

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fakultät für Medizin

**Neuroprotektive Wirkung von Argon beim
experimentellen Controlled Cortical Impact Schädel-
Hirn-Trauma-Modell der Maus**

Fritz Isaku Schneider

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen

Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der medizinischen Wissenschaft

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Thomas Misgeld

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. Sandro Krieg

2. Priv.-Doz. Dr. Thomas Fenzl

Die Dissertation wurde am 10.06.2021 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 13.10.2021 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Das Schädel-Hirn-Trauma.....	1
1.1.1	Definition.....	1
1.1.2	Epidemiologie	3
1.1.3	Klinisches Management des Schädel-Hirn-Traumas	4
1.1.4	Pathophysiologie	6
1.1.5	Schädel-Hirn-Trauma Modelle.....	9
1.2	Argon und andere Edelgase.....	12
1.2.1	Chemisch-physikalische Eigenschaften.....	12
1.2.2	Biochemische Eigenschaften und Neuroprotektivität.....	12
1.3	Hypothesen.....	15
2	Material und Methoden.....	16
2.1	Versuchsanordnung <i>in vivo</i>	16
2.1.1	Versuchsaufbau und -planung.....	16
2.1.2	Tiere	17
2.1.3	Narkose, Analgesie und Temperaturerhaltung	17
2.1.4	Schädel-Hirn-Trauma nach Controlled Cortical Impact Modell	18
2.1.5	Behandlung der Tiere mit Argon.....	20
2.1.6	Langzeitmessung des systemischen arteriellen Blutdrucks und zerebralen Blutflusses	20
2.2	Analytik.....	21
2.2.1	Neurologische Testung der Versuchstiere.....	21
2.2.2	Histologische Auswertung der Gehirne.....	24
2.2.3	Messung des intrakraniellen Drucks und Hirnwassergehalts.....	25
2.3	Protokolle der Versuchsreihen	26
2.3.1	A - 4 h Behandlung.....	26
2.3.2	B - 24 h Behandlung.....	27
2.3.3	C - 24 h Behandlung mit angepassten Sauerstoffkonzentrationen.....	28

2.3.4	D - Untersuchungen zum Blutdruck und CBF	29
2.4	Statistische Auswertung	30
3	Ergebnisse	31
3.1	A - 4 h Behandlung.....	31
3.1.1	Primärschaden nach 15 min	31
3.1.2	Kontusionsvolumen nach 24 h.....	31
3.1.3	Hirnwassergehalt und intrakranieller Druck nach 24 h.....	32
3.1.4	Neurologischer Status nach 24 h.....	34
3.2	B - 24 h Behandlung.....	36
3.2.1	Kontusionsvolumen nach 24 h Behandlung.....	36
3.2.2	Hirnwassergehalt und intrakranieller Druck nach 24 h Behandlung 37	
3.2.3	Neurologischer Status nach 24 h Behandlung.....	39
3.3	C - 24 h Behandlung mit angepassten Sauerstoffkonzentrationen	41
3.3.1	Kontusionsvolumen nach 24 h Behandlung.....	41
3.3.2	Hirnwassergehalt und intrakranieller Druck nach 24 h Behandlung 42	
3.3.3	Neurologischer Status nach 24 h Behandlung.....	44
3.4	D - Untersuchungen zum Blutdruck und CBF	46
4	Diskussion.....	48
4.1	Methodik.....	48
4.1.1	Controlled Cortical Impact Modell	48
4.1.2	ICP und Hirnwasser	49
4.1.3	Histologische Auswertung	50
4.1.4	Beamwalk und Neuroscore.....	50
4.2	Ergebnisse	51
4.2.1	Argonkonzentration.....	51
4.2.2	Behandlungsdauer.....	53
4.2.3	Behandlung bei physiologischen Sauerstoffkonzentrationen.....	54
4.2.4	Effekte auf Blutdruck und Hirndurchblutung	55

4.3	Anti-apoptotische Wirkung von Argon	55
4.4	Wirkung von Sauerstoff	58
4.5	Behandlungszeitraum.....	59
5	Zusammenfassung	60
6	Literaturverzeichnis.....	63
7	Abkürzungen.....	80

1 EINLEITUNG

1.1 Das Schädel-Hirn-Trauma

1.1.1 Definition

Ein Schädel-Hirn-Trauma (SHT) ist eine Verletzung des Gehirns aufgrund äußerer Gewalteinwirkung, die mit Funktionsstörungen und Schädigungen weiterer benachbarter bzw. begleitender Strukturen wie Kopfschwarte, Kalotte, Gefäße, Nerven und/oder Meningen einhergehen kann. Zusätzlich erfolgt eine Unterscheidung zwischen offenen und geschlossenen SHT. Bei Läsion der Dura kommt es zur Verbindung zur Außenwelt zu einem sogenannten offenen SHT, einhergehend mit erhöhtem Risiko von Infektionen und Liquorverlust (Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie, 2015).

Von der früher oft verwendeten Einteilung in Comotio, Contusio und Compressio cerebri wird mittlerweile abgeraten. Stattdessen hat sich zur Beurteilung des Schweregrades des SHT die Einteilung nach der Glasgow-Coma-Scale durchgesetzt, die seit ihrer Einführung (Teasdale & Jennett, 1974) mittlerweile nahezu universell bei vigilanzgeminderten Patienten angewendet wird. Durch Beurteilung der Augenöffnung, motorischer Reaktion und verbaler Kommunikation wird ein Punktwert zwischen 3 und 15 vergeben, der maßgeblich für die Einschätzung der Schwere der zentralen Funktionsstörung ist (Tabelle 1). Die klinischen Befunde werden gemäß folgender Tabelle (Tabelle 2) mit Punkten versehen, wobei jeweils die bestmögliche Reaktion des Patienten bewertet wird. Die Summe ergibt den GCS-Score.

Tabelle 1

GCS	SCHWERE DES SCHÄDEL-HIRN-TRAUMAS
13-15	Leicht
9-12	Mittelschwer
3-8	Schwer

Tabelle 2

PUNKTE	AUGENÖFFNUNG	VERBALE KOMMUNIKATION	MOTORIK
6			Bewegung nach Aufforderung
5		Konversationfähig, orientiert	Gezielte Abwehr auf Schmerzreiz
4	Spontan	Konversationfähig, desorientiert	Ungezielte Abwehr auf Schmerzreiz
3	Auf Aufforderung	Unzusammenhängende Wörter	Beugesynergismen auf Schmerzreiz
2	Nur auf Schmerzreiz	Unverständliche Laute	Strecksynergismen auf Schmerzreiz
1	Keine Augenöffnung	Keine Reaktion	Keine Reaktion

Trotz ihrer Verbreitung weist die GCS Mängel auf, wie zum Beispiel die Nichtberücksichtigung von Pupillenreflexen und schlechte Anwendbarkeit bei sedierten, intubierten und relaxierten Patienten (Segatore & Way, 1992). Durch die definitionsgemäße Bewertung der bestmöglichen Antwort wird bei motorischen Asymmetrien die schlechtere Reaktion nicht beachtet, was auch bei erfahrenen Ärzten teils zu falschen Angaben führt (Lazarovici, 2005; Marion & Carlier, 1994).

Einen anderen Ansatz verfolgten Tönnies und Loew, die die Dauer bis zum Abklingen sämtlicher neurologischer Symptome zur Einteilung der Schwere des SHT heranzogen (Tabelle 3) (Tönnies, 1953). Da die Einteilung per Definition nur retrospektiv im zeitlichen Intervall vorgenommen werden kann, ist sie in der Klinik zur Einschätzung der Akutsituation nicht als relevant zu erachten.

Tabelle 3

Grad I	Rückbildung innerhalb von 4 Tagen
Grad II	Rückbildung innerhalb von 3 Wochen
Grad III	Keine Rückbildung innerhalb von 3 Wochen

1.1.2 Epidemiologie

In Deutschland wird die Inzidenz von SHTs auf ca. 332 Fälle pro 100.000 Einwohner geschätzt, wobei der Großteil der Fälle leichte SHTs sind (90,9%), gefolgt von schweren und mittelschweren (5,2% bzw. 3,9%). (Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie, 2015; Rickels, 2006; von Wild & Wenzlaff, 2005). Es handelt sich in Deutschland um die Haupttodesursache bei unter 45-jährigen Personen und eine häufige Todesursache bei unter 15-jährigen Kindern (Jennett, 1996; Steudel, Cortbus, & Schwerdtfeger, 2005). Eine eigene Recherche in der Gesundheitsberichtserstattung des Statistischen Bundesamtes listet für 2015 272.594 Fälle von SHTs auf, die unter S.06 (intrakranielle Verletzungen) kodiert wurden. Dies entspricht bei einer damaligen Bevölkerung von 82,2 Mio. ebenfalls einer Inzidenz von 332 Fällen/100.000 Einwohner (Statistisches Bundesamt, 2017). Eine Metaanalyse 28 europäischer epidemiologischer Studien aus 16 europäischen Ländern ergab eine Inzidenz von 262 Fällen/100.000 Einwohner (Peeters et al., 2015).

Ältere Patienten ziehen sich vor allem bei Stürzen SHTs zu, während junge Personen hauptsächlich durch Verkehrsunfälle verletzt werden (Bruns & Hauser, 2003; Lawrence et al., 2016; Peeters et al., 2015). Ein erheblicher Anteil der verletzten Personen hat eine dauerhafte Behinderung nach einem SHT. Zudem sind deutlich mehr Männer als Frauen betroffen (Baethmann, Wirth, & Schlesinger-Raab, 2002; Corrigan, Selassie, & Orman, 2010; Faul, Wald, Xu, & Coronado, 2010). Global gesehen betrifft dies vor allem Entwicklungs- und Schwellenländer, in denen die Motorisierung rasant zunimmt, während hochwirksame verpflichtende Sicherheitsmaßnahmen, wie z.B. Helmpflicht fehlen (Servadei et al., 2003). Durch steigende Zahlen an Verkehrsunfällen (inklusive SHTs) werden diese laut einem Bericht der WHO bis 2020 die dritthäufigste Todesursache weltweit sein (Finfer & Cohen, 2001).

Die Altersstruktur des US-amerikanischen Patientenguts zeichnet ein ähnliches Bild: Personen unter 45 Jahren sind insbesondere durch Verkehrsunfälle häufig betroffen. Hierbei muss erwähnt werden, dass die absoluten Fallzahlen in dieser Gruppe eine sinkende Tendenz aufweisen. Im Gegensatz dazu steigt bei älteren Patienten über 75 Jahren die Inzidenz und Mortalität durch SHT nach Stürzen

(Coronado et al., 2011; Corso, Finkelstein, Miller, Fiebelkorn, & Zaloshnja, 2006; Kraus & Nourjah, 1988; Murray & Lopez, 1997).

1.1.3 Klinisches Management des Schädel-Hirn-Traumas

Die Erhebung von (Fremd-)Anamnese, Vitalparametern und körperlichem Untersuchungsbefund (mit besonderem Augenmerk auf neurologische Symptome, GCS und Erfassung von Begleitverletzungen) sollte soweit möglich bereits präklinisch am Unfallort erfolgen. Eine Abklärung des Unfallhergangs, wie z.B. die Fallhöhe bei Sturzereignis oder Fahrzeuggeschwindigkeit geben Hinweise auf mögliche Begleitverletzungen und erleichtern die Entscheidung zur Veranlassung weiterer Diagnostik. Neben der zwingenden Erstversorgung des Patienten nach ABCDE-Schema besteht nach heutigem Stand eine generelle Empfehlung zur Intubation bewusstloser Patienten bei $GCS \leq 8$. (Badjatia et al., 2008). Bei jeglicher Art von Antikoagulation sollte ein cCT (craniale Computertomographie) veranlasst werden, da sich ein altersunabhängig erhöhtes Blutungsrisiko zeigt. Dies gilt umso mehr für Patienten, die sich unter therapeutischer Antikoagulation befinden (Sauter et al., 2016). Zur Indikationsstellung eines cCT kann zusätzlich bei leichtem SHT die Bestimmung der Serumkonzentration von S-100B erwogen werden (Biberthaler et al., 2006).

Bei leichtem SHT muss bei Anwesenheit einer der folgenden Risikofaktoren eine 24-stündige stationäre Überwachung veranlasst werden (Aschenbrenner, Biberthaler, & Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie, 2012).

- Alter > 60 Jahre
- Gerinnungsstörungen
- GCS 13-14
- Schädelknochenbruch
- Liquorfistel
- Hämatomypanon
- Antikoagulation
- Verletzung unter Alkohol- oder Drogeneinfluss
- Epileptischer Anfall im Zusammenhang mit dem Trauma
- Bewegungs- oder Sensibilitätsdefizite im Zusammenhang mit dem Trauma
- Seh- oder Hörstörungen nach dem Trauma
- Demenz

Die Therapie des Schädel-Hirn-Trauma zielt vor allem auf die Sicherstellung einer ausreichenden zerebralen Zirkulation ab. Dazu nötig ist ein stabiler systemischer mittlerer arterieller Blutdruck von über 90 mmHg und die effektive Senkung eines durch Hirnödem oder Einblutung erhöhten intrakraniellen Drucks (ICP) (Chesnut et al., 1993). Insbesondere ICP Werte von über 20 mmHg haben ein deutlich schlechteres Outcome zur Folge (Anthony Marmarou et al., 1991). Die Differenz des mittleren arteriellen Drucks (MAP) und des ICP ergibt den cerebralen Perfusionsdruck (CPP), der nicht unter 50 mmHg fallen sollte (Badruddin, Taqi, Abraham, Dani, & Zaidat, 2011; Brain Trauma Foundation et al., 2007; Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie, 2015). Angestrebt wird ein CPP von über 60 mmHg, wobei hohe Werte über 70 mmHg in der Literatur keinen Zusatznutzen zeigen konnten. Zur Senkung des ICP wird eine Oberkörperhochlagerung bei 30° empfohlen. Bei beatmeten Patienten kann in Akutsituationen eine leichte Hyperventilation zur Ausbildung einer milden Hypokapnie begonnen werden, die ihrerseits durch eine Vasokonstriktion zu einer Abnahme des intrakraniellen Blutvolumens führt. Die Hyperventilation wird im Gegensatz zur früheren Meinung nicht mehr als langfristige Erstlinien-Therapie empfohlen (Bouma, Muizelaar, Choi, Newlon, & Young, 1991; Marhong & Fan, 2014; Marion, Firlik, & McLaughlin, 1995; Nino Stocchetti, Maas, Chieregato, & van der Plas, 2005). Eine kurzfristige Senkung des ICP kann auch durch hyperosmolare Infusionen und Mannitol erreicht werden, die zu einer Volumenverschiebung nach intravasal führen (DeNett & Feltner, 2019; Oddo et al., 2009). Die bei intubierten Patienten obligate Analgosedierung kann auch bei anderen Patienten zur Vermeidung von Angst- und Unruhezuständen indiziert sein. Der Einsatz von Barbituraten zur Senkung schwer einstellbarer erhöhter ICP-Werte muss kritisch betrachtet werden, da die häufig eintretende systemische Hypotension zur Senkung des CPP führt (Roberts & Sydenham, 2012).

Die lange durchgeführte Glukokortikoidtherapie wird mittlerweile nicht mehr empfohlen (Hoshide, Cheung, Marshall, Kasper, & Chen, 2016; Roberts et al., 2004). Eine prophylaktische Antibiotikagabe bei Verletzung der Dura mit oder

ohne Liquorrhoe kann durchgeführt werden. Eine eindeutige Evidenz dafür besteht jedoch nicht (Brodie, 1997; Villalobos, Arango, Kubilis, & Rathore, 1998).

Eine notfallmäßige Operation wird bei raumfordernden intrakraniellen Verletzungen empfohlen, insbesondere bei Einblutungen (Bullock et al., 2006b) und Impressionsfrakturen (Bullock et al., 2006a). Hier ist besonders die Verlagerung von Hirnstrukturen, wie z.B. eine Mittellinienverlagerung und drohende Herniation maßgebend, die sich in der Bildgebung darstellen. Die Indikation wird in Zusammenschau mit dem klinischen Befund gestellt, wobei eine rapide Verschlechterung des Zustandes den Verdacht auf eine Herniation erhärtet und eine schnelle Diagnostik und Therapie erfordert. Eine Operation im Sinne einer Entlastungskraniektomie kann als Maßnahme zur Senkung des ICP durchgeführt werden (Cooper et al., 2011; Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie, 2015; Hutchinson, Timofeev, & Kirkpatrick, 2007).

1.1.4 Pathophysiologie

Die durch ein Schädelhirntrauma verursachten Schäden lassen sich in Primär- und Sekundärschäden einteilen. Während der Primärschaden direkt durch die Krafteinwirkung entsteht und irreversibel ist, entwickelt sich der Sekundärschaden im zeitlichen Intervall von Stunden bis Tagen und ist einer Therapie zugänglich (Mendelow & Teasdale, 1983; Werner & Engelhard, 2007).

1.1.4.1 Primär- und Sekundärschaden

Unter Primärschaden werden alle Verletzungen zusammengefasst, die direkt im Moment der äußeren Gewalteinwirkung entstehen. Dazu gehören die Zerreißung von Hirngewebe, Quetschungen, Läsion von Knochen, Gefäßen und Nerven und/oder die Verletzung der Meningen. Oft findet sich bei linearer Krafteinwirkung sowohl auf der Seite der Gewalteinwirkung als auch auf der gegenüberliegenden Seite des Gehirns eine Kontusion (Coup-Contrecoup-Läsion). Die Contre-Coup-Läsion entsteht wahrscheinlich aufgrund des Zurückfederns des Gehirns auf die gegenüberliegende Kalottenseite kurz nach Entstehung der Coup-Läsion (Denny-Brown & Russell, 1941; Goggio, 1941; Strich, 1970). Es wird zudem ein weiterer Mechanismus vermutet: ein kurzfristiger Unterdruck im Bereich des

Contre-Coups bei Verlagerung des Gehirns während der initialen Krafteinwirkung auf den Schädel (Martin, 2016). Im Falle rotatorischer Krafteinwirkung sowie starker Akzeleration und Dezeleration kommt es durch Scherkräfte zu Läsionen tieferer Hirnregionen, typischerweise zu diffusen axonalen Schädigungen (DAI) vor allem des Hirnstamms, des Corpus Callosum, im Übergangsbereich zwischen weißer und grauer Hirnsubstanz und parasagittaler Leitungsbahnen (Adams, Graham, & Gennarelli, 1983; Büki & Povlishock, 2006; Gennarelli, 1983; Ma, Zhang, Wang, & Chen, 2016; Meythaler, Peduzzi, Eleftheriou, & Novack, 2001; Stubbe & Wölfer, 2012) .

Epi- und subdurale Hämatome entstehen nach Verletzung der arteriellen Gefäße der Dura bzw. Brückenvenen und führen durch Einblutung zu einem intrakraniellen Volumenzuwachs, der Verdrängung von Hirnmasse und somit zu einem ICP-Anstieg. Mit ca. 40% sind auch traumatische Subarachnoidalblutungen ein häufiges Erscheinungsbild intrakranieller Blutungen (Zylka-Menhorn, 1996). Epidurale und akute subdurale Hämatome führen nach Minuten bis Stunden zu einer plötzlichen und raschen Eintrübung der Patienten, während chronische Subduralhämatome monatelang symptomfrei bleiben können (H. Chen et al., 2012; Iorio-Morin et al., 2018; Karibe et al., 2014).

Der Sekundärschaden entwickelt sich erst Stunden bis Tage nach der initialen Verletzung des Gehirns und äußert sich in einem Anstieg des ICP durch die Entwicklung eines Hirnödems. Das Trauma führt ähnlich wie in anderen Organen zu einer Entzündungsreaktion, die mit einer Schwellung einhergeht. Dies geschieht im Falle eines mechanischen oder hypoxischen Hirnschadens im Bereich der Penumbra. Dieses Gebiet befindet sich in Nachbarschaft des Primärschadens und besteht aus Zellen, die aufgrund ihrer noch erhaltenen Überlebensfähigkeit durch eine Therapie potenziell erhalten werden können (Astrup, Siesjo, & Symon, 1981; Gaetz, 2004; D. R. Lynch & Dawson, 1994). Durch die anatomischen Begebenheiten, der kompletten Ummantelung des Gehirns durch die Knochen des Neurokraniums, kann sich das Ödem jedoch nicht beliebig weit ausbreiten. Bis zu einem gewissen Grad kann der Volumenzuwachs des Gehirns durch das Auspressen des Liquors aus den Ventrikeln und Verringerung des intravasalen Blutvolumens kompensiert werden. Bei Erschöpfung dieses Mechanismus kommt es zum ICP-Anstieg. Hierbei ist zu

beachten, dass der Anstieg keineswegs linear abläuft, sondern exponentiell verläuft (Anthony Marmarou, Shulman, & LaMorgese, 1975). Der erhöhte ICP schränkt seinerseits den CPP weiter ein und verstärkt die Hypoxie des Gewebes (N. Stocchetti & Maas, 2014; E. A. Winkler, Minter, Yue, & Manley, 2016). Letztendlich führt dies zum irreversiblen Zellschäden durch Nekrose und auch Apoptose (Siesjö, 2008). Es kommt zu einer Zunahme des Hirnödems und zur Bildung eines circulus vitiosus, der ohne Intervention zur Herniation des Gehirns führt. Hierzu zählt unter anderem die transtentorielle Herniation, die sich durch die Einklemmung des N. oculomotorius durch eine okuläre Symptomatik äußert, und die tonsilläre Herniation durch das Foramen magnum, die durch die Einklemmung der Medulla oblongata stets letal ist (Eisenberg et al., 1990). Durch das zeitlich verzögerte Auftreten des Hirnödems und den anfänglichen Kompensationsmechanismen kommt der stationären Überwachung der Patienten eine besondere Bedeutung zu, auch wenn Symptomfreiheit besteht (Stubbe & Wölfer, 2012).

Das Ziel der Therapie des Schädel-Hirn-Traumas ist die Vermeidung oben genannter Komplikationen und Folgeschäden. Dies kann nur durch die Reduzierung des Sekundärschadens erreicht werden, da nur dieser durch sein zeitlich verzögertes Auftreten therapeutisch beeinflussbar ist. Der Primärschaden entsteht zum Zeitpunkt des Traumas und kann anschließend nicht mehr beeinflusst werden.

Die Pathophysiologie des Sekundärschadens ist komplex und nicht in allen Aspekten geklärt. Es kann davon ausgegangen werden, dass es nach der initialen Schädigung zu einer Perfusionsstörung des Hirnparenchyms mit konsekutiver Hypoxie kommt. Es kommt zum Anschwellen der Neurone und Gliazellen im Sinne eines zytotoxischen Hirnödems (Prins, Greco, Alexander, & Giza, 2013; Schröder, Muizelaar, Bullock, Salvant, & Povlishock, 1995). Zusätzlich bewirkt eine Vasodilatation und erhöhte Kapillarpermeabilität eine weitere intrakranielle Flüssigkeitsansammlung.

1.1.4.2 Exzitotoxizität

Der Begriff der Exzitotoxizität beschreibt biochemische Vorgänge die wesentlich für die Entwicklung des Hirnödems nach SHT sind.

Die Krafteinwirkung des Schädel-Hirn-Traumas führt zu einer Störung der Integrität der Membranen der Neuronen. Es kommt durch Einstrom von Na^+ und Ca^{2+} -Ionen zur Depolarisation des Neurons, die konsekutiv eine Ausschüttung von Glutamat auf bis zu 50-fache physiologische Gewebekonzentration bewirkt. Dieses führt wiederum zur Depolarisation weiterer Neurone (Andriessen, Jacobs, & Vos, 2010; Bullock et al., 1998; Kimelberg, 1995). Zusätzlich akkumuliert Ca^{2+} intrazellulär, was zu einer Störung der mitochondrialen Funktion und Nekrose oder Apoptose führt (Orrenius, Zhivotovsky, & Nicotera, 2003; Xiong, Gu, Peterson, Muizelaar, & Lee, 1997). Besonders wichtig für die Passage von Ca^{2+} nach intrazellulär ist der N-methyl-D-aspartat (NMDA) Rezeptor (D. R. Lynch & Dawson, 1994). Dies führt zusammen mit der gestörten Sauerstoffversorgung zum Versagen der Natrium-Kalium-ATPase. Es kommt zu einem zytotoxischen Hirnödem mit Verlagerung von Flüssigkeit von extrazellulär nach intrazellulär mit zunächst unverändertem intrakraniellm Volumen (Jayakumar et al., 2008; Stubbe & Wölfer, 2012).

1.1.4.3 Blut-Hirn-Schranke

Durch Tumoren, Entzündungen und SHT wird die Funktion der Blut-Hirn-Schranke eingeschränkt. Im Falle eines SHT sind dafür insbesondere Mikrorisse der kleinen Gefäße verantwortlich (Rodriguez-Baeza, Reina-de la Torre, Poca, Marti, & Garnacho, 2003). Es kommt durch eine erhöhte Kapillarpermeabilität zu einer Flüssigkeitsverlagerung in das Interstitium. Die Hypoxie des Parenchyms und die häufig mit dem SHT einhergehende Hyperkapnie verstärken diese Störung und führen zu einer Vasodilatation mit vermehrtem intrakraniellm Blutfluss und einer verstärkten Störung der Blut-Hirn-Schranke, was wiederum den interstitiellen Volumenzuwachs weiter antreibt (Al Ahmad, Gassmann, & Ogunshola, 2012; Chodobski, Zink, & Szmydynger-Chodobska, 2011; Golding, Robertson, & Bryan, 1999; Prakash & Carmichael, 2015).

1.1.5 Schädel-Hirn-Trauma Modelle

Um wissenschaftlich verwertbare Ergebnisse zu erhalten, werden zur Simulation eines Schädel-Hirn-Traumas mittlerweile mehrere, zum Teil sehr unterschiedliche Tiermodelle genutzt. Allen ist gemein, dass sie reproduzierbare, stets gleichartige und gleich ausgeprägte Läsionen des Gehirns verursachen. In

diesem Abschnitt soll nur auf die am häufigsten verwendeten Modelle eingegangen werden.

1.1.5.1 Weight Drop Modell:

Hierbei handelt es sich um ein klassisches, lang angewendetes Modell zur Auslösung eines fokalen SHT an Ratten. Diese werden in Kurznarkose gelegt und unter ein Gewicht platziert. Dieses ist in einer definierten Höhe angebracht und wird durch Schienen o.ä. senkrecht auf den Schädel des Versuchstiers fallen gelassen (Feeney, Boyeson, Linn, Murray, & Dail, 1981). Klassischerweise wird das Experiment mit Trepanation durchgeführt. Mittlerweile existieren jedoch auch Protokolle, die sowohl Versuche an Mäusen als auch eine Durchführung ohne vorherige Trepanation beschreiben (Flierl et al., 2009). Die Verletzung führt zu einem Hirnödem und einer langanhaltenden Störung der Blut-Hirn-Schranke von bis zu 30 Tagen nach Trauma (Y. Chen, Constantini, Trembovler, Weinstock, & Shohami, 1996). Die Vorteile dieses Modells sind die unkomplizierte Durchführung vor allem bei Verzicht auf Trepanation. Nachteile ergeben sich aus dem Risiko einer Schädelfraktur bei hohen Fallhöhen bzw. schweren Gewichten und einem möglichen Zweitschaden nach Abprallens des Gewichts auf der Schädeloberfläche (Morales et al., 2005).

