

APOSEC-Applikation im MCAO- Schlaganfall-Modell der Ratte

(progress report)

Patrick Altmann
November 2011

MCAO ... middle cerebral artery occlusion

Übersicht

- Was bisher geschah
- diverse Stolpersteine...
- Erste OP
- Wie es weiter geht

Vorarbeiten (1)

- 01/11: Literaturrecherche
- 02/11: Praktikum am LBI
- 03/11: Erlernen des Fadenmodells
u. des Makrosphären-Modells
- 04/11-08/11: Tierversuchsantrag

Vorarbeiten (2)

- 09/11-10/11: APOSEC-Herstellung:
Protokoll und Durchführung
- 11/11:
Erste OP und Beginn der
Pilotphase

APOSEC

Produktion (1)

- Aus Rattenmilzen
- Durchschnittliche WBC-Ausbeute bei 150g-Wistar-Ratten : 68 Mio cells/mL
- Bestrahlung mit 60Gy
- Inkubation in 24-well-Platten für 24h mit einer Konzentration von 25Mio cells/mL (1mL Portionen)

APOSEC

Produktion (2)

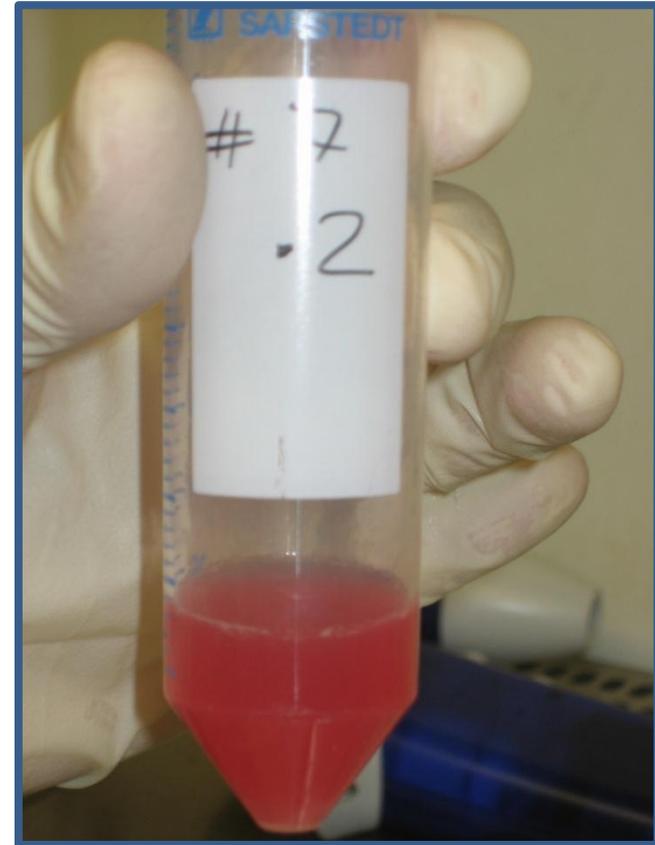
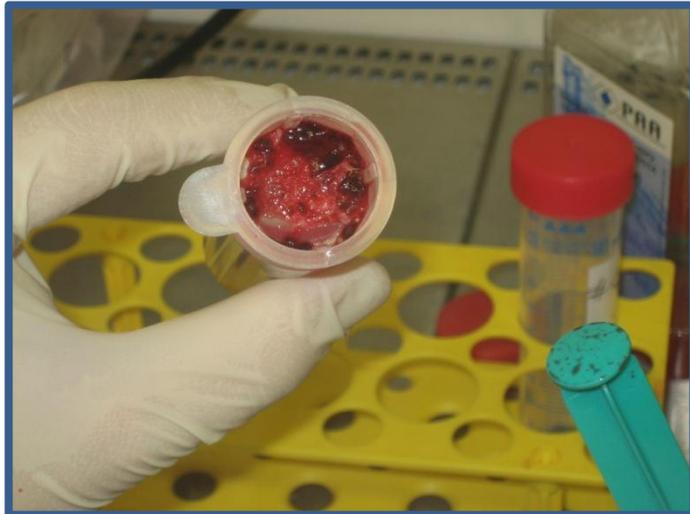
- Ausbeute aus 5 Spendermilzen:
28mL APOSEC [25Mio/mL]
- Aliquote zu 1mL erstellt und Lyophilisation
- Lagerung bei -80°C und Applikation im Rahmen des Tierversuch durch Resuspendierung des Lyophilisats mit $300\mu\text{L}$ NaCl

