätzlich zur Hypothermie eine Möglichkeit gibt, mit Hilfe von cerebroprotektiven Pharmaka eine Verlängerung der hypothermen Herz-Kreislauf-Stillstands-Zeiten, beziehungsweise eine Reduktion der Ischämie bedingten cerebralen Veränderungen zu erzielen.

Versuche, hirnprotective Medikamente einzusetzen, zeigten bisher kaum wesentliche signifikante Verbesserungen.

Azariades et al. (1990) konnte bei seinem Versuch mit Propanolol bei 90 Minuten hypothermem Herz-Kreislauf-Stillstand keine Signifikanz bei 2 Schafgruppen mit jeweils 5 Tieren erzielen.

Er gibt aber in seiner Arbeit den Hinweis auf eine deutliche celluläre Calciumverschiebung an, wobei er dem Propanolol einen Membranstabilisierenden Effekt bezüglich der Calciumkanäle an Zellmembranen der Nervenzellen zuweisen konnte [2].

Weitere Untersuchungen mit cerebroplogischen Lösungen konnten ebenfalls keine Verlängerung der Ischämiezeiten ohne pathologische Veränderungen erbringen [15].

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, im Tierversuchsmodell eine Methode darzustellen, die es ermöglicht, Pharmaka hinsichtlich ihrer neuroprotektiven Wirksamkeit unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine in tiefer Hypothermie zu untersuchen.

1.2. Physiologische Grundlagen

Während der extrakorporalen Zirkulation ist der Blutfluß relativ niedrig. Dabei besteht die Gefahr einer ungenügenden Sauerstoffversorgung der verschiedenen Organe.

Um eine Ischämie bzw. Hypoxie zu vermeiden, muß während der extrakorporalen Zirkulation der Sauerstoffbedarf der Gewebe vermindert werden.

Hierzu eignet sich die Unterkühlung des gesamten Organismus, da die Hypothermie den Stoffwechsel senkt und die Ischämietoleranz der Organe erhöht.

Grundsätzlich kann die Körpertemperatur durch Oberflächenkühlung oder durch innere Kühlung abgesenkt werden.

Heute ist das bevorzugte Verfahren die innere Abkühlung über einen in den Kreislauf der Maschine geschalteten Wärmeaustauscher. Hierbei kann der Körper innerhalb kurzer Zeit auf die gewünschten Temperaturen abgekühlt und wieder erwärmt werden.

Zwischen Abnahme der Körperkerntemperatur und Abnahme des Gesamtsauerstoffverbrauchs besteht keine lineare Beziehung. Klinisch gelten zwischen der Hypothermie und der Abnahme des O_2 -Verbrauchs die folgenden Anhaltswerte.

Eine Absenkung der Körperkerntemperatur auf 30°C führt zu einer Abnahme des O_2 -Verbrauchs auf 50% des Ausgangswertes, bei 25°C zu einer Abnahme auf 25% und bei 15°C zur Abnahme auf 10% des Ausgangswertes [36].

Klinisch können folgende, nicht einheitlich verwendete Hypothermiegrade unterschieden werden:

Hypothermiegrade und tolerierter Kreislaufstillstand (Larsen 1987)

- Leichte Hypothermie: $37 - 32^{\circ}\text{C}$; Kreislaufstillstand 4 - 10 min
- Mäßige Hypothermie: $30 - 28^{\circ}\text{C}$; Kreislaufstillstand 10 - 16 min
- Tiefe Hypothermie: $28 - 18^{\circ}\text{C}$; Kreislaufstillstand 16 - 60 min
- Ausgeprägte Hypothermie: $18 - 4^{\circ}\text{C}$; Kreislaufstillstand 60 - 90 min

Die meisten Operationen mit der Herz-Lungen-Maschine werden in mäßiger Hypothermie durchgeführt.

Einige Eingriffe allerdings, insbesondere bei kongenitalen Vitien, in tiefer Hypothermie [36].

Um ein geeignetes Pharmakon zur Untersuchung auf die cerebroprotektive Wirksamkeit auszuwählen, ist die Kenntnis der pathophysiologischen Veränderungen im Gehirn während und nach der cerebralen Ischämie von Bedeutung.

Im normalen Gehirnstoffwechsel des Menschen wird bei normaler Durchblutung und normalem Sauerstoffverbrauch ausschließlich Glucose als Substrat des Stoffwechsels verwendet.

Der physiologische Wert für den cerebralen Blutfluss beträgt etwa 50 ml/ 100 g Gehirngewicht pro Minute und für den Sauerstoffverbrauch etwa 3 ml O₂/ 100 g / min.

Der Glucoseverbrauch beträgt etwa 27 µmol / 100 g / min.

Das Gehirn benötigt 15 % des cardialen Auswurfes und 20 % des totalen Sauerstoffverbrauches des Organismus [34, 35].

In einer Untersuchung von Heiss et al. (1983) konnte gezeigt werden, daß eine Beziehung zwischen dem Schweregrad der Ischämie und der Dauer der Mangeldurchblutung für die Überlebensfähigkeit der Nervenzellen besteht.

Anhand der überlebenden und der absterbenden Zellen kann man annehmen, daß 20 - 25 Minuten einer Durchblutung nahe Null überlebt werden können, bei 10 ml Restdurchblutung werden etwa 40 Minuten überlebt [26].

Im Anschluss an eine Durchblutungsstörung des Gehirns werden biochemische Prozesse aktiviert, welche selbständig ablaufen und teilweise sogar erst während der Reperfusion einsetzen [49].

Es kommt durch die Ischämie zur Membrandepolarisation.

Diese führt zum Energieverlust und zum Austritt von Kalium und Einstrom von Natrium in die Zelle. Hierbei wird der Stoffwechsel der Zelle aktiviert.

Da der Sauerstoff nicht mehr angeboten wird, muß nun Glukose anaerob verstoffwechselt werden und es bildet sich dabei Lactat.

Die Laktatazidose ist ein schädigender Mechanismus für die Zelle und führt zur weiteren Schädigung von Nervenzellen, die nicht primär schon durch den Einstrom von Natrium über die Auswirkung der Osmolyse geschädigt sind.

Ein weiterer Mechanismus führt zu einer Membrandepolarisation und öffnet hierbei Calciumkanäle.

Durch den Einstrom von Calcium werden Lipophospholipasen aktiviert und freie Fettsäuren freigesetzt. Dadurch entstehen eine Fülle von biochemischen Beiprodukten, die dann die Zelle schädigen können [10, 25, 42, 60].

Um positiv in diese Kaskade eingreifen zu können, müsste man eine Substanz applizieren, welcher eine hirnprotektive Wirkung zugeschrieben werden könnte.

Ein Pathomechanismus für die Nervenzellschädigung ist der vermehrte Calciumeinstrom in die Zelle, sodaß hinsichtlich dieser Überlegung, und auch auf Grund der Tatsache, daß Calciumantagonisten in der Neurologie zur Vorbeugung und Behandlung ischämischer neurologischer Defizite infolge zerebraler Vasospasmen nach Subarachnoidalblutung appliziert werden [4], der Calciumantagonist Nimodipin, in Form des Präparates Nimotop[®]S der Firma Bayer (Bayer AG, Pharma Deutschland / 51368 Leverkusen) ausgewählt wurde.

Die intraoperativen Labor-Meßdaten, zugeordnet zu bestimmten Operationszeiten, welche in 5 sachlich begründete Phasen gegliedert sind, sollen den Beweis erbringen, daß man mit dem hier vorgestellten Versuchsmodell in der Lage ist, Pharmaka auf ihre cerebroprotektive Wirksamkeit hin zu untersuchen sowie hirnfunktionelle Veränderungen zu erkennen.

2. Material und Methodik

Bei der vorliegenden Tierexperimentellen Untersuchung wurden im Zeitraum von November 1991 bis Dezember 1992 nachfolgend beschriebene Eingriffe durchgeführt.

2.0 Versuchsdurchführung

Die Art und der Umfang dieser Eingriffe erfordert mehrere Arbeitsgruppen. Im einzelnen ist und wird dies in dieser vorliegenden Studie dokumentiert. Die jeweiligen Gruppen werden wie folgt benannt

- a.) Arbeitsgruppe NIMO
- b.) Arbeitsgruppe EEG

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit sind die Untersuchungen der Gruppe NIMO.

2.1. Versuchstiere

Die Untersuchung erfolgte an 30 weiblichen 6 - 7 Monate alten Schafen. Es wurden Schafe gewählt zum einen aus Kostengründen, als auch auf Grund der Tatsache, daß eine relativ komplikationslose Narkose beim Schaf durchführbar ist, und Schafe sich außerdem in der Tierhaltung relativ unproblematisch zeigen.

Die Unterbringung der Tiere erfolgte im Physiologischen Institut der Universitätsklinik Gießen in bereits vorbestehenden Tierstallungen.

Die Grundpflege der Tiere wurde von angestellten, examinieren Tierpflegern der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt.

Eine tierschutzgerechte Vorgehensweise war somit gewährleistet und wurde durch die Genehmigung des Regierungspräsidium Gießen vom 06.10.1991 mit dem Aktenzeichen Gi 20/14-1/91 gestattet.

2.2. EEG

Die Arbeitsgruppe EEG befasste sich mit der Ableitung der Hirnströme. Hierfür erfolgten mehrere Messreihen zu festgelegten Zeitpunkten. Die Messungen erfolgten vor, während und nach dem Operationstag.

Über den gesamten OP-Zeitraum erfolgte die kontinuierliche Ableitung und Überwachung der Hirnströme mit dem CATEEM® - Computer (Computer Aided Topographical Electro Encephalometrie, Fa. MediSyst, Kurt-Schumacherstr. 35440 Linden). Die Befestigung der EEG - Nadelelektroden erfolgte am Schädel jeweils subkutan gemäß dem in Abb. 1 gezeigten Schema.

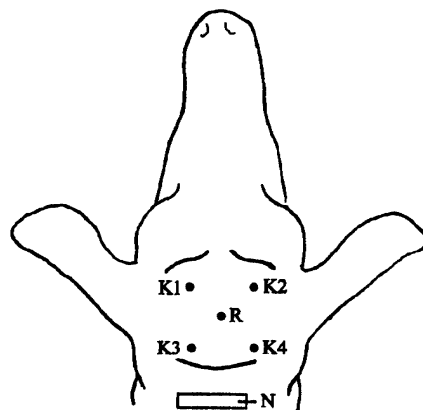


Abb. 1)

EEG - Elektroden - Meßpunkte

Für die Untersuchung ist zur Beurteilung der Hirnleistung ein Analyse- und Auswertungsprogramm der Fa. Cateem[®] benutzt worden. Dieses wurde dem Versuchsaufbau angeglichen.

2.3. Narkoseverlauf

Nach vorhergehender Desinfektion (Braunoderm[®]) erfolgte in Lokalanästhesie die Punktion der rechten Vena jugularis interna und die Implantation einer Schleuse (8,5 French).

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Thiopental[®] 0,5 mg/kg Körpergewicht. Im Anschluß an die Basisnarkose erfolgte die Intubation eines Endotracheal-Tubus (Rüschi[®] 30 Charrière) in aufrechter Haltung. Nach Öffnen des Maules und manueller Fixierung der Zunge wurde unter Zuhilfenahme eines Laryngoskops (Fa. Mc Intosh) intubiert und der Tubus mit einem Gummikeil im Maul fixiert.

Nach der richtigen Positionierung des Endotracheal-Tubus wurde das Schaf an einen Engström-Respirator System ER 300[®] (Fa. Engström) mit Rückatmung, CO₂ - Absorber, Oximeter und Halothanverdampfer angeschlossen.

Es wurde bis zum Beginn der extrakorporalen Zirkulation an der Herz-Lungen-Maschine, und nach Abgang von dieser, kontrolliert beatmet. Das Atemminutenvolumen (AMV) lag bei 4000 ml.

Im Beatmungsgas waren 100% Sauerstoff und Raumluft im Verhältnis 3:1 enthalten.

Am Ende der Expiration wurde ein positiver Druck aufrechterhalten (PEEP = positiv endexpiratory pressure). Dieser betrug 5 cm Wassersäule.

Während der extrakorporalen Zirkulation an der Herz-Lungen-Maschine wurde die Lunge 2 - 3 mal manuell mit einem Beatmungsbeutel gebläht um eine Verklebung der kollabierten Alveolen zu verhindern.

Nach Beendigung der Operation und Abgang von der HLM wurde zunächst weiter kontrolliert beatmet, mit einem AMV von 4000 ml und einem PEEP von 8 cm Wassersäule.

Das Gasgemisch der Beatmung konnte dann anhand der arteriellen Sauerstoffsättigung (Astrupmethode) manuell zu Gunsten der Raumluft verstellt werden.

Mit dem Einsetzen der eigenen Atmung des Schafes konnte zunächst eine assistierte Form der Beatmung gewählt werden, die dann ab einer kontinuierlichen Eigenfrequenz und einem Atemzugvolumen von mindestens 200 ml (AMV > 2000 ml) eingestellt wurde.

Ab diesem Zeitpunkt wurde dem Tier dann zusätzlich zur Raumluft reiner Sauerstoff (6 Liter) über eine Sonde in den Tubus insuffliert und nach den Ergebnissen der Blutgasanalyse (Astrupmethode) dosiert.

Nach Abklingen der Vollnarkose wurde das Tier über einen Zeitraum von etwa 3 Stunden beobachtet, bis es eine suffiziente Atmung zeigte.

Nun wurde es extubiert und mit dem Handwagen zurück in den Stall gefahren.

Das Säuren-Basen-Management während der Extrakorporalen Zirkulation erfolgte nach dem alpha - stat - Regime. Die Blutgase wurden unkorrigiert bei 37° gemessen. Hier sollten folgende Werte erreicht werden:

- p_aO_2 : < 250 mmHg
- p_aCO_2 : 35 - 45 mmHg
- pH: 7,3 - 7,4

Zur Überwachung der Herzfunktionen wurde ein EKG mit einer dreifachen Ableitung angeschlossen, welches an einen Überwachungsmonitor der Fa. Siemens kontinuierlich übertragen wurde.

Die Nadelelektroden für das EKG konnten jeweils subkutan, rechts und links Parasternal und einmal am linken Vorderhuf platziert werden.

Zur Überwachung der Ausscheidung wurde ein Blasenkatheter (Rüschi® 13 Charriere) unter Spekulumkontrolle eingeführt. Der Harn floß in einen Urinsammelbehälter (Urofix®), der durch einen Schlauch mit dem Katheter verbunden war.

Die arterielle Blutdruckmessung und arterielle Blutentnahme während des Versuchsablaufes erfolgte an einem Seitenast der linken Art. femoralis nach Kanülierung derselben.

Diese Kanüle war an einen Druckaufnehmer angeschlossen, welcher ebenfalls mit dem Monitor (Fa. Siemens) verbunden war.

Der Druckaufnehmer wurde mit einer Spüllösung (Ringer-Lactat, Fa. Braun, Melsungen) über einen Dreiweghahn (Fa. Braun) konnektiert. Diese arterielle Kanüle wurde mit einem Subcutanfaden im Gewebe fixiert.

Unter Monitorkontrolle wurde ein gemischt - venöser Sättigungskatheter in die Schleuse an der Vena jugularis eingeführt.

Hierbei handelt es sich um einen vierlumigen Ballonkatheter (Fa. Abbot, Wiesbaden), der über das rechte Herz in die Arteria pulmonalis eingeschwenkt wird, um eine durchgängige Kontrolle der Vitalparameter zu gewährleisten und problemlos Blutentnahmen durchführen zu können.

Zur Registrierung und Überwachung der Sauerstoffsättigung diente ein Faseroptik - Thermodilutionskatheter (Opticath[®] , Fa. Abbot), welcher über ein freies Lumen des vierlumigen Ballonkatheters eingeführt wurde.

Dieser Faseroptik - Katheter war an ein Messgerät der Fa. Ciba Corning Diagnostics GmbH, Berlin) angeschlossen.

Somit konnte die Sauerstoffsättigung kontinuierlich gemessen und dokumentiert werden.

Die Messung der Körpertemperatur des Schafes wurde im Ohr und Rektal mit Ellab - Sonden (Ellab, A/S, Dänemark) vorgenommen und an einen Überwachungsmonitor der Fa. Siemens übertragen.

Bei der Messung von Blutdruck, Temperatur und EKG handelte es sich um kontinuierliche Messungen von der Einleitung bis OP- Ende.

Die Messergebnisse wurden direkt schriftlich in ein Standard - Narkose - Protokoll der Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin des Justus Liebig-Universitätsklinikums Gießen übertragen.

2.3.1. Narkose - Medikamente

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde den Schafen folgende Medikation verabreicht :

- Fentanylidihydrogencitrat 0,01 mg/kg KG
(Fentanyl - Janssen[®], Fa. Janssen, Neuss)
- Midazolamhydrochlorid 0,2 mg/kg KG
(Dormicum[®] 15 , Fa. Hoffmann - La Roche, Grenzach)
- Pancuroniumbromid 0,15 mg/kg KG
(Pancuronium[®] , Fa. Organon, Eppelheim)

Die Injektion der Medikamente erfolgte nacheinander unmittelbar nach der Intubation, jeweils als Bolusinjektion i.V. in die Schleuse der Vena jugularis.

Für die kontinuierliche Narkoseführung wurde eine 50 ml Perfusorspritze (Fa. Braun) mit einer Mischung aus Fentanyl[®] und Dormicum[®] sowie 45ml isotonische Kochsalzlösung (Fa. Fresenius) als Trägersubstanz vorbereitet, und in den Perfusor (Fa. Braun) eingelegt.

Dieser wurde mit einer Perfusorleitung (Fa. Braun) an der Schleuse der Vena jugularis mit einem Dreivegehahn (Discifix[®], Braun) verbunden.

Folgende Perfusor - Dosierung wurde verwendet :

- Fentanyl[®] 0,5 µg/h*kg KG
- Dormicum[®] 0,05 mg/h*kg KG

Der Perfusor, der zur Aufrechterhaltung der Narkose diente, wurde nach dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation ausgestellt.

Die postoperative Analgesie wurde mit einem Intercostalblock durchgeführt.

Dabei wurde Bupivacainhydrochlorid 0,5 % (Carbostesin[®] 0,5%, Fa. Astra, Wedel) in einer Dosierung von 3 mg/kg KG unmittelbar in die Nähe der Intercostalnerven Th2 bis Th8 in die Intercostalmuskulatur injiziert.

2.4. Herz-Lungen-Maschine (HLM)

Alle Versuche mit der Herz-Lungen-Maschine (HLM) wurden mit einer non-okklusiven Rollerpumpe (Fa. Polystan, Dänemark) mit einem Membranoxygenator (Oxy 51[®], Fa. Sorin, Düsseldorf) durchgeführt. Dieser wurde mit einem Standardschlauchset und einem arteriellen Filter von 40 Mikrometer (Fa. Pall, Dreieich) verbunden.

Die HLM wurde eigens für die Versuchsreihe aus den handelsüblichen Bauteilen zusammengesetzt.

Das Restvolumen der HLM wurde durch Benutzung eines Hämofilters (HF80[®], Fa. Fresenius, Bad Homburg) hämokonzentriert, und am Ende der Operation den Tieren jeweils als Eigenblut wieder per Infusion intravenös zugeführt.