1.1.5.2 Impact Acceleration Modell:

Ähnlich wie beim Weight Drop Modell wird hier ein 450g Gewicht auf die Versuchstiere fallen gelassen. Der Unterschied besteht in der Fixierung einer Platte auf die freigelegte Kalotte des Tieres, so dass die Aufprallenergie gleichmäßig über den Schädel verteilt wird (A. Marmarou et al., 1994). Es kommt zu einer generalisierten Schädigung von Neuronen, Gefäßen und besonders Axone im Sinne eines DAI nach schwerem SHT, ohne dabei die Integrität der knöchernen Strukturen zu zerstören. Es bildet sich zusätzlich ein Hirnödem im Sinne einer perikapillären Astrozytenschwellung im Kortex und Hirnstamm. Die Mortalität der Versuchstiere ist ohne zusätzliche Beatmung vergleichsweise hoch. Sie betrug bis zu 59% bei 2 Meter Fallhöhe. (Foda & Marmarou, 1994).

1.1.5.3 Controlled Cortical Impact (CCI) Modell:

Das CCI-Modell wurde zur Durchführung der Experimente dieser Doktorarbeit verwendet. Die erste Anwendung erfolgte 1988 an Fretchen (Lighthall, 1988),

mittlerweile wird das Modell auch bei Ratten (Dixon, Clifton, Lighthall, Yaghamai, & Hayes, 1991), Mäusen (Smith et al., 1995) und Schafen (Anderson, Brown, Blumbergs, McLean, & Jones, 2003) angewandt. Die Durchführung wird im Methodenteil beschrieben. Zusammengefasst wird nach Trepanation ein druckluftbetriebener Stempel auf den Kortex geschossen, der mit präzisen einstellbaren Parametern wie Eindringtiefe und Verweildauer bis zum automatischen Zurückziehen gesteuert werden kann. Ähnlich wie beim Weight Drop Modell wird hierbei ein fokaler Schaden verursacht. Vorteile dieses Modells sind die sehr gut vergleichbaren Ergebnisse und die Möglichkeit mehrere Parameter des Traumas zu beeinflussen. Die Durchführung ist etwas komplizierter; es ist eine sorgfältige Trepanation durchzuführen. Die größte Inkohärenz im Vergleich zur Realität ist der Ausfall von Mortalität als Outcome Parameter, da sich der Schaden nahezu komplett auf den Kortex beschränkt und tiefe Hirnstrukturen kaum geschädigt werden. Somit versterben die Versuchstiere nahezu nie nach Trauma (Morales et al., 2005; Xiong, Mahmood, & Chopp, 2013). Im Tiermodell ist dies jedoch von Vorteil zumal dieses Modell eine sehr standardisierte Kontusion hervorruft, an welcher sich sehr exakt die therapeutischen Auswirkungen auf Kontusion und Hirnödem messen lassen.

1.1.5.4 Fluid Percussion Modell:

Dieses Modell wird bei Katzen (Sullivan et al., 1976; Zauner et al., 2002), Hunden, Schafen (Millen, Glauser, & Fairman, 1985), Schweinen (Pfenninger, Reith, Breitig, Grunert, & Ahnefeld, 1989), Ratten (Dixon et al., 1987; McIntosh, Noble, Andrews, & Faden, 1987) und Mäusen (Carbonell, Maris, McCall, & Grady, 1998) angewendet. Nach Präparation und Trepanation der Kalotte wird mittels Pendel ein Flüssigkeitsbolus in den Epiduralraum gespritzt. Dabei kann für das Trauma eine Stelle zentral auf dem Vertex oder lateral auf dem Os parietale gewählt werden (Schmidt & Grady, 1993). Die Höhe des Pendels bestimmt hierbei die Intensität des Traumas und beeinflusst die hervorgerufenen Schädigungen. Dazu gehören Funktionsstörungen der Blut-Hirn-Schranke, axonale Schädigungen, Hirnödem, EEG-Veränderungen, subarachnoidale und parenchymale Blutungen sowie funktionell neurologische Einschränkungen (Wang, Shimura, Kobayashi, Teramoto, & Nakazawa, 1997; Yamaki et al., 1997). Vorteile sind eine hohe Reproduzierbarkeit und eine fein einstellbare

Traumaintensität. Der Nachteil ist der Zwang zur Trepanation und die hohe Mortalität der Versuchstiere ohne Beatmung (Levasseur, Patterson, Ghatak, Kontos, & Choi, 1989; Morales et al., 2005; Xiong et al., 2013).

1.2 Argon und andere Edelgase

1.2.1 Chemisch-physikalische Eigenschaften

Argon als chemisches Element besitzt die Ordnungszahl 18 und gehört zur 8. Hauptgruppe des Periodensystems, den Edelgasen. Es ist ein farb- und geruchloses Gas. Es macht knapp ein Prozent der Erdatmosphäre aus. Wie alle Edelgase reagiert Argon äußerst selten in chemischen Reaktionen aufgrund der Elektronenkonfiguration mit komplett gefüllten Elektronenschalen (Edelgaskonfiguration). Sie kommen im Gegensatz zu anderen Elementargasen wie z.B. Sauerstoff, Wasserstoff und Stickstoff nur als einatomige Moleküle vor (Mortimer, 2014). Lediglich das sehr instabile und auf der Erde nicht natürlich vorkommende Argonfluorohydrid ist als einzige Argonverbindung bekannt. (Khriachtchev, Pettersson, Runeberg, Lundell, & Rasanen, 2000). Auch Inertgase genannt, reagieren Edelgase am ehesten durch hydrophobe Wechselwirkungen mit anderen Molekülen. Diese Eigenschaft wird maßgeblich durch die Größe des jeweiligen Atoms bestimmt (Quillin, Breyer, Griswold, & Matthews, 2000).

Im medizinischen Bereich wird Argon seit den 1990ern im Kontext der Argon Plasma Koagulation (engl. APC) verwendet, um kontaktlos Elektrokoagulationen durchzuführen (Grund, Storek, & Farin, 1994).

Im nicht-medizinischen Bereich wird Argon seit langer Zeit als Schutzgas bei Schweißarbeiten verwendet, um Reaktionen mit Umgebungsgasen wie z.B. Sauerstoff zu vermeiden (Schichtel & Piwowarsky, 1929).

1.2.2 Biochemische Eigenschaften und Neuroprotektivität

Xenon zeigte neuroprotektive Eigenschaften nach *in vitro* Schädel-Hirn-Trauma am Mausmodell, die durch eine Inhibition der Glycin Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors vermittelt wird (Harris et al., 2013). Der NMDA-Rezeptor ist zusammen

mit dem AMPA-Rezeptor als Glutamatrezeptor der wichtigste Mediator der Exzitotoxizität. Durch eine Inhibierung kann die Kettenreaktion der unkontrollierten Depolarisation und Ausschüttung von Glutamat unterbunden werden. Darüber hinaus wird Xenon (aufgrund der sehr hohen Kosten sehr selten) als Inhalationsanästhetikum verwendet (C. Lynch, 3rd, Baum, & Tenbrinck, 2000; Neice & Zornow, 2016; D. A. Winkler, Thornton, Farjot, & Katz, 2016).

Auf der Suche nach einer kostengünstigen Alternative wurden bereits mehrere Studien mit Argon durchgeführt, die in verschiedenen Modellen eine neuroprotektive Wirkung zeigen konnten (Sanders, Ma, & Maze, 2010; Felix Ulbrich & Goebel, 2015, 2016). Neben dem Kostenfaktor ist ein weiterer Vorteil von Argon, dass dieses erst ab hyperbaren Drücken anästhetisch wirkt (Abraini, Kriem, Balon, Rostain, & Risso, 2003; Ruzicka, Benes, Bolek, & Markvartova, 2007).

Eine Studie von Jawad et al. testete an Kulturen fetaler Mäusegehirne die neuroprotektive Wirkung von Helium, Krypton, Argon und Neon nach Entzug von Sauerstoff und Glukose (Oxygen-Glucose-Deprivation, OGD) für 90 min. In dieser Zeit wurde 75% Edelgas, 20% Stickstoff und 5% CO₂ bzw. in der Kontrolle 95% Stickstoff und 5% CO₂ verabreicht. Danach folgte eine 24-stündige Behandlung mit 75% Edelgas (bzw. 75% Stickstoff in der Kontrolle), 20% Sauerstoff und 5% CO₂. Anschließend wurde ein MTT-Assay (Reduktion eines Tetrazoliumsalses) zur Beurteilung der Zellviabilität durchgeführt. Es zeigte sich bei Argon, jedoch nicht bei den anderen Edelgasen, eine signifikante Reduktion des Schadens nach OGD (Jawad et al., 2009) im Vergleich zur Kontrolle.

In einem *in vitro* Modell zur Simulation eines Schlaganfalls wurde isolierten Hippocampuspräparaten von Mäusen 30 min gemäß dem OGD Modell Sauerstoff entzogen und ein glukosefreies Medium hinzugefügt. Nach 72-stündiger Inkubation der Präparate in glukosehaltigem Nährmedium und Gasatmosphären mit 21 Prozent Sauerstoff und variierenden Konzentrationen von Argon (25%, 50% und 75%) und Stickstoff wurden die Auswertung mittels PI-Färbung (Propidiumjodid) durchgeführt. Es zeigte sich in allen mit Argon behandelten Gruppen eine signifikante und dosisabhängige Reduktion des

Gewebeschadens, mit einer optimalen Argonkonzentration von 75%. Zur Simulation eines Schädel-Hirn-Traumas wurden ähnliche Präparate mit einem Stift mit konstanter kinetischer Energie traumatisiert und auf die gleiche Weise für 72 h mit Argon behandelt. Auch hier führte Argon in allen Gruppen zu einer signifikanten Schadensreduktion. Im Gegensatz zum OGD-Versuch ließ sich die größte Neuroprotektivität bei 50% Argon erreichen (Loetscher et al., 2009).

Weitere Studien lieferten in *in vivo* Modellen Anhaltspunkte für eine Neuroprotektivität von Argon.

Um exzitotoxischen Stress zu induzieren wurde Ratten intrastriatal NMDA injiziert. Eine einstündige Behandlung mit 37,5% und 50% Argon nach der Injektion führte zu einer signifikanten Reduktion des Schadens. In einem weiteren Modell wurde durch eine einstündige Okklusion der Arteria cerebri media (middle cerebral artery occlusion, MCAO) an Ratten ein Schlaganfall verursacht. Nach Reperfusion und dreistündiger Behandlung mit 50% Argon zeigte sich eine signifikante Reduktion des kortikalen Schadens, bei gleichzeitig signifikantem Anstieg des subkortikalen Schadens. Die Sauerstoffkonzentration war konstant bei 25% mit Stickstoff als dritte Komponente (David et al., 2012).

Eine Studie von Ryang et al. konnte ebenfalls eine Neuroprotektion nach MCAO an der Ratte feststellen. Die Okklusion dauerte insgesamt 2 h. Die Behandlung wurde in der zweiten Hälfte des Experiments mit 50% Argon und 50% Sauerstoff bzw. in der Kontrolle mit 50% Stickstoff und 50% Sauerstoff durchgeführt. 24 h nach Reperfusion wurden die Tiere neurologisch evaluiert. Anschließend wurden die Gehirne entnommen, histologisch aufbereitet und mit Tetrazoliumchlorid gefärbt. Die Auswertung ergab eine signifikante Reduktion der Infarktvolumina und eine Besserung des neurologischen Ergebnisses durch die Behandlung mit Argon (Ryang et al., 2011).

Eine einstündige Behandlung von 50% Argon und 50% Sauerstoff nach experimenteller Subarachnoidalblutung *in vivo* an der Ratte konnte die Zahl vitaler hippocampaler Zellen 24 h nach Trauma signifikant steigern. Die Behandlung wurde 1 h nach dem Trauma begonnen (Hollig et al., 2016).

Einen gänzlich anderen Ansatz verfolgten Studien von Brücken et al., die *in vivo* einen signifikant reduzierten Schaden an Neokortex und Hippocampus, sowie ein

verbessertes neurologisches Ergebnis nach Herz-Kreislaufstillstand an der Ratte nachweisen konnte. 70% Argon und 30% Sauerstoff wurden nach 7 min Kreislaufstillstand und 3 min Reanimation für 1 h inhalativ verabreicht (Brucken et al., 2013; Brucken et al., 2014).

Diese vielversprechenden Ergebnisse führten zur Planung dieses Projektes, um die Frage zu klären, ob Argon auch nach Schädel-Hirn-Trauma *in vivo* an der Maus eine neuroprotektive Wirkung entfalten kann.

1.3 Hypothesen

Bisher konnte in den genannten Veröffentlichungen eine neuroprotektive Wirkung von Argon sowohl bei *in vitro* Ischämie und Trauma als auch bei *in vivo* Ischämie, Subarachnoidalblutung und exzitotoxischer Injektion gezeigt werden. Trotz dieser vielversprechenden und breiten Datenlage existieren bisher wenige Erkenntnisse bezüglich der Wirkung nach *in vitro* SHT und gar keine nach *in vivo* SHT. Die Feststellung einer möglichen Neuroprotektivität von Argon bei experimentellem Schädel-Hirn-Trauma-Modell bei der Maus ist die zentrale Fragestellung der hier vorliegenden Arbeit.

Für das Vorhaben wurden mehrere Versuchsreihen durchgeführt, um folgende Hypothesen zu untersuchen:

1. Argon ist nach Schädel-Hirn-Trauma an der Maus neuroprotektiv und hat einen positiven Einfluss auf die Größe des Sekundärschadens, auf das Ausmaß des Hirnödems, die neurologische Funktion sowie Mortalität.
2. Die Argonkonzentration und Behandlungsdauer beeinflussen den therapeutischen Erfolg, so dass optimale Behandlungsparameter ermittelt werden können.
3. Die Sauerstoffkonzentration während der Behandlung hat einen Einfluss auf den therapeutischen Erfolg.
4. Argon hat keinen Einfluss auf den systemischen Blutdruck und kraniellen Perfusionsdruck.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchsanordnung *in vivo*

2.1.1 Versuchsaufbau und -planung

Zur Untersuchung der oben genannten Hypothesen wurden 4 große Versuchsreihen etabliert. Diese unterschieden sich hinsichtlich der Behandlungsdauer und Messmethoden. Die ausführlichen Protokolle werden im Abschnitt 2.3 dargelegt.

In allen Versuchen wurden Kontrollgruppen eingeführt, die nicht mit Argon behandelt wurden. Alle Versuche und Auswertungen zur Bestimmung der Neuroprotektivität wurden verblindet durchgeführt. Die Verblindung wurde durch eine dritte, am Projekt ansonsten nicht direkt involvierte Person durchgeführt.

Um die Neuroprotektivität zu erfassen, wurden zur Bewertung der Versuche mehrere Parameter herangezogen. Die funktionelle Testung und Entnahme der Gehirne wurden 24 h nach dem Trauma durchgeführt.

1. Neurologische Testung der Tiere mithilfe des Beamwalk Versuchs und Neuroscores nach Dixon und Bederson zur Beurteilung des funktionellen Status
2. Histologische Messung des Kontusionsvolumens nach Anfertigung von HE-gefärbten Gefrierschnitten
3. Messung des intrakraniellen Drucks und anschließende getrennte Bestimmung des Hirnwassergehaltes in beiden Hemisphären zur Beurteilung des durch das Trauma entstandenen Hirnödems

Zusätzlich wurde in einer Versuchsreihe eine Langzeitmessung des systemischen arteriellen Blutdrucks und zerebralen Blutflusses durchgeführt, um mögliche Veränderungen dieser systemischen Parameter durch Argon auszuschließen. Sämtliche Messwerte wurden in dieser Versuchsreihe vollautomatisch und kontinuierlich aufgezeichnet. Es wurde hier auf eine Verblindung verzichtet.

2.1.2 Tiere

Zur Durchführung der Versuche dienten Mäuse des Stammes C57 Bl6, die von einem kommerziellen Versuchstierzüchter (Charles River Laboratories, Kißlegg, Deutschland) mit einem Gewicht von 20-22 g bezogen wurden. Nach Ankunft wurden die Tiere mindestens zwei bis drei Tage in der laboreigenen Tierhaltung belassen, um zusätzliche Stressfaktoren während der Versuche auszuschließen. Die Tiere wurden in Gruppen von 6-8 Exemplaren in Mäusekäfigen Typ III (Grundfläche 820 cm²) gehalten in denen Futter und Wasser jederzeit zugänglich waren. Die Käfige befanden sich in einem Airflow Schrank (ventilated cabinet der Fa EHRET), der über mehrere Systeme zur Temperatur-, Licht- und Feuchtigkeitsüberwachung und -regelung (automatische Befeuchtung der Luft, Heizung und Lichtprogramm mit Hell-Dunkel-Rhythmus von je 12 h) sowie zur Abluftfilterung mittels Aktivkohlefilter verfügte.

Alle Versuche, die zur Studie herangezogen werden, wurden nach Durchführung eines Programms zur Etablierung und Kontrolle des Modells durchgeführt, mit Genehmigung durch die Regierung von Oberbayern.

2.1.3 Narkose, Analgesie und Temperaturerhaltung

In den Versuchsreihen A-C zur neuroprotektiven Wirkung von Argon wurde eine Narkose mit Isofluran (initial 4-5%vol, nach Einleitung 1-2%vol) durchgeführt. Es wurde einem Gemisch aus 30% Sauerstoff und 70% Lachgas hinzugefügt, das die Maus frei inhaliert hat. Um eine adäquate Analgesie zu gewährleisten erhielten die Tiere zusätzlich subkutane Buprenorphin Injektionen (3 µg Buprenovet, Bayer Vital, Leverkusen, Deutschland). Die Narkosedauer betrug maximal 10-15 min.

Für die Untersuchungen des systemischen Blutdrucks und zerebralen Blutflusses wurde eine Triple-Narkose mit Medetomidin, Midazolam und Fentanyl (0,5/ 5,0/ bzw. 0,05 mg/kg KG) verwendet, die intraperitoneal injiziert wurde. Da diese Versuche mindestens 2,5 h dauerten, wurden die Tiere intubiert und mechanisch mit einem Beatmungsgerät (MiniVent 845, Hugo Sachs Elektronik, March-

Hugstetten, Deutschland) mit gleichen Teilen Sauerstoff und Stickstoff beatmet. Zur Aufrechterhaltung wurde in regelmäßigen Abständen das Narkosegemisch nachinjiziert. Nach dem Trauma erhielten die Mäuse der Kontroll-Gruppe weiterhin das Gasgemisch oder stattdessen ein Gemisch aus gleichen Teilen Sauerstoff und Argon. Die Narkose wurde zusätzlich durch die Entnahme von arteriellen Blutgasproben kontrolliert, deren Zeitpunkte aus dem Protokoll ersichtlich sind.

Alle Tiere wurden für die Dauer der Eingriffe auf eine automatisch temperierte Heizmatte gelegt, die durch eine rektale Temperatursonde gesteuert wurde. Die Temperatur wurde auf $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ eingestellt.

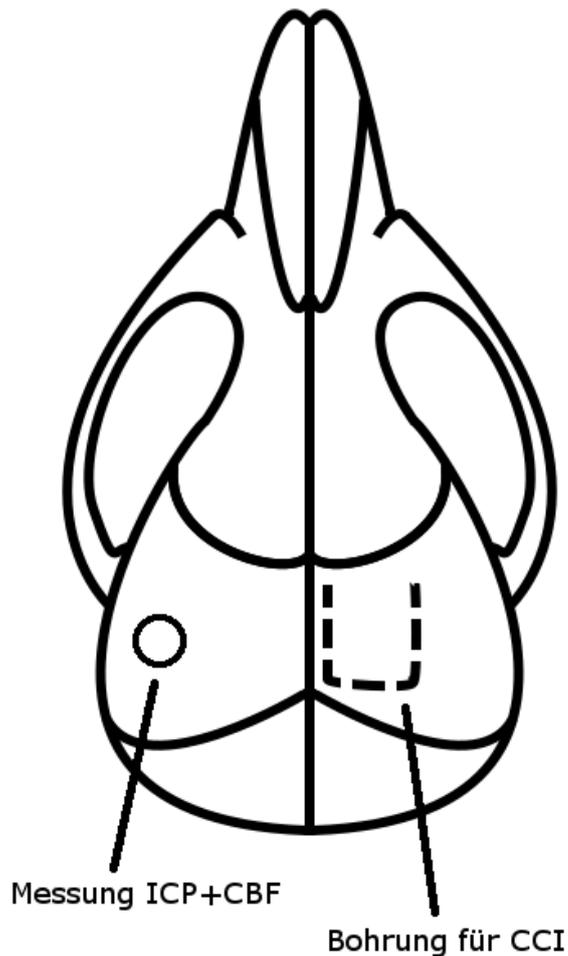
Darüber hinaus erhielten alle Mäuse eine Augensalbe zum Schutz der Kornea vor Austrocknung (Bepanthen®, Bayer, Leverkusen, Deutschland).

2.1.4 Schädel-Hirn-Trauma nach Controlled Cortical Impact Modell

Die Tiere wurden nach Einleitung der Narkose in einem stereotaktischen Rahmen (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) eingespannt. Nach Schnitt durch die Kopfhaut und Abtragung der Galea wurde mithilfe eines Fräasers und Diamantbohrers (Proxxon Micromat 50/E, Proxxon GmbH, Föhren, Deutschland) eine Fensterung auf der rechten Seite des Schädels auf dem Os parietale mit ungefähr 5x5 mm Größe durchgeführt. Dies geschah unter Spülung und Kühlung mit 0,9% NaCl-Lösung. Die Dura mater wurde geschont. Begrenzungen des Fensters waren die Sutura sagittalis, Sutura lambdoidea und der Musculus temporalis (Abbildung 1). Somit konnte sichergestellt werden, dass der motorische Kortex betroffen sein würde, um die spätere neurologische Evaluation der Tiere zu erleichtern. An der rostralen Seite wurde nicht gebohrt. Das Knochenfragment konnte somit mobilisiert und aufgeklappt werden, ohne dass es komplett abgetrennt wurde. Dies erleichterte die Reposition nach dem Trauma erheblich.

Abbildung 1

Schematische Darstellung der Platzierung der Sonden zur Messung der Perfusion und des intrakraniellen Drucks, sowie der Position der Trepanation (eigene Zeichnung).



Nach der Fensterung und Platzierung an das CCI-Gerät (MouseKatjuscha 2000, L. Kopacz, Johannes - Gutenberg - Universität Mainz) wurde der Schlitten für den Stempel auf der Dura platziert, ohne dabei Druck auf das Gehirn auszuüben. Der Schlitten konnte dabei in alle drei Dimensionen frei bewegt werden. Wichtig war die senkrechte Ausrichtung des Stempels auf der Hirnoberfläche, sowie die Fixierung der Position mittels Klemmschrauben. Die Parameter des Traumas waren fest und gesondert voneinander einstellbar, so dass die Intensität des Traumas stets konstant war (1 mm Eindringtiefe, 8 m/s Geschwindigkeit, 150 ms Kontaktzeit, Durchmesser des Stempels 3mm). Die Parameter wurden nach Vorbild bereits etablierter Studien festgelegt (Krieg, Sonanini, Plesnila, & Trabold, 2015; Trabold, Krieg, Schöller, & Plesnila, 2008) Auf Knopfdruck wurde der Stempel druckluftbetrieben abgeschossen, drang in das Hirngewebe ein und zog

sich nach der eingestellten Kontaktzeit automatisch wieder zurück. Anschließend wurde das aufgeklappte Knochenfragment eben reponiert und mit Histoacrylkleber (Braun-Melsungen, Melsungen, Deutschland) fixiert. Die Haut wurde mit zwei bis drei Einzelknopfnähten mit nicht resorbierbarem, monofilem Faden (Ethilon 6-0, Ethicon, Somerville, NJ, USA) verschlossen.

2.1.5 Behandlung der Tiere mit Argon

Das Argon zur Behandlung der Tiere wurde in Gasflaschen von 50 Liter in 99,999% Reinheit bezogen (Argon 5.0, SWF, Friedrichshafen, Deutschland). In den Gruppen A-C zur Bestimmung der Neuroprotektivität wurden die Tiere zur Argonbehandlung in eine beheizte Box eingebracht, in der kontinuierlich Luft umgewälzt wurde, damit das schwere Argon sich nicht absetzt und zu Erstickung der Mäuse führte. In die Box wurde für die gesamte Versuchsdauer Argon, Sauerstoff und gegebenenfalls Stickstoff eingeführt. Um die gewünschten Konzentrationen zu erreichen, wurden diese kontinuierlich mit einem Oxymeter und einem Argon-Messgerät (Servopro Monoexact, Servomex, Hamm, Deutschland) kontrolliert. Die Frischluftzufuhr betrug je nach Experiment 0,1-0,2 L pro min. Die Tiere zur Kontrolle wurden parallel in andere Boxen untergebracht, in die das dementsprechende Gasgemisch eingeleitet wurde.

Die Tiere in Versuchsgruppe D blieben während der gesamten Versuchsdauer in Narkose. Wie oben beschrieben wurde den Tieren nach dem Trauma je nach Gruppe Argon, Stickstoff und Sauerstoff in das Beatmungsgemisch zugefügt.

2.1.6 Langzeitmessung des systemischen arteriellen Blutdrucks und zerebralen Blutflusses

Zur invasiven Kontrolle des systemischen Blutdrucks wurde die linke Arteria femoralis der Maus kanüliert. Nach Hautschnitt an der Leiste und Oberschenkel wurden Arteria und Vena femoralis identifiziert und nach proximal verfolgt. Nach Präparation wurde die Arteria femoralis isoliert und distal der späteren Punktionsstelle ligiert. Hierzu diente ein Filament eines multifilen Subcutanfadens

(Vicryl 5-0, Ethicon, Somerville, NJ, USA) Proximal im Abstand von ca. 3 mm wurde eine Mikrogefäßklammer (alle OP-Instrumente von Fine Science Tools Germany, Berlin, Deutschland) angebracht. Nach Eröffnen mittels Einschnitt über die Hälfte der Dicke der Arterie mit einer Mikroschere wurde ein mit Heparin (Heparin-Natrium-ratiopharm® 25000, ratiopharm, Ulm, Deutschland, verdünnt 1:25 mit isotonischer Kochsalzlösung) ausgespülter Schlauch (Tygon 0.6mm OD 0.28mm ID, Saint-Gobain, Courbevoie, Frankreich) eingeführt und mit Fadenfilament und Histoacrylkleber fixiert. Zur Einführung wurde der Schlauch zuvor im spitzen Winkel mit einem Rasiermesser zugeschnitten. Nachdem die Gefäßklammer entfernt wurde, konnte der Blutdruck bestimmt werden. Die Tiere erhielten durch den Zugang während der Narkose 0,2-0,4 ml/h sterile Kochsalzlösungen durch einen Perfusor um Volumenverluste durch Blutungen und Atmung zu kompensieren. Der Zugang diente zusätzlich als Entnahmestelle für die arteriellen Blutgasproben.

Die Messung des zerebralen Blutflusses wurde mit einer Laserdopplersonde (Periflux 5000, Perimed, Järfälla, Schweden) durchgeführt. Nach Hautschnitt wurde die Galea eröffnet und die Kalotte sauber freipräpariert. Auf der linken Seite (kontralateral des Traumas) wurde der Musculus temporalis mit einer Skalpellklinge scharf abpräpariert. Um einen besseren Halt zu gewährleisten wurde der Knochen mit der Klinge angeraut. Die Sonde wurde auf einer Stelle platziert, die ein stabiles und starkes Dopplersignal von mindestens 200 pu lieferte. Anschließend wurde die Sonde mit Sekundenkleber fixiert (s. Abbildung 1).

