

**Aus dem Medizinischen Zentrum für Pathologie
der Philipps-Universität Marburg
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. R. Moll
Abteilung für Neuropathologie
Leiter: Prof. Dr. med. H.-D. Mennel**

**Untersuchung zur Anwendbarkeit der Argon-Plasma-
Koagulation (APC) in einem Modellversuch für
neurochirurgische Operationen**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

Dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt

von
Daniel Lonić
aus Frankenberg

Marburg 2004

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg
am 02.12.2004 gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. med. B. Maisch

Referent: Prof. Dr. med. H.-D. Mennel

Korreferent: Prof. Dr. med. D. Hellwig

Gewidmet

meinen Eltern für immer währende Liebe, Unterstützung und Vertrauen

und

Victor Alexander Thonet (1974-1989)

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	4
I. Einleitung	7
I.1 Historische Entwicklung der Elektrokoagulation	7
I.2 Bisherige Anwendungsgebiete der APC	8
I.2.1 Anwendung in der Dermatologie	8
I.2.2 Anwendung in der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde	9
I.2.3 Anwendung in der endoskopischen Chirurgie	10
I.2.4 Anwendung an parenchymatösen Organen.....	11
I.2.5. Anwendung in der Gynäkologie	13
I.3 Anwendung in der Neurochirurgie.....	14
I.4. Fragestellung der Arbeit.....	14
II. Material und Methoden	15
II.1 Prinzip der Argon-Plasma-Koagulation.....	15
II.2 Technische Ausrüstung	17
II.3 Medikamente:	19
II.4 Versuchstiere.....	20
II.5.1. Operationstechnik	21
II.5.2. Intravitale Perfusion.....	23
II.6 Morphologische und morphometrische Methoden	23
II.7 Gewebepreparation zur Anfertigung von Standardschnitten und Spezialfärbungen	24
II.7.1 Färbung mit HE	24
II.7.2 Färbung mit Kresylviolett.....	24
II.7.3 Färbung Berliner Blau Reaktion	24
II.7.4 Trichromfärbung nach Masson-Goldner	24
II.7.5 PAS-Färbung	24
II.7.6 Immunhistochemische Färbungen	25
II.7.6.1 Immunhistochemische Färbung mit Anti-GFAP	27
II.6.2 Immunhistochemische Färbung der Tyrosinhydroxylase	27
II.6.3 Immunhistochemische Färbung mit FragEL	27
II.8 Histomorphologische und histomorphometrische Auswertung.....	29

II.9 Versuchsdurchführung.....	31
II.9.1 Vorversuche.....	31
II.9.1.1 Vorversuch 1(V1).....	31
II.9.1.2 Vorversuch 2(V3).....	31
II.9.2 Hauptversuche.....	31
II.9.2.1 Hauptversuch 1 (V4).....	31
II.9.2.2 Hauptversuch 2 (V5).....	32
II.9.2.3 Hauptversuch 3 (V6).....	33
III. Ergebnisse.....	34
III.1. Ergebnisse V1- V6.....	34
III.1.1 Vorversuche.....	34
III.1.1.1 Vorversuch 1.....	34
III.1.1.2. Vorversuch 2.....	34
III.1.2. Hauptversuche.....	36
III.1.2.1. Hauptversuch 1.....	36
III.1.2.2. Hauptversuch 2.....	39
III.1.2.3. Hauptversuch 3.....	44
III.2. Gesamtergebnis.....	48
III.2.1. Postoperatives Verhalten der Tiere.....	48
III.2.2 Makroskopischer Befund nach Perfusion und Entnahme des Gehirns.....	48
III.2.3 Morphometrische Evaluation.....	49
III.2.4. Morphologie der APC-Läsion am Rattenhirnkortex in der Frühphase.....	50
III.2.5 Weitere Entwicklung der Läsion.....	51
IV. Diskussion.....	55
IV.1 Diskussion des Versuchsaufbaus.....	55
IV.2 Diskussion der Beobachtungen an der APC-Läsion.....	57
IV.3 Ausblick auf die praktische Anwendung der APC in der Neurochirurgie.....	60
V. Schlussfolgerungen.....	64
VI. Zusammenfassung.....	65
VI.1 Deutsche Zusammenfassung.....	65
VI.2. English summary.....	66
VII. Literaturverzeichnis.....	67

VIII. Anhang	79
VIII.1. Rohdaten zu V5	79
VIII.2. Berechnungen zu V5.....	83
VIII.3. Rohdaten zu V6	88
VIII.4. Berechnungen zu V6.....	92
VIII.5. Gesamtergebnis.....	98
VIII.6. Eindringtiefe der Läsion in die Hirnoberfläche	101

I. Einleitung

I.1 Historische Entwicklung der Elektrokoagulation

Die Anwendung der Elektrokoagulation in der Chirurgie verdankt ihre Entdeckung zum großen Teil der frühen Demonstration von d'Arsonval, der den Effekt elektrischer Stimulation auf den Muskel darstellte (zitiert bei Cherazi, Collins 1981). D'Arsonvals Experiment zeigte, dass die unter Wechselstrom produzierte Muskelkontraktion sich mit steigender Frequenz langsam abschwächt. Wie spätere Experimente ergaben, verschwindet die Kontraktion bei ca. 10 kHz vollständig (Sigel, Hatke 1965; Turrell 1969). Bei weiterer Steigerung der Frequenz erwärmt sich das Gewebe nur noch, ohne sich zu kontrahieren. Sigel und Hatke (1967) schätzten dabei den Energiebedarf für eine vaskuläre Koagulation in einem lebenden Tier auf 40 Wattsekunden pro Kubikmillimeter Gewebe, wobei sie einen Stromgenerator mit unterbrochenen Sinuswellenimpulsen benutzten.

Die Hochfrequenzchirurgie findet seit etwa 75 Jahren in der Medizin ihre Anwendung. Bovie führte 1928 die erste elektrochirurgische Apparatur in die Neurochirurgie ein (Malis 1996). Dieses Gerät wurde zuerst von Cushing zur intrakraniellen Tumorentfernung verwendet, wo Blutungen vorher nicht kontrolliert werden konnten (Cushing 1928). Greenwood (1940, 1942) entwickelte das erste bipolare System für die Anwendung in der Neurochirurgie. Er postulierte, dass der Strom für diese Koagulationsart nur ein Drittel so groß sein müsste wie der für die monopolare Koagulation benötigte; dadurch sinke auch der Gewebeschaden, da sich weniger Gewebe im elektrischen Feld befände und die Hitzeentwicklung reduziert sei. Weiterhin empfahl er die permanente Spülung mit Kochsalzlösung, um den Schaden durch Wärmeleitung im Gewebe zu verringern. Diese Erkenntnisse gingen in die Entwicklung der selbst spülenden bipolaren Diathermiepinzette ein (King, Worpole 1972). Malis (1996) entwickelte diesen Ansatz der bipolaren Koagulation in seinem Sinne weiter. Im Laufe der Zeit stieg der Bedarf an präziseren Instrumenten und Generatoren. Die größten Probleme waren die Regulierung der Schnitttiefe und der Schnittgeschwindigkeit, die Elektrodengröße und das unterschiedliche Verhalten von den einzelnen Gewebearten bei der Koagulation. Man bewegte sich dabei immer zwischen den beiden Extremen einer zu niedrigen Energie mit schlechter Blutstillung oder einer zu hohen

Energie mit Gewebsskarisation und Ausbrennen der Instrumentenspitzen (Hellwig 1999). Nach Malis (1969) sind die Faktoren für eine perfekte bipolare Koagulation die genaue Wellenform, die niedrigstmögliche Generatorimpedanz, isolierte Leistung, präzise stabilisierte Spannung und die absolute Kontrolle dieser Parameter in der Hand des Chirurgen. Die neuen Generatorsysteme (Haag 1993, 1998) stabilisieren die Spannungskurve, um den Schnitt gleichmäßig und damit reproduzierbar zu machen; solche Apparaturen finden auch in der minimal invasiven Neurochirurgie ihre Anwendung (Farin 1995). Des Weiteren hilft auch die Verwendung neuartiger Sonden (Hellwig 1999), dass die Elektrochirurgie zu einer immer präziseren Methode der Blutstillung und des Schneidens wird.

Währenddessen entwickelte sich die monopolare Koagulation weiter. Die Argon-Plasma-Koagulation stellt dabei eine weitere Evolution des Koagulationsprinzips dar, da hierbei die Energie nicht über direkten Kontakt der Elektrode mit dem Gewebe, sondern indirekt über ionisiertes Argongas ohne Gewebekontakt übertragen wird (Farin, Grund 1994). Heutzutage kommt die Argon-Plasma-Koagulation in den operativen Fächern der Medizin bei immer mehr Indikationen zur Anwendung. Dabei ist die Methode sowohl bei offenen chirurgischen Eingriffen als auch in der Laparoskopie und der Endoskopie einsetzbar. Der Ansatz der monopolaren Koagulation ist in der Neurochirurgie bei intrakraniellen Eingriffen mit der Fokussierung auf die bipolare Methode wie zum Beispiel das Malis-System (Nijima 1994) nicht wieder aufgegriffen worden.

I.2 Bisherige Anwendungsgebiete der APC

I.2.1 Anwendung in der Dermatologie

Katsch et al. (1997) setzten die APC-Technik bei der Behandlung intraepithelialer Erkrankungen wie der aktinischen Keratose, Condylomata acuminata, Präkanzerosen, malignen Tumoren und der vulvären intraepithelialen Neoplasie (ViN) ein. Die Argon-Plasma-Koagulation zeichnete sich dabei durch ihre komplikationslose Anwendung aus (Brand et al. 1998). Auch die kosmetischen Ergebnisse, auf die in diesem Fachgebiet besonderes Augenmerk gelegt wird, waren hervorragend, da die koagulierten Stellen zumeist narbenlos abheilten.

I.2.2 Anwendung in der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Ein weiteres Fach, welches die Eigenschaften der Methode für sich entdeckt hat, ist die Hals-Nasen-Ohrenheilkunde. Ward et al. (1989) waren die ersten, die APC im Rahmen der Tumorchirurgie des Kopf/Halsbereiches mit Erfolg einsetzten. Seitdem ist der Anwendungsbereich der APC in der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde stetig gewachsen. Bei der Behandlung der juvenilen Kehlkopfpapillomatose einer dreijährigen Patientin (Bergler et al. 1997) bewährte sich APC in Verbindung mit der flexiblen Endoskopie besonders gut, da die Rezidive der Papillome für starre Systeme (wie CO₂-Laser) äußerst schwer erreichbar waren. Auch bei der Therapie nasaler Obstruktionen (Bergler et al. 1998) zeigten sich Vorteile gegenüber der herkömmlichen Verfahrensweise; postoperativ war keine Tamponade des Operationsgebietes notwendig, da bei der Anwendung von APC keine Blutungen auftraten. Eine entscheidende Rolle spielt der hämostatische Effekt der APC besonders bei der Behandlung der hereditären hämorrhagischen Teleangiektasien der Nasenschleimhaut, auch bekannt als Morbus Osler-Rendu-Weber. Bei dieser Indikation erwies sich APC als gering invasives und traumatisierendes Therapieverfahren, welches zu einer klinisch signifikanten Reduktion der Symptomatik führte und eine geringe Belastung für den Patienten darstellte. Weiterhin zeichnete sich das Verfahren durch die wiederholte Anwendbarkeit und schonende Gewebeabtragung aus (Bergler et al. 1998). Durch die Ergänzung dieses Verfahrens mit der Anwendung von topisch appliziertem Estriol konnten die blutungsfreien Intervalle nochmals verlängert werden (Bergler et al. 2002). In einer Studie zur Durchführung der Tonsillektomie mit der konventionellen Methode der „stumpfen Dissektion“ im Vergleich zur APC-Behandlung wurde das Instrumentarium der Koagulationseinheit weiterentwickelt und den Erfordernissen des Operationsgebietes und der Operationstechnik angepasst (Bergler et al. 2000). Eine weitere Anwendung der APC in der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde ist die Behebung des so genannten Velumschnarchens mittels Argon-Hochfrequenz-Uvulopalatoplastik. Gruner (1997) berichtet über mehrere signifikante Vorteile der APC gegenüber der konventionellen Technik mittels CO₂-Laser. Der Eingriff mit APC kann in örtlicher Betäubung und ohne anschließende Hospitalisation des Patienten durchgeführt werden, während die Benutzung des CO₂-Lasers eine Allgemeinnarkose erfordert. Ein weiterer Nachteil der Lasermethode ist die Karbonisation der Schnittstelle und die Entstehung

einer mehr oder weniger tiefen thermischen Gewebeschädigung. Diese Beobachtungen konnten bei APC nicht gemacht werden, da das Wirkungsprinzip von APC diese thermische Schädigung verhindert (Farin, Grund 1994). APC bewährte sich auch bei palliativen Eingriffen zur Abtragung rezidivierender oder inkurabler Tumore im Bereich von Kopf und Hals (Hauser et al. 2002). Bei der Entfernung von obstruierenden oder stenosierenden Tumormassen konnte die Methode mit Erfolg eingesetzt werden. APC konnte auch bei der chirurgischen Behandlung des Rhinophyms überzeugen (Stucker et al. 2003); die Methode zeichnete sich bei dieser Indikation besonders durch ihre Kosteneffektivität, den minimalen Blutverlust und Operationszeiten unter 10 Minuten bei guten kosmetischen Ergebnissen aus. Postoperative Komplikationen wurden nicht beobachtet.

I.2.3 Anwendung in der endoskopischen Chirurgie

Die Argon-Plasma-Koagulation ist mittlerweile eine anerkannte Methode zur Abtragung von kanzerösen Läsionen des Gastrointestinaltraktes (Williams et al. 2000). In einer Evaluation zum Einsatz der APC in der flexiblen Endoskopie wurde von Grund (1997) die Effizienz, Sicherheit und Ergonomie der Methode klinisch untersucht. Zu den Indikationen zählten Blutungen im Bereich des Gastrointestinaltraktes und des Bronchialsystems und die Entfernung von malignen und benignen Tumoren. Gewebeinwachsungen in Metallstents, Fisteln und verschiedene Dysplasien waren weitere Einsatzbereiche. Die Argon-Plasma-Koagulation zeigte sich hier als eine sichere, effiziente und leicht zu lernende Methode zur Blutstillung und zur Devitalisierung von Geweben. Eine andere Vergleichsstudie zwischen dem APC-System und dem Nd:YAG-Laser bei Indikationen für die flexible Endoskopie wurde von Storek et al. (1994) durchgeführt. Hierbei wurden die Ergebnisse beider Verfahren bei tumorreduzierenden Eingriffen im oberen und unteren Gastrointestinaltrakt sowie im Tracheobronchialbaum verglichen. Der Desikkationseffekt der APC führte im Vergleich zur Vaporisation durch den Laser zu einer signifikant größeren Volumenreduktion der Tumormassen. Ein spezielles Einsatzgebiet war die Rekanalisierung okkludierter Metallgitterstents im Rahmen der palliativ endoskopischen Tumortherapie im Gastrointestinaltrakt. Hochberger et al. (1993) bestätigten die Erfahrungen der Studie von Storek, dass nur die APC das einwachsende Gewebe beseitigen kann, ohne den Metallstent zu beschädigen.

Ingesamt werden der APC deutliche Vorteile gegenüber allen anderen Koagulationsarten zugesprochen; manche Autoren gehen so weit zu behaupten, der Laser könne in nahezu allen Bereichen der flexiblen Endoskopie ersetzt werden (Robertson et al. 1996). Nur bei sehr bindegewebsreichen Tumoren und bei der Vaporisation großer Tumormassen scheint der Laser immer noch unersetzbar zu sein. Im Rahmen der interventionellen Bronchologie behandelte Schmidt (1996) Patienten mit Stenosen des Tracheobronchialsystems. In der Gruppe der Stenosen, die durch maligne Prozesse wie Bronchialkarzinome ausgebildet wurden, zeigte die endoskopische Behandlung mit APC gegenüber der alleinigen Radiotherapie eine erstaunlich lange Zeit von beschwerdefreien Intervallen und eine Erhöhung der gesamten Überlebenszeit der Patienten. Klemm et al. (1999) sehen eine weitere Anwendung der APC bei der Durchführung der perkutanen Tracheotomie. Ihnen zufolge reduziert die Methode vor allem den Zeitaufwand des Eingriffs. Sessler et al. (1995) verwendeten APC bei der Entfernung kleiner maligner gastrointestinaler Tumoren in 10 Fällen als palliative Maßnahme. In 9 von 10 Fällen konnte histologisch bei einer Follow-up-Untersuchung lokal kein Tumor mehr nachgewiesen werden. Die APC-Applikation scheint daher der Effizienz des Lasers in dieser Fragestellung bei einem Bruchteil der Anschaffungskosten in nichts nachzustehen. Neuere Studien zur Behandlung von Blutungen des Rektums bei bestrahlungsinduzierter Proktitis bekräftigen die Einschätzung, dass APC bezüglich Kosten und Effektivität eine gute Alternative zu bestehenden Behandlungsverfahren darstellt (Seitz et al 2003).

I.2.4 Anwendung an parenchymatösen Organen

Besonders bei der Hämostase im Rahmen von Operationen an parenchymatösen Organen wie Leber, Lunge, Milz und Niere zeigen sich die Vorteile der Argon-Plasma-Koagulation. Bei einer tierexperimentellen Studie an Hunden zur Unterbindung von Leber- und Milzblutungen verglichen Go et al. (1991) die hämostatischen Eigenschaften der APC mit denen eines Nd:YAG-Lasers, horizontalen Matratzennähten, mikrokristallinem Kollagen und oxidiertes regenerierter Zellulose. Die APC konnte in allen Fällen die hepatischen und lienalen Blutungen stoppen. Dabei war sie allen anderen Methoden bezüglich der Zuverlässigkeit, des operativen Zeitaufwandes und Regeneration des koagulierten Gebiets weit überlegen und somit

eine effektive, leicht anwendbare und zeitsparende Methode, um bei Milz- und Leberblutungen eine Hämostase zu erreichen. Zur Beantwortung der Frage, ob die Milz nach stumpfen Bauchtraumata entweder durch konservative oder durch operative Maßnahmen zu erhalten sei, (Kreis et al. 1987) verglichen Dunham et al. (1991) die Behandlungsmöglichkeiten an zwei Patientengruppen. Die Untergruppenanalyse zeigte bei den Patienten mit tiefgehenden Verletzungen des Parenchyms eine deutliche Verbesserung der Erhaltungsrate. Es gab keine Erhöhung von postoperativer Morbidität oder Mortalität, so dass APC als Methode beim Management von Milzblutungen nach stumpfen Bauchtraumata die Chancen zur Erhaltung des Organs deutlich verbessert. Stylianos et al. (1991) zeigten in einer Studie an Kaninchen ähnliche Ergebnisse zur Kontrolle lienaler Blutungen mit dem Argon-Plasma-Koagulator. Dixon et al. konnten schon 1980 demonstrieren, dass sowohl Standardelektrokauter als auch Nd:YAG-Laser bei der Kontrolle von perihilären Blutungen bei Hundemilzen ineffektiv sind; Stylianos zeigte mit seinen guten Ergebnissen des APC-Systems eine Lösungsmöglichkeit dieses Problems auf. Nach seiner Studie ist APC zur Stillung perihilärer Milzblutungen schnell und zuverlässig und die Koagulation sehr gewebeschonend; postoperative Infektionen wurden nicht beobachtet. Weitere Ergebnisse bei unterschiedlichen Arten von Milzverletzungen liegen von Dowling et al. (1991) vor. Hierbei wurden im Schweinemodell die hämostatische Fähigkeit von APC mit der von konventionellen chirurgischen Methoden (Ligaturen, konventioneller Elektrokauterisation, Kompression, oxidierte Zellulose) verglichen. Die APC zeigte auch hier in allen untersuchten Parametern deutliche Vorteile zu den konventionellen Methoden. Die Operationszeit war signifikant kürzer, die Inzidenz von Nachblutungen war signifikant kleiner und der intraoperative Blutverlust deutlich geringer. Bei keinem der untersuchten Tiere gab es bei der Autopsie Zeichen eines Hämoperitoneums. Da die Erhaltungsrate bei Milztraumen unter Benutzung von konventionellen Methoden immer noch unter 50% liegt (Perry 1988), ist APC eine gute Alternative zu den bestehenden Möglichkeiten. In der jüngsten Vergangenheit berichteten andere Autoren (Kwon et al. 2001) über die erfolgreiche Blutstillung einer traumatisch rupturierten Milz durch laparoskopisch angewendete APC am Menschen. Bei Studien zur partiellen Hepatektomie am Schwein (Postema et al. 1993) zeigt sich ein ähnliches Bild. Der intraoperative Blutverlust von APC und Fibrinkleber war im

Vergleich zu Matratzennähten signifikant geringer; bei der histologischen Untersuchung zeigt sich zudem, dass die Nekrosezone bei APC-Applikation im Vergleich zu den beiden anderen Verfahren deutlich kleiner ist. Dies ist für die Vermeidung von septischen Komplikationen im Peritonealraum von großer Bedeutung, da das Vorhandensein von devitalisiertem nekrotischem Gewebe das Risiko für solche Ereignisse erhöht. Bei der Resektion von Nebennierentumoren, die in die Leber eingewachsen waren (Takeda et al. 1994), bewährte sich APC genauso wie bei der Behandlung nichtparasitärer Leberzysten (Kwon et al. 2003). Zudem zeigte sich, dass die Verwendung von APC bei Hepatektomien das Risiko der Entstehung von Pleuraergüssen signifikant senkt (Kwon et al. 2003). Disseminierte pleurale und diaphragmale Metastasen eines hepatozellulären Karzinoms wurden durch die Abtragung mit APC ebenfalls mit Erfolg behandelt (Uenishi et al. 2001). Vorsicht ist trotz aller Vorteile geboten, da in Einzelfällen bei laparoskopischen Operationen im Oberbauch Argongasembolien (Mastragelopoulos et al. 1992) und Spannungspneumothoraces aufgetreten sind (Shanberg et al. 2002).

Auch in der Urologie werden die Vorteile der APC-Methode genutzt. Nach tierexperimentellen Studien zur Blutstillung bei einer partiellen Nephrektomie mittels offener (Hernandez et al. 1990) beziehungsweise laparoskopischer Methode (McDougall et al. 1993) zeigten sich auch hier die bereits genannten Vorteile der APC. Nachdem Quinlan et al. (1992) den erfolgreichen Einsatz bei 3 Patienten beschrieben hatten, bestätigen jüngste Studien zur endoskopischen partiellen Nephrektomie am Menschen die viel versprechenden Ergebnisse der tierexperimentellen Resultate (Kageyama et al. 2002, Stifelman et al. 2001, Kozlowski et al. 2000, Harmon et al. 2000, Chan et al. 1999).