Die Füllung der HLM bestand aus 1250 ml Ringerlösung, 500 ml Plasmasteril (Fa. Fresenius, Bad Homburg) und 1250 I.E. Heparin (Liquemin[®], Fa. La Roche, Grenzach).

Damit das Blut im System der Herz-Lungen-Maschine nicht gerinnt, muß die Blutgerinnung vor der Kanülierung der großen Gefäße vollständig mit Heparin aufgehoben werden [36].

Die Blutgerinnung wurde an Hand der "activated - clotting - time" (ACT) mit einem Hemochron 400[®] (International Technidyne Corporation, New Jersey) mit venösem Blut bestimmt.

Hier sollte für die Dauer der extracorporalen Zirkulation eine Zeit von 450 Sekunden erreicht werden.

Zur Heparinisierung wurde Liquemin[®] verwendet, jeweils intravenös als Bolus sowie zur Füllung der HLM.

Die Heparinisierung geschah nach folgendem Schema:

- 300 E/kg KG bei Narkoseeinleit
- 300 E/kg KG ca. 10 Minuten vor HLM
- 150 E/kg KG vor Low - Flow

Nach der Operation mußte die Heparinisierung wieder antagonisiert werden, um eine normale Blutgerinnung zu gewährleisten.

Diese wurde intravenös mit Protaminhydrochlorid (Protamin[®] , Fa. La Roche, Grenzach) durchgeführt.

Schematische Darstellung der extrakorporalen Zirkulation

(modifiziert nach H. Plechinger / Handbuch der Kardioteknik [48])

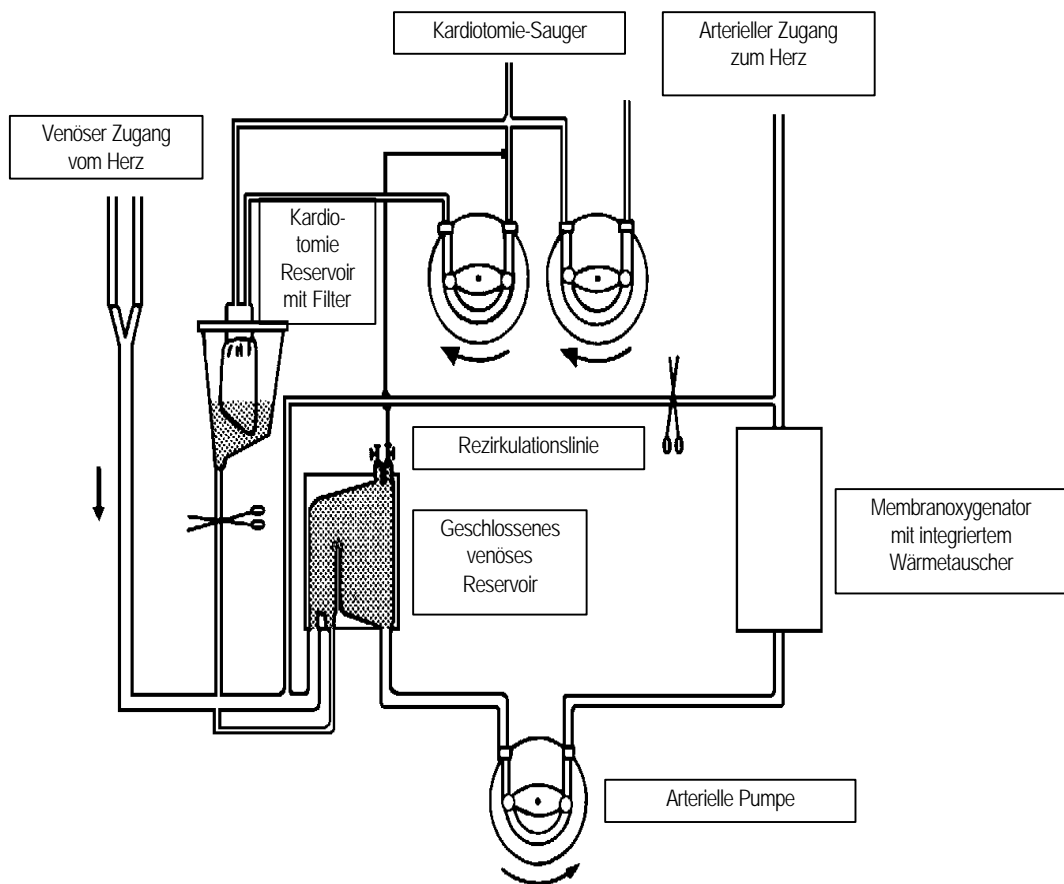


Abb. 2)

2.4.1 Die Perfusionsphasen der Herz-Lungen-Maschine

Nach Aufbau der HLM gemäß dem Schema - siehe Abb.2 - und Auffüllen des Systems erfolgte die arterielle und venöse Kanülierung des Herzens zur Erstellung des partiellen Bypass.

Daraufhin wurde die HLM in den einzelnen Perfusionsphasen mit folgendem Pumpenfluss betrieben.

Tabelle 1.) Die Perfusionsphasen der HLM

Nr.	Phasenart	Pumpenfluß	Dauer
1	Normothermie	60-70 ml/kg KG	2-5 Min
2	Abkühlung	60-70 ml/kg KG	ca. 50-80 Min
3	Low - Flow	5 ml/kg KG	90 Min
4	Aufwärmen	60-70 ml/kg KG	ca. 70-180 Min

Bei normaler Pumpleistung (60-70 ml/kgKG) der HLM wurde ein art. Druck von 50 - 90 mmHg aufrecht erhalten.

Bei Low - Flow lag dieser bei 10 - 30 mmHg.

Sämtliche Messungen und Einstellungen an der HLM wurden schriftlich in den Original - OP - Dokumentationsbögen der Kardiovaskulären Abteilung der Chirurgischen Universitätsklinik Gießen erfasst.

2.5. Weitere Laborgeräte und Messungen

Zur Bestimmung der Blutproben sofort nach Entnahme aus dem jeweiligen arteriellen und venösen Zugang sowie direkt aus der HLM wurde ein Laborgerät der Firma NOVA (Biomedical GmbH, Rödermark) vom Typ STAT Profile 5 (Seriennummer 605A91030) verwendet.

Mit diesem Gerät wurden folgende Laborparameter gemessen und errechnet und mit einem Computerausdruck dokumentiert.

- PH, pCO₂, pO₂
- Elektrolyte (Natrium, Kalium, Chlorid, Calcium,)
- Glucose
- Hämoglobin
- Base-Excess
- Standardbicarbonat
- TCO₂,
- Sauerstoffsättigung
- Sauerstoffgehalt
- Osmolarität.

3. Versuchsaufbau

3.1. Prä - Operative Messungen

Die Versuchstiere wurden jeweils 10, 8, 7, 5 und 3 Tage vor der Operation abends durch die EEG-Gruppe in einen abgedunkelten Untersuchungsraum gebracht, in dem die präoperativen EEG Messungen durchgeführt wurden.

Störfaktoren wurden weitgehend ausgeschlossen. Somit konnten sich die Tiere an die Situation gewöhnen.

Um die Tiere möglichst schonend zu immobilisieren, wurden sie in einem speziell konstruierten Wagen mittels eines Tragegurtes leicht angehoben, so daß sie keinen Bodenkontakt hatten. Der Kopf fand eine gepolsterte Auflage, an der das Halfter des Tieres fixiert wurde. In dieser Stellung waren die Tiere in der Regel ruhig und tolerierten die nachfolgende Messung ohne Probleme.

An zuvor festgelegten, mit einer Schablone markierten Punkten, wurden die EEG Elektroden gemäß Abbildung 1. fixiert. Als Nullelektrode diente eine Metallplatte, die am Hals des Schafes befestigt und mit Elektrodengel unterspritzt wurde. Die vier Meßelektroden, die Null- und die Erdungselektrode wurden an den Verstärker angeschlossen. Die Signale wurden verstärkt an die Cateem[®]- Computereinheit weitergeleitet. Hier wurden die Signale aufsummiert und zur späteren Auswertung abgespeichert.

Die 20 minütige präoperative Messung wurde erst gestartet, wenn das Tier offensichtlich ruhig war und sich an die Situation gewöhnt hatte. Der Untersucher saß mit dem Rücken zum Tier und konnte so parallel die

Meldungen des Aufzeichnungssystems am Monitor und über einen Spiegel das Verhalten des untersuchten Tieres beobachten.

Das EEG Aufzeichnungssystem speicherte die EEG Wellen der 20 minütigen Untersuchung, unterteilt in 20 Perioden.

Bewegte sich das Tier, konnten aufgrund der Empfindlichkeit der Messung Artefakte sicher ausgeschlossen werden. Die entsprechende Periode wurde auf einem Protokollbogen markiert und im Anschluß an die Messung aus der Aufzeichnung herausgelöscht, so daß nur Perioden zur Auswertung kamen, in denen sich die Tiere ruhig verhielten und nicht durch Geräusche abgelenkt waren.

Waren weniger als 15 Perioden sicher verwertbar, wurde eine weitere Messung von 10 Minuten direkt an die erste Messung angeschlossen und die verwertbaren Perioden aus beiden Messungen zusammengelegt.

3.2. OP-Vorbereitung und Anästhesie

Die Schafe wurden 2 Wochen vor OP vom Tierzüchter geliefert.

Sie wurden einzeln im Stall untergebracht, so daß sich die Tiere an ihre neue Umgebung gewöhnen konnten. Ihre Fütterung erfolgte regelmäßig unter gleichzeitiger Verhaltenskontrolle mit Heu und Kraftfutter, die Wassertrinkmenge war frei. Zusätzlich wurden die Tiere von erfahrenen, an der Universität Gießen angestellten Tierpflegern betreut.

Während der letzten 36 Stunden präoperativ erhielten die Tiere keinerlei feste Nahrung, sondern nur Trinkwasser nach Belieben.

Postoperativ wurden die Versuchstiere wieder in ihren Stall gebracht und blieben dort für weitere 10 Tage unter täglicher Beobachtung und

Verhaltenskontrolle, bevor sie mit einer Überdosis Thiopental - Natrium (Thiopental[®] , Fa. Nycomed, München) 35 mg/kg Körpergewicht gemäß den Vorschriften der Ethikkommission getötet und ihre Organe zur pathomorphologischen Beurteilung entnommen wurden.

Am Versuchstag wurde das jeweilige Schaf um 7 Uhr morgens vor dem Stall gewogen, von hier aus mit einem Handwagen direkt in den OP gefahren und dort für die Operation vorbereitet.

Zur Vorbereitung des Versuchs wurde das vorgeschorene Tier nochmals am Hals sowie am Thorax und im Bereich der Arteria femoralis jeweils rechtsseitig sowie an den Extremitäten und am Cranium bis auf die Haut geschoren.

Nach vorhergehender Desinfektion (Braunoderm[®]) erfolgte in Lokalanästhesie die Punktion der rechten Vena jugularis interna und die Implantation eines Venenkatheters (Fa. Braun) über eine Schleuse (8,5 French).

Dieser Venenkatheter wurde postoperativ bis zur Entfernung der Thoraxdrainagen belassen.

Die Entfernung der Drainagen erfolgte je nach Fördermenge, spätestens aber am 2. Tag nach der Operation.

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Thiopental[®] 0,5 mg/kg Körpergewicht. Im Anschluß an die Basisnarkose erfolgte die Intubation eines Endotracheal-Tubus (Rüschi[®] 30 Charrière) in aufrechter Haltung. Anschließend wurde das Schaf auf den OP-Tisch gehoben, und dort in Linksseitenlagerung mit gepolsterten Gurten an allen vier Extremitäten fixiert. Hier wurde mit einem Stethoskop die richtige Platzierung des Tubus und damit die beidseitige, gleichmäßige Belüftung der Lunge, unter der Beatmung mit einem Ambubeutel[®], auskultatorisch geprüft. Jetzt erfolgte die Befestigung der EEG - Elektroden am Schädel zur kontinuierlichen Ableitung und Überwachung der Hirnströme mit dem CATEEM[®] - Computer.

Zur Überwachung der Herzfunktionen wurde nun ein EKG mit einer dreifachen Ableitung angeschlossen. Die Nadelelektroden für das EKG konnten jeweils subkutan, rechts und links Parasternal und einmal am linken Vorderhuf plaziert werden.

Anschließend wurde ein Blasenkatheter (Rüsch®13Ch.) unter Spekulumkontrolle eingeführt.

In Linksseitenlage erfolgte die operative Darstellung eines Seitenastes der linken Art. femoralis und die Kanülierung desselben.

An diese Kanüle wurde nun ein Dreiwegehahn (Fa. Braun) angeschlossen und mit einer Spüllösung (Ringer - Lactat®, Fa.Braun, Melsungen) verbunden.

Diese Kanüle wurde mit einem Subcutanfaden im Gewebe fixiert.

Somit war eine problemlose arterielle Blutdruckmessung und arterielle Blutentnahme während des Versuchsablaufes gewährleistet.

Diese Kanüle wurde am Versuchsende gezogen und die Arterie ligiert. Anschließend erfolgte ein schichtweiser Wundverschluss.

Simultan zur arteriellen Kanülierung wurde unter Monitorkontrolle ein gemischt-venöser Sättigungskatheter in die Schleuse an der Vena jugularis eingeführt, das via rechter Ventrikel in die Arteria pulmonalis eingeschwenkt wurde.

Die Messung des peripheren arteriellen Druckes erfolgte über die Kunststoffkanüle in der linken A. femoralis, die an einen Druckaufnehmer angeschlossen war. Jetzt wurden die Temperatur - Sonden (Fa. Ellab / Dänemark) zur Messung der Körpertemperatur des Schafes im äußeren Gehörgang und rektal plaziert.

3.3. Nullmessung EEG

Der Aufbau des EEG-Computers wurde soweit vorbereitet, daß nach Narkoseeinleitung innerhalb kurzer Zeit mit der Messung des EEG begonnen werden konnte.

Die Tiere wurden wie bei den präoperativen Messungen an den Verstärker angeschlossen und das Aufzeichnungsprogramm gestartet.

Vor Beginn der eigentlichen Operation wurde die sogenannte Nullmessung durchgeführt. Während dieser ersten Phase des Operationsverlaufes war das Tier zwar schon narkotisiert, weitere Einflüsse wie Operation und Infusion weiterer Medikamente unterblieben zunächst jedoch, so daß ein EEG abgeleitet wurde, das im Gegensatz zum präoperativen EEG zusätzlich durch das Narkosemittel beeinflusst war. Für Vermerke während des intraoperativen Verlaufs lag dem EEG-Untersucher ein Protokollbogen vor, auf dem neben den Zeitabschnitten auch die Temperaturen im äußeren Gehörgang und rektal sowie Blutdruck und Kommentare vermerkt werden konnten.

Während der gesamten OP Dauer wurde die korrekte Ableitung der EEG-Wellen überwacht.

3.4. Der Operationsverlauf

Nach Einleiten der Narkose und dem Legen der Zugänge wurden die Versuchstiere zunächst rechtsseitig thorakotomiert.

Hierzu wurde ein ca. 25 cm langer Hautschnitt rechts thorakal im 5./6. Intercostalraum angelegt. Es folgte ein schichtweises Durchtrennen des Intercostalraumes und Eröffnen der rechten Thoraxhöhle.

Abschieben der Lunge von der Pleura. Darstellen des Herzbeutels und Längseröffnen desselben, dann Vorlegen von Hochnähten.

Anschlingen der Aorta mit einem Gummizügel und Vorlegen von Tabaksbeutelnähten in typischer Weise im Bereich der Aorta und des rechten Herzohres am Eintritt der Vena Cava superior.

Jetzt erfolgte eine systemische Heparinisierung, wie sie unter Punkt 2.4. beschrieben ist.

Nach Erreichen der gewünschten Antikoagulierbarkeit des Blutes folgte nun das Einbringen der Aortenkanüle (3,5 Charr.) und Anschluss des venösen Schlauchsystems (20 Charr.).

Die Kanülen wurden mit der jeweils vorbereiteten Tabaksbeutelnaht an der Gefäßwand fixiert.

Jetzt beginnt die partielle Bypass-Zeit mit den unter Punkt 2.4.1 aufgeführten Perfusionsphasen.

Nach dem zügigen Erreichen der vollen HLM - Flussgeschwindigkeit von 60 - 70 ml/kgKG wurde das Herz manuell vorluxiert und zur Entlastung des linken Ventrikels eine weitere Kanüle, ein sogenannter Vent, in die Ventrikelspitze eingebracht und fixiert.

Nun erfolgte die Abkühlung des Tieres mit einem Wärmetauscher, der mit den Schläuchen der HLM verbunden war.

Es wurde bis auf eine Temperatur von 18° Celsius rektal, beziehungsweise 16,5° - 18° Celsius - gemessen im äußeren Gehörgang des Schafes - heruntergekühlt.

Der maximale Temperaturgradient zwischen Blut und Wasser betrug hierbei 10° C.

Diese Temperatur war nach ca. 50 - 80 Minuten erreicht.

Jetzt beginnt die " low - flow " - Phase der HLM für die Dauer von 90 Minuten.

Dies bedeutet, von einem normalen (60 - 70 ml / kg KG) minütlichen Pumpenfluß wurde nun beim Erreichen dieser Temperatur eine Pumpleistung von 5 ml / kg KG pro Minute (Low - Flow) eingestellt.

Während dieser Zeit wurden Muskelbiopsien aus dem Myocard entnommen.

Nach Ablauf dieser Phase von 90 Minuten konnte mit dem Aufwärmen begonnen werden.

Dieses dauerte bis zum Erreichen von 36° C etwa 70 - 180 Minuten.

Sofern es während des Aufwärmens zum Herzflimmern kam, erfolgte eine Defibrillation.

Zunächst erfolgte der Verschluss der Ventstelle nach erneuter Biopsie aus dem Herzmuskel und Aufnähen eines passageren Schrittmacherkabels auf den rechten Ventrikel.

War eine normale Körpertemperatur (36° - 37°) erreicht, wurde der Maschinenfluss schrittweise reduziert und beendet.

Jetzt wurden die Kanülen nacheinander wieder entfernt und die Intubationsstellen an den Gefäßen durch Rafften der Tabaksbeutelnähte verschlossen.

Die Antagonisierung des Heparins erfolgte mit Protamin.

Kontrolle der Intubationsstellen auf Bluttrockenheit und Einlegen zweier Thoraxdrainagen.

Partieller Herzbeutelverschluß, schichtweiser Verschluss des Thorax und der Haut. Abschließend steriler Verband und Öffnen der Thoraxdrainagen.

3.5. Probenentnahme und Messungen

Innerhalb von 4 festgelegten, standardisierten Phasen erfolgten die Blutentnahmen aus den jeweiligen in Kapitel 3.2. beschriebenen Gefäßzugängen.

Zur Bestimmung der Kreatin - Kinase wurde eine weitere 5. Phase festgelegt.

Bei allen Blutentnahmen wurden jeweils 2 ml Spritzen (Fa. Braun) verwendet.