Beide Messwerte wurden zusammen mit der Körpertemperatur per Computerinterface und Software (Labscribe 2, iWorx, Dover, NH, USA) eingezogen und mit einem Zeitintervall von einer Sekunde aufgezeichnet.

2.2 Analytik

2.2.1 Neurologische Testung der Versuchstiere

Alle Versuchstiere, deren Gehirne nach 24 h entnommen wurden, wurden vorher einer neurologischen Testung zur Beurteilung ihres neurologischen Status unterzogen. Zwei Tests sind durchgeführt worden: Ein modifizierter Neuroscore

nach Dixon und Bederson und ein Beamwalk Test. Die Punkte des Neuroscores wurden wie folgt ermittelt (Bederson et al., 1986; Dixon et al., 1987; Thomale, 2001). Die Summe aller folgenden Kategorien ergibt den Gesamtscore, der zur Auswertung herangezogen wurde. Je höher dieser Wert ist, desto schlechter ist der funktionelle Status der Tiere.

1. Spontanaktivität: 0: Aktiv, gezielt suchend
1: Aktiv, ungesteuert
2: reduziert
3: Nicht vorhanden

2. Apnoe-Phasen/Krampfanfälle: 0: Nicht vorhanden
1: Einmalig
2: Zweimalig
3: häufig

3. Pinna- /Kornealreflex: 0: Ja
1: Nein

4. Pfotenflexion: 0: Ja
1: Nein

5. Kopfkontrolle: 0: Sicher
1: Schwach
2: Nicht vorhanden

6. Startle-Reflex: 0: Ja
1: Nein

7. Aufrichten aus Rückenlage: 0: Kann nicht in Rückenlage gebracht werden
1: Richtet sich selbstständig wieder auf
2: Aufrichten nur mit Hilfe möglich
3: Kein Aufrichten möglich

8. Balance: 0: Sicher
 1: Unsicher
 2: Laufen auf Stab nicht möglich
 3: Sitzen auf Stab nicht möglich
9. Stellreflex: 0: Ja
 1: Nein
10. seitliche Druckresistenz: 0: Vorhanden
 1: Vermindert
11. Circling: 0: Nein
 1: Gegen Widerstand
 2: Spontan

Hier sind zu einigen Kategorien zusätzliche Information angeführt: Das Auftreten von Apnoe- und Krampfanfällen wird über einen Zeitraum von 2 h beobachtet. In allen unseren Versuchsreihen ist es jedoch zu keinem solchen Vorfall gekommen.

Der Pinna- bzw. Kornealreflex wird durch Reizung des Meatus acusticus externus bzw. der Kornea mit einem Wattestäbchen ausgelöst und äußert sich durch Abwehrbewegungen. Ähnlich führt ein Schmerzreiz auf eine Pfote (in unserem Fall der linken Hinterpfote) zu einem Wegziehen dieser, dem Pfotenreflex.

Der Startle-Reflex entsteht durch einen plötzlichen, lauten akustischen Reiz (z.B. klatschen) und löst eine passive Abwehr bzw. Zuckbewegung des Versuchstieres aus.

Beim Halten des Versuchstieres am Schwanz über der Arbeitsfläche wird auf eine schützende Extension der Vorderpfoten geachtet, dem Stell-Reflex. Die seitliche Druckresistenz wird durch Druck auf die Schulter der Maus ausgelöst, um die reflektorische Resistenz der Pfote der Gegenseite zu beurteilen. Das

Circling, eine ständige Kreisbewegung der Maus, kann spontan auftreten oder durch Zug am Schwanz fazilitiert werden (Thomale, 2001).

Der Beamwalk Test wurde auf einem 40 cm langen Balken mit rauer Oberfläche durchgeführt, der einen Durchmesser von ca. 1,5 cm hatte. Die Tiere mussten den Balken drei Mal überqueren. Dabei wurden alle Fehlritte der linken Hinterpfote gezählt, da das Trauma im korrespondierenden Bereich des motorischen Kortex appliziert wurde.

2.2.2 Histologische Auswertung der Gehirne

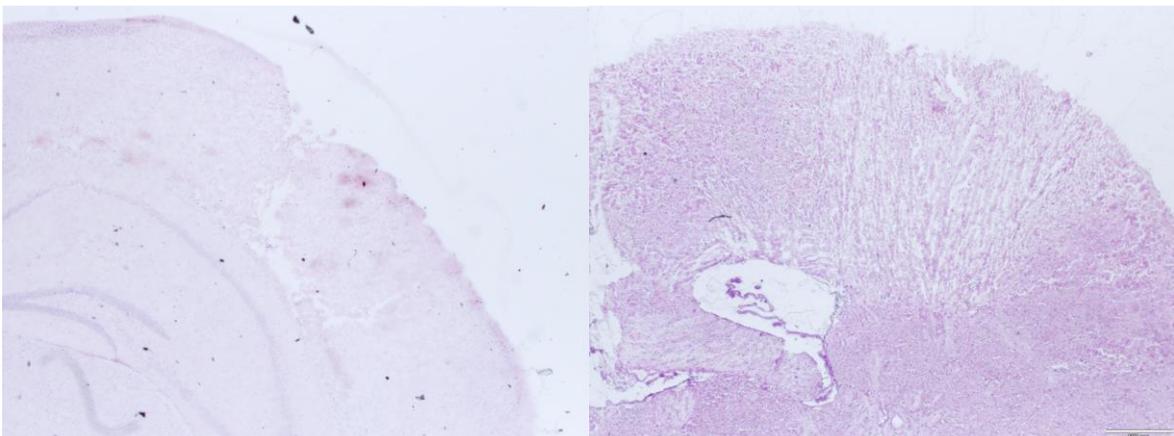
Nach neurologischer Testung wurden die Tiere per Genickbruch in kurzer Narkose getötet. Die Gehirne wurden zügig entnommen und in kaltem Isopentan (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) schockgefroren und bei -70°C eingefroren. Am Kryostaten (CM 3050S, Leica Biosystems, Wetzlar, Deutschland) wurden im Abstand von 500 μm Schnitte von 10 μm Dicke in mehrfacher Ausführung angefertigt und auf Objektträger platziert.

Die Schnitte wurden HE-gefärbt (Hämatoxylin-Eosin) und mit Xylol behandelt, um eine längere Haltbarkeit zu erreichen.

Exemplarisch ist links ein Objektträger dargestellt, bei dem das Gehirn 15 min nach Trauma entfernt wurde und deswegen lediglich den Primärschaden darstellt. Rechts zu sehen ist ein Gehirn, das 24 h nach Trauma entfernt wurde und dementsprechend eine Vergrößerung des Kontusionsvolumens durch den Sekundärschaden aufweist (Abbildung 2).

Abbildung 2

Histologische Präparate des rechten Neokortex 15 min nach CCI (links) und 24 h nach CCI (rechts)



Mithilfe von Mikroskop und Kamera (Olympus BX41 und DP72, Olympus, Hamburg, Deutschland) wurden die histologischen Bilder auf einem Computer abgebildet. Dort konnten auf jeder Schnittebene n die Fläche a_n der sichtbaren Kontusion ausgemessen werden. Das gesamte Kontusionsvolumen konnte nach der folgenden Formel berechnet werden:

$$VKontusion/mm^3 = (a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n) * 0,5 mm$$

2.2.3 Messung des intrakraniellen Drucks und Hirnwassergehalts

Tiere, die zur ICP Messung bestimmt waren, wurden nach neurologischer Testung kurz in Narkose gelegt. Der Musculus temporalis wurde auf der linken Seite stumpf abpräpariert und temporal eine 2 x 2 mm große Öffnung gebohrt (Abbildung 1). Die Mikrodrucksonde (ICP Express, Codman Neuro, Raynham, MA, USA) wurde in destilliertem Wasser auf null geeicht und durch die Bohrung in den epiduralen Raum eingeführt und mit Knochenzement verschlossen. Nachdem sich der gemessene ICP stabilisiert hatte, jedoch nach mindestens 5 min, wurde dieser notiert und die Tiere der Bestimmung des Hirnwassergehaltes zugeführt.

Zur Messung des Hirnwassergehalts wurden nummerierte Gefäße mit Deckeln (ecoLab-Wägegläser Duran, neoLab, Heidelberg, Deutschland) für mindestens 6 h bei 90°C in einem Ofen (FD23, Binder, Tuttlingen, Deutschland) getrocknet. Danach wurden die Gefäße für mindestens 30 min zur Trocknung in einen Exsikkator (R&G Faserverbundwerkstoffe GmbH, Waldenbuch, Deutschland) gestellt. Danach wurde das Leergewicht mit einer Laborwaage (Kern ABT, Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) bestimmt. Nach Tötung der Tiere durch Genickbruch wurden Bulbus olfactorius und Kleinhirn abgetrennt. Die Hemisphären wurden geteilt und feucht in die Gefäße gelegt. Nach Bestimmung des Feuchtgewichts wurden die Präparate 24 h bei 90°C in dem Heißluftofen getrocknet. Die Gefäße wurden wieder verschlossen und für die exakt gleiche Zeit im Exsikkator abgekühlt wie vor der Leergewichtmessung. Mit dem nun gemessenen Trockengewicht konnte der Wassergehalt der Hemisphären berechnet werden:

$$\text{Wassergehalt}/\% = \frac{[\text{Wassergehalt}]}{[\text{Gesamtgewicht}]} = \frac{(\text{Feuchtgewicht} - \text{Trockengewicht})}{(\text{Feuchtgewicht} - \text{Leergewicht})}$$

2.3 Protokolle der Versuchsreihen

2.3.1 A - 4 h Behandlung

In der ersten Versuchsreihe A wurden 90 Tiere untersucht, um die optimale Argonkonzentration zu ermitteln. Pro Gruppe wurden 10 Tiere operiert, so dass auch bei Ausfällen in jeder Gruppe die angestrebte Mindestzahl von 7 Tieren auszuwerten war.

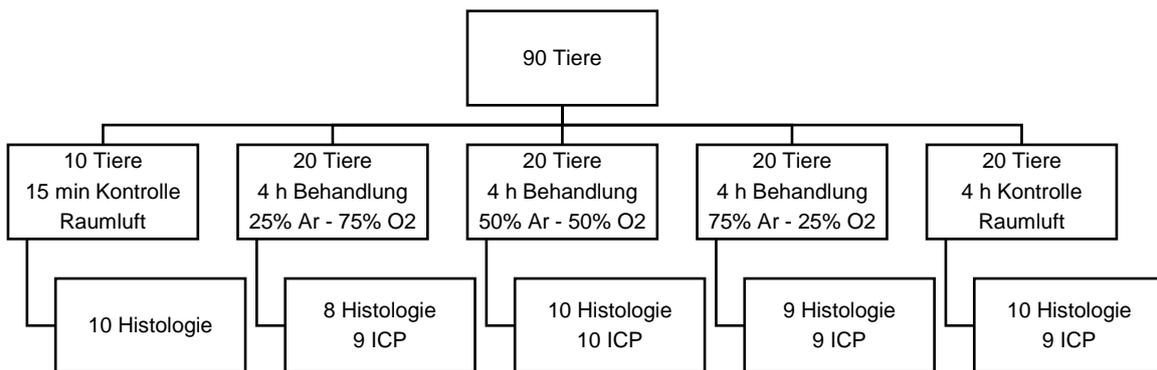
Zwei Versuchgruppen dienten als Kontrollgruppen zur Bestimmung des Primär- (15 min) und Sekundärschadens (24 h). Diese Gruppen wurden nur mit Raumluft behandelt. In den restlichen 3 Versuchsgruppen wurde Argon in aufsteigender Konzentration (25%, 50% und 75% Ar) über jeweils 4 h Dauer appliziert; der Rest des Gasgemisches wurde durch Sauerstoff ergänzt.

Die Verteilung der Tiere ist in Abbildung 3 ersichtlich. In der 15 min-Kontrollgruppe wurde auf eine Bestimmung von Neuroscore und ICP/Hirnwassergehalt verzichtet, da diese nicht aussagekräftig wäre.

Die Tiere wurden 30 min vor Trauma mit Argon/Sauerstoff bzw. Raumluft behandelt. Nach dem Trauma erhielten alle Tiere wieder ihr ursprüngliches Gasgemisch. Während bei der 15 min-Kontrollgruppe die Gehirne bereits nach 15 min zur Bestimmung des Primärschadens entnommen wurden, erhielten alle anderen Tiere 4 h ihre Behandlung bevor sie in ihren Käfig in der Tierhaltung zurückkehrten. Durch die Entnahme des Gehirns nach kurzer Zeit entsteht bei der 15 min-Kontrollgruppe kein Sekundärschaden, und es wird lediglich der Primärschaden erfasst. Nach insgesamt 24 h nach Trauma erfolgte bei den übrigen Tieren die neurologische Testung und die Entnahme der Gehirne. Die Verblindung wurde wie auch in den Versuchsreihen B und C durch nicht anderweitig in das Projekt involviertes Laborpersonal durchgeführt, das die Mäuse in zufälliger Reihenfolge angereicht hat.

In der Versuchsreihe A verstarben keine Tiere während der Versuche bis zur Entnahme der Gehirne. Jedoch konnten aus technischen Problemen die Histologie bzw. die Messung des Hirndrucks und des intrakraniellen Drucks bei manchen Tieren nicht durchgeführt werden. Im Folgenden werden für alle Versuchsreihen die Anzahl der tatsächlich in die Auswertung eingeflossenen Tiere aufgeführt.

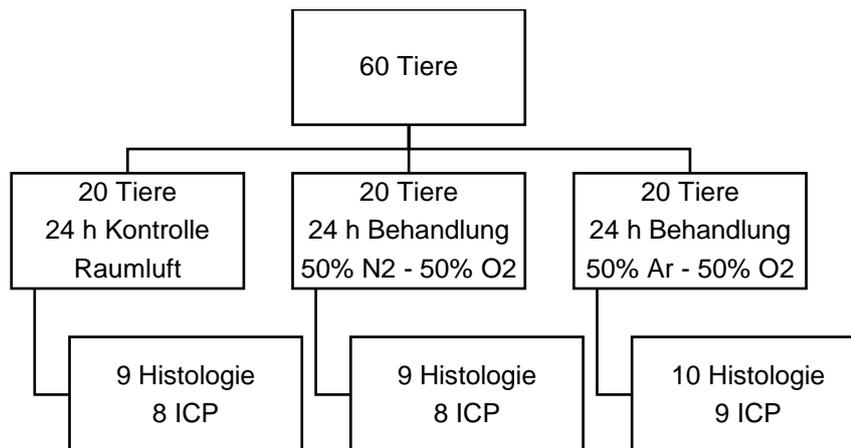
Abbildung 3
Gruppenverteilung der Versuchsreihe A



2.3.2 B - 24 h Behandlung

In der Versuchsreihe B wurden 60 Tiere untersucht die Behandlungsdauer wurde im Einklang mit der vorliegenden Literatur auf 24 h festgelegt (s. Diskussion 4.2.2). Aufgrund der besten Ergebnisse bei 50% Argon und 50% Sauerstoff in Reihe A, wurde eine dementsprechende Gruppe eingeführt, zusammen mit einer Raumluf-Kontrolle und einer O₂-Kontrollgruppe mit 50% Sauerstoff und 50% Stickstoff (O₂-Kontrolle), um mögliche neurotoxische Auswirkungen von Sauerstoff als Störfaktor auszuschließen. Alle Tiere wurden 30 min vorbehandelt. Nach dem Trauma kamen alle Tiere 24 h zur Behandlung in ihre ursprüngliche Box zurück. Auch hier sind pro Auswertung 8-10 Tiere herangezogen worden. Die genaue Verteilung ist aus Abbildung 4 ersichtlich.

Abbildung 4
Gruppenverteilung der Versuchsreihe B

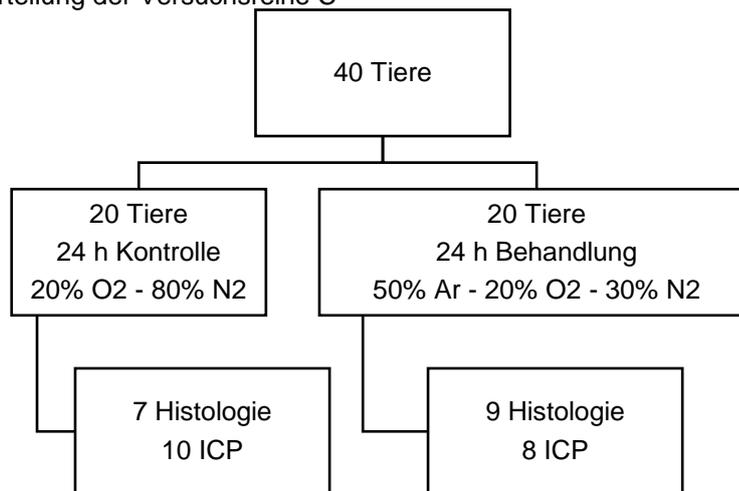


2.3.3 C - 24 h Behandlung mit angepasster Sauerstoffkonzentration

In der Versuchsreihe C wurden 40 Tiere untersucht. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit der Versuchsreihe B wurde die Behandlungsdauer auf 24 h festgelegt. Da sich eine leichte Verschlechterung des Kontusionsvolumens bei erhöhten Sauerstoffkonzentrationen zeigte, wurde diese auf 20% festgelegt.

Die mit Argon behandelten Tiere wurden mit einem Gemisch aus 50% Argon, 20% Sauerstoff und 30% Stickstoff behandelt. Die Kontrolle erhielt 20% Sauerstoff und 80% Stickstoff. Die Vorbehandlung dauerte 30 min und die Behandlung nach Trauma 24 h. Die Verteilung der Tiere ist aus Abbildung 5 ersichtlich.

Abbildung 5
Gruppenverteilung der Versuchsreihe C



2.3.4 D - Untersuchungen zum Blutdruck und CBF

In der Versuchsreihe D wurden 20 Tiere untersucht. Hierbei handelte es sich um ergänzende Untersuchungen, um auszuschließen, dass Argon den mittleren arteriellen Blutdruck (MAP) und die Durchblutung des Gehirns (CBF) beeinflusst.

Nachdem die Tiere mit einer intraperitonealen Injektion in Narkose gelegt wurden, wurden sie intubiert und beatmet (Atemzugvolumen ca. 0,35 ml, Atemfrequenz ca. 150, angepasst an Ergebnisse der Blutgasanalysen). Nach Einrichtung und Platzierung der arteriellen Blutdruckmessung und CBF-Laserdopplersonde ist die erste arterielle Blutgasanalyse erfolgt. Anschließend wurde 30 min eine Baseline-Messung von MAP und CBF vollzogen. Daraufhin wurde das Trauma nach CCI-Modell appliziert, eine zweite Blutgasprobe entnommen und die zweistündige Behandlung begonnen.

Die 10 Tiere mit Argonbehandlung erhielten 50% Argon und 50% Sauerstoff, die 10 Tiere der Kontrolle 50% Sauerstoff und 50% Stickstoff, sowohl während der Baseline-Messung als auch während der posttraumatischen Behandlung. Die Sauerstoffkonzentration wurde bewusst so hoch gewählt, da die Durchführung der Narkose bei Mäusen über diesen Zeitraum bei 20% Sauerstoff erheblich erschwert bzw. nicht durchführbar gewesen wäre. Für die gesamte Versuchsdauer wurden im Sekundenintervall vollautomatisch der MAP und CBF erfasst. Die Blutgasanalyse wurde 1 h nach Trauma und am Ende des Versuchs

wiederholt. Neurologische Testungen wurden anschließend nicht vorgenommen, da diese nach einer langen Narkose nicht aussagekräftig gewesen wären.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit SPSS 22 (IBM, Ehningen, Deutschland) durchgeführt. Zum Vergleich der Kontroll- und Experimentalgruppen bezüglich Blutdrucks, ICP, Beamwalk, Kontusionsvolumen und Hirnwassergehalt wurde ein zweiseitiger, unverbundener t-Test durchgeführt. Zur Analyse der Neuroscores wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Zur Auswertung der Daten der Langzeitmessung von CBF und MAP wurde eine einfaktorielle ANOVA durchgeführt.

Alle Ergebnisse werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben. Unterschiede zwischen den Stichproben wurden ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ als signifikant betrachtet, ab $p < 0.001$ als hochsignifikant.

3 ERGEBNISSE

3.1 A - 4 h Behandlung

Es ist kein Tier verstorben.

3.1.1 Primärschaden nach 15 min

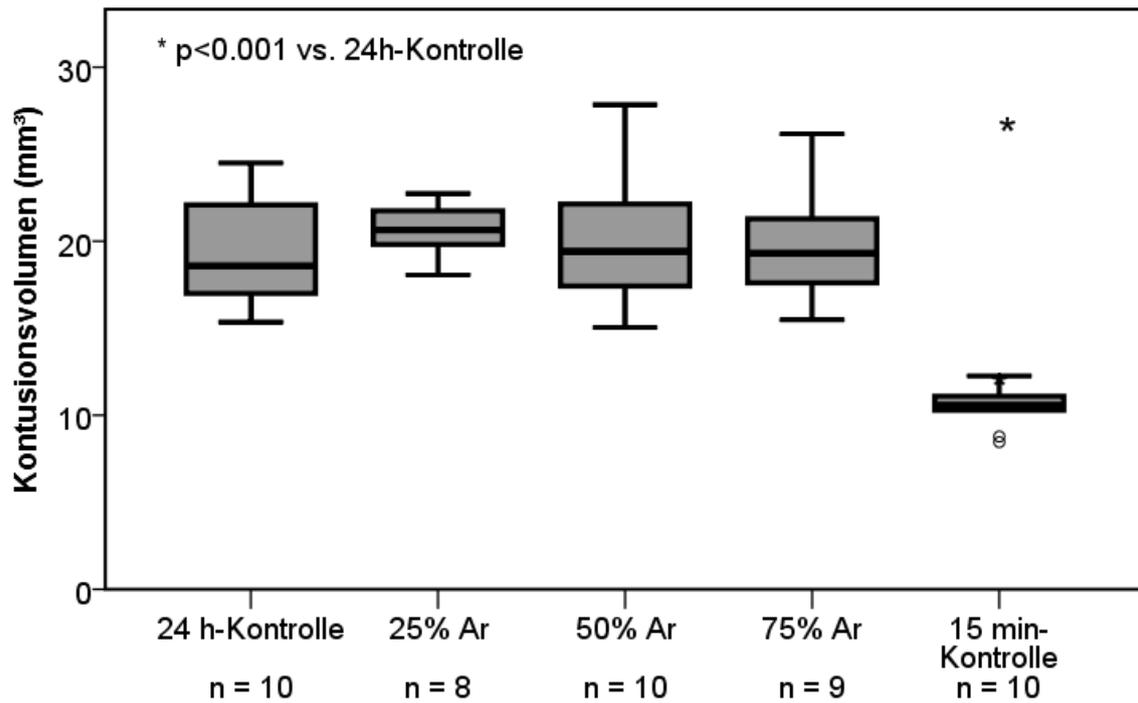
Bei der 15 min-Kontrollgruppe wurde bei nicht mit Argon behandelten Tieren das Gehirn nach 15 min entnommen und histologisch wie oben erwähnt aufbereitet. Da es in diesem Zeitraum nicht zur Ausbildung eines Sekundärschadens kommen kann, wurde hier lediglich der Primärschaden erfasst. Er betrug in dieser Gruppe $10,5 \pm 1,1 \text{ mm}^3$. Im Vergleich zur 24 h-Kontrollgruppe (Gesamtschaden $19,4 \pm 3,2 \text{ mm}^3$) kam es durch den Sekundärschaden zu einem hoch signifikanten ($p < 0,001$) Zuwachs um $8,9 \text{ mm}^3$. Dies entspricht 85% des Primärschadens (Abbildung 6).

3.1.2 Kontusionsvolumen nach 24 h

24 h nach Trauma wurde das Gehirn entnommen und der Gesamtschaden histologisch ermittelt. In der mit Raumluft behandelten 24 h-Kontrollgruppe betrug das Kontusionsvolumen $19,4 \pm 3,2 \text{ mm}^3$. Bei den 4 h mit Argon behandelten Gruppen betrug die Kontusionsvolumina $20,7 \pm 1,5 \text{ mm}^3$ (25% Argon), $20,0 \pm 3,6 \text{ mm}^3$ (50% Argon) und $19,8 \pm 3,3 \text{ mm}^3$ (75% Argon). Die p-Werte im Vergleich zur 24 h-Kontrolle sind $p = 0,29$ (25% Argon), $p = 0,69$ (50% Argon) und $p = 0,82$ (75% Argon). Somit war kein signifikanter Unterschied festzustellen (Abbildung 6)

Abbildung 6

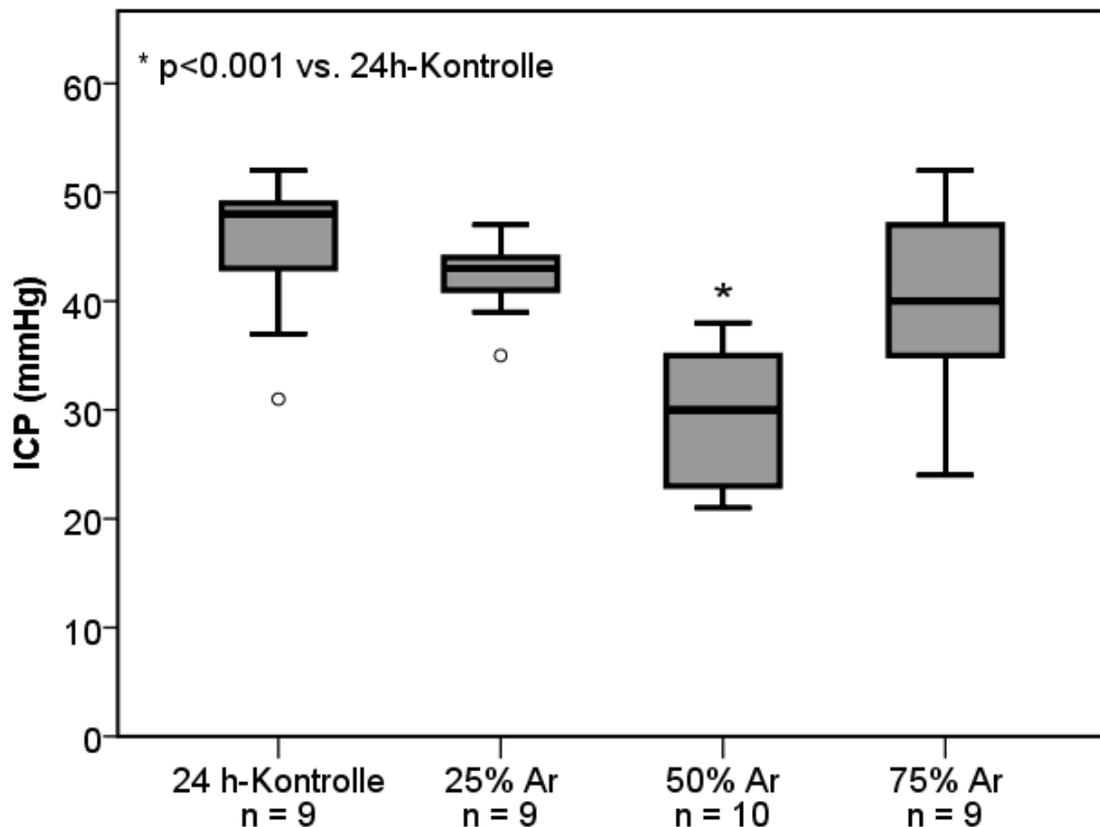
Kontusionsvolumina der Versuchsreihe A 15 min bzw. 24 h nach CCI



3.1.3 Hirnwassergehalt und intrakranieller Druck nach 24 h

Bei den dafür vorgesehenen Versuchstieren wurden 24 h nach Trauma der intrakranielle Druck und anschließend der Wassergehalt wie oben beschrieben ermittelt. Die ICP-Werte betragen $44,9 \pm 6,4$ mmHg (24 h-Kontrolle), $42,3 \pm 3,6$ mmHg (25% Argon), $29,5 \pm 6,2$ mmHg (50% Argon) und $39,2 \pm 8,9$ mmHg (75% Argon). Es kam zu einer hochsignifikanten Reduktion des ICP durch eine Behandlung mit 50% Argon im Vergleich zur 24 h-Kontrolle ($p < 0,001$). Es war kein Unterschied bei den Tieren festzustellen die mit 25% Argon ($p = 0,31$) und 75% Argon ($p = 0,13$) behandelt wurden (Abbildung 7).