I.2.5. Anwendung in der Gynäkologie

Bei gynäkologischen und geburtshilflichen Indikationen gewinnt die APC an Bedeutung. Einige Autoren berichten von guten Eigenschaften bei der Kontrolle postpartaler Blutungen (Shevell und Malone 2003, Scarantino et al. 1999). Eine weitere Indikation wird nach neuester Studienlage in der Behandlung gynäkologischer Karzinome gesehen. Die APC kommt hier bei der laparoskopischen paraaortalen

Lymphadenektomie (Abu-Rustum et al. 2003) und der Tumorreduktion des metastasierten Ovarialkarzinoms (Bristow und Montz 2003) mit Erfolg zum Einsatz.

I.3 Anwendung in der Neurochirurgie

Man sieht, dass die APC in vielen Feldern der operativen Medizin Verbreitung gefunden hat. Die Erfahrungen in der Neurochirurgie sind jedoch eher spärlich und sollen im Folgenden besprochen werden.

Die Anwendbarkeit der Argon-Plasma-Koagulation ist in der Neurochirurgie noch nicht präzise untersucht worden. Zwei Publikationen untersuchten hierbei vor allem die hämostatischen Effekte der Methode. Sutton et al. (1998) beschrieben als erste die neuro-chirurgische Anwendung von APC bei der Entfernung eines Adenoms des Plexus choroideus. Weitere Erfahrungen mit APC an neurochirurgischen Patienten wurden von Miyazawa et al. (2000) gesammelt. Insgesamt wurde in dieser Studie APC an 13 Tumoren (Meningeome, Sarkome, Glioblastome und Hypophysenadenome) bei 12 Patienten appliziert. Die Auswirkungen einer Argon-Plasma-Koagulation auf das normale Nervengewebe sind jedoch noch nicht untersucht worden und deshalb ungeklärt. Diese Tatsache wirft die Frage auf, ob eine Koagulation von Nervengewebe genauso gut steuerbar und schonend ist wie in anderem Gewebe und ob die Gewebereaktion mit der von bereits untersuchtem Gewebe vergleichbar ist oder sogar übereinstimmt.

I.4 Fragestellung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die Wirkung der APC auf das Hirngewebe der Ratte darzustellen. Dabei soll sowohl die Morphologie der verursachten Läsion als auch deren Größe in Abhängigkeit von verschiedener Applikationsdauer im zeitlichen Verlauf untersucht und mit bestehenden Ergebnissen verglichen werden.

II. Material und Methoden

II.1 Prinzip der Argon-Plasma-Koagulation

Die APC-Einheit besteht aus einem Kontroll- und Steuergerät für die Argongasversorgung und ein Hochfrequenzgenerator sowie eine Applikationssonde (Erbe Elektromedizin, Tübingen). Am distalen Ende der Sonde (ein Teflonrohr mit ca. 1-2 mm Durchmesser) befindet sich eine von Argon umströmte Wolframelektrode. Das Abbrennen des Teflonschlauches wird durch eine Keramikspitze am distalen Ende verhindert. Das ausströmende Gas wird durch die Hochfrequenzspannung, die zwischen der Sondenelektrode und der Gewebefläche anliegt, ionisiert und dient somit der Übertragung der Spannungsenergie auf die Gewebeoberfläche. Es resultiert eine kontaktlose Koagulation mit einer Desikkation des Gewebes (Abbildung 1).

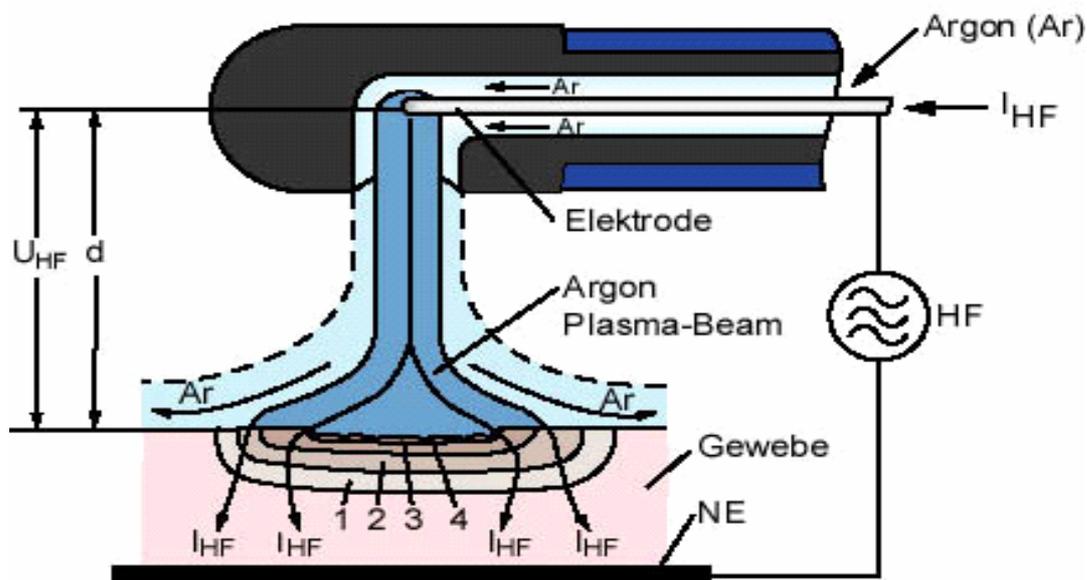


Abbildung 1: Schema zur Wirkungsweise Der Argon-Plasma-Koagulation

Der Arbeitsabstand der Sonde zum Gewebe beträgt 2-10 mm; bei Überschreitung des Abstandes erlischt die Ionisation und eine Koagulation ist nicht möglich. Die Applikation kann durch das helle Leuchten des Argongases gut kontrolliert werden,

wobei die Funkenentladung nach orthograd, lateral und radiär erfolgen kann. Der Vorteil bei der Applikation ergibt sich aus dem selbstlimitierenden Effekt der Wirkung des Argon-Plasmas; der Hochfrequenzstrom fließt solange durch das Argonplasma bis eine Desikkationszone in der obersten Gewebeschicht entsteht. Durch die Verdampfung des Wassers steigt der Gewebewiderstand und die elektrische Leitfähigkeit sinkt. Somit ist die Eindringtiefe abhängig von Applikationsdauer und Leistung limitiert, was die gewebeschonende Eigenschaft verdeutlicht (Farin, Grund 1994).

Eine ähnliche Methode der Koagulation ist kürzlich entwickelt worden, um die Anwendung auch auf sensiblere Organe wie z.B. Nervengewebe auszuweiten. Die Helium-Plasma-Koagulation (HPC) hat nur die Hälfte der effektiven Wirkung auf das Gewebe; es ist jedoch fraglich, ob sie weiterentwickelt wird, wenn die Stärke des Argon-Plasma-Flows in der näheren Zukunft entsprechend minimiert werden kann, so dass ähnliche Ergebnisse erreicht werden können. Der Vereinfachung halber können beide Methoden als weitgehend identisch im technischen Aufbau angesehen werden.

II.2 Technische Ausrüstung

Die benötigte technische Ausrüstung für die Helium-Plasma Koagulation besteht aus einer Heliumquelle, einem Hochfrequenzgenerator (ICC 350; Erbe Co. Tübingen, Germany) und dem Applikator (APC 300 Argon Beamer One; Erbe Co. Tübingen, Germany). Die Heliumquelle und die elektrochirurgische Einheit können über ein Fußpedal und über den in der Hand gehaltenen Applikator gesteuert werden. Der Applikator regelt die Einstellungen des Gasflusses (l/min) und der Energiestärke. Der Hochfrequenzgenerator wurde in diesem System als Steuereinheit verwendet. Die APC-Einheit wird sodann auf einen Operationstisch mit stereotaktischer Halterung montiert (Abbildung 2).



Abbildung 2: Komplettes Operationszubehör mit Koagulationsausrüstung

Für die Trepanation des Rattenschädels wurde ein Handbohrer (K4 Handstück 4914) mit dem K4 Tisch-Steuergerät 4954, beides von der Firma Kavo, Germany verwendet (Abbildung 3). Dies ist ebenfalls über ein Fußpedal steuerbar und in der Umdrehung stufenlos einzustellen zwischen 1000-30.000 U/min.



Abbildung 3: Tisch-Steuergerät 4954 und K4 Handstück 4914 der Firma Kavo, Germany.

Für die Operation wird ein stereotaktischer Tisch der Firma UHL Technische Mikroskope, Feinmechanik, Germany verwendet, in dem die Tiere eingespannt werden. Um den mikrochirurgischen Eingriff optimal durchzuführen wurde ein OP-Mikroskop der Firma Zeiss benutzt. Zur Dokumentation einzelner Operationsschritte wurde an das Mikroskop ein Kamerasystem der Firma Zeiss angeschlossen.



Abbildung 4: Perfusionssystem zur intravitalem Perfusion

Für die intravitale Perfusion wurde ein Perfusionssystem mit Infusor, Glasdruckkolben für das Fixationsmittel und Absauger benutzt (Abbildung 4).

II.3 Medikamente:

Für die antibiotische Vorsorge wurde Vancomycin verwendet. Als Anästhetika wurden benutzt:

- Ketavet® 50 mg/ml oder 100 mg/ml, Pharmacia GmbH, Wirkstoff: Ketaminhydrochlorid, für Tiere; Allgemein-Anästhetikum zur intramuskulären oder intravenösen Injektion. Ketavet® ist ein intramuskulär, subkutan und/oder intravenös injizierbares Anästhetikum mit hypnotischen Eigenschaften und raschem Wirkungseintritt, das nicht aus der Barbiturat-Reihe stammt. Die klinische Hauptwirkung besteht in einer schnell eintretenden, starken Analgesie der Körperhülle. Die Analgesie geht einer ebenfalls eintretenden, mäßig tiefen Hypnose voraus und überdauert dieselbe („dissoziierte Anästhesie“).
- Rompun 2%, Bayer Vital GmbH, Wirkstoff: Xylazinhydrochlorid, für Tiere, Sedativum, Analgetikum, Anästhetikum und Muskelrelaxans. Rompun erzeugt

einen schlafähnlichen (sedativ-hypnotischen) Zustand, der mit einer allgemeinen Muskelrelaxation und einer individuell unterschiedlich ausgeprägten Schmerzfreiheit verbunden ist. Dies geschah abhängig nach Körpergewicht mit einer Dosiertabelle.

Für die intravitale Perfusion wurde Glutaraldehyd 2% angesetzt in 0,1 mol Cacodylatpuffer und Paraformaldehyd 4 % verwendet.

II.4 Versuchstiere

Es wurden männliche und weibliche Ratten des selbst gezüchteten Stammes BD IX verwendet. Dieser Stamm ist für neuropathologische Tierversuche sehr gut geeignet (Druckrey 1971).

II.5 Methoden

II.5.1. Operationstechnik



Abb. 5: Ratte eingespannt im stereotaktischen Tisch

Die Ratten werden zu Beginn gewogen. Nach der Dosiertabelle wird eine Einmalspritze mit den Anästhetika Rompun und Ketanest aufgezo-gen und den Versuchstieren mit einer dünnen Nadel intraperitoneal gespritzt. Nach Einsetzen der Narkosewirkung wird den Tieren das Fell am Kopf mit einem Einwegrasierer sorgfältig entfernt und die Ratte in Bauchlage auf den Operationstisch gelagert. Der Kopf wird im stereotaktischen Halteapparat fixiert.

Nach sorgfältiger Desinfektion erfolgt mit einem Einmalskalpell ein ca. 3 cm langer medianer Hautschnitt. Dieser beginnt zwischen den Ohren und endet im Nackenansatz. Die Haut wird mit einem Wundspreizer gespannt und so ein ca. 3 x 3 cm großes Schädelareal freigelegt.

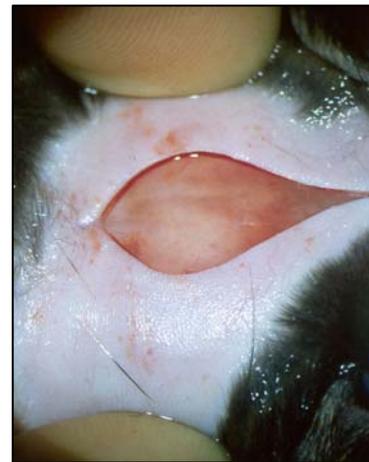


Abb. 6: Medianer Hautschnitt



Abb. 7: Darstellung der Schädelnähte

Nun wird mit einem stumpfen Schaber die Galea aponeurotica und das Periost vom Knochen gelöst, um die Schädelnähte zur weiteren Orientierung darzustellen.

Es folgt die vorsichtige Freilegung der Dura mater und deren kreuzförmige Eröffnung mit einem Nervenhäkchen, ohne das darunter liegende Hirngewebe zu verletzen oder eine artifizielle kortikale oder vaskuläre Läsion zu verursachen. Das Hirngewebe liegt nun frei.

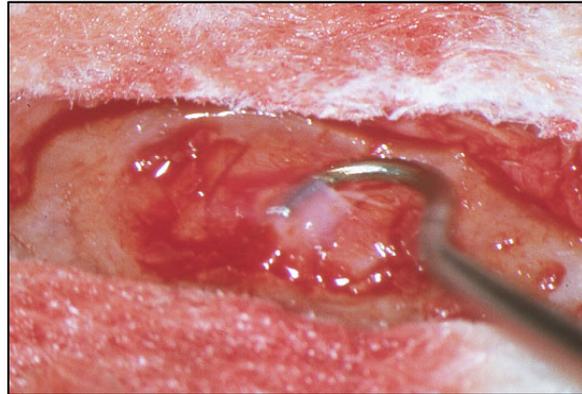


Abb. 6: Lösen der harten Hirnhaut

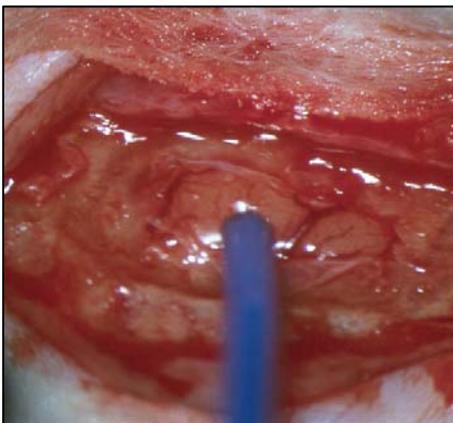


Abb. 7: APC-Applikator über dem OP-Feld

Nachdem der HPC-Applikator im stereotaktischen Führungssystem arretiert wurde, wird unter mikroskopischer Sicht das Zentrum der Kraniotomie angezielt. Die Leistung beträgt 20 Watt, es wird ein konstanter Gasfluss von 0,2 l/min gewählt.

Die Distanz des Applikators zur Hirnoberfläche wird durch das stereotaktische System auf 2 mm festgelegt. Die Applikationsdauer ist in den verschiedenen Versuchen variabel gewählt (V3 und V5 2 Sekunden, V6 4 Sekunden).

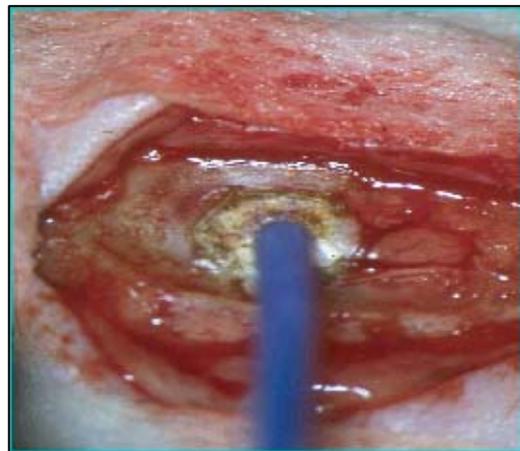


Abb. 8: Intraoperatives Bild der Läsion



Abb. 9: Wundverschluss mit Donati-Rückstichnaht

Nach sorgfältiger Blutstillung mit sterilen Kompressen und Gabe von Antibiotikum erfolgt der Wundverschluss mit Donati-Rückstichnähten. In der Folge wird das Tier aus dem stereotaktischem Halteapparat gelöst.

II.5.2. Intravitale Perfusion

Nach der HPC-Applikation werden die Tiere täglich bis zu ihrem Tode beobachtet. Innerhalb definierter Zeitintervalle von 1 bis 6 Wochen werden die Tiere intravital perfundiert. Zunächst werden die Tiere erneut gewogen und anästhesiert. Dies geschieht mit Ketanest und Rompun in einer körperrgewichtabhängigen Dosis. Nun erfolgt die intravitale Perfusion mit gepuffertem Paraformaldehyd. Anschließend wird das Gehirn unter größtmöglicher Schonung entnommen und postfixiert in Paraffinblöcke eingebettet.

II.6 Morphologische und morphometrische Methoden

Zur weiteren Orientierung der anzufertigen Schnitte wird das Rattenhirn in Blöcke unterteilt.

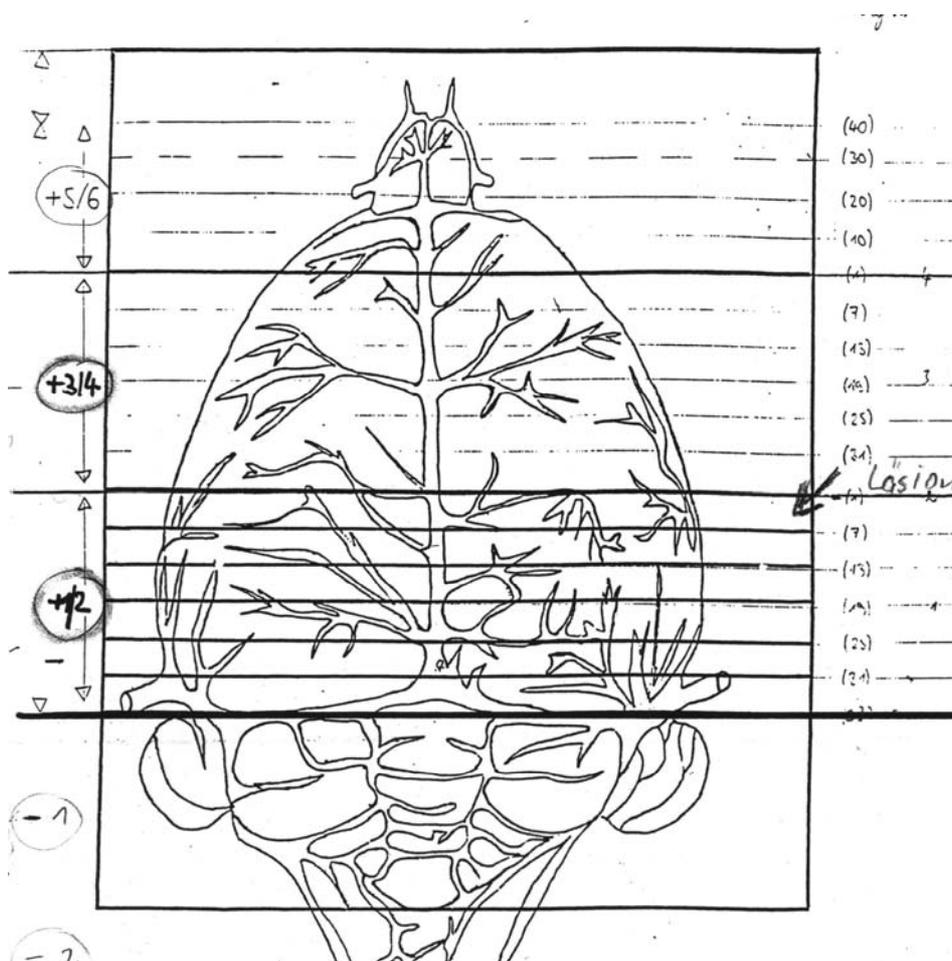


Abbildung 10: Schematisches Rattenhirn in Ebenen und Blöcken unterteilt

II.7 Gewebepvorbereitung zur Anfertigung von Standardschnitten und Spezialfärbungen

Aus dem durch die intravitale Perfusion gewonnenen Hirngewebe werden Feinschnitte aus den Ebenen +1/2 und +3/4 in 300 Mikrometer Abschnitten hergestellt und aufgezogen.

II.7.1 Färbung mit HE

Sie dient als Übersichtsfärbung und erfolgt nach Standardprotokollen.

II.7.2 Färbung mit Kresylviolett

Sie dient zur Hervorhebung von neuronalen Perikaryen durch Anfärbung von Arealen von rauem endoplasmatischem Retikulum. Sie erfolgt nach Standardprotokollen.

II.7.3 Färbung Berliner Blau Reaktion

Dreiwertiges Fe wird mit Kaliumhexacyanoferrat (mit zweiwertigem Fe) durch eine Blaufärbung nachgewiesen. Es wird eine Standardmethode verwendet.

II.7.4 Trichromfärbung nach Masson-Goldner

Diese erfolgt nach Standardprotokollen.

II.7.5 PAS-Färbung

Polysaccharide oxidieren durch Perjodsäure zu Aldehyden und werden durch fuchsinschwefliger Säure sichtbar. Dies erfolgt nach Standardprotokollen.

II.7.6 Immunhistochemische Färbungen

Die hier verwendeten immunhistochemischen Färbungen basieren alle auf einer Peroxidase-Antiperoxidase-Reaktion (PAP). Hierbei handelt es sich um eine indirekte Nachweismethode. An einen unkonjugierten Primärantikörper gegen das Antigen der Probe bindet zunächst ein Brückenantikörper, der gegen diesen Primärantikörper gerichtet ist. Darauf folgt der so genannte PAP-Komplex, welcher an den Brückenantikörper bindet. Der PAP-Komplex besteht gleichzeitig aus dem Enzym Peroxidase und einem Antikörper, der gegen das Enzym gerichtet ist (Enzym-anti-Enzymkomplex). Diese Reaktion wird bei den hier verwendeten Färbungen durch die Streptavidin-Biotin-Methode ergänzt. Hierbei wird der Brückenantikörper durch Biotin, ein wasserlösliches Vitamin, markiert (biotinyliert). Diese Biotin-Bindungsstelle des Antikörpers wird durch Streptavidin, ein gentechnisch hergestelltes Glykoprotein, besetzt. Streptavidin besitzt jedoch insgesamt vier Bindungsstellen für Biotin, so dass die anderen drei durch einen Biotin-Enzymkomplex besetzt werden können. Das hier verwendete Enzym ist wiederum die bekannte Horseradish-Peroxidase. Die Vorteile der Methode sind zum einen die Möglichkeit der stärkeren Verdünnung des Primärantikörpers im Vergleich zur direkten und alleinigen PAP-Methode, zum anderen die besseren Färbeergebnisse aufgrund der Hintergrundreduzierung. Bei der Verwendung dieser Methode muss jedoch sichergestellt sein, dass die endogene Peroxidase durch Wasserstoffperoxid vollständig unterdrückt wird, da diese sonst bei der Farbentwicklung durch die Diaminobenzidinreaktion mitreagiert und falsch positive Ergebnisse liefern kann.