Diese wurden vorher mit Liquemin[®] gespült, um eine Koagulation des Blutes zu verhindern. Es wurde je 1 ml Blut entnommen.

Für die vorliegende Untersuchung und statistische Auswertung wurden Blutentnahmen zur Bestimmung folgender Parameter durchgeführt und wie folgt benannt:

- Sauerstoffsättigung -> O2-SAET
- Sauerstoffgehalt -> O2-GEHA
- Kreatinkinase -> CK
- Kreatinkinase (body - brain type) -> CKbb

Die Blutentnahmestellen für die Sauerstoffsättigung (O2-SAET) und den Sauerstoffgehalt (O2-GEHA) waren:

1. Venös -> An der HLM (venöser Schenkel) = O2-SAET1
2. Arteriell -> Seitenast der Art. femoralis sinistra = O2-SAET2
3. Venös -> Vena jugularis interna dexter = O2-SAET3
4. Gemischt Venös -> Vena Pulmonalis = O2-SAET4

1. Arteriell -> Seitenast der Art. femoralis sinistra = O2-GEHA1
2. Venös -> An der HLM (venöser Schenkel) = O2-GEHA2
3. Venös -> Vena jugularis interna dexter = O2-GEHA3
4. Gemischt Venös -> Vena Pulmonalis = O2-GEHA4

Die Entnahmezeitpunkte waren innerhalb der 5 festgelegten Phasen.

- Phase 1 = Abkühlung
- Phase 2 = Low - Flow , Full - Flow
- Phase 3 = Aufwärmung
- Phase 4 = Herz alleine
- Phase 5 = 4 - 7 Std. nach Phase 4

Die Blutgasanalyse (BGA), mit der Bestimmung der Elektrolyte (Kalium, Natrium und Calcium), wurde während des gesamten Versuches jede halbe Stunde von der Narkoseeinleitung bis zur Extubation durchgeführt, sowie zusätzlich zu den oben genannten 5 Meßphasen.

Zur Bestimmung der Proben diente das Laborgerät STAT Profile 5 der Firma NOVA (Biomedical GmbH, Rödermark).

Die Blutentnahmen zur Bestimmung der CK (Kreatinkinase) und der CKbb (Kreatinkinase body - brain type) wurden am Venenport der Vena jugularis dexter ab dem Beginn der Phase 3 durchgeführt.

Zusätzlich wurde eine Phase 5 festgelegt, diese umfasste den Zeitraum 4 bis 7 Stunden nach Phase 4 (d.h. nach Herz alleine).

Die Zeitpunkte der Probenentnahme zur Bestimmung der CK und CKbb waren wie folgt:

1. In der Aufwärmphase an der HLM
2. Direkt nach Abgang von der HLM
3. Nach 30 Minuten
4. Nach 90 Minuten
5. Nach 150 Minuten

Weitere Entnahmen (Phase 5) 4 Stunden nach Herz alleine und anschließend jede weitere Stunde ein mal, bis sieben Stunden nach Herz alleine.

Das entnommene Blut zur Bestimmung der CK und CKbb wurde für die spätere Untersuchung direkt nach der Entnahme zentrifugiert und eingefroren. Anschließend wurde es am Institut für Klinische Chemie der Universitäts - Klinik in 35043 Marburg bestimmt.

3.5.1. Die untersuchten Laborparameter

3.5.1.1. Kreatinkinase

Die Blutentnahme zur Bestimmung der Kreatinkinase erfolgte aus dem venösen Zugang der Vena jugularis gemäß der in Kapitel 3.5. beschriebenen Vorgehensweise.

Die Kreatinkinase ist ein dimeres Molekül, welches im Zytoplasma der Zelle vorkommt und beim Zerfall der Zelle im Plasma bzw. im Liquor Cerebrospinalis nachweisbar wird. Es können sich an dessen Aufbau die Untereinheiten M und B beteiligen.

Die möglichen 3 Isoenzyme des Zytoplasmas sind [11, 39, 59]:

- CKmm (Skelettmuskeltyp)
- CKbb (Gehirntyp)
- CKmb (Hybridtyp)

Diese einzelnen Typen unterscheiden sich durch ihre katalytischen Konstanten und ihr Organverteilungsmuster.

Im Normalserum ist nur der CKmm - Typ nachweisbar.

CKmb dagegen ist vor allem im Herzmuskel zu etwa 30 % der Gesamt - CK nachweisbar.

CKbb lässt sich im Plasma als auch im Liquor nach Schädigung von Gehirnzellen nachweisen.

Normalwerte für die Kreatinkinase in Units pro Liter (U/l)

- weiblich: 10 - 70 U/l
- männlich: 10 - 80 U/l

Der Anteil der CKmb bezogen auf die Gesamt - CK ist beim Gesunden kleiner als 6 % [11, 16, 50, 51, 61].

Die Laborchemische Auswertung der Creatin Kinase und der Isoenzyme erfolgte jeweils mit einem ISO - CK - Kit der Firma Sebiachem GmbH / Fulda, sowie nach der " Optimierten Standard Methode " der Gesellschaft für Klinische Chemie [24, 53, 59,], mit dem Automated Analysis for BM/ Hitachi System 717 / Boehringer Mannheim (BOEHRINGER MANNHEIM GmbH, Mannheim).

3.5.1.2. Sauerstoffgehalt und Sauerstoffsättigung

Die Probenentnahmen zur Bestimmung der Sauerstoffsättigung und des Sauerstoffgehaltes erfolgten in der unter 3.5. beschriebenen Art und Weise.

Die Proben wurden jeweils sofort nach Entnahme mit dem Laborgerät STAT Profile 5 der Firma NOVA gemessen und protokolliert.

Die Sauerstoffsättigung des Blutes sagt aus, zu wieviel Prozent das vorhandene Hämoglobin aktuell mit Sauerstoff gesättigt ist.

Die Sauerstoffsättigung hängt vom Sauerstoffpartialdruck (pO₂) ab.

Bei einem normalen arteriellen pO_2 von 100 mm Hg beträgt die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins im arteriellen Blut 97 %.

Gemischtvenös liegt die Sättigung bei 70 - 75 %.

Der Unterschied zwischen dem O_2 -Gehalt des arteriellen u. des venösen Blutes ist von Sauerstoffverbrauch und Durchblutung abhängig und daher in den verschiedenen Organstrombahnen unterschiedlich [54].

3.6. Calciumantagonisten

Aus der Gruppe der Calciumantagonisten stehen eine Vielzahl von Derivaten zur Verfügung. Diese kann man in drei Gruppen einteilen [45]. Das in der vorliegenden Studie verwendete Pharmakon entstammt der sogenannten Nifedipin - Gruppe.

Die gemeinsame chemische Grundstruktur dieser Gruppe ist das Dihydropyridin.

Nach Einleitung der Narkose wurde an einen Port des vierlumigen Venenkatheters eine 50 ml Perfusorspritze (Fa. Braun) angeschlossen, diese wurde in einen Infusomaten der Fa. Braun eingelegt.

Die 50 ml Perfusorspritze enthielt den untersuchten Calciumantagonisten (Nimotop®S; Firma Bayer AG, Leverkusen) in einer alkoholischen Trägerlösung bestehend aus [52]:

- Ethanol 96%
- Macrogol 400
- Natriumcitrat
- Wasser für Injektionszwecke

Bei voller Dosierung waren in der Perfusorspritze 10 mg Nimodipin (Nimotop®S), bei halber Dosierung 5 mg Nimodipin in der Trägerlösung enthalten.

In der Placebo-Dosierung enthielt die Perfusorspritze nur die Trägerlösung.

Die Spritze wurde zuvor am Operationstag in der Apotheke der Universitätsklinik Gießen vorbereitet und unter Licht und Wärmeschutz unmittelbar vor Beginn der Operation zu den Versuchsräumen transportiert.

Zu Beginn der Operation wurde der Infusomat mit einer Infusionsgeschwindigkeit von 2,5 ml/Std eingestellt.

Es erfolgte eine kontinuierliche Infusion bis zur Low - Flow - Phase der extracorporalen Circulation.

Für die Dauer der Low - Flow - Phase wurde die Infusion unterbrochen und erst wieder nach Beendigung dieser Phase fortgeführt, bis der gesamte Inhalt der Perfusorspritze infundiert war.

3.6.1. Wirkungsmechanismus von Calciumantagonisten

Der wesentliche Wirkmechanismus der Calcium-Antagonisten wurde durch Fleckenstein et al. in den Jahren 1969 bis 1972 aufgedeckt [17].

Calcium-Antagonisten hemmen den langsamen, transmembranären Calcium - Einstrom durch die sogenannten langsamen Calciumkanäle. Unter Calciumkanälen versteht man biochemisch Makroproteine in der Zellmembran, die selektiv die Passage von Calciumionen durch die Membran kontrollieren. Der Öffnungszustand der Calciumkanäle ist einerseits vom Membranpotential, andererseits von der Anwesenheit spezifischer Agonisten oder Antagonisten abhängig.

Zusätzlich zur Hemmung des Calcium - Einstroms diskutiert man, daß Calcium-Antagonisten die Calcium - Bindung an die Zellmembran reduzieren und Calcium aus oberflächlichen Speichern in der Zellmembran (Glykokalix) verdrängen [18, 46, 60].

Daraus ergibt sich, daß der wesentliche Wirkort der Calcium-Antagonisten die Zellmembran (Sarkolemm - Komplex) ist.

In physiologischen Dosierungen spielen intrazelluläre Wirkungen keine Rolle. Im Bereich der Zellmembran gibt es für die unterschiedlichen Calciumantagonisten verschiedene Bindungsstellen (Rezeptoren).

So werden Calciumantagonisten vom Nifedipin-Typ an der Außenseite der Zellmembran gebunden [10, 22, 56, 60].

Substanzen der Dihydropyridingruppe wirken am geschlossenen Calciumkanal.

Sie sind in ihrer Wirkung weder von der Herzfrequenz noch vom Membranpotential (Depolarisation) abhängig.

Das Nimodipin besitzt auf Grund seiner lipophilen Eigenschaft die Fähigkeit, die Blut / Hirn - Schranke zu durchdringen [29].

3.7. Versuchsende

Am 10. postoperativen Tag erhielten die Schafe eine Überdosis Thiopental[→] über eine venöse Schleuse.

In der Folge wurden Herz, Teile der Lunge, eine Niere, Milz sowie Teile der Leber entnommen. Ein Querschnitt des Herzens von ca. 1 cm Dicke wurde in flüssigem Stickstoff zur histologischen Aufarbeitung tiefgefroren. Die übrigen Anteile des Herzens sowie die Organe wurden in Formalin fixiert und ebenfalls zur histologischen Aufarbeitung verwandt.

Die Schädeldecke wurde entfernt und das Gehirn einschließlich Meningen zur neurohistologischen Auswertung verbracht.

Die histologische Aufarbeitung und Auswertung erfolgte am Institut für Neuropathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Die Verwertung der Ergebnisse wurde durch eine weitere Untersucherguppe im Rahmen dieser Studie durchgeführt.

3.8. Statistische Methodik

Die vorliegende Untersuchung wurde an 30 weiblichen Schafen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 30,95 Kilogramm bei einer Standardabweichung von 5,15 Kilogramm durchgeführt.

Die Schafe waren 6 - 7 Monate alt.

Bei diesem Versuchsaufbau handelt es sich um eine Doppelblindstudie. Hierbei wurden 3 Dosierungen des zu untersuchenden Medikamentes Nimotop[®]S (Firma Bayer AG, Leverkusen) mit folgenden Bezeichnungen verwendet:

- NIM 1/1 = Nimotop[®]S 10 mg
in 50 ml alkoholischer Trägerlösung
- NIM 1/2 = Nimotop[®]S 5 mg
in 50 ml alkoholischer Trägerlösung
- Placebo = 50 ml alkoholische Trägerlösung

Die Zubereitung der Substanzen wurde in der Apotheke des Universitätsklinikums Gießen am jeweiligen Operationstag durchgeführt.

Eine genaue Zuordnungsliste (siehe Tabelle 3.) wurde dem Untersucherteam nach Beendigung der Versuchsreihe vom Apotheker überreicht.

An Hand dieser Tabelle erfolgte die Auflösung der Verblindung.

Nach Abschluss aller Versuche erfolgte die Zuordnung der Messergebnisse in die drei Gruppen (NIM 1/1, NIM1/2, Placebo).

Den somit gebildeten drei Gruppen konnten jeweils 10 Schafe zugeordnet werden.

Somit ergaben sich bei insgesamt 10 Schafen pro Gruppe jeweils die folgenden zugeteilten Nimotop - Dosierungen:

- Gruppe 1: 10 Schafe mit 100 % Nimotop = NIM 1/1
- Gruppe 2: 10 Schafe mit 50 % Nimotop = NIM 1/2
- Gruppe 3: 10 Schafe mit 0 % Nimotop = Placebo

3.8.1. Untersuchungsdesign

Das Untersuchungsdesign (siehe Tabelle 2.) wurde wie folgt aufgegliedert.

Es bestand aus fünf aufeinander folgenden, sachlich begründeten operativen Phasen.

- Phase 1: Abkühlphase
- Phase 2: Low - Flow / Full - Flow - Phase
- Phase 3: Aufwärmphase
- Phase 4: Herz alleine - Phase
- Phase 5: Postoperative - Phase

Jede dieser Phasen bestand aus einer oder mehreren Stufen.

Eine Stufe stellte einen Messpunkt dar.

An diesen Messpunkten erfolgten die jeweiligen Blutentnahmen in Temperaturschritten von zwei Grad Celsius, gemessen am äußeren Gehörgang, entnommen aus den beschriebenen Entnahmestellen.

Aus diesen Messungen wurde ein Mittelwert der Ergebnisse gebildet und dieser dann einer Stufe zugeteilt.

Diese Stufen wurden anschließend der Auswertung zugeführt.

Tabelle 2.) Untersuchungsdesign

Messgruppen			Stufen der Phasen	Phase
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	(Messpunkte)	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 1: Maschine an (Kühlung an -> 35°) Stufe 2: 32° -> 30° Stufe 3: 27° -> 22°	1. Abkühlphase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo		
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo		
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 1: Low / Flow	2. Low / Flow Full / Flow - Phase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 2: Full / Flow	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 1: 22° -> 27°	3. Aufwärmphase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 2: 30° -> 32°	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 3: 35°	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 1: Herz alleine	4. Herz alleine - Phase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 2: 30 - 60 min	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 3: 90 - 120 min	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 4: 150 - 180 min	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	Stufe 1: 240 - 420 min	5. Phase

4. Ergebnisse und Statistik

4.1. Verarbeitung der Ergebnisse

Es wurden die im Kapitel 2. vorgestellten standardisierten Messungen bei den jeweiligen Versuchstieren jeweils in gleicher Vorgehensweise durchgeführt.

Die somit erhaltenen Messwerte wurden von den jeweiligen, beschriebenen Laborgeräten abgelesen und zur weiteren Verarbeitung manuell in ein Tabellenkalkulationsprogramm (EXCEL[®] , Microsoft Corporation) mit Hilfe eines IBM-kompatiblen Personalcomputer eingegeben.

Anhand dieser Tabellen konnten die somit aufgelisteten Rohdaten den statistischen Verfahren zugeführt werden, welche später am Hochschul-Rechenzentrum der Justus - Liebig - Universität Gießen durchgeführt wurden.

Tabelle 3.: Verblindungsauflösung

Schaf Nr.	Op-Datum	Gruppe
01	02.04.92	N1/2
02	07.04.92	N1/1
03	09.04.92	N1/1
04	21.04.92	Placebo
05	23.04.92	N1/1
06	29.04.92	N1/2
07	06.05.92	N1/2
08	14.05.92	N1/1
09	02.06.92	N1/1
10	11.06.92	N1/1
11	17.06.92	Placebo
12	24.06.92	N1/2
13	09.07.92	N1/2
14	16.07.92	Placebo
15	23.07.92	Placebo
16	30.07.92	Placebo
17	06.08.92	N1/1
18	13.08.92	N1/2
19	27.08.92	Placebo
20	03.09.92	N1/1
21	10.09.92	Placebo
22	15.09.92	N1/2
23	22.09.92	N1/1
24	24.09.92	Placebo
25	01.10.92	Placebo
26	13.10.92	Placebo
27	15.10.92	N1/2
28	22.10.92	N1/1
29	29.10.92	N1/2
30	27.10.92	N1/2

4.1.1. Statistische Auswertung

Als Grundlage der gesamten Untersuchung diente ein zweifaktorieller Versuchsplan.

Dieser setzte sich zusammen aus einem Gruppenfaktor und einem Meßwiederholungsfaktor.

In diesen Meßwiederholungsfaktor gingen die einzelnen Stufen der verschiedenen bereits in Kapitel 3.5 beschriebenen Phasen ein.

Der Gruppenfaktor stellte die unabhängige Variable dar.

Der Faktor GRUPPE ist 3-fach gestuft, dies bedeutet

- Placebo - Gruppe
- Nimo 1/2 - Gruppe
- Nimo 1/1 - Gruppe

Der Meßwiederholungsfaktor (Faktor PHASE) enthält die Stufen der einzelnen Experimentalphasen. Als abhängige Variablen fungieren die Parameter der Datenebenen.

Zur Übersicht werden die Gruppen und Phasen in Tabelle 4. dargestellt.

Tabelle 4.: Gruppe / Phase - Diagramm

Messgruppen			Phase
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	1. Abkühlphase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	2. Low / Flow Full / Flow - Phase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	3. Aufwärmphase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	4. Herz alleine - Phase
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	
NIM 1/1	NIM 1/2	Placebo	5. Phase

Auf dieser Grundlage wurden nun die einzelnen Gruppen jeweils untereinander geprüft.

Zunächst erfolgte die interferenzstatistische Auswertung.

Bei dieser Form der Auswertung wird überprüft, ob und welche signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Stufen des Faktors GRUPPE und des Faktors PHASE vorliegen.

Weiterhin wird geprüft ob Wechselwirkungen zwischen beiden Faktoren vorliegen.

Im einzelnen wurde der Faktor GRUPPE und der Faktor PHASE jeweils untereinander geprüft.

- a1) zwischen der ersten Stufe (Placebo-Gruppe) und dem Mittel der zweiten und dritten (Nimo-Gesamt-Gruppe) Stufe
- a2) zwischen der zweiten (Nimo 1/2) und dritten (Nimo 1/1) Stufe
- b) zwischen den Stufen des Faktors PHASE
- c) Wechselwirkungen zwischen Faktor PHASE und Faktor GRUPPE

Dieses univariate Meßwiederholungsdesign wurde für die intervallskalierten Datenebenen / Parameter multivariat behandelt.

Um weitere statistische Aussagen treffen zu können, wurde nach einer weiteren Untersuchungsmethode vorgegangen.

Hierbei handelt es sich um eine multivariate Varianzanalyse.

Bei dieser Analyse wurde nach der Regressionsmethode vorgegangen.

Sofern sich bei beiden Faktoren (GRUPPE und PHASE) signifikante Haupteffekte ohne signifikante Wechselwirkung ergaben, waren

Folgeanalysen zur genaueren Bestimmung der Unterschiede innerhalb der beiden Faktoren notwendig.