Abbildung 7
Hirndruckwerte der Versuchsreihe A 24 h nach CCI

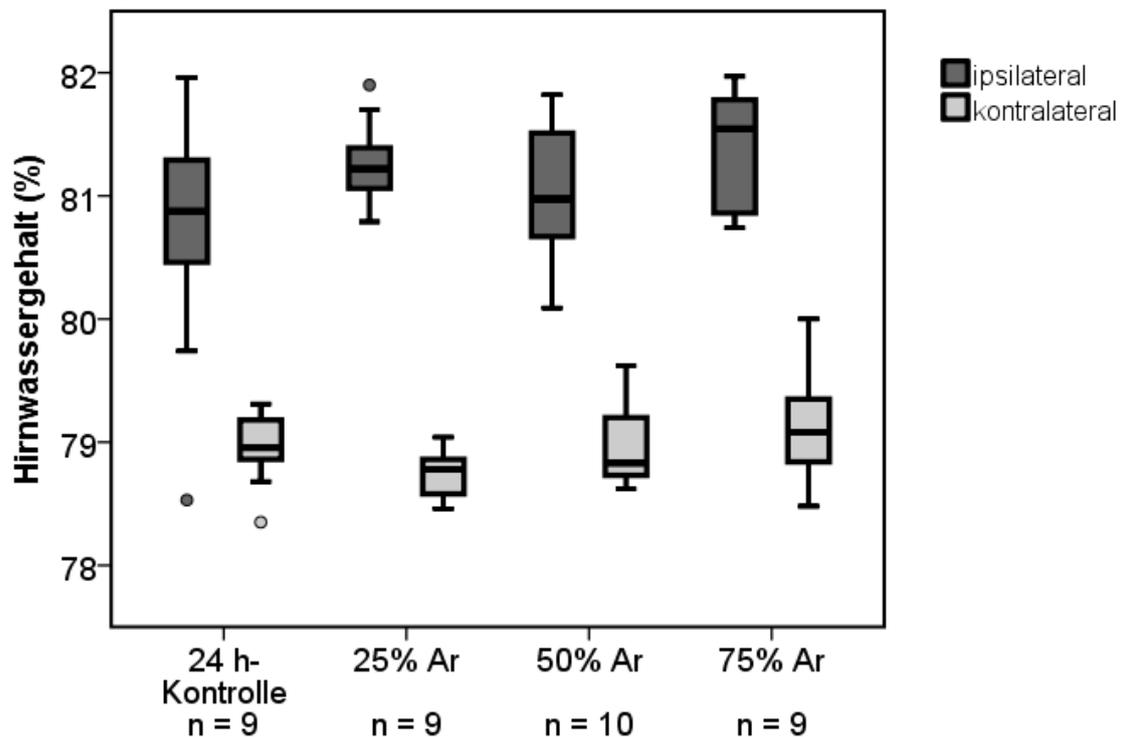


Der Wassergehalt der ipsilateralen Hemisphären betrug 24 h nach Trauma $80,7 \pm 1,0\%$ (24 h-Kontrolle), $81,3 \pm 0,4\%$ (25% Argon), $81,0 \pm 0,5\%$ (50% Argon) und $81,4 \pm 0,5\%$ (75% Argon). Die Werte für die kontralateralen Hemisphären betragen $79,0 \pm 0,3\%$ (24 h-Kontrolle), $78,7 \pm 0,2\%$ (25% Argon), $78,9 \pm 0,3\%$ (50% Argon), and $79,1 \pm 0,4\%$ (75% Argon).

Bei Vergleich der ipsi- und kontralateralen Hemisphären zeigt sich für jede einzelne Gruppe ein hochsignifikanter Unterschied (alle $p < 0,001$), der durch das Trauma verursacht wurde.

Im Vergleich der ipsilateralen Hemisphären zwischen den Gruppen zeigte sich zur 24 h-Kontrolle bei keiner der mit Argon behandelten Gruppen ein signifikanter Unterschied ($p = 0,13$ bei 25% Argon, $p = 0,40$ bei 50% Argon und $p = 0,65$ bei 75% Argon). Im Vergleich der kontralateralen Hemisphären ergab sich ebenfalls kein Unterschied zur Kontrolle: $p = 0,81$ bei 25% Argon, $p = 0,95$ bei 50% Argon und $p = 0,33$ bei 75% Argon). (Abbildung 8)

Abbildung 8
Hirnwassergehalt der Versuchsreihe A 24 h nach CCI

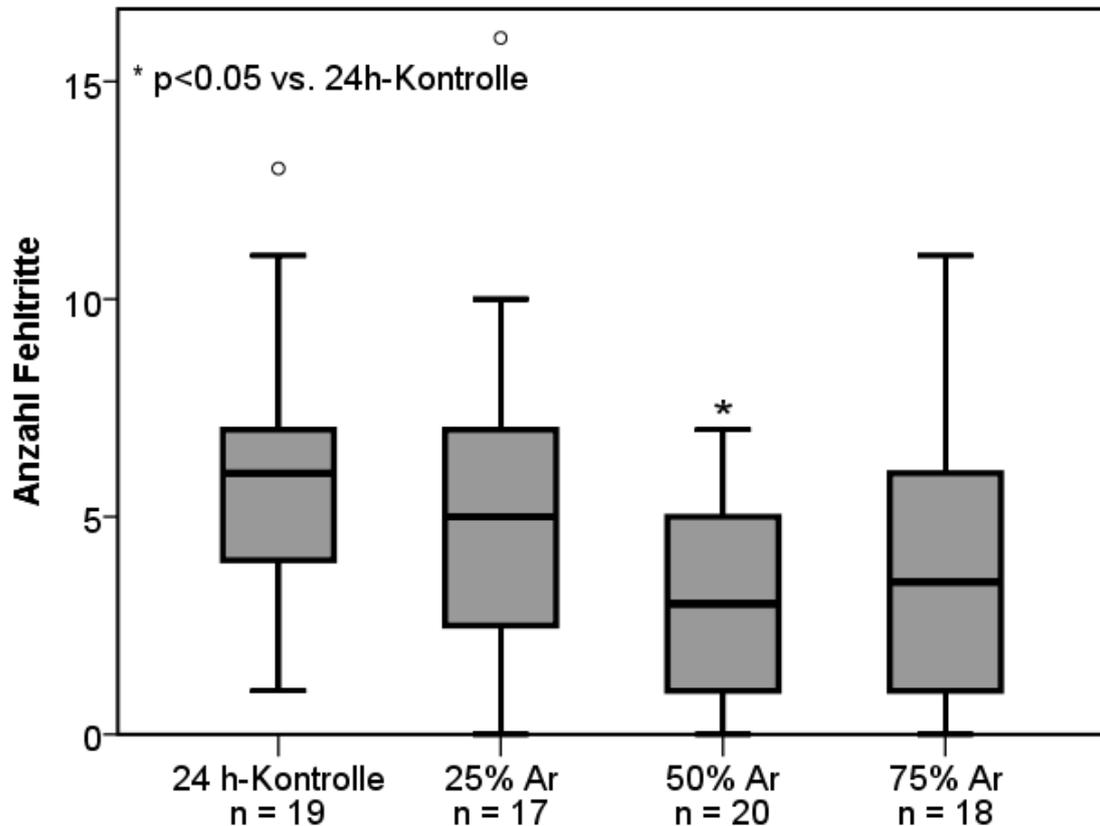


3.1.4 Neurologischer Status nach 24 h

Mit Ausnahme der 15 min-Kontrolle wurden alle Tiere nach 24 h neurologisch anhand des Neuroscores nach Bederson und Dixon und des Beamwalk Tests bewertet. Im Beamwalk Test zeigten sich $5,8 \pm 3,1$ (24 h-Kontrolle), $5,2 \pm 3,8$ (25% Argon), $2,8 \pm 2,2$ (50% Argon) und $4,2 \pm 3,3$ (75% Argon) Fehltritte. Es kam zu einer signifikanten Reduktion der Fehltritte in der Gruppe mit 50% Argon ($p < 0,05$). Die anderen Gruppen zeigten keinen Unterschied ($p = 0,56$ bei 25% Argon und $p = 0,14$ bei 75% Argon) (Abbildung 9).

Abbildung 9

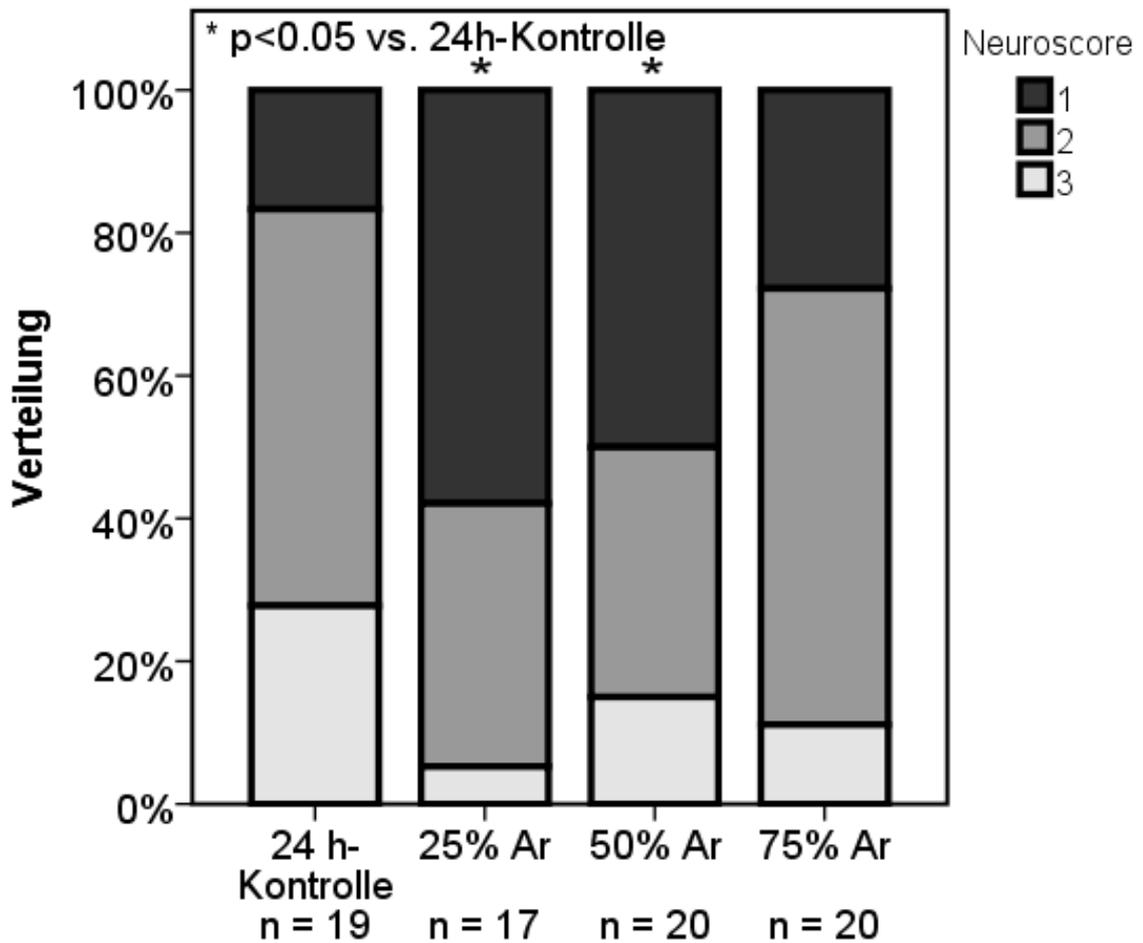
Anzahl der Fehlritte im Beamwalk Test der Versuchsreihe A 24 h nach CCI



Bei der Erhebung der Neuroscores waren die Werte $2,1 \pm 0,7$ (24 h-Kontrolle), $1,47 \pm 0,6$ (25% Argon), $1,7 \pm 0,8$ (50% Argon) und $1,8 \pm 0,6$ (75% Argon). Während die 75% Argon Gruppe keinen Unterschied zeigte ($p = 0,21$), war eine signifikante Besserung mit 25% und 50% Argon ($p < 0,05$) zu beobachten (Abbildung 10).

Abbildung 10

Neuroscores nach Dixon und Bederson der Versuchsreihe A 24 h nach CCI



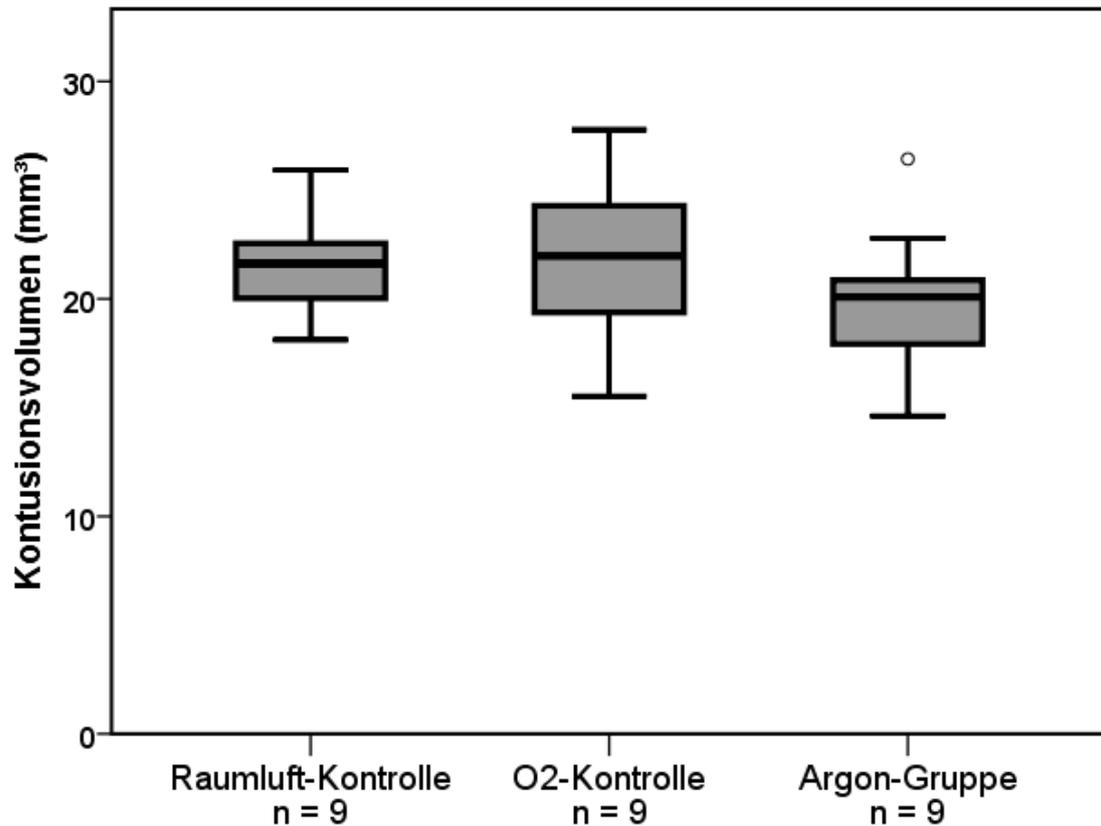
3.2 B - 24 h Behandlung

In beiden Gruppen verstarb jeweils ein Tier. Ein Tier der Kontrollgruppe ist ca. 30 min nach Trauma verstorben, bzw. ein Tier nach 6 h in der mit Argon behandelten Gruppe.

3.2.1 Kontusionsvolumen nach 24 h Behandlung

Die Kontusionsvolumina wurden nach 24-stündiger Behandlung mit 50% Argon mit 50% Sauerstoff (Argon-Gruppe), 50% Stickstoff und 50% Sauerstoff (O₂-Kontrolle) und mit Raumluft ermittelt. Sie betragen $21,6 \pm 2,4$ mm³ (Raumluft-Kontrolle), $21,7 \pm 4,0$ mm³ (O₂-Kontrolle) und $19,7 \pm 3,44$ mm³ (Argon-Gruppe). Die Argon-Gruppe zeigte zur O₂-Kontrolle ($p = 0,25$) und Raumluft-Kontrolle ($p = 0,19$) keine Unterschiede (Abbildung 11)

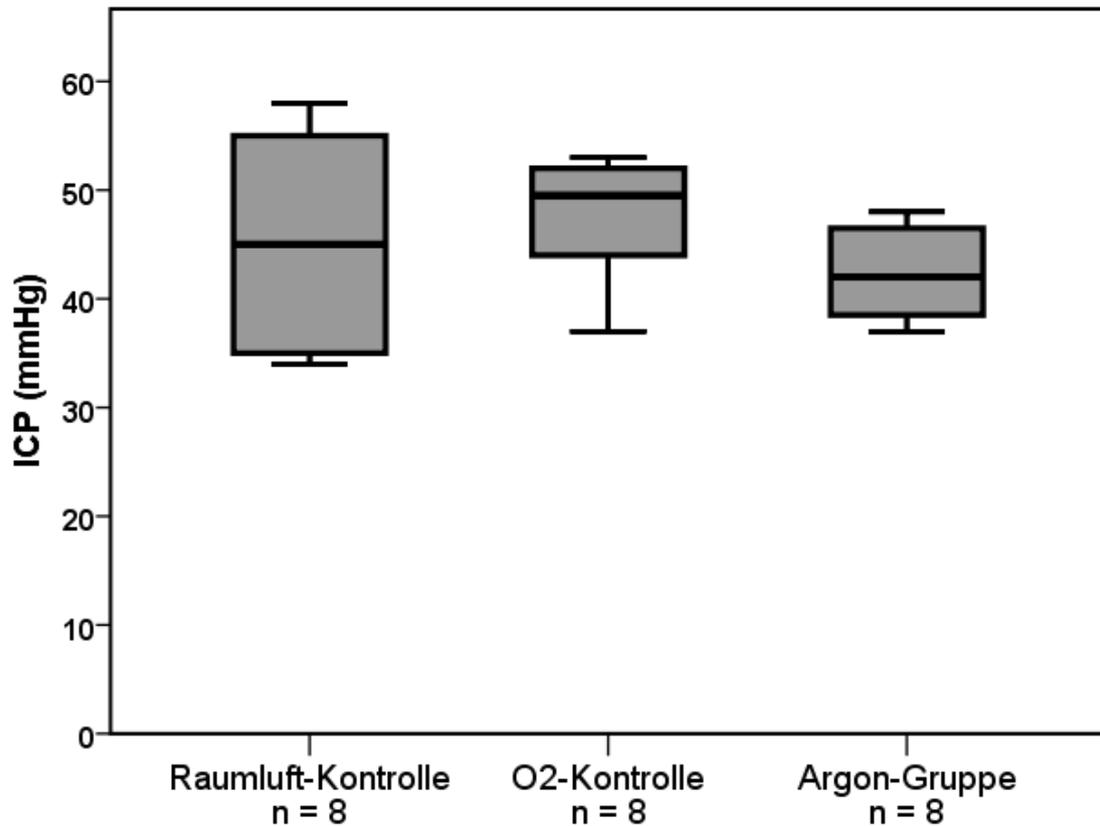
Abbildung 11
Kontusionsvolumina der Versuchsreihe B 24 h nach CCI



3.2.2 Hirnwassergehalt und intrakranieller Druck nach 24 h Behandlung

Die ICP Messungen ergaben $45,4 \pm 9,3$ mmHg (Raumluft-Kontrolle), $47,4 \pm 5,7$ mmHg (O₂-Kontrolle) und $42,38 \pm 4,4$ mmHg (Argon-Gruppe). Die Werte der Argon-Gruppe unterschieden sich nicht von Raumluft- und O₂-Kontrolle ($p = 0,42$ bzw. $p = 0,06$) (Abbildung 12).

Abbildung 12
Hirndruckwerte der Versuchsreihe B 24 h nach CCI

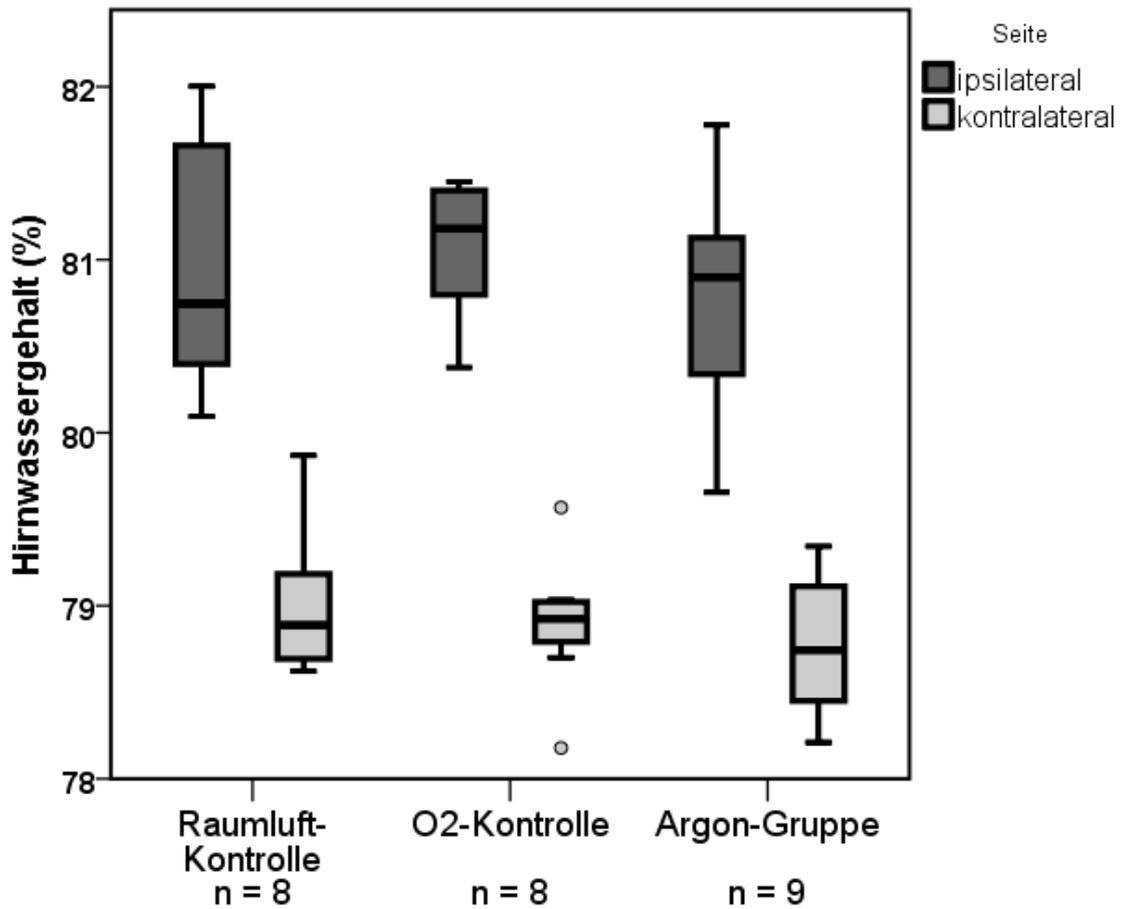


Die ipsilateralen Hemisphären hatten einen Wassergehalt von $81,0 \pm 0,7\%$ (Raumluft-Kontrolle), $81,1 \pm 0,4\%$ (O_2 -Kontrolle) und $80,8 \pm 0,6\%$ (Argon-Gruppe). Die kontralateralen Hemisphären enthielten $79,0 \pm 0,4\%$ (Raumluft-Kontrolle), $78,9 \pm 0,4\%$ (O_2 -Kontrolle) und $78,8 \pm 0,4\%$ Wasser (Argon-Gruppe).

Ein hoch signifikant höherer Anteil war in allen Gruppen in der ipsilateralen gegenüber der kontralateralen Hemisphäre zu beobachten (alle $p < 0,001$).

Die ipsilateralen Hemisphären der Argon-Gruppe zeigten keinen Unterschied zur Raumluft- und O_2 -Kontrolle ($p = 0,65$ bzw. $p = 0,31$), ebenso nicht die kontralateralen Seiten ($p = 0,31$ bzw. $0,58$) (Abbildung 13).

Abbildung 13
Hirnwassergehalt der Versuchsreihe B 24 h nach CCI

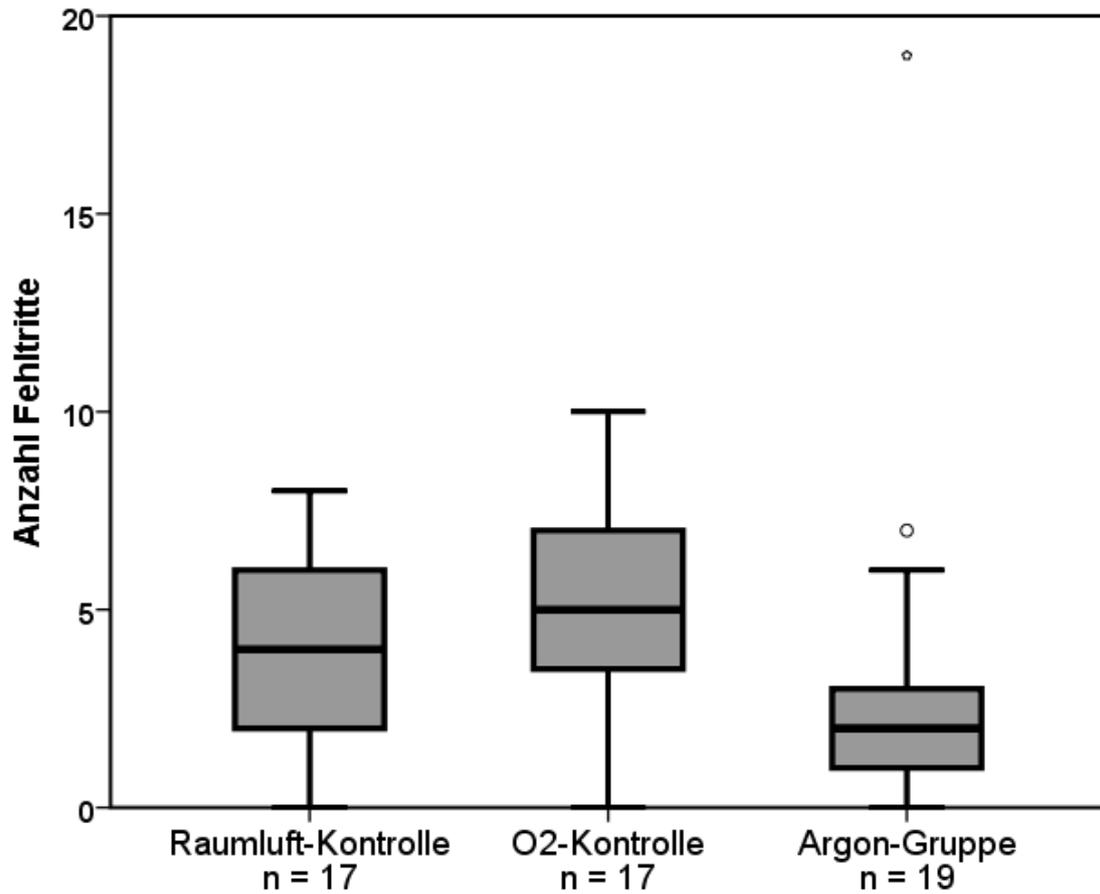


3.2.3 Neurologischer Status nach 24 h Behandlung

Die Anzahl der Fehlritte im Beamwalk Test betragen $4,0 \pm 2,2$ (Raumluft-Kontrolle), $5,2 \pm 2,9$ (O₂-Kontrolle) und $3,0 \pm 4,3$ (Argon-Gruppe). Die Argon-Gruppe wies die wenigsten Fehlritte auf. Die Unterschiede der Argon-Gruppe waren jedoch nicht signifikant ($p = 0,36$ zur Raumluft-Kontrolle und $p = 0,08$ zur O₂-Kontrolle) (Abbildung 14).

