



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Untersuchungen zur Rolle der Hypoxie bei der Entwicklung des fokalen ischämischen Hirnschadens in einem Okklusions-Reperusionsmodell der Ratte: Neuroprotektion durch Erhöhung der Sauerstofftransportkapazität im Plasma**

Autor: Julian David Seiffge  
Institut / Klinik: Neurochirurgische Klinik  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. L. Schilling

Ziel dieser Arbeit war es, die Rolle der frühen Hypoxie für die Entwicklung des ischämischen Schadens im Rahmen der fokalen zerebralen Ischämie zu untersuchen. Von besonderem Interesse waren in diesem Zusammenhang die Bedeutung der Reperfusion und von Hypoxie nach einer erfolgreichen Reperfusion. Zu diesem Zweck wurde die Hypoxie in der vorliegenden Arbeit mittels Injektion einer Emulsion von F6H8, eines künstlichen Sauerstoffträgers aus der Gruppe der semifluorierten Alkane (SFA), in Kombination mit normobarer Hyperoxygenierung (NBO) modifiziert.

Insgesamt 63 männlichen Sprague-Dawley-Ratten wurde Pimonidazol zur späteren Detektion von hypoxischem Gewebe intravenös injiziert. Anschließend erfolgte mittels Faden-Okklusions-Technik ein Verschluss der A. cerebri media rechts gefolgt von einer Injektion von entweder der Testsubstanz (F6H8) in der Dosis 0,5 oder 1,0ml/100g Körpergewicht oder physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%). Bei einem Teil der Tiere (n=51) erfolgte nach 2 Stunden eine erneute Reperfusion des verschlossenen Gefäßes, bei dem anderen Teil der Tiere (12) blieb das Gefäß verschlossen. Bei 12 Tieren erfolgte die Injektion der Testsubstanz in einer Dosis von 1,0ml/100g Körpergewicht erst nach der Reperfusion. Im Anschluss an die Injektion wurden die Tiere in einem Spezialkäfig mit reinem Sauerstoff für 8 bzw. im Fall der Injektion nach Reperfusion für 6 Stunden gehalten.

Nach 8 Stunden (36 Tiere) bzw. 24 (27 Tiere) Stunden erfolgte der Exitus mittels Exsanguination gefolgt von einer In-situ-Perfusion mit eiskalter Kochsalzlösung.

Das kryokonservierte Hirngewebe wurde in serielle Schnitte geschnitten und mittels Immunhistochemie für Pimonidazol-Addukte (P-Add) sowie mittels der Silbernitrat-Färbung (SIS) für den strukturellen Schaden gefärbt. Die Schnitte wurden eingescannt, planimetriert und volumetrisch analysiert.

Bei 8 Stunden Versuchszeit und permanenter Okklusion zeigte sich eine statistisch signifikante Verringerung des strukturellen Schadens (SIS) beim Einsatz der Testsubstanz im Vergleich zur NaCl-Kontrollgruppe.

Im Rahmen der transienten Okklusion konnte nach einem Beobachtungszeitraum von 8 Stunden sowohl mit der geringen Dosierung (0,5ml/100g Körpergewicht) als auch mit der hohen Dosierung (1,0ml/100g Körpergewicht) eine statistisch signifikante Reduktion des strukturellen Schadens erzielt werden. Dieser Effekt war jeweils stärker ausgeprägt für die hohe Dosierung. Nach 24 Stunden Beobachtungszeit ließ sich ebenfalls für die hohe Dosierung eine statistisch signifikante Verringerung der strukturellen Schadens nachweisen.

Bei einer Injektion der Testsubstanz in einer Dosierung von 1,0ml/100g Körpergewicht nach dem Einsetzen der Reperfusion erfolgte sowohl nach 8 als auch nach 24 Stunden Beobachtungszeit eine statistisch signifikante Reduktion des strukturellen Schadens.

Nach 8 Stunden Versuchszeit zeigte sich in den mit F6H8 behandelten Tieren durchgehend ein vergrößertes Volumen an Gewebe, das zwar hypoxisch (P-Add positiv) aber noch vital (SIS negativ) war im Vergleich zur NaCl-Kontrollgruppe. Auch nach 24 Stunden Versuchszeit war dies für die hohe Dosierung von F6H8 zu beobachten.

Diese Ergebnisse unterstreichen die Rolle der frühen Hypoxie für die Entwicklung des strukturellen Schadens. Mittels einer Erhöhung der Sauerstofftransportkapazität im Plasma lässt sich sowohl in der permanenten wie auch in der transienten Ischämie ein neuroprotektiver Effekt erzielen. Dieser Effekt ist von der Dosis des künstlichen Sauerstoffträgers abhängig. Auch eine Erhöhung der Sauerstofftransportkapazität nach Reperfusion führt zu einer Reduktion des strukturellen Schadens

und weist darauf hin, dass eine Hypoxie auch nach erfolgreicher Reperfusion noch eine pathophysiologische Rolle bei der Entwicklung des ischämischen Hirnschadens hat. Durch den Einsatz der in der vorliegenden Arbeit verwendeten anti-hypoxischen Behandlung wurde das Volumen an hypoxischem aber vitalem Gewebe keinesfalls verringert sondern im Gegenteil sogar vergrößert. Dies weist darauf hin, dass eine anti-hypoxische Behandlung den Übergang von hypoxischem Gewebe in den Zelltod verhindern kann und auf diese Weise neuroprotektiv wirkt. Die Ergebnisse dieser Studie weisen auf Möglichkeiten des klinischen Einsatzes im Rahmen der Therapie der zerebralen Ischämie hin.