Danke an Konrad, Steffi und Matthias

APOSEC Produktion (3)

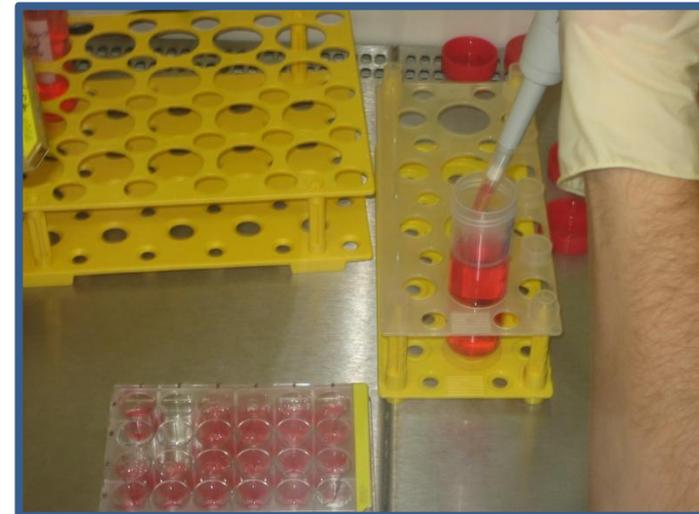


APOSEC Produktion (4)