Die immunhistochemischen Färbungen mit Anti-GFAP und Anti-TH wurden mit den jeweils spezifischen Antikörpern (siehe unten) nach folgendem Standardprotokoll durchgeführt. Die Schnitte sollten während des Färbevorgangs nicht austrocknen.

1. Entparaffinieren des Feinschnittes (10 Minuten in Xylol, danach Bewässern durch absteigende Alkoholreihe jeweils 10 Minuten)
2. Blockierung der unspezifischen Hintergrundfärbung mit Wasserstoffperoxid (30%)-Methanolgemisch (Verdünnung 1:100) für 20 Minuten, danach Spülen mit Phosphatpuffer (PBS) bei pH 7,4
3. Mikrowellenvorbehandlung für ca. 20 Minuten
4. Weitere Abschirmung der endogenen Peroxidase mit verdünntem Rinderserum 1:5 (ca. 100µl pro Schnitt) für 20 Minuten; Ansetzen von Rinderserum(RS) 1:5 verdünnt: 1ml RS+ 4 ml PBS; Ansetzen von RS 1,5%: 300 µl RS+ 20 ml Puffer
5. Sofortiges Auftragen des Primärantikörpers *jeweils nach Bedarf* in 1,5% RS/PBS (ca. 100µl pro Schnitt) angesetzt mit 500µl 1,5% RS/PBS pro Küvette für 45 Minuten; Spülen mit PBS
6. Auftragen des angesetzten DAKO®-Sekundärantikörpers gegen Maus-AK biotinylierter ZAK Flasche 1 (Ziege-Anti-Maus/Kaninchen) ca. 100µl pro Schnitt für 45 Minuten; ansetzen mit 1,5% RS/PBS (300µl); Spülen mit PBS
7. Ansetzen mit DAKO®-StreptAB-Komplex/Horseraddish-Peroxidase Flasche 2 für 30 Minuten, danach Spülen mit PBS
8. Diaminobenzidin(DAB)-Reaktion:
 - a) Ansetzen von 1ml DAB + 9 ml PBS
 - b) Ansetzen von 10 ml PBS + Pipettenspitze WasserstoffperoxidEine Pipettenspitze von b) in a) geben, ca. 100 µl auf Präparat geben und einwirken lassen (10 Minuten), danach mit PBS gründlich spülen; Präparat wird in Aqua dest. gegeben.
9. Mit Hämalaun gegenfärben und 10 Minuten bläuen
10. Entwässern mit aufsteigender Alkoholreihe
11. Eindeckeln

II.7.6.1 Immunhistochemische Färbung mit Anti-GFAP

Die monoklonalen Antikörper der Maus sind gegen das Glial Fibrillary Acidic Protein in ependymalen Zellen des Hirngewebes gerichtet. Sie liegen in dem hier verwendeten DAKO-Kit in der Verdünnung 1:200 vor. Mit dieser Färbung detektiert man die Expression spezifischer gliöser Marker. Die Schnitte sollten während des Färbevorgangs nicht austrocknen

II.6.2 Immunhistochemische Färbung der Tyrosinhydroxylase

Es wird ein monoklonaler Antikörper gegen die Tyrosinhydroxylase (TH) aus Maus-Maus-Hybridzellen der Firma Boeringer Mannheim Biochemica in der Verdünnung 1:500 verwendet. Man bedient sich der Induktion und Expression der TH als metabolischem Marker und funktionellem Parameter. Die TH katalysiert den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Biosynthese der Katecholamine wie Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin. Daher können mit dieser Färbung unter anderem dopaminerge und adrenerge Neuronen dargestellt werden.

II.6.3 Immunhistochemische Färbung mit FragEL

Diese Färbung basiert auf der Detektion und Anlagerung eines Farbstoffes an DNA-Doppelstrangbrüchen. Sie zeigen sich in charakteristischer Weise in Zellen, die den apoptotischen Weg beschreiten und sind hinsichtlich ihres Aussagewertes sehr spezifisch und sensitiv. Die Färbung erfolgt gemäß des Standardprotokolls des Klenow-FragEL™-Kits. Die Färbung macht es möglich, apoptotische Nuclei in Paraffinschnitten durch DNA-Fragment-End-Labeling (FragEL™) darzustellen. Dabei lagert sich das Klenow-Fragment (das große Fragment der E. coli DNA-Polymerase I) an die freiliegenden 3'-OH-Enden von apoptotisch induzierten DNA-Fragmenten an und katalysiert die Anlagerung von Biotin-desoxyNucleotidTriPhosphat und nicht gelabeltem dNTP. Diese Nucleotide werden wiederum mit einer Streptavidin-Horseradish-Peroxidase(HRP) konjugiert. Durch die Zugabe von Diaminobenzidin und Wasserstoffperoxid bewirkt die Peroxidasereaktion eine Ausfällung des umgesetzten Substrats in Form von Chromagen an der Stelle der DNA-Fragmentation. Eine Gegenfärbung mit Methylgrün erleichtert die morphologische Evaluation und Charakterisierung von normalen und apoptotischen Zellen. Bei der Evaluation wurden

in den einzelnen Zonen der Läsion die relative und absolute Häufigkeit von FragEL positiv gewerteten Zellen anhand Auszählens mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer bestimmt.

Protokoll der FragEL-Färbung:

1. Entparaffinieren und Rehydrieren des Feinschnittes: 10 Minuten in Xylol, danach Bewässern durch absteigende Alkoholreihe jeweils 10 Minuten; Abspülen mit PBS. Während des gesamten Färbeprozesses darf das Präparat nicht austrocknen!
2. Permeabilisieren des Präparats: Verdünnen von 2 mg/ml Proteinase K 1:100 mit 10 mmol PBS, Bedecken des Feinschnittes mit 100 µl der Proteinase K- Lösung. Inkubieren bei Raumtemperatur für 20 Minuten. Spülen mit PBS
3. Generieren einer Positivkontrolle: Präparat mit 1 µg/µl DNase I in 1X PBS/ 1 mmol Magnesiumsulfat-Lösung. Bei Raumtemperatur 20 Minuten inkubieren.
4. Inaktivieren der endogenen Peroxidasen: Verdünnen von 30% Wasserstoffperoxid und Methanol im Verhältnis 1:10; Bedecken des Feinschnittes mit dieser Lösung für 5 Minuten bei Raumtemperatur, Spülen mit PBS
5. Verdünnung und Markierungsreaktion:
 - a) Verdünnen von 10X Klenow Equilibration Buffer mit Aqua dest. im Verhältnis 1:10; Bedecken des Präparats mit 100 µl der Hergestellten Lösung, Inkubation für 10-30 Minuten bei Raumtemperatur
 - b) Herstellung der Markerflüssigkeit: Mikrozentrifugieren der Klenow-Enzymampulle, vorsichtiges Mischen von 58,4 µl Klenow Labeling Reaction Mix und 1,6 µl Klenow Enzyme auf Eis.
 - c) Vorsichtige Zugabe des Klenow Equilibration Buffer auf den Feinschnitt, danach sofortige Zugabe der Klenow Labeling Reaction Mixture auf jedes Präparat. Bedecken des Präparats mit Parafilm®. Inkubieren in einer feuchten Kammer für 90 Minuten bei 37 Grad C.
6. Terminierung der Markierungsreaktion: Bei Vorhandensein eines Präzipitats Vorwärmen des Stop Buffers auf 37 Grad C für 5 Minuten. Nach Entfernen des Parafilm® Bedecken des Präparats mit 100 µl des Stop Buffers und Inkubieren bei Raumtemperatur für 5 Minuten. Spülen mit PBS
7. Detektion: Bedecken des Präparats mit 100 µl des Blocking Buffers und Inkubieren bei Raumtemperatur für 10 Minuten. Verdünnung des 50X Konjugats mit Blocking Buffer im Verhältnis 1:50. Vorsichtige Zugabe des Blocking Buffers auf das Präparat, danach sofortige Zugabe des verdünnten Konjugats. Inkubation in einer feuchten Kammer für 30 Minuten. Spülen mit PBS. DAB-Lösung herstellen (siehe oben), Präparate mit 100 µl der Lösung bedecken und bei Raumtemperatur 10-15 Minuten inkubieren. Spülen mit Aqua dest.
8. Gegenfärbung: Sofortiges Bedecken des Präparats mit 100 µl Methylgrünlösung. Inkubation bei Raumtemperatur für 3 Minuten. Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe.

II.8 Histomorphologische und histomorphometrische Auswertung

Die Hauptversuche V5 und V6 dienen zum einen der Bestimmung des Läsionsvolumens um zeitlichen Verlauf und zum anderen der morphologischen Beschreibung der Läsion mit Hilfe der verschiedenen Färbemethoden.

Die APC-Läsion präsentiert sich makroskopisch als ein kraterförmiger Substanzdefekt mit der größten Tiefe im zentralen Bereich. Die aus den Paraffinblöcken hergestellten Feinschnitte zeigen die Läsion parallel angeschnitten in der koronaren Ebene. Sieht man sich deren Schnittfläche im linearen Verlauf an, stellt man fest, dass sie sich zunächst bis zum zentralen Maximum vergrößert, um sich dann wieder zu verjüngen. Die Auswertung der Läsionen hinsichtlich ihres Volumens V geschieht in mehreren Schritten. Zur Berechnung der Läsion werden die Kresylviolettschnitte aus den Ebenen +1/2 und +3/4 verwendet. Die Ausdehnung des Defektes in diesen Schnitten wird mittels eines Rasterokulars bestimmt, deren quadratische Flächeneinheiten auf jeweils $0,25 \text{ mm}^2$ geeicht wurden. Da alle 300 Mikrometer ein solcher Schnitt angefertigt wurde, ergeben sich aus zwei aufeinander folgenden Läsionen die beiden Basisflächen a und b eines Körpers, der die Höhe von 300 Mikrometern hat. Da die Grundflächen des Körpers unregelmäßig sind, kann ein Radius der Läsion nicht bestimmt werden, sondern die jeweiligen Flächen sollten als Basis zur Bestimmung des Volumens des entsprechenden Teilabschnitts herangezogen werden. Um das Volumen trotz unterschiedlicher Grundflächenformen bestmöglich annähern zu können, wird eine Durchschnittsfläche nach der Formel $G = (a+b)/2$ berechnet. Da die beiden Flächen parallel zueinander liegen mit identischem Abstand für jeden Teilabschnitt kann das Volumen nun direkt über die Zylinderformel $G \cdot h$, wobei $h=300$ Mikrometer, bestimmt werden. Daraus ergibt sich die folgende Annäherungsformel für die Berechnung des Volumens der jeweiligen Teilabschnitte:

$$V = (a+b)/2 \cdot 300 \mu\text{m}$$

Alle gemessenen Volumina werden addiert. Die Teilabschnitte zu Anfang und Ende der Läsion werden aus Konsistenzgründen nach der nach der gleichen Formel angenähert, wobei eine der Grundflächen näherungsweise als Null angenommen wird.

Des Weiteren werden die Präparate nach den oben genannten Methoden immunhistochemisch gefärbt und danach auf die Häufung der spezifisch positiv angefärbten Zellen untersucht.

II.9 Versuchsdurchführung

II.9.1 Vorversuche

II.9.1.1 Vorversuch 1(V1)

Der Versuch besteht aus einer Koagulation an frisch entnommenen Rattenhirnen, die frei Hand und ohne Zeit- und Leistungskontrolle durchgeführt wird.

II.9.1.2 Vorversuch 2(V3)

In diesem Versuch werden die Hirne dreier lebender anästhesierter Tiere zur Überprüfung der technischen Möglichkeiten des Verfahrens mit APC koaguliert.

II.9.2 Hauptversuche

II.9.2.1 Hauptversuch 1 (V4)

APC wird systematisch an lebenden, anästhesierten Ratten angewendet. Die linke Hemisphäre der Versuchstiere wird mit einer Applikationszeit von 2 Sekunden mit einer Leistung von 20 Watt und einem Gasflow von 0,2 l /min koaguliert ; danach werden die Tiere nach Protokoll perfundiert und histologische Schnittpräparate in Kresylviolett- und HE-Färbung hergestellt. Anhand dieser Präparate erfolgt eine Evaluierung der unterschiedlichen Entwicklungszeiten der entsprechenden Narbe.

Protokoll:

T 361: Operation und sofortige Perfusion

T 373: Operation und sofortige Perfusion

T 370: Operation und sofortige Perfusion

T 369: Operation, Perfusion nach einem Tag

T 362: Operation, Perfusion nach einem Tag

T 364: Operation, Perfusion nach einem Tag

T 367: Operation, Perfusion nach drei Tagen

T 371: Operation, Perfusion nach drei Tagen

T 372: Operation, Perfusion nach sieben Tagen

T 363: Operation, Perfusion nach sieben Tagen

T 368: Operation, Perfusion nach vierzehn Tagen

T 375: Operation, Perfusion nach vierzehn Tagen

II.9.2.2 Hauptversuch 2 (V5)

Die linke Hemisphäre der Versuchstiere wird 2 Sekunden lang mit einer Leistung von 20 Watt bei einem Gasflow von 0,2 l/min koaguliert. Nach der Perfusion der Tiere, die nach dem unten aufgeführten Zeitprotokoll geschieht, werden die unterschiedlichen Entwicklungszeiten der entsprechenden Narbe mit konventionellen histologischen Methoden (Kresylviolett-, HE-Färbung) histomorphologisch und –morphometrisch ausgewertet.

Protokoll:

T 116: Operation, Perfusion nach einer Woche

T 118: Operation, Perfusion nach einer Woche

T 199: Operation, Perfusion nach zwei Wochen

T 198: Operation, Perfusion nach zwei Wochen

T 196: Operation, Perfusion nach drei Wochen

T 197: Operation, Perfusion nach drei Wochen

T 185: Operation, Perfusion nach vier Wochen

T 184: Operation, Perfusion nach vier Wochen

T 192: Operation, Perfusion nach fünf Wochen

T 191: Operation, Perfusion nach fünf Wochen

T 119: Operation, Perfusion nach sechs Wochen

T 357: Operation, Perfusion nach sechs Wochen

II.9.2.3 Hauptversuch 3 (V6)

Dieser Versuch wird analog zum zweiten Hauptversuch durchgeführt. Die Koagulationszeit beträgt bei gleicher Leistung und gleichem Gasflow jedoch 4 Sekunden; außerdem werden die unterschiedlichen Entwicklungszeiten der entsprechenden Narbe im Bereich der Hauptausdehnung der Läsion zusätzlich mittels HE-, Kresylviolett-, PAS-, Azan-, van-Giesson-, Masson-, GFAP- und FragEL-Färbungen deskriptiv ausgewertet.

Protokoll:

T 152: Operation, Perfusion nach einer Woche

T 157: Operation, Perfusion nach einer Woche

T 828: Operation, Perfusion nach zwei Wochen

T 829: Operation, Perfusion nach zwei Wochen

T 826: Operation, Perfusion nach drei Wochen

T 901: Operation, Perfusion nach drei Wochen

T 160: Operation, Perfusion nach vier Wochen

T 161: Operation, Perfusion nach vier Wochen

T 158: Operation, Perfusion nach fünf Wochen

T 159: Operation, Perfusion nach fünf Wochen

T 153: Operation, Perfusion nach sechs Wochen

T 154: Operation, Perfusion nach sechs Wochen

III. Ergebnisse

III.1. Ergebnisse V1- V6

III.1.1 Vorversuche

III.1.1.1 Vorversuch 1

Es zeigt sich in den Kresylviolett-färbungen eine Schichtung des Gewebes in Abhängigkeit von der Applikation nach peripher. Direkt an der Applikation liegt eine Schicht, bei der das Gewebe in seinem Aufbau nicht mehr erhalten ist; darauf folgt eine Schicht mit gut erhalten sichtbaren Zellen, die jedoch einen „reaktionslosen“ Eindruck machen. Es folgt eine Zone der „Erbleichung“, danach als letzte eine Schicht mit gehäuften dunklen Neuronen.

Es kann aus diesem Vorversuch vorsichtig geschlossen werden, dass das APC-Verfahren eine geringe Eindringtiefe über den Koagulationsrand hat und dass etwa im Abstand von 300 Mikrometern unterschiedlich geschädigte Schichten vorhanden sind. Dabei dürfte die erst „amorphe“ Schicht nach der eigentlichen Koagulationsschicht schon eine Nekrose darstellen, die zweite „Erbleichungsschicht“ eine irreversibel geschädigte Zone mit Ödem und die dritte Schicht ein partiell und reversibel geschädigtes Feld.

III.1.1.2. Vorversuch 2

Histologie:

T 848 V2

Block $-1/2$: Keine kortikale Läsion, Hirnstamm nicht ganz vollständig. Minimal Blut im Ventrikel und subarachnoidal.

Block $+3/4$: Beginnend mit Schnitt 150 Subarachnoidalblutung und minimale kortikale Läsion, schon angedeutete Schichtung. In den okzipitalen Anteilen stärkere frische Blutung, teils als Risse sich in den Kortex fortsetzend, mit dann deutlich werdender Schichtung.

Block $+1/2$: In den frontalen Schnitten (bis etwa Schnitt 80) frische blutige oberflächliche Läsion im Kortex, teils auch als Sprünge in den Kortex einschneidend. Um die Läsion herum deutliche Schichtung,

wobei die erste Schicht teilweise noch im Blutungsbezirk liegt, die zweite oder dritte Schicht gehäuft dunkle Neurone trägt.

Block +5/6: keine kortikale Läsion, lediglich in den okzipitalen Scheiben subarachnoidales Blut.

T 849 V2

Block ½: frische kortikale Läsion, blutig, im kortikalen Randbereich. In den ganz frühen Scheiben gut begrenzte Läsion, die in der Mitte von Cornu Ammonis 1 auftritt und hier zu Minimalveränderungen führt, die aber beim Vergleich mit der Gegenseite gut sichtbar sind.

Block ¾: Hintere Anteile: relativ tiefe, glatt begrenzte Läsion, seitlich ohne wesentliche Schichtung, nach basal bis auf den Balken reichend. Ammonsformation, die unmittelbar benachbart liegt, ebenfalls mäßig verändert. Ganz vorne mäßig blutig veränderte flache Grube. In den Übergangsebenen erhaltene kortikale Bedeckung mit wenigen Entzündungszellen.

T 850 V2

Block +½: in den vorderen und hinteren Anteilen relativ scharf abgegrenzte Läsion mit glatter Wandbegrenzung der kortikalen Strukturen, bis in die Tiefe des obliterierten Sulcus über der Ammonsformation reichend. Erbleichung, dunkle Neurone, Ödem. In der Tiefe deutlich schwerer zu beurteilen, da überwiegend Oligodendroglia betroffen zu sein scheinen.

Block +¾: Relativ tiefe Läsion, ganz trichterförmig, um die Nekrose und die Blutung herum deutliche Erbleichungszone, danach aber geringe streifenförmige Veränderungen. Okzipital gewinnt die Läsion Anschluss an das Ventrikelsystem in Höhe der vorderen Hippokampusanteile. In ebene 151 tiefe, frisch, teils blutige Läsion.

III.1.2. Hauptversuche

III.1.2.1. Hauptversuch 1

Histologie:

T 361 V4

Block + $\frac{1}{2}$: In den hinteren Anteilen ist die Verkochungszone gut erhalten, teils in direkter Verbindung mit der darunter liegenden kortikalen Zone. Der Kortex weist hier die auch in + $\frac{3}{4}$ beschriebene Dreischichtigkeit unter der Verkochungszone auf; direkt peripher färberisch erhaltene Perikarya, dann Erbleichung, dann dunkle Neurone. In den mittleren Anteilen direkte Einwirkung auf die Ammonshornformation in Nähe des Subiculus.

Block + $\frac{3}{4}$: In den frühen Ebenen findet man eine gut erhaltene Verkochungszone sowie eine von der Schädigung nach peripher angelegte Schichtung. Darauf folgt eine Zone der guten Anfärbbarkeit mit Kresylviolett und besonders deutlich abgerundeten Zellen, dann eine Zone mit Erbleichung und schließlich eine Zone mit einigen dunklen Neuronen; in den späteren Abschnitten folgt darauf eine schlitzförmige Zystenbildung.

T 363 V4

ausgiebiger Abszess sowohl in Region + $\frac{1}{2}$ als auch in Region + $\frac{3}{4}$

T 364 V4

Region + $\frac{1}{2}$: Tiefer Defekt unter Einschluss des gesamten Kortex und eines Teils der Ammonsformation. Kein Hinweis auf Entzündung. In den geschädigten Anteilen verlieren die Neuronen ihre Färbung und werden blass im Kresylviolett. Dies betrifft die vollendete Nekrose. Auf dem Schnitt in Ebene 112 ist auch der Gyrus dentatus betroffen, bei dem mittig eine weitgehende Schädigung eingetreten ist. Dort sind die Kerne klein, nackt mit körniger Binnenstruktur und ohne Zytoplasma. Weiter peripher kommen gehäuft dunkle Neurone vor. Bei ihnen ist der Kern etwas opak und das noch gut sichtbare Zytoplasma färbungsdichter. In den stark geschädigten Anteilen findet man häufig versprengte dunkle Punkte. Auf den Ebenen 182 ff findet man einen relativ glatten Rand zwischen Großhirnrinde und Defekt, der ebenfalls das Studium der Übergänge erlaubt.

Region +³/₄: In allen okzipitalen Schnitten tiefe Läsion mit fehlen des gesamten Kortex und Eröffnung des Ventrikelsystems, dort leichte Blutung. Im Defekt findet sich amorphes Gewebe. Die frische Verkochungszone ist disloziert. Die tiefe Läsion durchzieht den ganzen Block von frontal nach okzipital.

T 367 V4

Block +¹/₂: Das Koagulat ist teilweise noch mit der sehr tiefen Läsion in Verbindung. Am ausgestanzten Rand befinden sich reichlich Fettkörnchenzellen und Gefäßproliferate, in den Maschen des koagulierten Gewebes segmentkernige Leukozyten. Mittig finden sich noch Kortexanteile mit amorphem Bau. Auch im vorderen Anteil des Blocks ist die Läsion sehr tief und fast rechteckig ausgestanzt. Sie reicht zentral bis auf die Ammonsformation und unterbricht hier das Band CA 1. Der dorsale Anteil des Gyrus dentatus ist ebenfalls betroffen; es finden sich nekrotische Veränderungen. Fettkörnchenzellen und Gefäßproliferate sind in der kortikalen Randzone vorhanden. In den vorderen Anteilen keine Hinweise auf Abszessbildung.

Block +³/₄: Die Läsion ist tief und zeigt möglicherweise einen kleinen Abszess. Zum mediawärts gelegenen Kortex hin befinden sich Gefäßproliferate, auf dem anteriorwärts gelegenen Kortex Fettkörnchenzellen. Auf Ebene 40 zeigen sich auch Fettkörnchenzellen um die Läsion.