Abbildung 14

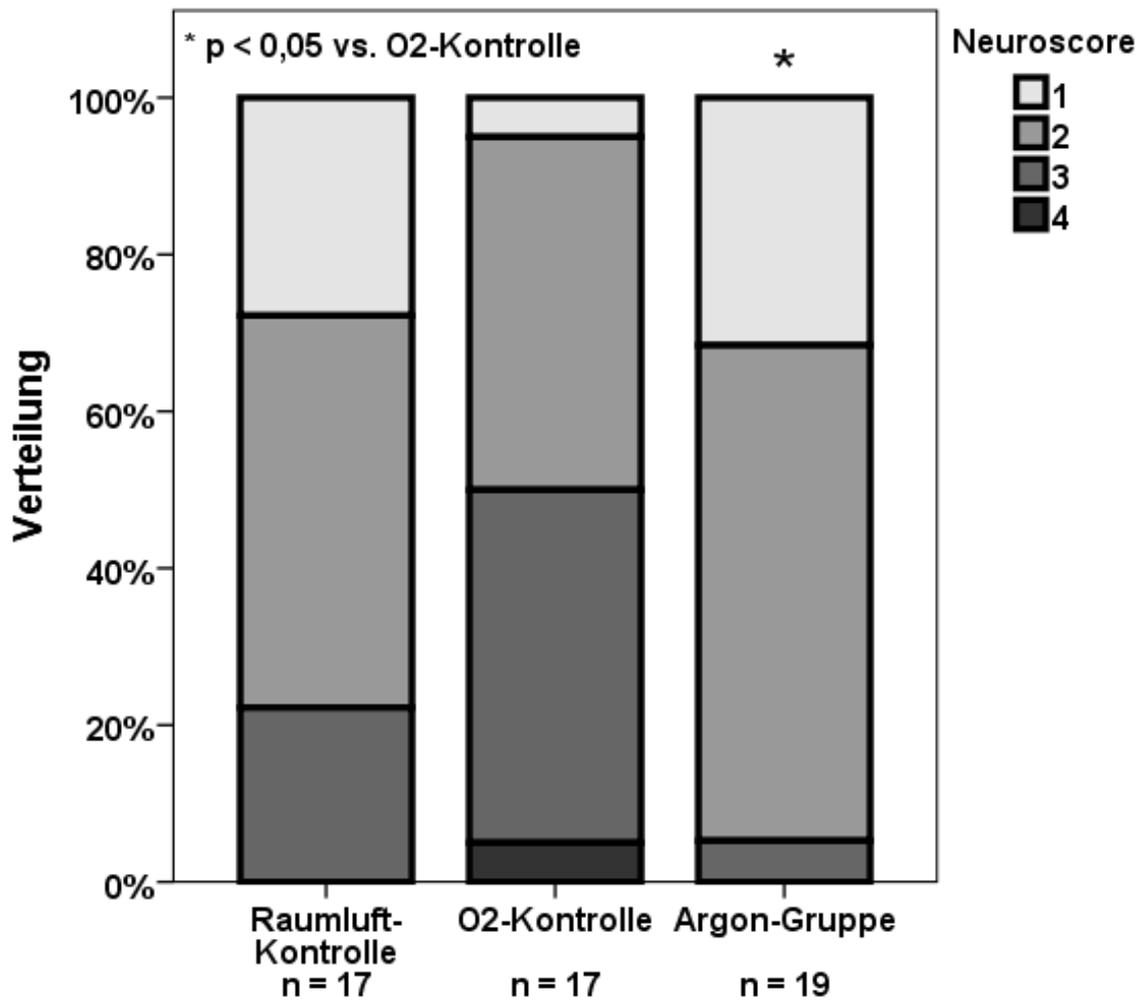
Anzahl der Fehlritte im Beamwalk Test der Versuchsreihe B 24 h nach CCI



Die Neuroscores betragen $1,9 \pm 0,7$ (Raumluft-Kontrolle), $2,5 \pm 0,7$ (O₂-Kontrolle) und $1,7 \pm 0,6$ (Argon Gruppe). Die Argon-Gruppe wies den besten Neuroscore auf und unterschied sich dabei signifikant zur O₂-Kontrolle ($p < 0,05$), jedoch nicht zur Raumluft-Kontrolle ($p = 0,37$) (Abbildung 15).

Abbildung 15

Neuroscores nach Dixon und Bederson der Versuchsreihe B 24 h nach CCI



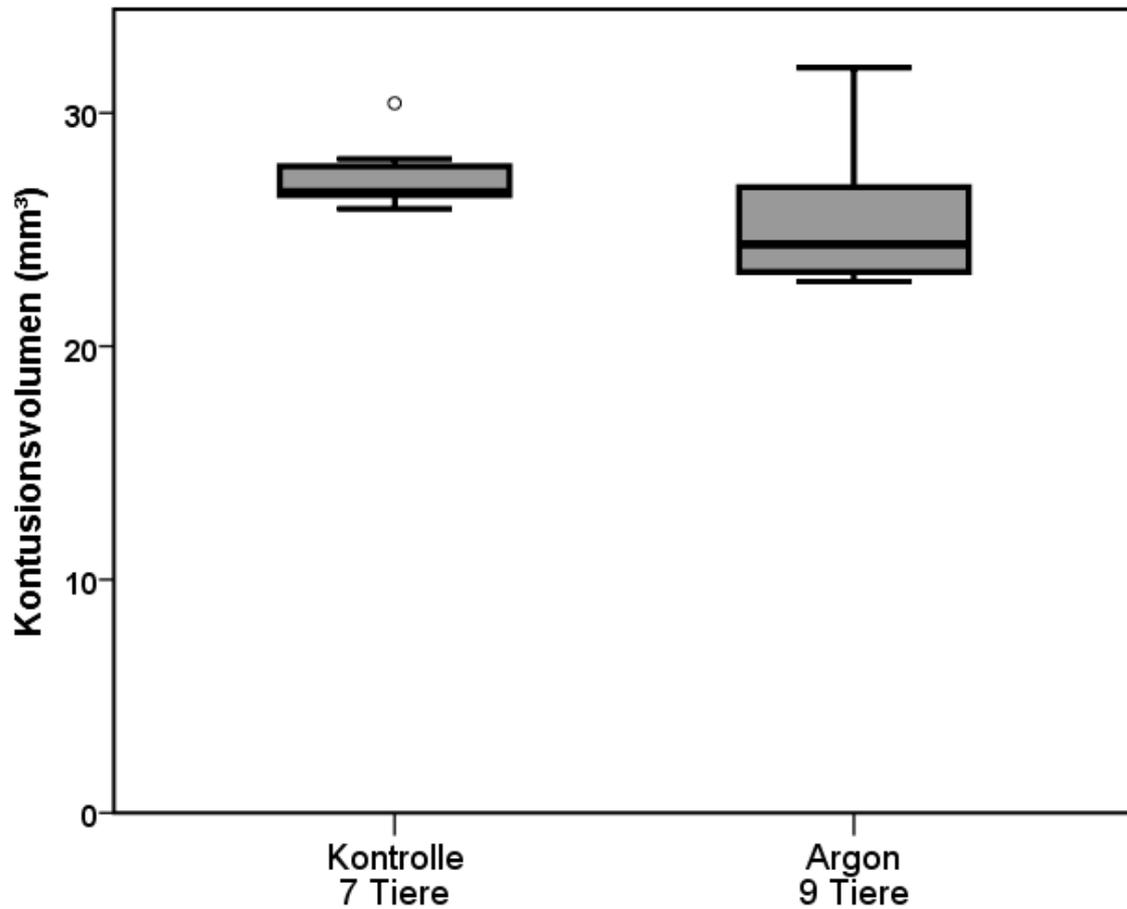
3.3 C - 24 h Behandlung mit angepassten Sauerstoffkonzentrationen

Kein Tier ist verstorben.

3.3.1 Kontusionsvolumen nach 24 h Behandlung

Die Gruppen erhielten bis 24 h nach Trauma entweder 50% Argon, 20% Sauerstoff und 30% Stickstoff (Argon-Gruppe) oder 20% Sauerstoff und 80% Stickstoff (Kontrollgruppe). Die Kontusionsvolumina waren in der Argon-Gruppe $25,6 \pm 3,1 \text{ mm}^3$ niedriger im Vergleich zu $27,3 \pm 1,5 \text{ mm}^3$ in der Kontrolle. Sie unterschieden sich jedoch nicht signifikant ($p = 0,19$) (Abbildung 16).

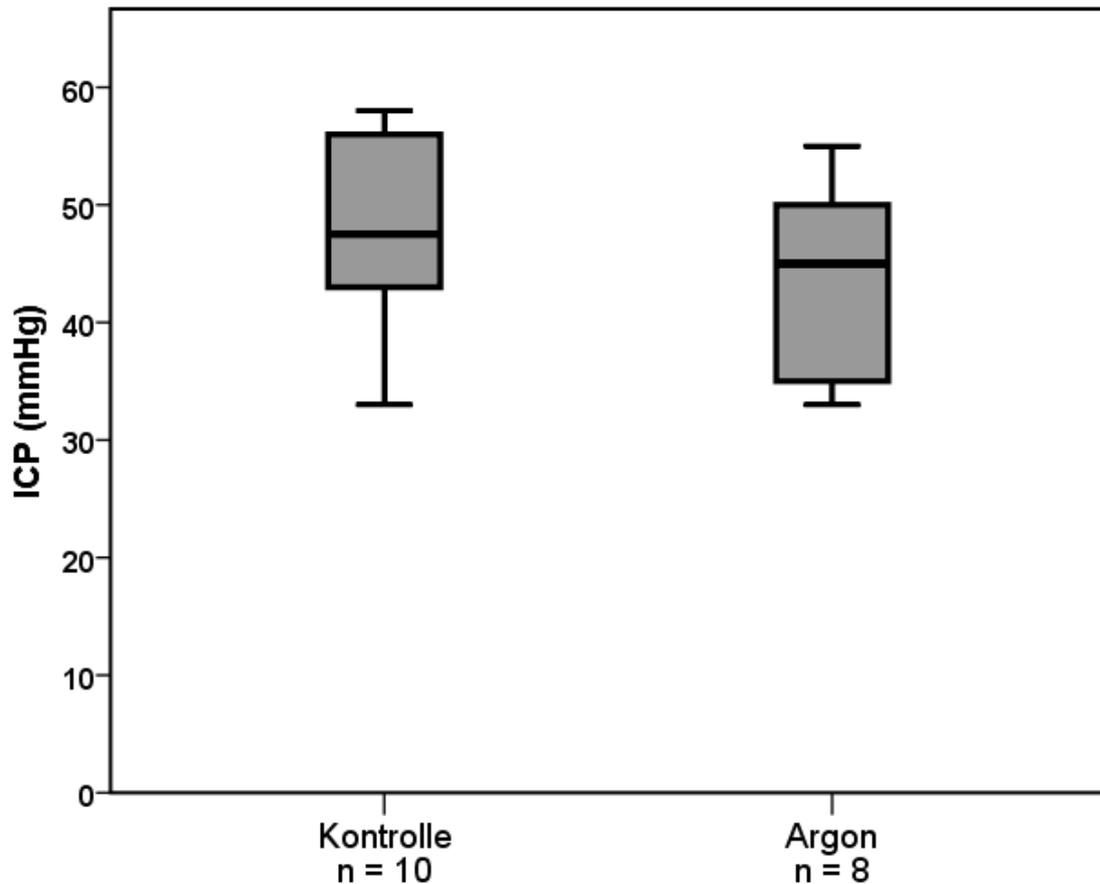
Abbildung 16
Kontusionsvolumina der Versuchsreihe C 24 h nach CCI



3.3.2 Hirnwassergehalt und intrakranieller Druck nach 24 h Behandlung

Die ICP Werte in der Argon Gruppe ($43,7 \pm 8,3$ mmHg) und der Kontrollgruppe ($47,6 \pm 8,0$ mmHg) unterschieden sich nicht ($p = 0,30$) (Abbildung 17).

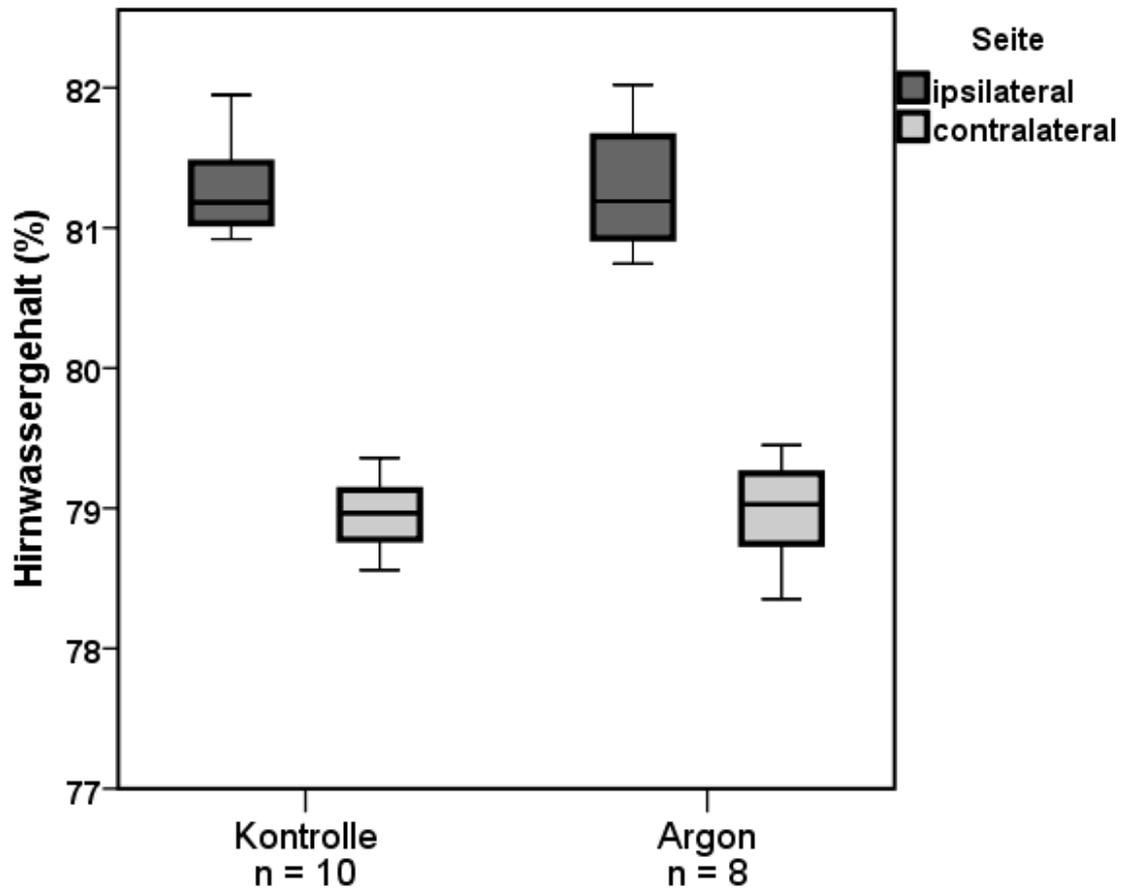
Abbildung 17
Hirndruckwerte der Versuchsreihe C 24 h nach CCI



Die ipsilateralen Hemisphären enthielten $81,3 \pm 0,5\%$ (Argon-Gruppe) bzw. $81,3 \pm 0,4\%$ Wasser (Kontrolle), die kontralateralen $79,0 \pm 0,4\%$ bzw. $79,0 \pm 0,3\%$. Die ipsilateralen Hälften zeigten in beiden Gruppen einen hoch signifikanten Unterschied zur kontralateralen ($p < 0,001$).

Die ipsilateralen Hälften unterschieden sich zwischen beiden Gruppen nicht ($p = 0,96$), ebenso nicht auf der kontralateralen Seite ($p = 0,78$) (Abbildung 18).

Abbildung 18
Hirnwassergehalt der Versuchsreihe C 24 h nach CCI



3.3.3 Neurologischer Status nach 24 h Behandlung

Die Anzahl der Fehlritte unterschieden sich nicht ($p = 0,41$) zwischen Argon-Gruppe ($6,2 \pm 3,6$) und der Kontrolle ($5,3 \pm 3,2$). Die Neuroscores unterschieden sich ebenfalls nicht ($p = 0,40$) zwischen beiden Gruppen ($2,4 \pm 0,8$ in der Argon-Gruppe und $2,1 \pm 0,9$ in der Kontrolle) (Abbildung 19, Abbildung 20).

Abbildung 19
Anzahl der Fehlritte im Beamwalk Test der Versuchsreihe C 24 h nach CCI

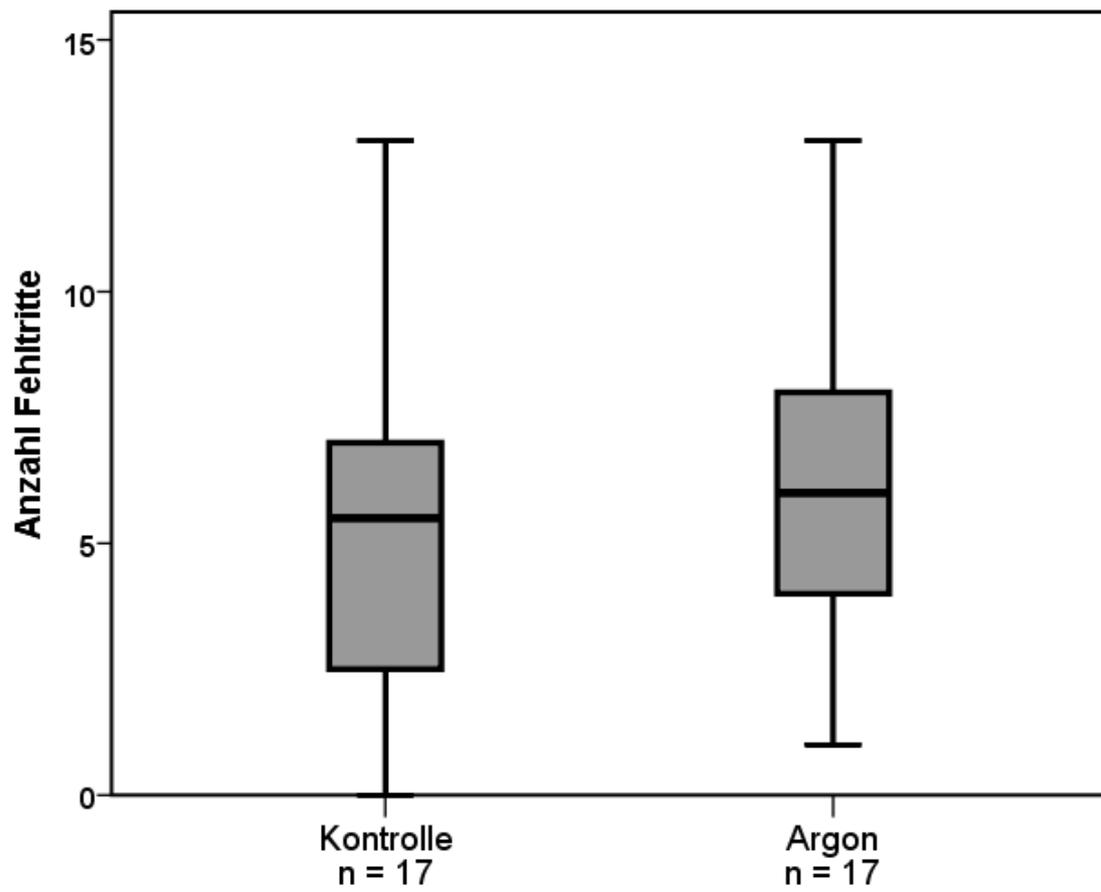
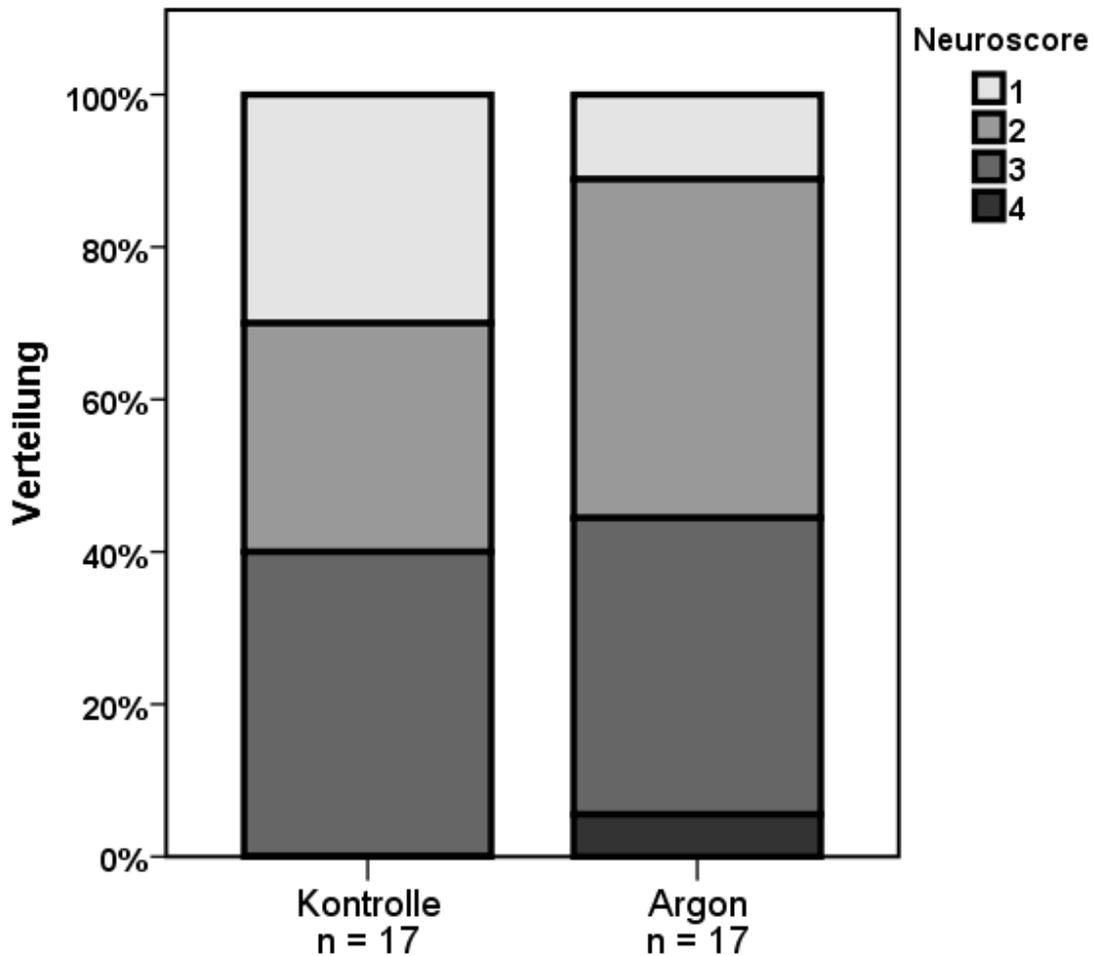


Abbildung 20

Neuroscores nach Dixon und Bederson der Versuchsreihe C 24 h nach CCI



3.4 D - Untersuchungen zum Blutdruck und CBF

Zur Untersuchung des MAP und CBF im Langzeitversuch wurden die Tiere wie oben erwähnt vorbereitet und die Daten automatisch per Computerinterface im Sekundentakt eingezogen. Die Auswertung von CBF (und MAP in analoger Weise) wurden wie folgt durchgeführt: Ein Baseline-Wert wurde mithilfe des Mittelwerts aller Messwerte der ersten 30 min vor Trauma etabliert. Nach Trauma wurden die Werte jedes 15-minütigen Intervalls zusammengefasst und ein Mittelwert geschaffen. Somit wurden jeweils 8 CBF und MAP Werte in der zweistündigen Aufzeichnung nach Trauma geschaffen. Diese wurden dann in Relation zur Baseline gesetzt. Wir verglichen per einfaktorieller ANOVA jeden dieser Werte der Argon-Gruppe mit dem korrespondierenden Wert der Kontrollgruppe. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Entwicklung des CBF ($p = 0,53$) und des MAP ($p = 0,47$) (Abbildung 21, Abbildung 22).