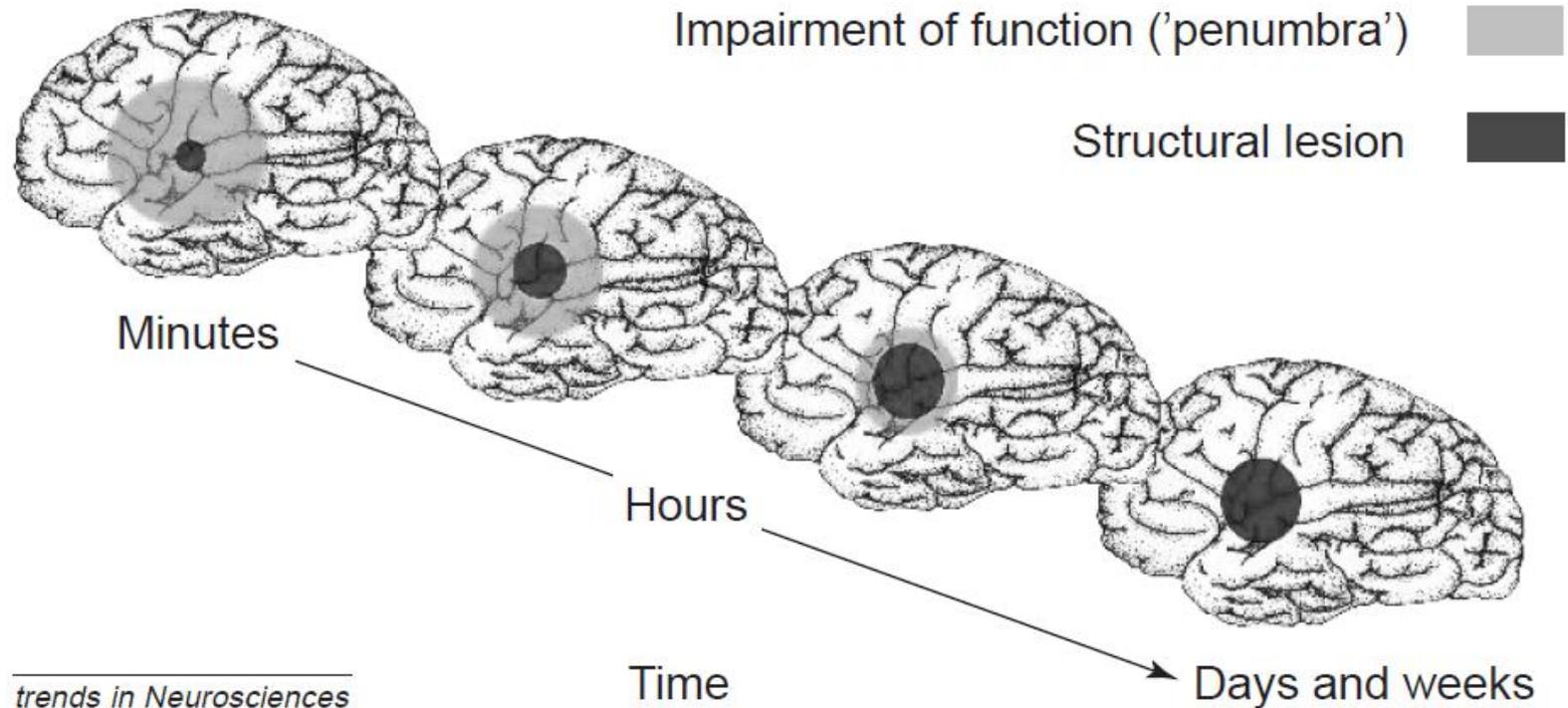




APOSEC Produktion (5)