T 368 V4

Block +¹/₂: Die Läsionskontur ist in den ersten Ebenen erhalten und bietet das Bild eines napfartigen Defizits bis auf den Balken. Der Rand ist deutlich organisiert mit Fettkörnchenzellen, Gefäßproliferaten, und Zellvermehrung (möglicherweise Astro- oder Mikroglia), teils findet sich auch zystischer Umbau. In den mittleren bis hinteren Ebenen zeigt sich eine klare Schichtung, die konzentrisch zu den Reaktionszonen verläuft. In den stärksten okzipital liegenden Schnitten ist ein oberflächliches Stück Kortex erhalten.

Block +³/₄: Keine Veränderung in den frühen Ebenen. Die Läsion ist tief und bis zum Ende der Schnittebene durchgreifend zystisch umgewandelt. Ein Teil der peripheren kortikalen Begrenzung ist noch erhalten. Die Zyste ist locker mit Fettkörnchenzellen gefüllt. Am Rande zeigen sich Gefäßproliferate und Fettkörnchenzellen, vermutlich auch Astrozyten. Keine sichtbaren Entzündungszeichen.

T 370 V4

Block + $\frac{1}{2}$: Relativ tiefe Läsion, sie betrifft in den mittleren Schnitten (200) den mittleren Anteil der Ammonsformation CA 1 direkt. In den vorderen frontalen Ebenen ist das gesamte Band CA 1 betroffen, das im Bogen verschwunden ist während die seitlichen Stümpfe pyknotisch oder dunkel sind; danach kommt ein abrupter Übergang in normale Pyramidenzellen. Weiter ist das obere Band des Gyrus dentatus in seinen Konturen noch gut erkennbar, die Zellkerne sind jedoch pyknotisch. Betroffen ist auch CA 4, mit Lückenbildung und dunklen Neuronen.

Block + $\frac{3}{4}$: Die Läsion ist tief, die Verkochungszone vom Übrigen Hirn getrennt. Aus dem Gyrus dentatus läuft ein Teilband in die Schädigung mit ischämischer, eosinophiler Veränderung.

T 372 V4

Das Präparat zeigt eine Meningitis mit einem tief greifenden Abszess.

T 373 V4

Block + $\frac{1}{2}$: Frische flache Reaktionszone mit angedeuteter Schichtung. Auf manchen Schnitten ist die Schichtung deutlich: unveränderte Schicht nahe der Läsion, Abblassung und Schicht der dunklen Neurone.

Block + $\frac{3}{4}$: Verkochungszone mit anhängender Schädigung verbacken. Danach unterschiedliche Zonen wie beschrieben.

T 375 V4

Das Präparat zeigt einen tief greifenden Abszess.

Dieser Versuch ist insgesamt nicht auswertbar, da bei einigen Tieren eine Infektion aufgetreten ist. Die aufgetretenen Abszesse bilden mit ihrer überschießenden Reaktion einen deutlichen Kontrast gegenüber den blanden Läsionen nach einfacher Koagulation. Allerdings zeigen sich diese nur bei denjenigen Tieren, die nach 7-14 Tagen getötet und perfundiert worden sind.

Die Veränderungen in den ersten Tagen (0-3) entsprechen denjenigen, die in V1 bis V3 gesehen und beschrieben wurden. Insbesondere konnte die schichtartige Anordnung des Schadens – mit einer Tiefe von etwa 600 µm irreversibler Schädigung – bestätigt werden. Bei der sofortigen Entnahme sind in der amorphen Schicht noch Zellkonturen zu erkennen, die dann in die Erbleichung und Hyperchromasie übergehen (Abbildung 6). Nach drei Tagen treten die ersten reaktiven Fettkörnchenzellen auf (Abbildung 7). Abbildung 8 zeigt die reaktiven Veränderungen des Hirngewebes, die durch die Abszessbildung hervorgerufen wurden.

III.1.2.2. Hauptversuch 2

Histologie:

T 116 V5

Block $\frac{3}{4}$: Im Wesentlichen Organisation der weichen Hirnhaut, darunter befindet sich wenig veränderter Kortex mit den typischen drei Schichten: schmale Erbleichungszone, deutliche Zone mit dunklen Neuronen, Zone mit gemischter Zellpopulation. In den mittleren Anteilen sieht man eine tiefere Schädigung mit Organisation des amorphen randständigen Bezirkes.

Block $+\frac{1}{2}$: In Gang befindliche Organisation. Die Mischpopulation wird nicht berührt; offenbar geht die Organisation (Fettkörnchenzellen und Mesenchymatisation) von der weichen Hirnhaut und der Erbleichungszone aus. In die amorphe Zone findet die Einsprossung statt, mit zusätzlicher komplexer Organisation am Kortex.

T118 V5

Block + $\frac{3}{4}$: Vordere Anteile mit äußerst schmaler Grube; mittlere Anteile mit Prolaps; die äußere Schicht besteht aus Leptomeninx mit venösen Erweiterungen, dann folgt eine Schicht mit ausschließlich dunklen Neuronen. Schließlich folgt eine gemischte Schicht mit dunklen und normalen Neuronen. Weiter zentral organisiert sich das Gewebe mit Fettkörnchenzellen und Bindegewebsbrücken um Gefäße.

Block + $\frac{1}{2}$: Weiter Prolaps, die Organisation findet anscheinend in der Hirnhaut statt.

T199 V5

Block + $\frac{3}{4}$: An den vorderen Anteilen findet sich noch ein Prolaps, dann kein Defizit mehr; an einer Stelle sieht man noch eine runde Erbleichungszone.

Block + $\frac{1}{2}$: Vorne Prolaps. Die mittleren Anteile zeigen eine klar ausgestanzte Läsion mit gut organisiertem Randsaum im Anschluss an die amorphe Schicht. In den mittleren bis hinteren Anteilen reicht die Organisationszone keilförmig bis an die Ammonsformation. Zwischen amorpher Zone und Organisations-schicht grenzt eine weitere (wahrscheinlich mesenchymale) Schicht diese eindeutig gegeneinander ab.

T 198 V5

Block + $\frac{3}{4}$: In den mittleren Anteilen: Prolaps, in der oberen Schicht nur dunkle Neurone, dann eine Schicht mit gemischtem Zellbild. Die hinteren Anteile zeigen eine teils deutliche Organisationszone mit Mikroglia und Gefäßproliferaten.

Block + $\frac{1}{2}$: Gut ausgestanzte Läsion mit einem breiten Rand von Fettkörnchenzellen; unter ihr befindet sich lediglich an einer Stelle eine Zellansammlung (wahrscheinlich Astrozyten). Die darunter liegenden Neurone sind kaum geschädigt. Ein zusätzlicher Prolaps ist in den hinteren Anteilen zu sehen.

T 196 V5

Block + $\frac{3}{4}$: Vorne Prolaps. Hintere Anteile: Zunächst ein flacher Defekt mit klarer Grenze im Kortex. In der weißen Substanz findet sich eine Zellproliferation; zusammen mit Pigmentmakrophagen liegt sie im obliterierten Spalt oberhalb der Ammonsformation.

Block + $\frac{1}{2}$: Vorne eine sehr schöne flache Grube mit glattem Rand dem Kortex gegenüber. Offenbar löst sich die Läsion zystisch im Bereich der weißen Substanz mit gleichzeitig stattfindender Zellproliferation auf. Zwischen dem abgestoßenen amorphen Teil in der zerebralen Reaktion ist eine mesenchymale Schicht zu sehen, hinten daran anschließend eine flache, reaktionslose Grube.

T 197 V5

Block + $\frac{3}{4}$: In den mittleren bis vorderen Anteilen prolabierte Gewebe. In den hinteren Anteilen reicht der Defekt bis an das Ventrikelufer, wo man Pigmentmakrophagen und Astrozyten sieht.

Block + $\frac{1}{2}$: Flache, gut organisierte Zone in der weißen Substanz. Die kortikale Grenze ist scharf, in der weißen Substanz mit Zellproliferation und Pigmentmakrophagen. Der Ventrikel ist ausgezogen, besonders im Spalt oberhalb der Ammonsformation finden sich Pigmentmakrophagen.

T 185 V5

Block + $\frac{3}{4}$: Vorne flache Schädigung, die Grenze wird von weicher Hirnhaut gebildet. Nach oben zeigt sich die amorphe Zone, nach unten neuronale Inkrustationen und eine geringe Zellproliferation mit Pigmentmakrophagen. Im Zentrum befindet sich ein dreieckiges Feld mit der Basis nach unten, Gefäßproliferate, außerdem noch Fettkörnchenzellen, Pigmentmakrophagen und Astrozyten.

Block + $\frac{1}{2}$: Vorne befindet sich noch das dreieckige Feld, welches sich aber nach hinten hin schnell verliert.

T 184 V5

Block + $\frac{3}{4}$: In der Mitte und hinten zeigt sich ein Prolaps, dann ein kleiner flacher Defekt und ganz hinten dreieckiges Feld wie bei T 185.

Block + $\frac{1}{2}$: Fortsetzung des dreieckigen Defektes auf eine kurze Strecke. Diese charakteristische Konfiguration nach unten ist offenbar durch die Beteiligung der weißen Substanz bedingt. Zum Ende hin zeigt sich wieder ein Prolaps.

T 192 V5

Block + $\frac{3}{4}$: Kaum zu beurteilen, flache kortikale Läsion.

Block + $\frac{1}{2}$: Ebenso schwer zu beurteilen; Die Läsion macht einen schon durchorganisierten Eindruck.

T 191 V5

Block + $\frac{3}{4}$: Vorne zeigt sich eine flache Grube mit einzelnen dunklen Neuronen. An diese schließt sich der schon erwähnte dreieckige Defekt an.

Block + $\frac{1}{2}$: Dreiecksbildung in den vorderen Schnitten wie oben beschrieben. Bald darauf zeigen sich wieder der Prolaps und die flache Läsion.

T 119 V5

Block + $\frac{3}{4}$: Vordere Schnitte: Prolaps. Daran schließt sich ein nach hinten flacher werdender, an den Rändern ausgefranster Defekt an. Dieser nimmt im weiteren Verlauf wieder die dreieckige Form an und setzt sich in die weiße Substanz fort.

Block + $\frac{1}{2}$: Angedeutete dreieckige Wundgestalt und weiterhin flacher Defekt.

T 357 V5

Block + $\frac{3}{4}$: In den vorderen Anteilen zeigt sich wieder der Prolaps, dann der flache, dreieckige Defekt.

Block + $\frac{1}{2}$: In den vorderen Anteilen sieht man den von einem Prolaps umrahmten flachen Defekt, der nach hinten hin in den Prolaps selbst mündet.

Die histologischen Merkmale der APC-Läsion lassen sich basierend auf den dargelegten Beobachtungen in V5 wie folgt zusammenfassen:

1. Die Schädigung erweist sich makroskopisch als ein kortikaler Trichter mit lateraler Prolapsbildung. Im Bereich der drei Schichten, die schon bei den Vorversuchen zu erkennen waren, bildet sich eine Organisationszone, die auch makroskopisch gut sichtbar ist. In der Mitte des Trichters findet sich in aller Regel eine zentral nach unten fortgesetzte Organisationszone, die bis in die bei der Ratte sehr dünne weiße Substanz reicht. Hier liegt das Hauptfeld der histologischen und makroskopischen Reaktion.
2. Die Grenzzonen gegenüber dem Kortex beidseits sind in den frühen Stadien (1-2 Wochen) mit den drei genannten Schichten versehen. Dabei ist die der Koagulation am nächsten gelegene Schicht jetzt ganz amorph; von der Peripherie derselben geht die Organisation aus. An der Organisation dieser amorphen Schicht beteiligt sich die weiche Hirnhaut, von der aus Züge einsprossen. Im Idealfall umgibt diese schmale Zone später die amorphe Schicht ellipsenförmig.
3. Die ursprüngliche Erbleichungsschicht ist offenbar das Zentrum der Regeneration nach oben (siehe 2.) und unten. Dabei ist die Infiltration und Regeneration zu den späteren Zeitpunkten (3-6 Wochen) in Richtung der seitlichen Kortexpartien minimal, zur weißen Substanz hin jedoch deutlich. Die zentrale Regenerationszone in der weißen Substanz erfüllt alle Kriterien der sich entwickelnden Kolliquationsnekrose mit Gefäßproliferaten, Fettkörnchenzellen und zystischem Abbau. Alle Reaktionen finden aber nur in mäßigem quantitativem Ausmaß statt.
4. Die weitere Organisation neigt dann im weiteren Verlauf zum zystischen Umbau. Die hemisphärische weiße Substanz wird in der Regel mit einbezogen, fakultativ auch der darunter liegende Spalt, welcher der Fissura hippocampi entspricht. Die benachbart liegende Ammonshornformation wird aber nie erreicht.

III.1.2.3. Hauptversuch 3

Histologie:

T 152 V6

- HE: Dreischichtige Läsion: 1) amorphe Schicht; 2) Fettkörnchenzellen, Astrozyten, Mesenchymatisation; 3) Einzelzellnekrosen, Ödem; typische Resorptionsnekrose bei diesen Versuchen in Stadium II-III.
- KRV: siehe oben.
- GFAP: Vereinzelt Nachweis perivaskulärer Astrozyten.
- PAS: Prächtiger Nachweis der Fettkörnchenzellen.

T 157 V6

- HE: Befund gleicht dem des Präparates T152, lediglich die amorphe Zone fehlt.
- KRV: siehe oben.
- PAS: Viele Fettkörnchenzellen, Darstellung der Gefäßproliferation.
Azan: Geringe Darstellung der Meningen.
- FragEL: nur angedeutet positiver Nachweis von Apoptosen, negativ zu werten.

T 828 V6

- HE: 3 Schichten, deutliche Organisation der amorphen Zone durch Gefäßproliferate; in der zweiten Zone einsprossende Hirnhaut; in der Mitte Fettkörnchenzellen und Astroglia; die dritte Zone zeigt Einzelzellnekrosen und ein Ödem.
- KRV: Einzelne dunkle Neurone in der dritten Zone.

T 829 V6

- HE: Ausgedehnte Läsion, die amorphe Zone ist fast verschwunden und durch Fettkörnchenzellen ersetzt; zentral ist die Läsion zystisch, im Randgebiet sieht man lateral einsprossende Leptomeninx; am Rand Fettkörnchenzellen und Astrozyten.
- KRV: Einzelne dunkle Neurone corticolateral.

T 826 V6

HE:	Zystische Läsion, im Randbereich Fettkörnchenzellen, lateral jeweils blind endende Leptomeninxausläufer.
KRV:	siehe oben.
PAS:	Deutliche Darstellung einiger Fettkörnchenzellen.
vGiesson:	ohne zusätzliche Aussage.
Masson:	Nur geringfügige Anfärbung der lateral bedeckenden Leptomeninx.
GFAP:	Nachweisbare Astrogliose zentral am Zystenrand.

T 901 V6

HE:	Drei Zonen; die amorphe Zone ist weitgehend oberflächlich resorbiert durch Fettkörnchenzellen eingescheidet und von Kapillaren durchzogen; peripher Fettkörnchenzellen; lateral ist die Läsion durch Leptomeninx, zentral von Fettkörnchenzellen und Astrozyten begrenzt; vereinzelt finden sich Pigmentmakrophagen.
KRV:	Wenige dunkle Neurone.
PAS:	Deutliche Darstellung der Fettkörnchenzellen. Azan: Deutlicher Nachweis der lateral bedeckenden Leptomeninx mit Gefäßen.
FragEL:	Negativ, kein Nachweis von Apoptosen.

T 160 V6

HE:	Fehlende amorphe Zone (offenbar schon organisiert), laterale Einsprossung von Leptomeninx, zentral Fettkörnchenzellen und Astrogliose.
KRV:	Ganz vereinzeldunkle Neurone.
PAS:	Brillianter Nachweis von Fettkörnchenzellen.
FragEL:	Negativ, kein Nachweis von Apoptosen.

T161 V6

- HE: Weitgehend organisierte amorphe Zone (wenig erhalten), von Kapillaren durchzogen, peripher begrenzt durch Fettkörnchenzellen; zentrale Zyste; lateral Proliferation der Leptomeninx.
- KRV: Inkrustation einzelner dunkler Neurone.
- PAS: Nachweis von Fettkörnchenzellen (auch in der Zyste).
- GFAP: Deutliche Randgliose um die Zyste herum.

T 158 V6

- HE: Deutliche Ausbreitung der Leptomeninx von beiden Seiten über der amorphen Zone; sie wächst zwischen amorpher und Reaktionszone beiderseits lateral, jedoch nicht bis zur Mitte reichend; in der Mitte Fettkörnchenzellen und Astrozyten, in der amorphen Zone Makrophagen und Mikroglia.
- KRV: Ganz vereinzelt dunkle Neurone.
- PAS: Nachweis von Fettkörnchenzellen.
- Azan: Nachweis der zentralen und peripheren Organisation der amorphen Zone durch Leptomeninx auf beiden Seiten.
- FragEL: Negativ, kein Nachweis von Apoptosen.

T 159 V6

- HE: Reaktionsloser Prolaps, deskriptiv nicht zu verwenden.

T 153 V6

- HE: Mit dem Ventrikelsystem verbundene, inerte Zyste; der Zystenrand ist weitgehend reaktionslos, einzelne Fettkörnchenzellen und Astrozyten.

- KRV: Leptomeninx bedeckt die Ränder lateral; Einrollungsfigur; Rand noch teilweise mit Regenerationsgewebe.
- PAS: Nachweis von Fettkörnchenzellen nur noch lateral in der Regenerationszone.
- GFAP: Darstellung der astrozytären Zystenrandgliose.

T 154 V6

- HE: Flache Grube ohne Zyste mit lateral bedeckender Leptomeninx, Fettkörnchenzellen und einzelnen Pigmentmakrophagen; zentral reaktionslos.
- KRV: Wenige dunkle Neurone in Ammonsformation CA1
- PAS: Nachweis einzelner Foci von Fettkörnchenzellen, zentral und peripher.

Dieser Versuch zeigt, dass die charakteristische Läsion der Argon-Plasma-Koagulation unter den standardisierten Bedingungen dieses Versuchsaufbaus reproduzierbar ist und in ihrer Ausdehnung der Applikationsdauer entspricht. Dabei wurde der Gasflow auf 0,2 l/min und die Leistung auf 20 Watt bei allen Versuchen festgelegt. Sowohl in V5 als auch in V6 ist die maximale Ausdehnung der Läsion nach zwei Wochen erreicht. Das Profil der Eindringtiefe im gesamten Verlauf über 6 Wochen ist dabei in beiden Versuchen vergleichbar.

III.2. Gesamtergebnis

III.2.1. Postoperatives Verhalten der Tiere

Die Eingriffe wurden von den Versuchstieren sehr gut toleriert. Alle Tiere erlangten die volle motorische Leistungsfähigkeit und die üblichen Verhaltensweisen innerhalb der ersten 6 Stunden nach dem Abklingen der Anästhesie wieder. Es konnten diesbezüglich keine bleibenden Schäden beobachtet werden; es wurden jedoch keine Verhaltenstests durchgeführt.

III.2.2 Makroskopischer Befund nach Perfusion und Entnahme des Gehirns

Die präparierten Hirne zeigten makroskopisch sichtbare Defekte, die als flache Mulden auf der Oberfläche imponierten (Abbildung 11).



Abbildung 11: APC-Läsion auf der Oberfläche des frisch fixierten und entnommenen Rattenhirnes

III.2.3 Morphometrische Evaluation

Die morphometrische Analyse, die zur Bestimmung der Läsionsgröße vorgenommen wurde, ergab einen Verlust an kortikaler Substanz mit einer Tiefe von 0,75 mm unmittelbar nach Applikation. Dieser entwickelte sich zu einer trichterförmigen Läsion von ungefähr 1 mm Tiefe nach 2 Wochen; nach 4-6 Wochen Überlebenszeit verblieb ein flacher konkaver Defekt von ungefähr 0,5 mm Tiefe als endgültige „Narbe“. Die planimetrischen Ausmaße der fehlenden kortikalen Zonen in den verschiedenen Ebenen ergaben die durch Interpolation berechneten Volumen in Tabelle 1.

Wochen	1	2	3	4	5	6
Volumen in mm ³	1,26	3,19	2,40	2,04	1,95	2,08

Tabelle 1: Zeitliche Entwicklung der Defektvolumen auf der kortikalen Oberfläche.

Diagramm 1 zeigt, dass der Defekt seine Hauptausdehnung nach zwei Wochen erreicht und danach langsam abnimmt, um nach drei Wochen beinahe konstante Werte zu behalten. Das Defizit bleibt in der Masse nach ca. 3 Wochen unverändert.

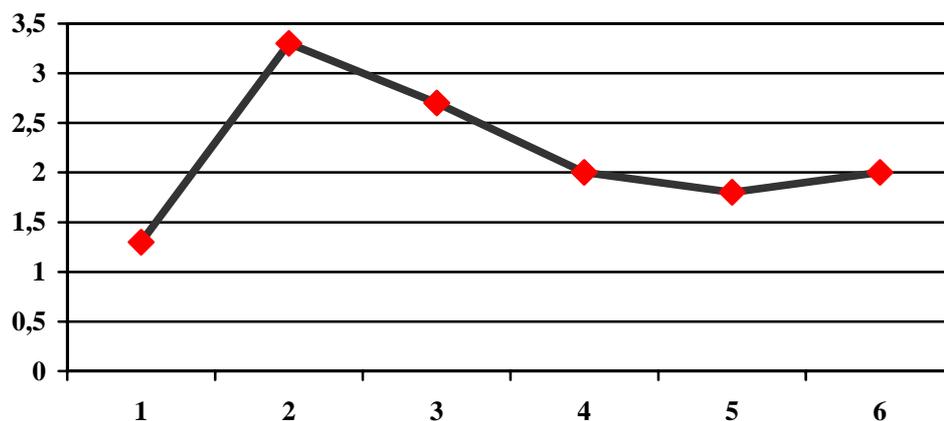


Diagramm 1: Entwicklung der Defektvolumen der kortikalen Oberfläche von 1-6 Wochen.

III.2.4. Morphologie der APC-Läsion am Rattenhirnkortex in der Frühphase

Frühe Veränderungen am Ort der Applikation war die Ausbildung gut abgrenzbarer konzentrischer Zonen, die mit Anilin-Färbungen dargestellt werden konnten.

Histologisch konnte dieselbe Schichtung von Anfang an beobachtet werden, selbst bei den frisch entnommenen Hirnen bei zeitnaher Analyse (V1/V3). Die verschiedenen Zonen (1-4) konnten an einigen Präparaten teilweise schon durch ihre unterschiedliche Färbungsintensität differenziert werden (Abbildung 12). Die Abgrenzung zwischen den Zonen ist sehr klar; die vierte, äußere Zone färbt sich jedoch wie das umliegende Hirngewebe an. Verstreute Einzelzellnekrosen in dieser Schicht sind nur mikroskopisch zu erfassen.