Bei diesen Tests auf a priori - Unterschiede der Mittelwerte (geplante Vergleiche / Kontraste) wurden bei dem Faktor GRUPPE

a) die 1. Stufe (Placebo-Gruppe) gegen das Mittel (Nimo-Gesamt-Gruppe) der 2. Stufe (Nimo 1/2Gruppe) und 3. Stufe (Nimo1/1-Gruppe) und b) die 2. gegen die 3. Stufe gesetzt.

Die Kontrastmatrix des Faktors PHASE stellt die 1. Stufe der 2., das Mittel der 1. und 2. der 3. Stufe, das Mittel der 1., 2. und 3. der 4. Stufe bzw. das Mittel der ersten vier Stufen der letzten Stufe gegenüber (inverse Helmert - Kontraste).

Bei einer signifikanten Wechselwirkung sind signifikante Haupteffekte nicht mehr interpretierbar. In diesem Fall wurden auf jeder einzelnen Stufe eines Faktors 1 - faktorielle Varianzanalysen mit dem verbleibenden Faktor berechnet.

Grundlage der Deskription bildeten bei signifikanten multi - oder univariaten Haupteffekten die Parameterschätzungen der Kontraste. Sollten die multivariaten Effekte die Signifikanzgrenze nur knapp überschritten haben, die univariaten Ergebnisse jedoch innerhalb des Signifikanzniveaus liegen, so wurden die Befunde auch in die Deskription einbezogen. Sofern beide Effekte knapp über dem Niveau lagen, wurden sie in der Deskription als „Trend“ oder „Tendenz“ bezeichnet.

Lag bei der Phase nur eine Stufe vor, so wurden die Gruppenvergleiche (mit den genannten Kontrasten) mit der univariaten Varianzanalyse ausgewertet.

Bei den ordinalskalierten Parametern wurden die Gruppenvergleiche mit der Kruskal - Wallis - Rangvarianzanalyse gerechnet, wobei die Gruppeneinteilung der Kontrastmatrix der multivariaten Analyse entsprach (Placebo - Gruppe vs. Nimo - Gesamt - Gruppe und Nimo 1/2 - Gruppe vs. Nimo 1/1 - Gruppe).

Für diese wurden die Phasenvergleiche mit der Friedman - Rangvarianzanalyse durchgeführt.

Die Überprüfung der Voraussetzungen des Verfahrens erfolgte mit den einschlägigen Tests (Normalverteilung mit dem Kolmogorov - Smirnov - Test die Varianzhomogenität mit dem Bartlett - Test).

Als angemessenes Signifikanzniveau wird $\alpha = 5 \%$ angesetzt.

Bei der Darstellung der Ergebnisse werden jedoch auch Ergebnisse mit einem Signifikanzniveau $< 10 \%$ aufgeführt.

Diese Ergebnisse sind im Text mit „der Tendenz nach“ oder ähnlich bezeichnet.

Diese statistischen Berechnungen und Auswertungen wurden am Hochschul - Rechenzentrum der Justus-Liebig-Universität Gießen mit der Programmbibliothek SPSS - X durchgeführt.

Zur Anwendung kamen die folgenden Prozeduren: FREQUENCIES, NPAR TESTS, ONEWAY und MANOVA.

4.2. Ergebnisse und Statistische Deskription

Aus Gründen der Lesbarkeit werden in der Deskription nur die signifikanten ($p \leq 5$) Ergebnisse und tendenziell signifikanten ($p \leq 10$) Ergebnisse ohne Nennung der statistischen Kennwerte dargestellt.

Zunächst erfolgt unter Punkt 4.2.1. die vergleichende Beschreibung der gemessenen Parameter in den Gruppen in einer Phase, siehe auch Tabelle 5.

Unter Punkt 7. werden Mittelwerte und Kurvenverläufe der einzelnen Parameter aufgelistet, hier werden die Stufen in den jeweiligen Phasen den zugehörigen Gruppen gegenübergestellt.

Die Deskription der Ergebnisse wird für die einzelnen Parameter jeweils in der jeweiligen Phase beschrieben, sofern sie signifikant oder der Tendenz nach signifikant sind.

Tabelle 5: Phasen / Parameter - Diagramm

Phase	Messparameter
1. Abkühlphase	Sauerstoffgehalt Sauerstoffsättigung
2. Low - Flow / Full - Flow - Phase	Sauerstoffgehalt Sauerstoffsättigung
3. Aufwärmphase	Sauerstoffgehalt Sauerstoffsättigung Ck und Ck (bb)
4. Herz - alleine - Phase	Sauerstoffgehalt Sauerstoffsättigung Ck und Ck (bb)
5. Phase	Ck und Ck (bb)

4.2.1. Beschreibung der Ergebnisse in den Phasen

Phase 0:

Die Phase 0 dient zur Prüfung der Un - / Gleichheit der Gruppen vor dem experimentellen Eingriff.

Nach den Ergebnissen liegen somit keine Unterschiede vor.

Phase 1: Abkühlphase

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Gehalt

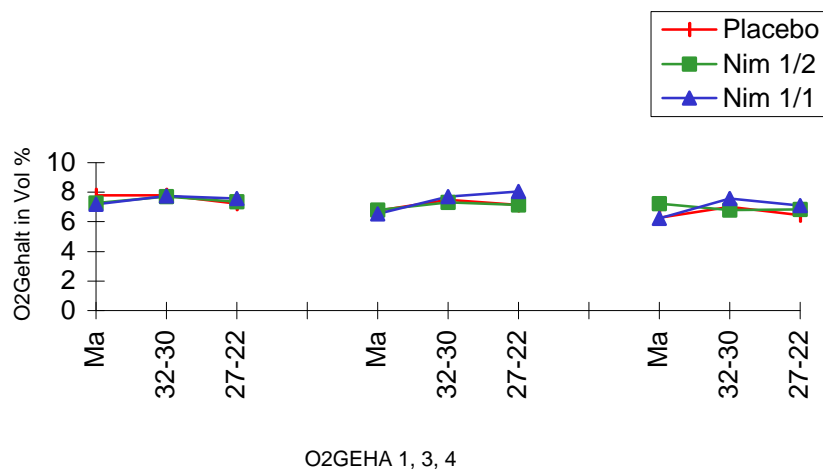


Abb.:3

Die Ergebnisse der Messung O2-GEHA1 ergeben einen signifikanten Phaseneffekt. Es zeigt sich, daß sich Kurvenverläufe in allen drei Nimo-Gruppen annähernd gleich verhalten.

Stufe 2 liegt über, die Stufe 3 liegt unter den Baseline-Werten.

Es kommt zunächst zu einem geringen Anstieg des Sauerstoffgehaltes von Stufe 1 zu Stufe 2 und anschließend zu einem Abfall von Stufe 1 zu Stufe 3.

Auch bei O2-GEHA3 unterscheiden sich die Stufen dieser Phase.

Die zweite und dritte Stufe ist jeweils höher als die erste Stufe, jedoch liegen die Messwerte der dritten Stufe für NIM1/2 und Placebo unter dem Wert von NIM1/1.

Tendenziell ist auch bei O2-GEHA4 ein Anstieg von Stufe 1 zu Stufe 3 zu bemerken.

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Sättigung

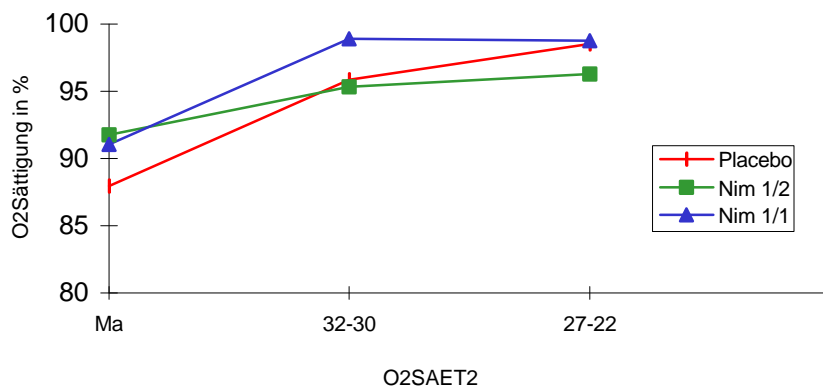


Abb.:4

Lediglich bei O2-SAET2 weist die zweite und dritte Stufe höhere Werte auf als die erste Stufe.

Hier liegen die Messwerte der drei Gruppen dicht zusammen, wobei der Wert für NIM 1/1 in der dritten Stufe über dem Wert für Placebo liegt.

Phase 2: Low - flow / Full - flow - Phase

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Gehalt

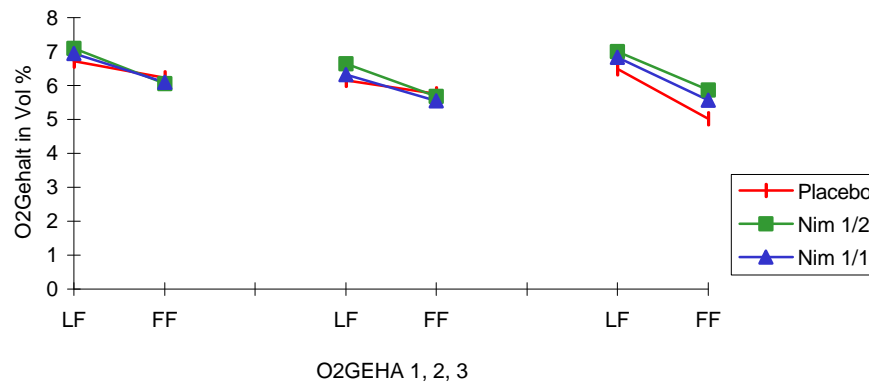


Abb.:5

Bei O2-GEHA1, 2 und 3 tritt ein signifikanter Phaseneffekt auf.

Es zeigt sich bei den drei Gruppen, daß die NIM 1/2 - Werte in beiden Stufen höher sind als die Placebo und NIM 1/1 - Werte.

Dies bedeutet, daß der Sauerstoffgehalt arteriell und venös bei NIM 1/2 höher ist als bei den beiden Vergleichsgruppen.

Weiterhin ist festzustellen, daß die Werte der Full - flow - Stufe kleiner sind als die der Low - flow - Stufe.

Es kommt also an den drei Messpunkten zu einem Abfallen des venösen und arteriellen Sauerstoffgehaltes.

Phase 2: Low - flow / Full flow - Phase

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Sättigung

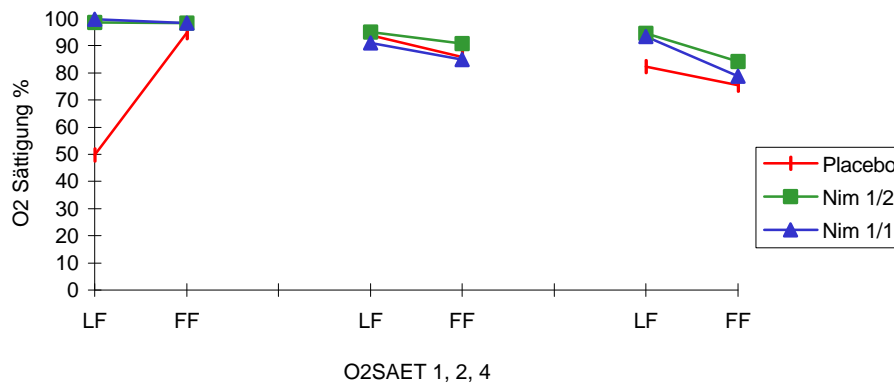


Abb.:6

Die Parameterschätzung des knapp signifikanten Gruppeneffekts bei O2-SAET1 läßt auf niedrigere Werte der Placebo-Gruppe gegenüber der Nimo 1/1 - Gruppe schließen.

Die Nim 1/2 - Gruppe liegt mit den Messwerten gering unter den NIM 1/1 - Werten, die Placebo - Werte jedoch deutlich unter beiden.

Bei O2-SAET2 und 4 liegt die low - flow - Stufe über der full - flow - Stufe, es kommt also zu einem Abfall der arteriellen und gemischt venösen Sauerstoffsättigung an diesen Entnahmestellen.

Gruppenunterschiede treten nicht auf.

Phase 3: Aufwärmphase

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Gehalt

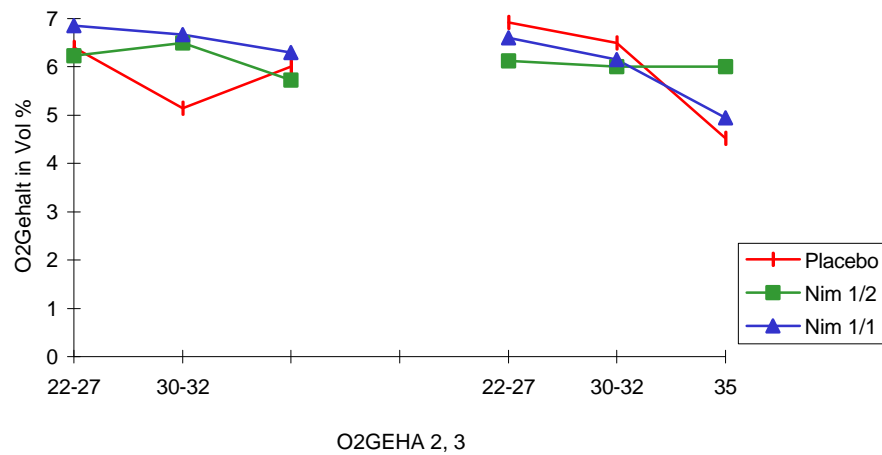


Abb.: 7

Ein signifikanter Phaseneffekt kann nur bei O2-GEHA3 nachgewiesen werden. Hier sind die Werte der zweiten und dritten Stufe kleiner als die der ersten Stufe. Wobei die Messwerte für NIM 1/2 annähernd gleich bleiben, hingegen Placebo und NIM 1/1 abfallen.

Tendenziell liegt bei O2-GEHA2 die Stufe 2 über der Stufe 1. Hier zeigt sich im Kurvenverlauf der Phase bei allen drei Gruppen ein geringer Abfall des Sauerstoffgehaltes.

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Sättigung

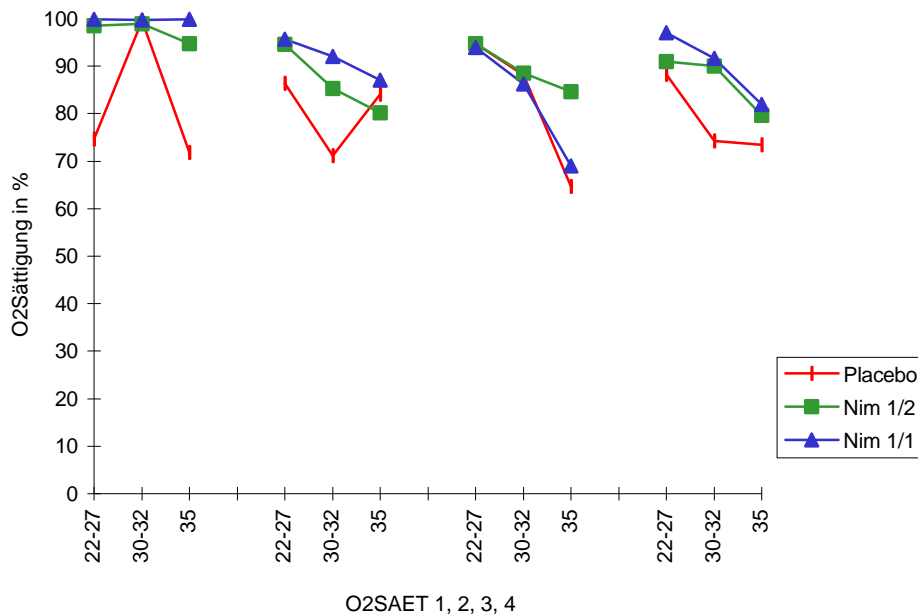


Abb.: 8

Das Ergebnis der O2-SAET1 sowie in etwas abgeschwächter Form die Ergebnisse von O2-SAET4 weisen auf einen Trend hin.

Die Placebo-Gruppe hat kleinere Werte als die NIM 1/1 - Gruppe.

Es kommt während des Temperaturanstieges zu einem Abfall der Sauerstoffsättigung, welcher bei der Placebo - Gruppe besonders ausgeprägt ist.

Bei O2-SAET2, 3 und 4 liegen Phaseneffekte vor; hier sinkt die Sauerstoffsättigung an diesen drei Entnahmestellen.

Bei O2-SAET 2 liegt die Baseline über der zweiten Stufe, bei O2-SAET 3 und 4 liegt sie über der zweiten und dritten Stufe.

Zu untersuchender Parameter: Kreatinkinase (CK)

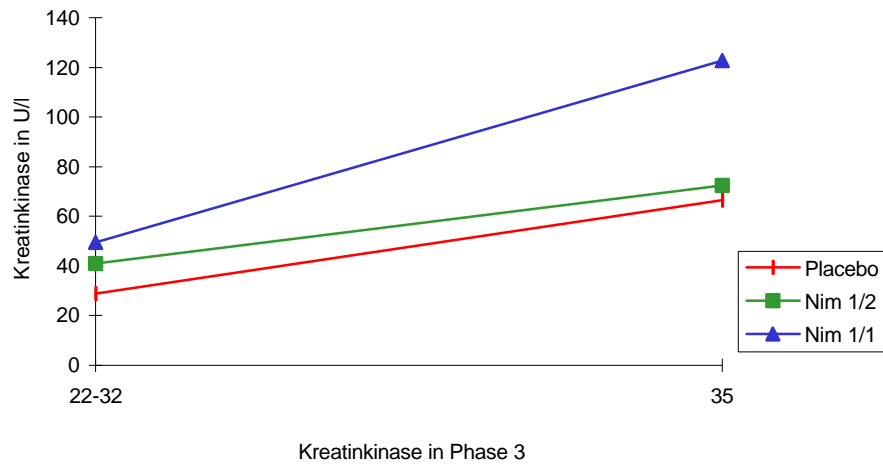


Abb.: 9

Für die Parameter Ck und Ck (bb) liegen für diese Phase stellvertretend die Werte für zwei Stufen vor.

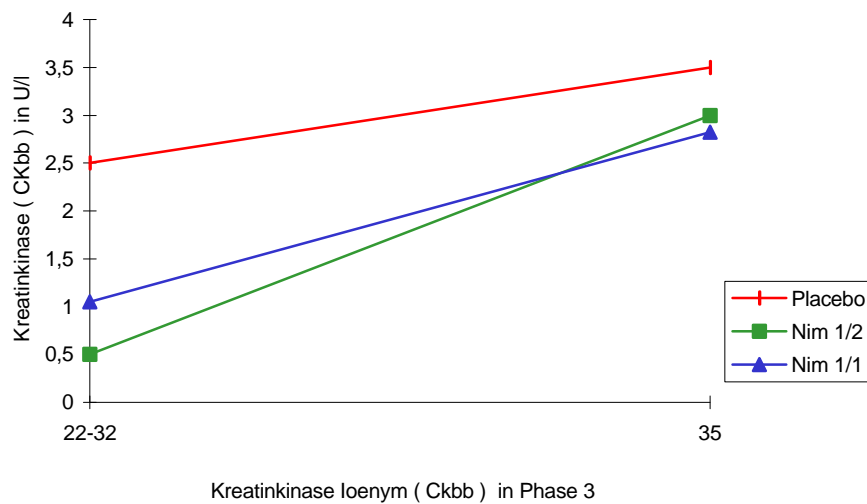


Abb.: 10

Bei beiden Parametern liegen die Werte der zweiten Stufe insgesamt über den Werten der ersten Stufe.