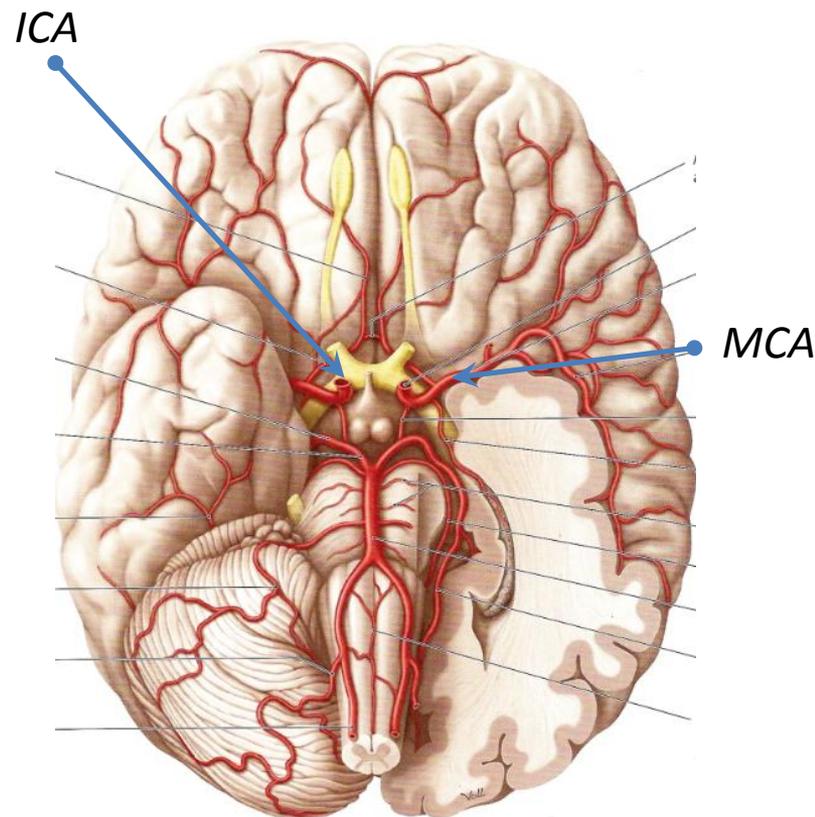
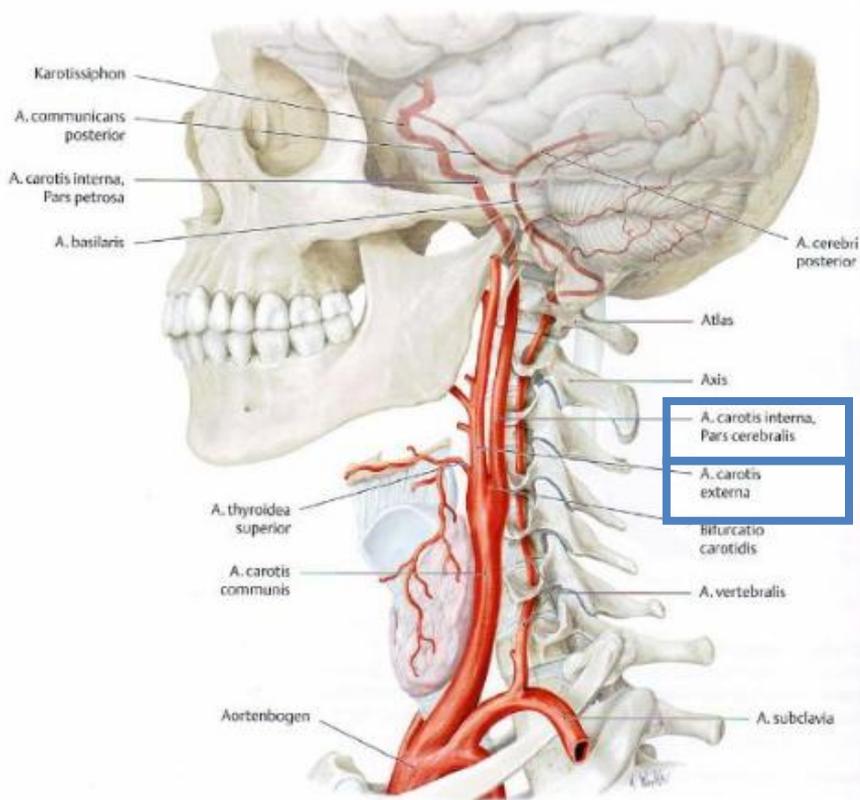
Gehirn und Schlaganfall



trends in Neurosciences

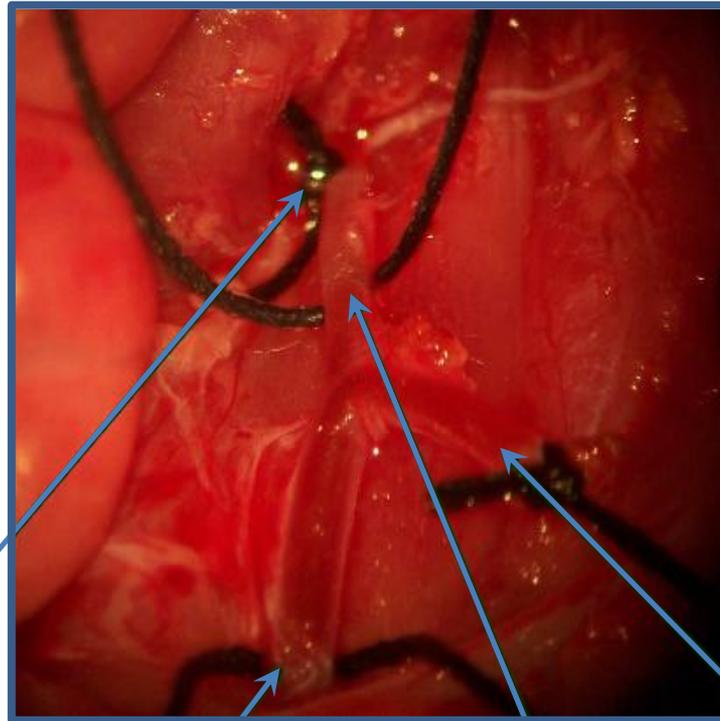
Baird, AE et al. Enlargement of human cerebral ischemic lesion volumes measured by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. Ann. Neurol. 1997 41, 581-589