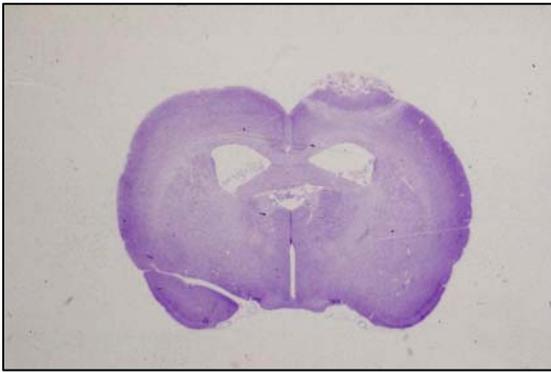


Abbildung 12: Unterschiedliche Färbeintensität der Läsionsschichten



Abbildung 13: Histopathologische Veränderungen in Zone 1

Die oberste Schicht bestand aus geschrumpften Gewebebrücken, die um ausge dehnte Löcher gruppiert waren. Innerhalb dieser Gewebebrücken blieben Zellkonturen teilweise „schattenartig“ in der HE- und als schwarze Konglomerate in der Kresylviolett färbung erhalten (Abbildung 13). Diese Veränderung war am ehesten mit verbranntem Gewebe zu vergleichen und wurde auch in kurzer Zeit demarkiert; nach vier Stunden war die Ablösung dieser obersten Schicht von der darunter liegenden schon mit bloßem Auge bei der Präparation zu erkennen.

Die nächste konzentrische Schicht war am Anfang und während der ersten Stunden der Gewebereaktion vergleichbar mit der obersten im Bezug auf die Erhaltung der Gewebsanteile, jedoch ohne die Ausbildung der auffälligen Löcher. Beide Schichten waren scharf abgegrenzt. Der Unterschied der beiden Schichten trat in der Anilinfärbung aufgrund der unterschiedlichen Dichte derselben auf; die zweite Schicht imponierte als „nicht reaktiv“, da die Gewebskohärenz zwar gut erhalten war, die Nuclei und Protoplasmata sich jedoch nur schwach anfärbten. Die dritte Zone hatte ein schwammartiges Aussehen. Das Gewebe war durch zahlreiche kleine Kavitäten (Perikarya und andere Gewebebestandteile zwischen sich einschließend) umgewandelt. Die Neuronalen Perikarya imponierten in der Lichtmikroskopie als „dunkle Neurone“. Man kann die spongiforme Veränderung dieser Schicht einem Ödem zuschreiben, welches eine direkte komprimierende Kraft auf die Zellen auszuüben scheint. Das Ödem besteht sowohl extra- als auch intrazellulär.

An diese Schicht schließt sich eine vierte an, in der Veränderungen einzelner Zellen zu beobachten waren, die Gewebskohärenz insgesamt aber erhalten war. Die Alterationen waren „dunkle Neurone“ oder Neurone in der so genannten „dark condition“. Diese dunklen neuronalen Perikarya, die also in den Schichten 3 und 4 gefunden wurden, färbten sich in der Kresylviolett färbung dunkelblau und in der HE-Färbung dunkelrot; dies steht im Gegensatz zur ischämischen Zellveränderung, welche in der HE-Färbung hell erscheinen würde. In den meisten Fällen war das Auftreten der dunklen Perikarya auf die genannten Zonen begrenzt, was die direkte Abhängigkeit dieser Reaktion zur APC-Applikation anzeigt.

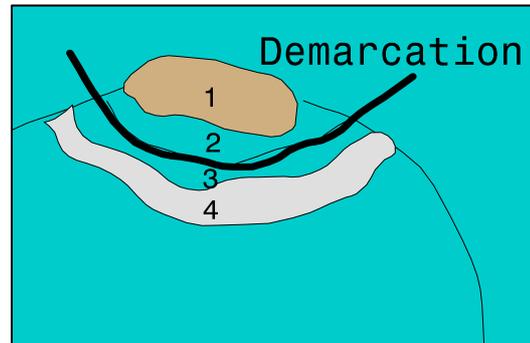
III.2.5 Weitere Entwicklung der Läsion

Die oberen beiden Schichten wurden bei einem großen Teil der Fälle demarkiert oder früh abgestoßen. Während der ersten 4-8 Stunden formiert sich eine Demarkation zwischen Schicht 2 und 3; die reparativen Prozesse begannen in der dritten Schicht im späteren Verlauf. Die nicht abgestoßenen Anteile der zweiten Schicht wurden in die nachfolgende Organisation mit einbezogen. Die Reparatur vollzog sich in zwei Richtungen, einer horizontalen und einer vertikalen. In der horizontalen Ebene begann die Organisation an den Rändern der Läsion; folglich entstand im Zentrum eine

vertikale, keilförmige Verlängerung. Diese zeigte eine rein gliäre Organisation, während die Ränder gemischt mesenchymal und gliär imponierten (Abbildung 14, Schema 1).



Abbildung 14: Darstellung der verschiedenen Schichten unmittelbar nach APC-Koagulation.



Schema 1:

1: Nekrosezone

2: Areaktive Zone

3: Ödematös-spongiöse Zone

4: Zone mit Einzelzellnekrosen. Schwarze

Die Organisation in horizontaler Richtung beginnt mit der Proliferation der Leptomeninx einige Tage nach der Applikation; diese umschließt die zweite Schicht von unten und oben. Nachdem die Nekrosezone abgestoßen wurde, bildet sich die Hirnhaut weiter an den äußeren und inneren Grenzen der verbleibenden amorphen Schichten 2 und 3 aus (Abbildung 15).

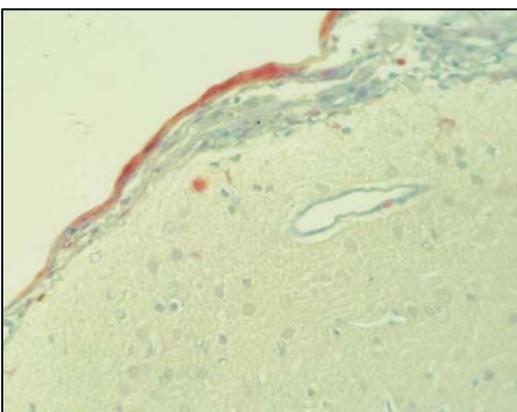


Abbildung 15: Proliferation der Leptomeninx

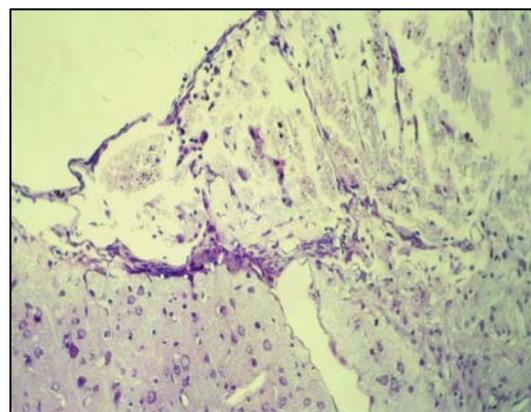


Abbildung 16: Einwanderung von Makrophagen und Kapillareinsprossung

Folglich war die Reparationszone von allen Seiten von Bindegewebe umschlossen, welches sich langsam zum Zentrum der Läsion ausdehnte. Noch verbliebene Zelltrümmer wurden durch eingewanderte Makrophagen und eingesprossene Kapillaren abgeräumt (Abbildung 16). Das Gewebe wandelt sich im Verlauf zunehmend zystisch um.

Im Zentrum der Läsion bildete sich die typische Kolliquationsnekrose des ZNS aus: Einwandern von Mikroglia aus den Gefäßen und deren Transformation in Fettkörnchenzellen, Kapillareinsprossung, Kolliquation und eventuelle zystische Umwandlung (Abbildung 17). Der Prozess der Reparatur war jedoch asymmetrisch, da er nur an der inneren Grenze der zweiten, amorphen Schicht begann. Seine Erweiterung jedoch reichte tiefer in das Hirn hinein und zeigte folglich eine dreieckige Form mit der Spitze zum Zentrum hin liegend. Dieser Prozess erlangte nach zwei Wochen in seine volle Ausprägung, nivellierte sich in Abstufungen während der Beobachtungszeit von 6 Wochen, ohne seine Aktivität in dieser Zeit einzubüßen.

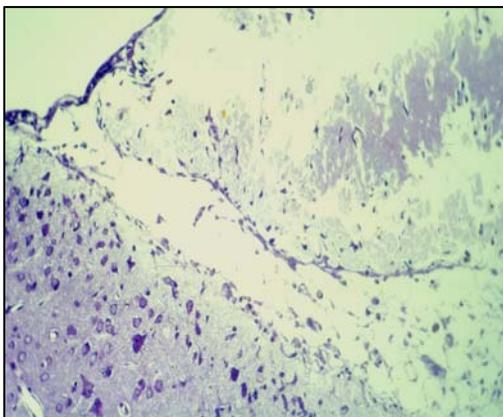


Abbildung 17: Kolliquationsnekrose im Zentrum der Läsion

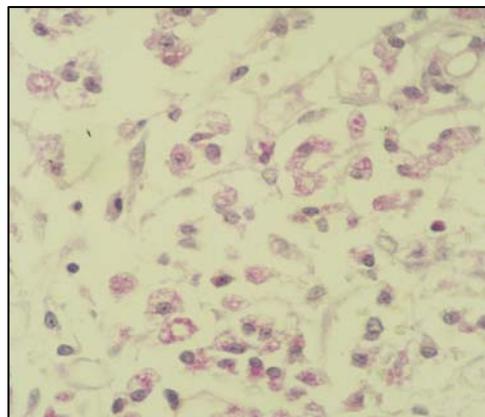


Abbildung 18: Vollbild der Resorption mit Fettkörnchenzellen

Blutungen waren selten und auf die innere Zone beschränkt; das Auftreten von versprengten eisenhaltigen Pigmentmakrophagen konnte nur in wenigen Fällen aufgezeigt werden. Typische Fettkörnchenzellen als Zeichen der Resorption waren in der ganzen Läsion zu sehen (Abbildung 18).

Die Kolliquationsnekrose des Nervengewebes wird durch einen Astrozytenwall begrenzt (Abbildung 19). Zudem lassen sich in dem geschädigten Gebiet mittels FragEL-Färbetechnik Apoptosefiguren nachweisen (Abbildung 20).

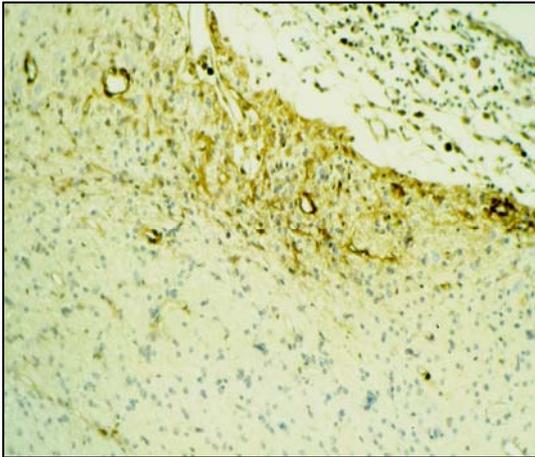


Abbildung 19: Demarkation der Läsion gegen gesundes Gewebe durch Astroglia

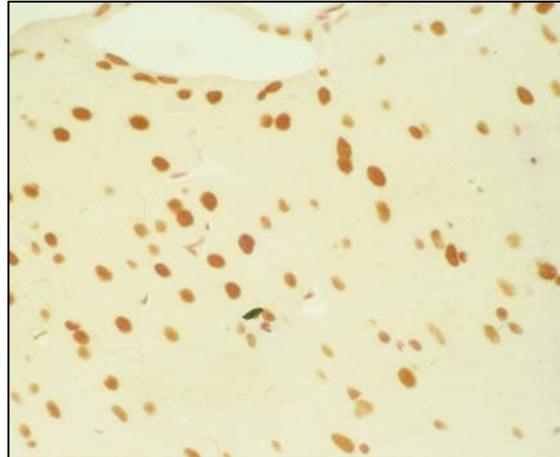
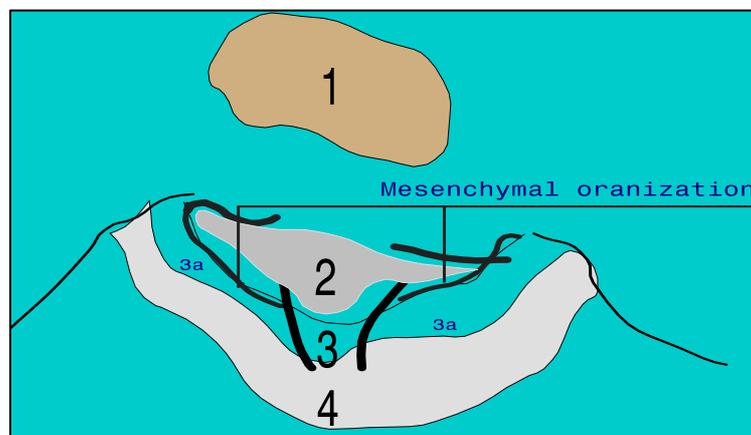


Abbildung 20: Apoptosefiguren im geschädigten Gebiet (Frag-EL-Färbung)

Schema 2 zeigt den Verlauf der Organisation. Die Nekrosezone (1) wird abgestoßen. Die zweite Schicht ist der Hauptort der Organisation; sie wird im zeitlichen Verlauf durch Narbengewebe ersetzt. Zone 3 kann in zwei Abschnitte eingeteilt werden: in den lateralen Anteil (3a), der von mesenchymalen und gliären Hüllen umschlossen wird, und den zentralen Anteil, der rein gliär organisiert wird. In Zone 4 kann außer einzelnen Zellschäden keine bemerkenswerte Veränderung erkannt werden.



Schema 2: Organisation der APC-Läsion

IV. Diskussion

IV.1 Diskussion des Versuchsaufbaus

In den hier dargestellten Experimenten wurde versucht, ein Tiermodell zu etablieren, mit dem die Auswirkung der Argon-Plasma-Koagulation auf das Hirngewebe der Ratte untersucht werden konnte. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die Läsion unter den gegebenen standardisierten Umständen reproduzierbar ist. Bei den Vorversuchen ging es um die Einschätzung und das Testen der operativen Möglichkeiten an der erwachsenen anästhesierten Ratte und um die Bestätigung der Befunde an Rattenhirnen kurz zuvor getöteter Tiere.

Zunächst kann bei den vorliegenden Ergebnissen der Vorversuche festgestellt werden, dass die APC-Applikation in der vorliegenden Form an kleinen Nagetieren brauchbar ist. Die Leistung und Einwirkungsdauer der Applikation erscheint uns in diesem Modell optimal, da die weiße Substanz in die Organisation der Läsion mit einbezogen wird; die daneben liegende Ammonsformation wird nie durch die Koagulation erreicht oder an den Umbauprozessen beteiligt. Wir können bestätigen, dass die Tiefe der Läsion nach der Applikation die Marke von 0,8 mm nicht überschreitet (Teimourian et al. 1991). Unsere Beobachtung, dass das Ausmaß der Gewebeschädigung von der Applikationsdauer und der Leistung abhängt, wird durch Untersuchungen an intraoperativ gewonnenen Ovarialtumoren bestätigt (Bristow et al. 2001).

Weiterhin wird durch die Vorversuche deutlich, dass das relativ kurzfristig postoperativ entnommene Rattenhirn im Prinzip dieselben Veränderungen zeigt wie lebensfrisches, dann aber nicht mehr durchblutetes Gewebe (V1 und V3). Auch hier findet sich in der Regel eine Schichtung. Im Bereich der ersten „amorphen“ Schicht sind allerdings schon alle Zellen nach 24 Stunden verschwunden. Die Befunde widersprechen jedoch in keinem Punkt der vorher postulierten Einwirkungshypothese.

Durch die Ergebnisse der Vorversuche wird deutlich, dass die Argon-Plasma-Koagulation ähnliche Läsionen am Hirngewebe verursacht, wie sie auch an anderen Geweben beobachtet wurden (Brand et al. 1998). Der erste Hauptversuch zeigt jedoch, dass die Gefahr der intra- oder postoperativen Infektion der Versuchstiere zur Gewinnung von histologisch verwertbaren Ergebnissen vermieden werden musste. Die Ergebnisse dieses Versuchs (V4) konnten wegen der Abszesse nur zur inneren Qualitätskontrolle genutzt werden. Die reaktiven Veränderungen, die bei den aufgetretenen Abszessen nach sieben und vierzehn Tagen zu beobachten waren, waren weitaus stärker und tief greifender als in allen Folgeversuchen. Dies weist darauf hin, dass mit APC ein einmaliger Schaden gesetzt wird, der in der Tiefenausdehnung gering über die Verkochungszone hinausgeht und repariert wird, ohne zu einer chronischen Reizung zu führen. Durch die fehlerhafte Behandlung wird also die Einschätzung bestätigt, dass sich der Gewebeschaden durch das Prinzip der APC selbst limitiert. Die Ergebnisse der Vorversuche in Verbindung mit den Ergebnissen der „ersten Halbzeit“ des Hauptversuches 1 sind immerhin für schlüssig genug gehalten worden, um die frühen Veränderungen nach APC-Applikation in Tagen zu dokumentieren und zu demonstrieren.

Für den nächsten Hauptversuch wurde deshalb ein Protokoll gewählt, in dem die Tiere im Abstand von mehreren Wochen überleben sollten. Die Ergebnisse der Hauptversuche V5 und V6 bestätigen die durch die Probleme des Versuchs V4 geänderte Strategie. Nach der Begrenzung der Operationszahl auf zwei Eingriffe pro Sitzung, der gründlichen Sterilisation der Instrumente und der Spülung des Operationsgebietes mit Vancomycinlösung wurden keine Fälle von postoperativen Infektionen mehr beobachtet. Subjektiv haben keine motorischen oder Verhaltensauffälligkeiten beobachtet, jedoch wurden entsprechende Tests zur Objektivierung dieser Einschätzung nicht gemacht.

Durch die intravitale Perfusion wurde das Stadium der Reparation im jeweiligen zeitlichen Abschnitt fixiert und konnte histologisch und histomorphometrisch gut beurteilt werden. Die Berechnung der Läsionsvolumina durch Rotationsellipsoide wurde zugunsten der unter II.8 beschriebenen Methode verworfen. Im Vergleich der

beiden Modelle zeigt sich, dass durch Ellipsen die unregelmäßige Form der Läsion nicht abgebildet werden kann. Die Ellipse berücksichtigt zu wenige Parameter (maximale Länge und Höhe nur eines Schnittes), um die unregelmäßige Kontur der Läsion korrekt wiedergeben zu können. Die Addition der aufeinander folgenden Einzelvolumina ergibt unter diesen Bedingungen ein genaueres Bild der Läsion, weswegen wir uns für diese Methode zur Ermittlung der Volumina entschieden haben.

Das hier beschriebene Tiermodell liefert in seiner hier dargestellten Form zuverlässige Ergebnisse und wird daher in der zukünftigen Bearbeitung des Themas weiter Verwendung finden.

IV.2 Diskussion der Beobachtungen an der APC-Läsion

Das durch die APC entstandene Gewebedefizit erreicht nach zwei Wochen seine maximale Ausdehnung, verliert dann durch Organisationsprozesse an Volumen. Dieses bleibt im weiteren Verlauf nach ca. 3 Wochen unverändert; nichtsdestotrotz finden auf histologischer Ebene Umbauprozesse statt, die nach den hier beobachteten 6 Wochen noch nicht abgeschlossen sind. Die Organisation der Läsion ist innerhalb von zwei Monaten zum größten Teil abgeschlossen; von diesem Zeitraum wurde aufgrund vorhergehender Resultate bei experimenteller Infarzierung der A. cerebri media bei Mäusen ausgegangen (Mennel et al. 2000). Daher begrenzte sich die Beobachtungsdauer auf die gewählten sechs Wochen.

Bei der histologischen Untersuchung der APC-Läsion konnte am Nervengewebe die typische Schichtung, wie sie schon bei anderen Geweben beschrieben wurde (Bergler et al. 1998), reproduziert werden. Die weitere Beobachtung der einzelnen Schichten könnte hilfreich sein, neue Erkenntnisse der zellulären Prozesse des reversiblen und nicht reversiblen Nervenschadens zu erlangen. Bei der hier gezeigten experimentellen H(A)PC-Applikation hat sich über die ursprüngliche Fragestellung hinaus ein neues Modell zur morphologischen Analyse der Schädigung von Nervengewebe ergeben. Dies wurde deutlich, als in der vierten Schicht das Auftreten von so genannten „dunklen Neuronen“ beobachtet werden konnte.

Die Läsion und damit auch das Auftreten der dunklen Neurone ist in der Art der zellulären Veränderungen und der Gliederung derselben um den Ausgangspunkt der Applikation herum verlässlich reproduzierbar; daher könnte unser Modell sehr gut geeignet sein, vorhergehende pathogenetische Ansätze zu dieser Fragestellung zu unterstützen und erweitern (Engel et al. 2000, Hermann et al. 2000). Dies könnte vor allem bei der Analyse von apoptotischen Geschehen bei Hirntraumata (Raghupathi et al. 2000) und anderen Krankheiten der Fall sein, da deren Vorkommen in vielen Arbeiten beschrieben worden ist. Deren quantitatives Ausmaß, zeitlicher Verlauf und Wichtigkeit sind jedoch nur teilweise bekannt.

Dunkle Neurone sind die Nervenzellen, die bei einer Nervenschädigung zuerst für ein apoptotisches Zugrundegehen in Frage kommen. Sie sind in der experimentellen Forschung über das menschliche und tierische zentrale Nervensystem schon lange beobachtet und beschrieben worden. Während dieses Zeitraums entstand eine lang anhaltende Debatte, ob diese dunklen Neurone intravitale oder artifizielle Natur seien, da sie sehr kurz nach der entsprechenden Gewebeschädigung und nur in aldehydfixiertem Gewebe gefunden wurden. In späteren Veröffentlichungen jedoch fanden sich diese Zellen in einem Tiermodell zum ischämischen und epileptischen Nervenzellschaden (Söderfeldt et al. 1983). Mittlerweile schreibt man diesen Zellen die Fähigkeit zu, sich nach ihrer reversiblen Veränderung vollständig zu erholen (Auer, Benveniste 1997). Sie haben eine Affinität zu sowohl basischen als auch sauren Färbungen. Dies äußert sich in der dunklen respektive roten Färbbarkeit mit Kresylviolett und Fuchsin. Manche Autoren nehmen an, dass sie eine frühe Phase der apoptotischen Kaskade darstellen (Li et al. 1995); andererseits wurde eine Desintegration des Zytoskeletts als Ursache des augenscheinlichen Zusammenbruchs des Zellkörpers dieser Neurone postuliert (Yao et al. 1995).

Faktisch bleibt die Pathogenese des Zellschadens dunkler Neurone ungeklärt (Kalimo et al. 1997). Die Ergebnisse dieser Studie und des HPNS-Modells (Stumm et al. 2001) unterstreichen die Annahme, dass es sich hierbei um einen intravitalem, reversiblen Zustand handelt. Dies wird durch den Vergleich der neuronalen Morphologie in fixierten und unfixierten Proben geschlussfolgert. Die „dunklen Neurone“ sind durch unser Modell in ihrem Auftreten reproduzierbar. Das hier gezeigte Modell könnte sehr gut geeignet sein, die Pathogenese dieses Phänomens zu erhellen.