Die Enzymkonzentration beider Parameter steigt bei allen drei Gruppen im Verlauf der dritten Phase an.

Phase 4: Herz allein - Phase

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Gehalt

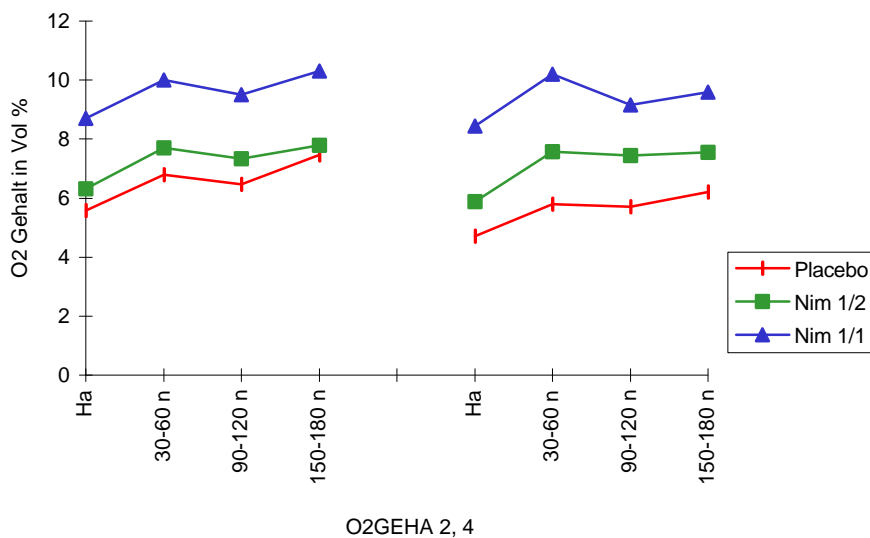


Abb.: 11

Bei O2-GEHA2 hat der errechnete Signifikanzwert die Grenze knapp überschritten.

Die Placebo - Werte liegen unter den NIM 1/1 und NIM1/2 - Werten.

Der Kurvenverlauf aller drei Gruppen zeigt einen Anstieg des Sauerstoffgehaltes.

Hier zeigt die NIM 1/1 - Gruppe höhere Werte im Vergleich zur NIM 1/2 - Gruppe.

Es zeigt sich auch ein Phaseneffekt für O2-GEHA2 mit höheren Werten der zweiten und vierten Stufe im Vergleich zur ersten.

Bei O2-GEHA4 ist die 2 Stufe signifikant größer als die erste. Es zeigt sich am Kurvenverlauf, daß die Werte der Placebo - Gruppe unter den Werten der beiden anderen Gruppen liegen.

Zu untersuchender Parameter: Sauerstoff - Sättigung

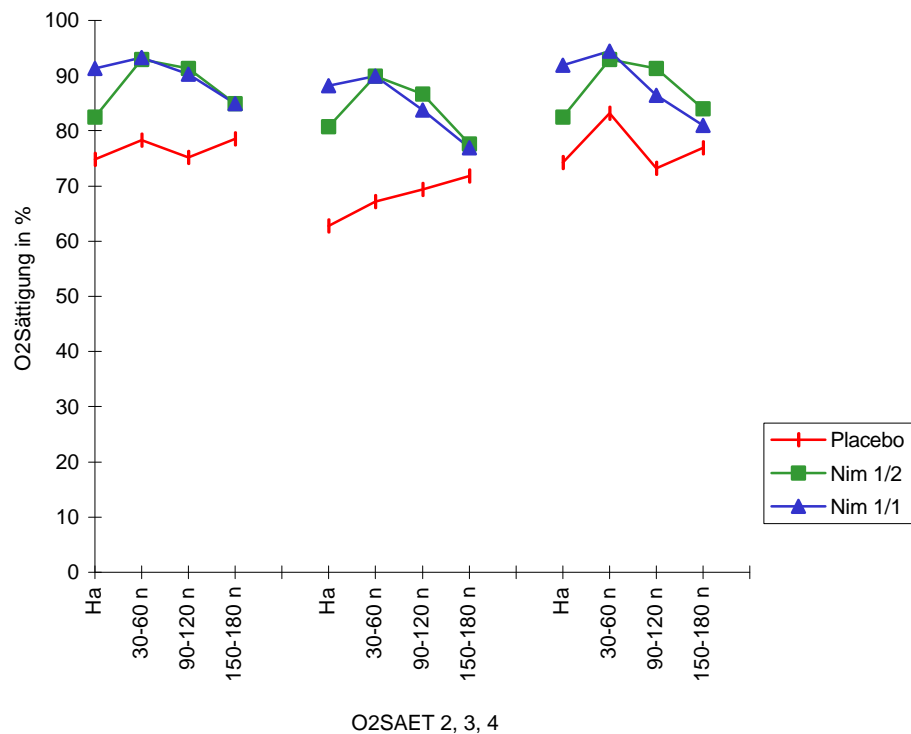


Abb.: 12

Bei O2-SAET2 unterscheiden sich ausgeprägt die kleineren Werte der Placebo - Gruppe von denen der NIM 1/1 und der NIM1/2 - Gruppe.

Als schwächerer Trend findet sich dieses Ergebnis auch bei O2-SAET3.

Bei O2-SAET4 liegt die zweite Stufe insgesamt über der Baseline.

Auch hier sind die Werte der Sauerstoffsättigung für die Placebo-Gruppe geringer als die der NIM 1/1 und NIM1/2 -Gruppe.

Zu untersuchender Parameter: Kreatinkinase (CK)

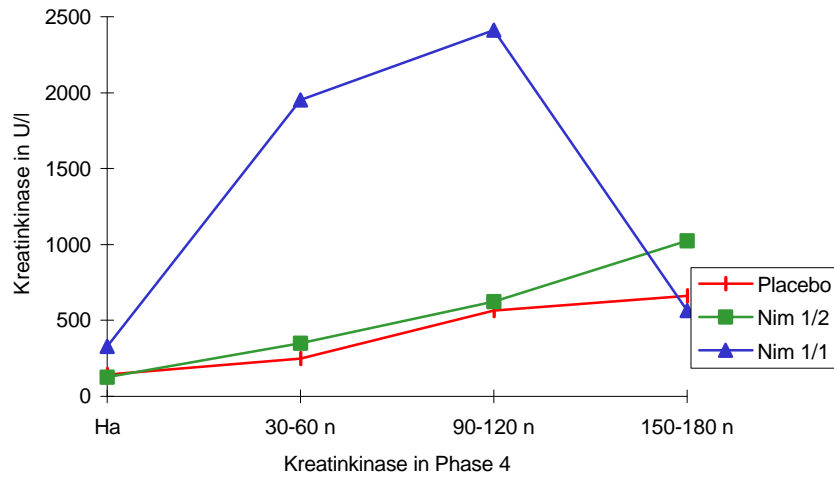


Abb.: 13

Der Parameter Ck ist auf der zweiten und dritten Stufe gegenüber der ersten erhöht. Bei Ck (bb) liegt nur die dritte Stufe über der ersten.

Zu untersuchender Parameter: Kreatinkinase - Isoenzym CK (bb)

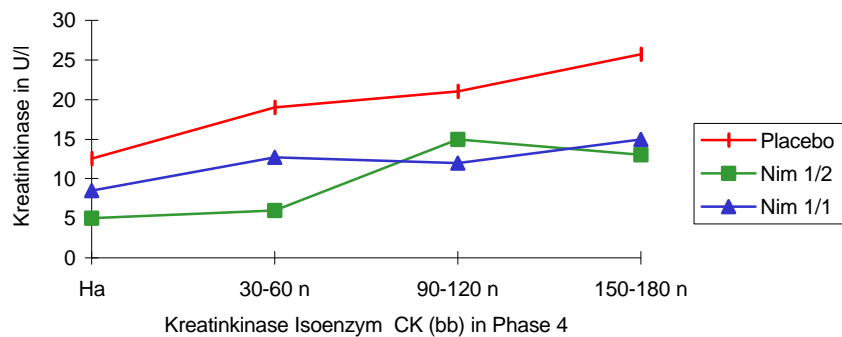


Abb.: 14

Insgesamt zeigen beide Kurvenverläufe für alle drei Gruppen einen Anstieg der Enzymwerte. Die höchsten Werte zeigt die Placebo - Gruppe.

Phase 5:

Zu untersuchender Parameter: Kreatinkinase (CK)

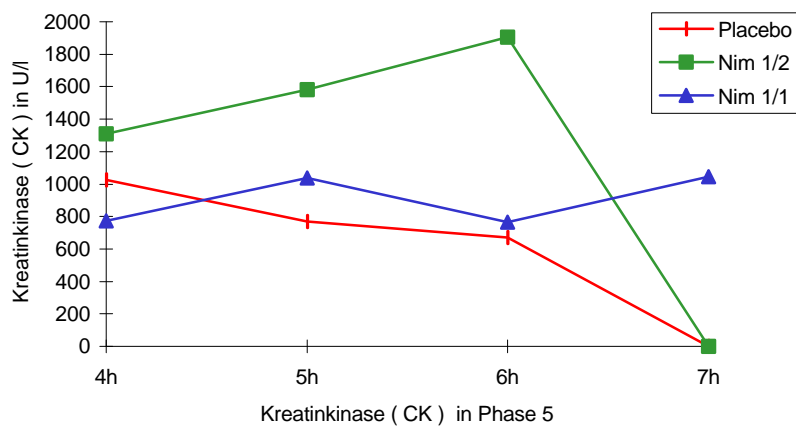


Abb.: 15

Bei der Kreatinkinase als auch bei dem Isoenzym Ck (bb) liegen die Werte der vierten Stufe unter den Werten der ersten.

Zu untersuchender Parameter: Kreatinkinase CK (bb)

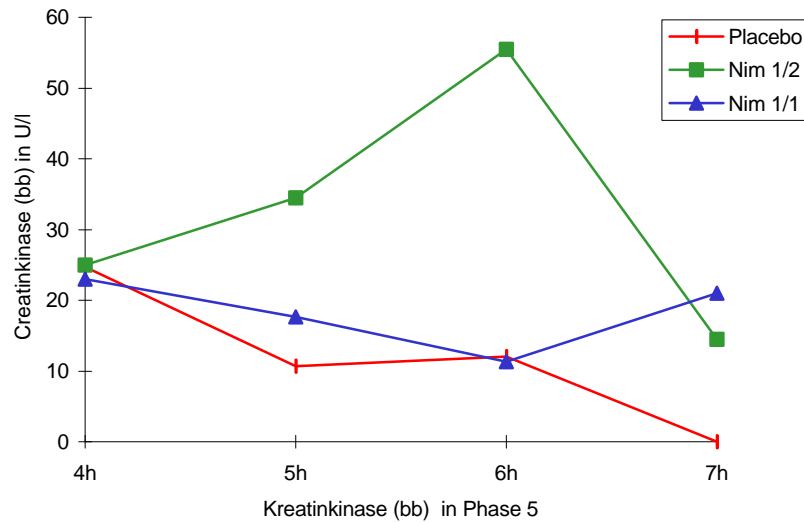


Abb.: 15

Es zeigt sich für den Parameter CK (bb) der Tendenz nach ein Gruppeneffekt; hierbei liegen die Werte der Placebo - Gruppe unter der NIM1/1 und NIM1/2 - Gruppe.

5. Diskussion

Zahlreiche Herzoperationen und Eingriffe an den großen Gefäßen sind nur am nicht schlagenden Herzen möglich.

Hierzu müssen Herz und Lungen aus dem normalen Kreislauf ausgeschaltet und stillgelegt werden. Ihre Funktion übernimmt dann eine externe Herz-Lungen-Maschine.

Diesen Vorgang bezeichnet man als extrakorporale Zirkulation oder kardiopulmonaler Bypass.

Während der extrakorporalen Zirkulation fließt das gesamte venöse Blut über Kanülen und Schläuche aus den beiden Hohlvenen in ein Reservoir der Herz-Lungen-Maschine. Von hier wird es nach Anreicherung mit Sauerstoff und Elimination von CO₂ in den arteriellen Kreislauf des Patienten über die Aorta oder Arteria femoralis zurück gepumpt. Die extrakorporale Zirkulation kann über mehrere Stunden aufrecht erhalten werden. Während der extrakorporalen Zirkulation ist der Blutfluß relativ niedrig, so daß die Gefahr einer ungenügenden Sauerstoffversorgung der verschiedenen Organe besteht.

Um eine Ischämie bzw. Hypoxie zu vermeiden, muß während der extrakorporalen Zirkulation der Sauerstoffbedarf der Gewebe vermindert werden. Hierzu eignet sich die Unterkühlung des gesamten Organismus.

Die Hypothermie senkt dabei den Stoffwechsel und somit den Bedarf an Sauerstoff und erhöht so die Ischämietoleranz der Organe [13, 54].

Die Hypothermie wird durch einen Wärmetauscher erreicht, der in den Kreislauf der Herz-Lungen-Maschine geschaltet wird [36, 48].

Hierbei kann der Körper innerhalb sehr kurzer Zeit auf beliebige Temperaturen abgekühlt und wieder erwärmt werden.

Herzchirurgische Eingriffe zur Behandlung kongenitaler Herzfehler wie zum Beispiel das hypoplastische Linksherzsyndrom beim Säugling oder

auch die Rekonstruktion von Aortenaneurysmen beim Erwachsenen erfordern, auf Grund der Komplexität der Eingriffe, einen Herz-Kreislauf-Stillstand in tiefer Hypothermie, um somit ein hohes Maß an Reduktion des Sauerstoffbedarfs des Körpergewebes, insbesondere des Gehirns zu bewirken.

Da die neurologischen Ausfälle neben den üblichen operativen Komplikationen bei Patienten, an denen derartige Herz- und Gefäßchirurgische Eingriffe durchgeführt werden, besonders hoch anzusetzen sind [8, 30], stellt sich die Frage nach der Möglichkeit einer zusätzlichen Protektion des Gehirns.

In der vorliegenden Arbeit wird im Tierversuchsmodell untersucht, ob es zusätzlich zur Hypothermie eine weitere Möglichkeit gibt, mit einem Pharmakon die durch Ischämie verursachte neurologische Komplikationsrate zu verringern [5, 19, 47].

Unter Kenntnis der vielfach dargestellten pathophysiologischen Vorgänge nach einer cerebralen Ischämie [1, 7, 33, 35, 44, 49, 55, 57] wurde für die vorliegende Versuchsreihe das Medikament Nimotop[®] mit dem Wirkstoff Nimodipin ausgewählt.

Nimodipin hat lipophile Eigenschaften und zeichnet sich durch eine hohe Blut-Hirn-Schranken-Gängigkeit aus. Nimodipin bindet bevorzugt an Rezeptoren im zentralen Nervensystem [19, 20, 29].

Verschiedene Autoren beschreiben Wirkungen von Nimotop[→] bei der Behandlung der cerebralen Ischämie im Tierversuch.

Germano et al. (1987) beschreiben die Wirkung von Nimodipin auf die Hirnischämie bei Ratten [20].

Bei diesem Versuchsaufbau wurde die mittlere Hirnarterie der Ratten für 1, 4 und 6 Stunden verschlossen.

Die Ergebnisse zeigten, daß Nimodipin den neurologischen Befund verbesserte und ferner die Infarktgröße reduzierte, wenn die Substanz bis zu 6 Stunden nach dem ischämischen Insult verabreicht wurde.

Kriegelstein et al. (1989) [33] konnten bei einer Versuchsreihe mit 20 Ratten eine signifikante Reduktion der cerebralen Schädigung durch die Behandlung mit Nimodipin gegenüber einer Kontrollgruppe nachweisen. In dieser Studie wurde die cerebrale Ischämie durch die Unterbindung der Arteria carotis beidseits für die Dauer von zehn Minuten erzielt. Die Gabe von Nimodipin erfolgte eine Stunde vor der Ischämie in der Dosierung von 0,3 mg/ kg per os.

Sieben Tage postoperativ wurden die Gehirne jeweils zur histopathologischen Auswertung entnommen. In den einzelnen Hirnarealen wurden unterschiedliche Ausmaße der Neuronendefekte festgestellt, welche bei den mit Nimodipin behandelten Tieren signifikant geringer ausfielen.

Als Ursache für die cerebralen Schäden zeigte sich, daß eine postischämisch gestörte Calciumhomöostase mitverantwortlich für die pathologischen Mechanismen ist, welche zum Untergang eines Neurons führen können [33].

Durch die Ischämie kommt es zu einem unphysiologischen Calciumanstieg im Neuron, da mit der Ischämie der Energielieferant Sauerstoff entfällt, der für die sensiblen Transportmechanismen benötigt wird, welche die intra - und extrazellulären Calciumkonzentrationen regulieren [22, 33].

Kriegelstein et al. [33] folgerten aus ihren Untersuchungen, daß die Calciumantagonisten ihre neuroprotektive Wirkung durch direkten Angriff am Neuron erreichen und nicht durch einen Einfluss dieser Stoffe auf die postischämische cerebrale Durchblutung [29, 31].

Die Effekte einer Vorbehandlung mit Nimodipin wurden von Mohamed et al. (1985) an Ratten untersucht, bei denen die mittlere Hirnarterie (MCA) für 30 Minuten verschlossen wurde [43].

Während die unbehandelten Kontrolltiere 30 Minuten nach der MCA - Okklusion beträchtliche lokale Reduktionen der Hirndurchblutung aufwiesen, war die ipsilaterale Minderung der lokalen Hirndurchblutung in den Cortexregionen bei den mit Nimodipin vorbehandelten Tieren 30 Minuten vor und 30 Minuten nach MCA-Verschluss signifikant geringer als bei den Kontrolltieren.

Die 3 Stunden nach der Okklusion vorgenommene neuropathologische Quantifizierung der ischämischen Schädigung zeigte, daß die Vorbehandlung mit Nimodipin das Volumen und Ausmaß der Zellschädigung reduzierte.

Mit dem hier vorliegenden Experiment soll anhand von herzchirurgischen Eingriffen in tiefer Hypothermie mit der Herz-Lungen-Maschine im Tierversuch die Wirksamkeit eines Medikamentes, am Beispiel des Nimotop®, bezüglich seiner cerebroprotektiven Eigenschaften untersucht werden.

Dies geschieht in drei Versuchsgruppen unterschiedlicher Dosierung wie bereits im Kapitel 3.6. beschrieben im Doppelblindversuch, über einen Zeitraum von 90 Minuten Kreislaufstillstand in tiefer Hypothermie, unterteilt in 5 Phasen.

Der hier vorgestellte Versuchsaufbau hat den Vorteil, daß sich auf Grund der Aufteilung in die speziellen Phasen auch Aussagen bezüglich des Zeitpunktes der Medikamentengabe und ihrer Wirkung machen lassen.