(1)



Quelle: M. Schünke et. al: „Prometheus LernAtlas der Anatomie: Kopf, Hals und Neuroanatomie“ Thieme, Stuttgart 2009

Fadenmodell (2)



ECA A. carotis externa
ICA A. carotis interna
CCA A. carotis communis

*ligierte
A. pterygopalatina*

Schlinge zum Hochspannen der CCA

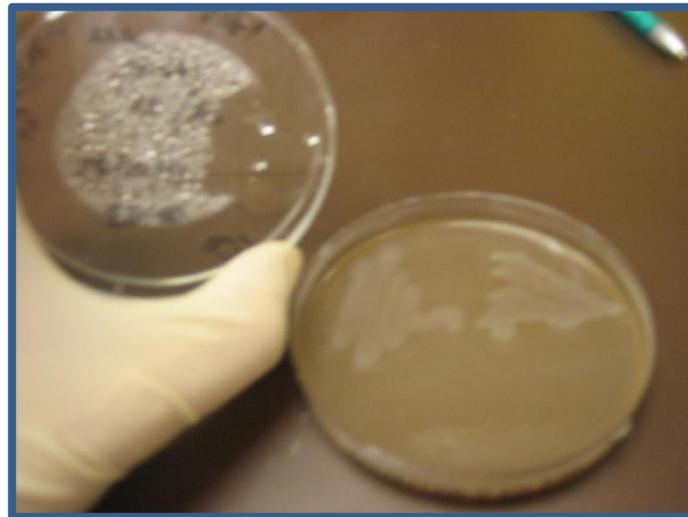
*Schlinge zum
Hochspannen der ICA*

ECA-stump

Stolpersteine...

(1)

- Die Überstände erst poolen, nachdem man sich die Abstriche angesehen hat!!!



(2)

- Einer Faxbestellung nachtelefonieren, es gibt interessante Wege, wie diese verschwinden können...
- Im Zweifelsfall auch einer Rattenbestellung nachtelefonieren... ZWEI Mal!!!
- Keine Hardware auf den Labor-PCs selbständig installieren
- Geeignete Gefäße für die Lyophilisate finden

Erste OP (1)

- Erste Operation am 18.11.2011
- Dauer: 2 Stunden
- Änderung (?) des Protokolls:
0,05mL Rompun und 0,45mL Ketazol i.p.
sowie 1,5Vol% Isofluran
-Neuroprotektion ???