Die pathologischen Mechanismen der traumatischen Hirnläsion waren sowohl im Tiermodell als auch beim Menschen Gegenstand der Forschung (Spatz 1941, Graham et al. 2000). Trotz grundlegender Gemeinsamkeiten verschiedener Arten von Verletzungen muss die Pathomorphologie der auf das Gehirn einwirkenden Kräfte bei deren Untersuchung mit in Betracht gezogen werden. Das hier gezeigte Tiermodell verfügt über die Charakteristika einer schonenden Thermokoagulation. Die charakteristische Schichtung dieser Schädigung wurde bereits bei Untersuchungen der Effekte des Nd:YAG-Lasers auf das Rattenhirn beschrieben (Kiessling et al. 1990).

Die Methode der monopolaren Koagulation hat das Interesse der neurochirurgischen Praxis schon vor längerer Zeit geweckt. Die Ergebnisse der experimentellen Vergleiche der monopolaren und bipolaren Effekte auf das Hirn sind jedoch recht alt (Chehrazi and Collins 1981). In einer Studie, die beide Prinzipien mit besonderem Augenmerk auf deren Wirkung auf Gefäße untersuchte (Kerl and Straubesand 1988), zeigte sich, dass die durch die monopolare Koagulation induzierte Läsion größer war als die der bipolaren. Dies ist offensichtlich bei H(A)PC nicht der Fall, da die Schädigung des Hirngewebes sehr definiert und annähernd atraumatisch in kleiner Entfernung zur Primärläsion liegt, wie die hier dokumentierten Experimente zeigen. Diese Einschätzung wird von Elmaci et al. (2002) bestätigt, die anhand von histologischen Untersuchungen zeigen konnten, dass APC im Vergleich zu bipolarer Koagulation an Rattengefäßen einen signifikant geringeren Schaden verursacht. Daher kann vermutet werden, dass die unmittelbaren und späteren Residuen der H(A)PC auf die klaren Grenzen der geschaffenen Läsion beschränkt bleiben.

Weiterhin ist in den histologischen Auswertungen aufgefallen, dass im zeitlichen Verlauf an den lateralen Rändern der dritten Schicht neben den gliären und kapillären Anteilen die Leptomeninx eine noch nicht beobachtete Rolle bei der Organisation der Läsion spielt. Die Untersuchung dieser mesenchymalen Beteiligung bei der Reparation des Gewebeschadens könnte weitere Erkenntnisse zum Verständnis der Vorgänge bei der Organisation solcher und anderer Läsionen im ZNS beisteuern.

IV.3 Ausblick auf die praktische Anwendung der APC in der Neurochirurgie

Die Läsionen in der Neurochirurgie sind vaskuläre oder vaskularisierte (Plate, Mennel 1995): Malformationen und Tumore. Sowohl benigne als auch maligne intrakranielle Tumoren sind durch eine massive Neovaskularisation gekennzeichnet. Diese Tumore müssen jedoch unter größtmöglicher Schonung der am Krankheitsprozess unbeteiligten Strukturen operiert werden. Daher sucht man Methoden, die das Risiko minimieren, diese Areale zu verletzen. Blutungen im Operationsgebiet sind selten, doch potentiell fatal; daher sind alle Methoden, die das Risiko einer Blutung im Operationsgebiet minimieren, in der Neurochirurgie willkommen. Die gewachsene Bedeutung der Embolisation durch Mikrokatheterisierung bei vaskulären Malformationen (Valvanis, Yasargil 1998) spiegelt diesen Anspruch wider.

Unsere Experimente waren dazu bestimmt, die These der praktischen Anwendbarkeit der A(H)PC-Koagulation bei neurochirurgischen Eingriffen zu unterstützen. Besondere Aufmerksamkeit wurde dabei auf die morphologische Entwicklung der Läsion im zeitlichen Verlauf gerichtet. Obwohl die Situation im dargestellten Modell nicht repräsentativ für alle neurochirurgischen Gegebenheiten am Menschen ist, ist es dennoch angemessen, aus diesen am Tiermodell gewonnenen Erkenntnissen Schlüsse für die klinische Anwendung zu ziehen.

Bisher war die Kontrolle von Blutungen bei intrakraniellen Eingriffen eine Domäne der bipolaren Koagulation (Malis 1996). Dieses Vorgehen muss jedoch angesichts neuerer Forschungsergebnisse überdacht werden. APC zeigt bei tierexperimentellen Studien an Rattenarterien im Gegensatz zu bisherigen monopolaren Systemen einen signifikant

geringeren Gewebeschaden als bipolare Koagulation (Elmaci et al. 2002). In Situationen mit starken Blutungen kann der Einsatz von zuviel bipolarer Koagulation zu einem ungewollten Gewebeschaden führen, besonders wenn diese Blutstillung bei pathologischen Gefäßen erreicht werden muss. Diese kleinen Gefäße sind bei arteriovenösen Malformationen in gesundes Gewebe eingebettet und zeigen keine koagulationsbedingte Schrumpfung, so dass hier ein gewebeschonendes Vorgehen immer noch ein ungelöstes Problem darstellt. Daher sollte jede Methode, die potentiell den Gewebeschaden minimieren und/oder die Blutstillung verbessern kann, zur Behandlung solcher Läsionen in Betracht gezogen werden.

Sutton et al. (1998) waren die ersten, die die APC bei der Entfernung eines Plexuspapilloms eingesetzt haben. Der Blutverlust konnte durch den Einsatz von APC gut begrenzt werden und machte die schrittweise Resektion dieser Geschwulst in diesem Fall erst möglich. Bei Neoplasien dieser Art ist die Blutversorgung nicht von einem einzigen Gefäß ausgehend, vielmehr wird sie durch eine diffuse Vaskularisierung sichergestellt. Wie in diesem Fall demonstriert wurde, zeigt sich die Stärke von APC im Erreichen der Hämostase im diffus blutenden Tumorbett. Neben dem Plexusadenom, das eine sehr seltene Neoplasie darstellt, könnte man sich eine Anwendung der APC bei der Entfernung anderer gefäßreicher Tumoren, wie zum Beispiel Meningeomen oder Hämangioblastomen, vorstellen. Auch bei der mikrochirurgischen Entfernung von zerebralen Kavernomen (Bertalanffy et al. 2002), die auch zur Gruppe der stark vaskularisierten Tumoren zählen, könnte die APC aus eben diesen Gründen ihre Anwendung finden.

Die Ergebnisse der Arbeit von Myazawa et al. (2000) weisen in dieselbe Richtung. Bei der Hämostase und der Entfernung von Tumoren, die an der Schädelbasis lokalisiert sind, erweist sich APC als nützlich und gut einsetzbar. Die Blutversorgung durch die Schädelbasis penetrierende Arterien konnte mit der Methode sehr gut unterbunden werden. Außerdem beobachtet man bei der Koagulation von inkapsulierten Tumoren und deren oberflächlichen Blutgefäßen eine Kapselschrumpfung, die sich durch die auftretende Hitze entwickelt. Die Dissektion solcher Raumforderungen wird durch dieses Zusammenziehen erleichtert, da die umliegenden Strukturen wie z.B. die

Arachnoidea minimal manipuliert werden müssen. Auch bei dem transssphenoidalen Zugang zur Entfernung der Hypophysenadenome kann mit APC eine suffiziente Blutstillung der Nasalmukosa erreicht werden, die in früheren Arbeiten schon beschrieben wurde.

Es gibt noch weitere Argumente, die eine Verwendung der APC bei solchen diffusen Blutungen unterstützen. Die Non-contact-Methode hat den Vorteil, dass das Instrument nicht mehr in Kontakt mit der verschorften Oberfläche steht und somit die Blutstillung nicht durch das Abziehen dieser Oberfläche mit der Pinzette zunichte gemacht wird. Zusätzlich bläst der Fluss des Argongases das zu koagulierende Gebiet von Blut und Flüssigkeit frei, ein Umstand, der dem Operateur die Arbeit sehr erleichtert. Die geringe Eindringtiefe und damit auch die minimale, gut kontrollierbare Hitzeschädigung schont gesundes Gewebe und minimiert damit das Risiko von neurologischen Ausfällen (Sutton et al. 1998). Wir haben bei unseren Versuchstieren keine Ausfälle dieser Art beobachten können, obwohl hierzu keine spezifischen Tests durchgeführt wurden (Riegel et al. 2002).

Ein endoskopischer Ansatz zur neurochirurgischen Anwendung ist noch nicht in Aussicht, aber denkbar; ein minilaparoskopischer Applikator ist jedenfalls schon entwickelt (Platt und Heniford 2000). Ob dieser jedoch auch in der endoskopischen Neurochirurgie bei Indikationen wie der MIEN-Chirurgie (Bauer und Hellwig 1994) angewendet werden kann, ist noch fraglich. Die Vorteile der APC sind durch Beobachtungen in den anderen operativen Fachrichtungen augenscheinlich geworden: die Operationszeit wird durch effiziente Blutstillung verringert und der intraoperative Blutverlust bei nahezu allen Anwendungen minimiert. Diese Eigenschaften könnten auch in der Neurochirurgie bei problematischen Patienten wie Zeugen Jehovas (Majeski 2000, Ross et al. 1997) oder bei antikoagulierten Patienten mit postoperativen Blutungen (Thronson und Walstad 1999) helfen. Dazu müssen jedoch durch weitere Forschung in diesem Gebiet die Indikationen für die APC in der Neurochirurgie klar abgesteckt werden.

Fundierte Erfahrungen, ob APC im neurochirurgischen Alltag eine Rolle spielen kann, fehlen zu diesem Zeitpunkt. Unsere und auch andere Forschungsergebnisse zeigen jedoch, dass es durchaus Indikationen zu geben scheint, bei denen die Anwendung von APC eine Alternative zur bisherigen Praxis bieten kann. Denkbare Anwendungsgebiete wären nach unserer Einschätzung die Blutstillung von Wundbett- und Tumorbettarealen sowie bei der Resektion intrakranieller Hämangiome. Ob und inwieweit das Verfahren die bipolare Koagulation in der Neurochirurgie ergänzen oder auch ersetzen kann, ist vor allem von Ergebnissen der klinischen Erforschung dieser Methode abhängig.

V. Schlussfolgerungen

- Das vorgestellte Tiermodell liefert zuverlässige Ergebnisse und ist daher zur weiteren Untersuchung der Wirkung von APC am Tiermodell gut geeignet; darüber hinaus ist es zur Untersuchung von noch nicht vollständig verstandenen Reparaturmechanismen bei Nervengewebsschäden anwendbar.
- Die in den Hauptversuchen gesetzten Läsionen zeigen die schon an anderen Geweben beobachtete typische Aufteilung in vier Schichten.
- Bei der Applikation von APC an Nervengewebe lassen sich in der vierten Schicht der Läsion zuverlässig dunkle Neurone nachweisen.
- Morphometrisch zeigt die Läsion im zeitlichen Verlauf bei verschiedenen langer Applikationsdauer ihre maximale Ausdehnung nach zwei Wochen.
- Die Leptomeninx beteiligt sich an der Organisation des Gewebeschadens; eine solche Rolle mesenchymaler Strukturen bei Reparaturvorgängen ist bisher noch nicht beobachtet worden.
- Der initiale Gewebeschaden bei APC überschreitet die Tiefe von 1,1 mm nie; die Methode ist damit sehr gewebeschonend. APC bietet sich damit als eine viel versprechende Alternative zu der bisher favorisierten bipolaren Koagulation bei neurochirurgischen Indikationen an. Klinische Studien zu der genauen Definition des Einsatzgebiets der Methode sind jedoch notwendig.

VI. Zusammenfassung

VI.1 Deutsche Zusammenfassung

Die Argon-Plasma-Koagulation (APC) wird heutzutage in vielen chirurgischen Disziplinen und deren operativen Indikationen angewendet. In der Neurochirurgie wurde jedoch bisher von einer Anwendung abgesehen, da die Datenlage zur Reaktion des Nervengewebes auf diese Art der monopolaren Koagulation noch unklar ist.

Für die genaue Evaluation der Art und Ausdehnung des Gewebeschadens wurde ein Tiermodell mit einem standardisierten Versuchsaufbau etabliert, um die Auswirkungen von Helium(Argon)-Plasma-Koagulation auf das Rattenhirn zu untersuchen. Die Gewebereaktionen wurden mit konventionellen und immunhistologischen Färbemethoden dokumentiert und untersucht. Weiterhin wurde ein zeitabhängiges Profil der Umbauprozesse erstellt, welches sich über eine bis sechs Wochen nach der Operation erstreckte.

Die Gewebsreaktion stellte sich als eine Abgrenzung von klar demarkierten konzentrischen Zonen dar. Die Organisation des Gewebeschadens fand sowohl an den Rändern als auch im Zentrum der Läsion statt. Die Schichten der Läsion nehmen durch unterschiedliche Mechanismen an der Reparatur des Gewebeschadens teil; die weitere Beobachtung dieser Schichten kann daher zum besseren Verständnis der Organisationsvorgänge führen.

Diese Studie hat gezeigt, dass man durch H(A)PC eine scharf abgrenzbare und reproduzierbare Läsion an Rattenhirngewebe generieren kann. Die Methode erwies sich wie in anderen chirurgischen Indikationen als minimal traumatisch. Daher ist die klinische Anwendung dieser Methode viel versprechend. Außerdem sind die H(A)PC-Läsionen sehr gut geeignet, um die Morphologie früher und später reparativer Reaktionen neuronaler Gewebe zu studieren.

VI.2. English summary

Plasma coagulation is used in different surgical operative settings, but its application in neurosurgery is hampered by the lack of knowledge concerning nervous tissue reaction to this type of coagulation.

An experimental investigation for the precise assessment of the kind and extent of tissue damage was established by designing a standardised trial investigating the effects of helium (argon) plasma coagulation – H(A)PC - on rat brain tissue. The tissue reactions were observed with common methods of morphology including immunohistology. A time dependent profile of the tissue reactions was generated from one to six weeks after surgery.

The tissue reaction consisted of clearly demarcated concentric zones. The initial depth of the lesion was about 1 mm maximally. Reparative forces acted both in the different layers and at the edges and in the center of the damage. The various layers of the lesion all contribute to the organisation with different mechanisms of reparation; this observation may help to understand different aspects of reparative reactions in neural tissue.

This study has demonstrated that H(A)PC generates a clearly demarcated and reproducible small lesion in rat brain tissue. As in other areas of surgery, this technique has proven to be minimally traumatic. Clinical application of this technique in neurosurgery is therefore promising. In addition, H(A)PC lesions are obviously suited for morphological studies of early and late reparative reactions in cells and tissues.

VII. Literaturverzeichnis

- (1) Abu-Rustum NR, Chi DS, Sonoda Y, DiClemente MJ, Bekker G, Gemignani M, Poyner E, Brown C, Barakat RR: Transperitoneal laparoscopic pelvic and para-aortic lymph node dissection using the argon-beam coagulator and monopolar instruments: an 8-year study and description of technique. *Gynecol Oncol* Vol. 89(3), pp 504-13, 2003
- (2) Auer RN, Benveniste H: Hypoxia and related conditions. In: Graham DI, Lantos PL(Edts.) *Greenfield's Neuropathology*, Arnold, London, Sydney, Auckland, pp 263-314, 1997
- (3) Bauer BL, Hellwig, D: Minimally invasive endoscopic neurosurgery- a survey. *Acta Neurochir (Suppl)* 61, pp 1-12, 1994
- (4) Bergler W: Neue Entwicklungen der Endoskopie. *Laryngo-Rhino-Otol.* Vol 76, pp 709-714, 1997
- (5) Bergler, W, Götte K, Riedel F, Back W, Hörmann K: Die Argon-Plasma-Koagulation in der Behandlung von hereditären hämorrhagischen Teleangiektasien der Nasenschleimhaut. *HNO* Vol 4, pp 228-232, 1998
- (6) Bergler W, Huber K, Hammerschmidt N, Hölzl M, Hörmann K: Tonsillektomie mit dem Argon-Plasma-Koagulations-Raspartorium. *HNO* Vol.48, pp135-141, 2000
- (7) Bergler W, Sadick F, Götte K, Riedel F, Hörmann K: Topical estrogens combined with argon plasma coagulation in the management of epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, Vol 111, pp 222-228, 2002

- (8) Bergler W, Riedel F, Götte K, Hörmann K: Behandlung der juvenilen Kehlkopfpapillomatose durch Argonplasmakoagulation. Dtsch med Wschr Vol 122, pp 1033-1036, 1997
- (9) Bergler W, Taake S, Hönig M, Petroianu G, Hörmann K: Plasma Surgery: a new method for the treatment of nasal obstruction . Beilage ERS and ISIAN meeting, pp 27-31, 1998
- (10) Bertalanffy H, Benes L, Miyazawa T, Alberti O, Siegel AM, Sure U: Cerebral cavernomas in the adult. Review of the literature and analysis of 72 surgically treated patients. Neurosurgical Review, March Vol. 25, No.1-2, pp 1-53, 2002
- (11) Brand CU, Blum A, Schlegel A, Farin G, Garbe C: Application of Argon Plasma Coagulation in skin surgery. Dermatology Vol 197(2), pp 152-157, 1998
- (12) Bristow RE, Montz FJ: Complete surgical cytoreduction of advanced ovarian carcinoma using the argon beam coagulator. Gynecol Oncol Vol. 83(1), pp 39-48, 2001
- (13) Bristow RE, Smith Sehdev AE, Kaufman HS, Montz FJ: Ablation of metastatic ovarian carcinoma with the argon beam coagulator: pathologic analysis of tumor destruction. Gynecol Oncol Vol. 83(1), pp 49-55, 2001
- (14) Chan DY, Marshall FF: Partial nephrectomy for centrally located tumors. Urology Vol. 54(6), pp 1088-91, 1999
- (15) Chehrazi B, Collins WF: A comparison of effects of bipolar and monopolar electrocoagulation in brain. J Neurosurg Vol. 54, pp 197-203, 1981
- (16) Cushing H: Electro-surgery as an aid tonremoval of intracranial tumors. Surg Gynecol Obstet Vol 47, pp 751-784, 1928

- (17) Dixon JA, Miller F, McCloskey D: Anatomy and techniques in segmental splenectomy Surg Gynecol Obstet, Vol 150, pp 516-520, 1980
- (18) Dowling RD, Ochoea J, Yousem SA, Peitzman A, Udekwu AO: Argon Beam Coagulation is superior to conventional techniques in repair of experimental splenic injury. The Journal of Trauma, Vol 31, No.5, pp 717-721, 1991
- (19) Druckrey H: Genotypes and Phenotypes of ten Inbred Strains of BD-Rats. Arzneimittel.-Forsch.(Drug Res) Jahrgang 21 Vol 8, pp1274-1278, 1971
- (20) Dunham CM, Cornwell EE, Militello P: The role of Argon Beam Coagulator in splenic salvage. Surgery, Gynecology & Obstetrics, Vol 173, pp 179-182, 1991
- (21) Elmaci I, Kurtkaya O, Ercan F, Tuncer N, Bakirci N, San T, Sav A, Pamir MN, Tanrisever E: The effects of quantum energy surgical device and of bipolar coagulation: a comparative experimental study. Acta Neurochir (Wien). Vol 144(4), pp 377-83, 2002
- (22) Engel S, Schluessner H, Mittelbronn M, Seid, K et al. : Dynamics of microglial activation after human traumatic brain injury are revealed by delayed expression of macrophage -related proteins MRP8 and MRP14. Acta Neuropathol (Berl), Vol 100, pp 313-322, 2000
- (23) Farin G, Grund KE: Technology of Argon Plasma Coagulation with particular regard to endoscopic applications. Endosc Surg Vol 2, pp 71-77, 1994
- (24) Farin G: Hochfrequenzchirurgie in der minimal invasiven Chirurgie. In: Pier A, Schipper S, eds. Minimal invasive Chirurgie: Grundlagen, Technik, Ergebnisse, Trends, Stuttgart: Thieme, pp 81-88, 1995

- (25) Go, PMNYH, Goodman, GR, Bruhn EW, Hunter JG: The Argon Beam Coagulator provides rapid hemostasis of experimental hepatic and splenic hemorrhage in anticoagulated dogs. *The Journal of Trauma*, Vol 31, No. 9, pp 1294-1300, 1991
- (26) Graham DI, McIntosh TK, Maxwell WL, Nicoll JAR: Recent advances in neurotrauma. *J Neuropath Exp Neurol*, Vol 59, pp 641-651, 2000
- (27) Greenwood J Jr: Two-point coagulation. A new principle and instrument for applying coagulation current in neurosurgery. *Am J Surg* Vol 50, pp 267-270, 1940
- (28) Greenwood J Jr: Two point-coagulation. A follow-up report on a new technique and instrument for electrocoagulation in neurosurgery. *Archs Phys Ther* Vol. 23, pp 552-554, 1942
- (29) Grund KE, Storek D, Farin G : Endoscopic Argon Plasma Coagulation (APC). First clinical experiences in flexible endoscopy. *Endosc surg* Vol 2, pp 42-46, 1994
- (30) Gruner K: Argon Hochfrequenz Uvulopalatoplastik – AHFUP. *Laryngo-Rhino-Otol.* Vol 76, pp 749-750, 1997
- (31) Haag R, Bartel V, Hellwig D, Bauer BL, Eggers F: New possibilities and future developments of electrosurgery in MIEN. In: Hellwig D, Bauer BL, eds. *Minimally invasive Techniques for Neurosurgery*, Berlin, Springer, pp 33-35, 1998
- (32) Haag R, Cuscherei A: Review. Recent advances in high-frequency electrosurgery: development of automated systems. *J R Coll Surg Edin*, Vol 38, pp 354-364, 1993

- (33) Harmon WJ, Kavoussi LR, Bishoff JT: Laparoscopic nephron-sparing surgery for solid renal masses using the ultrasonic shears. *Urology*, Vol. 56(5), pp 754-956, 2000
- (34) Hauser U, Hoffmann TK, Ballo H, Bier H: Argon Plasma Coagulation (APC) in palliative surgery of head and neck malignancies. *Laryngoscope* Vol 112, pp 1275-1280, 2002
- (35) Hellwig D, Haag R, Bartel V, Riegel T, Eggers F, Becker R, Bertalanffy H: Application of new electrosurgical devices and probes in endoscopic neurosurgery. *Neurol Res*, Vol 21, pp 67-72, 1999
- (36) Hermann DM, Mies G, Hata R, Hossmann, KA: Microglial and astrocytic reactions prior to onset of thalamic cell death after traumatic lesion of the rat sensorimotor cortex. *Acta neuropathol (Berlin)*, Vol 99, pp 147-153, 2000
- (37) Hernandez AD, Smith JA, Kreg JR, Jeppson G, Terrewros DA: A controlled study of the Argon Beam Coagulator for partial nephrectomy. *The Journal of Urology*, Vol 143, pp 1062-1065, 1990
- (38) Hochberger J, Bauer R, May A, Fleig WE, Hahn EG, Ell C: Laser, monopolare und bipolare Sonden- oder Argonbeamer-Elektrokoagulation zur Rekanalisierung tumorokkludierter Metallendoprothesen. *Endoskopie heute* Vol 1, p 72, 1993
- (39) Kageyama Y, Kihara K, Yokoyama M, Sakai Y, Koga F, Saito K, Yano M, Arai G, Hyochi N, Masuda H, Fujii Y, Kawakami S, Kobayashi T: Endoscopic minilaparotomy partial nephrectomy for solitary renal cell carcinoma smaller than 4 cm. *Jpn J Clin Oncol*, Vol. 32(10), pp 417-21, 2002