Um eine Aussage zur cerebroprotektiven Wirksamkeit von Nimotop® im vorgestellten Versuchsaufbau machen zu können, wurden einige Laborparameter im Blut festgelegt, welche allen Versuchstieren an den im Versuchsplan festgelegten Zeitpunkten entnommen wurden.

Hierbei handelte es sich um die Sauerstoffsättigung, Sauerstoffgehalt, Kreatinkinase (CK) und das Kreatinkinase - Isoenzym CK (bb) (body / brain - type).

Das Blut zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes und der Sauerstoffsättigung wurde an vier unterschiedlichen Stellen entnommen. Zur Beurteilung des Gehirnstoffwechsels wäre auch die alleinige Messung des venösen Blutes aus der Vena jugularis interna und des arteriellen Blutes aus der Arteria femoralis sinistra möglich gewesen.

Die zusätzliche Entnahme aus der Vena pulmonalis und am venösen Schenkel der HLM wurde gewählt, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu erhöhen und eine bessere Aussagekraft über die möglichen Signifikanzen zu erzielen.

Von besonderer Bedeutung waren die Werte des Sauerstoffgehaltes gemessen an der Vena jugularis interna. Diese geben Aufschluss über die Sauerstoffabgabe des Blutes an das Hirngewebe, beziehungsweise den Sauerstoffverbrauch des Gehirns.

Diese Vorgehensweise bestätigte sich bei den Messergebnissen des Sauerstoffgehaltes und der Sättigung.

Es konnte somit zum Beispiel während der Phase 1 und der Phase 2 sowie der Phase 3 ein signifikanter Phaseneffekt für den Sauerstoffgehalt gezeigt werden.

Dies bedeutet, daß sich der Anstieg beziehungsweise das Absinken der Messwerte insbesondere die Ergebnisse der Werte der Blutentnahmen aus der V. jugularis interna von ihren Kurvenverläufen her vergleichbar verhalten und somit auch die Aussagekraft über die einzelnen Nimotop[®] - Gruppen erhöhen.

Für die Aussage über das Ausmaß der Hirnschädigung wurde die Kreatinkinase (Ck) beziehungsweise das gehirnzellspezifische Isoenzym CK (bb) bestimmt.

Als Entnahmestelle für die Blutproben wurde die Vena jugularis interna gewählt um möglichst genaue Werte insbesondere für das Gehirnspezifische CK (bb) zu erzielen, da es sich hierbei um den venösen Rückstrom des Blutes nur vom Kopf des Versuchstieres handelt [50].

Wie unter Kapitel 4.2.1. in Abb. 3 zu sehen ist, konnte während der Abkühlphase gezeigt werden, daß die Sauerstoffausschöpfung des Gewebes sich nicht durch unterschiedliche Konzentrationen des untersuchten Medikamentes beeinflussen ließ.

Der aufgezeigte Anstieg des Sauerstoffgehaltes lässt sich auf den reduzierten Sauerstoffverbrauch des Gewebes bedingt durch den Temperaturabfall zurückführen.

Dieses Ergebnis korrelierte auch mit den Ergebnissen der Sauerstoffsättigung. Diese stieg an allen vier Abnahmestellen an. Auffallend war hier, daß die arterielle Sättigung signifikante Unterschiede bezüglich der Nimotop[®] - Dosierungen aufwies.

So konnte gezeigt werden, daß die Placebo - Wirkung in der Abkühlphase eine niedrigere Sauerstoffsättigung zur Folge hatte gegenüber der Nimo1/1 - Dosierung.

Das lässt darauf schließen, daß die Gabe des Medikamentes Nimotop® in dieser Phase des Versuches die Sauerstoffabgabe an das Gewebe eher ungünstig beeinflusst.

Wie unter Kapitel 4.2.1. in Abb. 5 und Abb. 6 gezeigt wird, kommt es zu einem Abfallen des Sauerstoffgehaltes und der Sauerstoff - Sättigung während der Low - flow / Full - flow - Phase.

Dieser signifikante Phaseneffekt deutet darauf hin, daß es hier zu einer vermehrten Sauerstoffabgabe an das Gewebe in der Placebogruppe kommt, beziehungsweise in den NIM 1/1 und NIM 1/2 - Gruppen ein geringerer Sauerstoffstoffwechsel vorliegt.

Während der Aufwärmphase kommt es zu einem weiteren Absinken der Sauerstoffsättigung und des Sauerstoff - Gehaltes.

Dies ist auf einen Anstieg der Aktivität des physiologischen Stoffwechsels zurückzuführen.

Betrachtet man hierbei die drei Gruppen, so ist festzustellen, daß jeweils in der Placebo - Gruppe niedrigere Werte gemessen werden als in den NIM - Gruppen, wobei wie auch während der Phase 1 und Phase 2 die NIM 1/2 - Gruppe mit höheren Messwerten für Sauerstoffgehalt und Sättigung auf einen geringeren Sauerstoffumsatz hinweist als die NIM 1/1 - Gruppe.

Um eine Aussage über das Ausmaß der cerebralen Schädigung zu machen, ist es interessant, zum Vergleich den Anstieg der Kreatinkinase und seinem Isoenzym CK (bb) zu untersuchen.

Bei diesen beiden Laborparametern liegt ein gutes Korrelat zwischen der Höhe der gemessenen CK und CK (bb) - Werte und der Schädigung der Gehirnzellen vor [39, 44].

Hier bestätigen sich die während der Aufwärmphase mit den Messwerten für die Sauerstoffsättigung und Gehalt festgestellten Beobachtungen.

Nimmt man die Höhe der Enzymkonzentration für Kreatinkinase (CK) stellt man fest, daß es in allen drei Gruppen zu einem Anstieg kommt, allerdings zeigen sich die niedrigsten Werte für das Placebo und die höchsten Werte für NIM 1/1.

Der spezifische Parameter für das Gehirn [16, 51, 62] ist das Isoenzym CK (bb). Zur Beurteilung und Untersuchung einer Substanz auf neuroprotektive Wirksamkeit, ist die Betrachtung der Messwerte für das Isoenzym CK (bb) von Bedeutung.

Untersucht man hier die drei Gruppen, stellt man fest, anders als bei der Betrachtung der Gesamtkreatinkinase, daß in der Placebo - Gruppe während der gesamten Phase höhere Werte gegenüber den beiden NIM - Gruppen gemessen wurden.

Geht man von den Resultaten anderer Untersucher aus, die eine Schädigung von Gehirngewebe mit dem Anstieg von CK (bb) korrelieren [16, 39, 50], kann man aus den in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnissen schließen, daß hier bei Gabe von Nimodipin, unabhängig von der Konzentration betrachtet, eine geringere cerebrale Schädigung, gemessen am CK (bb) - Anstieg, stattfindet.

Betrachtet man die Enzymkonzentration von Ck (bb) am Ende der Aufwärmphase im Vergleich mit den beiden NIM - Gruppen untereinander, zeigt sich ein niedrigerer Wert für NIM 1/1 gegenüber NIM 1/2.

Dieses lässt den Schluss zu, daß in dieser Stufe der Phase 3 eine größere cerebrale Protection, gemessen am geringeren CK (bb) - Anstieg, mit der vollen Nimodpin - Konzentration (NIM 1/1) zu erzielen ist als mit der halben (NIM1/2).

Im Verlauf der Phase 4 deuten die niedrigen Werte für Sauerstoffgehalt und Sauerstoffsättigung in der Placebo-Gruppe auf einen vermehrten Sauerstoffverbrauch hin.

Dem gegenüber zeigen sich für das gehirnspezifische Isoenzym CK (bb) in der Placebo - Gruppe deutlich höhere Werte gegenüber den Nimodipin - Gruppen.

Dies deutet darauf hin, daß in der Phase 4 unter Gabe von Nimodipin eine geringere Schädigung von Hirngewebe stattgefunden hat, welche sich auf Grund der höheren Werte für Sauerstoffsättigung und Sauerstoffgehalt auf eine direkte cerebroprotektive Wirkung von Nimotop® zurückführen lässt, und nicht auf eine verbesserte Sauerstoffausschöpfung.

Dieses Ergebnis bestätigt sich auch in den von Kriegelstein et al. (1989) festgestellten Beobachtungen einer direkten Cerebroprotection über die Blockade der Calciumkanäle an der Zellmembran der Nervenzelle [33]. Dies würde auch die Resultate verschiedener anderer Autoren bestätigen, die zu ähnlichen Ergebnissen gekommen sind [27, 37, 57, 61].

In Phase 5 ist die Enzymkonzentration von CK als auch von CK (bb) in der Placebo - Gruppe niedriger und es zeigt sich ein schnellerer Abfall der gemessenen Enzymkonzentrationen.

Man muß in dieser Phase des Versuchs davon ausgehen, daß es in den Nimodipin - Gruppen gemessen am CK (bb) - Anstieg zu einem größeren cerebralen Schaden kommt als in der Placebo - Gruppe.

Diese Beobachtung deutet auf eine Abhängigkeit zwischen der Applikation des Medikamentes Nimotop® und dem Zeitpunkt der Gabe hin.

Während es in Phase 3 und Phase 4 zu einem höheren Ansteigen der Enzymwerte für CK (bb) in der Placebo - Gruppe kommt, zeigt sich in Phase 5 für diese Gruppe ein deutlich günstigerer Verlauf.

Somit ist in der vorliegenden Arbeit in den Phasen 3 und 4 gemessen an der Enzymkonzentration von CK (bb) die cerebroprotektive Wirksamkeit von Nimodipin bestätigt worden.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen deutlich, daß der Zeitpunkt der Applikation des Medikamentes Nimotop[®] für den Nachweis seiner cerebroprotektiven Wirksamkeit von entscheidender Bedeutung ist.

Mit dem hier vorgestellten Versuchsaufbau ist der Untersucher in der Lage, verschiedene Fragestellungen gleichzeitig zu verfolgen.

Es ist ihm die Möglichkeit gegeben, die cerebroprotective Wirksamkeit eines Pharmakon in verschiedenen Dosierungen zu untersuchen als auch die Veränderung der Laborparameter in verschiedenen Versuchsphasen darzustellen.

Hier wäre ein guter Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen gegeben.

Bei weiteren Experimenten könnte untersucht werden, ob die Gabe von Nimodipin in der zweiten Hälfte des Versuchs, also nach Beendigung der extracorporalen Zirkulation, zu einer geringeren Schädigung von Gehirngewebe führt, oder ob eine einmalige Gabe zu einem bestimmten Zeitpunkt (Phase) eine Verbesserung des Ergebnisses beeinflusst.

Ein weiterer Ansatzpunkt wäre die Möglichkeit, unterschiedliche Dosierungen von Nimodipin zu untersuchen.

Mit dem in der vorliegenden Arbeit gezeigten Tierversuchsmodell wird eine Methode dargestellt, die dem Untersucher eine Basis gibt, weitere Messungen und Untersuchungen durchzuführen die der Beantwortung weiterer wissenschaftlicher Fragestellungen dient.

6. Zusammenfassung

Der Einsatz der extracorporalen Zirkulation und die Verlängerung des Herz-Kreislauf-Stillstandes bei herzchirurgischen Eingriffen mit Hilfe der Hypothermie geben dem Chirurgen die Möglichkeit, eine Vielzahl komplizierter Eingriffe am Herzen durchzuführen.

Wie bereits in der Einleitung angeführt, beschreiben verschiedene Autoren eine auf 60 Minuten limitierte Herz-Kreislauf-Stillstandzeit.

Wobei eine Verlängerung dieser Ischämiezeit mit dem Auftreten cerebraler Komplikationen einher geht. Zweck der hier vorliegenden Tierexperimentellen Untersuchung ist es, eine Methode darzustellen, die Ischämie-bedingten cerebralen Schäden mit der Gabe eines Pharmakon zu reduzieren, wenn nicht sogar zu verhindern.

In der vorliegenden Arbeit wird ein Versuchsaufbau vorgestellt, der die Möglichkeit bietet, im Tierversuch unterschiedliche Pharmaka auf ihre cerebroprotektive Wirksamkeit hin zu untersuchen.

Als Substanz wurde das Nimodipin gewählt, da hiermit ein Medikament vorliegt, welches der Behandlung der cerebralen Ischämie dient und auch dahingehend mehrfach von anderen Autoren untersucht wurde.

An dreißig Versuchstagen wurde jeweils ein Schaf nach Anschluss an eine Herz-Lungen-Maschine über 90 Minuten bei 18°C im Low - flow Perfusionsverfahren einer tiefen Hypothermie ausgesetzt.

Vom Operationsbeginn bis zum Ende der Operation wurde dem Tier über einen Dauerperfusor intravenös das Medikament Nimotop® mit dem Wirkstoff Nimodipin verabreicht.

In der Doppelblind - Studie gab es drei Dosierungen

- Placebo
- NIM 1/2 (Nimotop® S 5 mg in 50 ml alkoholischer Trägerlösung)
- NIM 1/1 (Nimotop® S 10 mg in 50 ml alkoholischer Trägerlösung)

Nach Abschluss aller Versuche erfolgte eine entsprechende Gruppenzuordnung.

In der vorliegenden Studie wurden die Daten für den Sauerstoffgehalt und die Sauerstoffsättigung, sowie die Bestimmung von Kreatinkinase (CK) und dem Isoenzym Kreatinkinase CK (bb) (body / brain - type) der statistischen Auswertung zugeführt.

Der OP - Ablauf wurde in Phasen und Stufen gegliedert, wobei jede Stufe einen Meßpunkt darstellt, so daß die einzelnen Messergebnisse einer entsprechenden statistischen Auswertung und Gegenüberstellung zugeführt werden konnten.

Neben signifikanten Unterschieden in den Gruppen und den Phasen zeigten zunächst die mit Nimotop[®] behandelten Tiere von Phase 3 und Phase 4, verglichen mit der Placebo - Gruppe, gemessen am Anstieg des CK (bb) ein geringeres Ausmaß an cerebraler Schädigung sowie höhere Werte für den Sauerstoffgehalt und die Sauerstoffsättigung.

Erstaunlicherweise wiesen die postoperativen Daten in Phase 5 auf eine deutlich geringere cerebrale Schädigung in der Placebo - Gruppe hin.

Diese Aussage wird gestützt mit den Ergebnissen der CK (bb)-Messungen, so das man feststellen musste, daß die Gabe von Nimodipin zu Beginn der Abkühlphase eher zu einem Anstieg des Sauerstoffbedarfs und somit zu einer vermehrten cerebralen Ischämie führte.

Bei dem vorliegenden Ergebnis zeigt sich, daß zumindest während einzelner Phasen des Versuches tendenzielle Verbesserungen mit Hilfe von Nimotop[®] zu erzielen waren.

Daher bleibt festzustellen, daß bei ähnlichen Versuchen und Untersuchungsabläufen die cerebroprotektive Medikation erst am Ende der Low - Flow - Phase oder nach Beendigung der Operation instilliert werden sollte und in der hier vorgestellten Arbeit eine cerebroprotektive Wirksamkeit von Nimodipin unter den angegebenen Versuchsbedingungen nachgewiesen werden konnte.

7. Anhang: Tabellen und Diagramme

O2-GEHA 1

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	7,8		7,78	7,24	6,725	6,225	7,225	6,925	6,65	31,1	8,333	8,8	8,967
Nim 1/2	7,26		7,7	7,38	7,1	6,06	6,25	6,75	6,525	6,75	7,675	7,95	8,425
Nim 1/1	7,167		7,767	7,567	6,95	6,1	6,975	7,125	7,25	9,15	10,65	10,1	13,5

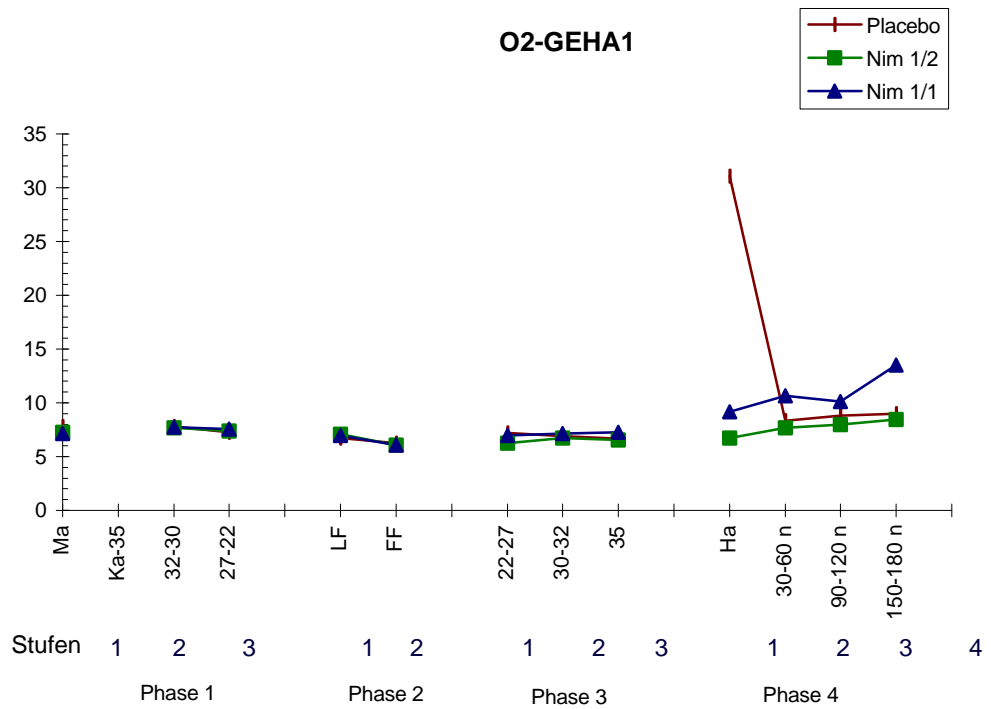


Diagramm: 1

O2-GEHA2

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	6,9		7,52	7,24	6,15	5,75	6,4	5,15	6	5,567	6,8	6,467	7,467
Nim 1/2	7,125		7,375	7,2	6,65	5,675	6,225	6,5	5,725	6,325	7,7	7,325	7,8
Nim 1/1	6		6,85	6,25	6,325	5,55	6,85	6,675	6,3	8,7	10	9,5	10,3