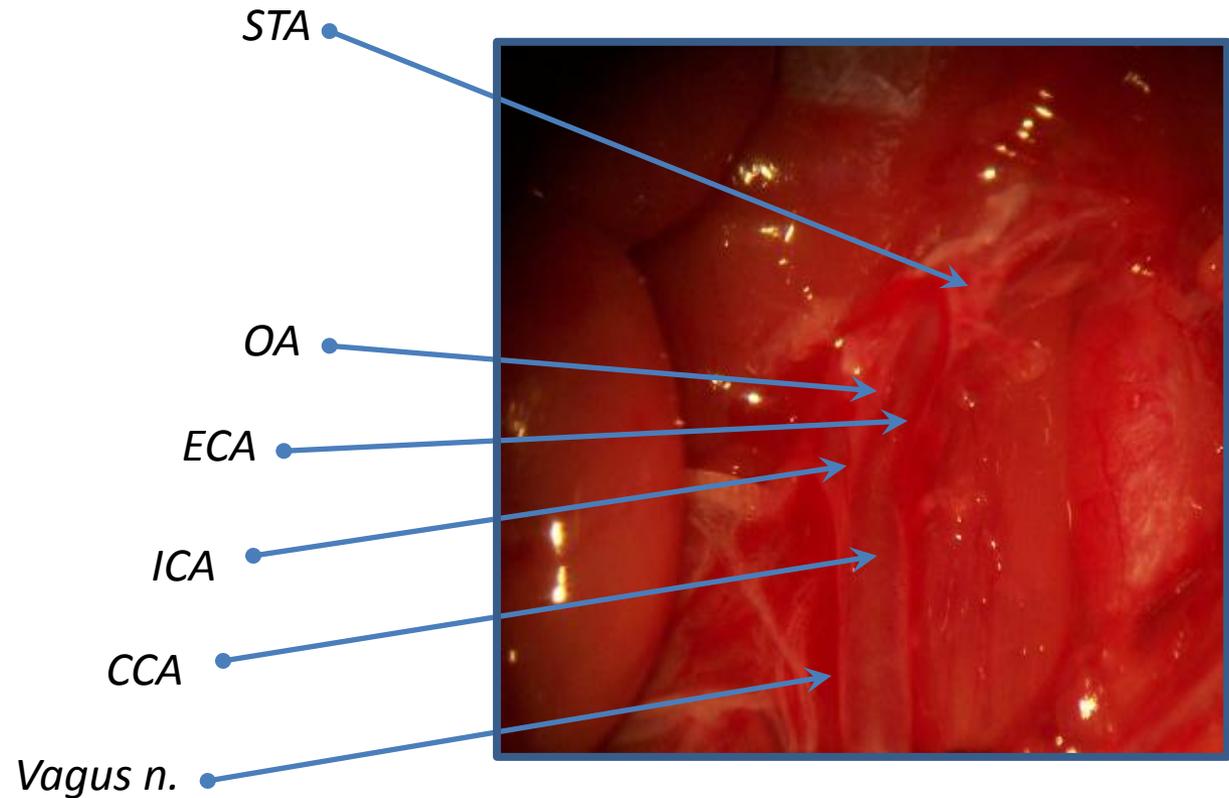
Erste OP (2)

➤ Schwierigkeiten:

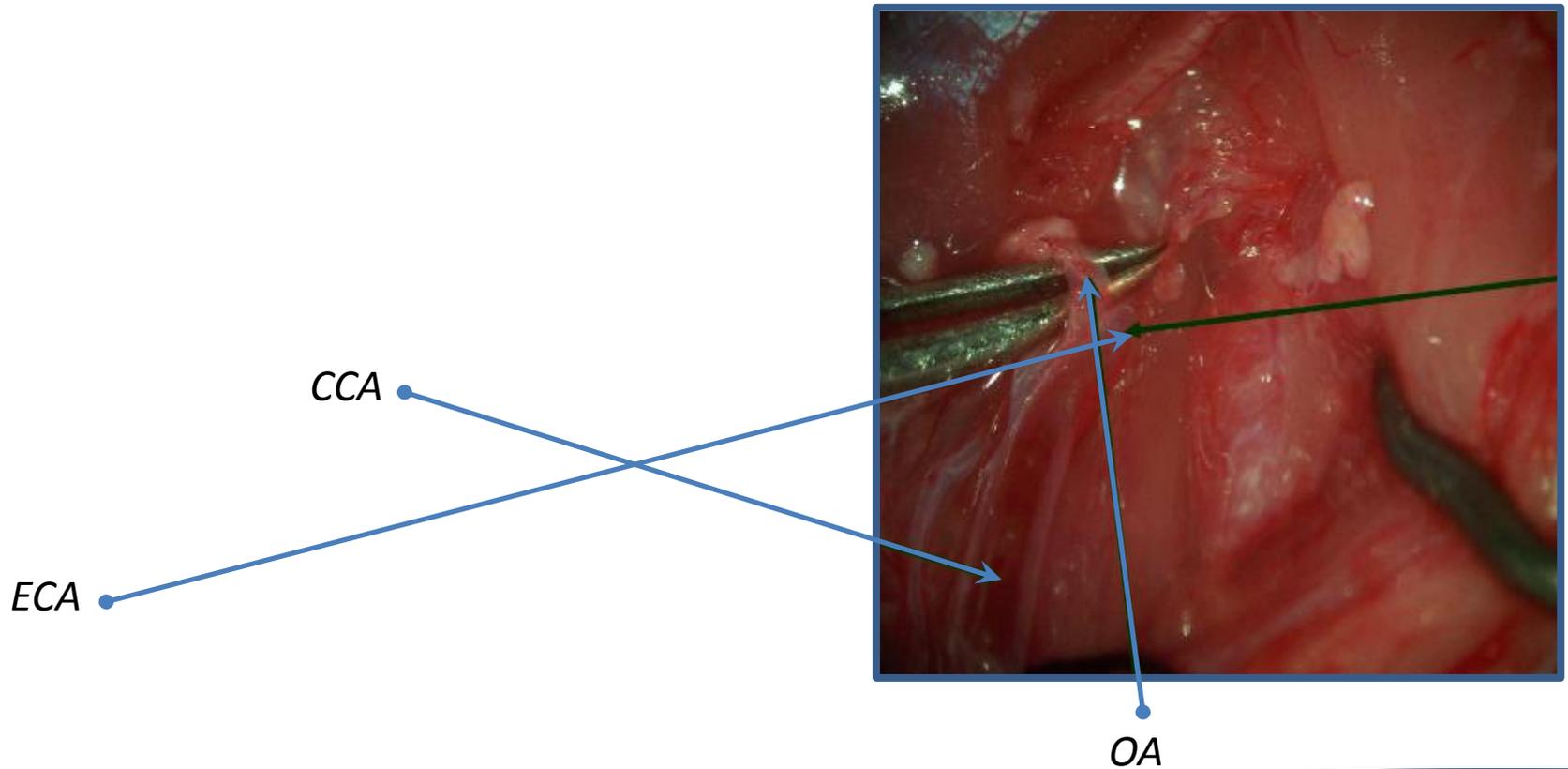
- Zurechtfinden mit den OP-“Gepflogenheiten“
- Mobilisation der Carotisbifurcation
- Auffinden der A. occipitalis
- Bifurcationsferne Ligatur der A. carotis externa
- Leichte Blutung beim Versuch, den Occlusionsfaden einzuführen

Erste OP (3)

STA A. thyreoidea sup.
OA A. occipitalis
ECA A. carotis externa
ICA A. carotis interna
CCA A. carotis communis
N. Vagus (X)