Abbildung 21

Posttraumatische Entwicklung der Hirndurchblutung der Versuchsreihe D über 2 h relativ zum prätraumatisch erhobenen Ausgangswert

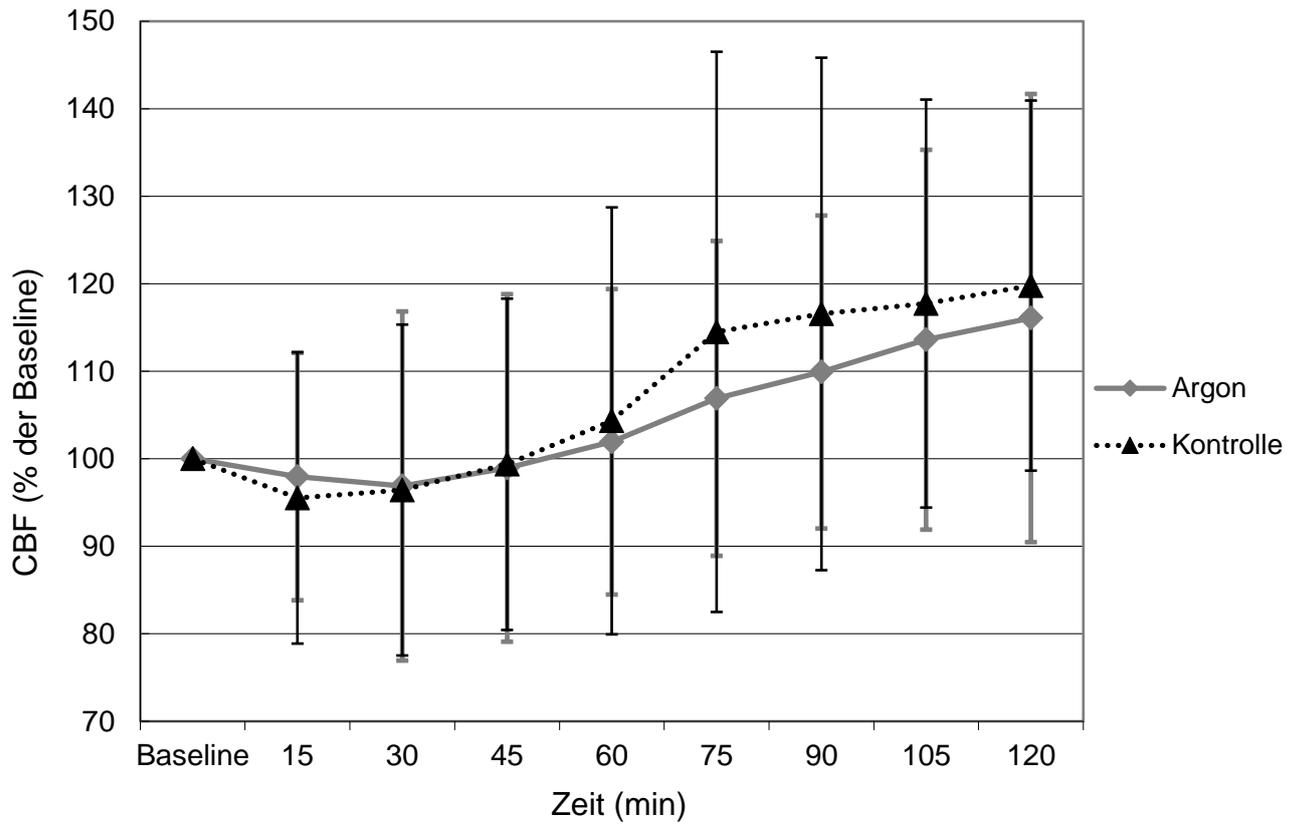
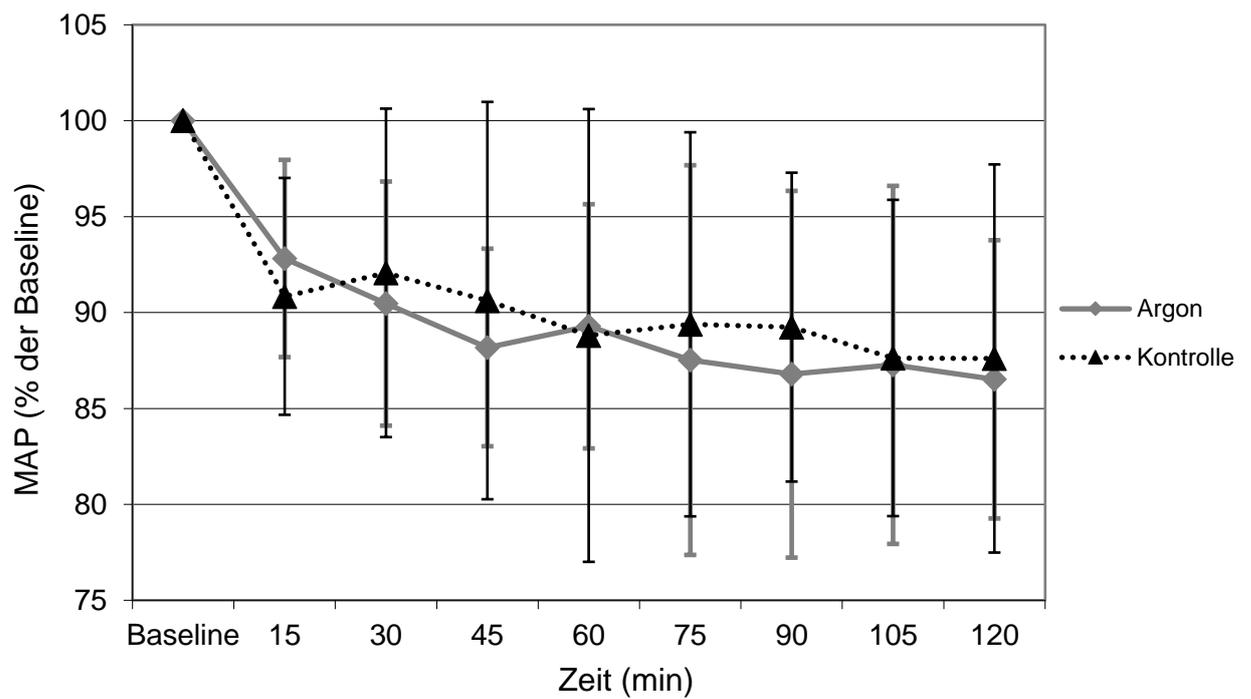


Abbildung 22

Posttraumatische Entwicklung des mittleren arteriellen Blutdrucks der Versuchsreihe D über 2 h relativ zum prätraumatisch erhobenen Ausgangswert



4 DISKUSSION

4.1 Methodik

4.1.1 Controlled Cortical Impact Modell

Das CCI Modell zeichnet sich durch einen recht hohen materiellen Aufwand aus, der zusätzlich eine sorgfältige Präparation voraussetzt. Dazu gehört in erster Linie die Schonung der Dura und eine ausreichende Kühlung beim Bohrvorgang. Die durch dieses Modell entstehende Schaden zählt als sehr gute Repräsentation der Schäden durch SHT am Menschen (Cherian, Robertson, Contant, & Bryan, 1994; Goodman, Cherian, Bryan, & Robertson, 1994; Xiong et al., 2013).

Im Vergleich zu anderen Schadensmodellen zeigen sich im CCI Modell eine Reihe von Vorteilen: Im Weight-Drop-Modell und Impact-Acceleration-Modell entsteht ein großflächiger Schaden, der auch Hirnstamm und Axone im Sinne eines DAI einschließt. Diese tiefen Schädigungen sind bezüglich der Bewertung des Sekundärschadens schlecht zu interpretieren, auch wenn sie aus klinischer Sicht eine beträchtliche Rolle spielen. Im CCI Modell wird eine von der Umgebung gut demarkierte Läsion des Kortex hervorgerufen, die sowohl ein vasogenes als auch zytotoxisches Hirnödem hervorruft (Beaumont et al., 2000; Hannay et al., 1999; Unterberg et al., 1997). Die Schädigung kann dadurch präzise histologisch ausgemessen werden. Dies wäre bei Schadensmodellen wie zum Beispiel dem Fluid-Percussion-Injury-Modell nicht direkt möglich (Dixon et al., 1987). Dort entsteht zum einen eine diffuse Schädigung des Kortex durch die Ausbreitung der Flüssigkeit im Epiduralraum; zum anderen werden auch tiefer liegende Hirnstrukturen wie der Hirnstamm geschädigt (Albert-Weissenberger & Sirén, 2010; Hallam et al., 2004; Shima & Marmarou, 1991). Die Entwicklung des posttraumatischen Hirnödems ist streng auf die betroffene Seite beschränkt, so dass die kontralaterale Seite als Kontrolle herangezogen werden kann (Elliott, Jallo, & Tuma, 2008).

Die Behandlung durch Argon musste aus praktischen Gründen zwecks der Narkose während des Eingriffs unterbrochen werden. Diese Unterbrechung

zwischen Vorbehandlung und der Behandlung nach CCI ist stets unter 15 min gewesen und daher als nicht relevant zu betrachten.

Die Kontusionsgrößen des CCI unterschieden sich trotz gleicher Parameter von Werten anderer Studien. In einer Studie von Trabold et al. wurde ein Kontusionsvolumen von $40,5 \pm 5,8 \text{ mm}^3$ nach 24 h in der Kontrollgruppe verursacht, bei einem Primärschaden von $21,6 \pm 3,8 \text{ mm}^3$. Somit zeigte sich innerhalb von 24 h ein Sekundärschaden, der 88% des Primärschadens betrug. (Trabold et al., 2008). Eine andere Studie von Schwarzmaier et al. zeigte einen Sekundärschaden von $10,3 \pm 0,6 \text{ mm}^3$ nach 24 h (Schwarzmaier et al., 2013). Diese Unterschiede sind durch unterschiedliche Ausrichtungen des Stempels zu erklären. Dieser wird theoretisch immer senkrecht zur Hirnoberfläche ausgerichtet. Dabei wird die Schiene auf Kontakt auf die Hirnoberfläche aufgesetzt, ohne Druck auszuüben. Hierbei entstehen Schwankungen, die von Operateur zu Operateur unterschiedlich sind. Bei Betrachtung jedes Operateurs für sich ist die Reproduzierbarkeit der Kontusionsvolumina sehr hoch und die technisch bedingte Standardabweichung gering.

Die Ergebnisse der Arbeit sind als valide zu erachten, da sämtliche Präparationen durch eine einzelne Person durchgeführt wurden und die Standardabweichung innerhalb der Gruppen demnach im akzeptablen Rahmen liegt. Auch der Sekundärschaden ist mit 85% des Primärschadens vergleichbar mit anderen CCI Experimenten.

In der histologischen Auswertung der Gehirne zeigte sich bei den gewählten Parametern ein größtenteils kortikal betonter Schaden des Frontallappens in allen Versuchstieren.

4.1.2 ICP und Hirnwasser

Sowohl die ICP- als auch die Hirnwassergehaltsmessung haben sich nach CCI an der Maus bewährt. Mit diesen Werten ist eine indirekte Aussage über den CPP bzw. des Hirnödems möglich. (X. Chen et al., 2014; Schuhmann et al., 2002; Trabold et al., 2008; Zhao, Liang, Xu, Yan, & Zhang, 2016; Klaus Zweckberger & Plesnila, 2009; K. Zweckberger, Stoffel, Baethmann, & Plesnila, 2003)

Durch die präzise Ausführung der Hirnwasserbestimmung können sehr genaue Ergebnisse erzielt werden. Besonders wichtig ist das Abkühlen im Exsikkator, die eine Absetzung von Kondenswasser verhindert sowie eine rasche Überführung der Gehirne ins Gefäß, so dass es zu keinem Austrocknen der Oberfläche kommt. Bei Beachtung dieser Besonderheiten konnte durch die Zuverlässigkeit dieser Methode in jeder Gruppe eine hoch signifikante Differenz der beiden Hemisphären nachgewiesen werden, die durch die Bildung des Hirnödems erklärt werden kann.

4.1.3 Histologische Auswertung

Die HE-Färbung lieferte zur Ausmessung des Kontusionsvolumens zuverlässige Werte. Eine Überprüfung durch die Färbung eines Präparats nach Nissl lieferte identische Ergebnisse. Die HE-Färbung wurde zum Beispiel bei den *in vivo* Versuchen nach MCAO zur Ermittlung des infarzierten bzw. nekrotischen Areals verwendet (David et al., 2012; Ryang et al., 2011).

Im *in vitro* SHT wurde eine andere Methodik zur histologischen Analyse des Schadens gewählt. Es wurde eine Färbung mit Propidiumiodid (PI) durchgeführt. Dieses Färbemittel interkaliert mit DNA, ist jedoch an intakten Zellmembranen nicht durchgängig. Es reichert sich somit nur in nekrotischen Zellen an und führt in diesen zu einer Färbung (Macklis & Madison, 1990). Diese wurde mittels Fluoreszenzmikroskopie erfasst und die Zahl der nekrotischen Zellen ermittelt (Loetscher et al., 2009).

Die in dieser Dissertation durchgeführte HE-Färbung konnte die Grenzen des Kontusionsareals und somit das Kontusionsvolumen erfassen.

4.1.4 Beamwalk und Neuroscore

Durch das CCI wurde ein Trauma über dem rechten motorischen Kortex ausgelöst, das insbesondere im Bereich der linken Hinterpfote symptomatisch wurde. Von daher eignete sich der Beamwalk Test ausgesprochen gut um die Schädigung auf funktioneller Ebene zu bewerten (Carter, Morton, & Dunnett, 2001).

Wie weiter oben beschrieben zeichnet sich das CCI durch eine kortikale Schädigung aus, die sehr fein eingestellt werden kann. Ein Nachteil ist das Ausbleiben von Schäden tieferer Hirnstrukturen bei den hier festgelegten Schadensparametern. Schwerere Bewusstseins Einschränkungen und Tod sind die Ausnahme (Xiong et al., 2013). Der hier erhobene Neuroscore (Thomale, 2001) hat einen maximalen möglichen Score von 21. Der maximale hier erhobene Wert betrug lediglich 4. Dies ist größtenteils auf die genannte Charakteristik des CCI zurückzuführen.

Zusammenfassend ist der Beamwalk zur Erfassung des neurologischen Status der Versuchstiere in dieser Dissertation höher zu bewerten als der hier verwendete modifizierte Neuroscore nach Dixon und Bederson.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Argonkonzentration

Ziel dieser Dissertation war, auf Basis vorheriger Studien eine Neuroprotektivität von Argon an einem *in vivo* SHT-Modell an der Maus nachzuweisen. Zum Zeitpunkt der Versuchsplanung gab es Hinweise auf *in vitro* Wirksamkeit von Argon nach OGD und SHT (Loetscher et al., 2009) und *in vivo* nach MCAO (Ryang et al., 2011) und intrastriärer NMDA-Injektion (David et al., 2012).

Die Planung orientierte sich zum großen Teil an den *in vitro* SHT Versuchen. Die dort nachgewiesene dosisabhängige Neuroprotektion von Argon veranlasste uns zunächst, die wirksamste Konzentration von Argon in der Atemluft der Versuchstiere zu ermitteln. Auf Basis dieser sollten die weiteren Versuche durchgeführt werden. In Versuchsreihe A erfolgten Versuche mit 3 Konzentrationen von Argon, 25%, 50% und 75%, wobei das Restvolumen aus Sauerstoff bestand. Diese Gasmischungen sind identisch zu denjenigen aus den *in vitro* Versuchen. Eine Kontrollgruppe mit Raumluft und eine Kontrolle zur Ermittlung des Primärschadens wurde zusätzlich eingeführt. Die Behandlungsdauer mit dem Argon-Sauerstoff-Gemisch betrug 4 h.

Es zeigte sich in Versuchsgruppe A in allen mit Argon behandelten Gruppen keine Änderung des Kontusionsvolumens.

Eine signifikante Senkung des Hirndrucks zeigte sich nur bei einer Konzentration von 50% Argon. Ein Korrelat zum Hirnwassergehalt zeigte sich jedoch nicht, war dieser in allen Versuchsreihen und Gruppen nahezu konstant. Eine Behandlung mit Argon hatte somit keinen messbaren Effekt auf das Ausmaß des posttraumatischen Hirnödems.

Die neurologischen Untersuchungen zeigten in Versuchsreihe A eine signifikante Verringerung der Fehlritte bei 50% Argon sowie eine signifikante Verbesserung des Neuroscores nach Dixon und Bederson bei 25% und 50% Argon.

Die Behandlung mit Argon ist neuroprotektiv was sich mittels Einflusses auf die oben genannten Parameter zeigt. Dieser Effekt erschien besonders ausgeprägt bei einer Konzentration von 50% Argon, weshalb diese als optimale Konzentration identifiziert wurde.

Die *in vitro* Studie mittels SHT (Loetscher et al., 2009) kam ebenfalls zur Schlussfolgerung, dass eine Konzentration von 50% Argon als optimal zu erachten ist. Darüber hinaus kamen die *in vivo* Studien an der Ratte nach MCAO und NMDA-Injektion zum gleichen Ergebnis bezüglich der Argonkonzentration, obwohl dort andere Pathomechanismen der Schädigung vorlagen (David et al., 2012; Ryang et al., 2011).

Weitere Modelle konnten ebenfalls neuroprotektive Wirkungen von Argon unter teils erheblich variierenden Konzentrationen feststellen. Eine Studie an fetalen neuronalen Zellkulturen der Maus konnte nach 90-minütigen OGD eine signifikante Verbesserung des Zellüberlebens durch Inkubation mit 75% Argon feststellen. Die Argonbehandlung hatte in diesem Fall bereits während des OGD Traumas begonnen und wurde für 24 h fortgeführt (Jawad et al., 2009). Eine zweistündige Therapie nach 90-minütigen OGD mit 70% Argon, 25% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid zeigte ein signifikant besseres Zellüberleben von fetalen neuronalen Zellkulturen der Ratte (H. Zhao et al., 2016). Die in unserer Studie durchgeführte Behandlung mit 75% Argon zeigte nach *in vivo* SHT an der Maus hat jedoch keine Protektivität.

4.2.2 Behandlungsdauer

Neben der Argonkonzentration ist die optimale bzw. nötige Behandlungsdauer ebenfalls von großem Interesse. In den *in vivo* Versuche an Ratten nach MCAO hatten 1-stündige (Ryang et al., 2011) bzw. 3-stündige Behandlungsdauern (David et al., 2012) mit jeweils 50% Argon und Sauerstoff bereits signifikante Neuroprotektion durch Argon gezeigt. Da aber in den für die Studie relevanteren *in vitro* Versuchen zum SHT eine 72 stündige Behandlung erfolgte (Loetscher et al., 2009), wurde in Versuchsreihe B eine verlängerte Behandlungsdauer von 24 h gewählt. Eine längere Behandlungsdauer ist aus tierschutzrechtlichen und ethischen Gründen nicht zu rechtfertigen gewesen. Neben einer Raumluf-Kontrolle wurde eine O₂-Kontrolle eingeführt, da wir jeglichen Effekt durch die erhöhte Sauerstoffkonzentration ausschließen wollten.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe B zeigten keine signifikanten Ergebnisse bezüglich der Kontusionsvolumina, ICP, Hirnwassergehalt und Beamwalk Test. Die mit Argon behandelten Tiere zeigten jedoch, wenn auch nicht signifikant, das beste Ergebnis im Beamwalk Test. Es kam durch die Argonbehandlung zu einer signifikanten Besserung des Neuroscores im Vergleich zur O₂-Kontrolle, jedoch nicht zur Raumluf-Kontrolle.

Bezüglich der optimalen Behandlungsdauer lässt sich keine abschließende Aussage treffen. Eine Neuroprotektivität zeigte sich in dieser Studie nach bereits 4 h Behandlungsdauer. Die *in vivo* Versuche an Ratten nach MCAO hatten 1-stündige (Ryang et al., 2011) bzw. 3-stündige Behandlungsdauer (David et al., 2012) mit jeweils 50% Argon und Sauerstoff. In den Versuchen zum *in vitro* SHT wurde eine 72-stündige Behandlung gewählt (Loetscher et al., 2009). In der bisherigen Literatur sind ansonsten zum Teil widersprüchliche Aussagen bezüglich der optimalen Behandlungsdauer anzutreffen. Während Ulbrich et al. zu dem Schluss kommen, dass die Neuroprotektivität unabhängig von der Behandlungsdauer ist (es wurden 2 bzw. 4 h Behandlungsdauer verglichen in Neuroblastom-Zelllinien) (Felix Ulbrich et al., 2015) konnte in der oben genannten Studie von David et al. eine Verbesserung durch eine längere Behandlungsdauer über einen Zeitraum von bis zu 3 h erreicht werden.

Vergleicht man die Versuchsreihen A und B, ist das Ergebnis der 24 stündigen Behandlung schlechter. In der Versuchsreihe B kam es insbesondere zu keiner Senkung des ICP wie nach der 4 stündigen Behandlung mit 50% Argon und 50% Sauerstoff. Trotzdem ist nicht von einer schädlichen Wirkung einer längeren Behandlung per se auszugehen, da die *in vitro* Versuche nach 72 h langer Behandlung eine signifikante Neuroprotektion nachgewiesen haben (Loetscher et al., 2009).

4.2.3 Behandlung bei physiologischen Sauerstoffkonzentrationen

In Versuchsreihe B fielen nicht-signifikante Verschlechterungen des ICP, BWC und Beamwalk in der O₂-Kontrolle gegenüber der Raumluft-Kontrolle auf. Zudem zeigte sich eine signifikante Verbesserung des Neuroscores im Vergleich zur O₂-Kontrolle, jedoch nicht zur Raumluft-Kontrolle. Es musste ausgeschlossen werden, dass die erhöhte Sauerstoffkonzentration die Versuchstiere negativ beeinflusst.

In Versuchsreihe C wurde zur Elimination des Störfaktors die Sauerstoffkonzentration während der Argonbehandlung von 50% auf 20% gesenkt. Die Kontrollgruppe erhielt 20% Sauerstoff und 80% Stickstoff. Die Behandlungsdauer betrug 24 h in beiden Gruppen.

Die Ergebnisse zeigten keine signifikanten Änderungen hinsichtlich Kontusionsvolumen, ICP, BWC, Beamwalk und Neuroscore. Die Neuroprotektivität eines 50% Argon, 20% Sauerstoff und 30% Stickstoff Gemisches scheint trotz der ursprünglichen Bedenken niedriger zu sein als die von 50% Argon mit 50% Sauerstoff.

Nach MCAO *in vivo* im Rattenmodell wurde von Ryang et al. ebenfalls eine Konzentration von 50% Argon und 50% Sauerstoff verabreicht und eine Neuroprotektivität nachgewiesen (Ryang et al., 2011). Interessanterweise konnte in einem weiteren Rattenmodell durch die Verabreichung von 50% Argon, 25% Sauerstoff und 25% Stickstoff nach MCAO *in vivo* keine Neuroprotektivität gezeigt werden (David et al., 2012). Trotzdem darf nicht die pauschale Aussage getroffen werden, dass sich dies allein auf die niedrigere Sauerstoffkonzentration

zurückführen lässt, da in weiteren Studien Sauerstoffkonzentrationen von 21% und 30% nach Ligatur der A. carotis communis im *in vivo* Rattenmodell Neuroprotektivität zeigte (bei 70% Argonkonzentration) (H. Zhao et al., 2016; Zhuang et al., 2012).

4.2.4 Effekte auf Blutdruck und Hirndurchblutung

Es wurden in Versuchsreihe D die Wirkung eines Gemisches von jeweils 50% Argon und Sauerstoff auf den Blutdruck und die Hirndurchblutung der geschädigten Maus untersucht. Als Kontrolle wurde ein Gasgemisch aus jeweils 50% Stickstoff und Sauerstoff herangezogen. Es konnte nicht nachgewiesen werden, dass die Verabreichung von Argon zu einer signifikanten Änderung von CBF oder MAP führt. Es ist unwahrscheinlich, dass systemische Nebenwirkung des Argons, wie z.B. eine Senkung des CPP durch eine Hypotonie die Neuroprotektivität kaschieren. Die Datenlage in der Literatur bezüglich des Einflusses von Argon auf die Hirndurchblutung an der Maus ist spärlich.

Es wurde in einer Studie an Menschen kein Effekt der Inhalation eines Gasgemisches von 70% Argon und 30% Sauerstoff während einer Fentanyl-Midazolam Anästhesie auf die Hirndurchblutung festgestellt (Grüne et al., 2017).

In diesem Zusammenhang muss der Effekt von Edelgasen auf die Thrombolyse erwähnt werden. Sowohl Argon als auch Xenon scheinen dosisabhängige inhibitorische und exzitatorische Wirkung auf die Aktivität von tPA (Tissue Plasminogen Activator) zu besitzen. Von besonderer Relevanz ist dies für Ischämie-Perfusionsmodelle (David, Haelewyn, Risso, Colloc'h, & Abraini, 2010). Eine niedrige Konzentration (25%) von Argon blockiert in der Studie von David et al. die Aktivität, während eine hohe Konzentration von 75% die Aktivität von tPA fördert. Die hier verwendete Konzentration von 50% hatte nahezu keinen Einfluss auf tPA (David, Haelewyn, Risso, & Abraini, 2013).

4.3 Anti-apoptotische Wirkung von Argon

Es konnte in dieser Arbeit keine Wirkung von Argon bezüglich der Größe des Kontusionsvolumens gezeigt werden. Im Gegenteil zeigte sich in

Versuchsgruppe A bei 25% und 50% Argon sogar eine kleine nicht-signifikante Vergrößerung des Kontusionsvolumens. Dass dieser Ergebnis-Parameter nicht erfolgreich beeinflusst werden konnte, kann mehrere Gründe haben, die zum Teil schon im Abschnitt zur histologischen Untersuchung angeschnitten wurden. Wie bereits oben genannt ist möglich, dass die sich Argon-vermittelte Wirkung weniger durch die Reduktion des Kontusionsvolumens äußert, sondern vielmehr durch eine höhere Zahl vitaler Zellen im Kontusionsareal selbst.

Diese Vermutung kann dadurch gestützt werden, dass mehrere Studien eine Hemmung apoptotischer Mechanismen durch Argon aufgezeigt haben (Spaggiari et al., 2013). Es wird nicht angenommen, dass Argon ähnlich wie Xenon durch die Inhibition von NMDA-Rezeptoren wirkt (Harris et al., 2013). Eine Studie von Ulbrich et al. konnte *in vivo* in retinalen Ganglionzellen von Ratten eine erhöhte Expression von Extracellular-signal Regulated Kinase 1/2 (ERK1/2) und konsekutiv eine Reduktion von Hämoxxygenase-1 (HO-1) nachweisen. Dazu wurde Ratten nach 60-minütiger Ischämie und Reperfusion eines Auges 1 h 75% Argon und 25% Sauerstoff verabreicht (F. Ulbrich et al., 2015). Höllig et al. konnten im Subarachnoidalblutungsmodell an der Ratte ebenfalls eine Reduktion von HO-1 im Zeitrahmen bis 6 h nach der Blutung nachweisen. Im späteren Verlauf kam es zu einer erneuten Steigerung von HO-1 (Hollig et al., 2016). HO-1 zeigt seinerseits eine inhibitorische Wirkung gegen die Caspase-3 vermittelte Apoptose. Dies wurde in Hepatozyten bereits nachgewiesen (Lawal, Marnewick, & Ellis, 2015).

Weiterführende Studien von Ulbrich et al. konnten eine signifikant verminderte Expression von toll-like-receptor 2 und 4 (TLR) durch eine zwei- bzw. vierstündige Behandlung von Neuroblastomzellen mit 75% Argon zeigen. Diese führt durch eine verminderte Phosphorylierung von IRAK zu einer erhöhten Phosphorylierung von ERK1/2. Dies vermittelt die oben genannten antiapoptotische Wirkung über Caspase-3 (Hetman & Xia, 2000; Felix Ulbrich et al., 2015).

Zusätzlich konnte nach Rotenon-induzierter Apoptose von *in vitro* Neuroblastomzellen bzw. *in vivo* Perfusion/Reperfusionsschaden an retinalen Ganglionzellen und anschließender zweistündiger Behandlung mit 75% Argon

über die Inhibition von TLR2 und TLR4 eine Hemmung der Expression von NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells), STAT3 (Signal transducer and activator of transcription) und Interleukin-8 beobachtet werden (F. Ulbrich et al., 2016).

Die TLR können vielfältige verschiedene Liganden binden, teils auch endogene Marker, die im Rahmen von Schädigungen freigesetzt werden wie Fibrinogen und Hyaluron. Dadurch sind sie ebenfalls als Kandidat zur Modulation des Sekundärschadens in den Fokus gerückt. (Krieg et al., 2017).