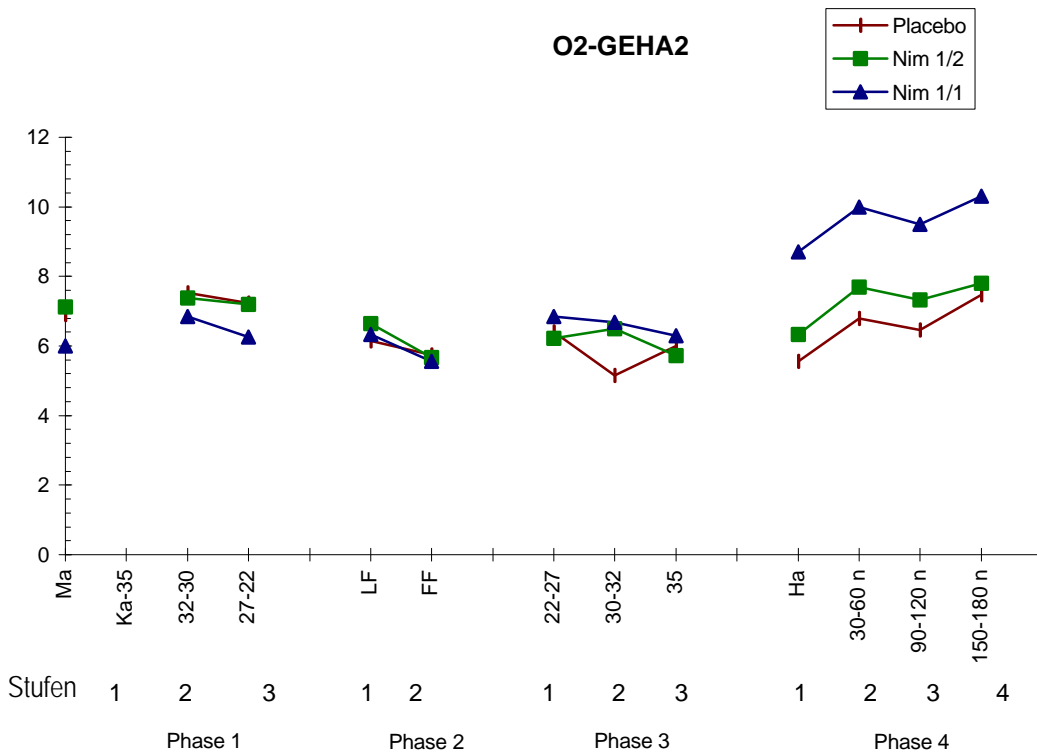


Diagramm: 2

O2-GEHA 3

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	6,76		7,5	7,14	6,5	5,025	6,925	6,5	4,525	4,65	5,85	6,05	6,85
Nim 1/2	6,78		7,32	7,16	7	5,86	6,125	6	6	6,15	7,325	5,825	7,1
Nim 1/1	6,533		7,7	8,067	6,825	5,575	6,6	6,15	4,95	8,15	9,45	8,8	9,05

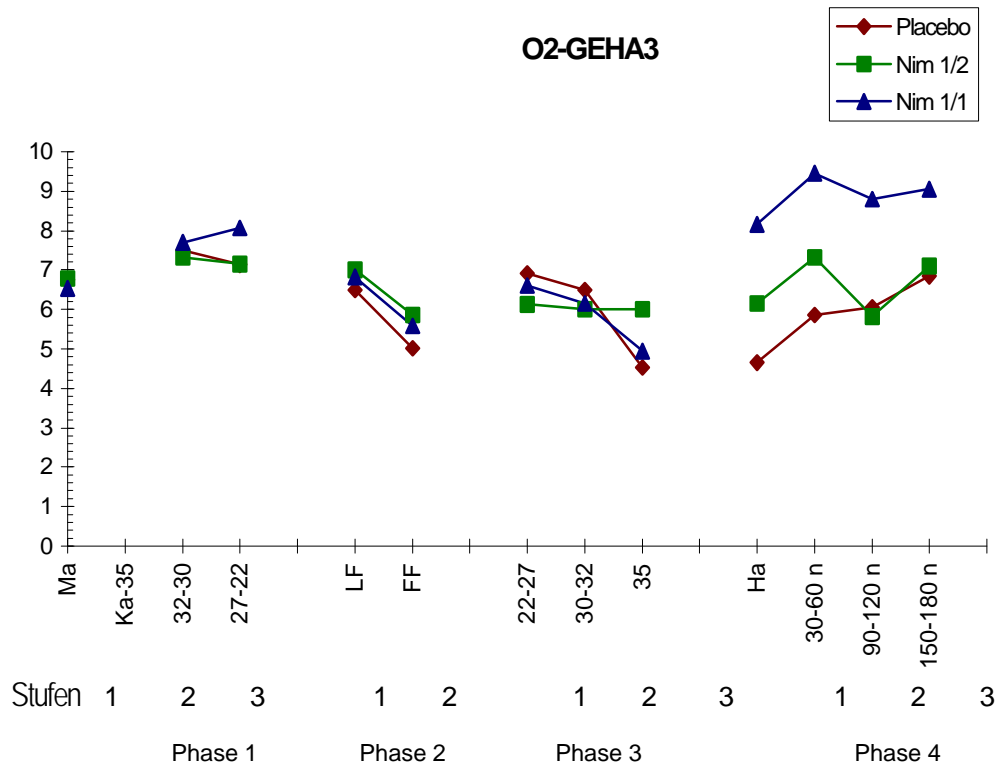


Diagramm: 3

O2-GEHA 4

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	6,26		7,02	6,46	5,625	5,525	6,725	6,15	18,175	4,7	5,8	5,7	6,2
Nim 1/2	7,225		6,8	6,85	6,32	5,26	5,425	5,975	5,425	5,875	7,575	7,45	7,55
Nim 1/1	6,233		7,567	7,1	6,125	4,95	6,825	6,4	18,35	8,45	10,2	9,15	9,6

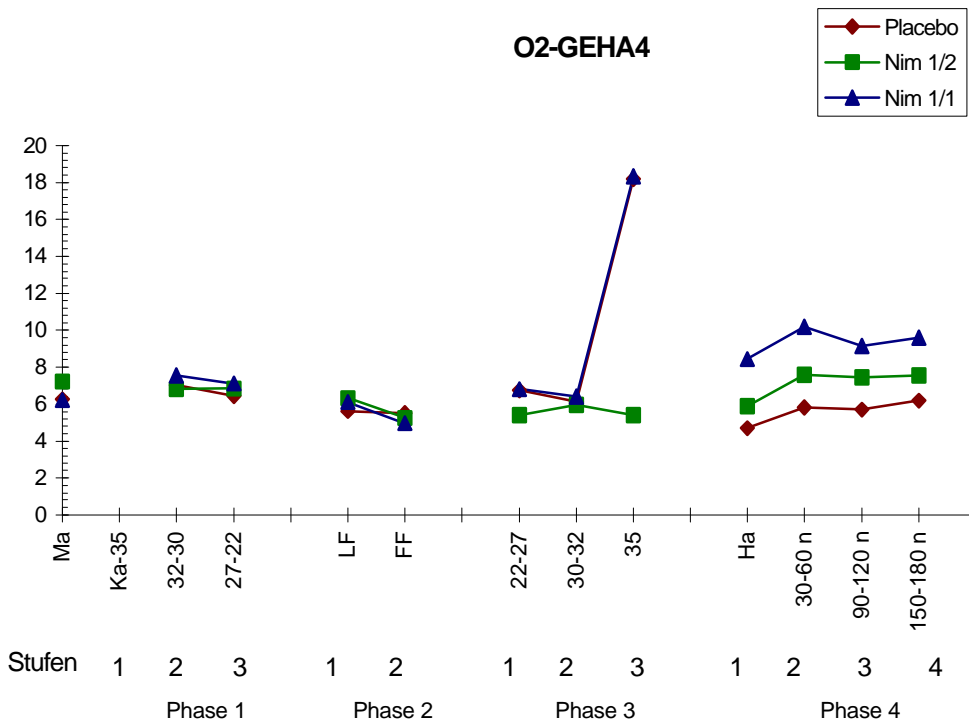


Diagramm: 4

O2-SAET 1

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	38,34		79,54	79,7	49,7	94,9	74,725	99,6	71,875	65,833	99,733	99,067	98,2
Nim 1/2	79,5		78,96	98,1	98,62	98,28	98,55	98,925	94,725	94,525	99,15	98,875	95,3
Nim 1/1	99,867		99,9	99,733	99,825	98,35	99,875	99,775	99,875	97,85	49,8	93,3	96,3

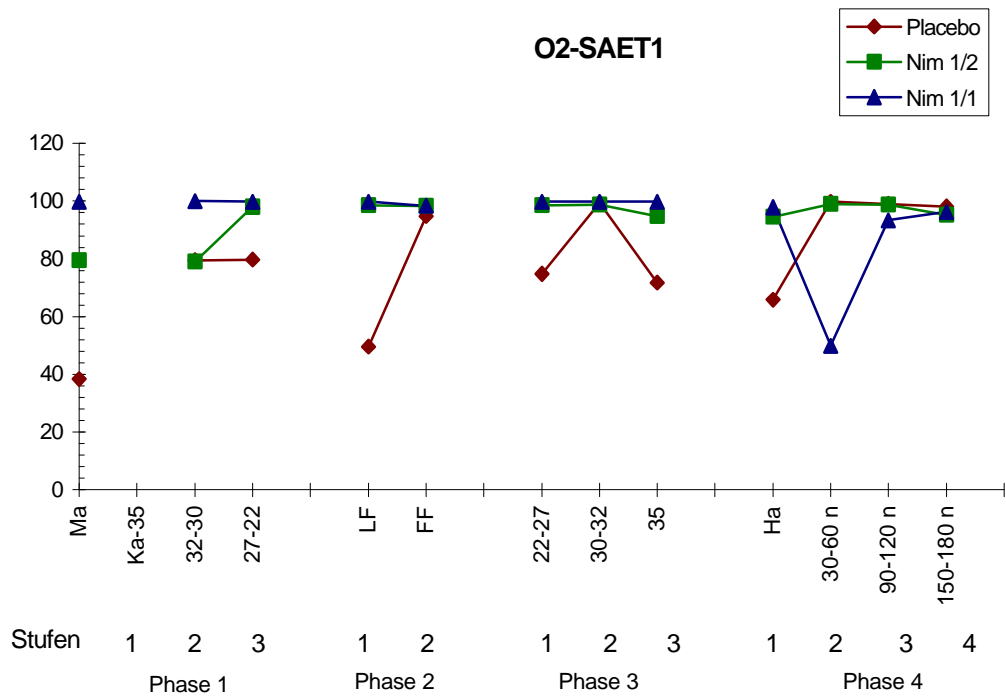


Diagramm: 5

O2-SAET 2

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	87,94		95,86	98,54	93,825	85,9	86,325	71,1	84,075	74,833	78,267	75,2	78,533
Nim 1/2	91,775		95,35	96,275	95,1	90,75	94,6	85,35	80,125	82,525	92,925	91,275	84,925
Nim 1/1	91,05		98,9	98,75	91,125	84,85	95,625	92,1	87,025	91,25	93,25	90,3	84,95

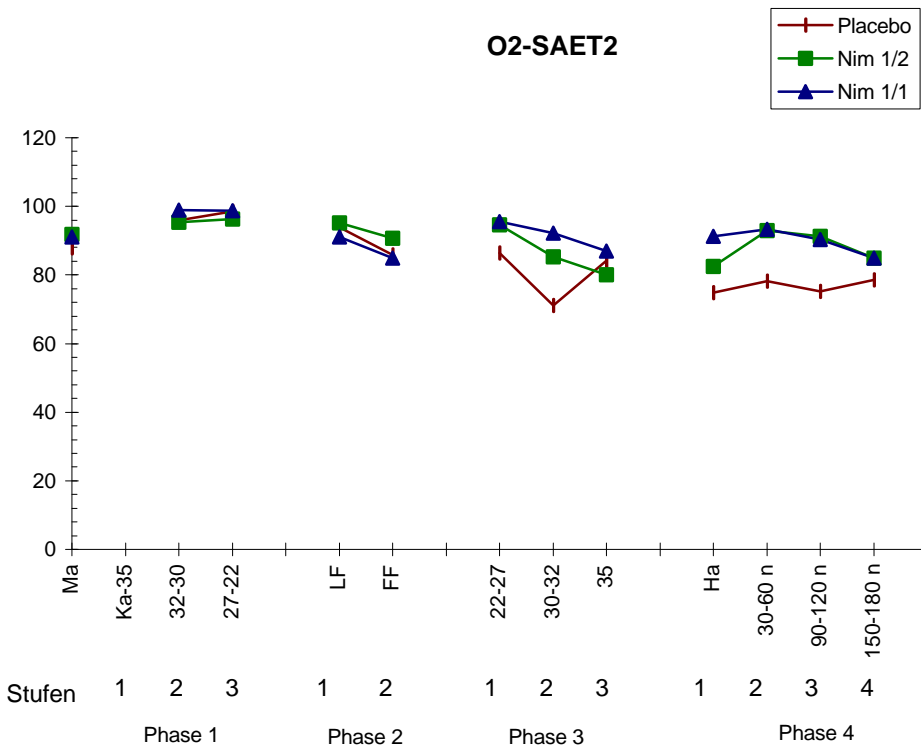


Diagramm: 6

O2-SAET 3

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	93,24		76,9	97,48	99,375	79,425	94,775	88,175	64,725	62,8	67,2	69,35	71,85
Nim 1/2	89,74		93,68	95,02	98,48	92,38	94,775	88,525	84,7	80,775	89,875	86,7	77,65
Nim 1/1	59,967		98,233	98,9	74,75	85,95	93,95	86,275	69,025	88,15	89,9	83,75	76,9

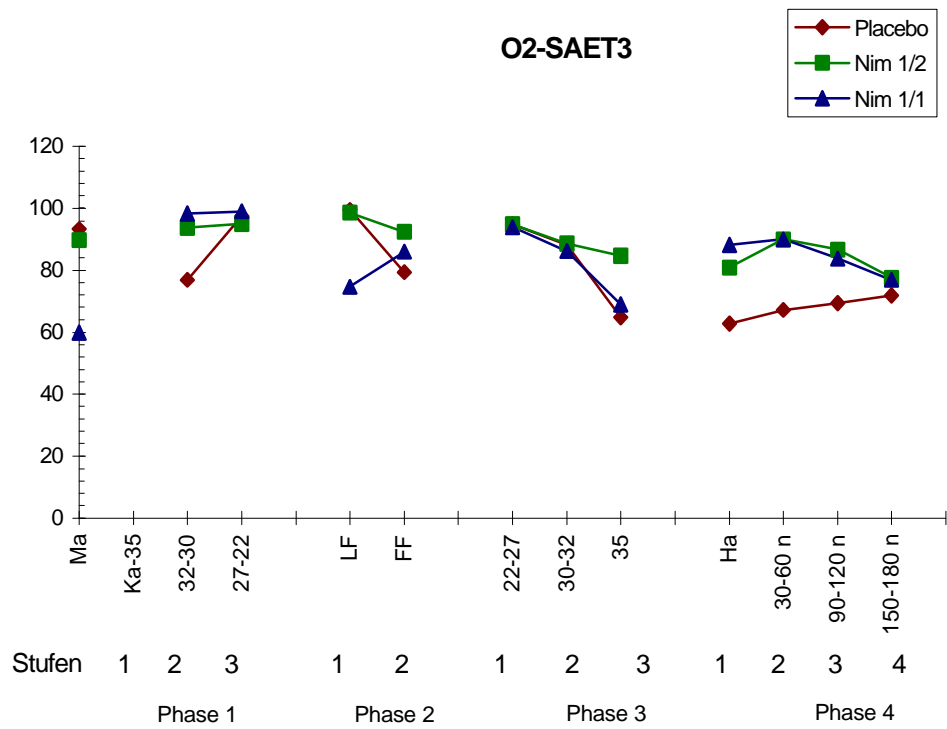


Diagramm: 7

O2-SAET 4

	Ma	Ka-35	32-30	27-22	LF	FF	22-27	30-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n
Placebo	81,06		91,36	89,5	82,2	75,375	88,25	74,275	73,45	74,3	83,2	73,2	76,9
Nim 1/2	91,75		91,15	94,325	94,54	84,26	90,975	90	79,7	82,525	92,9	91,3	83,975
Nim 1/1	84,767		94,467	94,4	93,4	78,875	97,075	91,625	81,875	91,85	94,4	86,4	80,95

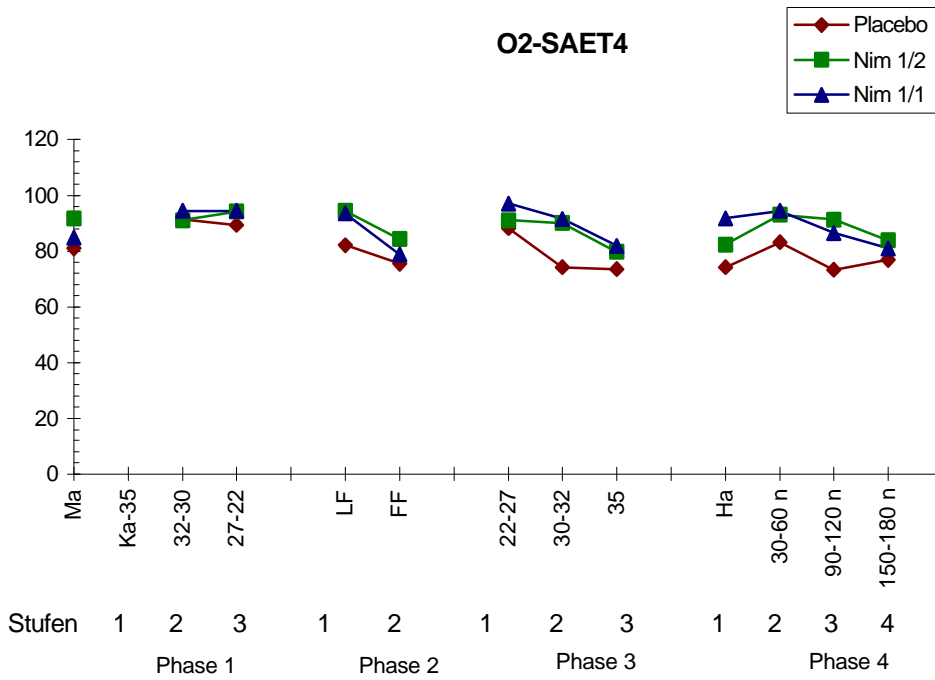


Diagramm: 8

CK

	22-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n	4h	5h	6h	7h
Placebo	28,75	66,5	142,5	246,75	567	662,75	1026	770	671,233	0
Nim 1/2	41	72,5	125	350	622,5	1024	1310	1580	1905	0
Nim 1/1	49,5	122,75	327,75	1952,75	2412,775	566,775	771,667	1038	764,667	1046,333

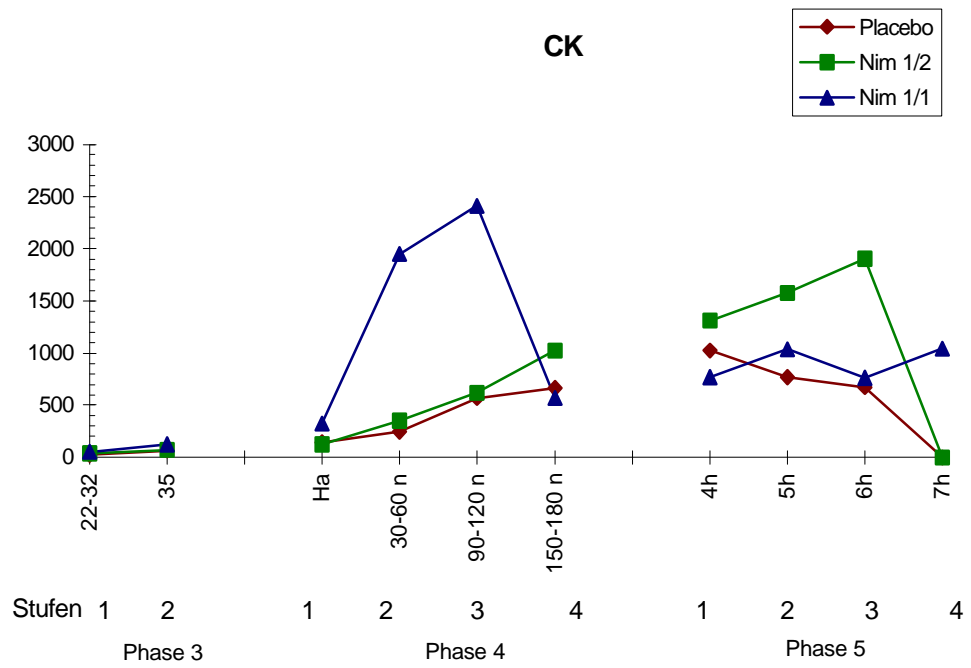


Diagramm: 9

CK (bb)