- (40) Kalimo H, Kaste M, Haltia M: Vascular disease. In: Graham, DI Lantos PL (Edts.) Greenfield's Neuropathology, Arnold, London, Sidney, Auckland, pp. 315-396, 1997
- (41) Katsch J, Müller RPA, Mailänder W: Argon-Plasma-Koagulation (APC) in der Dermatologie- eine Standortbestimmung. VOD Dialog Beilage in: Der Deutsche Dermatologe Vol 45 (10), pp. 2-6, 1997
- (42) Kerl J, Straubesand J: Vascular thermocoagulation-perivascular nerve lesions. An ultrastructural report on the choice between monopolar and bipolar electrocoagulation. Acta Neurochir (Wien) Vol 92, pp. 123-131, 1988
- (43) Kiessling M, Herchenhan E, Eggert HR: Cerebrovascular and metabolic effects on the rat brain of focal Nd:YAG laser irradiation. J Neurosurg Vol 73(6), pp 909-17, 1990
- (44) King TT, Worploe R: Self-irrigating bipolar diathermy forceps. Technical note. J Neurosurg Vol 12, pp 196-197, 1972
- (45) Klemm E: [Tracheotomy: discussion of various surgical procedures using argon plasma coagulation] Laryngorhinootologie Vol 78(2), pp 86-90, German, 1999
- (46) Kreis DJ Jr, Montero N, Saltz M: The role of splenorraphy in splenic trauma. Ann Surg Vol 53, pp307-309, 1987
- (47) Kozlowski PM, Winfield HN: Laparoscopic partial nephrectomy and wedge resection. J Endourol, Vol. 14(10), pp 865-70, 2000
- (48) Kwon AH, Inui H, Kamiyama Y: Successful laparoscopic haemostasis using an argon beam coagulator for blunt traumatic splenic injury. Eur J Surg. 2001 Vol 167(4), pp 316-8, 2001

- (49) Kwon AH, Matsui Y, Inui H, Imamura A, Kamiyama Y: Laparoscopic treatment using an argon beam coagulator for nonparasitic liver cysts. *Am J Surg*. Vol. 185(3), pp 273-7, 2003
- (50) Kwon AH, Matsui Y, Satoi S, Kaibori M, Kamiyama Y: Prevention of pleural effusion following hepatectomy using argon beam coagulation. *Br J Surg* Vol. 90(3), pp 302-5, 2003
- (51) Li Y, Jiang N et al.: Temporal profile of in situ DNA fragmentation after transient middle cerebral artery occlusion in the rat *J Cereb Blood Flow Metab*, Vol 15, pp 389-397, 1995
- (52) Majeski J: Advances in general and vascular surgical care of Jehovah's Witnesses. *Int Surg*, Vol. 85(3), pp 257-65, 2000
- (53) Malis IL: Bipolar coagulation in microsurgery. In: Yasargil MG, ed. *Microsurgery Applied to Neurosurgery*, New York: Academic Press, pp 42-45, 1969
- (54) Malis IL: Electrosurgery. Technical note. *J. Neurosurg* 85: 970-975, 1996
- (55) Mastragelopoulos N, Sarkar MR, Kaißling G, Bähr R, Daub D: Argongas-Embolie während laproskopischer Cholecystektomie mit dem Argon-Beam-One-Coagulator. *Der Chirurg* 63, pp 1053-1054, 1992
- (56) McDougall EM, Clayman RV, Chandhoke PS, Kerbl, K, Stone AM, Wick MR, Hicks M, Figenschau RS: Laparoscopic partial nephrectomy in the pig model. *The Journal of Urology*, Vol 149, pp 1633-1636, 1993

- (57) Mennel HD, El-Abchar H, Schilling M, Bausch J, Krieglstein J: Morphology of tissue damage caused by permanent occlusion of middle cerebral artery in mice. *Exp Toxic Pathol* 52:395-404, 2000
- (58) Mennel HD, Riegel T, Lonic D, Bertalanffy H: Helium(Argon)-Plasma application in neurosurgery. Morphology of tissue damage and reparation. *Exp Toxicol Pathol* Vol 54(3), pp 255-263, 2002
- (59) Miyazawa T, Nawashiro H, Shima K, Bertalanffy H: Early experience of hemostasis on brain tumor surgery with argon plasma coagulation (APC) *Acta Neurochir (Wien)* Vol 142, pp 1247-1251, 2000
- (60) Niiijima K, Yonekawa Y, Malis IL: Clinical experiences with a new developed bipolar cutting and coagulation system (Malis CMC-III bipolar system). *Neurol Surg*, Vol 22, pp 317-320, 1994
- (61) Perry JF: Injuries of the spleen. *Curr Prob Surg*, Vol 25, pp 753-832, 1988
- (62) Plate KH, Mennel HD: Vascular morphology and angiogenesis in glial tumors. *Exp Toxic Pathol*, Vol 47, pp89-94, 1995
- (63) Platt RC, Heniford BT: Development and initial trial of the minilaparoscopic argon coagulator. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.*, Vol.10(2):93-9, 2000
- (64) Postema RR, ten Kate JW, Terpstra OT: Less hepatic tissue necrosis after Argon Beam Coagulation than after conventional electrocoagulation. *Surgery; Gynecology & Obstetrics*, Vol 176, pp 177-178, 1993
- (65) Postema RR, Plaisier PW, ten Kate FJ, Terpstra OT: Haemostatisis after partial hepatectomy using argon beam coagulation. *Br. J. Surg.* , Vol 80, pp 1563-1565, 1993

- (66) Quinlan DM, Naslund MJ, Brendler CB: Application of Argon Beam Coagulation in urological surgery. *The Journal of Urology*, Vol 147, pp 410-412, 1992
- (67) Raghupati R, Graham DI, McIntosh TK: Apoptosis after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* Vol 17, pp 927-938, 2000
- (68) Robertson GS, Thomas M, Jamieson J, Veitch PS, Dennison AR: Palliation of oesophageal carcinoma using the argon beam coagulator. *Br J Surg*, Vol. 83(12), pp1769-71, 1996
- (69) Ross JH, Kay R, Alexander F: Management of bilateral Wilms' tumors in the daughter of Jehovah's Witnesses. *J Pediatr Surg*, *J Pediatr Surg* Vol. 32(12), pp 1759-60, 1997
- (70) Scarantino SE, Reilly JG, Moretti ML, Pillari VT: Argon beam coagulation in the management of placenta accreta. *Obstet Gynecol* *Obstet Gynecol*, Vol. 94(5 Pt 2), pp 825-7, 1999
- (71) Schmidt W: Erfahrungen mit dem Argon-Beamer in der interventionellen Bronchiologie. *Atemw.- und Lungenkr.* Vol 3, pp 168-173, 1996
- (72) Seitz U, Seewald S, Bohnacker S, Soehendra N: Advances in interventional gastrointestinal endoscopy in colon and rectum. *Int J Colorectal Dis*, Vol 18(1), pp12-18, 2003
- (73) Sessler MJ, Becker HD, Flesch I, Grund KE: Therapeutic effect of argon plasma coagulation on small malignant gastrointestinal tumors. *J. Cancer Res. Clin. Oncol* 121, pp 235-238, 1995

- (74) Shanberg AM, Zagnoev M, Clougherty TP: Tension pneumothorax caused by the argon beam coagulator during laparoscopic partial nephrectomy. *J Urol* Vol. 168(5), p 2162, 2002
- (75) Shevell T, Malone FD: Management of obstetric hemorrhage. *Semin Perinatol* Vol. 27(1):86-104, 2003
- (76) Sigel B, Hatke FL: Physical Factors in electrocoaptation of blood vessels. *Arch Surg* Vol. 95, pp 54-58, 1967
- (77) Söderfeldt B, Kalimo H, Olsson Y et al.: Bicuculline induced epileptic brain injury. Transient and persistent cell changes in rat cerebral cortex in the early recovery period. *Acta Neuropathol (Berl)* Vol 62, pp 87-95, 1983
- (78) Spatz, H: *Gehirnpathologie im Kriege. Von den Gehirnwunden* *Zbl Neurochir* Vol 6, pp 162-212, 1941
- (79) Stifelman MD, Sosa RE, Nakada SY, Shichman SJ: Hand-assisted laparoscopic partial nephrectomy. *J Endourol* Vol. 15(2), pp 161-4, 2001
- (80) Storek D, Grund KE, Schütz A, Seifert HC, Farin G, Becker HD: Argon-Plasma-Koagulation (APC) in der flexiblen Endoskopie- Kann sie den Laser ersetzen? *Endoskopie heute* Vol 2, pp 163-170, 1994
- (81) Stucker FJ, Lian T, Sanders K: The AbCs of rhinophyma management. *Am J Rhinol*, Vol.17(1), pp 45-9, 2003
- (82) Stumm G, Geissel H, Wentzel J, Mennel HD: Early and late morphological effects of experimental HPNS - animal model of psychosis ? *Exp Toxic Pathol*, Vol 53, pp 45-55, 2001

- (83) Stylianos S, Hoffmann MA, Jacir NN, Harris BH: Sutureless Hemisplenectomy. *Journal of pediatric Surgery*, Vol 26, No.1, pp 87-89, 1991
- (84) Sutton LN, Golden JA, Needle M, Bonner K, Benetez R: Surgical removal of a choroid plexus adenoma using the argon beam coagulator: technical case report. *Neurosurgery*. 1998 Jul, Vol 43, No. 1, pp171-3, 1998
- (85) Takeda M, Go H, Imai T, Komeyama T: Experience with 17 cases of lapraoscopic adrenalectomy: use of ultrasonic aspirator and argon beam coagulator. *The Journal of Urology*, Vol 152, pp 902-905, 1994
- (86) Thronson RR, Walstad WR: Use of the argon beam coagulator for control of postoperative hemorrhage in an anticoagulated patient. *J Oral Maxillofac Surg*, Vol. 57(11):1367-9, 1999
- (87) Teimourian B, Duda G, Nickodem A, Kumar A: Application of the Argon beam coagulator in plastic surgery. *Perspectives in Plastic Surgery* Vol. 5, pp 91-98, 1991
- (88) Turrell WJ: The landmarks of electrotherapy. *Ach Phys Med Rehabil* Vol 50: pp 157-160, 1969
- (89) Uenishi T, Kubo S, Hirohashi K, Tanaka H, Ohba K, Kinoshita H: Successful treatment of dissemination of hepatocellular carcinoma to the pleura and diaphragm after percutaneous liver biopsy. *Dig Surg* Vol. 18(3), pp 225-7, 2001
- (90) Valavanis A, Yasargil GM: The endovascular treatment of brain arteriovenous malformations. *Advances and technical standarts in neurosurgery*, Vol. 24 In: Cohadon, F. (ed) Springer, Wien New York, pp 131-214, 1998

- (91) Ward PH, Castro DJ, Ward S: A significant new contribution to radical head and neck surgery. The argon beam coagulator as an effective means of limiting blood loss. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, Vol. 115(8), pp 921-3, 1989
- (92) Williams CB, Saunders BP, Talbot IC: Endoscopic management of polypoid early colon cancer. World J Surg, Vol. 24(9), pp 1047-51, 2000
- (93) Yao H, Ginsberg MD, Eveleth DD, et al.: Local cerebral glucose utilization and cytoskeletal proteolysis as indices of evolving focal ischemic injury in core and penumbra. J Cereb Blood Flow Metab, Vol 15, pp 398-408, 1995

VIII. Anhang

VIII.1. Rohdaten zu V5

Präparat T116

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	46	0,00 (Prolaps)	0,000
	62	0,00 (Prolaps)	0,000
	77	0,00 (Prolaps)	0,000
	92	0,00 (Prolaps)	0,000
	107	0,50	0,125
	122	1,00	0,250
	137	1,50	0,375
	152	0,00 (nicht beurteilbar)	0,000
	167	0,00 (nicht beurteilbar)	0,000
+1/2	2	0,50	0,125
	17	1,00	0,250
	32	1,00	0,250
	47	0,75	0,188
	62	0,50	0,125

Präparat T118

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	46	0,00 (Prolaps)	0,000
	62	1,00	0,250
	77	0,50	0,125
	92	1,50	0,375
	107	1,50	0,375
	122	2,00	0,500
	137	2,00	0,500
+1/2	2	2,00	0,500
	17	1,50	0,375
	32	1,00	0,250
	47	1,00	0,250
	62	0,50	0,125

Präparat T196

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
	62	1,00	0,250
	77	1,50	0,375
	92	1,50	0,375
	107	1,50	0,375
	122	1,50	0,375
	137	1,00	0,250
	152	0,50	0,125
	167	0,50	0,125
	182	0,50	0,125
	2	1,50	0,375
	17	3,00	0,750
	32	3,00	0,750
	47	2,50	0,625
	62	2,50	0,625
	77	2,00	0,500
	92	0,50	0,125

Präparat 197 nicht beurteilbar

Präparat T198

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
	107	0,00 (Prolaps)	0,000
	121	0,00 (Prolaps)	0,000
	137	0,00 (Prolaps)	0,000
	151	3,50	0,875
	2	3,50	0,875
	17	4,00	1,000
	32	3,50	0,875
	47	4,50	1,125
	62	3,50	0,875
	77	2,50	0,625
	92	1,00	0,250

Präparat T199

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	92	0,75	0,188
	107	1,50	0,375
	121	1,50	0,375
	137	1,50	0,375
	152	2,00	0,500
	167	2,50	0,625
+1/2	2	2,50	0,625
	17	2,00	0,500
	32	1,75	0,438
	47	1,75	0,438
	62	1,50	0,375

Präparat T184

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	107	0,25 (Prolaps)	0,063
	122	0,50 (Prolaps)	0,125
	137	0,75 (Prolaps)	0,188
	152	1,00 (Prolaps)	0,250
+1/2	2	2,00 (Prolaps)	0,500
	17	2,00 (Prolaps)	0,500
	32	2,00 (Prolaps)	0,500
	47	1,00 (Prolaps)	0,250
	62	0,50 (Prolaps)	0,125
	77	0,25 (Prolaps)	0,063

Präparat T185

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	122	0,50	0,125
	137	2,00	0,500
	152	3,00	0,750
	167	3,50	0,875
	182	3,50	0,875
+1/2	2	3,00	0,750
	17	1,00	0,250
	32	0,25	0,063

Präparat T191 (Ebene +3/4 falschherum eingebettet)

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	167	0,00 (Prolaps)	0,000
	152	0,00 (Prolaps)	0,000
	134	0,00 (Prolaps)	0,000
	122	1,00 (Prolaps)	0,250
	107	1,00 (Prolaps)	0,250
	92	1,00 (Prolaps)	0,250
	77	1,00 (Prolaps)	0,250
	62	2,00 (Prolaps)	0,500
	47	2,50 (Prolaps)	0,625
	32	3,50 (Prolaps)	0,875
	17	3,00 (Prolaps)	0,750
	2	3,00 (Prolaps)	0,750
+1/2	2	3,00 (Prolaps)	0,750
	17	2,00 (Prolaps)	0,500
	32	1,50 (Prolaps)	0,375
	47	0,50 (Prolaps)	0,125
	62	0,50 (Prolaps)	0,125

Präparat T192 nicht beurteilbar

Präparat T119 (Ebene +3/4 falschherum eingebettet)

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	47	0,25 (Prolaps)	0,063
	32	0,75 (Prolaps)	0,188
	17	1,00 (Prolaps)	0,250
	2	0,50	0,125
+1/2	2	1,00	0,250
	17	1,00	0,250
	32	1,00	0,250
	47	0,50 (Prolaps)	0,125
	62	0,25 (Prolaps)	0,063

Präparat T357

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	92	0,25	0,063
	107	0,75	0,188
	122	0,75	0,188
	137	1,00	0,250
	152	1,00	0,250
	167	1,00	0,250
	182	1,00	0,250
+1/2	2	2,00	0,500
	17	2,50	0,625
	32	1,75	0,438
	47	1,50	0,375
	62	1,50	0,375
	77	0,75	0,188

VIII.2. Berechnungen zu V5

T116

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0000	0,000000
1	0,0000	0,000000
2	0,0000	0,000000
3	0,0000	0,000000
4	0,0000	0,018750
5	0,1250	0,056250
6	0,2500	0,093750
7	0,3750	0,056250
8	0,0000	0,000000
9	0,0000	0,018750
10	0,1250	0,056250
11	0,2500	0,075000
12	0,2500	0,065625
13	0,1875	0,046875
14	0,1250	0,028125
15	0,0625	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
0,515625		

T118

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0000	0,000000
1	0,0000	0,037500
2	0,2500	0,056250
3	0,1250	0,075000
4	0,3750	0,112500
5	0,3750	0,131250
6	0,5000	0,150000
7	0,5000	0,150000
8	0,5000	0,131250
9	0,3750	0,093750
10	0,2500	0,075000
11	0,2500	0,056250
12	0,1250	0,028125
13	0,0625	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
1,096875		

T199

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0938	0,042188
1	0,1875	0,084375
2	0,3750	0,112500
3	0,3750	0,112500
4	0,3750	0,131250
5	0,5000	0,168750
6	0,6250	0,187500
7	0,6250	0,168750
8	0,5000	0,140625
9	0,4375	0,131250
10	0,4375	0,121875
11	0,3750	0,084375
12	0,1875	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
1,4859375		

T198

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0000	0,000000
1	0,0000	0,000000
2	0,0000	0,000000
3	0,0000	0,131250
4	0,8750	0,262500
5	0,8750	0,281250
6	1,0000	0,281250
7	0,8750	0,300000
8	1,1250	0,300000
9	0,8750	0,225000
10	0,6250	0,131250
11	0,2500	0,056250
12	0,1250	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
1,96875		

T196

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,1250	0,056250
1	0,2500	0,093750
2	0,3750	0,112500
3	0,3750	0,112500
4	0,3750	0,112500
5	0,3750	0,093750
6	0,2500	0,056250
7	0,1250	0,037500
8	0,1250	0,037500
9	0,1250	0,075000
10	0,3750	0,168750
11	0,7500	0,225000
12	0,7500	0,206250
13	0,6250	0,187500
14	0,6250	0,168750
15	0,5000	0,093750
16	0,1250	0,028125
17	0,0625	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
1,865625		

T184

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0313	0,014063
1	0,0625	0,028125
2	0,1250	0,046125
3	0,1825	0,064875
4	0,2500	0,112500
5	0,5000	0,150000
6	0,5000	0,150000
7	0,5000	0,112500
8	0,2500	0,056250
9	0,1250	0,028125
10	0,0625	0,014063
11	0,0313	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
0,776625		

T185

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0625	0,028125
1	0,1250	0,093750
2	0,5000	0,187500
3	0,7500	0,243750
4	0,8750	0,262500
5	0,8750	0,243750
6	0,7500	0,150000
7	0,2500	0,046875
8	0,0625	0,014063
9	0,0313	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
1,2703125		

T191

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0000	0,000000
1	0,0000	0,000000
2	0,0000	0,000000
3	0,0000	0,037500
4	0,2500	0,075000
5	0,2500	0,075000
6	0,2500	0,075000
7	0,2500	0,112500
8	0,5000	0,168750
9	0,6250	0,225000
10	0,8750	0,243750
11	0,7500	0,225000
12	0,7500	0,225000
13	0,7500	0,187500
14	0,5000	0,131250
15	0,3750	0,075000
16	0,1250	0,037500
17	0,1250	0,028125
18	0,0625	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
1,921875		

T119

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0313	0,014063
1	0,0625	0,036750
2	0,1825	0,054750
3	0,1825	0,064875
4	0,2500	0,075000
5	0,2500	0,075000
6	0,2500	0,075000
7	0,2500	0,112500
8	0,5000	0,168750
9	0,6250	0,158625
10	0,4325	0,121125
11	0,3750	0,112500
12	0,3750	0,083625
13	0,1825	0,041063
14	0,0913	

Volumen Kegelstümpfe in mm ³
1,193625

T357

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0313	0,014063
1	0,0625	0,036750
2	0,1825	0,064875
3	0,2500	0,056250
4	0,1250	0,056250
5	0,2500	0,075000
6	0,2500	0,075000
7	0,2500	0,056250
8	0,1250	0,028125
9	0,0625	0,014063
10	0,0313	

Volumen Kegelstümpfe in mm ³
0,476625

VIII.3. Rohdaten zu V6

V6, T152

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	122	0,50	0,125
	137	0,75	0,188
	152	0,75	0,188
	167	1,00	0,250
	182	2,00	0,500
	197	3,00	0,750
+1/2	2	4,00	1,000
	17	2,50	0,625
	32	2,00	0,500
	47	1,50	0,375
	62	0,50	0,125

V6, T157

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+1/2	2	5,00	1,250
	16	5,00	1,250
	31	4,00	1,000
	46	2,00	0,500
	61	1,50	0,375

V6, T828

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	167	0,00 (Prolaps)	0,000
	182	1,00	0,250
	197	1,00 (interpoliert)	0,250
+1/2	2	9,00	2,250
	17	7,00	1,750
	32	7,00	1,750
	47	7,00	1,750
	62	4,00	1,000
	77	4,00	1,000
	92	4,00	1,000
	107	3,00	0,750
	122	3,00	0,750
	137	0,50	0,125

V6, T829

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	122	1,50	0,375
	137	6,00	1,500
	152	7,00	1,750
+1/2	2	8,00	2,000
	17	8,00	2,000
	32	9,00	2,250
	47	8,00	2,000
	62	6,00	1,500
	77	3,50	0,875
	92	1,50	0,375

V6, T826

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	167	0,50	0,125
	182	0,50	0,125
	197	0,50	0,125
+1/2	2	2,50	0,625
	17	3,00	0,750
	32	4,00	1,000
	47	6,00	1,500
	62	4,50	1,125
	77	3,00	0,750
	92	2,00	0,500
	107	1,00	0,250

V6, T901

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	122	0,50	0,125
	137	0,75	0,188
	152	2,00	0,500
	167	2,50	0,625
	182	3,00	0,750
+1/2	2	3,50	0,875
	17	4,00	1,000
	32	4,00	1,000
	47	3,00	0,750
	62	2,50	0,625
	77	1,25	0,313
	92	0,50	0,125