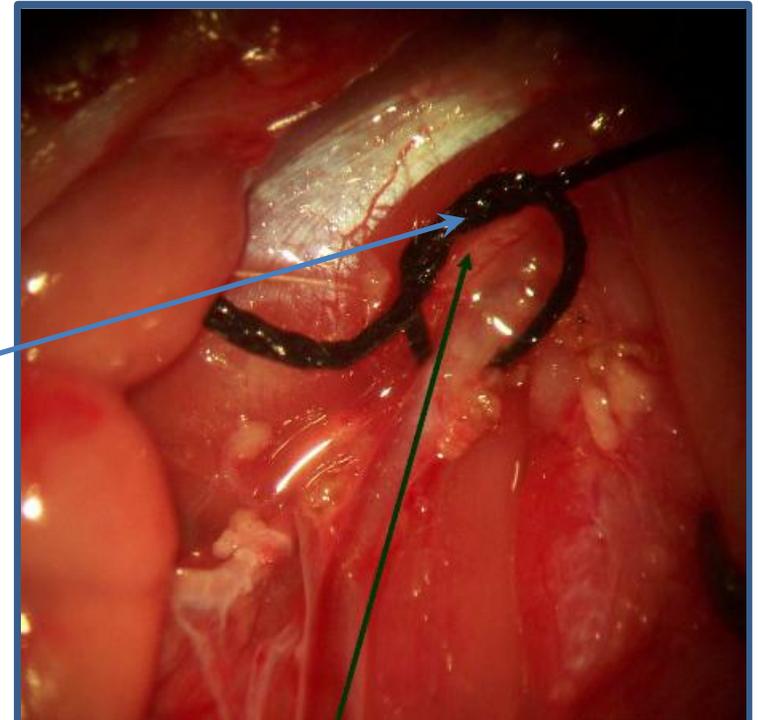


Erste OP (4)

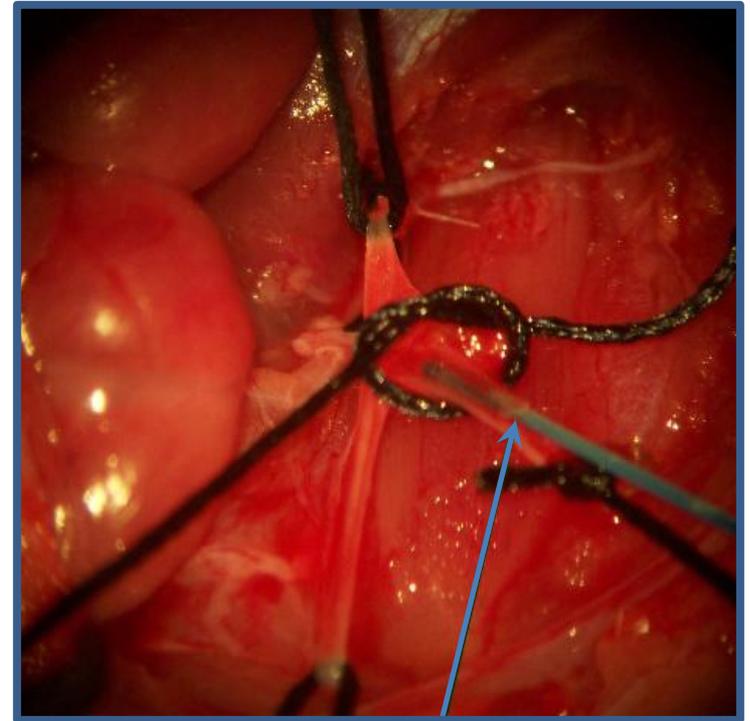


Erste OP (5)

*Vorgelegter
Knoten aus 4-0
Seide*



Erste OP (6)



Die ECA wird „arteriotomiert“ und der 3cm Faden vorgeschoben

Erste OP (7)

- Trotz der Schwierigkeiten und der etwas länger dauernden OP, konnte der Eingriff scheinbar erfolgreich beendet werden und die Ratte erwachte aus der Narkose...
... verstarb allerdings wenige Minuten danach an einem Herzstillstand

Erste OP (8)

- Mögliche Ursachen für das Versterben des Versuchstieres:
 - Subarachnoideale Blutung
 - Zu großer Blutverlust während der OP
 - Zu starke Vagusreizung?
- Tritt bei den nächsten Tieren auch ein Herzstillstand auf → *Obduktion*

Ausblick (1)

- Literaturrecherche bezüglich des geänderten Anästhesieverfahrens und der daraus möglicherweise resultierenden Neuroprotektion
- Weiterführen der Pilotphase, um konstante Infarktergebnisse zu erzielen

Ausblick (2)

➤ Während der Pilotphase:

- Neuroscores erheben
- Gehirnentnahme
- Einüben der TTC-Färbung

➤ Erste Versuchsgruppen:

- Grp #1: Medienkontrolle
- Grp #2: SN von 12,5Mio cells 40min nach der OP
... bis Dezember 2011 / Jänner 2012

***Danke für die
Aufmerksamkeit!***