Trotz all dieser Ergebnisse, die für eine antiapoptotische Wirkung und den dadurch möglichen Nachweis vitaler Zellen im Kontusionsgebiet sprechen, steht im Gegensatz dazu eine Studie, in der nach 2h MCAO und Argonbehandlung an der Ratte eine solche Analyse durchgeführt wurde. Die Behandlungsdauer betrug 60 min während des MCAO. Zusätzlich zur HE-Färbung wurde eine Immunhistochemiefärbung (mit anti-NeuN, anti-GFAP, und anti-ionized calcium-binding adaptor molecule 1) angefertigt, die mit einem sekundären Biotin-konjugierten Antikörper und Avidin-Biotin-Komplex vitale Neuronen, Astroglia und Microgliazellen identifizieren konnte. Ähnlich wie in dieser Studie war eine Besserung des neurologischen Status und zusätzlich eine Reduktion des Infarktareals zu beobachten. Die Zahl vitaler Zellen in der Penumbra hat sich jedoch nicht signifikant von der Kontrolle unterschieden. Zusätzlich wurde in einer Expressionsanalyse eine signifikant erhöhte Expression sowohl pro-inflammatorischer Mediatoren (IL-1 β , IL-6, iNOS) und neuroprotektiver Faktoren festgestellt (Fahlenkamp et al., 2014).

Neben der antiapoptotischen Wirkung von Argon wäre eine mögliche Modulierung von Ionenkanalaktivität zur Hemmung der Exzitotoxizität von besonderem Interesse. Diesbezüglich hat Harris et al. Untersuchungen mit Xenon und Argon nach *in vitro* SHT unternommen. Die Behandlungsdauer wurde zwischen 30 min und 24 h festgelegt. Das Gasgemisch wurde jedoch über atmosphärischem Druck appliziert (0,5 atm Edelgas auf 1 atm mit 75% Stickstoff, 20% Sauerstoff und 5% CO₂). Die histologische Auswertung wurde mit einer PI Färbung vorgenommen. Sowohl Argon als auch Xenon zeigten eine signifikante Reduktion des Schadens. Bei näherer elektrophysiologischer Untersuchung

wurde zudem festgestellt, dass Xenon durch die Inhibition des NMDA-Rezeptors über die Glycin-Bindungsstelle wirkt. Für Argon konnte dies nicht nachgewiesen werden (Harris et al., 2013). Dass die Ausschüttung von Glutamat die Exzitotoxizität fördert und die Blockierung von NMDA-Rezeptoren neuroprotektiv wirkt, wurde bereits 1987 durch Gill et al. in einem *in vivo* hippokampalen Ischämie Modell festgestellt (Gill, Foster, & Woodruff, 1987; Rothman & Olney, 1986).

Insgesamt muss bei Betrachtung all dieser bereits durchgeführten Studien beachtet werden, dass diese zum großen Teil *in vitro* durchgeführt wurden. Die Analytik, die sich oft auf die Anzahl vitaler Zellen stützt, unterscheidet sich grundsätzlich von den Untersuchungen unserer Studie, so dass die Übertragbarkeit zu den Ergebnissen in Form von Kontusionsvolumina, neurologisches Ergebnis und Hirndruck bzw. Hirnödemen eingeschränkt ist.

4.4 Wirkung von Sauerstoff

Bezüglich der Wirkung von Sauerstoff nach Schädel-Hirn-Trauma gibt es mehrere, zum Teil widersprüchliche Studien.

Eine Studie aus 2015 hat die Wirkung von normobarem Sauerstoff und Raumluft untersucht (Talley Watts et al., 2015). Dazu wurden Ratten nach CCI bis zu 3,5 h behandelt. Im Anschluss wurden bis 14 Tage nach Trauma mehrmals der funktionelle Status und MRT-Bilder erhoben. Es zeigten sich signifikant größere Defektareale in der Bildgebung durch die Sauerstoffgabe. Das funktionelle Ergebnis der Ratten konnte nicht verbessert werden.

In einer der meistzitierten Studien bezüglich der Sauerstoffgabe nach SHT beim Menschen wurde 22 Patienten mit schwerem SHT Sauerstoff in unterschiedlichen Konzentrationen über 6 h verabreicht (20% bzw. 100%). Die zerebralen Sauerstoff-, CO₂, pH, Laktat- und Glukosekonzentrationen wurden verglichen. Es zeigten sich signifikant höhere Sauerstoffkonzentrationen durch Erhöhung des Sauerstoffanteils in der Atemluft, sowie geringere Laktatkonzentrationen (Menzel et al., 1999). Das spricht zwar für eine Verbesserung des aeroben Stoffwechsels. Diese Studie untersuchte jedoch nicht den funktionellen Status der Patienten.

Eine ähnliche Studie konnte die oben erwähnten Effekte ebenfalls bestätigen (Tolias et al., 2004). Es wurden 52 Patienten 24 h 100% Sauerstoff verabreicht. Zusätzlich konnte eine Senkung des ICP ohne Änderung des CPP gezeigt werden. Auch hier fehlen Ergebnisse bezüglich des funktionellen Status der Patienten.

Diesen Beobachtungen bei Menschen stehen folgende Ergebnisse gegenüber.

Es ist davon auszugehen, dass eine stark erhöhte Sauerstoffkonzentration mit einer erhöhten Konzentration von Sauerstoffradikalen einhergeht, die ihrerseits schädlich sind. Die Erhöhung des intrazellulären Calciums nach Trauma durch mechanische Kräfte und Exzitotoxizität (Andriessen et al., 2010) führt zu einer Funktionseinschränkung der Mitochondrien und einer vermehrten Bildung und verringertem Abbau von Radikalen, insbesondere in Szenarien mit erhöhter Sauerstoffkonzentration.

Wie wir in der Versuchsgruppe B zeigen konnten, verschlechterte sich das Kontusionsvolumen nach Trauma tendenziell durch die Gabe von 50% Sauerstoff ohne Argon, wenn auch nicht signifikant. Signifikant schlechter war das funktionelle Ergebnis der Mäuse mit je 50% Sauerstoff und Stickstoff im Vergleich zu den Tieren mit je 50% Sauerstoff und Argon. Trotzdem ist wie bereits oben beschrieben eine Sauerstoffkonzentration von 50% nicht als schädlich zu erachten, da diese in Versuchsreihe C keine negativen Effekte hatte und in der Literatur bereits mehrmals mit positiven Ergebnissen verwendet wurde.

4.5 Behandlungszeitraum

Die Präkonditionierung mittels 30-minütiger Behandlung vor Auslösung des CCI schränkt natürlich die Aussagekraft bezüglich der klinischen Anwendbarkeit ein. In realistischen Bedingungen wird die Behandlung erst im zeitlichen Intervall nach einem Schädel-Hirn-Trauma begonnen. Um bestmögliche Bedingungen für die Therapie zu gewährleisten, wurde in dieser Studie die Präkonditionierung trotzdem in das Protokoll aufgenommen.

Es wurde auf weitere Versuche verzichtet, die nach der Präkonditionierung keine weitere posttraumatische Therapie nach sich zogen. Die hier dargelegten Ergebnisse konnten keinen durchschlagenden neuroprotektiven Effekt zeigen, und in der bisherigen Literatur existieren bisher noch keine derartigen Studien. Dasselbe gilt auch für Versuche, die die maximale Latenz zwischen Trauma und Behandlungsbeginn bestimmen sollten.

Ein weiterer Erklärungsansatz, wieso die Neuroprotektivität nicht eindeutig zu beweisen war, ergibt sich aus der Zeitspanne zwischen Trauma und Auswertung. Während die *in vitro* Experimente von Loetscher et al. (Loetscher et al., 2009) und Harris et al. (Harris et al., 2013) eine Auswertung nach 72 h vorsahen, geschah dies hier nach 24 h.

Eine Studie von Hall et al. hat nach SHT eine progressive Degeneration von Neuronen nach *in vivo* CCI an Mäusen und Ratten festgestellt. Diese betraf kortikale, hippocampale und thalamische Regionen im Zeitraum bis zu 48 h nach Trauma. Somit ist es möglich, dass der gewählte Zeitrahmen für ein SHT-Modell unzureichend lang war, um den Sekundärschaden voll auszubilden und die Wirkung von Argon zu entfalten.

Abschließend muss betont werden, dass die bisherige Literatur zur Neuroprotektivität von Argon nahezu vollständig auf Grundlage ischämischer Geschehen basiert, sprich Versuche mit OGD bzw. MCAO. Daten zu *in vitro* SHT sind rar, und diese Dissertation stellt den ersten Versuch dar *in vivo* Daten zu erzeugen. Weitere Studien mit anderen histologischen Auswertungsmethoden und verlängerten Versuchszeiten sind nötig, um alle Aspekte des Schädel-Hirn-Traumas *in vivo* zu erfassen und eine adäquate Therapiemöglichkeit für den menschlichen Gebrauch zu identifizieren.

4.6 Schlussfolgerungen

Die zuvor formulierten Hypothesen können in Zusammenschau wie folgt beantwortet werden:

Argon war nach Schädel-Hirn-Trauma an der Maus in mehreren Versuchsgruppen neuroprotektiv. Die Behandlung hat einen positiven Einfluss die neurologische Funktion sowie in einer Instanz auf den Hirndruck. Es hat sich

kein positiver Effekt auf das Kontusionsvolumen oder das Hirnödem zeigen können.

Die optimale Argonkonzentration scheint bei 50% zu liegen.

Eine Verlängerung der Behandlungsdauer von 4 h auf 24 h hat keinen zusätzlichen positiven Effekt.

Argon hat in einem Beobachtungszeitraum von 2 h nach Trauma keinen Einfluss auf den systemischen Blutdruck oder kraniellen Perfusionsdruck.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Studie wurde ein Controlled Cortical Impact (CCI) Schädel-Hirn-Trauma an insgesamt 210 Mäusen in 4 Versuchsreihen durchgeführt. Das CCI-Modell verursacht ein gutes steuer- und reproduzierbares Trauma, das hauptsächlich kortikal lokalisiert ist.

Die Argonbehandlung erstreckte sich in der Versuchsgruppe A über einen Zeitraum von 30 min vor bis 4 h nach Trauma. Die Argonkonzentration betrug 25% bis maximal 75%, der Rest des Inspirationsgemisches wurde durch Sauerstoff ergänzt. Der primäre Ergebnis-Parameter war das Kontusionsvolumen 24 h nach Trauma. Zusätzlich wurden nach 24 h der intrakranielle Druck, der Hirnwassergehalt bzw. das Hirnödem und der neurologische Status untersucht. Der neurologische Status wurde zum einen mit einem modifizierten Neuroscore nach Dixon und Bederson bestimmt. Zusätzlich wurde die Anzahl der Fehlritte der linken Hinterpfote bei Überquerung eines Balkens bestimmt.

Wir konnten in der Versuchsgruppe A keinen protektiven Effekt einer Argonbehandlung auf das Kontusionsvolumen und das Hirnödem 24 h nach Schädel-Hirn-Trauma nachweisen. Es zeigte sich bei einer Konzentration von 50% Argon eine signifikante Senkung des intrakraniellen Drucks. Zudem konnte eine signifikante Reduzierung der Fehlritte im sogenannten Beamwalk Versuch und eine signifikante Besserung des Neuroscores nach Dixon und Bederson festgestellt werden. Die Verbesserung des Neuroscores konnte auch für eine Argonkonzentration von 25% gezeigt werden.

In der Versuchsreihe B wurde die Behandlungsdauer auf 24 h verlängert. Die mit Argon behandelten Tiere erhielten 50% Argon und 50% Sauerstoff. Zusätzlich zur Raumluf-Kontrolle wurde eine O₂-Kontrollgruppe eingeführt, die 50% Sauerstoff und 50% Stickstoff erhielt. Es zeigte sich eine signifikante Verbesserung des Neuroscores nach Dixon und Bederson durch die Argon-Behandlung im Vergleich zur O₂-Kontrolle. Es zeigte sich eine nicht signifikante Reduktion der Fehlritte im Beamwalk Test durch die Argonbehandlung. Es zeigte sich keine Veränderung des Kontusionsvolumens, des Hirnödems und des intrakraniellen Drucks.

In der Versuchsreihe C wurde die Sauerstoffkonzentration auf 20 Prozent gehalten, mit 50% Argon und 30% Stickstoff in der Argon-Gruppe und 80% Sstickstoff in der Kontrollgruppe. Es zeigte sich hier kein signifikanter Unterschied in allen oben genannten Ergebnis-Parametern.

Eine Langzeitmessung in Versuchsreihe D über 2 h nach CCI in 20 Tieren konnte keinen Effekt auf den systemischen Blutdruck und die Hirndurchblutung durch Argon nachweisen. Der Argon-Gruppe wurde 50% Argon und 50% Sauerstoff verabreicht, der Kontrollgruppe 50% Stickstoff und 50% Sauerstoff.

Die in dieser Dissertation gewonnenen Erkenntnisse geben Hinweise auf eine neuroprotektive Wirkung von Argon nach experimentellen Schädel-Hirn-Trauma an der Maus. Die Verbesserung von Hirndruck und Neuroscore zeigten in den weiteren Ergebnis Parametern keine klaren Korrelate. Da es sich um die erste *in vivo* Studie eines mechanischen Traumamodells mit Argonbehandlung im Mausmodell handelt, können weitere Versuche, zum Beispiel im Rattenmodell, weitere Hinweise auf die Neuroprotektivität von Argon liefern.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Abraïni, J. H., Kriem, B., Balon, N., Rostain, J.-C., & Risso, J.-J. (2003). Gamma-Aminobutyric Acid Neuropharmacological Investigations on Narcosis Produced by Nitrogen, Argon, or Nitrous Oxide. *Anesthesia & Analgesia*, 96(3), 746-749. doi:10.1213/01.ane.0000050282.14291.38
- Adams, J. H., Graham, D. I., & Gennarelli, T. A. (1983). *Head Injury in Man and Experimental Animals: Neuropathology*, Vienna.
- Al Ahmad, A., Gassmann, M., & Ogunshola, O. O. (2012). Involvement of oxidative stress in hypoxia-induced blood-brain barrier breakdown. *Microvasc Res*, 84(2), 222-225. doi:10.1016/j.mvr.2012.05.008
- Albert-Weissenberger, C., & Sirén, A.-L. (2010). Experimental traumatic brain injury. *Experimental & translational stroke medicine*, 2(1), 16-16. doi:10.1186/2040-7378-2-16
- Anderson, R. W., Brown, C. J., Blumbergs, P. C., McLean, A. J., & Jones, N. R. (2003). Impact mechanics and axonal injury in a sheep model. *J Neurotrauma*, 20(10), 961-974. doi:10.1089/089771503770195812
- Andriessen, T. M., Jacobs, B., & Vos, P. E. (2010). Clinical characteristics and pathophysiological mechanisms of focal and diffuse traumatic brain injury. *J Cell Mol Med*, 14(10), 2381-2392. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01164.x
- Aschenbrenner, I., Biberthaler, P., & Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie. (2012). Schädel-Hirn-Trauma DGU-Patienteninformation.
- Astrup, J., Siesjo, B. K., & Symon, L. (1981). Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke*, 12(6), 723-725. doi:10.1161/01.str.12.6.723
- Badjatia, N., Carney, N., Crocco, T. J., Fallat, M. E., Hennes, H. M., Jagoda, A. S., . . . Wright, D. W. (2008). Guidelines for prehospital management of traumatic brain injury 2nd edition. *Prehosp Emerg Care*, 12 Suppl 1, S1-52. doi:10.1080/10903120701732052
- Badruddin, A., Taqi, M. A., Abraham, M. G., Dani, D., & Zaidat, O. O. (2011). Neurocritical Care of a Reperfused Brain. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 11(1), 104-110. doi:10.1007/s11910-010-0156-9

- Baethmann, A., Wirth, A., & Schlesinger-Raab, A. (2002). Prospective system analysis of the pre- and early hospital care in severe head injury in Bavaria at a population-based level. *Eur Surg Res*, *34*(1-2), 42-46. doi:10.1159/000048886
- Beaumont, A., Marmarou, A., Hayasaki, K., Barzo, P., Fatouros, P., Corwin, F., . . . Dunbar, J. (2000). The permissive nature of blood brain barrier (BBB) opening in edema formation following traumatic brain injury. *Acta Neurochir Suppl*, *76*, 125-129. doi:10.1007/978-3-7091-6346-7_26
- Bederson, J. B., Pitts, L. H., Tsuji, M., Nishimura, M. C., Davis, R. L., & Bartkowski, H. (1986). Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, *17*(3), 472-476.
- Biberthaler, P., Linsenmeier, U., Pfeifer, K. J., Kroetz, M., Mussack, T., Kanz, K. G., . . . Mutschler, W. (2006). Serum S-100B concentration provides additional information for the indication of computed tomography in patients after minor head injury: a prospective multicenter study. *Shock*, *25*(5), 446-453. doi:10.1097/01.shk.0000209534.61058.35
- Bouma, G. J., Muizelaar, J. P., Choi, S. C., Newlon, P. G., & Young, H. F. (1991). Cerebral circulation and metabolism after severe traumatic brain injury: the elusive role of ischemia. *75*(5), 685. doi:10.3171/jns.1991.75.5.0685
- Brain Trauma Foundation, American Association of Neurological Surgeons, Congress of Neurological Surgeons, Joint Section on Neurotrauma, Critical Care, A. C., Bratton, S. L., . . . Wright, D. W. (2007). Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. I. Blood pressure and oxygenation. *J Neurotrauma*, *24 Suppl 1*, S7-13. doi:10.1089/neu.2007.9995
- Brodie, H. A. (1997). Prophylactic antibiotics for posttraumatic cerebrospinal fluid fistulae: A meta-analysis. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*, *123*(7), 749-752. doi:10.1001/archotol.1997.01900070093016
- Brucken, A., Cizen, A., Fera, C., Meinhardt, A., Weis, J., Nolte, K., . . . Fries, M. (2013). Argon reduces neurohistopathological damage and preserves functional recovery after cardiac arrest in rats. *Br J Anaesth*, *110 Suppl 1*, i106-112. doi:10.1093/bja/aes509
- Brucken, A., Kurnaz, P., Bleilevens, C., Derwall, M., Weis, J., Nolte, K., . . . Fries, M. (2014). Dose dependent neuroprotection of the noble gas argon after

- cardiac arrest in rats is not mediated by K(ATP)-channel opening. *Resuscitation*, 85(6), 826-832. doi:10.1016/j.resuscitation.2014.02.014
- Bruns, J., Jr., & Hauser, W. A. (2003). The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia*, 44 Suppl 10, 2-10.
- Büki, A., & Povlishock, J. T. (2006). All roads lead to disconnection? – Traumatic axonal injury revisited. *Acta Neurochirurgica*, 148(2), 181-194. doi:10.1007/s00701-005-0674-4
- Bullock, R., Chesnut, R., Ghajar, J., Gordon, D., Hartl, R., Newell, D. W., . . . Wilberger, J. (2006a). Surgical management of depressed cranial fractures. *Neurosurgery*, 58(3 Suppl), S56-60; discussion Si-iv. doi:10.1227/01.neu.0000210367.14043.0e
- Bullock, R., Chesnut, R., Ghajar, J., Gordon, D., Hartl, R., Newell, D. W., . . . Wilberger, J. E. (2006b). Surgical management of acute subdural hematomas. *Neurosurgery*, 58(suppl_3), S2-16-S12-24.
- Bullock, R., Zauner, A., Woodward, J. J., Myseros, J., Choi, S. C., Ward, J. D., . . . Young, H. F. (1998). Factors affecting excitatory amino acid release following severe human head injury. *J Neurosurg*, 89(4), 507-518. doi:10.3171/jns.1998.89.4.0507
- Carbonell, W. S., Maris, D. O., McCall, T., & Grady, M. S. (1998). Adaptation of the fluid percussion injury model to the mouse. *J Neurotrauma*, 15(3), 217-229. doi:10.1089/neu.1998.15.217
- Carter, R. J., Morton, J., & Dunnett, S. B. (2001). Motor coordination and balance in rodents. *Curr Protoc Neurosci*, Chapter 8, Unit 8.12. doi:10.1002/0471142301.ns0812s15
- Chen, H., Guo, Y., Chen, S. W., Wang, G., Cao, H. L., Chen, J., . . . Tian, H. L. (2012). Progressive epidural hematoma in patients with head trauma: incidence, outcome, and risk factors. *Emerg Med Int*, 2012, 134905. doi:10.1155/2012/134905
- Chen, X., Duan, X. S., Xu, L. J., Zhao, J. J., She, Z. F., Chen, W. W., . . . Jiang, G. D. (2014). Interleukin-10 mediates the neuroprotection of hyperbaric oxygen therapy against traumatic brain injury in mice. *Neuroscience*, 266, 235-243. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.11.036>
- Chen, Y., Constantini, S., Trembovler, V., Weinstock, M., & Shohami, E. (1996). An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology,

- histopathology, and cognitive deficits. *J Neurotrauma*, 13(10), 557-568. doi:10.1089/neu.1996.13.557
- Cherian, L., Robertson, C. S., Contant, C. F., Jr., & Bryan, R. M., Jr. (1994). Lateral cortical impact injury in rats: cerebrovascular effects of varying depth of cortical deformation and impact velocity. *J Neurotrauma*, 11(5), 573-585. doi:10.1089/neu.1994.11.573
- Chesnut, R. M., Marshall, L. F., Klauber, M. R., Blunt, B. A., Baldwin, N., Eisenberg, H. M., . . . Foulkes, M. A. (1993). THE ROLE OF SECONDARY BRAIN INJURY IN DETERMINING OUTCOME FROM SEVERE HEAD INJURY. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 34(2).
- Chodobski, A., Zink, B. J., & Szmydynger-Chodobska, J. (2011). Blood-brain barrier pathophysiology in traumatic brain injury. *Transl Stroke Res*, 2(4), 492-516. doi:10.1007/s12975-011-0125-x
- Cooper, D. J., Rosenfeld, J. V., Murray, L., Arabi, Y. M., Davies, A. R., D'Urso, P., . . . Wolfe, R. (2011). Decompressive craniectomy in diffuse traumatic brain injury. *N Engl J Med*, 364(16), 1493-1502. doi:10.1056/NEJMoa1102077
- Coronado, V. G., Xu, L., Basavaraju, S. V., McGuire, L. C., Wald, M. M., Faul, M. D., . . . Hemphill, J. D. (2011). Surveillance for traumatic brain injury-related deaths--United States, 1997-2007. *MMWR Surveill Summ*, 60(5), 1-32.
- Corrigan, J. D., Selassie, A. W., & Orman, J. A. (2010). The Epidemiology of Traumatic Brain Injury. *The Journal of Head Trauma Rehabilitation*, 25(2), 72-80. doi:10.1097/HTR.0b013e3181ccc8b4
- Corso, P., Finkelstein, E., Miller, T., Fiebelkorn, I., & Zaloshnja, E. (2006). Incidence and lifetime costs of injuries in the United States. *Inj Prev*, 12(4), 212-218.
- David, H. N., Haelewyn, B., Degoulet, M., Colomb, D. G., Jr., Risso, J. J., & Abraini, J. H. (2012). Ex vivo and in vivo neuroprotection induced by argon when given after an excitotoxic or ischemic insult. *PLoS One*, 7(2), e30934. doi:10.1371/journal.pone.0030934
- David, H. N., Haelewyn, B., Risso, J. J., & Abraini, J. H. (2013). Modulation by the noble gas argon of the catalytic and thrombolytic efficiency of tissue

- plasminogen activator. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 386(1), 91-95. doi:10.1007/s00210-012-0809-0
- David, H. N., Haelewyn, B., Risso, J. J., Colloc'h, N., & Abraini, J. H. (2010). Xenon is an inhibitor of tissue-plasminogen activator: adverse and beneficial effects in a rat model of thromboembolic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*, 30(4), 718-728. doi:10.1038/jcbfm.2009.275
- DeNett, T., & Feltner, C. (2019). Hypertonic saline versus mannitol for the treatment of increased intracranial pressure in traumatic brain injury. *J Am Assoc Nurse Pract*. doi:10.1097/jxx.0000000000000340
- Denny-Brown, D. E., & Russell, W. R. (1941). Experimental Concussion: (Section of Neurology). *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 34(11), 691-692.
- Deutsche Gesellschaft für Neurochirurgie. (2015). S2e-Leitlinie: Leitlinie Schädel-Hirn-Trauma im Erwachsenenalter, URL <http://www.awmf.org/> zuletzt abgerufen am 10.01.2017.
- Dixon, C. E., Clifton, G. L., Lighthall, J. W., Yaghmai, A. A., & Hayes, R. L. (1991). A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat. *J Neurosci Methods*, 39(3), 253-262.
- Dixon, C. E., Lyeth, B. G., Povlishock, J. T., Findling, R. L., Hamm, R. J., Marmarou, A., . . . Hayes, R. L. (1987). A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat. *J Neurosurg*, 67(1), 110-119. doi:10.3171/jns.1987.67.1.0110
- Eisenberg, H. M., Gary, H. E., Aldrich, E. F., Saydjari, C., Turner, B., Foulkes, M. A., . . . Young, H. F. (1990). Initial CT findings in 753 patients with severe head injury. *73(5)*, 688. doi:10.3171/jns.1990.73.5.0688
- Elliott, M. B., Jallo, J. J., & Tuma, R. F. (2008). An investigation of cerebral edema and injury volume assessments for controlled cortical impact injury. *J Neurosci Methods*, 168(2), 320-324. doi:10.1016/j.jneumeth.2007.10.019
- Fahlenkamp, A. V., Coburn, M., de Prada, A., Gereitzig, N., Beyer, C., Haase, H., . . . Ryang, Y. M. (2014). Expression analysis following argon treatment in an in vivo model of transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Med Gas Res*, 4, 11. doi:10.1186/2045-9912-4-11

- Faul, M., Wald, M. M., Xu, L., & Coronado, V. G. (2010). Traumatic brain injury in the United States; emergency department visits, hospitalizations, and deaths, 2002-2006.
- Feeney, D. M., Boyeson, M. G., Linn, R. T., Murray, H. M., & Dail, W. G. (1981). Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain Res*, *211*(1), 67-77.
- Finfer, S. R., & Cohen, J. (2001). Severe traumatic brain injury. *Resuscitation*, *48*(1), 77-90.
- Flierl, M. A., Stahel, P. F., Beauchamp, K. M., Morgan, S. J., Smith, W. R., & Shohami, E. (2009). Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. *Nat Protoc*, *4*(9), 1328-1337. doi:10.1038/nprot.2009.148
- Foda, M. A., & Marmarou, A. (1994). A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. *J Neurosurg*, *80*(2), 301-313. doi:10.3171/jns.1994.80.2.0301
- Gaetz, M. (2004). The neurophysiology of brain injury. *Clin Neurophysiol*, *115*(1), 4-18.
- Gennarelli, T. A. (1983). *Head Injury in Man and Experimental Animals: Clinical Aspects*, Vienna.
- Gill, R., Foster, A. C., & Woodruff, G. N. (1987). Systemic administration of MK-801 protects against ischemia-induced hippocampal neurodegeneration in the gerbil. *J Neurosci*, *7*(10), 3343-3349.
- Goggio, A. F. (1941). THE MECHANISM OF CONTRE-COUP INJURY. *Journal of neurology and psychiatry*, *4*(1), 11-22. doi:10.1136/jnnp.4.1.11
- Golding, E. M., Robertson, C. S., & Bryan, R. M., Jr. (1999). The consequences of traumatic brain injury on cerebral blood flow and autoregulation: a review. *Clin Exp Hypertens*, *21*(4), 299-332.
- Goodman, J. C., Cherian, L., Bryan, R. M., Jr., & Robertson, C. S. (1994). Lateral cortical impact injury in rats: pathologic effects of varying cortical compression and impact velocity. *J Neurotrauma*, *11*(5), 587-597. doi:10.1089/neu.1994.11.587
- Grund, K. E., Storek, D., & Farin, G. (1994). Endoscopic argon plasma coagulation (APC) first clinical experiences in flexible endoscopy. *Endosc Surg Allied Technol*, *2*(1), 42-46.