	22-32	35	Ha	30-60 n	90-120 n	150-180 n	4h	5h	6h	7h
Placebo	2,5	3,5	12,5	19	21	25,75	24,667	10,667	12	0
Nim 1/2	0,5	3	5	6	15	13	25	34,5	55,5	14,5
Nim 1/1	1,05	2,825	8,5	12,675	12	14,975	23	17,667	11,333	21

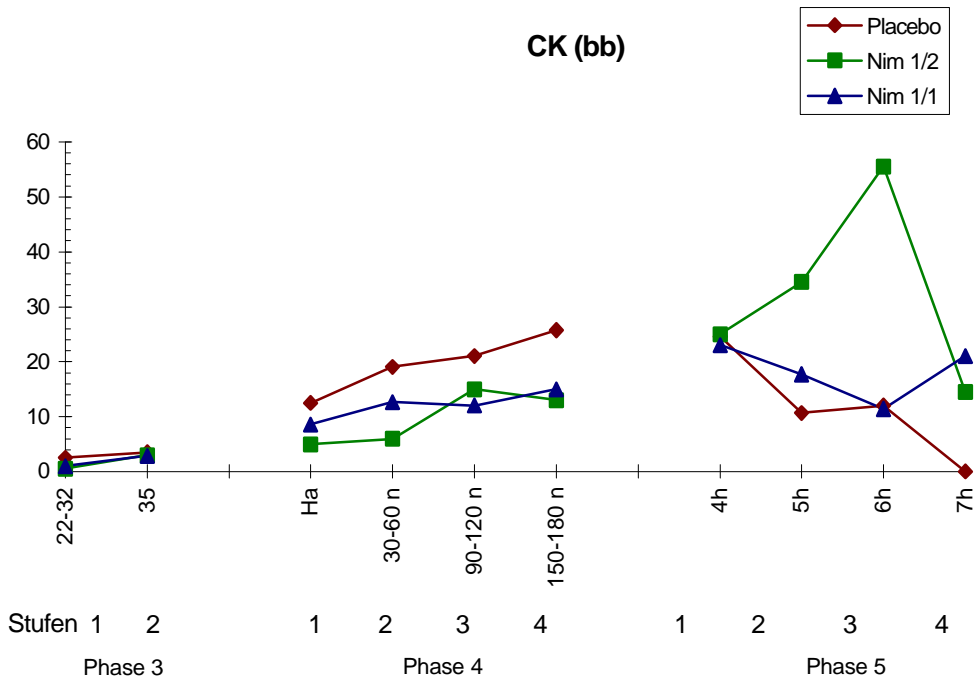


Diagramm: 10

8. Literaturverzeichnis

1. Aoyagi, M., Allen, H., Flasterstein, D., Barnette, B
Cerebral Effects of Profound Hypothermia and Circulatory Arrest
Supplement I to Circulation Vol. 51 S. 52 - 59 (1975)

2. Azariades, M., Firmin, R., Lincoln, C., Lennox, S. /
The effect of propranolol on the cerebral electrical response to deep
hypothermia and total circulatory arrest in lambs
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 99: 1030-1037 (1990)

3. Bachet, G., Goudot, B., Cabrol, C.
Cold Cerebroplegia
J. of Thorac. Cardiovasc. Surg 102: 85-94 (1991)

4. Bayer AG
Fachinformation Nimotop[→] S Juni 1996
Bayer-Pharma Deutschland / 51368 Leverkusen (1996)

5. Barankay, A., Späth, P., Remien, J., Richter, J.A.
Effektivität einer prophylaktischen Nifedipin-Therapie während
aortokoronarer Venen-Bypass Operationen.
Herz 4: 266 - 275 (1990)

6. Barratt-Boyes, B.G., Meutze, M., Clarkson, P.M., Shardey, O.C.
Repair of Ventricular Septal Defect in the First two Years of Life Using
Profound Hypothermic Circulatory Arrest Techniques
Ann Surg 184 (3): 376 - 390 (1976)

7. Björk, V., Hultquist, G.
Brain damage in Children after deep hypothermia for open-heart surgery
Thorax15: 284 (1960)
8. Brierley, J.B.
Neuropathological findings in patients dying after open heart surgery.
Thorax 18:291-304 (1963)
9. Brunberg J., Doty, D., Reilly, E.
Choreoathetosis in infants following cardiac surgery with deep hypothermia and circulatory arrest.
The Journal of PEDIATRICS Vol 84, No 1: 232-235 (1974)
10. Buchnan,A., Pulsinelli, W.A.
Brain Metabolism
J. Neuroscience 10: 311 (1990)
11. Budecke,E.
Grundriss der Biochemie, VI. Diagnostik von Muskelerkrankungen
De Gruyter Verlag, 7. Auflage 1985: 519 (1985)
12. Clarkson, P.M., Mc Arthur, B., Barratt-Boyes, B., Whitlock, R.
Development Progress after Cardiac Surgery in Infancy using Hypothermia and Circulatory Arrest
Circulation 62, No 4: 855 - 861 (1980)
13. Coselli, J.S., Crawford, E.S., Beall, A., Mizrrahi, E., Hess, K., Patel, V.
Determination of brain temperatures for safe circulatory arrest during cardiovascular Operation
Ann. Thorac. Surg. 45: 638 (1988)

14. Crepps, J., Allmendinger, P., Ellison, L, Humphrey, C.
Hypothermic Circulatory Arrest in the Treatment of Thoracic Aortic Lesions
Ann. Thorac. Surg. 43: 644 - 647, June (1987)

15. Crittenden, M., Roberts, C., Rosa, L, Vatsia, S.
Brain Protection During Circulatory Arrest
Ann. Thorac. Surg. 51: 942 - 947 (1991)

16. Eckroth, R., Rossi, R.F., Tsang, V. et al.
Serial measurement of arterial and internal jugular venous Creatine Kinase Isoenzyme BB (CKbb) after deep hypothermic total circulatory arrest in pediatric cardiac surgery
Thorac. cardiovasc. Surgeon 34: 223 - 225 (1986)

17. Fleckenstein, A.
Intracellular overloading with calcium as a decisive causative factor in the pathogenesis of noncoronary myocardial necroses
Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 37: 345 - 353. (1971)

18. Fleckenstein, A.
in Roskamm H, Reindell H (eds.) Herzkrankheiten
Springer Berlin: 777-799 (1982)

19. Forsman, M., Tubylewicz, B., Semb, G., Steen, P.A.
Effects of Nimodipine on cerebral blood flow and neuropsychological outcome after cardiac surgery
British Journal of Anaesthesia 65: 514 - 520 (1990)

20. Germano, I., Bartowsky, H., Cassel, M., Pitts, L.
The therapeutic value of nimodipine in experimental focal cerebral ischemia. The neurological outcome and histopathological findings.
Neurosurg. 67: 81 - 87 (1987)

21. Gibbon J. H. jr.
Application of a mech. heart and lung apparatus to cardiac surgery
Minn.Med.3: 171 (1954)

22. Ginsberg, M., Lin, B., Morikawa, E.
Calcium Antagonists in the Treatment of Experimental Cerebral Ischemia
Arzneim. - Forsch./ Drug Res. 41 (1), Nr. 3a: 334 - 337 (1991)

23. Griep, E.B., Griep, R.B.
Cerebral Consequences of Hypothermic Circulatory Arrest in Adults
Journal of Cardiac Surgery Vol 7 No. 2: 134-155 (1992)

24. Gruber, W.
Inhibition of creatine kinase activity by Ca²⁺ and reversing effect of ethylenediaminetetraacetate
Clin. Chem. Jan; 24(1): 177-178 (1978)

25. Heiss, W.D.
Acute cerebral ischemia: pathogenesis and therapy.
Introduction to the theme
Arzneimittelforschung. Mar; 41(3A): 282-283 (1991)

26. Heiss WD, Rosner, R.
Functional recovery of cortical neurons as related to degree and duration of ischemia
Ann. Neurol. Sep; 14(3): 294 - 301 (1983)

27. Heffez, D., Passonneau, J.
Effect of nimodipine on cerebral metabolism during ischemia and recirculation on the mongolian gerbil
J. Cerebr. Blood Flow Metab. 5: 523 - 528 (1985)
28. Kececioglu, D., Hanefeld, F., Becker, E., Vogt, J.
Akute Chorea nach Herzoperation in Hypothermie und totalem Bypass.
Klin. Pädiatr. 202 (2): 115 - 116 (1990)
29. Kerckhoff v. d., W., Drewes, L.
Transfer of the Ca - Antagonists nifedipine and nimodipine across the blood brain barrier and their regional distribution in vivo
J. Cerebr. Blood Flow Metab. 5 (Supl.1): 459 - 460 (1985)
30. Kolkka, R., Hilberman, M.
Neurologic dysfunction following cardiac operation with low flow, low - pressure cardiopulmonary bypass
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 79: 432-437 (1980)
31. Kriegelstein J. et al.
Pharmakologische Grundlagen der Therapie der cerebralen Ischämie
Arzneim.-Forsch. Drug Res. 41(1), Nr.3a: 303-309 (1991)
32. Kriegelstein, J., Peruche B, Prehn JHM, Welsch M
Protection of neuronal calciumhomeostasis by drugs.
Wiss. Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin,
Medizin 41: 95-103(1992)
33. Kriegelstein, J., Karkoutly, C., Nuglisch, J.
Ischemic brain damage and the role of calcium, Nimodipine and central nervous system function, New vistas / Hrsg. Traber, J., Gispen, W.H., Schattauer Verlag, Stuttgart: 101 - 108 (1989)

34. Kuschinsky, W.
Coupling of function, metabolism, and blood flow in the brain
Neurosurg Rev. 14(3): 163 -168 (1991)
35. Kuschinsky, W.
Physiology of cerebral blood flow and metabolism
Arzneimittelforschung. Mar; 41(3A): 284 - 288 (1991)
36. Larsen, R.
Anästhesie 2.Auflage; Urban & Schwarzenberg Verlag
Herzchirurgie 22: 553 - 561 (1987)
37. Lazarewicz, J.W., Pluta, R. et al.
Diverse mechanisms of neuronal protection by nimodipine in
experimental rabbit brain ischemia
Stroke 21 (12 Suppl):108 - 110 (1990)
38. Lundar, T., Froyasaker, T., Nornes, H.
Cerebral damage following open heart surgery in deep hypothermia
and circulatory arrest
Scand. J. Thor. Cardiovasc. Surg. 17: 237-242 (1983)
39. Lundar, T. Stokke, O.
Total Creatine Kinase activity in cerebrospinal fluid as an indicator of
brain damage during open-heart surgery
Scand. J. Thor. Surg. 17: 157 - 161 (1983)
40. Mazzera, E., Corno, A., Picardo, D.
Bidirectional Cavopulmonary Shunts: Clinical Applications as Staged or
Definitive Palliation
Ann. Thorac. Surg. 47: 415 - 420 (1989)

41. Messmer, B.J., Schallberger, U., Gattiker, R., Senning, A.
Psychomotor and intellectual development after deep hypothermia and circulatory arrest in early infancy
Thorac Cardiovasc Surg 72: 495 - 502 (1976)

42. Meyer, F.B.
Calcium, neuronal hyperexcitability and ischemic injury
Brain Res. Rev. Jul; 14(3): 227 - 243 (1989)

43. Mohamed, A., Gotoh, O., Graham, D., Osborne, K., McCulloch, J.
Effect of pretreatment with the calcium antagonist nimodipine on local blood flow and histopathology after middle cerebral artery occlusion
Ann. of Neurol. 18: 705 -711 (1985)

44. Molina, J.E. et al.
Brain damage in profund hypothermia
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 87: 596 - 604 (1984)

45. Nayler, W.G., Horowitz, D.
Calcium antagonists: a new class of drugs
Pharmacol. Ther.; 20(2): 203 -262 (1983)

46. Nayler, W.G. et al. in Opie, L.H. (ed.)
Calcium antagonists and cardiovascular disease
Raven Press New York: 75 - 84 (1984)

47. Öhman, J., Servo, A., Heiskanen, A.
Long-term effects of nimodipine on cerebral infarcts and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and surgery
J. Neurosurg. 74: 8 -13 (1991)

48. Plechinger, H.
Handbuch der Kardiotechnik
Gustav Fischer Verlag Stuttgart: 131 (1988)
49. Raichle, M.E.
The pathophysiology of brain ischemia
Ann Neurol. Jan; 13(1): 2 -10 (1983)
50. Rossi, R., v. d. Linden, J., Ekroth, R., Seallan, M.
No flow or low flow? A Study of ischemic marker creatinin kinase BB
after deep hypothermic procedures.
Thorac. Cardiovasc. Surg.98: 193 -199 (1989)
51. Rossi, R.
Detection of Cerebral Injury after Total Circulatory Arrest and Profound
Hypothermia by Estimation of Specific Creatine Kinase Isoenzyme
Levels using Monoclonal Antibody Techniques
Am. J. Cardiol.; 58:1236 - 1241 (1986)
52. Rote Liste 1996
Fachinfo 27.2.1 (Nimotop®S; Firma Bayer)
53. Schmidt, E.
Standard method for the determination of creatine kinase activity
Clin.Chem.Clin.Biochem. 15: 249 (1977)
54. Schmitt, R., Thews, G.
Physiologie des Menschen, Gewebsatmung
Springer Verlag 22. Aufl.; 21: 561 -569 (1985)

55. Siesjo, B.K.
Cell damage in the brain: a speculative synthesis
J. Cereb Blood Flow Metab.; 1(2): 155 -185 (1981)
56. Snyder, S.H., Reynolds, I.J.
Calcium-antagonist drugs. Receptor interactions that clarify therapeutic effects.
N. Engl. J. Med. Oct 17; 313(16): 995 -1002 (1985)
57. Steen, P.A., Newberg, J.U.H. et al.
Nimodipine, improves cerebral blood flow and neurologic recovery after complete cerebral ischemia in the dog
J. Cerebral Blood Flow Metab. 3: 38 - 43 (1983)
58. Stevenson, J., Stone, E.F., Dillard, D., Morgan, B.C.
Intellectual Development of Children Subjected to Prolonged Circulatory Arrest During Hypothermic Open Heart Surgery in Infancy
Cardiovasc. Surg. Suppl. 11, Vol 49 and 50: 54-59 (1974)
59. Szasz G, Gruber, W., Bernt, E.
Creatine kinase in serum: 1. Determination of optimum reaction conditions
Clin. Chem. 1976 May; 22(5): 650 - 656 (1976)
60. Uematsu, D., Greenberg, J.H., Araki, N., Reivich, M.
Intracellular Calcium and Pathophysiological Changes in Cerebral Ischemia
Drug Res. 41 (1), Nr. 3a: 324 - 331 (1991)
61. Vibulsresth, S. et al.
Failure of nimodipine to prevent ischemic neuronal damage in rats
Stroke 18: 210 - 216 (1987)

62. Wevers, R.A., Reutelinsperger, C.P., Dam, B., Soons, J.

Mitochondrial creatine kinase in the brain.

Elsevier Biomedical Press, Clinica Chimica Acta, 119: 209 -223 (1981)

63. Yasuura, K., Ogawa, Y., Sawazaki, M., Matsuura, A., Okamoto, H.

Successful Resection of a Distal Aortic Arch Aneurysm in a Patient with Behcet's Disease Using an Aortic N - Touch Technique and Hypothermic Total Body Retrograde Perfusion

Thorac. Cardiovasc. Surg. 40: 219 - 221 (1992)

Danksagung

Für ihren Anteil am Zustandekommen dieser Arbeit bedanke ich mich bei folgenden Personen

- Herrn Prof. Dr.med. Dr.h.c. F.W. Hehrlein für die Überlassung des Promotionsthemas und die Möglichkeit der Durchführung dieser Promotion in seiner Abteilung
- Herrn Dr.med. W.A. Stertmann für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit und die von ihm entgegengebrachte Geduld
- Herrn F. Wicha für seine Unterstützung während der statistischen Auswertung
- Frau B. Scheckel, Klinische Chemie UNI Marburg, für die quantitative Auswertung der Kreatinkinase-Messungen
- Frau C. Faber für die qualifizierte Betreuung der Labormessungen
- Frau E. Conrad für ihre allzeitige Hilfsbereitschaft

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Danneberg
Vorname: Dirk- Jonas
Geburtsdatum: 04.07.1966
Geburtsort: Darmstadt / Hessen
Familienstand: verheiratet / 1 Tochter
Anschrift: Martinstr. 137
64285 Darmstadt

Schulbildung

1972 - 1976 Elly-Heuss-Knapp-Schule in Darmstadt
1976 - 1985 Georg-Büchner-Gymnasium in Darmstadt
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Hochschulbildung

1986 - 1994 Justus-Liebig-Universität in Gießen: Humanmedizin
1990 Ärztliche Vorprüfung
1991 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
1993 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
1994 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

1993 - 1994

- 1.) Kreiskrankenhaus Wetzlar, akad. Lehrkrankenhaus
Unfallchirurgische Abt., P.D. Dr.med. H. Knaepler
Allgemeinchirurgische Abt., Prof. Dr.med. G. Brobmann
- 2.) Kantonsspital Aarau / Schweiz
Orthopädische Klinik, Chefarzt Dr.med. G. Rufflin
- 3.) Universitäts-Klinikum-Gießen, Innere Medizin
Med. Poliklinik, Prof. Dr.med. K. Federlin

Arzt im Praktikum

01.07.1994 Abteilungen für Allgemeinchirurgie und Traumatologie
bis Kreiskrankenhaus Groß- Umstadt / Hessenklinik
31.05.1996 Chefarzt Dr.med. H.P. Bayer, Chefarzt Dr.med. E. Schneider

Assistenzarzt

Seit 01.07.1996 Erster Stationsarzt der traumatologischen Station
in der Abteilung für Chirurgie und Nachsorge
Kreiskrankenhaus Jugenheim / Hessen
Chefarzt Dr.med. H.- E. Hoffart

Promotion

Am Institut für Herzchirurgie der
Justus-Liebig-Universität in Gießen
Doktorvater: Prof. Dr. Dr.h.c. Hehrlein
Thema: Tierversuchsmodell zur Untersuchung
cerebroprotektiver Eigenschaften eines Pharmakon
während des hypothermen Herz-Kreislauf-
Stillstandes, am Beispiel des Nimotop®S

Darmstadt, 05.05.1999