V6, T160

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	107	0,75	0,188
	122	1,50	0,375
	137	3,00	0,750
	152	6,00	1,500
+1/2	2	7,50	1,875
	17	6,00	1,500
	32	4,50	1,125
	47	3,50	0,875
	62	2,50	0,625
	77	2,00	0,500
	92	2,00	0,500
	107	1,50	0,375
122	0,75	0,188	

V6, T161

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	91	0,50	0,125
	106	1,50	0,375
	121	2,00	0,500
	136	2,00	0,500
	151	2,00	0,500
	166	3,50	0,875
+1/2	2	4,00	1,000
	17	3,00	0,750
	32	2,50	0,625
	47	2,50	0,625
	62	2,00	0,500
	77	1,50	0,375

V6, T158

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	77	0,50	0,125
	92	0,50	0,125
	107	1,00 (Prolaps)	0,250
	122	1,00 (Prolaps)	0,250
	137	1,00 (Prolaps)	0,250
	152	1,50 (Prolaps)	0,375
	167	2,00 (interpoliert)	0,500
+1/2	2	2,50	0,625
	17	3,00	0,750
	32	2,50	0,625
	47	2,00	0,500
	62	0,50	0,125

V6, T159

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	121	1,50 (Prolaps)	0,375
	137	1,00 (Prolaps)	0,250
	152	1,50 (interpoliert)	0,375
	167	1,50 (interpoliert)	0,375
+1/2	2	1,50 (Prolaps)	0,375
	17	1,50 (Prolaps)	0,375
	32	2,00	0,500
	47	2,50	0,625
	62	3,00	0,750
	77	2,50	0,625
	92	1,50	0,375

V6, T153

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	92	1,50	0,375
	107	2,00	0,500
	122	2,50	0,625
	137	3,50	0,875
	152	4,00	1,000
	167	3,50	0,875
	182	4,75 (interpoliert)	1,188
+1/2	2	6,00	1,500
	17	5,00	1,250
	32	5,00	1,250
	47	4,00	1,000
	62	4,00	1,000
	77	3,00	0,750

V6, T154

Ebene	Präparatenummer	Anzahl an Flächenabschnitten	Entsprechung in mm ²
+3/4	77	0,75	0,188
	92	1,00	0,250
	107	2,00	0,500
	121	3,00	0,750
	136	4,00	1,000
	151	3,50	0,875
	167	3,25 (interpoliert)	0,813
+1/2	2	3,00	0,750
	17	3,00	0,750
	32	2,50	0,625
	47	2,00	0,500
	62	2,00	0,500
	77	1,00	0,250

VIII.4. Berechnungen zu V6

T152

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0625	0,028125
1	0,1250	0,046950
2	0,1880	0,056325
3	0,1875	0,065625
4	0,2500	0,112500
5	0,5000	0,187500
6	0,7500	0,262500
7	1,0000	0,243750
8	0,6250	0,168750
9	0,5000	0,131250
10	0,3750	0,075000
11	0,1250	0,028125
12	0,0625	

Volumen Kegelstümpfe in mm ³
1,4064

T157

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,6250	0,281250
1	1,2500	0,375000
2	1,2500	0,318750
3	0,8750	0,300000
4	1,1250	0,318750
5	1,0000	0,225000
6	0,5000	0,131250
7	0,3750	0,084375
8	0,1875	

Volumen Kegelstümpfe in mm ³
2,034375

T828

0	0,0000	0,000000
1	0,0000	0,056250
2	0,3750	0,112500
3	0,3750	0,112500
4	0,3750	0,093750
5	0,2500	0,075000
6	0,2500	0,056250
7	0,1250	0,037500
8	0,1250	0,056250
9	0,2500	0,375000
10	2,2500	0,600000
11	1,7500	0,525000
12	1,7500	0,525000
13	1,7500	0,412500
14	1,0000	0,300000
15	1,0000	0,300000
16	1,0000	0,262500
17	0,7500	0,225000
18	0,7500	0,131250
19	0,1250	0,056250
20	0,2500	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
4,3125		

T829

Abschnitt	Fläche in mm ³	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,1875	0,084375
1	0,3750	0,112500
2	0,3750	0,112500
3	0,3750	0,112500
4	0,3750	0,112500
5	0,3750	0,093750
6	0,2500	0,056250
7	0,1250	0,243750
8	1,5000	0,487500
9	1,7500	0,562500
10	2,0000	0,600000
11	2,0000	0,637500
12	2,2500	0,637500
13	2,0000	0,525000
14	1,5000	0,356250
15	0,8750	0,187500
16	0,3750	0,084375
17	0,1875	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
5,00625		

T826

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0625	0,028125
1	0,1250	0,075
2	0,3750	0,1125
3	0,3750	0,1125
4	0,3750	0,1125
5	0,3750	0,09375
6	0,2500	0,05625
7	0,1250	0,0375
8	0,1250	0,0375
9	0,1250	0,1125
10	0,6250	0,20625
11	0,7500	0,2625
12	1,0000	0,375
13	1,5000	0,39375
14	1,1250	0,28125
15	0,7500	0,1875
16	0,5000	0,1125
17	0,2500	0,075
18	0,2500	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
2,671875		

T901

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0625	0,028125
1	0,1250	0,046875
2	0,1875	0,103125
3	0,5000	0,168750
4	0,6250	0,206250
5	0,7500	0,243750
6	0,8750	0,281250
7	1,0000	0,300000
8	1,0000	0,262500
9	0,7500	0,206250
10	0,6250	0,140625
11	0,3125	0,065625
12	0,1250	0,028125
13	0,0625	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
2,08125		

T160

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0938	0,042188
1	0,1875	0,084375
2	0,3750	0,112500
3	0,3750	0,112500
4	0,3750	0,168750
5	0,7500	0,150000
6	0,2500	0,056250
7	0,1250	0,037500
8	0,1250	0,243750
9	1,5000	0,506250
10	1,8750	0,506250
11	1,5000	0,393750
12	1,1250	0,300000
13	0,8750	0,225000
14	0,6250	0,168750
15	0,5000	0,150000
16	0,5000	0,131250
17	0,3750	0,084375
18	0,1875	0,042188
19	0,0938	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
3,515625		

T161

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0625	0,028125
1	0,1250	0,075000
2	0,3750	0,131250
3	0,5000	0,131250
4	0,3750	0,112500
5	0,3750	0,093750
6	0,2500	0,112500
7	0,5000	0,150000
8	0,5000	0,206250
9	0,8750	0,281250
10	1,0000	0,262500
11	0,7500	0,206250
12	0,6250	0,187500
13	0,6250	0,168750
14	0,5000	0,150000
15	0,5000	0,131250
16	0,3750	0,168750
17	0,7500	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
2,596875		

T158

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0625	0,028125
1	0,1250	0,037500
2	0,1250	0,056250
3	0,2500	0,075000
4	0,2500	0,075000
5	0,2500	0,075000
6	0,2500	0,093750
7	0,3750	0,075000
8	0,1250	0,093750
9	0,5000	0,168750
10	0,6250	0,206250
11	0,7500	0,206250
12	0,6250	0,187500
13	0,6250	0,187500
14	0,6250	0,168750
15	0,5000	0,093750
16	0,1250	0,028125
17	0,0625	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
1,85625		

T159

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,1875	0,084375
1	0,3750	0,112500
2	0,3750	0,112500
3	0,3750	0,112500
4	0,3750	0,112500
5	0,3750	0,093750
6	0,2500	0,075000
7	0,2500	0,093750
8	0,3750	0,112500
9	0,3750	0,112500
10	0,3750	0,112500
11	0,3750	0,131250
12	0,5000	0,168750
13	0,6250	0,206250
14	0,7500	0,206250
15	0,6250	0,150000
16	0,3750	0,084375
17	0,1875	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
2,08125		

T153

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,1875	0,084375
1	0,3750	0,131250
2	0,5000	0,168750
3	0,6250	0,225000
4	0,8750	0,281250
5	1,0000	0,281250
6	0,8750	0,309375
7	1,1875	0,403125
8	1,5000	0,412500
9	1,2500	0,375000
10	1,2500	0,281250
11	0,6250	0,243750
12	1,0000	0,300000
13	1,0000	0,262500
14	0,7500	0,168750
15	0,3750	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
3,928125		

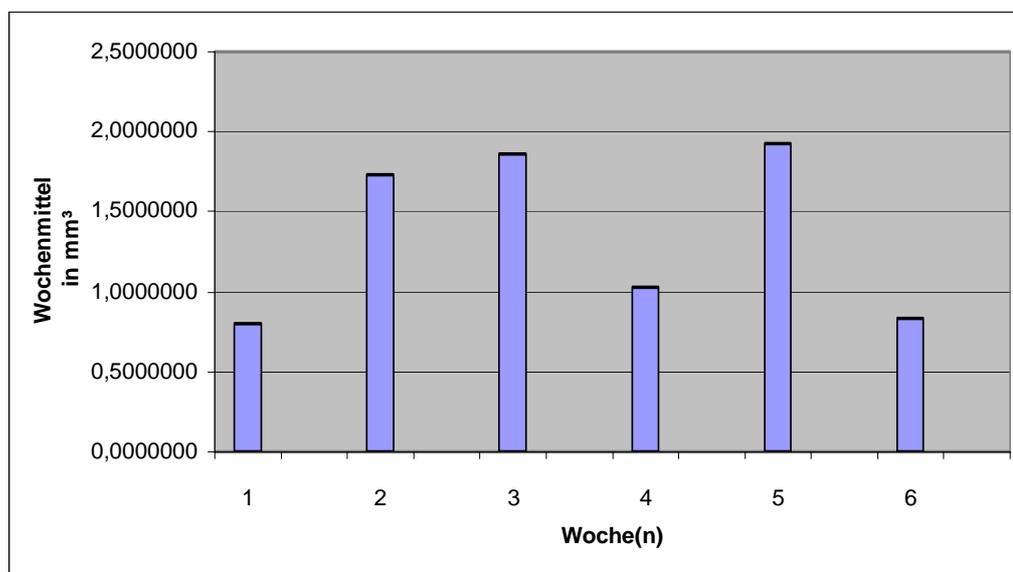
T154

Abschnitt	Fläche in mm ²	Volumen Kegel darüber in mm ³
0	0,0938	0,042188
1	0,1875	0,065625
2	0,2500	0,112500
3	0,5000	0,131250
4	0,3750	0,112500
5	0,3750	0,168750
6	0,7500	0,262500
7	1,0000	0,281250
8	0,8750	0,253125
9	0,8125	0,234375
10	0,7500	0,225000
11	0,7500	0,206250
12	0,6250	0,168750
13	0,5000	0,150000
14	0,5000	0,150000
15	0,5000	0,112500
16	0,2500	0,056250
17	0,1250	
Volumen Kegelstümpfe in mm³		
2,7328125		

VIII.5. Gesamtergebnis

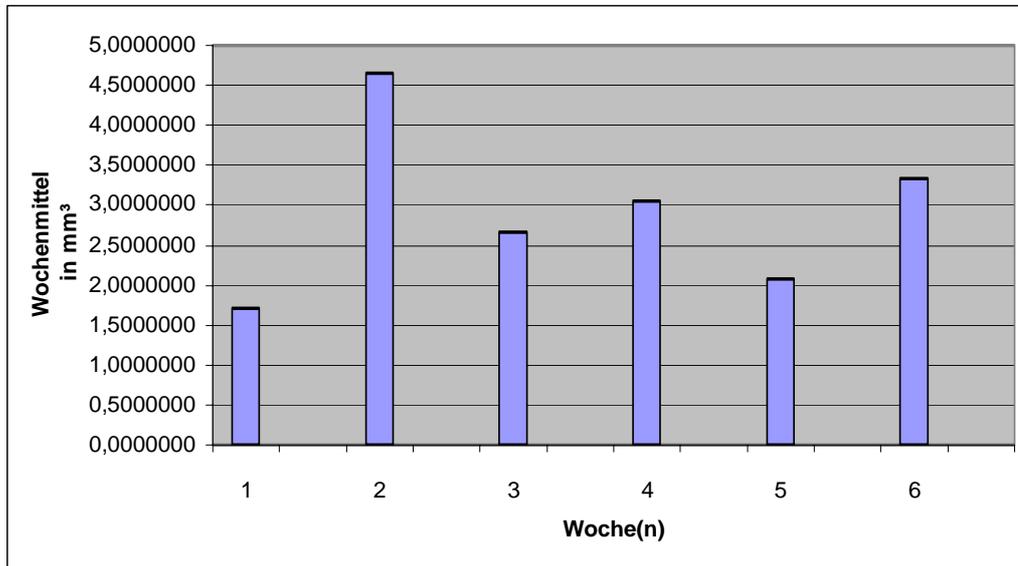
Ergebnisse V5

Woche	Präparat	Volumen (mm ³)	Wochenmittel (mm ³)
1	T116	0,5156250	0,8062500
	T118	1,0968750	
2	T199	1,4859375	1,7273438
	T198	1,9687500	
3	T196	1,8656250	1,8656250
	T197	-	
4	T184	0,7766250	1,0234688
	T185	1,2703125	
5	T192	-	1,9218750
	T191	1,9218750	
6	T119	1,1936250	0,8351250
	T357	0,4766250	



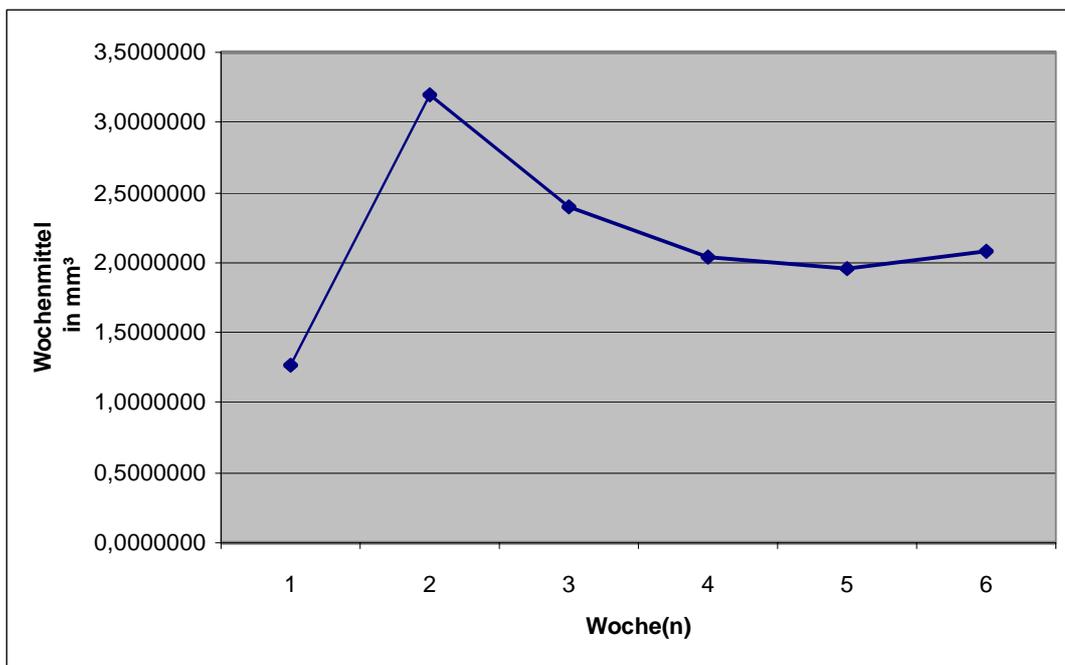
Ergebnisse V6

Woche	Präparat	Volumen (mm ³)	Wochenmittel (mm ³)
1	T152	1,4064000	1,7203875
	T157	2,0343750	
2	T828	4,3125000	4,6593750
	T829	5,0062500	
3	T826	2,6718750	2,6718750
	T901	2,6718750	
4	T160	3,5156250	3,0562500
	T161	2,5968750	
5	T158	1,8562500	2,0812500
	T159	2,0812500	
6	T153	3,9281250	3,3304688
	T154	2,7328125	

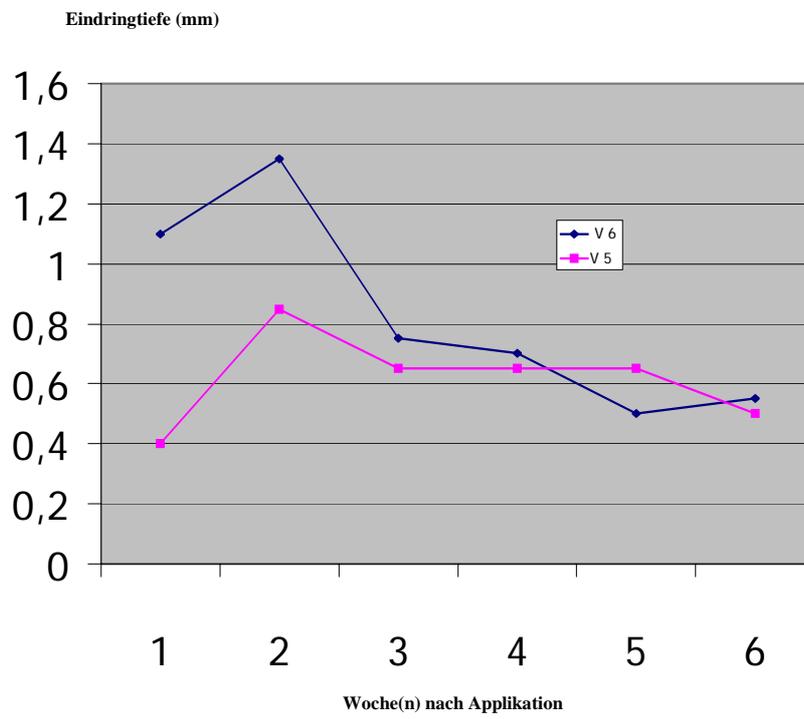


Gesamtergebnis

Woche	Präparat	Volumen (mm ³)	Wochenmittel (mm ³)
1	T116	0,5156250	1,2633188
	T118	1,0968750	
	T152	1,4064000	
	T157	2,0343750	
2	T199	1,4859375	3,1933594
	T198	1,9687500	
	T828	4,3125000	
	T829	5,0062500	
3	T196	1,8656250	2,4031250
	T197	-	
	T826	2,6718750	
	T901	2,6718750	
4	T184	0,7766250	2,0398594
	T185	1,2703125	
	T160	3,5156250	
	T161	2,5968750	
5	T192	-	1,9531250
	T191	1,9218750	
	T158	1,8562500	
	T159	2,0812500	
6	T119	1,1936250	2,0827969
	T357	0,4766250	
	T153	3,9281250	
	T154	2,7328125	



VIII.6. Eindringtiefe der Läsion in die Hirnoberfläche



Lebenslauf

16.10.1973	geboren in Marburg als Sohn von Dr. Asim Lonić und seiner Ehefrau Dr. Milena Lonić, geb. Puzić
1980-1984	Grundschule in Frankenau
1984-1993	Edertal-Gymnasium Frankenberg
1993	Allgemeine Hochschulreife
1993-1997	Studium der Zahnmedizin an der Philipps-Universität Marburg
1997-1998	Auslandsaufenthalt in Los Angeles, California
1998-2003	Studium der Humanmedizin an der Philipps-Universität Marburg
1999	Physikum im März
2000	1. Staatsexamen im März
2002	1. Amerikanisches Staatsexamen (USMLE Step 1) im März 2. Staatsexamen im September
2003	2. Amerikanisches Staatsexamen (USMLE Step 2) im April 3. Staatsexamen der Humanmedizin im November
2004	Clinical Skills Assessment (CSA) im Februar

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten

An der **Philipps-Universität Marburg**:

Alfke, Arnold, Aumüller, Baacke, Bals, Battmann, Barth, Bartsch, Behr, Bertalanffy, Beyer, Brück, Cetin, Chiarello, Czubayko, Daut, Dittrich, Duda, Ebel, El-Sheik, Engenhard-Cabillic, Fichtel, v. Garrell, Geks, Gemsa, Gerdes, Geus, Gotthardt, Gotzen, Görg, Grebe, Grimm, Griss, Happle, Hassilik, Heeg, Heller, Hellwig, Herzum, Hildebrandt, Hoersch, Hoffmann, Hofmann, Höffken, Junge, Just, Kajdan, Kalinowski, Kern, Kim-Berger, Klingmüller, Klose, v. Knobloch, König, Koolmann, Kretschmer, Krieg, Krüger, Kroll, Kuhlmann, Lammel, Lemke, Lippert, Lorenz, Löffler, Maisch, Mann, Mennel, Moll, Mueller, Mutters, Neubauer, Oertel, Printz, Renschmidt, Renz, Richter, Riegel, Ritter, Rothmund, Röhm, Sattler, Schachtschabel, Schäfer, Schädel-Höpfner, Schlieck, Schmidt, Schnabel, Schuhmacher, Seyberth, Slenczka, Spies, Steiniger, Stief, Sure, Troeltsch, Vohland, Voigt, Walthers, Wagner, Weihe, Werner, Wille, Wulf, Zielke, Zwioerek

Am **Markus-Krankenhaus Frankfurt/Main**:

Exner, Kaisers, Peek

An der **University of Hawai'i at Manoa**:

Balfour, Fergusson, Flowers, Grattan, McPheeters

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H.D. Mennel für die Überlassung des wissenschaftlichen Themas, für die ständige freundliche Supervision und Ermutigung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Ein herzlicher Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. D. Hellwig für die wissenschaftliche Unterstützung dieser Arbeit und die konstruktive Kritik bei deren Fertigstellung. Weiterhin bedanke ich mich bei Dr. T. Riegel für die fürsorgliche und angenehme Betreuung der Arbeit seitens der neurochirurgischen Abteilung.

Außerdem bedanke ich mich bei der Firma Erbe für die materielle und finanzielle Unterstützung, ohne die die Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Sehr herzlich danke ich Frau Verena Dippel für die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente und der labortechnischen Arbeiten.

Weiterhin gilt mein Dank meinen langjährigen Freunden Andreas Hack und Dr. Wolfgang Böcking für ihre Hilfe in Bezug auf alle technischen Herausforderungen. Meinem Freund und Kommilitonen Felix Gronen danke ich für die Hilfe beim Erstellen der Abbildungen des Versuchsaufbaus.

Zu guter Letzt bedanke ich mich besonders herzlich bei Larissa Dirkmorfeld für ihre konstruktive Kritik und Unterstützung während der Fertigstellung dieser Arbeit.

Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die im Fachbereich Humanmedizin in Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

***“ Untersuchung zur Anwendbarkeit der Argon-Plasma-Koagulation (APC)
in einem Modellversuch für neurochirurgische Operationen“***

in der Abteilung Neuropathologie im Zentrum für Pathologie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. H.D. Mennel und Unterstützung von Dr. T. Riegel ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation genannten Hilfsmittel genutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Vorliegende Arbeit wurde in folgenden Publikationsorganen veröffentlicht:

Mennel HD, Riegel T, Lonic D, Bertalanffy H: Helium(Argon)-Plasma application in neurosurgery. Morphology of tissue damage and reparation. Exp Toxicol Pathol Vol 54(3), pp 255-263, 2002

Marburg, den 02.12.2004