- Grüne, F., Kazmaier, S., Hoeks, S. E., Stolker, R. J., Coburn, M., & Weyland, A. (2017). Argon does not affect cerebral circulation or metabolism in male humans. *PLoS One*, *12*(2), e0171962. doi:10.1371/journal.pone.0171962
- Hallam, T. M., Floyd, C. L., Folkerts, M. M., Lee, L. L., Gong, Q. Z., Lyeth, B. G., . . . Berman, R. F. (2004). Comparison of behavioral deficits and acute neuronal degeneration in rat lateral fluid percussion and weight-drop brain injury models. *J Neurotrauma*, *21*(5), 521-539. doi:10.1089/089771504774129865
- Hannay, H. J., Feldman, Z., Phan, P., Keyani, A., Panwar, N., Goodman, J. C., & Robertson, C. S. (1999). Validation of a controlled cortical impact model of head injury in mice. *J Neurotrauma*, *16*(11), 1103-1114. doi:10.1089/neu.1999.16.1103
- Harris, K., Armstrong, S. P., Campos-Pires, R., Kiru, L., Franks, N. P., & Dickinson, R. (2013). Neuroprotection against traumatic brain injury by xenon, but not argon, is mediated by inhibition at the N-methyl-D-aspartate receptor glycine site. *Anesthesiology*, *119*(5), 1137-1148. doi:10.1097/ALN.0b013e3182a2a265
- Hetman, M., & Xia, Z. (2000). Signaling pathways mediating anti-apoptotic action of neurotrophins. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, *60*(4), 531-545.
- Hollig, A., Weinandy, A., Liu, J., Clusmann, H., Rossaint, R., & Coburn, M. (2016). Beneficial Properties of Argon After Experimental Subarachnoid Hemorrhage: Early Treatment Reduces Mortality and Influences Hippocampal Protein Expression. *Crit Care Med*, *44*(7), e520-529. doi:10.1097/ccm.0000000000001561
- Hoshida, R., Cheung, V., Marshall, L., Kasper, E., & Chen, C. C. (2016). Do corticosteroids play a role in the management of traumatic brain injury? *Surg Neurol Int*, *7*, 84. doi:10.4103/2152-7806.190439
- Hutchinson, P., Timofeev, I., & Kirkpatrick, P. (2007). Surgery for brain edema. *Neurosurgical focus*, *22*(5), 1-9.
- Iorio-Morin, C., Touchette, C., Levesque, M., Effendi, K., Fortin, D., & Mathieu, D. (2018). Chronic Subdural Hematoma: Toward a New Management Paradigm for an Increasingly Complex Population. *J Neurotrauma*, *35*(16), 1882-1885. doi:10.1089/neu.2018.5872

- Jawad, N., Rizvi, M., Gu, J., Adeyi, O., Tao, G., Maze, M., & Ma, D. (2009). Neuroprotection (and lack of neuroprotection) afforded by a series of noble gases in an in vitro model of neuronal injury. *Neurosci Lett*, *460*(3), 232-236. doi:10.1016/j.neulet.2009.05.069
- Jayakumar, A. R., Rao, K. V., Panickar, K. S., Moriyama, M., Reddy, P. V., & Norenberg, M. D. (2008). Trauma-induced cell swelling in cultured astrocytes. *J Neuropathol Exp Neurol*, *67*(5), 417-427. doi:10.1097/NEN.0b013e31816fc9d4
- Jennett, B. (1996). Epidemiology of head injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *60*(4), 362-369.
- Karibe, H., Hayashi, T., Hirano, T., Kameyama, M., Nakagawa, A., & Tominaga, T. (2014). Surgical management of traumatic acute subdural hematoma in adults: a review. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, *54*(11), 887-894. doi:10.2176/nmc.cr.2014-0204
- Khriachtchev, L., Pettersson, M., Runeberg, N., Lundell, J., & Rasanen, M. (2000). A stable argon compound. *Nature*, *406*(6798), 874-876. doi:10.1038/35022551
- Kimelberg, H. K. (1995). Current concepts of brain edema. *83*(6), 1051. doi:10.3171/jns.1995.83.6.1051
- Kraus, J. F., & Nourjah, P. (1988). The epidemiology of mild, uncomplicated brain injury. *J Trauma*, *28*(12), 1637-1643.
- Krieg, S. M., Sonanini, S., Plesnila, N., & Trabold, R. (2015). Effect of small molecule vasopressin V1a and V2 receptor antagonists on brain edema formation and secondary brain damage following traumatic brain injury in mice. *Journal of neurotrauma*, *32*(4), 221-227. doi:10.1089/neu.2013.3274
- Krieg, S. M., Voigt, F., Knuefermann, P., Kirschning, C. J., Plesnila, N., & Ringel, F. (2017). Decreased Secondary Lesion Growth and Attenuated Immune Response after Traumatic Brain Injury in Tlr2/4(-/-) Mice. *Frontiers in neurology*, *8*, 455-455. doi:10.3389/fneur.2017.00455
- Lawal, A. O., Marnewick, J. L., & Ellis, E. M. (2015). Heme oxygenase-1 attenuates cadmium-induced mitochondrial-caspase 3- dependent apoptosis in human hepatoma cell line. *BMC Pharmacology & Toxicology*, *16*, 41. doi:10.1186/s40360-015-0040-y

- Lawrence, T., Helmy, A., Bouamra, O., Woodford, M., Lecky, F., & Hutchinson, P. J. (2016). Traumatic brain injury in England and Wales: prospective audit of epidemiology, complications and standardised mortality. *BMJ Open*, 6(11), e012197. doi:10.1136/bmjopen-2016-012197
- Lazarovici, M. (2005). *Anwenderperformanz und- variabilität der Glasgow-Koma-Skala*. Ludwig-Maximilians-Universität München. Retrieved from <http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bvb:19-45245>
- Levasseur, J. E., Patterson, J. L., Jr., Ghatak, N. R., Kontos, H. A., & Choi, S. C. (1989). Combined effect of respirator-induced ventilation and superoxide dismutase in experimental brain injury. *J Neurosurg*, 71(4), 573-577. doi:10.3171/jns.1989.71.4.0573
- Lighthall, J. W. (1988). Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model. *J Neurotrauma*, 5(1), 1-15.
- Loetscher, P. D., Rossaint, J., Rossaint, R., Weis, J., Fries, M., Fahlenkamp, A., . . . Coburn, M. (2009). Argon: neuroprotection in in vitro models of cerebral ischemia and traumatic brain injury. *Crit Care*, 13(6), R206. doi:10.1186/cc8214
- Lynch, C., 3rd, Baum, J., & Tenbrinck, R. (2000). Xenon anesthesia. *Anesthesiology*, 92(3), 865-868. doi:10.1097/00000542-200003000-00031
- Lynch, D. R., & Dawson, T. M. (1994). Secondary mechanisms in neuronal trauma. *Curr Opin Neurol*, 7(6), 510-516. doi:10.1097/00019052-199412000-00007
- Ma, J., Zhang, K., Wang, Z., & Chen, G. (2016). Progress of Research on Diffuse Axonal Injury after Traumatic Brain Injury. *Neural Plasticity*, 2016, 9746313. doi:10.1155/2016/9746313
- Marhong, J., & Fan, E. (2014). Carbon dioxide in the critically ill: too much or too little of a good thing? *Respir Care*, 59(10), 1597-1605. doi:10.4187/respcare.03405
- Marion, D. W., & Carlier, P. M. (1994). Problems with initial Glasgow Coma Scale assessment caused by prehospital treatment of patients with head injuries: results of a national survey. *J Trauma*, 36(1), 89-95.

- Marion, D. W., Firlik, A., & McLaughlin, M. R. (1995). Hyperventilation therapy for severe traumatic brain injury. *New horizons (Baltimore, Md.)*, 3(3), 439-447.
- Marmarou, A., Anderson, R. L., Ward, J. D., Choi, S. C., Young, H. F., Eisenberg, H. M., . . . Jane, J. A. (1991). Impact of ICP instability and hypotension on outcome in patients with severe head trauma. 75(Supplement), S59. doi:10.3171/sup.1991.75.1s.0s59
- Marmarou, A., Foda, M. A., van den Brink, W., Campbell, J., Kita, H., & Demetriadou, K. (1994). A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg*, 80(2), 291-300. doi:10.3171/jns.1994.80.2.0291
- Marmarou, A., Shulman, K., & LaMorgese, J. (1975). Compartmental analysis of compliance and outflow resistance of the cerebrospinal fluid system. 43(5), 523. doi:10.3171/jns.1975.43.5.0523
- Martin, G. (2016). Traumatic brain injury: The first 15 milliseconds. *Brain Inj*, 30(13-14), 1517-1524. doi:10.1080/02699052.2016.1192683
- McIntosh, T. K., Noble, L., Andrews, B., & Faden, A. I. (1987). Traumatic brain injury in the rat: characterization of a midline fluid-percussion model. *Cent Nerv Syst Trauma*, 4(2), 119-134.
- Mendelow, A. D., & Teasdale, G. M. (1983). Pathophysiology of head injuries. *Br J Surg*, 70(11), 641-650. doi:10.1002/bjs.1800701102
- Menzel, M., Dopperberg, E. M. R., Zauner, A., Soukup, J., Reinert, M. M., & Bullock, R. (1999). Increased inspired oxygen concentration as a factor in improved brain tissue oxygenation and tissue lactate levels after severe human head injury. *Journal of Neurosurgery*, 91(1), 1-10. doi:10.3171/jns.1999.91.1.0001
- Meythaler, J. M., Peduzzi, J. D., Eleftheriou, E., & Novack, T. A. (2001). Current concepts: Diffuse axonal injury–associated traumatic brain injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 82(10), 1461-1471. doi:10.1053/apmr.2001.25137
- Millen, J. E., Glauser, F. L., & Fairman, R. P. (1985). A comparison of physiological responses to percussive brain trauma in dogs and sheep. *J Neurosurg*, 62(4), 587-591. doi:10.3171/jns.1985.62.4.0587

- Morales, D. M., Marklund, N., Lebold, D., Thompson, H. J., Pitkanen, A., Maxwell, W. L., . . . McIntosh, T. K. (2005). Experimental models of traumatic brain injury: do we really need to build a better mousetrap? *Neuroscience*, *136*(4), 971-989. doi:10.1016/j.neuroscience.2005.08.030
- Mortimer, C. E. (2014). *Chemie : das Basiswissen der Chemie* (11., vollst. überarb. Aufl. ed.). Stuttgart u.a.: Thieme.
- Murray, C. J., & Lopez, A. D. (1997). Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet*, *349*(9064), 1498-1504. doi:10.1016/s0140-6736(96)07492-2
- Neice, A. E., & Zornow, M. H. (2016). Xenon anesthesia for all, or only a select few? *Anaesthesia*, *71*(11), 1267-1272. doi:10.1111/anae.13569
- Oddo, M., Levine, J. M., Frangos, S., Carrera, E., Maloney-Wilensky, E., Pascual, J. L., . . . LeRoux, P. D. (2009). Effect of mannitol and hypertonic saline on cerebral oxygenation in patients with severe traumatic brain injury and refractory intracranial hypertension. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *80*(8), 916-920.
- Orrenius, S., Zhivotovsky, B., & Nicotera, P. (2003). Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *4*(7), 552-565.
- Peeters, W., van den Brande, R., Polinder, S., Brazinova, A., Steyerberg, E. W., Lingsma, H. F., & Maas, A. I. (2015). Epidemiology of traumatic brain injury in Europe. *Acta Neurochir (Wien)*, *157*(10), 1683-1696. doi:10.1007/s00701-015-2512-7
- Pfenninger, E. G., Reith, A., Breitig, D., Grunert, A., & Ahnefeld, F. W. (1989). Early changes of intracranial pressure, perfusion pressure, and blood flow after acute head injury. Part 1: An experimental study of the underlying pathophysiology. *J Neurosurg*, *70*(5), 774-779. doi:10.3171/jns.1989.70.5.0774
- Prakash, R., & Carmichael, S. T. (2015). Blood-brain barrier breakdown and neovascularization processes after stroke and traumatic brain injury. *Curr Opin Neurol*, *28*(6), 556-564. doi:10.1097/wco.0000000000000248
- Prins, M., Greco, T., Alexander, D., & Giza, C. C. (2013). The pathophysiology of traumatic brain injury at a glance. *Disease Models & Mechanisms*, *6*(6), 1307-1315. doi:10.1242/dmm.011585

- Quillin, M. L., Breyer, W. A., Griswold, I. J., & Matthews, B. W. (2000). Size versus polarizability in protein-ligand interactions: binding of noble gases within engineered cavities in phage T4 lysozyme. *J Mol Biol*, 302(4), 955-977. doi:10.1006/jmbi.2000.4063
- Rickels, v. W. K., Wetzlaff P, Bock WJ (Hrsg). (2006). Schädel-Hirn-Verletzung. Epidemiologie und Versorgung. Ergebnisse einer prospektiven Studie. *Zuckschwerdt Verlag München-Wien-New York*.
- Roberts, I., & Sydenham, E. (2012). Barbiturates for acute traumatic brain injury. *The Cochrane Library*.
- Roberts, I., Yates, D., Sandercock, P., Farrell, B., Wasserberg, J., Lomas, G., . . . Edwards, P. (2004). Effect of intravenous corticosteroids on death within 14 days in 10008 adults with clinically significant head injury (MRC CRASH trial): randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 364(9442), 1321-1328. doi:10.1016/s0140-6736(04)17188-2
- Rodriguez-Baeza, A., Reina-de la Torre, F., Poca, A., Marti, M., & Garnacho, A. (2003). Morphological features in human cortical brain microvessels after head injury: a three-dimensional and immunocytochemical study. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 273(1), 583-593. doi:10.1002/ar.a.10069
- Rothman, S. M., & Olney, J. W. (1986). Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol*, 19(2), 105-111. doi:10.1002/ana.410190202
- Ruzicka, J., Benes, J., Bolek, L., & Markvartova, V. (2007). Biological effects of noble gases. *Physiol Res*, 56 Suppl 1, S39-44.
- Ryang, Y. M., Fahlenkamp, A. V., Rossaint, R., Wesp, D., Loetscher, P. D., Beyer, C., & Coburn, M. (2011). Neuroprotective effects of argon in an in vivo model of transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Crit Care Med*, 39(6), 1448-1453. doi:10.1097/CCM.0b013e31821209be
- Sanders, R. D., Ma, D., & Maze, M. (2010). Argon neuroprotection. *Crit Care*, 14(1), 117. doi:10.1186/cc8847
- Sauter, T. C., Ziegenhorn, S., Ahmad, S. S., Hautz, W. E., Ricklin, M. E., Leichtle, A. B., . . . Exadaktylos, A. K. (2016). Age is not associated with intracranial haemorrhage in patients with mild traumatic brain injury and oral anticoagulation. *J Negat Results Biomed*, 15(1), 12. doi:10.1186/s12952-016-0055-y

- Schichtel, K., & Piwowarsky, E. (1929). Ueber den Einfluß der Legierungselemente Phosphor, Silizium und Nickel auf die Löslichkeit des Kohlenstoffs im flüssigen Eisen. *Archiv für das Eisenhüttenwesen*, 3(2), 139-147. doi:10.1002/srin.192901272
- Schmidt, R. H., & Grady, M. S. (1993). Regional patterns of blood-brain barrier breakdown following central and lateral fluid percussion injury in rodents. *J Neurotrauma*, 10(4), 415-430. doi:10.1089/neu.1993.10.415
- Schröder, M. L., Muizelaar, J. P., Bullock, M. R., Salvant, J. B., & Povlishock, J. T. (1995). Focal ischemia due to traumatic contusions documented by stable xenon-CT and ultrastructural studies. 82(6), 966. doi:10.3171/jns.1995.82.6.0966
- Schuhmann, M. U., Stiller, D., Skardelly, M., Mokktarzadeh, M., Thomas, S., Brinker, T., & Samii, M. (2002). Determination of contusion and oedema volume by MRI corresponds to changes of brain water content following controlled cortical impact injury. *Acta Neurochir Suppl*, 81, 213-215. doi:10.1007/978-3-7091-6738-0_55
- Schwarzmaier, S. M., Zimmermann, R., McGarry, N. B., Trabold, R., Kim, S. W., & Plesnila, N. (2013). In vivo temporal and spatial profile of leukocyte adhesion and migration after experimental traumatic brain injury in mice. *J Neuroinflammation*, 10, 32. doi:10.1186/1742-2094-10-32
- Segatore, M., & Way, C. (1992). The Glasgow Coma Scale: time for change. *Heart & lung : the journal of critical care*, 21(6), 548-557.
- Servadei, F., Begliomini, C., Gardini, E., Giustini, M., Taggi, F., & Kraus, J. (2003). Effect of Italy's motorcycle helmet law on traumatic brain injuries. *Inj Prev*, 9(3), 257-260.
- Shima, K., & Marmarou, A. (1991). Evaluation of brain-stem dysfunction following severe fluid-percussion head injury to the cat. 74(2), 270. doi:10.3171/jns.1991.74.2.0270
- Siesjö, B. K. (2008). Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. (1992). *J Neurosurg*, 108(3), 616-631. doi:10.3171/jns/2008/108/3/0616
- Smith, D. H., Soares, H. D., Pierce, J. S., Perlman, K. G., Saatman, K. E., Meaney, D. F., . . . McIntosh, T. K. (1995). A model of parasagittal

- controlled cortical impact in the mouse: cognitive and histopathologic effects. *J Neurotrauma*, 12(2), 169-178. doi:10.1089/neu.1995.12.169
- Spaggiari, S., Kepp, O., Rello-Varona, S., Chaba, K., Adjemian, S., Pype, J., . . . Kroemer, G. (2013). Antiapoptotic activity of argon and xenon. *Cell Cycle*, 12(16), 2636-2642. doi:10.4161/cc.25650
- Statistisches Bundesamt. (2017). Diagnosedaten der Krankenhäuser ab 2000 (Fälle, Berechnungs- und Belegungstage, durchschnittliche Verweildauer), In www.gbe-bund.de (Thematische Recherche: Schädelhirntrauma → Tabelle (gestaltbar): Diagnosedaten der Krankenhäuser nach Behandlungsort (ICD10-4-Steller, ab 2000)), zuletzt abgerufen am 10.01.2017.
- Steudel, W. I., Cortbus, F., & Schwerdtfeger, K. (2005). Epidemiology and prevention of fatal head injuries in Germany--trends and the impact of the reunification. *Acta Neurochir (Wien)*, 147(3), 231-242; discussion 242. doi:10.1007/s00701-004-0441-y
- Stocchetti, N., & Maas, A. I. (2014). Traumatic intracranial hypertension. *N Engl J Med*, 370(22), 2121-2130. doi:10.1056/NEJMra1208708
- Stocchetti, N., Maas, A. I., Chieregato, A., & van der Plas, A. A. (2005). Hyperventilation in head injury: a review. *Chest Journal*, 127(5), 1812-1827.
- Strich, S. J. (1970). Lesions in the cerebral hemispheres after blunt head injury. *Journal of clinical pathology. Supplement (Royal College of Pathologists)*, 4, 166-171. doi:10.1136/jcp.s3-4.1.166
- Stubbe, H., & Wölfer, J. (2012). Schädel-Hirn-Trauma beim Erwachsenen. *Intensivmed.up2date*, 08(04), 253-269. doi:10.1055/s-0032-1310089
- Sullivan, H. G., Martinez, J., Becker, D. P., Miller, J. D., Griffith, R., & Wist, A. O. (1976). Fluid-percussion model of mechanical brain injury in the cat. *J Neurosurg*, 45(5), 521-534.
- Talley Watts, L., Long, J. A., Manga, V. H., Huang, S., Shen, Q., & Duong, T. Q. (2015). Normobaric oxygen worsens outcome after a moderate traumatic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(7), 1137-1144. doi:10.1038/jcbfm.2015.18
- Teasdale, G., & Jennett, B. (1974). Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet*, 2(7872), 81-84.

- Thomale, U.-W. N. (2001). *Evaluation des tierexperimentellen Modells einer traumatischen kortikalen Kontusion (Controlled Cortical Impact Injury) für Therapiestudien*. Medizinische Fakultät - Universitätsklinikum Charité. Retrieved from <http://edoc.hu-berlin.de/docviews/abstract.php?id=10341urn:nbn:de:kobv:11-10015418>
- Tolias, C. M., Reinert, M., Seiler, R., Gilman, C., Scharf, A., & Bullock, M. R. (2004). Normobaric hyperoxia--induced improvement in cerebral metabolism and reduction in intracranial pressure in patients with severe head injury: a prospective historical cohort-matched study. *J Neurosurg*, *101*(3), 435-444. doi:10.3171/jns.2004.101.3.0435
- Tönnies, L. (1953). Einteilung der gedeckten Hirnschädigungen. *Ärztl Prax V*, *36*: 13–14.
- Trabold, R., Krieg, S., Schöller, K., & Plesnila, N. (2008). Role of vasopressin V(1a) and V2 receptors for the development of secondary brain damage after traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma*, *25*(12), 1459-1465. doi:10.1089/neu.2008.0597
- Ulbrich, F., & Goebel, U. (2015). Argon: a novel therapeutic option to treat neuronal ischemia and reperfusion injuries? *Neural regeneration research*, *10*(7), 1043-1044. doi:10.4103/1673-5374.160071
- Ulbrich, F., & Goebel, U. (2016). The Molecular Pathway of Argon-Mediated Neuroprotection. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(11), 1816. doi:10.3390/ijms17111816
- Ulbrich, F., Kaufmann, K., Roesslein, M., Wellner, F., Auwärter, V., Kempf, J., . . . Goebel, U. (2015). Argon Mediates Anti-Apoptotic Signaling and Neuroprotection via Inhibition of Toll-Like Receptor 2 and 4. *PLoS One*, *10*(12), e0143887. doi:10.1371/journal.pone.0143887
- Ulbrich, F., Kaufmann, K. B., Coburn, M., Lagreze, W. A., Roesslein, M., Biermann, J., . . . Goebel, U. (2015). Neuroprotective effects of Argon are mediated via an ERK-1/2 dependent regulation of heme-oxygenase-1 in retinal ganglion cells. *J Neurochem*. doi:10.1111/jnc.13115
- Ulbrich, F., Lerach, T., Biermann, J., Kaufmann, K. B., Lagreze, W. A., Buerkle, H., . . . Goebel, U. (2016). Argon mediates protection by interleukin-8 suppression via a TLR2/TLR4/STAT3/NF-kappaB pathway in a model of apoptosis in neuroblastoma cells in vitro and following ischemia-

- reperfusion injury in rat retina in vivo. *J Neurochem*, 138(6), 859-873.
doi:10.1111/jnc.13662
- Unterberg, A. W., Stroop, R., Thomale, U. W., Kiening, K. L., Pauser, S., & Vollmann, W. (1997). Characterisation of brain edema following "controlled cortical impact injury" in rats. *Acta Neurochir Suppl*, 70, 106-108. doi:10.1007/978-3-7091-6837-0_33
- Villalobos, T., Arango, C., Kubilis, P., & Rathore, M. (1998). Antibiotic prophylaxis after basilar skull fractures: a meta-analysis. *Clinical infectious diseases*, 27(2), 364-365.
- von Wild, K. R. H., & Wenzlaff, P. (2005). *Quality management in traumatic brain injury (TBI) Lessons from the prospective study in 6.800 patients after acute TBI in respect of neurorehabilitation*, Vienna.
- Wang, Y. J., Shimura, T., Kobayashi, S., Teramoto, A., & Nakazawa, S. (1997). [A lateral fluid percussion model for the experimental severe brain injury and a morphological study in the rats]. *Nihon Ika Daigaku Zasshi*, 64(2), 172-175.
- Werner, C., & Engelhard, K. (2007). Pathophysiology of traumatic brain injury. *BJA: British Journal of Anaesthesia*, 99(1), 4-9. doi:10.1093/bja/aem131
- Winkler, D. A., Thornton, A., Farjot, G., & Katz, I. (2016). The diverse biological properties of the chemically inert noble gases. *Pharmacol Ther*, 160, 44-64. doi:10.1016/j.pharmthera.2016.02.002
- Winkler, E. A., Minter, D., Yue, J. K., & Manley, G. T. (2016). Cerebral Edema in Traumatic Brain Injury: Pathophysiology and Prospective Therapeutic Targets. *Neurosurg Clin N Am*, 27(4), 473-488. doi:10.1016/j.nec.2016.05.008
- Xiong, Y., Gu, Q., Peterson, P. L., Muizelaar, J. P., & Lee, C. P. (1997). Mitochondrial dysfunction and calcium perturbation induced by traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 14(1), 23-34. doi:10.1089/neu.1997.14.23
- Xiong, Y., Mahmood, A., & Chopp, M. (2013). Animal models of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurosci*, 14(2), 128-142. doi:10.1038/nrn3407
- Yamaki, T., Murakami, N., Iwamoto, Y., Sakakibara, T., Kobori, N., Ueda, S., . . . Uwahodo, Y. (1997). Evaluation of learning and memory dysfunction and histological findings in rats with chronic stage contusion and diffuse axonal injury. *Brain Res*, 752(1-2), 151-160.

- Zauner, A., Clausen, T., Alves, O. L., Rice, A., Levasseur, J., Young, H. F., & Bullock, R. (2002). Cerebral metabolism after fluid-percussion injury and hypoxia in a feline model. *J Neurosurg*, *97*(3), 643-649. doi:10.3171/jns.2002.97.3.0643
- Zhao, H., Mitchell, S., Ciechanowicz, S., Savage, S., Wang, T., Ji, X., & Ma, D. (2016). Argon protects against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats through activation of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2. *Oncotarget*, *7*(18), 25640-25651. doi:10.18632/oncotarget.8241
- Zhao, M., Liang, F., Xu, H., Yan, W., & Zhang, J. (2016). Methylene blue exerts a neuroprotective effect against traumatic brain injury by promoting autophagy and inhibiting microglial activation. *Molecular medicine reports*, *13*(1), 13-20.
- Zhuang, L., Yang, T., Zhao, H., Fidalgo, A. R., Vizcaychipi, M. P., Sanders, R. D., . . . Ma, D. (2012). The protective profile of argon, helium, and xenon in a model of neonatal asphyxia in rats. *Crit Care Med*, *40*(6), 1724-1730. doi:10.1097/CCM.0b013e3182452164
- Zweckberger, K., & Plesnila, N. (2009). Anatibant®, a selective non-peptide bradykinin B2 receptor antagonist, reduces intracranial hypertension and histopathological damage after experimental traumatic brain injury. *Neuroscience Letters*, *454*(2), 115-117. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2009.02.014>
- Zweckberger, K., Stoffel, M., Baethmann, A., & Plesnila, N. (2003). Effect of decompression craniotomy on increase of contusion volume and functional outcome after controlled cortical impact in mice. *J Neurotrauma*, *20*(12), 1307-1314. doi:10.1089/089771503322686102
- Zylka-Menhorn, V. (1996). Traumatische Subarachnoidalblutung: Einfluß von Nimodipin durch Studie belegt. *Dtsch Arztebl International*, *93*(34-35), A-2160.

7 ABKÜRZUNGEN

CBF	Cerebral Blood Flow
CCI	Controlled Cortical Impact
CPP	Cranial Perfusion Pressure
DAI	Diffuse Axonal Injury
ICP	Intracranial Pressure
MAP	Mean Arterial Pressure
MCAO	Middle Cerebral Artery Occlusion
OGD	Oxygen Glucose Deprivation
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
TBI	Traumatic Brain Injury
TLR	Toll-like Rezeptor

